

## Isoconversión, un método efectivo en la estimación del tiempo de vida útil de formas farmacéuticas sólidas - Revisión

ROBERT ALCOCER<sup>1,2</sup>, JAVIER SANTAMARÍA<sup>1</sup>\*

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Químicas,  
Universidad Central del Ecuador

<sup>2</sup>YACHAY EP, actualmente

\*Correspondencia: jrsantamaria@uce.edu.ec

Recibido: 15 de abril de 2016, Aceptado: 13 de septiembre de 2016

### Resumen

La manera tradicional de estimar el tiempo de vida útil de las formas farmacéuticas consiste en someter muestras de productos a condiciones controladas de temperatura y humedad durante períodos que van desde varios meses hasta algunos años; implicando considerables recursos humanos y financieros, y, generando tardanzas en el lanzamiento de productos al mercado y en la toma de decisiones referentes a la calidad, eficacia y seguridad de los medicamentos. En los últimos años han surgido nuevas propuestas basadas en el método de la isoconversión, que toma conceptos ya aplicados en otras ramas de la ingeniería. Este enfoque implica entender las diferencias entre la cinética de reacción de los sistemas heterogéneos, como la existente en una forma farmacéutica sólida, y la de los sistemas homogéneos, encontradas en algunas de formas farmacéuticas líquidas. En una forma farmacéutica sólida pueden coexistir varios componentes, en diversos estados cristalinos y amorfos, en partículas de diverso tamaño y formas, con diferentes áreas de superficie. Esta heterogeneidad dificulta que las reacciones de degradación puedan ser representadas por un único modelo de cinética reacción, de orden cero, primero, segundo o tercero. En este contexto, surgen métodos basados en la medición de la transformación de las sustancias por isoconversión, del cual diversos autores han propuesto modelos matemáticos y posibles protocolos para su aplicación; en el campo de las Ciencias Farmacéuticas destaca el uso de la ecuación de Arrhenius modificada para incluir el efecto de la humedad. El presente artículo tiene como propósito servir de soporte a posteriores trabajos experimentales por lo que, a más de la revisión bibliográfica, se presenta un ejemplo de protocolo de aplicación y una propuesta de cálculo para estimar la vida útil de una forma farmacéutica sólida. La estimación del tiempo de vida útil de formas farmacéuticas sólidas, mediante el método de la isoconversión, puede ser un medio válido, aplicable en el desarrollo, la producción y el control post registro de medicamentos, pues promete lograr resultados precisos y en tiempos más cortos que la metodología tradicional.

**Palabras clave:** estabilidad acelerada, ecuación de Arrhenius, isoconversión, cinética, tiempo de vida útil, medicamento.

### Isoconversion, an effective method to estimate shelf life of solid dosage forms - Review

#### Abstract

The traditional way to estimate the shelf life of dosage forms involves subjecting samples of products at controlled conditions of temperature and humidity for periods ranging from several months to several years. It involves considerable human and financial resources, and, generates delays in launching products to market and in making decisions concerning quality, efficacy and safety of medicines. In recent years there have been new proposals based on the method of isoconversion, which takes concepts already applied in other branches of engineering. This approach involves the understanding of the differences between the reaction kinetics of the heterogeneous systems, such as existing in a solid dosage form, and the homogeneous systems like some liquid dosage forms. Several components can coexist in a solid pharmaceutical form in various crystalline and amorphous states,

different size particles and forms, with different surface areas. This heterogeneity makes it difficult that degradation reactions can be represented by a single model of kinetics reaction: zero, first, second or third order. In this context, methods based on the quantification of the transformation of substances using isoconversion have appeared. Many authors have proposed mathematical models and possible protocols for application. In the Pharmaceutical Sciences field the modified Arrhenius equation is important in order to include the moisture effect. This article is intended to be used as support for future experimental research, so, besides a bibliographical review, it presents an example of application protocol and a calculation way to estimate shelf life of solid dosage forms. The shelf life estimation of solid dosage forms, through isoconversion, would be a valid method, applicable on development, manufacturing and post-registering control of medicines, because it promises to get accurate results in shorter periods than traditional methodology.

**Keywords:** Accelerated stability; Arrhenius fitting; isoconversion; kinetics; shelf life; drug.

## 1. Introducción

La estabilidad de los medicamentos ha sido considerada, desde hace mucho tiempo, como críticamente importante en el desarrollo del proceso de producción y distribución, con repercusiones directas en su seguridad y eficacia (Alzante, 2013). Los principios activos experimentan degradaciones que disminuyen su efectividad terapéutica, y a la vez, generan productos potencialmente tóxicos para el paciente, porque desarrollan un perfil de reacción diferente y adverso en el organismo (Debesa, 2004). Las condiciones de almacenamiento, determinan la intensidad de la reacción dentro de un determinado periodo de tiempo (Vipul, 2012). Debido a esto, las pruebas de estabilidad en medicamentos, son un requisito para la obtención del permiso de comercialización (Blessy, 2013).

La estabilidad de un medicamento es la capacidad de mantener a la identidad, potencia, calidad y la pureza dentro de las especificaciones, en un determinado periodo, bajo condiciones razonablemente previsibles de almacenamiento y uso (Nagu, 2016). Puede verse afectada por la incompatibilidad de los principios activos, la temperatura, humedad y sustancias químicas como el oxígeno y otros gases, acción microbiológica, radiaciones ionizantes; provocando la degradación del ingrediente farmacéuticamente activo (API: *Active Pharmaceutical Ingredient*), pérdida de la eficacia terapéutica y productos de degradación tóxicos (Golonka, 2015). El estudio de la estabilidad de los medicamentos ayuda en el adecuado desarrollo de la formulación y la selección del empaque, como también la determinación de las condiciones adecuadas de almacenamiento (Blessy, 2013).

El cuidado de la estabilidad en la producción de medicamentos tiene un enfoque integral que comprende al ingrediente farmacéuticamente activo, los excipientes, el desarrollo de la formulación, la selección del empaque y el producto terminado. El control de la estabilidad de sustancias farmacéuticamente activas comprende varios aspectos, el fármaco que ingresa como materia prima, el establecimiento de una frecuencia de control, el medicamento y la adecuada identificación (OMS, 2006). Los ensayos de estabilidad de productos farmacéuticos, son un conjunto complejo de procedimientos de costos considerables, consumo de tiempo y experiencia científica con el fin de producir medicamentos con calidad, seguridad y eficacia (Charde, 2014).

La estabilidad de productos farmacéuticos terminados depende tanto del efecto de factores ambientales, como de otros relacionados con la naturaleza del producto, tales como las propiedades físicas y químicas de las sustancias activas, excipientes, forma farmacéutica, composición, proceso de fabricación, la naturaleza del sistema de cierre del envase y de las propiedades del envase. La estabilidad de las formas farmacéuticas dependerá en gran medida de la formulación y del sistema de cierre del envase seleccionado por el fabricante (OMS, 2006).

Las condiciones y duración de los estudios de estabilidad deben ser suficientes para cubrir el almacenamiento y el envío a los lugares de distribución, así como el uso del medicamento. Los estudios a largo plazo deben efectuarse durante por lo menos 12 meses y deben ser realizados hasta cubrir el tiempo de vida útil previsto. Las sustancias estables conocidas,

deben cubrir un mínimo de seis meses de estabilidad. También se especifica que los estudios de estabilidad acelerada, sean realizados en periodos de 6 meses (OMS, 2006).

En los últimos años se han probado métodos alternativos que permiten realizar los estudios de estabilidad de formas farmacéuticas sólidas en menor tiempo, generando predicciones confiables, que permitirían tomar decisiones y correcciones oportunas en el proceso de desarrollo y durante la producción industrial. En este contexto, la recopilación y análisis de publicaciones relativas al establecimiento de un procedimiento para evaluar la estabilidad a largo plazo basado en ensayos de estrés térmico y la aplicación del método matemático de la isoconversión, confiere resultados interesantes que merecen estudiarse con detenimiento (Porter, 2013).

## **2. Estudios de estabilidad acelerada y cinética del estado sólido**

### **2.1. Ensayos de estabilidad**

Los ensayos de estabilidad se realizan para determinar el tiempo de conservación del medicamento y recomendar las condiciones de almacenamiento. La fecha de caducidad que registra en los envases de los medicamentos precisa el momento hasta que es de esperar que el producto se ajuste a sus especificaciones, siempre que se haya almacenado correctamente (OMS, 1996). Las normas ICH Q1A, indican que el propósito de los ensayos de estabilidad es el de proveer evidencia de cómo la calidad de un fármaco o producto varía en el tiempo bajo la influencia de factores ambientales tales como la temperatura, humedad y luz y establecer el tiempo de vida útil y recomendar condiciones de almacenamiento (ICHQ1A(R2), 2003).

Los ensayos de estabilidad se aplican en las diferentes etapas del desarrollo de los medicamentos. Durante las etapas iniciales, los ensayos en condiciones rigurosas de temperaturas y humedades, son utilizados para identificar los productos de degradación que se pueden encontrar en el almacenamiento a largo plazo (Charde, 2014). En condiciones menos rigurosas, los estudios de estabilidad acelerada y en tiempo real, sirven para predecir y confirmar el tiempo de vida útil de los medicamentos (Bajaj, 2012).

Los ensayos de estabilidad en tiempo real se realizan durante largos periodos (desde meses hasta años), en los cuales se establecen puntos para la medición de la evolución del proceso de degradación. La confiabilidad de la interpretación de los datos puede incrementarse mediante la inclusión de un lote de material de referencia, cuyas características hayan sido ya establecidas (Kaur, 2013).

En los ensayos de estabilidad acelerada, las muestras se someten a relativamente elevadas temperaturas con el fin de provocar un aumento en la tasa de degradación. Estos métodos son usados para predecir el tiempo de vida útil de los medicamentos o también para la comparación con formulaciones alternativas (Rauk, 2014).

Los datos obtenidos de los estudios en tiempo real, se pueden usar para evaluar los efectos químicos a largo plazo en condiciones no aceleradas. Los organismos de reglamentación farmacéutica exigirán la presentación de información sobre la estabilidad de los productos obtenida mediante pruebas realizadas en la forma farmacéutica y envases definitivos. Los datos a presentarse se obtienen de estudios acelerados y en tiempo real (OMS, 2006).

Como variables de estos métodos se incluyen diversos niveles de humedad, pH, agitación (Kommanaboyina, 1999). Este tipo de ensayos tienen la ventaja de que reducen significativamente el tiempo del estudio en comparación con los ensayos a tiempo real. Se recomienda que este tipo de ensayos sea realizado a cuatro diferentes condiciones de temperatura (Sanjay, 2012).

Entre los métodos más utilizados está el de Arrhenius, que determina la variación de la constante cinética en función de la temperatura, su aplicación requiere conocer el orden cinético de reacción (Muller, 2013).

### **2.2. Cinética química en el estado sólido**

El estudio de la rapidez con la que las sustancias experimentan transformaciones físicas y químicas es de gran importancia por sus implicaciones en diversas aplicaciones de tipo industrial, científico, farmacéutico, etc., pues permite diseñar las condiciones de procesamiento en la fabricación y las condiciones de almacenamiento de los productos (Atkins, 2006).

Las transformaciones de las sustancias comprenden cambios de estado físico, cristalización, fusión, solubilidad, reacciones químicas, etc., las que pueden estimularse térmicamente, mediante procesos de calentamiento o enfriamiento de los sistemas. Su magnitud se ve afectada por la intensidad y tiempo del estímulo térmico y la presencia o ausencia de determinados factores controlables o no. La rapidez y manera con la que se desarrollan las transformaciones están determinadas por una cinética característica del sistema (Vyazovkin, 2015).

El método clásico de evaluación de la estabilidad de formas farmacéuticas sólidas, presenta tres problemas importantes que deben considerarse, el primero de ellos es que se requiere crear un modelo matemático que trate de ajustarse a la cinética que se desarrolla en las sustancias sólidas, el segundo elemento a considerar tiene que ver con el efecto de la humedad relativa sobre la cinética de reacción, y el tercero radica esencialmente en el tiempo necesario para realizar la determinación de la estabilidad (Porter, 2013).

En la perspectiva clásica, las reacciones químicas pueden describirse mediante un modelo matemático con un determinado orden cinético. Este enfoque puede ser adecuado cuando se trata de sistemas homogéneos, como las reacciones químicas que se dan en solución líquida. En estos sistemas, la intensidad con la que se desarrolla la reacción está en función del total de moléculas presentes en el volumen que ocupa el sistema, en otras palabras, las ecuaciones cinéticas se expresan en función de la concentración de los reactivos (Huynh, 2009).

En el caso del estado sólido, una sustancia que reacciona con un agente externo, no se mezcla a nivel molecular, y las sustancias reaccionantes deben representarse como fases individuales, las cuales interactúan en la interfase (Huynh, 2009).

En las formas de dosificación sólidas, el ingrediente farmacéuticamente activo puede existir en varios estados cristalinos, que pueden modificarse a medida que se producen cambios de temperatura en el sistema. Paralelamente a la transformación de estado cristalino, pueden desarrollarse procesos de degradación química, que también modifican la estructura del sólido. En estas circunstancias, una expresión matemática que describa la tasa de degradación, probablemente re-

flejará solo de manera muy aproximada la cinética de reacción que se desarrolla en la muestra. Para sortear esta complejidad fue desarrollado el paradigma de la isoconversión, que permite calcular las constantes de la ecuación de Arrhenius, sin necesidad de determinar el orden de las reacciones (Huynh, 2009).

Una característica de la evaluación de la cinética de las reacciones en sistemas heterogéneos, es el que la única concentración de importancia durante el momento en que se efectúa la reacción, es la que se encuentra en la interfase de reacción; que no puede ser cuantificada de manera práctica; por esta razón, la forma de dar seguimiento al desarrollo de la reacción es mediante la medición del grado de conversión, del reactivo o del producto ( $\alpha$ ) (Vyazovkin, 2015).

Considerando, lo anteriormente expuesto, la cinética de transformación puede representarse mediante la relación entre T y  $\alpha$  de la siguiente manera:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(T)f(\alpha) \quad (1)$$

Donde t es el tiempo, T es la temperatura,  $\alpha$  es la magnitud de la conversión,  $f(\alpha)$  es el modelo de reacción y  $k(T)$  es la constante de proporcionalidad, cuyo valor depende de la temperatura y está definida por la ecuación de Arrhenius.

$$k(T) = Ae^{-\frac{E}{RT}} \quad (2)$$

Donde A es el factor de colisión; E, la energía de activación; R la constante proporcionalidad del gas ideal y T, la temperatura del sistema (Vyazovkin, 2015).

El grado de transformación, puede definirse de diferentes maneras, ya sea como una disminución de la cantidad de la sustancia de interés o de la generación de un compuesto de descomposición.

$$\alpha = \frac{\Delta C}{C_0} \quad (3)$$

Para los propósitos del presente estudio, se considera que  $\alpha$  es:

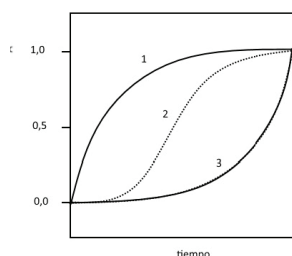
$$\alpha = \frac{C_0 - C}{C_0} \quad (4)$$

Donde,  $\alpha$  corresponde a la cantidad de sustancia degradada,  $C_0$  es la concentración inicial de sustancia y C es la cantidad de sustancia medida en el tiempo t.

### 2.3. Modelos matemáticos de cinética del estado sólido

En los sistemas homogéneos, la cinética química de las reacciones puede clasificarse como de primero, segundo y tercer orden. Por otra parte, en el estado sólido se han desarrollado modelos que intentan describir los fenómenos de transformación cinética.

Los modelos de reacción pueden clasificarse desde dos puntos de vista, el primero, corresponde a un medio de identificación gráfica de las formas de las curvas isotérmicas  $\alpha$  vs.  $t$ , mediante el cual se tiene a procesos de aceleración, desaceleración y lineales sigmoidales (Figura 1).



**Figura 1.** Procesos isotérmicos: 1) desaceleración, 2) lineales sigmoidales 3) aceleración

En los modelos aceleratorios, el grado de conversión  $\alpha$ , se incrementa en función del tiempo, por contrario, los modelos desaceleratorios se identifican porque la tasa de conversión disminuye con el tiempo. Los modelos con gradiente de temperatura, no se identifican mediante este sistema de clasificación. El segundo sistema de clasificación, para representar matemáticamente las reacciones químicas en estado sólido, se basa en los mecanismos de reacción y los divide en modelos de nucleación, contracción geométrica, difusión y ordenes de reacción (Khawan, 2006).

### Modelos matemáticos

Para representar matemáticamente las reacciones químicas en estado sólido, se han desarrollado modelos matemáticos que se pueden clasificar en:

- a) Nucleación.- Donde el paso limitante de la reacción es la formación de núcleos, los cuales, después de su formación crecen.
- b) Contracción geométrica.- Donde el paso limitante es el progreso de la formación de la capa de producto desde la superficie del cristal.
- c) Difusión.- El paso limitante es la difusión de los reactivos al sitio de reacción y d) Orden de reacción.- Modelos similares a las expresiones de los sistemas homogéneos (Tabla 1) (Khawan, 2006).

**Tabla 1.-** Modelos de cinética de reacción en estado sólido

	<b>Modelo de Reacción</b>	<b>Código</b>	<b>Forma diferencial</b>	<b>Forma integral</b>
<b>Modelos de Nucleación</b>				
1	Relación exponencial	P4	$4\alpha^{3/4}$	$\alpha^{1/4}$
2	Relación exponencial	P3	$3\alpha^{2/3}$	$\alpha^{1/3}$
3	Relación exponencial	P2	$2\alpha^{1/2}$	$\alpha^{1/2}$
4	Relación exponencial	P2/3	$2/3\alpha^{-1/2}$	$\alpha^{3/2}$
5	Avrami-Erofeev	A4	$4(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{3/4}$	$[- \ln(1-\alpha)]^{1/4}$
6	Avrami-Erofeev	A3	$3(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{2/3}$	$[- \ln(1-\alpha)]^{1/3}$
7	Avrami-Erofeev	A2	$2(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{1/2}$	$[- \ln(1-\alpha)]^{1/2}$
<b>Modelos de Contracción Geométrica</b>				
8	Contracción de esfera	R3	$3(1-\alpha)^{2/3}$	$1-(1-\alpha)^{1/3}$
9	Contracción de cilindro	R2	$2(1-\alpha)^{1/2}$	$1-(1-\alpha)^{1/2}$
<b>Modelos de Difusión</b>				
10	difusión 3-D	D3	$3/2(1-\alpha)^{2/3} [1-(1-\alpha)^{1/3}]^{-1}$	$[1-(1-\alpha)^{1/3}]^2$
11	difusión 1-D	D1	$1/2 \alpha^{-1}$	$\alpha^2$
12	difusión 2-D	D2	$[\ln(1-\alpha)]^{-1}$	$[(1-\alpha)\ln(1-\alpha)] + \alpha$

Ref: (Porter, 2013), (Khawan, 2006)

Los modelos se clasifican en función de las curvas de reacción isotérmica y los supuestos mecanismos de reacción.

## Modelo de nucleación

El fenómeno de la nucleación se entiende como el apareamiento de una nueva fase en ciertos sitios de otra fase metaestable. Su apareamiento y crecimiento se describiría mediante modelos de nucleación: a) homogénea, que ocurriría espontáneamente y aleatoria, sin un sitio preferencial de nucleación y b) heterogénea, que ocurre en sitios preferenciales tales como límites del grano, dislocaciones e impurezas (Barua, 2008).

Cuando los procesos de conversión implican cambios en la estructura cristalina, los modelos de nucleación pueden clasificarse como de nucleación homogénea y de nucleación heterogénea. La nucleación homogénea es aquella en la que los núcleos se originan a partir de los propios constituyentes del sólido, y tiene la misma composición química. La nucleación heterogénea, ocurre cuando el nuevo estado cristalino ocurre a partir de partículas de composición diferente a la del sólido tales como impurezas, burbujas, o sobre interfases (Mingarro, 1992).

Los modelos de nucleación, proponen que la energía local de los cristales fluctúa debido a dislocaciones, fracturas y puntos de defecto. En estos puntos, la energía de activación es minimizada. A estos sitios se los denomina sitios de nucleación (Boldyrev, 1986).

El proceso de nucleación ocurre en etapas, para cuya interpretación se plantean los modelos de: a) nucleación, b) crecimiento, c) modelos cinéticos power law, d) modelo de Avrai-Erofeyev y e) modelos autocatalíticos. Estos modelos se describen brevemente a continuación:

### a) Nucleación (apareamiento)

La nucleación se describe mediante dos modelos: la nucleación de simple paso y de pasos múltiples:

Modelo de simple paso: En este modelo se asume que la nucleación y el crecimiento ocurren en un solo paso.

$$dN/dt = K_N (N_0 - N) \quad (5)$$

Donde N es el número de núcleos en crecimiento en el tiempo t,  $K_N$  es la constante de nucleación.

Modelo de múltiples pasos: La nucleación de pasos múltiples asume que varios pasos o eventos  $\beta$ , son necesarios para generar el crecimiento de los núcleos:

$$N = \frac{N_0 (k_t t)^\beta}{\beta!} \quad (6)$$

Donde k es una constante de proporcionalidad y t el tiempo.

### b) Modelos de crecimiento de los núcleos

El crecimiento del núcleo puede representarse matemáticamente mediante el radio de la partícula (Galwey, 1999). El radio de núcleos estables en crecimiento en el tiempo t es:

$$r(t, t_0) = \int G(x) dx \quad (7)$$

Donde G(x) es la razón de crecimiento de los núcleos, y t es el tiempo crecimiento de los núcleos. El volumen ocupado por todos los núcleos V(t), se define en función de la nucleación dN/dt y la tasa de crecimiento v(t) (Khawan, 2006):

$$V(t) = \int v(t) \frac{dN}{dt} dt_0 \quad (8)$$

### c) Modelos exponenciales de nucleación (Power Law)

El caso más simple de los modelos de nucleación considera una razón de crecimiento constante, que se define mediante la siguiente ecuación:

$$G(x) = K_G, \quad (9)$$

Donde G(x) se define como la razón de crecimiento del núcleo, y  $K_G$  es la constante de crecimiento. Basado en este supuesto, el modelo matemático se plantea de la siguiente manera:

$$V(t) = \int \sigma (K_G (t - t_0)^\lambda (D\beta t_0^{\beta-1})) dt_0 \quad (10)$$



Donde V es el volumen, t es el tiempo y C es una constante igual a  $1/V_0$ .

Si se considera que:

$$V(t) = \sigma K_G^\lambda D' t^n, \quad (11)$$

Donde  $\sigma$  es el factor de forma (ej.  $4/3 \pi$ ),  $\lambda$  es el número de dimensiones en crecimiento (1, 2, 3), y  $D = N_0(k_1)^\beta / \beta!$ , y que  $D' = D\beta(1-\lambda\beta/(\beta+1) + \lambda(\lambda-1)/2!\beta/(\beta+2) \dots)$  y que el grado de conversión es proporcional a  $V(t)$ ,  $V(t) = \sigma k_G^\lambda D' t^n$ .

Debido a que se considera que  $V(t)$  es directamente proporcional al progreso de la conversión  $\alpha$ , se obtiene la siguiente ecuación:

$$\alpha = V(t) \cdot C \quad (12)$$

La sustitución de la ecuación (11) en (12), genera la siguiente expresión:

$$\alpha = \sigma K_G^\lambda C.D. t^n \quad (13)$$

Donde  $n = \beta + \lambda$ ,  $K_G^\lambda C.D. = k^n$ , que es una constante. Así, el grado de conversión puede representarse mediante la siguiente ecuación:

$$\alpha^{1/n} = kt \quad (14)$$

#### Modelo de Avrami-Erofeyev

Los autores de este modelo plantean ciertas restricciones al crecimiento de los núcleos, que son 1) la ingestión, que es la eliminación de una potencial nucleación y 2) la coalescencia, que se presentaría cuando las zonas de reacción de dos núcleos se mezclan.

El modelo matemático se expresa como:

$$N(t) = N_0 - N_1(t) - N_2(t) \quad (15)$$

Donde  $N_0$  es el número total de sitios posibles de formación de núcleos,  $N_1(t)$  es el número de núcleos en el tiempo t, y  $N_2(t)$  es el número de núcleos ingestados.

Así, la razón de nucleación  $dN/dt$ , sustituida en la ecuación (8), con la introducción del término de "conversión extendida"  $\alpha' = -\ln(1-\alpha)$ , y aplicándola en la ecuación (14), se tiene:

$$-\ln(1 - \alpha)^{1/n} = kt \quad (16)$$

#### d) Modelos autocatalíticos

En la cinética de estados homogéneos, la autocatálisis ocurre cuando los productos catalizan la reacción, esto sucede cuando los reactivos son generados durante una reacción que se denomina ramaje. Los reactivos son eventualmente consumidos y la reacción entra en la fase de terminación donde cesa. Una situación similar ocurre en la cinética del estado sólido, mediante el crecimiento de núcleos, debido a dislocaciones, imperfecciones y fracturas en la zona de interfase (Jacobs, 1997).

Las reacciones autocatalíticas pueden representarse mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{dN}{dt} = k_N N_0 + (k_B + k_T)N \quad (17)$$

Donde,  $K_B$  es la constante de reacción lateral y  $K_T$  es la constante de reacción de terminación,  $N_0$  y  $N$  son el número de núcleos presentes inicialmente y en el tiempo t.

El modelo matemático que relaciona el grado de transformación con el tiempo en este modelo es el siguiente:

$$\ln\left(\frac{\alpha}{1-\alpha}\right) = k_B t \quad (18)$$

### Modelos de contracción geométrica

La contracción geométrica, o modelos (R), asumen que la nucleación ocurre rápidamente en la superficie del cristal. La razón de degradación es controlada por la reacción que ocurre en la interfase hacia el centro del cristal. Los modelos matemáticos derivados dependen de la forma del cristal, para cualquier partícula, la siguiente relación es aplicable:

$$r = r_0 - kt \quad (19)$$

Donde,  $r$  es el radio en el tiempo  $t$  y  $r_0$  es el radio en el tiempo  $t_0$  y  $k$  es la constante de reacción (Carstensen, 1974), (Vlaev, 2008), (Chunxiu, 2004).

El modelo matemático identificado como contracción cilíndrica de una partícula sólida, cuyo volumen es  $h\pi r^2$ , donde  $h$  es la altura del cilindro,  $r$  es el radio del cilindro. Para  $n$  partículas el volumen es  $n h\pi r^2$ ; el peso es igual al volumen por la densidad ( $\rho$ ), por lo que el peso de  $n$  partículas es  $n\pi h\rho r^2$ . La ecuación que relaciona la degradación con el avance de la reacción es:

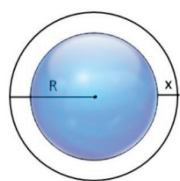
$$\alpha = \left\{ 1 - \frac{r^2}{r_0^2} \right\} \quad (20)$$

Que sustituyéndola en la ecuación 19, permite llegar a la ecuación 21.

$$1 - (1 - \alpha)^{1/2} = kt \quad (21)$$

Los modelos matemáticos para partículas esféricas se derivan de manera similar, obteniéndose la siguiente ecuación (Figura 2):

$$1 - (1 - \alpha)^{1/3} = kt \quad (22)$$



**Figura.2.** Representación esquemática de la contracción por reacción de una esfera

## Modelos de difusión

Una de las mayores diferencias entre la cinética homogénea y heterogénea es la movilidad de constituyentes en el sistema. Mientras que las moléculas están rápidamente disponibles en los sistemas homogéneos, las re-

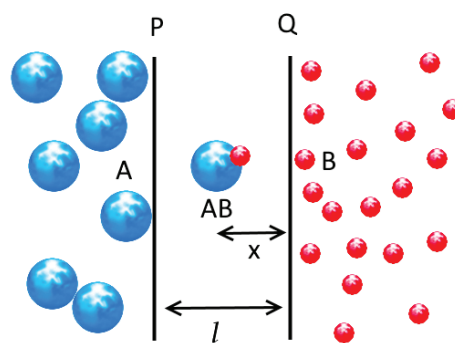
acciones en estado sólido ocurren generalmente entre redes cristalinas o moléculas que penetran dentro de las redes. Un producto puede después incrementarse mientras la tasa de reacción se ve controlada por la transferencia de masa, reacciones reversibles, o calor intercambiado con el sistema. La difusión es muy importante cuando las sustancias reactantes se encuentran en diferentes fases o redes cristalinas. En las reacciones controladas por la difusión, la velocidad de formación del producto decrece proporcionalmente con el espesor del medio (Wyandt, 1992).

Los mecanismos difusionales de las transformaciones pueden clasificarse en migraciones a través de la interfase, en la que los átomos activados térmicamente saltan aleatoriamente a través de la interfase y crecimiento por escalones en interfases coherentes. Estos mecanismo se presentan de forma irregular y se pueden presentar varios simultáneamente (Morales, 1995).

Para explicar el proceso se utiliza como ejemplo la reacción



Esquemáticamente, la reacción química puede representarse en la Figura 3:



**Figura 3.** Representación de Difusión unidimensional

Donde, A y B son las sustancias reactivas y AB es el producto de reacción. Al inicio de la reacción Q y P son las interfaces; una vez producida la reacción, AB forma una nueva fase de espesor  $l$  y  $x$  es la distancia recorrida desde Q a través de la fase AB.

En consideración de lo anterior, podemos definir la siguiente ecuación:



$$\frac{dl}{dt} = D \frac{M_{AB}}{M_B \rho} \cdot \frac{dC_B}{dx} \quad (24)$$

Donde  $M_{AB}$  y  $M_B$  son los pesos moleculares de AB y B respectivamente.  $D$  es el coeficiente de difusión,  $\rho$  es la densidad del producto AB,  $l$  es el espesor de la capa del producto AB,  $C_B$  es la concentración de B en AB y  $x$  es la distancia desde la interface Q dentro de AB.

Asumiendo una gradiente lineal de la concentración de B en AB, y que  $dC/dx = -(C_2 - C_1)/l$ .

$$\frac{dl}{dt} = D \frac{M_{AB}}{M_B \rho} \cdot \frac{(C_2 - C_1)}{l} \quad (25)$$

Separando variables e integrando, y, considerando que  $2D(M_{AB}(C_2 - C_1))/M_B \rho$  es igual a  $k$ , se tiene que:

$$l^2 = kt, \quad (26)$$

que es conocida como la ley parabólica (Beke, 2014). En este modelo bidimensional se asume que el grado de conversión  $\alpha$  es directamente proporcional al espesor "l", por lo que la ecuación se puede expresar de la siguiente manera:

$$\alpha^2 = k't, \quad (27)$$

Donde  $k'$  es una constante de proporcionalidad.

Para un proceso de difusión tridimensional, el modelo de reacción Jander, a partir de la ley parabólica establece la siguiente ecuación:

$$R^2(1-(1-\alpha)^{1/2})^2 = kt \quad (28)$$

Donde  $R$  es el radio de la partícula esférica,  $\alpha$  es el grado de conversión,  $k$  es una constante y donde se asume que  $k' = k/R^2$ .

## 2.4. Métodos de evaluación del tiempo de vida útil

Con el fin de evaluar la cinética de reacción, existen métodos isotérmicos, en los cuales las muestras se estudian a varias temperaturas constantes y los resultados que se obtienen son una relación de la degradación en función del tiempo; y, los no isotérmicos, que utilizan una progresión del calentamiento que requieren el cálculo de una temperatura integral, dada por la ecuación:

$$g(\alpha) = \frac{A}{\beta} \int_0^T e^{\frac{E}{RT}} dT \quad (29)$$

Donde  $\beta$  es la razón lineal de calentamiento,  $T$  la temperatura,  $A$  es el factor de frecuencia,  $E$  es la energía de activación,  $R$  es la constante de los gases.

Dentro de estos dos tipos de categorías se aplican ya sea un ajuste a modelos por regresión lineal, a órdenes de reacción o la aplicación de modelos libres, que calculan la energía libre sin supuestos modelísticos (Khawan, 2006).

Dentro de los modelos libres se encuentran los métodos por isoconversión, los cuales sirven para calcular la energía de activación sin el establecimiento de un modelo matemático que describa la cinética de reacción. Dentro de estos métodos se encuentran el método de isoconversión cinética, que consiste en tomar el logaritmo de la ecuación de Arrhenius, el método isoconversional de Friedman (método diferencial), el método de Ozawa, Flynn y Wall, que comprende la aplicación del método de Doyle para el cálculo de la temperatura, entre otros (Khawan, 2006).

## 2.5. Método de isoconversión cinética

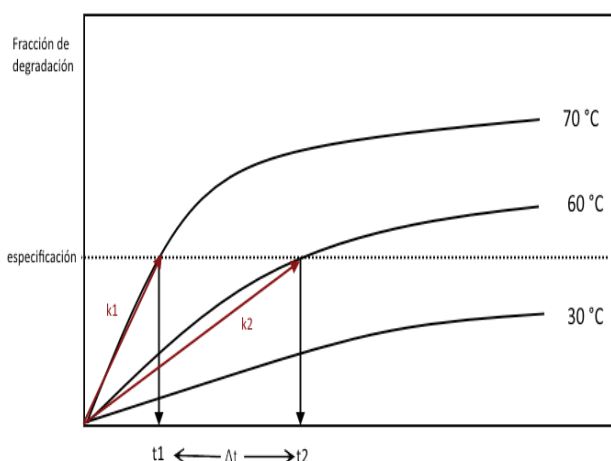
La isoconversión es una metodología de evaluación creada por Kujirai y Akahira en 1925, quienes estudiaron la descomposición de materiales de aislamiento bajo condiciones isotérmicas, que permite la determinación de la energía de activación en función de la pérdida de masa; en 1948 Dakin propuso algunos modelos cinéticos en la descomposición de materiales complejos; en la década de los años 50, se generó instrumentación que permitió el estudio de materiales bajo condiciones no isotérmicas.

Los primeros métodos no-isotermales aparecieron en la década de 1960, Friedman con su método diferencial y Ozawa con su método integral, todos relacionados con la ecuación de Arrhenius.

Los métodos modernos mantienen el principio de isoconversión, mediante procedimientos flexibles de integración para la determinación de la energía de activación.

También, se ha observado que la energía de activación obtenida a partir de los modelos libres es independiente de la razón de calentamiento, sin embargo, ciertos estudios indican que existiría una dependencia del rango de calentamiento (Criado, 2008).

Los modelos de isoconversión cinética se basan en la eliminación del modelo de reacción de los cálculos de cinética. El principio establece que la velocidad de transformación, bajo determinadas condiciones ambientales, a una tasa de conversión constante depende únicamente de la temperatura. Para la determinación experimental, es necesario establecer un límite de degradación al que deben llegar las muestras, en un determinado tiempo que depende de las condiciones de almacenamiento (Figura 4) (Vyazovkin, 2015).



**Figura 4.** Relación entre el grado de conversión y el tiempo a diferentes temperaturas. Modificado de (Vyazovkin, 2015).

En la relación degradación vs. tiempo, la forma de la curva sería la misma a diferentes temperaturas (Gutzow, 2010), siendo más pronunciada a elevadas temperaturas y con tendencia a parecer una recta a

medida que disminuye la temperatura (Waterman K. C., 2012).

De la Figura 4, se puede decir que las rectas  $k_1$  y  $k_2$  parten de cero como origen y que pueden ser descritas por:

$$k_i = \alpha_i / t_i \quad (30)$$

Si el valor de degradación  $\alpha$ , es el mismo para las rectas  $k_1$  y  $k_2$ , se tiene que:

$$k_1 \cdot t_1 = k_2 \cdot t_2 \quad (31)$$

Basado en este paradigma, es posible calcular el valor de las constantes cinéticas en base a un límite de degradación fijo, independientemente de la forma de la curva. Así, el ensayo en condiciones intensas de temperatura y humedad, trataría de encontrar el tiempo necesario para que la línea de la cinética de reacción intercepte la especificación.

El ensayo de estabilidad por isoconversión utiliza algunas muestras sometidas a diferentes condiciones de temperatura y humedad, con el fin de determinar los valores de las constantes cinéticas a diferentes temperaturas (Porter, 2013).

A diferencia de la cinética de reacción en estado gaseoso o en solución, donde las moléculas reaccionan de manera determinada por un orden de reacción, en estado sólido, las moléculas se disponen en múltiples estados no equilibrados, caracterizados por su baja movilidad, donde cada uno puede reaccionar para formar productos bajo su propia cinética (Vyazovkin, 2015). La cinética del conjunto de estados o fases es compleja. En esta situación, el método de la isoconversión es ventajoso para la determinación de la cinética de degradación pues solo considera el tiempo para alcanzar la especificación (Waterman, 2011). También existen variantes del método donde se realizan estudios no isotérmicos de procesos de cristalización de polímeros (Dubaj, 2014).

Antes de proceder a explicar los métodos de isoconversión aplicados a la evaluación de la estabilidad de las formas farmacéuticas sólidas, se da una breve

explicación de algunos de los tipos de métodos de isoconversión:

- a) Método Estándar de Isoconversión, que utiliza el logaritmo de la relación exponencial entre la degradación y el tiempo de la ecuación de Arrhenius, para datos de un proceso isotérmico, de la función  $g(\alpha)$ , que expresa el grado de conversión.

$$\ln g(\alpha) = \ln A - \frac{E}{RT} + \ln t \quad (32)$$

- b) Método de Friedman, que es un método diferencial, que utiliza el logaritmo de la siguiente ecuación (Khawan, 2006):

$$\ln \left( \frac{d\alpha}{dt} \right) = \ln A f(\alpha) - \frac{E}{RT} \quad (33)$$

- c) Métodos no Isotérmicos, que utilizan una el cálculo de una temperatura integral, donde se indica el uso de aproximaciones propuestas por Doyle y Senum-Yang (Khawan, 2006).
- d) Ozawa Flynn y Wall, que se aplica a datos de un proceso no isotérmico. Y que utiliza la siguiente ecuación:

$$\log g(\alpha) = \log \frac{AE}{R\beta} + \ln p(x) \quad (34)$$

- e) Donde  $p(x)$  es conocida como la función integral de Arrhenius;  $x$  es igual a  $E/RT$  y  $\beta = dT/dt$  (Criado, 2008).

## 2.6. Efecto de la humedad

La humedad tiene un efecto significativo sobre la estabilidad del ingrediente farmacéuticamente activo (API) incluso si las reacciones no involucran moléculas de agua. A medida que se incrementa la temperatura, el contenido de agua en la atmósfera, para un determinado valor de humedad relativa, aumenta, sin embargo, la actividad del agua depende únicamente del valor de humedad relativa (%HR) (Huynh, 2009). Uno de los principales efectos del valor de humedad relativa, es la pérdida o adición de moléculas de agua de hidratación en las formas cristalinas del principio activo;

en ciertos casos esta pérdida de agua de hidratación puede resultar en la completa transformación del API al estado amorfo, que puede presentar una inestabilidad más alta que las formas cristalinas.

Para una determinada temperatura, el efecto de la humedad sobre la constante cinética puede representarse mediante la siguiente ecuación:

$$\ln k = B(\%HR) + C \quad (35)$$

Esta expresión se denomina, ecuación de sensibilidad a la humedad. Donde B y C son constantes. El valor de B, normalmente oscila entre 0,00 a 0,09; así por ejemplo, en condiciones de 10% RH, B tendrá un valor de 0.00 y en condiciones del 75% RH, B tendría un valor de 0,09 (Huynh, 2009).

En la determinación del tiempo de vida útil por isoconversión, es necesario especificar que las muestras se someten a las condiciones experimentales libres de su empaque, permitiendo que se logre un rápido equilibrio con el nivel de las variables experimentales.

## 2.7. Combinación del efecto de la temperatura y la humedad relativa

La combinación de las ecuaciones de Arrhenius y la de sensibilidad a la humedad (Porter, 2013) origina una ecuación que considera los efectos de la temperatura y la humedad sobre la estabilidad del API.

$$\ln k = \ln A - \frac{E}{RT} + B(\%HR) \quad (36)$$

Esta ecuación establece que la razón de degradación, o constante cinética, depende de la temperatura y de la humedad relativa.

Debido a que la ecuación tiene 3 constantes A, E y B; y tiene dos variables independientes, el mínimo número de experimentos que se requieren para resolver la ecuación es tres, siendo necesario incrementar el número de puntos para mejorar la precisión de las mediciones (Waterman et. al., 2007). En la mayoría de los estudios de dos a tres semanas pueden ser adecuados para determinar la vida útil de un producto en condiciones ambientales. Para iniciar un proceso de estudio, se puede usar un protocolo base, tal como se expone en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Protocolo para ensayo de estabilidad acelerada de formas farmacéuticas sólidas

T °C	%RH	Días (muestras 1)	$\alpha 1_{exp.}$	Días (muestras 2)	$\alpha 2_{exp.}$
50	75	4	a1	14	a1'
60	5	14	a2	21	a2'
60	40	4	a3	21	a3'
70	5	4	a4	21	a4'
70	75	1/3	a5	2	a5'
80	40	1/3	a6	4	a6'

Donde  $\alpha 1_{exp}$  y  $\alpha 2_{exp}$ , son los valores experimentales de degradación, que se esperan obtener en las condiciones de temperatura y humedad dentro de un determinado tiempo.

Otros autores sugieren variantes del protocolo indicado anteriormente, incluyendo condiciones de 5°C y 5% de RH para un tiempo de ensayo de 14 días (Freed, 2014).

Estas mediciones pueden ser usadas para estimar el tiempo de isoconversión en cada condición. (1) En primer lugar, se puede trazar una línea a través de los datos para encontrar la intercepción con la especificación límite. (2) Los dos puntos más cercanos al límite de la especificación, pueden ser usados para interpolar o extrapolar el tiempo para llegar a la especificación, (3) Un único punto más cercano a la especificación, puede ser usado para determinar  $k = \alpha/t$  (Waterman K. , 2014).

Para determinar la relación entre las variables con la degradación, se pueden usar dos metodologías, 1) transformar la ecuación de Arrhenius a la forma lineal y determinar las constantes mediante regresión por mínimos cuadrados 2) realizar un ajuste por mínimos cuadrados en la forma exponencial.

## 2.8 Precisión de los estudios de estabilidad acelerada por isoconversión

La determinación del valor de las constantes en la ecuación de Arrhenius corregida para la humedad está asociada a un valor de imprecisión proveniente de las mediciones. Además, tomando en consideración que

se necesita realizar una extrapolación en los ejes de temperatura y humedad, se incorpora otro factor de imprecisión. Realizar un procedimiento de propagación de errores en la ecuación de Arrhenius corregida es matemáticamente complicado, por lo que en su lugar, se utiliza una aproximación mediante simulación. La aproximación utilizada es el método Monte Carlo, que proporciona variaciones a cada temperatura y humedad relativa, dentro de cierto rango, y realiza un ajuste de mínimos cuadrados con todas las combinaciones posibles (Huynh, 2009). En la aplicación de la simulación con el método Monte Carlo, se asume una distribución Normal y su desviación estándar. La simulación en computadora comprende 5000 simulaciones experimentales, con el fin de construir límites de confianza para la degradación (Waterman et. al., 2007).

En el desarrollo del ensayo de estabilidad por isoconversión, es necesario considerar lo siguiente: a.- La precisión del análisis afectará la precisión del tiempo de vida útil, puede mejorarse el resultado aumentando el número de repeticiones, pero en muchos casos no será necesario. b.- Mayor extrapolación en la magnitud de % RH o temperatura, genera un mayor error de las predicciones. c.- Para ciertos APIs, extrapolaciones amplias proveen una aceptable determinación. d.- Condiciones de bajos niveles de humedad y altas temperaturas pueden causar problemas si se generan cambios físicos, tales como la deshidratación y cambios de formas cristalinas. e.- Existen observaciones sobre la aplicabilidad de protocolos de 14 días, debido a que puede existir cierto grado de imprecisión, sugiriendo que solo sea aplicable en las etapas iniciales de desarrollo (Waterman et. al., 2007).

## 2.9. Efecto del empaque

Como se ha expuesto hasta aquí, cuando una forma farmacéutica sólida, se somete a diferentes condiciones de humedad relativa, experimentará una transformación a un nuevo estado de equilibrio. Este fenómeno depende de varios factores tales como la temperatura, la diferencia de humedad y la permeabilidad de los materiales. Los productos que disponen de empaque externo ofrecen protección a la humedad, y en la evaluación de la estabilidad por isoconversión debe considerar el efecto de la humedad relativa sobre el medicamento dentro del empaque (Waterman K. et. al, 2010).

La determinación del efecto del empaque sobre la humedad relativa, involucra dos elementos claves: 1) la transferencia de la humedad dentro o fuera del empaque y equilibrio con el empaque. 2) el alcance del equilibrio dentro del envase es mucho más rápido que el de dentro hacia afuera. La transferencia de la humedad puede ser descrita como una razón de transmisión de humedad MVTR (*moisture vapor transmission rate*), que representa la cantidad de masa de agua que atraviesa las paredes hacia el interior de contenedor a una determinada temperatura. La permeabilidad P corresponde a la razón entre MVTR y la diferencia de humedad (Waterman K. *et. al*, 2010).

$$P = MVTR / \Delta RH \quad (37)$$

El nivel de humedad en el tiempo t, puede determinarse mediante la siguiente ecuación:

$$\ln \frac{\Delta H_0}{\Delta H_t} = Pt \quad (38)$$

Donde  $\Delta H_0$  y  $\Delta H_t$  son los valores de humedad al inicio y en el tiempo t y P es la permeabilidad del material.

MVTR, es una constante que depende de la temperatura y puede calcularse mediante la ecuación de Arrhenius.

$$\ln MVTR = \ln A - E_a/RT \quad (39)$$

Como ejemplo de la transferencia de humedad, se tiene que una botella de 60 mL, de polietileno de alta densidad (HDPE), cuya humedad inicial dentro del empaque fue de 20% cambió a 75% de HR, en alrededor de 10 días cuando se almacenó a 40°C y 75 %HR (Waterman K. *et. al*, 2010).

Por lo expuesto en esta sección, en la determinación del tiempo de vida útil por isoconversión, debería establecerse un método que considere la permeabilidad del empaque a diferentes temperaturas.

### 3. Ejemplo de cálculo de tiempo de vida útil por el método de isoconversión.

El siguiente ejemplo de pronóstico de la estabilidad de un medicamento mediante el método de la isoconversión se basa en ejemplos propuestos en textos y artículos de los autores Waterman, Porter y Huynh (Tablas 3 a 7 Figuras 5 a 7).

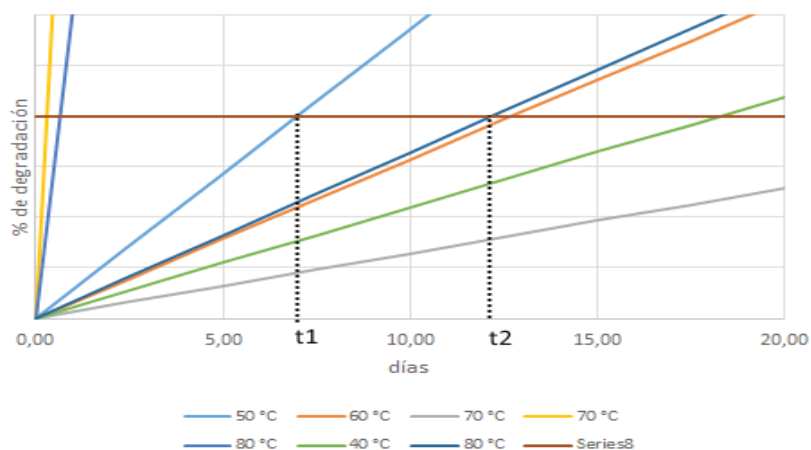
Límite de especificación: 0,20%

**Tabla 3.** Determinaciones experimentales

		Ensayo 1		Ensayo 2		Ensayo 3 (interpolación)	
T °C	% HR	t (d)	% deg.	t (d)	% deg.	t (d)	% deg.
50	75	14	0,45	7	0,20	7	0,20
60	40	14	0,24	14	0,22	12,73	0,20
70	5	14	0,09	-	-	31,11	0,20
70	75	1	0,68	-	-	0,29	0,20
80	40	2	0,59	1	0,31	0,65	0,20
40	75	-	-	21	0,23	18,26	0,20
80	5	-	-	11	0,18	12,22	0,20

**Tabla 4.** Cálculo de K

T (°K)	% HR	t (d)	% deg.	K	ln K
323,15	75	7,0	0,2	0,02857	-3,5553481
333,15	40	12,7	0,2	0,01571	-4,1531851
343,15	5	31,1	0,2	0,00643	-5,0470029
343,15	75	0,3	0,2	0,68000	-0,3856625
353,15	40	0,6	0,2	0,31000	-1,171183
313,15	75	18,3	0,2	0,01095	-4,5141984
353,15	5	12,2	0,2	0,01636	-4,1126937



**Figura 5.** Intersección de rectas con límite de especificación.

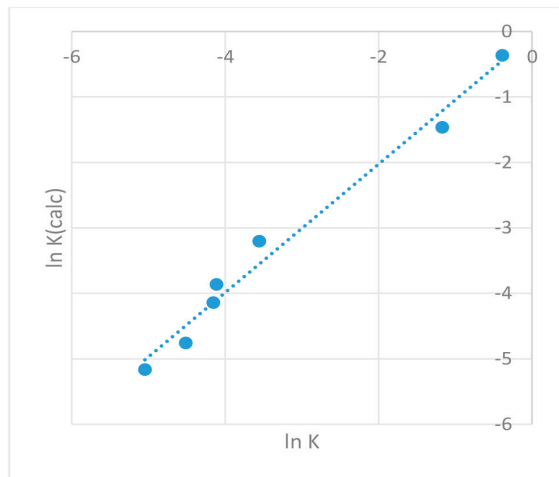
Regresión Lineal  $\ln K = \ln A - E/RT + B$ . RH

**Tabla 5.-** Regresión lineal, método de mínimos cuadrados

T (°K)	% HR	ln K	ln K(calc)	(kexp-kcalc)^2
323,15	75	-3,5553481	-3,2002656	0,1260835
333,15	40	-4,1531851	-4,1376771	0,0002405
343,15	5	-5,0470029	-5,1603333	0,0128438
343,15	75	-0,3856625	-0,3603341	0,0006415
353,15	40	-1,171183	-1,4609937	0,0839902
313,15	75	-4,5141984	-4,7562651	0,0585963
353,15	5	-4,1126937	-3,8609933	0,0633531



A= 40,3830  
 E/R= 15745,8475  
 B= 0,0686



**Figura 6.** Relación  $\ln(K)$  exp vs  $\ln(K)$  calculada)

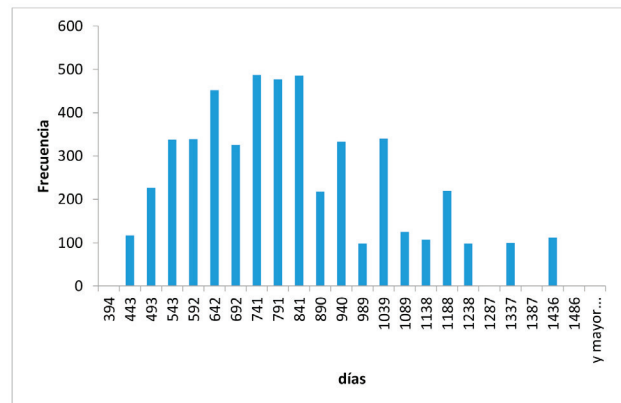
**Tabla 6.** Pronóstico del tiempo de degradación límite a 25°C y 60% humedad

Número simulaciones experimentales: 5000, variables aleatorias T y HR.

T° C	25
T° K	298,15
%RH	60
lnK calculado	-8,3145425
k	0,0002449
t(días)	816,56345
t(años)	2,24

**Tabla 7.** Simulación

Media	801,2
Error típico	3,3
Mediana	761,5
Moda	1149,1
Desviación estándar	236,4



**Figura 7.** Histograma obtenido de la simulación de ecuación de regresión.

### Interpretación

En el histograma se puede observar que los tiempos pronosticados para la estabilidad, oscilan entre 443 y 1436 días. En la distribución, la media, la moda y la mediana no coinciden, por lo que presenta asimetría. Sería necesario evaluar si el efecto de la asimetría se debe a la distribución de las variables aleatorias usadas en la simulación o si se debe a efectos de la ecuación de Arrhenius modificada obtenida de la regresión lineal.

De la simulación matemática se tiene que el valor de la media es de 801 días, lo que corresponde a 2,2 años y la desviación estándar es de 236,4 días, que equivalen a 0,64 años.

### 4. Conclusiones

La estimación del tiempo de vida útil de formas farmacéuticas sólidas, mediante el método de la isoconversión, puede ser un medio válido, aplicable en el desarrollo, la producción y el control post registro de medicamentos, pues promete lograr resultados precisos y en tiempos más cortos que el sistema tradicional.

## Bibliografía

- Alzante, K. (2013). Reviewing Advances in Chemistry of Drug Degradation. *Recent Trends in Product Development and Regulatory Issues on Impurities in Active Pharmaceutical Ingredient* (pp. 201-207). *Pharmaceutical Science Technology*.
- Atkins, P. (2006). *Physical Chemistry for the Life Sciences*. New York: L.E.G.O. S.p.A.
- Bajaj, S. (2012). Stability Testing of Pharmaceutical Products. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 129-138.
- Barua, R. (2008). Kinetics of Phase Transformation. *Royal Journal of Physics*, 1 a 16.
- Beke. (2014). Anomalous kinetics and regimes of growth . *Diffusion Foundations Vol. 2*, 107-139.
- Blessy. (2013). Development of forced degradation and stability. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 159-165.
- Boldyrev, V. (1986). Topochemistry of thermal decompositions of solids. *Thermochim Acta*, 315-338.
- Carstensen, J. (1974). Stability of Solids and Solid Dosage Forms. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Volumen 63, 1-14.
- Charde. (2014). Development of analytical and stability Testing method for Vitamin-A palmitate formulation. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry*, 39-51.
- Chunxiu, G. (2004, abril). Comparative method to evaluate reliable kinetic triplets of thermal decomposition reactions. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 76, 203-216.
- Criado, J. (2008). Critical Study of the Isoconversional Methods of Kinetic Analysis. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 199-203.
- Debesa, F. (2004). La Caducidad de los Medicamentos: justificación de una duda. *Revista Cubana de Medicamentos*, 1-10.
- Dhar, P. (2014). Thermal Degradation Kinetics of Poly (3-hydroxybutyrate)/Cellulose Nanocrystals crystals. *Thermodynamics & Catalysis*, vol 5, 2-7.
- Dubaj, T. (2014). An Incremental Isoconversional Method for Kinetic Analysis Based on the Orthogonal Distance Regression. *Journal of Computational Chemistry*, 1-7.
- Escobar, L. (2006). A Review of Accelerated Test Models. *Statistical Science*, 552-577.
- Freed, A. (2014). Regulatory responses to the use of various, lean stability strategies in early drug development. *Regulatory Rapporteur-vol 11 N° 7/8*, 5-8.
- Galwey. (1999). *Thermal Decomposition of Ionic Solids*, 1st Edition. Amsterdam: Elsevier.
- Genton. (1976). Effect of Temperature and Relative Humidity on Nitrazepam Stability in Solid State. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 676-679.
- Golonka, I. (2015, Agosto). Stability Studies of a Mixture of Paracetamol and Ascorbic Acid, Prepared Extempore, at Elevated Temperature and Humidity Conditions. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(8), 1315-1320.
- Gutzow. (2010). Kinetics of chemical reactions and phase transitions at changing temperature: General reconsiderations and a new approach. *Bulgarian Chemical Communications*, Volume 42, Number 2, 79-102.
- Huynh, K. (2009). *Handbook of Stability Testing in Pharmaceutical Development* (primera ed.). New York: Springer.
- ICH. (2003). Q1A (R2) Stability Testing of New Drug Substances and Products. Orckville Pike: ICH.
- ICHQ1A(R2). (2003). Stability Testing of New Drug Substances and Products. International Conference on Harmonization of technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.
- Jacobs, P. (1997). Formation and Growth of Nuclei and the Growth of Interfaces in the Chemical Decomposition of Solids. *The Journal of Physical Chemistry*, 10086–10093.
- Kaur, M. (2013). Overview on Stability Studies. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 1231-1241.
- Kenneth, C. (2011). The Application of the Accelerated Stability Assessment Program (ASAP) to Quality by Design (QbD) for Drug Product Stability. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 932-937.
- Khawan, A. (2006). Basics and Applications of Solid-State Kinetics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, VOL. 95, NO. 3, MARCH 2006, 472-500.
- Kommanaboyina, B. (1999). Regulation of Stability of Marketed Pharmaceuticals. Rhode Island: University of Rhode Island, Open Access Master's Theses. Paper 259.
- Mingarro, I. d. (1992). Estudio de los Mecanismos de Reacción y Cristalización en Vidrios Obtenidos a Partir de Rocas Basálticas de Canarias. Canarias: Universidad de Canarias.
- Morales, J. (1995). Mecanismos de Nucleación y Crecimiento de Ferrita. Monterrey: Universidad Autónoma de Nuevo Leon.
- Muller, C. (2013). Mechanistic Approach to Stability Studies as a Tool for the Optimization and Development of New Products Based on L. rhamnosus Lcr35H in Compliance with Current Regulations. *Plos One*, 8(11), 1-6.
- Nagu, P. (2016). Effect of Light, Heat and Air Exposure on Shelf Life and Stability of Ceftriaxone. *International Journal of Recent Scientific Research*, 8101-8107.

- OMS. (1996). Anexo 5, Informe 34. Ginebra: OMS.
- OMS. (2006). Forty Thrid Report (1 ed.). Ginebra: WHO.
- OMS. (2006). Stability Testing of Active Substances and Pharmaceutical Products. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- Porter, W. (2012). Thermally Accelerated Degradation and Storage Temperature Design Space for Liquid Products. *Journal of Validation Technology*, 73-92.
- Porter, W. (2013). Degradation of Pharmaceutical Solids Accelerated by Changes in Both Relative Humidity and Storage Temperature and Combined Storage Temperature and Storage Relative Humidity Design Space for Solid Products. *Institute of Validation Technology*, 73-92.
- Rauk, A. (2014). Arrhenius Time-Scaled Least Squares: A Simple, Robust Approach to Accelerated Stability Data Analysis for Bioproducts. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2278-2286.
- Sanjay, B. (2012). Stability Testing of Pharmaceutical Products. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 129-138.
- Schie, I., Krafft, C., & Poppab, J. (2015). Applications of coherent Raman scattering microscopies to clinical and biological studies. *Analyst*.
- Shi, C. (2006). *Alkali Activated Cements and Concretes*. London: Taylor & Francis.
- Vipul, A. (2012). Stability Testing of a Active Pharmaceutical Ingredient. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, 18-23.
- Vlaev, L. (2008). A comparative study of non-isothermal kinetics of decomposition of calcium oxalate nonohydrate. *Jurnal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 254-262.
- Vyazovkin, S. (2015). *Isoconversional Kinetics of Thermally Stimulated Processes*. Alabama: University of Alabama.
- Waterman, et. al. (2007). Improved Protocol and Data Analysis for Accelerated Shelf-Life Estimation of Solid Dosage Forms. *Pharmaceutical Research*, 24(4), 780-790.
- Waterman, K. (2012). Accelerated Stability Assessment Program (ASAP): Using Science to Set Shelf Life. *The Journal of Pharmaceutical & Biopharmaceutical Contract Services*.
- Waterman, K. (2014). A Scientific and Statistical Analysis of Part 1: Accuracy of Fitting Methods. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3000-3006.
- Waterman, K. C. (2012). Accelerated Stability Assessment Program (ASAP): Using Science to Set Shelf Life. *Pharmaceutical Outsourcing*.
- Waterman, K. et. al. (2010). Package Selection for Moisture Protection for Solid, Oral Drug Products. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol 99, 4437-4451.
- Wyandt, C. (1992). Solid-state non-isothermal kinetics of sulfonamide-ammonia adduct desolvation. *Thermochemica Acta*, 379-389.