

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA
“ALBERTO CAZORLA TALLERI”



Estudio de Bioequivalencia "*in vitro*" de tres productos genéricos (tabletas) de liberación inmediata que contienen Metformina Clorhidrato 850 mg con el medicamento innovador comercializados en Perú

Katrin Melissa Ruiz De Paz

Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico

Lima-Perú

2017

ASESOR

Leon Faustino Villegas Vilchez, Msc.

MIEMBROS DEL JURADO

MBA. Q.F. Gustavo Bravo Orellana

Q.F. Edgard Palomino Fernández

Mg. Q.F. Carolina Ponce De León

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitirme estar aquí y gozar de la vida, a mis abuelitos Amable Balladares, Lauro De Paz y Primitivo Ruiz quienes desde el cielo guían mi camino.

Le doy gracias a mis padres, Carlos Alfredo Ruiz Balladares y Betty Elena De Paz Matías quienes me inculcaron valores, apoyaron para acceder a una educación de excelencia, aconsejaron y brindaron su ayuda en todo momento para cumplir con mis metas trazadas.

A mis hermanos, Steffi Ruiz De Paz y Alfredo Ruiz De Paz quienes fueron mi modelo a seguir como estudiante, gracias a su ejemplo y apoyo, me dieron fuerzas para no desistir en momentos difíciles.

Un agradecimiento especial a mi asesor Msc. Leon Villegas Vilchez por la oportunidad de asistir a su laboratorio, por brindarme los instrumentos e insumos necesarios para poder realizar la parte experimental de mi tesis, así como su asesoría y conocimiento fueron pieza fundamental para cumplir con esta meta. De igual manera para la Q.F. Carlita Leisy Casa Ramos, Q.F. Erik Olivar Gallegos y Blgo. Julio Hidalgo Ascencio por su paciencia, conocimientos y experiencias brindadas.

RESUMEN

La presente tesis realiza un estudio de bioequivalencia *in vitro* entre tres medicamentos genéricos en tabletas de liberación inmediata que contienen metformina clorhidrato de 850 mg de fabricación nacional a quienes les asignamos las letras A, B y C versus el medicamento de referencia (R) Glucophage 850 mg (Merck, Francia) con el objetivo de establecer si son medicamentos bioequivalentes.

Para el protocolo se tomó como referencia la metodología establecida por la FDA “Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System”. Asimismo, se realizaron las pruebas de disolución, valoración y uniformidad de dosis según la USP 38.

Los perfiles de disolución obtenidos en tres medios diferentes (ácido clorhídrico pH 1.2, acetato de sodio pH 4.5 y fosfato de potasio pH 6.8) fueron analizados mediante el método de modelo independiente para establecer similitud a través del cálculo de los factores de diferencia (f1) y de similitud (f2) según las recomendaciones de la FDA.

Los resultados mostraron que los productos R, A, B y C cumplieron con los parámetros de calidad de la USP 38 para las pruebas de disolución (S1, porcentaje de disolución no menor a 75%), valoración entre 95 a 105% de lo declarado (R= 96.97%, A=95.46%, B=100.54% y C=97.65%) y uniformidad de dosis con valores de L1 menor o igual a 15 (R=2.8, A=6.6, B=1.6 y C=3.6). En relación con el estudio de bioequivalencia *in vitro* presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los medicamentos, siendo sólo los valores aceptables para el medicamento A en pH 4.5 (f1 = 13.23, f2= 50.25) y pH 6.8 (f1= 9.06, f2=59.02) y para el medicamento B y C en pH 6.8 (f1=12.42, f2=52.19 y f1=9.33 f2=56.02 respectivamente) en relación con el producto de referencia.

Se concluye que los medicamentos genéricos a pesar de que cumplen con los parámetros de calidad de la USP 38, no son bioequivalentes *in vitro* al medicamento de referencia.

Palabras clave: Perfil de disolución, Bioexención, Biodisponibilidad, SCB, contenido, uniformidad de dosis

ABSTRACT

The present thesis conducts an in vitro bioequivalence study between three generic immediate release tablets containing metformin hydrochloride of 850 mg of national manufacture to whom we assign the letters A, B and C against the reference product Glucophage 850 Mg (Merck, France) with the aim of establishing bioequivalent.

For the protocol was taken as a reference the methodology established by the FDA " Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System".

The dissolution profiles obtained in three different media (hydrochloric acid pH 1.2, sodium acetate pH 4.5 and potassium phosphate pH 6.8) were analyzed using the independent model method to establish similarity by calculating the difference factors (f1) and similarity (f2) according to FDA recommendations.

The results showed that the products R, A, B and C obtained values within quality parameters of USP 38 for dissolution tests (S1, percentage of dissolution greater than 75%), content of active ingredient between 95 and 105% of the declared (R=96.97%, A=95.46%, B=100.54% and C=97.65%) and dose uniformity with L1 values less or equal to 15 (R =2.8, A=6.6, B=1.6 and C=3.6). In relation to the in vitro bioequivalence study showed statistically significant differences between the drugs, with only the acceptable values for drug A at pH 4.5 (f1=13.23, f2=50.25) and pH 6.8 (f1=9.06, f2=59.02), and for drug B and C at pH 6.8 (f1=12.42, f2=52.19 and f1=9.33, f2 = 56.02 respectively) in relation to the reference product.

It is concluded that generic drugs, even though they meet the quality parameters of USP 38, are not bioequivalent in vitro to the reference drug.

Keywords: Dissolution profile, Biowaiver, Bioavailability, BCS, Content, Dose uniformity

CONTENIDO

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABLAS	12
ABREVIATURAS	13
GLOSARIO	15
I.- INTRODUCCIÓN	18
II.-MARCO TEÓRICO	21
2.1 Diabetes.....	21
2.1.1 Concepto.....	21
2.1.2 Clasificación.....	22
2.1.3 Diabetes Mellitus tipo 2.....	22
2.1.3.1 Fisiopatología.....	22
2.1.3.2 Agentes antidiabéticos orales.....	23
2.1.4 Metformina clorhidrato.....	26
2.1.4.1 Concepto.....	26
2.1.4.2 Propiedades químicas.....	26
2.1.4.3 Farmacocinética.....	27
2.1.4.4 Transporte.....	27
2.1.4.5 Medicamento innovador: Glucophage.....	27
2.2 Tabletas de liberación inmediata.....	28
2.2.1 Biofarmacia y farmacocinética.....	28
2.2.1.1Liberación del fármaco.....	29
2.2.1.2 Absorción.....	29
2.3 Estudios de Biodisponibilidad (BD) y de Bioequivalencia (BE).....	30
2.3.1 Concepto de Biodisponibilidad (BD).....	30
2.3.2 Estudios de bioequivalencia <i>in vitro</i>	32
2.3.2.1 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB).....	32
2.3.2.2 Bioexención y Normatividad.....	34
2.4 Medicamentos genéricos en el Perú.....	36

2.5 Otros estudios de Bioequivalencia <i>in vitro</i>	37
III.- HIPÓTESIS	39
IV.- OBJETIVOS	39
4.1 Objetivo general.....	39
4.2 Objetivos específicos.....	39
V.- MATERIALES Y REACTIVOS	40
5.1 Equipos, reactivos y Materiales.....	40
5.2 Patrón de referencia.....	40
5.3 Muestras	40
5.3.1 Aspectos Técnicos	41
5.3.2 Pruebas químicas	41
5.3.2.1 Prueba de disolución	41
5.3.2.1.1 Preparación del estándar	42
5.3.2.1.2 Preparación de la muestra	42
5.3.2.2 Valoración	42
5.3.2.2.1 Preparación del estándar	42
5.3.2.2.2 Preparación de la muestra	43
5.3.2.3 Uniformidad de unidades de dosificación	43
5.4 Estudio de Bioequivalencia “ <i>in vitro</i> ”	43
5.4.1 Curva de calibración	44
5.4.2 Perfil de disolución “ <i>in vitro</i> ”	44
5.4.2.1 Preparación de las soluciones buffers	44
5.4.2.2 Preparación de la solución estándar	45
5.4.2.3 Preparación de la muestra	45
5.5 Análisis estadístico	46
VI. RESULTADOS	48
6.1 Pruebas de control de calidad	48
6.2 Prueba de Bioequivalencia “ <i>in vitro</i> ”	51
6.2.1 Curva de calibración.....	51
6.2.2 Perfiles de disolución	53
VII. DISCUSIÓN	62

VIII. CONCLUSIONES	68
IX. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	69
X. ANEXOS	75
ANEXO 1	
ANEXO 2	
ANEXO 3	
ANEXO 4	
ANEXO 5	
ANEXO 6	
ANEXO 7	
ANEXO 8	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estructura química de Metformina clorhidrato.....	26
Figura 2	Determinación de la Biodisponibilidad de un fármaco	30
Figura 3	Biodisponibilidad de diferentes formulaciones	31
Figura 4	Gráfico de linealidad para cuantificar metformina clorhidrato, solución ácido clorhídrico pH 1.2.....	52
Figura 5	Gráfico de linealidad para cuantificar metformina clorhidrato, buffer acetato de sodio pH 4.5.....	52
Figura 6	Gráfico de linealidad para cuantificar metformina clorhidrato, buffer fosfato de potasio pH 6.8.....	52
Figura 7	Perfil de disolución del medicamento genérico A vs medicamento de referencia en medio ácido clorhídrico, pH 1.2.....	55
Figura 8	Perfil de disolución del medicamento genérico B vs medicamento de referencia en medio ácido clorhídrico, pH 1.2.....	55
Figura 9	Perfil de disolución del medicamento genérico C vs medicamento de referencia en medio ácido clorhídrico, pH 1.2.....	56
Figura 10	Perfil de disolución de los medicamentos genéricos A, B y C vs medicamento de referencia en medio ácido clorhídrico, pH 1.2.....	56
Figura 11	Perfil de disolución del medicamento genérico A vs medicamento de referencia en buffer acetato de sodio, pH 4.5.....	57
Figura 12	Perfil de disolución del medicamento genérico B vs medicamento de referencia en buffer acetato de sodio, pH 4.5	57
Figura 13	Perfil de disolución del medicamento genérico C vs medicamento	

	de referencia en buffer acetato de sodio, pH 4.5.....	58
Figura 14	Perfil de disolución de los medicamentos genéricos A, B y C vs medicamento de referencia en buffer acetato de sodio, pH 4.5.....	58
Figura 15	Perfil de disolución del medicamento genérico A vs medicamento de referencia en buffer fosfato de potasio, pH 6.8.....	59
Figura 16	Perfil de disolución del medicamento genérico B vs medicamento de referencia en buffer fosfato de potasio, pH 6.8.....	59
Figura 17	Perfil de disolución del medicamento genérico C vs medicamento de referencia en buffer fosfato de potasio, pH 6.8.....	60
Figura 18	Perfil de disolución de los medicamentos genéricos A, B y C vs medicamento de referencia en buffer fosfato de potasio, pH 6.8.....	60

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Sistema de Clasificación Biofarmacéutica.....	32
Tabla 2	Aspectos técnicos de los medicamentos en estudio.....	48
Tabla 3	Valoración del contenido de metformina clorhidrato 850 mg en tabletas de liberación inmediata (A, B, C y referencia)	49
Tabla 4	Uniformidad de dosis por variación de peso para tabletas de metformina clorhidrato 850 mg (A, B, C y referencia)	50
Tabla 5	Prueba de disolución de tabletas de metformina clorhidrato 850 mg (A, B, C y referencia)	51
Tabla 6	Promedio del porcentaje de disolución del medicamento genérico A, B, C y referencia en cada tiempo establecido en solución ácido clorhídrico, pH 1.2	53
Tabla 7	Promedio del porcentaje de disolución del medicamento genérico A, B, C y referencia en cada tiempo establecido en buffer acetato de sodio, pH 4.5	54
Tabla 8	Promedio del porcentaje de disolución del medicamento genérico A, B, C y referencia en cada tiempo establecido en buffer fosfato de potasio, pH 6.8	54
Tabla 9	Valores del factor f1 y f2 de los medicamentos genéricos de metformina clorhidrato versus el referencial (Glucophage 850 mg)	61

ABREVIATURAS

SCB: Sistema de Clasificación Farmacéutica

IMS: Institute for Healthcare Informatics

BD: Biodisponibilidad

BE: Bioequivalencia

PNEMU: Petitorio Nacional Único de Medicamentos Esenciales

ENT: Enfermedades No Transmisibles

INEI: Instituto Nacional de Estadística e Informática

DIGEMID: Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas

DCI: Denominación Común Internacional

DEMID: Dirección Ejecutiva de Medicamentos, Insumos y Drogas

DS: Desviación estándar

EMEA: Agencia Europea de Medicamentos

FDA: Food and Drug Administration

USP: Farmacopea de los Estados Unidos

%CV: Coeficiente de variación expresado en porcentaje

UV: Ultravioleta

ROS: Especies de oxígeno reactivos

APK: AMP-Dependent Protein Kinase

IDF: Federación Internacional de Diabetes

EASD: European Association for the Study of Diabetes

DPP-4: Dipeptidil peptidasa-4

GLP-1: Péptido similar al glucagón tipo 1

GIP: Polipéptido inhibidor gástrico

PPAR γ : Peroxisoma-proliferador-activado gamma

ATP: Adenosina trifosfato

DM2: Diabetes mellitus tipo 2

Tmax: Tiempo máximo

PMAT: Transportador de monoamina de la membrana plasmática

OCT1: Transportador de cationes orgánicos 1

OCT3: Transportador de cationes orgánicos 3

LADME: Liberación, Absorción, Distribución, Metabolización y Excreción

TGI: tracto gastrointestinal

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura

IFA: Ingrediente Farmacéutico Activo

OMS: Organización Mundial de la Salud

USP: Farmacopea de los Estados Unidos

ADA: American Diabetes Association

ZDF: Zucker Diabetic Fatty

GLOSARIO

Absorción: Pasaje del fármaco desde el sitio de administración hacia el interior del organismo.

Administración posprandial: Administración de fármacos después de las comidas.

Administración preprandial: Administración de fármacos antes de las comidas.

Apoptosis: Muerte celular programada.

Área bajo la curva (ABC): Representa la cantidad de fármaco que llega a la circulación.

Biodisponibilidad: Velocidad y cantidad con la cual la fracción activa es absorbido desde la forma farmacéutica y se encuentra disponible en forma inalterada en la circulación general.

Bioexención: Excepción de realizar estudios *in vivo* para demostrar equivalencia terapéutica.

Biofarmacia: Estudia la influencia de la formulación y la técnica de elaboración de un medicamento sobre su actividad terapéutica.

Buenas Prácticas de Manufactura (BPM): Es el conjunto de procedimientos y normas destinadas a garantizar la producción uniforme de lotes de medicamentos que satisfagan las normas de identidad, actividad y pureza, etc. Estas normas incluyen, además, los programas de control y garantía de calidad.

Concentración plasmática máxima: Representa la concentración plasmática máxima alcanzada luego de la administración extravascular de un fármaco y está relacionada con la cantidad de fármaco absorbida.

Denominación Común Internacional (DCI): Nombre común para los medicamentos recomendada por la Organización Mundial de la Salud, con el objeto de lograr su identificación internacional.

Excipiente: Sustancias que, a las concentraciones presentes en una forma farmacéutica, carecen de actividad farmacológica; ello no excluye la posibilidad de que determinados excipientes pueden causar reacciones alérgicas o efectos indeseables.

Farmacocinética: Estudio de la cinética de los procesos de absorción, distribución, biotransformación y excreción de los medicamentos y sus metabolitos. Incluye generalmente el

estudio del curso temporal de la acción de los medicamentos y su relación con la concentración del medicamento en los líquidos y tejidos corporales (estudia “*lo que el organismo le hace al medicamento*”)

Gluconeogénesis: Ruta metabólica mediante la cual se produce glucosa a partir de precursores tales como lactato, piruvato, glicerol u otros intermediarios.

Ingrediente Farmacéutico Activo: Una sustancia o compuesto a utilizarse en la fabricación de un producto farmacéutico como compuesto farmacológicamente activo (ingrediente).

Lipogénesis: Reacción bioquímica por la cual son sintetizados los ácidos grasos y esterificados o unidos con el glicerol para formar triglicéridos o grasas de reserva.

Medicamento de liberación inmediata: Preparaciones en las que la liberación de la sustancia o sustancias activas no está deliberadamente modificada por un diseño de formulación particular ni por un método de fabricación especial.

Países de alta vigilancia sanitaria: Países que mantiene indicadores de salud pública elevados, posee regulaciones y sistemas de vigilancia y control en salud fortalecidos, así como un sistema de garantía de la calidad consolidado, entre otros indicadores que lo colocan como país referente en el mundo en vigilancia de la salud.

Perfil de disolución: Curva que caracteriza la cinética de disolución cuando se representa gráficamente la cantidad o porcentaje del medicamento disuelto en función del tiempo.

Petitorio Nacional Único de medicamentos Esenciales: Es un listado único de medicamentos esenciales que es fundamental de una política farmacéutica nacional para identificar aquellos medicamentos que satisfacen las necesidades prioritarias de la población, tienen eficacia terapéutica comprobada, son aceptablemente seguros, deben estar disponibles en todo momento y al alcance de la población que los necesita.

Polimorfismo: capacidad que tiene un compuesto para formar estructuras diferentes y se denomina polimorfo a cada forma en que un compuesto es capaz de cristalizar.

Principio activo: Cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a ser usadas en la fabricación de un medicamento como un compuesto terapéuticamente activo (ingrediente).

Producto innovador: Generalmente es aquél que es autorizado por primera vez en el mundo sobre la base de documentación de calidad, seguridad y eficacia.

Registro sanitario: Instrumento legal otorgado por la DIGEMID, que autoriza la fabricación, importación y comercialización de los productos farmacéuticos y afines, en el cual se recoge la composición y formulación detalladas del producto.

Resistencia a la insulina: Alteración genética o adquirida caracterizada por la disminución de la respuesta tisular a la acción de la insulina.

Secretagogos de insulina: Medicamentos que estimulan a la célula beta para que segregue insulina.

Tiempo máximo: Tiempo desde la administración hasta que se alcanza la concentración plasmática máxima.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos tiempos, los medicamentos genéricos han tomado gran importancia en la contribución de mejoras en el sector salud. Una de las finalidades del establecimiento de políticas de genéricos es incrementar el acceso a medicamentos seguros, eficaces y de calidad con un precio menor que en muchos casos, a consecuencia de la utilización en exceso de la protección de la propiedad intelectual sin ninguna restricción da lugar a la formación de monopolios y por consiguiente al elevado precio del medicamento¹.

En los años 70, se reportaron varias alertas en países como EEUU, Canadá e Inglaterra, tras encontrarse varias evidencias de formulaciones de medicamentos genéricos con problemas de biodisponibilidad, los cuales contenían principios activos tales como digoxina, fenitoína, ciclosporina, warfarina, teofilina, fenotiazinas, estrógenos conjugados, entre otros, llegando a causar problemas de relevancia clínica por falta de eficacia (efecto) o seguridad (toxicidad); conllevando a las entidades de regulaciones no sólo a exigir la demostración que presenta el mismo principio activo, dosis, forma farmacéutica, vía de administración y calidad fisicoquímica, sino también sus propiedades farmacocinéticas (biodisponibilidad-bioequivalencia) similares al medicamento innovador, de esta manera se puede comprobar que a pesar que no se le realizaron estudios clínicos, es un medicamento eficaz y seguro^{2,3}.

Los estudios de bioequivalencia *in vivo* fueron considerados la prueba “Gold Standard” para establecer equivalencia e intercambiabilidad de medicamentos, se basa en garantizar que los medicamentos genéricos generan una curva de niveles plasmáticos en función del tiempo idéntica a la del innovador, por lo tanto, tendrán los mismos efectos sistémicos, su desventaja es su alto costo y el tiempo que demanda en realizarlo. En 1995, Gordon y colaboradores propusieron el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB), con el propósito de utilizar la prueba de disolución *in vitro* para sustituir estudios de bioequivalencia *in vivo*, con ello, facilitar el desarrollo y regulación de medicamentos genéricos de administración oral de liberación inmediata. Esta herramienta resultó ser una de las más predictivas de los últimos años, cambiando el paradigma de los estudios de bioequivalencia y llegando a formar parte del establecimiento de estándares de biodisponibilidad y bioequivalencia de medicamentos de liberación inmediata en agencias reguladoras en todo el mundo; en Estados Unidos por la Food

and Drug Administration (FDA), en Europa por la European Medicines Agency (EMA) y en otros países por la World Health Organization (WHO)^{4,5}.

La realización de la prueba de bioequivalencia se debe entender como un requerimiento mínimo para la comercialización de medicamentos genéricos en países de alta vigilancia y cada vez más frecuente en países en desarrollo. En América Latina, la situación de los estudios de bioequivalencia es muy variable, reportándose países que han alcanzado grandes avances, otros que se encuentran en proceso de realizar el estudio a una gran cobertura de medicamentos, así como también países que aún no han generado reglas. En América del sur, los países que cuentan con un listado de medicamentos bioequivalentes son Argentina, Colombia, Brasil y Chile. En nuestro país, se aprobó la ley N°29459 publicada en el 2009, que introduce la exigencia de estudio de bioequivalencia *in vivo* ó *in vitro* para la inscripción y reinscripción de los medicamentos genéricos en el registro sanitario, lamentablemente el cumplimiento de estas exigencias se encuentra pendiente, creando dudas en la población sobre su eficacia, la cual se refleja en el bajo porcentaje de su adquisición, reportándose en el 2012 que solo el 11% del sector privado adquiere medicamentos genéricos, según un estudio realizado por IMS Health ^{6,7}. En EEUU, los medicamentos genéricos constituyen el 89% de recetas dispensadas que corresponde al 27% del gasto total, a comparación del 11% que corresponde a medicamentos de marca, siendo responsables del 73% del gasto en medicamentos, generando ahorros en los sistemas de salud de \$227 billones en el 2015 y \$1.46 trillones en los últimos 10 años. Un estudio muestra que, si en Perú se consumiera 11 medicamentos genéricos de 18 medicamentos que pertenecen a la clasificación antibacteriano, antiasmático, antiulceroso, cardiovascular, antidepresivo, antiepiléptico, antiviral y antidiabético, se obtendría un ahorro de 79% en promedio del gasto privado, lo que equivale a más de 2.5 millones de dólares ^{8,9}.

La diabetes es una enfermedad que es considerada una de las diez principales causas de discapacidad en los adultos, un tratamiento mal gestionado y/o ejecutado a largo plazo conduce a complicaciones devastadoras como la ceguera y amputaciones de miembros inferiores, causando daños también en los riñones, corazón y ocasionando la muerte prematura^{10,11}. Metformina Clorhidrato es un medicamento de administración oral que pertenece al grupo de las Biguanidas, es considerado el medicamento de elección para el tratamiento de Diabetes

mellitus de tipo 2, está incluida dentro del Petitorio Nacional Único de medicamentos Esenciales (PNUME). Desde el punto de vista biofarmacéutico, tiene alta solubilidad y baja permeabilidad para membranas celulares, por lo que es clasificado según la SCB como una droga de clase III. En el mercado peruano se encuentra el medicamento innovador Glucophage, así como también aproximadamente 25 formulaciones de Metformina clorhidrato 850 mg, de las cuales 9 son genéricos comercializados con Denominación Común Internacional (DCI), siendo el 56% de origen nacional y el 44% importados ^{12,13,14}.

En el 2015, se ha notificado una alerta por sospecha de reacciones adversas de metformina clorhidrato 850 mg por la Dirección Ejecutiva de Medicamentos, Insumos y Drogas (DEMID) de Tacna y en el 2016, la Dirección General de Medicamentos, insumos y drogas (DIGEMID) estableció el retiro de un lote en específico de metformina clorhidrato 850 mg cuyo resultado de control de calidad fue considerado crítico al reportarse no conforme a la prueba de disolución. Por los motivos antes descritos es importante realizar el estudio de bioequivalencia *in vitro* de medicamentos genéricos que se comercializan en nuestro país principalmente de enfermedades crónicas como la diabetes para evaluar su eficacia, seguridad y calidad ^{15,16}.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Diabetes

2.1.1 Concepto

La diabetes es una enfermedad crónica que se desarrolla cuando el cuerpo no produce suficiente insulina o cuando no puede utilizar la insulina con efectividad, causando disturbios en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y grasas. Su carácter es serio y de mucha importancia en salud pública siendo considerada a nivel mundial como una de las cuatro Enfermedades No Transmisibles (ENT) para intervenir con urgencia. Entre las complicaciones que provoca cualquier tipo de diabetes en el organismo incluye: incremento de muerte prematura, ataques cardíacos, accidentes cerebrovasculares, insuficiencia renal, daños neurológicos, aumento de riesgo de muerte fetal durante el embarazo y complicaciones devastadoras como la ceguera y amputaciones de miembros inferiores, por tal razón es considerada una de las 10 principales causas de discapacidad en adultos¹⁷.

La OMS estima que 422 millones de adultos en todo el mundo tenían diabetes en el 2014 frente a los 108 millones en el año 1980. Desde ese año la prevalencia mundial, normalizado por edades, casi se ha duplicado, pasando el porcentaje de adultos del 4,7% al 8,5%. De no emprenderse ninguna acción, se prevé que en el 2030 aumentará hasta 522 millones, es decir un adulto por cada diez^{17,18}.

Se estima que en nuestro país al menos 1 300 000 personas presentan esta enfermedad y que ocasiona 5500 defunciones cada año lo que significa que fallecen 19 personas con diabetes por cada 100 000 peruanos. Las mayores tasas de mortalidad se encuentran en departamentos de la costa norte y de la región amazónica (Tumbes, Madre de Dios, San Martín, Loreto y Piura). En el 2012, la diabetes mellitus constituía la sexta subcategoría con mayor carga a nivel nacional con un total de 199 496 personas¹⁹.

La Diabetes es considerada una enfermedad costosa, tanto para las personas que lo padecen como para los sistemas sanitarios. Los gastos principales que se realizan corresponden a los fármacos empleados en el tratamiento, hospitalización y atención ambulatoria ²⁰.

2.1.2 Clasificación

La guía publicada por la American Diabetes Association (ADA): “Standards of Medical Care in Diabetes 2017”, clasifica a la diabetes mellitus de acuerdo con su etiología y características fisiopatológicas. Actualmente, esta clasificación es la más usada y abarca 4 categorías generales, siendo la diabetes mellitus tipo 2 la más frecuente ²¹:

- Diabetes mellitus tipo 1
- Diabetes mellitus tipo 2
- Diabetes mellitus gestacional
- Otros tipos específicos de diabetes: Síndrome de diabetes monogénica (MODY), enfermedades del páncreas exocrino (fibrosis quística), diabetes inducida por medicamentos (uso de glucocorticoides, tratamiento de VIH/SIDA, después de un trasplante de órganos).

2.1.3 Diabetes Mellitus tipo 2

2.1.3.1 Fisiopatología

La diabetes mellitus tipo 2 se asocia a un aumento de la concentración plasmática de insulina (hiperinsulinemia). En un principio, la entrada de glucosa a las células del músculo esquelético e hígado disminuye, a dicho evento se le conoce como “resistencia a insulina”. La reducción de la sensibilidad a la insulina altera la utilización y almacenamiento de los hidratos de carbono, aumenta la concentración de insulina en sangre e induce al riñón a producir mayor cantidad de insulina como mecanismo compensador.

El desarrollo de la resistencia a la insulina y la alteración del metabolismo de la glucosa, suele ser un proceso gradual que comienza con aumento de peso que más adelante desarrolla obesidad, además forma parte de una serie de consecuencias de trastornos que se conoce como “síndrome metabólico” , el cual se caracteriza por: 1) obesidad, sobre todo acumulación de grasa abdominal; 2) resistencia a la insulina ; 3) hiperglucemia en ayunas; 4) anomalía de los lípidos, con aumento de triglicéridos en la sangre y disminución del colesterol unido a la lipoproteína de alta densidad y 5)hipertensión.

Se piensa que la mayor parte de la resistencia a la insulina se debe a anomalías en las vías de señalización que relacionan la activación del receptor con múltiples efectos celulares. Cuando la resistencia a insulina es prolongada y grave, no es suficiente la mayor cantidad de insulina secretada para mantener una regulación normal de glucemia. En la diabetes más prolongada y avanzada, las células del páncreas se agotan o están dañadas y son incapaces de producir insulina suficiente para evitar una hiperglucemia más grave. En un estudio con ratas Zucker Diabetic Fatty (ZDF), animal obeso usado como modelo en investigaciones sobre diabetes tipo 2, se observó la capacidad de la célula beta para compensar la hiperglucemia crónica. Después de tiempo, la obesidad, la hiperglucemia crónica y el empeoramiento de la resistencia a la insulina producen incremento de la apoptosis de células betas. Es posible que altas concentraciones de glucosa en tiempo cada vez más prolongados satura la vía normal de la glucólisis causando la desviación a otras vías alternativas, generando especies reactivas del oxígeno (ROS) dentro y fuera de las mitocondrias que daña a las células beta del páncreas. La diabetes tipo II se caracteriza por poca secreción de insulina y resistencia periférica a la insulina ^{22,23}.

2.1.3.2 Agentes antidiabéticos orales

En la actualidad el tratamiento de Diabetes mellitus tipo 2 cuenta con los siguientes grupos de fármacos ^{21,24,25}:

1) Biguanidas:

Esta clase de medicamentos actúa aumentando la actividad de la proteína cinasa dependiente de AMP (APK), luego de ser activada estimula la oxidación de ácidos grasos, la captación de glucosa y el metabolismo no oxidativo, reduciendo la lipogénesis y la gluconeogénesis. El resultado neto es el aumento del uso de la glucosa en el músculo, disminución de la gluconeogénesis hepática y aumento de la sensibilidad a la insulina con reducción en la glucemia. Metformina clorhidrato es aceptada como tratamiento de primera línea para diabetes mellitus tipo 2; sus efectos secundarios más comunes son a nivel gastrointestinal. Se ha reportado entre 10 a 25% de pacientes que usan metformina, presentan náusea, indigestión, dolor cólico abdominal, distensión, diarrea o alguna combinación de estos síntomas.

Metformina es el único medicamento de la clase de biguanidas disponible hoy en día en el mercado. Inicialmente fueron 3 biguanidas que se comercializaban: fenformina, buformina y metformina. Fenformina y buformina en un principio tuvieron mayor reconocimiento por ser

más potentes que metformina, pero a finales de 1970 fueron retirados en la mayoría de los países por sus efectos adversos relacionados con acidosis láctica. La producción de acidosis láctica es 20 veces mayor con el tratamiento de fenformina o buformina que el de metformina debido a sus propiedades farmacocinéticas.

2) Sulfonilureas (SU):

Las sulfonilureas estimulan la liberación de insulina al unirse a los canales de potasio dependiente de ATP con la consecuente despolarización de la membrana y flujo de calcio al interior de las células lo que causa la expulsión de los gránulos que contienen insulina. Se dividen en primera generación (tolbutamida, tolazamida y clorpropamida), que rara vez se utiliza en diabetes tipo 2 y segunda generación (glibenclamida, glipizida y glimepirida), que son sulfonilureas hipoglucemiantes más potentes. Entre el 50% y 80% de pacientes elegidos de manera apropiada responden a esta clase de fármacos.

Este grupo de fármacos como efecto adverso producen hipoglucemia que puede provocar coma. Entre los efectos menos adversos incluyen náusea y vómito, ictericia colestásica, anemia aplásica y hemolítica, reacciones de hipersensibilidad generalizada y reacciones dermatológicas.

3) Meglitinidas:

Las meglitinidas semejante a las sulfonilureas son secretagogos orales de insulina que actúan mediante el cierre de los canales de potasio en las células beta del páncreas. Se conocen dos análogos: repaglinida y nateglinida. Repaglinida alcanza sus concentraciones máximas en 1 hora, el uso múltiple preprandial (antes de cada comida) es permitido a diferencia de la dosificación clásica una o dos veces al día de sulfonilureas y su principal efecto secundario es la hipoglucemia. Nateglinida favorece una secreción más rápida pero menos sostenida de insulina que otros antidiabéticos orales disponibles, su principal función es la reducción de las elevaciones posprandiales de la glucemia en diabetes tipo 2. El tratamiento con nateglinida puede producir menos episodios de hipoglucemia que los secretagogos de insulina disponibles por vía oral.

4) Tiazolidinedionas:

Se unen al receptor activador de la proliferación del peroxisoma γ (PPAR γ), un grupo de receptores hormonales nucleares que participan en la regulación de los genes relacionados con el metabolismo de la glucosa y de los lípidos. Se encuentran disponibles hoy en día dos tiazolidinedionas para el tratamiento de diabetes tipo 2: rosiglitazona y pioglitazona. Se ha

demostrado que ambos medicamentos incrementan la acción de la insulina en el hígado, tejido adiposo y músculo estriado, su administración es una vez al día. Este grupo de fármacos requieren la presencia de insulina para la actividad farmacológica y no están indicados para el tratamiento de diabetes tipo I. Los efectos adversos más comunes son el incremento de peso y la producción de edema.

5) Inhibidores de la α -glucosidasa:

La enzima α -glucosidasa se encuentra en las microvellosidades intestinales, son responsables de la degradación de los oligosacáridos de la dieta a monosacáridos (glucosa, galactosa, sacarosa), su disminución hace más lenta la absorción de carbohidratos en el tubo digestivo y evita el incremento súbito de las concentraciones plasmáticas posprandiales de glucosa. Los fármacos en este grupo son acarbosa, miglitol y voglibosa, encontrándose solo disponible a acarbosa y miglitol en Estados Unidos. Estos fármacos son más eficaces cuando se administran con un régimen alimentario de fibra y almidones con restricción de cantidades de glucosa y sacarosa. Los efectos adversos más notables incluyen malabsorción, flatulencia, diarrea y distensión abdominal.

6) Fármacos basados en GLP -1:

Las incretinas son hormonas gastrointestinales que se liberan después de los alimentos y estimulan la secreción de insulina. GLP-1 y GIP son las incretinas mejor conocidas, siendo solo GLP-1 eficaz para reducir la glucemia en personas con diabetes tipo 2. Exenida (miméticos de GLP-1) y liraglutida (análogos humanos de GLP-1) son los dos fármacos aprobados hasta el día de hoy para el tratamiento de pacientes con diabetes en Estados Unidos y existen muchos otros en fases avanzadas de desarrollo. En estudios clínicos, la administración de la exenida sola o en combinación con metformina, sulfonilureas o tiazolidinedionas se asocia con mejor control glucémico. Liraglutida en estudios mostró un perfil farmacodinámico similar al GLP-1 y exenida. Sus efectos adversos son náuseas y vómitos en una forma dependiente a la dosis.

7) Inhibidores de DPP4:

DPP4 es una serina proteasa que tiene distribución amplia en todo el cuerpo. Sus sustratos son péptidos con prolina o alanina en la segunda posición que se encuentran en la estructura química de GLP-1 y GIP, logrando desactivarlos. Los inhibidores de DPP4 incrementan el área bajo la curva de GLP-1 y GIP cuando son secretadas por los alimentos proporcionando inhibición casi completa o sostenida de DPP4. En Estados Unidos se comercializan sitagliptina y saxagliptina,

siendo sitagliptina inhibidores competitivos de DPP-4 mientras que sexagliptina forma una unión covalente con dicha enzima, de esta forma reducen la actividad mensurable de DPP-4 en casi 95% en 12 horas. No existen efectos secundarios consistentes detectados en los estudios clínicos con cualquiera de los inhibidores de DPP-4.

2.1.4 Metformina Clorhidrato

2.1.4.1 Concepto

Metformina es considerada el medicamento de primera elección en monoterapia para el tratamiento de DM2 por la Asociación Americana de la Diabetes (ADA) y la European Association for the Study of Diabetes (EASD). Así mismo para la guía de la Federación Internacional de Diabetes (IDF) es uno de los medicamentos más eficaces para DM2, por su ventaja sobre los otros fármacos; tales como mejorar la sensibilidad a la insulina sin generar en los pacientes aumento de peso ni hipoglucemias²⁶:

2.1.4.2 Propiedades químicas²⁷:

Estructura química:

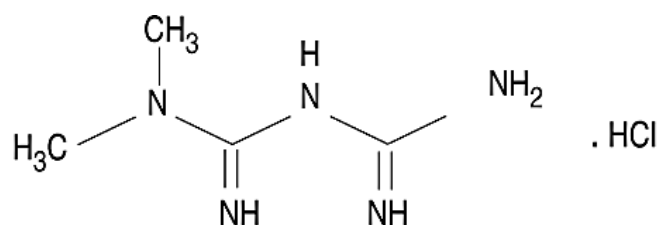


Figura 1. Estructura química de Metformina clorhidrato

Nombre común: Clorhidrato de 1,1-Dimetilbiguanida

Fórmula química: $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$

Peso molecular (g/mol): 165.6

2.1.4.3 Farmacocinética

La concentración plasmática máxima después de la administración de una dosis de metformina clorhidrato es alcanzado aproximadamente en 2.5 horas (t_{max}). En sujetos sanos la biodisponibilidad absoluta de un comprimido de 850 mg es aproximadamente del 50 al 60%. Después de una dosis oral, la fracción de metformina no absorbida recuperada en las heces fue del 20-30%, su absorción es saturable e incompleta, lo que sugiere su farmacocinética no lineal. La alimentación reduce (disminuye las concentraciones máximas en 40%) y retrasa ligeramente su absorción. La metformina se difunde por los eritrocitos y se excreta inalterada en la orina, no se ha identificado ningún metabolito en el hombre. Se elimina por filtración glomerular y por secreción tubular, el aclaramiento renal de metformina es >400 L/min. Los estudios de distribución evaluados en ratones con metformina marcada con ^{14}C mostraron acumulación principalmente en el tracto gastrointestinal, el riñón y el hígado^{28,29}.

2.1.4.4 Transporte

Metformina es un fármaco hidrofílico que se encuentra en mayor cantidad bajo condiciones experimentales en su forma protonada. Su transporte es mediante transportadores orgánicos portadores de soluto principalmente por el transportador de monoamina de la membrana plasmática (PMAT), que está localizado en el lado luminal de los enterocitos. En la membrana basolateral de enterocitos se expresa el transportador de cationes orgánicos 1 (OCT1) y puede ser responsable del transporte de metformina al fluido intersticial. El transportador OCT1 es el mediador primario de la captación hepática de metformina y posiblemente también OCT3²⁹.

2.1.4.5 Medicamento innovador: Glucophage

Glucophage fue creado por Jean Sterne, su nombre significa “devorador *de* glucosa”, químicamente es una biguanida sintética derivada de la planta *Galega officinalis* que fue considerada una hierba medicinal en Europa medieval por ser usada por diversos herbolarios en el tratamiento de poliuria, halitosis y en medicina folklórica para tratar síntomas que ahora son asignados a diabetes. En 1918, se conoció que el efecto hipoglucemiante se debe a la presencia de guanidina, compuesto que no se usó en la parte clínica por sus efectos adversos. Sterne investigó en colaboración con Denise Duval y otros, las propiedades antidiabéticas de varias biguanidas (derivado de guanidina), de las cuales seleccionó a la dimetilbiguanida (metformina)

para el desarrollo clínico como agente antidiabético en humanos en 1957 al cual decidió llamarla Glucophage (Devorador de Glucosa)²⁵.

2.2 Tabletas de liberación inmediata

Las tabletas son formas farmacéuticas que usualmente son obtenidas por una o múltiple compresión de polvos o gránulos que contienen sustancias medicinales con o sin diluyentes adicionales. Pueden ser tabletas comprimidas o tabletas moldeadas de acuerdo con el método de fabricación empleada.

Los comprimidos son fabricados mediante una máquina de comprimir, en donde el polvo pulverizado o granulado es sometido a una presión alta. Las tabletas moldeadas son fabricadas con moldes a pequeña escala forzando manualmente material en polvo humedecido en un molde del que se expulsa el comprimido formado y se deja secar. Dependiendo de su fabricación y uso pueden variar en tamaño, forma, peso, dureza, espesor, desintegración, coadyuvantes, características de disolución, entre otros aspectos³⁰.

2.2.1 Biofarmacia y Farmacocinética

La biofarmacia estudia la influencia de la formulación y la técnica de elaboración de un medicamento sobre su actividad terapéutica. Los estudios biofarmacéuticos con tabletas, evidenciaron que la utilización de un excipiente u otro y/o de una tecnología farmacéutica determinada, producía variabilidad en la respuesta terapéutica después de administrar por vía oral el fármaco³¹.

Los procesos que sufre el medicamento durante su tránsito a través del organismo son: Liberación, Absorción, Distribución, Metabolización y Excreción (LADME). Muchas veces, la metabolización y excreción están agrupadas bajo el término de eliminación.

La biofarmacia se encarga de los procesos de liberación y absorción que son los que sufre el medicamento desde que se administra hasta que accede a circulación sistémica y la farmacocinética estudia el tránsito del fármaco en el organismo, el cual comprende a los procesos de distribución (biofase) y eliminación³².

2.2.1.1 Liberación del fármaco

El proceso de liberación es el único de los procesos de LADME que se puede modular por el farmacéutico formulador. Por ser la primera etapa, es la que regula el proceso de absorción del fármaco, así como también los niveles plasmáticos. Cabe mencionar que después de ingerir el medicamento, éste sufre una serie de procesos hasta disolverse en el fluido gastrointestinal, el cual empieza con la desintegración en gránulos o agregados del medicamento, luego los gránulos se rompen convirtiéndose en partículas individuales, que posteriormente permite que las del fármaco entren en solución. La disolución es el último paso del proceso de liberación, en donde, el principio activo se encuentra en forma de molécula, que es la que se necesita para que pueda atravesar la membrana epitelial del tracto gastrointestinal (TGI) y la membrana endotelial de las paredes de los capilares e ingresar a la sangre. La disolución es definida como la cantidad de sustancia del fármaco que entra en solución por unidad de tiempo bajo condiciones estandarizadas de composición de solvente, temperatura e interfase líquido/sólido^{33,34}.

La velocidad de liberación está influenciada de acuerdo con la forma farmacéutica, formulación y técnica de elaboración que se empleó en conjunto. En las formas farmacéuticas sólidas, la velocidad de liberación en forma creciente es la siguiente:

Grageas < comprimidos < cápsulas de gelatina duras < polvos y granulados

Otros factores que influyen en la liberación del fármaco son:

- Tamaño de partícula del fármaco: A menor tamaño de partícula, la superficie de contacto entre el fármaco no disuelto y medio de disolución es mayor, por lo tanto, aumenta la velocidad de disolución.
- Solubilidad del fármaco: Los fármacos suelen ser ácidos o débiles, dependiendo del pH a que se encuentren, su solubilidad aumenta o disminuye. Los fármacos básicos se disuelven en pH ácido como del medio ácido del estómago, mientras que los ácidos se disuelven en medio alcalino como del intestino delgado^{31,35}.

2.2.1.2 Absorción

El pH del TGI varía desde un pH muy ácido en el estómago (pH 1-3) hasta un pH alcalino en el intestino grueso, llevándose a cabo el proceso absorción preferentemente a pH 6.5 en el intestino

delgado. El estómago, por tener un ambiente hostil por su bajo pH y presencia de enzimas, es el sitio de menos interés por parte del formulador para la liberación del medicamento.

Los factores que influyen en la absorción del fármaco desde el TGI son las propiedades fisicoquímicas del fármaco como el tamaño de partícula (lipofilia, solubilidad, polimorfismo, etc.), variables fisiológicas del TGI (vaciado gástrico, tiempo del tránsito intestinal, pH, eliminación pre-sistémica, salida del fármaco, etc) y las relacionadas a la elaboración del medicamento³⁵.

2.3 Estudios de Biodisponibilidad (BD) y Bioequivalencia (BE)

2.3.1 Concepto de Biodisponibilidad (BD)

La biodisponibilidad es un término farmacocinético que se define como la cantidad y la velocidad a la que el principio activo se absorbe a partir de un producto farmacológico y se encuentra disponible en su sitio de acción en el organismo.

Teniéndose en cuenta que la concentración del fármaco en su sitio de acción no se puede medir y dado que existe una relación entre la concentración sanguínea y la concentración en el sitio de acción, la BD se determina mediante la curva de concentración plasmática /tiempo o la excreción urinaria. Los parámetros farmacocinéticos utilizados para su caracterización son: área bajo la curva (AUC), la concentración máxima (C_{max}) y el tiempo al cual se alcanza la concentración máxima (t_{max}).

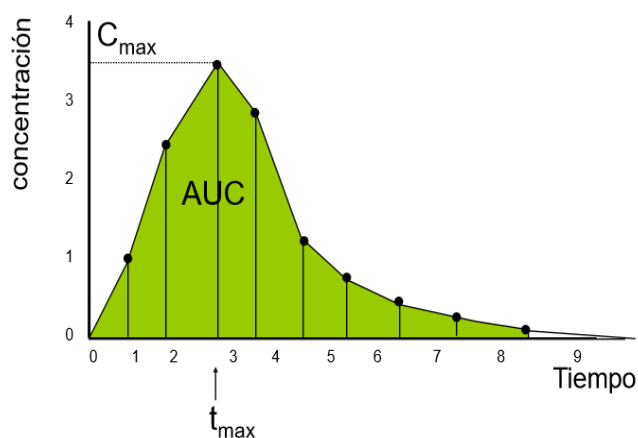


Figura 2.- Determinación de la Biodisponibilidad de un fármaco³⁶

La BD es expresada en términos comparativos, ya sea con una administración intravascular o con otra extravascular³⁶:

Biodisponibilidad absoluta: Se estima a partir de la comparación de los valores del ABC obtenidas tras las administraciones intravascular y extravascular de un mismo fármaco a la misma dosis. Se asume que el ABC obtenida tras la administración intravascular corresponde al máximo valor que se puede obtener para este parámetro con la administración de una dosis determinada. En cambio, tras una administración extravascular, existe la posibilidad de que una fracción de la dosis administrada no sea biodisponible, por lo que el valor del ABC puede ser igual o menor al obtenido tras la administración intravascular.

Biodisponibilidad relativa: es una medida del desempeño entre dos formas farmacéuticas y/o vías de administración diferentes. Esta se estima tras la comparación de los valores ABC de las dos formulaciones administradas por vía extravascular. Lo que se evalúa en este caso es la forma farmacéutica, ya que la vía de administración es la misma.

La Bioequivalencia es una medida comparativa de la biodisponibilidad de una formulación farmacéutica entre un producto similar y el producto innovador o referente (biodisponibilidad relativa).

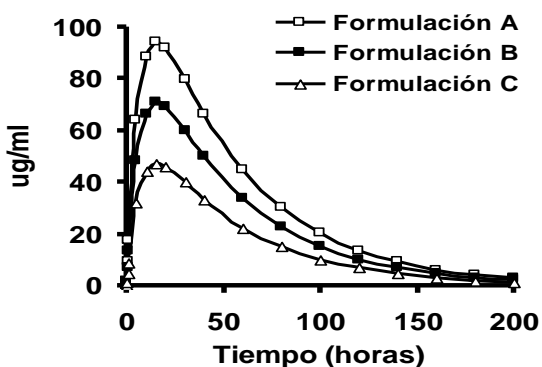


Figura 3.- Biodisponibilidad de diferentes formulaciones: representación de tres perfiles de concentración plasmática, se observa que, aunque la velocidad de absorción es la misma, las áreas bajo la curva obtenidas son diferentes, siendo las tres formulaciones no biodisponibles³⁶.

Los métodos apropiados para evaluar la equivalencia son:³⁷

- a. Estudios farmacocinéticos en humanos (Bioequivalencia) en el que la sustancia activa de la droga o uno de sus metabolitos puede ser accesible su medición en fluidos biológicos tales como plasma, sangre u orina.
- b. Estudios farmacodinámicos comparativos en seres humanos.
- c. Ensayos clínicos comparativos.
- d. Estudios “*in vitro*”

2.3.2 Estudios de bioequivalencia *in vitro*

Los estudios *in vitro* también se conocen como perfiles de disolución comparativos que corresponden a curvas de disolución del principio activo del medicamento genérico y el innovador en función del tiempo realizados bajo condiciones de temperatura controlada (37 °C), pH controlado (1,2, 4,5 y 6,8), así como otros requerimientos, resultando dicho estudio una excepción al estudio *in vivo* para fármacos según el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica³⁸.

2.3.2.1 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB)

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutica fue propuesta por Gordon Amidon *et al.* en 1995. Se fundamenta en el análisis del proceso de absorción y clasifica a los principios activos en cuatro clases (tabla 1) de acuerdo con su solubilidad acuosa y permeabilidad a través de la membrana gastrointestinal, basándose en que junto con la disolución del fármaco en el medio gastrointestinal son los tres factores más importantes que modulan la velocidad y cantidad absorbida del principio activo³³.

Tabla 1: Sistema de Clasificación Biofarmacéutica³³

Clase	Solubilidad	Permeabilidad
I	Alta	Alta
II	Baja	Alta
III	Alta	Baja
IV	Baja	Baja

Las agencias regulatorias que han adoptado este sistema de clasificación en sus directrices proponen requisitos para clasificar la solubilidad, permeabilidad y velocidad de disolución del fármaco ^{39,40}:

Solubilidad

Se considera de alta solubilidad cuando el principio activo en su dosis más alta es soluble en 250 mL o menos de medio acuoso en el rango de pH 1 – 6.8 a temperatura $37 \pm 1^\circ\text{C}$, de acuerdo con la FDA y OMS.

Permeabilidad

Se considera de alta permeabilidad, si la cantidad absorbida es 85% o más de la dosis administrada, según la FDA y OMS. Se basa en estudios de balance de masa o en comparación con la administración intravenosa del producto de referencia (biodisponibilidad absoluta). Esta prueba se realiza en humanos o sistemas no humanos como cultivos celulares (caco-2), membranas artificiales o mediante predicción *in silico*.

Disolución

Un medicamento es considerado de muy rápida disolución cuando el 85% o más de la cantidad declarada se disuelven en 15 minutos, y de rápida disolución cuando el 85% o más de la cantidad declarada se disuelve en 30 minutos, usando el aparato 1 o 2 USP 38 en un volumen de 500 mL o menos (FDA), 900 mL o menos (OMS) de los siguientes buffers: solución ácido clorhídrico 0.1N pH 1.2, buffer acetato pH 4.5 y buffer fosfato pH 6.8.

Cada clase toma en cuenta el paso limitante que define la velocidad y cantidad de absorción del principio activo en la membrana intestinal. Los fármacos presentan las siguientes características ^{41,42}.

Clase I: Son fármacos con alta solubilidad y permeabilidad, presentan rápida disolución y biodisponibilidad *in vivo*, tienen un comportamiento como una solución oral. La disolución del fármaco es la etapa de limitación de la velocidad y si presenta disolución muy rápida, la velocidad del vaciado gástrico se convierte en la etapa determinante de la velocidad.

Algunos ejemplos: metoprolol, diltiazem, verapamilo, propranolol, etc.

Clase II: Los fármacos que se encuentran en esta clase presentan baja solubilidad y alta permeabilidad. La disolución del fármaco *in vivo* es entonces una etapa limitadora de la velocidad para la absorción, excepto en un número de dosis muy alto. Presentan

biodisponibilidad variable y se necesita mejorar la disolución para aumentar la biodisponibilidad.

Algunos ejemplos: glibenclamida, carbamazepina, ketoprofeno, naproxeno, etc.

Clase III: En esta clase se encuentran los fármacos de alta solubilidad y baja permeabilidad, siendo la permeabilidad el paso determinante de la velocidad de absorción. Presentan alta variación en la cantidad y velocidad de absorción del fármaco, pero si la disolución es rápida, la variación es atribuible a la alteración fisiológica y permeabilidad, por lo tanto, no dependerían de la liberación del fármaco de la formulación.

Algunos ejemplos: metformina clorhidrato, cimetidina, ranitidina, aciclovir, etc.

Clase IV: Son fármacos que presentan pobre biodisponibilidad. Se rige por varios factores tales como la velocidad de disolución, permeabilidad intestinal, vaciado gástrico, etc. No se absorben muy bien a través de la membrana intestinal, por lo que no son adecuados para la administración oral de fármacos a menos que se emplee alguna tecnología especial.

Ejemplos: hidroclorotiazida, taxol, furosemida, etc.

2.3.2.2 Bioexención y Normatividad

La bioexención es un proceso mediante el cual se exime los requerimientos de los estudios *in vivo*, para la demostración de equivalencia, a aquellos medicamentos que cumplen los requisitos señalados por el SCB que son necesarios para certificar la calidad del análisis, y en su lugar se acepta la presentación de perfiles de disolución *in vitro*. Existen situaciones específicas, en que no se puede aplicar una bioexención. La primera, es en el caso de medicamentos con ventanas terapéuticas estrechas que son aquellos sujetos a control de la concentración plasmática del fármaco (monitoreo terapéutico) o a monitoreo farmacodinámico. En el segundo caso, los medicamentos de absorción en la cavidad oral, como los comprimidos sublinguales o bucales, entre otros⁴³.

La FDA considera bioexención basada en BCS, sólo a los fármacos que pertenecen a la clase I y III. Debido a su alta solubilidad, el riesgo que la disolución del fármaco afecte el rendimiento es poca. Para ello, deben seguir las siguientes pautas^{40,41}:

Clase I:

- El producto de referencia y prueba tienen que ser de rápida disolución (30 minutos).
- No debe contener ningún excipiente que afectara la cantidad y velocidad de absorción.

Para que los medicamentos que forman parte de la clase I sean candidatos a una bioexención, se fundamenta en que si la disolución – liberación *in vivo* es rápida en relación al vaciamiento gástrico y el principio activo tiene alta permeabilidad, la probabilidad que la velocidad y cantidad de droga absorbida dependa de la disolución y/o tiempo del tránsito del fármaco es poca, considerando que los excipientes empleados en la forma farmacéutica y proceso de fabricación no afecte significativamente la absorción de los principios activos (Amidon *et al.*, 2002).

Clase III:

- El producto de referencia y prueba tienen que ser de muy rápida disolución (15 minutos).
- El producto de prueba debe contener los mismos excipientes que del producto de referencia, ser cualitativamente igual y cuantitativamente muy similar al producto de referencia.

Se fundamenta en que si la disolución de fármacos de clase III es muy rápida en todas las condiciones de pH fisiológicas pueden comportarse *in vivo* como una solución oral, por lo que se espera que la permeabilidad a través de las membranas biológicas sea el paso limitante en la absorción del fármaco y menos dependiente de su formulación. La preocupación sobre si los excipientes puedan tener un mayor impacto en la absorción de fármacos de baja permeabilidad, conlleva a exigir que los medicamentos de prueba contengan los mismos excipientes que del producto de referencia (Amidon *et al.*, 2002).

La OMS además de considerar a medicamentos de clase I y III, también menciona que aquellos medicamentos de naturaleza ácida que pertenezcan a la clase II son aptos para bioexención, solo si cumplen con los siguientes requisitos^{39,44}:

- El principio activo es altamente soluble a pH 6.8 (85% o más de la cantidad declarada en 30 minutos) pero no a pH 1.2 y 4.5.

- Presenta los mismos perfiles de disolución en los tres medios a pH 1.2, 4.5 y 6.8, determinados con el valor de f_2 .
- Los excipientes de medicamentos genéricos deben ser evaluados en tipo y cantidad de tensoactivos empleados en la formulación.

Se basa en que, si la permeabilidad no es una limitación, los fármacos de naturaleza ácida débil presentan alta solubilidad en un pH más alto (intestino) predominando la forma no ionizada, por lo tanto, presentará buena absorción debido a que se encontrará en una zona con mayor área de superficie de absorción.

Los fármacos de clase IV no es considerada por ninguna agencia regulatoria apto para una bioexención.

2.4 Medicamentos Genéricos en el Perú

El concepto de medicamento genérico varía en cada país de América Latina, lo cual se considera un problema porque puede llevar a confusiones distorsionadas. La OMS con la necesidad de armonizar las definiciones, aconseja no usar la palabra “medicamento genérico” y utilizar el término “producto farmacéutico multifuente” que lo define como un equivalente farmacéutico o alternativa farmacéutica que puede ser o no bioequivalente, considerando intercambiables solo aquellos productos farmacéuticos que son bioequivalentes ^{45,46}.

- Equivalente farmacéutico: Son aquellos medicamentos que contienen la misma cantidad molar de IFA, en la misma forma farmacéutica, cumplen con estándares de calidad idénticos o comparables. Diferencias en las propiedades de estado sólido del IFA, los excipientes y /o en el proceso de fabricación y otras variables puede dar lugar a diferencias en el desempeño del producto por lo que no necesariamente implica bioequivalencia.
- Alternativa farmacéutica: Son aquellos que contienen la misma cantidad molar de las mismas fracciones farmacéuticamente activas, pero presentan diferentes formas farmacéuticas (tabletas, cápsulas, etc.), o composición química (por ejemplo, diferentes sales o ésteres). Su administración es por la misma vía, pueden ser o no bioequivalentes al producto de comparación.

- **Equivalentes terapéuticos:** Equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas que después de la administración en la misma dosis molar, sus efectos con respecto a eficacia y seguridad serán esencialmente los mismos, cuando sean administrados a pacientes por la misma vía de administración bajo las condiciones especificadas en el inserto.

En nuestro país se está trabajando para establecer políticas para el diseño y ejecución de estudios de bioequivalencia, varios decretos han sido publicados, pero aún no se ejecuta^{46,47}:

- El artículo 10 de la ley N°29459 publicada en 2009 establece que se requieren estudios de intercambiabilidad para la inscripción y reinscripción de los medicamentos en el registro sanitario, de acuerdo con lo recomendado por la OMS. Además, exige realizar estudios de bioequivalencia *in vivo* a productos de alto riesgo sanitario y considerar las excepciones de acuerdo con la clasificación biofarmacéutica.
- El Decreto supremo N°16-2011 SA establece el reglamento para el registro, control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios en cuyo artículo 40 señala que para la inscripción y reinscripción en el registro sanitario de las especialidades farmacéuticas se debe presentar entre los requisitos, estudios de equivalencia terapéutica (bioequivalencia) para demostrar intercambiabilidad.
- Decreto N°708- 2015, es el último que se publicó, establece las pautas para regular la Intercambiabilidad de medicamentos.

2.5 Otros estudios de Bioequivalencia *in vitro*

En la bibliografía se encontró estudios y tesis de Bioequivalencia *in vitro* de Metformina clorhidrato 850 mg y 500 mg entre los años 2004 -2013 realizados en Serbia, Colombia, Nigeria y Taiwan. De estos estudios se concluyó que ningún medicamento genérico que contiene Metformina clorhidrato 850 mg en prueba resultó ser bioequivalente al medicamento de referencia (Serbia y Colombia). En cuanto a metformina clorhidrato 500 mg, en el estudio de Nigeria sólo un medicamento genérico de las 4 formulaciones genéricas cumplió con los criterios establecidos para asegurar bioequivalencia con el medicamento de referencia mientras

que en el estudio de Taiwan el único medicamento estudiado mostró bioequivalencia al medicamento de referencia^{14,48,49,50}.

En nuestro país, entre el 2007 - 2013 se han realizado estudios de bioequivalencia *in vitro* de una formulación genérica de ibuprofeno 400 mg, de una formulación de propranolol 40 mg, de tres formulaciones de diazepam 10 mg (una nacional y dos de origen extranjero) y de una formulación de ciclosporina. De los estudios mencionados, las dos formulaciones extranjeras del estudio de Diazepam 10 mg e Ibuprofeno 400 mg cumplieron con los criterios de bioequivalencia^{51,52,53,54}.

Se reportaron publicaciones de estudios y tesis de bioequivalencia *in vitro* entre el 2008-2015 realizados en otros países y medicamentos como albendazol 200 mg en Guatemala, ciprofloxacino 500 mg y amoxicilina trihidrato en Colombia, carbamazepina 200 mg en Ecuador y clorfenamina clorhidrato en Chile, siendo el 44% de los medicamentos del total bioequivalentes^{55,56,57,58,59}.

III. HIPÓTESIS

Las tres (3) formulaciones genéricas de Metformina Clorhidrato 850 mg en estudio presentan bioequivalencia *in vitro* con el medicamento de referencia Glucophage 850 mg.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Establecer si existen bioequivalencia *in vitro* de tres tabletas genéricas nacionales que contiene Metformina clorhidrato 850 mg con su producto de referencia.

4.2 Objetivos Específicos

- a) Evaluar el control de calidad químico (Disolución, Valoración y Uniformidad de Dosis) del medicamento de referencia y de los medicamentos genéricos en estudio.
- b) Determinar los perfiles de disolución del medicamento de referencia y de los medicamentos genéricos en estudio en tres medios de disolución diferentes.
- c) Establecer los valores del factor de diferencia f_1 y similitud f_2 entre los perfiles de disolución del medicamento de referencia y los medicamentos genéricos en estudio mediante el análisis estadístico correspondiente.
- d) Establecer si los medicamentos A, B y C son bioequivalentes *in vitro* al medicamento de referencia.

V. MATERIALES Y REACTIVOS

5.1 Equipos, Reactivos y Materiales:

Equipos:

Equipo de Disolutor – Aparato 1 (Distek 2100 C, EE. UU.), Espectrofotómetro UV-Visibe (HP 8453 Agilent, Alemania), pHmetro (Mettler Toledo, China), Balanza Analítica (Mettler Toledo AB 104, China), Balanza Analítica (Mettler Toledo, China), Milli-Q Reference (Merck, Billerica). Los equipos se encontraban calibrados y con certificación.

Reactivos:

Los reactivos utilizados son clase tipo QP y se mencionan a continuación:

Cloruro de Potasio (Merck), Ácido Clorhídrico 36.5 - 38% (J.T Baker), Acetato de sodio (Merck), Ácido Acético Glacial (J.T. Baker), Hidróxido de Sodio (Merck), Fosfato de Potasio Monobásico (Merck) y agua purificada.

Materiales de vidrio

Los materiales usados son clase A verificados, se utilizaron beakers, probetas, fiolas y pipetas.

5.2 Patrón de Referencia

Se trabajó con un estándar secundario de Metformina clorhidrato trazado a un estándar USP (Lote: J0L465). La potencia del estándar secundario fue determinada utilizando la técnica espectrofotométrica descrita en la USP 38, para ello se prepararon diferentes concentraciones del estándar USP diluido en agua destilada (8.6 – 25.6 ug/mL) y se midió la absorbancia a 232 nm. Se prepararon 3 muestras, para ello se pesó aproximadamente 20 mg, se colocó en una fiola de 25 mL y se enrasó con agua destilada, luego se extrajo 2 mL y se enrasó en una fiola de 100mL con el mismo medio. El valor de la potencia fue de 99.84% y luego se almacenó bajo condiciones de humedad y temperatura que aseguraron su estabilidad. (Anexo 1)

5.3 Muestras

Las muestras fueron seleccionadas de acuerdo con los siguientes criterios:

- 1) Que pertenezca a un laboratorio de nacionalidad peruano con presentación farmacéutica en tabletas de liberación inmediata de Metformina clorhidrato de 850 mg
- 2) Laboratorio con certificado de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)
- 3) Comercializado con denominación genérica
- 4) Registro nacional vigente

De los 5 productos genéricos elegidos en base a los criterios de selectiva, se obtuvieron 3 medicamentos de prueba mediante muestreo aleatorio simple, los cuales fueron denominados como A, B y C con los siguientes números de Lote 1111055, 1095875 y 1070455 respectivamente. La cantidad de muestra fue de 100 unidades por producto (mismo lote), las cuales fueron adquiridas de establecimientos farmacéuticos (boticas) a través de un procedimiento tipo pesquisa. El medicamento de referencia fue Glucophage 850 mg de Laboratorio Merck Santé con N° de Lote 1E4575.

5.3.1 Aspectos Técnicos

Se verifico en los medicamentos seleccionados los siguientes datos: fecha de vencimiento, registro sanitario, características físicas y excipientes.

5.3.2 Pruebas químicas

Se realizaron las siguientes pruebas fisicoquímicas descritas en la monografía de “Metformina Clorhidrato, Tabletas de Liberación Inmediata” en la USP38-NF33 para verificar que cumplen con los parámetros de calidad: prueba de disolución, valoración y uniformidad de dosis⁶⁰.

5.3.2.1 Prueba de disolución

La prueba de disolución fue desarrollada en el equipo disolutor Distek 2100 C con las condiciones experimentales detalladas a continuación y método de ensayo especificado en la USP 38. Las condiciones experimentales fueron las siguientes: Equipo: 1 (canasta), medio: buffer fosfato de potasio pH 6.8, volumen del medio: 1000 mL, velocidad de revoluciones/ minuto: 100 rpm, tiempo de muestreo: 45 minutos, temperatura: $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y equipo para cuantificar: Espectrofotometría UV a 233nm.

5.3.2.1.1 Preparación del estándar

La cantidad de Metformina Clorhidrato pesada fue alrededor de 21.5 mg, luego se colocó en una fiola de 25 mL donde se enrasó con medio buffer fosfato pH 6.8. Después de verificar que el principio activo se encuentra disuelto, se tomó 2 mL, se colocó en una fiola de 100 mL y se enrasó con el medio. La concentración final fue: 0.0172 mg/mL. Se prepararon tres soluciones estándar y se cuantificó por triplicado.

5.4.2.1.2 Preparación de la muestra

Después de los 45 minutos de iniciarse la prueba, se tomó 10 mL de cada vaso y se filtró. De las porciones filtradas, se retiró 2mL que luego fueron colocadas en una fiola de 100 mL y se enrasó con buffer fosfato pH 6.8. Luego se continuó con la cuantificación mediante espectrofotometría UV a una longitud de onda de 233nm. Para esta prueba se utilizaron 6 tabletas de cada laboratorio de medicamentos. La concentración final de cada muestra fue: 0.017mg/mL. Se cuantificó por triplicado.

El criterio de aceptación para la disolución es cumplir con la fase S1, en la cual cada tableta debe presentar un porcentaje de disolución no menor a Q+5%, siendo Q igual a 70%. Si no cumple, se procederá a la fase 2, en la cual se realizará la prueba de disolución a 6 unidades más, donde el promedio de las 12 unidades (S1+ S2) debe ser igual o mayor que Q y ninguna unidad menor que Q-15%. En caso de no cumplir S2, se realizará la última fase S3 donde se evaluará a 12 unidades más; el promedio de las 24 unidades (S1+S2 +S3) debe ser igual o mayor que Q, no más de dos unidades deben ser menores que Q-15% y ninguna unidad menor que Q-25%.

5.3.2.2 Valoración

5.3.2.2.1 Preparación del estándar

La cantidad de Metformina Clorhidrato pesada fue alrededor de 50 mg, luego se colocó en una fiola de 50 mL y se enrasó con agua Milli Q. Después de verificar que el principio activo se encuentra disuelto, se tomó 1 mL y se colocó en una fiola de 100 mL donde se enrasó con el mismo medio. La concentración final fue: 10 ug/ mL. Se prepararon dos soluciones estándar y se midió por triplicado.

5.3.2.2.2 Preparación de la muestra

Para la realización de esta prueba, se siguió el método especificado en la USP 38. Se pesó 20 tabletas y se redujo a polvo fino. Un equivalente a 100 mg de metformina clorhidrato se colocó en una fiola de 100 mL, después se agregó 70 mL de agua y se agitó durante 15 minutos. Luego de diluir con agua a volumen, se filtró y se desechó los primeros 20 mL. Se transfirió 10 mL del filtrado y se diluyó hasta 100 mL con agua. De la solución resultante, se volvió a extraer 10 mL y se enrasó a volumen hasta 100 mL con agua. La concentración nominal final de la muestra fue 10 ug/mL. Se trabajó con dos muestras por cada medicamento en estudio, finalmente se cuantificó con espectrofotómetro UV a la longitud de onda aproximadamente 232nm registrando la lectura por triplicado.

El criterio de aceptación para la valoración es que no deben contener menos del 95% y no más del 105% de la cantidad declarada.

5.3.2.3 Uniformidad de unidades de dosificación

Esta prueba se realizó por el método de variación de peso para formas farmacéuticas que cumplan con estas condiciones: tabletas sin recubierta o cubierta con película con cantidad de fármaco ≥ 25 mg/tableta y $\geq 25\%$, descrita en la USP 38. Las tabletas de Metformina clorhidrato 850mg cumplen con dicha condición, por lo tanto, se realizó el siguiente procedimiento: Se pesó individualmente 10 tabletas con exactitud de cada lote, a partir del peso de cada tableta en forma individual se calculó el contenido expresado en porcentaje de la cantidad declarada. Para cumplir con el valor de aceptación (VA) debe ser menor o igual al valor de L1, siendo L1 igual a 15.

5.4 Estudio Bioequivalencia *In Vitro*

Mediante la guía publicada por la FDA “Waiver of *In Vivo* Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System” y la sección Bioequivalencia: “Evaluación *in vivo e in vitro* de formas farmacéuticas” y “Evaluación de desempeño del producto farmacéutico, biodisponibilidad, bioequivalencia y disolución” de la USP 38 – NF 33 se elaboró el protocolo para realizar el estudio de Bioequivalencia *in vitro*^{40,60}.

5.4.1 Curva de calibración

Se requiere una curva de calibración para cada medio empleado en estudio. Para ello se preparó una solución madre de concentración 0.0172 mg/ml (100%), de ella se obtuvo diluciones en los siguientes porcentajes 20%, 40%, 80% y 120% con el objetivo de abarcar todos los resultados. La solución madre fue preparada con buffer fosfato pH 6.8 para asegurarnos que el principio activo se disuelva por completo, luego las diluciones se completaron a volumen con el medio que se requiere. Las diferentes concentraciones fueron leídas por triplicado mediante el espectrofotómetro UV a longitud de onda 232nm. Se realizó el análisis de regresión lineal determinada por el método de los mínimos cuadrados y mediante el uso del coeficiente de correlación lineal se consideró adecuada la recta como modelo matemático.

5.4.2 Perfil de disolución “*in vitro*”

El estudio requiere representar de un lote de medicamento, un perfil de disolución en cada uno de los siguientes medios: buffer ácido clorhídrico pH 1.2, buffer acetato de sodio pH 4.5 y buffer fosfato de potasio pH 6.8. Para cada caso se usaron 12 tabletas que anteriormente fueron pesadas y se colocaron de forma aleatoria en cada vaso. Se siguieron los siguientes parámetros indicados por la USP 38: volumen del medio en cada vaso fue de 1000 mL con temperatura de $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ a una velocidad de revoluciones/minuto de 100 rpm. De cada vaso se tomó una muestra de 10 mL e n los siguientes tiempos (minutos): 5, 10, 15, 30, 45 y 60, sin reponer el volumen tomado.

De acuerdo con las recomendaciones de la FDA, se utilizará el promedio del porcentaje de disolución de las doce tabletas en cada tiempo sólo si el coeficiente de variación de los primeros puntos es menor a 20% (5 y 10 minutos) y los últimos puntos menor a 10% (15,30, 45 y 60). Además, se tomó en cuenta si el producto de referencia y los de prueba cumplen con el criterio de tabletas de muy rápida disolución ($\geq 85\%$ del principio activo de la cantidad declarada es disuelta en 15 minutos) o rápida disolución ($\geq 85\%$ del principio activo de la cantidad declarada es disuelta en 30 minutos).

5.4.2.1 Preparación de las soluciones buffers

Las soluciones buffers fueron preparadas de acuerdo con lo indicado en el USP 38⁶⁰.

Solución Ácido clorhídrico pH 1.2

Se midió 11 L de agua purificada con una probeta de 1000 mL y se colocó en un recipiente de 14 L. Luego se añadió 60 mL de HCl 36.5-38% y 59.64g de cloruro de potasio. Finalmente se tomó el valor del pH con un pHmetro. En algunos casos cuando se necesitó, se ajustó el pH con Hidróxido de potasio.

Buffer Acetato pH 4.5

Se midió 11 L de agua purificada con una probeta de 1000 mL y se colocó en un recipiente de 14 litros. Luego se añadió 18 mL de ácido acético glacial 37% y 59.64g de acetato de sodio. Finalmente se tomó el valor del pH con un pHmetro. En algunos casos cuando se necesitó, se ajustó el pH con Hidróxido de sodio.

Buffer Fosfato pH 6.8

Se midió 11L de agua purificada con una probeta de 1000 mL y se colocó en un recipiente de 14 L. Luego se añadió 14.22 gr. Hidróxido de sodio y 108.88 gr. Fosfato Monobásico de potasio. Finalmente se tomó el valor del pH con un pHmetro. En algunos casos cuando se necesitó, se ajustó pH con ácido fosfórico 20%.

5.4.2.2 Preparación de la solución Estándar

La solubilidad de Metformina Clorhidrato en cada medio es diferente, por tal motivo es necesario preparar solución estándar para los medios a pH 1.2, pH 4.5 y pH 6.8. Primero se pesó alrededor de 21.5 mg, luego se colocó en una fiola de 25 mL con buffer fosfato pH 6.8 para que se disuelva. Después que se disolvió el principio activo, se extrajo 2 mL y se colocó en una fiola de 100 mL donde se llevó a volumen con el buffer correspondiente. Se prepararon dos soluciones estándar para cada medio y se cuantificó por triplicado. La concentración final de cada solución estándar fue 0.172 mg/mL⁶⁰.

5.4.2.3 Preparación de la muestra

El volumen de la muestra tomada en los tiempos correspondientes fue 10 mL y rápidamente se filtró. Se tomaron 2 mL de la solución filtrada, se colocó en una fiola de 100 mL y se enrasó a volumen con el buffer correspondiente (Solución ácido clorhídrico pH 1.2, Buffer Acetato pH 4.5 o Buffer Fosfato pH 6.8). Se midió por triplicado⁶⁰.

5.5 Análisis estadístico

De acuerdo con las recomendaciones de la FDA y OMS, para establecer bioequivalencia se recopilarán los datos de los perfiles de disolución de los comprimidos a analizar, comparándolos a través de un método modelo independiente, factor de diferencia (f1) y de similitud (f2). El factor f2 es una transformación logarítmica de la sumatoria de error al cuadrado de las diferencias entre el medicamento de referencia y prueba en los puntos de muestreo (tiempo).

$$f_2 = 50 \cdot \log \left[\frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^{t=n} [\bar{R}(t) - \bar{T}(t)]^2}{n}}} \right]$$

Donde:

n: Número de puntos de muestreo.

R(t): Valor de disolución promedio del lote de referencia en el tiempo t.

T(t): Valor de disolución promedio del lote de prueba en el tiempo t.

El factor f1 refleja la diferencia acumulativa entre las curvas de disolución (producto referencia y de prueba) en todos los puntos de tiempo.

$$f_1 = \left\{ \frac{\left(\sum_1^n |R_t - T_t| \right)}{\sum_1^n (R_t)} \right\} 100$$

Donde:

n: Número de puntos de muestreo.

Rt: Valor de disolución promedio del lote de referencia en el tiempo t.

Tt: Valor de disolución promedio del lote de prueba en el tiempo t.

Se considera positivo aquellos que se encuentran entre el rango 0 - 15 para f1 y 50 - 100 para f2. En caso de presentarse contradicción entre los resultados, el que prima es del factor f2. Un medicamento genérico demostrará Bioequivalencia *in vitro* si se comprueba la similitud de sus perfiles de disolución con los del medicamento de referencia (innovador) en los tres medios de disolución: solución ácido clorhídrico pH 1.2, buffer acetato de sodio pH 4.5 y buffer fosfato de potasio pH 6.8 mediante los valores de los factores f1 y f2 dentro del rango aceptable^{39,40}.

VI. RESULTADOS

6.1 Pruebas de control de calidad

Los aspectos técnicos como fecha de vencimiento, registro sanitario y características físicas de cada medicamento en estudio se muestran en la **Tabla 2**, donde se observa que todos los productos evaluados cuentan con registro sanitario y con fecha de vencimiento vigente. Los medicamentos genéricos A, B y C presentan características similares entre sí: son tabletas recubiertas alargadas, lisas por ambas caras, presentan una ranura central en una cara; diferenciándose del medicamento de referencia en que éste es de forma redonda y no presenta ranura en ninguna de sus caras. Con respecto a los excipientes, sólo se pudo conocer de estos en el medicamento de referencia, ya que en los recetarios de los medicamentos genéricos A, B y C no se muestra dicha información.

Tabla 2.- Aspectos técnicos de los medicamentos en estudio

	Fecha de Vencimiento	R.S.	Descripción y Características físicas	Excipientes
Medicamento de Referencia	10/2020	E-9366	Comprimidos recubiertos, redondas, uniforme, liso, de color blanco, sin olor.	Estearato de magnesio, povidona K30 e hipromelosa
Genérico A	05/2019	EN-00781	Tabletas recubiertas alargadas, lisas por ambas caras con una ranura central en una de sus caras. Color blanco. Sin olor.	No muestra excipientes
Genérico B	09/2018	NG-4980	Tabletas recubiertas alargadas, lisas por ambas caras con una ranura central en una de sus caras. Color blanco. Sin olor.	No muestra excipientes
Genérico C	07/2018	EN-00269	Tabletas recubiertas alargadas, lisas por ambas caras con una ranura central en una de sus caras. Color blanco. Sin olor.	No muestra excipientes

En la **tabla 3** se observan los resultados de la prueba de valoración reportados en mg/tab y % clorhidrato de metformina según lo declarado. Se reporta 824.26 mg y 96.97% para el medicamento de referencia, 811.45 mg y 95.46% para el medicamento genérico A, 854.58 mg y 100.54% para el medicamento genérico B y 830.03 mg y 97.65% para el medicamento genérico C, cumpliendo así todos los medicamentos con las especificaciones de calidad de la USP 38 para la valoración del principio activo, especificada entre 95%-105% de los declarado.

Tabla 3.- Valoración del contenido de metformina clorhidrato 850 mg en tabletas de liberación inmediata (A, B, C y referencia)

	Cantidad declarada (mg/tab)	Resultados		
		Cantidad (mg/tab)	% Clorhidrato de Metformina según lo declarado	Cumple (95%-105%)*
Medicamento de Referencia	850	824.26	96.97	Sí
Genérico A	850	811.45	95.46	Sí
Genérico B	850	854.58	100.54	Sí
Genérico C	850	830.04	97.65	Sí

*= Especificación USP 38, 95-105% de la cantidad declarada de Metformina clorhidrato para la prueba de valoración⁶⁰.

Los resultados de la prueba de uniformidad de dosis por variación de peso son detallados en la **Tabla 4**, donde se muestra que el valor de aceptación (VA) para el medicamento de referencia y medicamentos genéricos A, B y C fueron 2.8, 6.6, 1.6 y 3.6 respectivamente, cumpliendo de

este modo con el criterio de aceptación de la USP 38 que indica que el VA debe ser menor o igual al valor de L1, siendo L1 igual a 15.

Tabla 4.- Uniformidad de dosis por variación de peso para tabletas de metformina clorhidrato 850 mg (A, B, C y referencia)

	L1	(VA≤15)
Medicamento de Referencia	2.8	Sí
Genérico A	6.6	Sí
Genérico B	1.6	Sí
Genérico C	3.6	Sí

*= Especificación USP 38, L1 debe ser menor a 15 para la prueba de uniformidad de dosis por variación de peso⁶⁰.

La **Tabla 5** muestra los resultados de la prueba de disolución, reportándose que cada tableta del medicamento de referencia y genéricos A, B y C presentaron un porcentaje de disolución no menor a 75%, cumpliendo con el criterio de la fase S1 establecido por la USP38, el cual indica que las tabletas de metformina clorhidrato deben disolverse no menos de 75% en 45 minutos (Ver Anexo 2).

Tabla 5.- Prueba de disolución de tabletas de metformina clorhidrato 850 mg (A, B, C y referencia)

N° Tabletas	% Disolución a los 45 minutos			Cumple (no menor a 75%)*	
	Medicamento de Referencia	Genérico A	Genérico B		Genérico C
1	97.84	100.39	102.65	99.88	Sí
2	96.89	100.15	100.67	99.68	Sí
3	98.57	101.08	101.23	98.00	Sí
4	97.13	95.66	103.30	102.08	Sí
5	97.49	100.49	104.30	99.93	Sí
6	98.70	100.53	102.75	97.12	Sí

*= Especificación USP 38, el porcentaje de disolución debe ser no menor a Q+5%, siendo Q igual a 70% para cumplir con la etapa S1 de la prueba de disolución para tabletas de metformina clorhidrato⁶⁰.

Los medicamentos cumplieron con los parámetros de calidad, por tal motivo se continuó con la segunda parte correspondiente al estudio de la prueba de bioequivalencia *in vitro*.

6.2 Prueba de Bioequivalencia “*in vitro*”

6.2.1 Curva de Calibración

La curva de calibración para el buffer ácido clorhídrico pH 1.2, buffer acetato pH 4.5 y buffer fosfato pH 6.8 son mostrados en la **Figura 4, 5 y 6** respectivamente, donde la recta de regresión de la curva de la **Figura 4** presenta un $r=0.9975$ y $r^2= 0.9951$ con la siguiente ecuación de la recta $y = 18.876x - 0.0029$, la curva de la **Figura 5** con $r=0.9994$, $r^2= 0.9989$ y con una ecuación de la recta de $y = 78.015x - 0.0108$, por último, la **Figura 6** con $r=0.9969$, $r^2= 0.9939$ y con una ecuación de la recta de $y = 82.8x - 0.0137$. Los datos mostrados indican que existe significativa relación entre las variables.

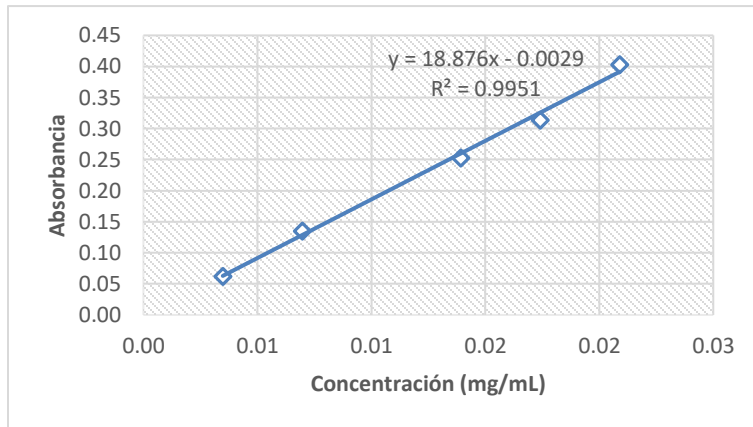


Figura 4.- Gráfico de linealidad para cuantificar metformina clorhidrato, solución ácido clorhídrico pH 1.2.

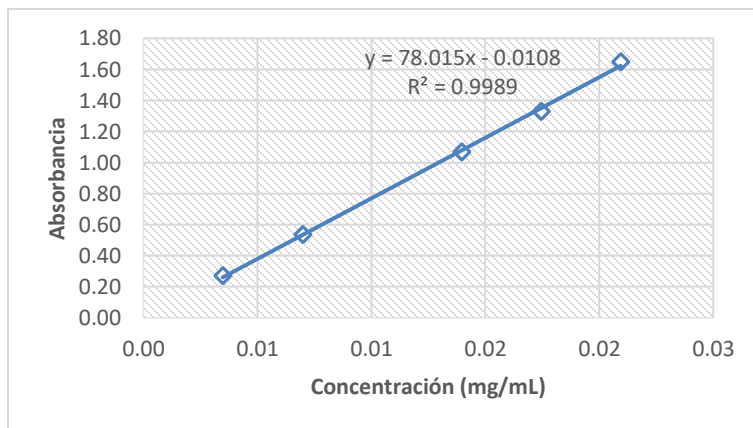


Figura 5.- Gráfico de linealidad para cuantificar metformina clorhidrato, buffer acetato de sodio pH 4.5.

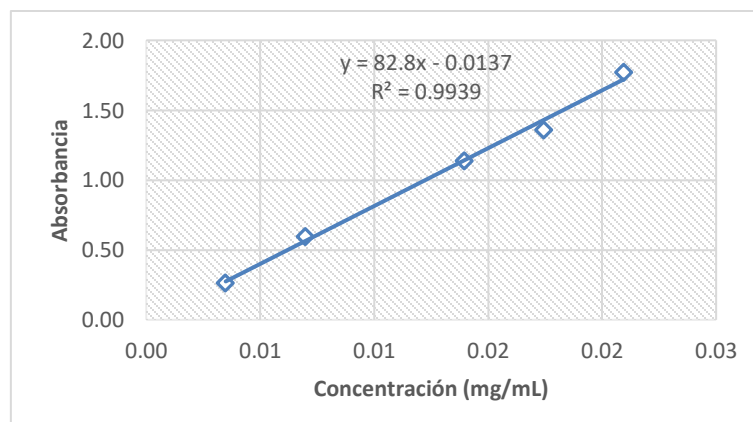


Figura 6.- Gráfico de linealidad para cuantificar metformina clorhidrato, buffer fosfato de potasio pH 6.8.

6.2.2 Perfiles de disolución

Los resultados de los perfiles de disolución *in vitro* de los medicamentos genéricos A, B, C y medicamento de referencia en los tres medios de disolución: solución ácido clorhídrico (pH 1.2), buffer acetato de sodio (pH 4.5) y buffer fosfato de potasio (pH 6.8), muestran que el coeficiente de variación de los 12 resultados fue menor a 20% a los 5, 10 minutos y menor a 10% en los últimos tiempos 15, 30, 45 y 60 minutos, cumpliendo con el requisito, lo cual permite utilizar el promedio del porcentaje de disolución y desarrollar el perfil de disolución correspondiente (ver ANEXO 3,4 y 5).

La **Tabla 6** muestra el promedio de disolución de las 12 tabletas de cada medicamento en estudio en los tiempos establecidos en solución ácido clorhídrico pH 1.2. El porcentaje de disolución de los medicamentos genéricos A, B y C fue mayor a 85% de su contenido en menos de 15 minutos (alrededor de 10 minutos) mientras que del medicamento de referencia fue en menos de 30 minutos. Resultados similares a los ya mencionados obtuvimos en buffer acetato de sodio pH 4.5 y buffer fosfato de potasio pH 6.8 que son mostrados en las **Tablas 7 y 8**. De acuerdo con lo establecido se considerarían formulación de “muy rápida disolución” para los medicamentos genéricos y “rápida disolución” para el medicamento de referencia.

Tabla 6.- Promedio del porcentaje de disolución del medicamento genérico A, B, C y referencia en cada tiempo establecido en solución ácido clorhídrico, pH 1.2.

Tiempo (minutos)	Genérico A	Genérico B	Genérico C	Referencia
5	48.85	74.85	70.5	31.88
10	86.92	104.62	97.33	50.58
15	100.67	104.88	99.47	67.91
30	105.9	105.07	100.46	90.6
45	103.51	104.18	101.75	103.61
60	103.07	104.83	100.57	105.16

Tabla 7.- Promedio del porcentaje de disolución de 12 tabletas de los medicamentos genéricos A, B, C y referencia en cada tiempo establecido en buffer acetato de sodio, pH 4.5

Tiempo (minutos)	Genérico A	Genérico B	Genérico C	Referencia
5	46.00	71.16	68.57	34.75
10	79.19	99.49	94.93	57.95
15	95.73	100.47	96.42	71.73
30	98.21	99.83	97.07	96.58
45	97.6	100.06	97.6	99.08
60	97.86	100.17	97.37	98.98

Tabla 8.- Promedio del porcentaje de disolución de 12 tabletas de los medicamentos genéricos A, B, C y referencia en los tiempos establecidos en buffer fosfato de potasio pH 6.8.

Tiempo (minutos)	Genérico A	Genérico B	Genérico C	Referencia
5	55.64	63.72	62.8	47.41
10	88.49	95.51	91.24	74.67
15	96.84	97.24	94.38	81.5
30	97.1	97.74	94.75	94.79
45	98.34	97.82	94.97	95.28
60	97.27	98.1	95.2	95.68

Mediante el perfil de disolución en medio ácido clorhídrico pH 1.2 del medicamento de referencia vs los medicamentos genéricos A, B y C respectivamente, se evidencia que la velocidad de disolución de estos es mayor al del medicamento de referencia (**Figura 7, 8 y 9**).

La **figura 10** muestra los perfiles de disolución de los medicamentos en estudio vs el medicamento de referencia, se observa que los comportamientos de los perfiles de disolución de los medicamentos genéricos son similares entre ellos, pero diferentes al de referencia.

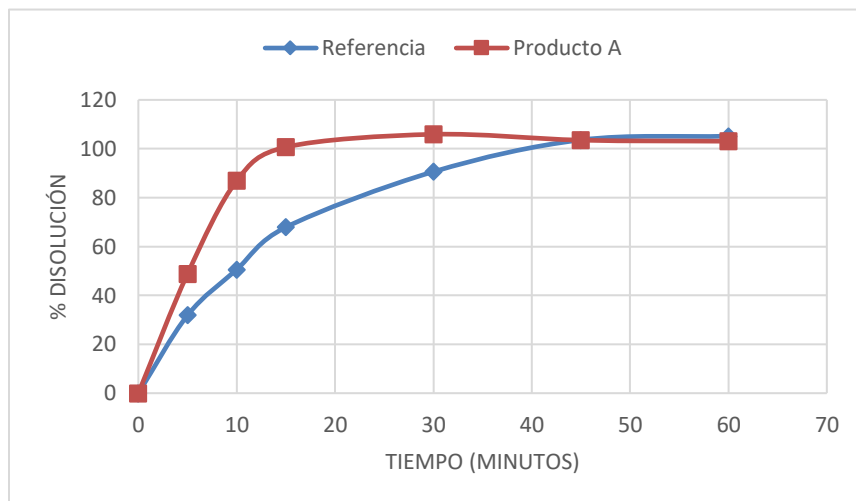


Figura 7.- Perfil de disolución del medicamento genérico A vs medicamento de referencia en medio ácido clorhídrico, pH 1.2.

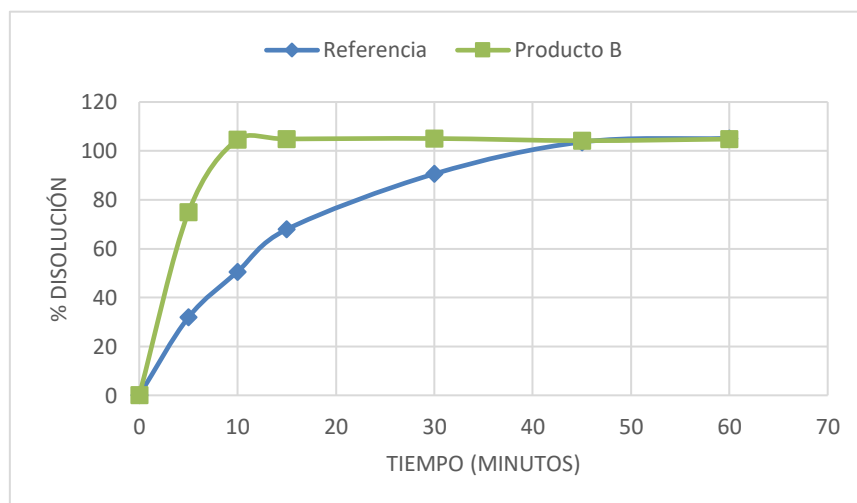


Figura 8.- Perfil de disolución del medicamento genérico B vs medicamento de referencia en medio ácido clorhídrico, pH 1.2.

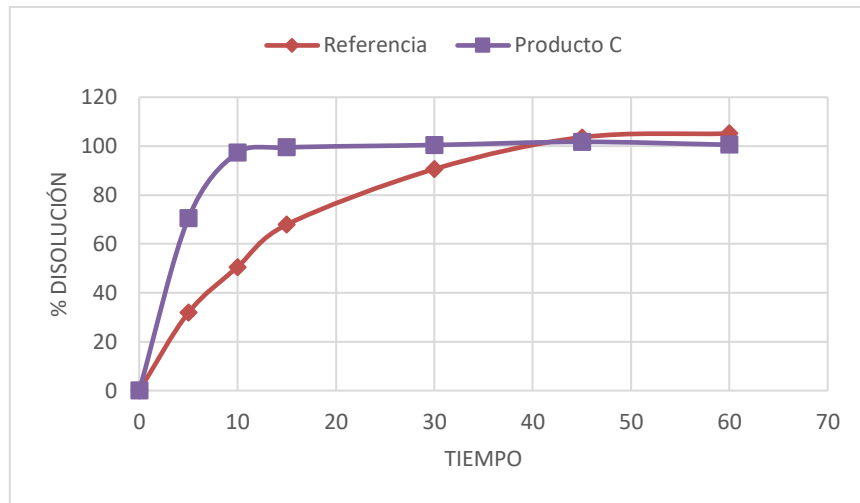


Figura 9.- Perfil de disolución del medicamento genérico C vs medicamento de referencia en medio ácido clorhídrico, pH 1.2.

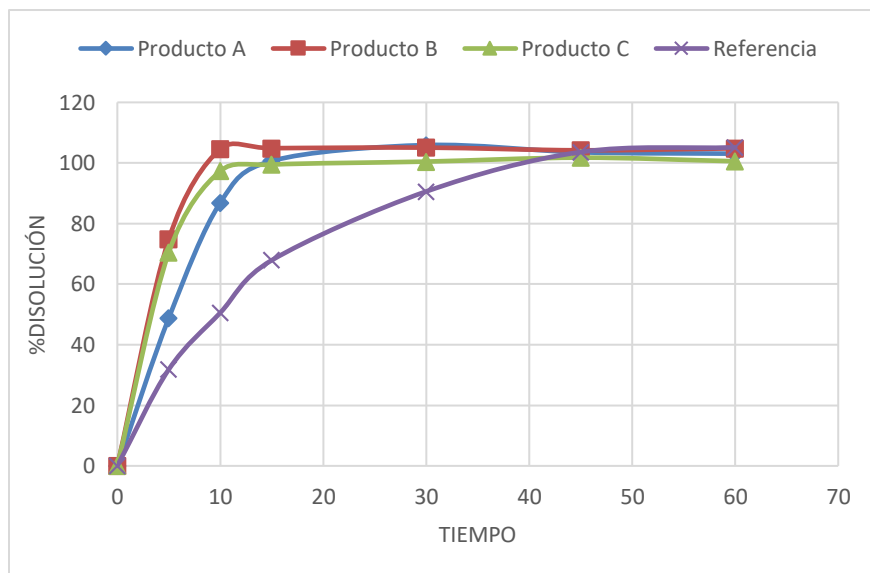


Figura 10.- Perfil de disolución de los medicamentos genéricos A, B y C vs medicamento de referencia en solución ácido clorhídrico, pH 1.2

El perfil de disolución del medicamento de referencia vs los medicamentos genéricos A, B y C respectivamente en buffer acetato de sodio pH 4.5 son mostrados en las **Figuras 11, 12 y 13**. En este medio, también es notorio que los perfiles de disolución de los medicamentos genéricos presentaron mayor velocidad de disolución que del medicamento de referencia, evidenciándose que el perfil de disolución del medicamento A es el que más se asemeja a este (**Figura 11**).

La **figura 14** muestra los perfiles de disolución de todos los medicamentos en estudio, manifestándose que la velocidad de disolución del medicamento de referencia es más lenta que de los genéricos.

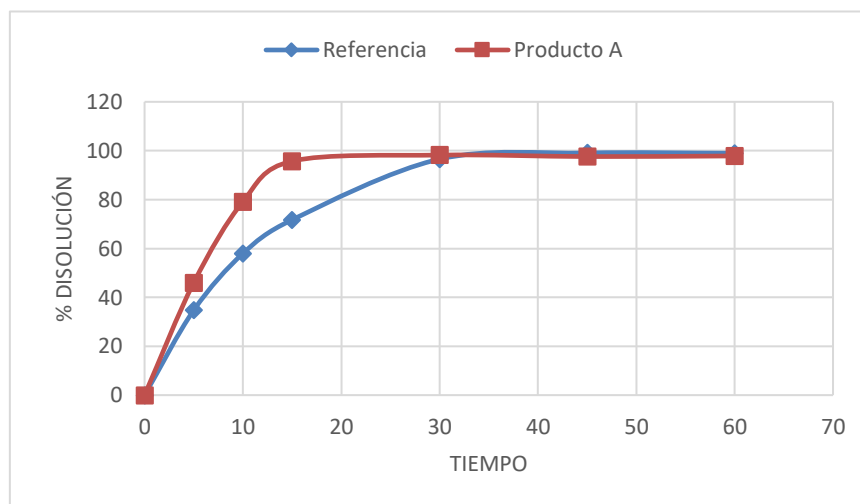


Figura 11.- Perfil de disolución del medicamento genérico A vs medicamento de referencia en buffer acetato de sodio, pH 4.5

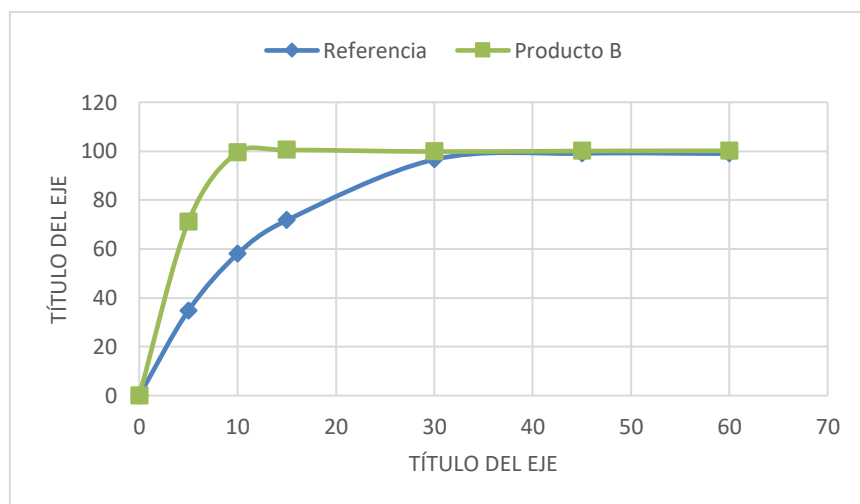


Figura 12.- Perfil de disolución del medicamento genérico B vs medicamento de referencia en buffer acetato de sodio, pH 4.5

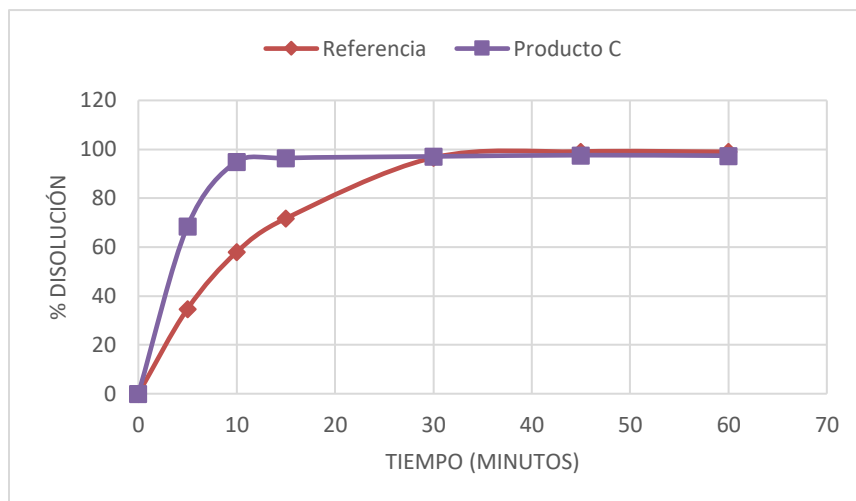


Figura 13.- Perfil de disolución del medicamento genérico C vs medicamento de referencia en buffer acetato de sodio pH 4.5.

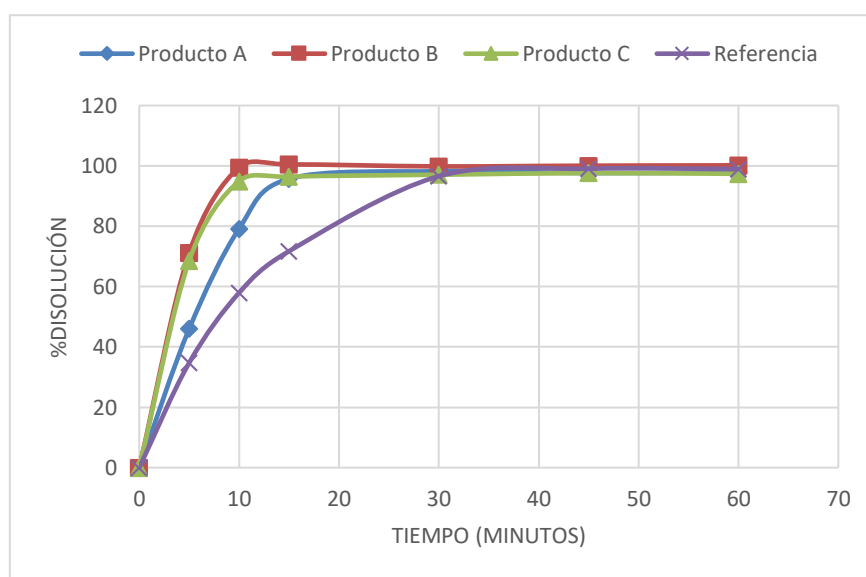


Figura 14.- Perfil de disolución de los medicamentos genéricos A, B y C vs medicamento de referencia en buffer acetato de sodio, pH 4.5

Las **figuras 15, 16 y 17** presentan el perfil de disolución del medicamento de referencia vs los medicamentos A, B y C respectivamente en medio buffer fosfato de potasio pH 6.8. En este medio las curvas de disolución de los medicamentos genéricos se asemejan al de referencia, aunque su velocidad de disolución es mayor. Se observa los perfiles de disolución de los

medicamentos en estudio y se resalta que, a comparación de los otros medios, en este, se aproximan más al perfil del medicamento de referencia (**Figura 18**).

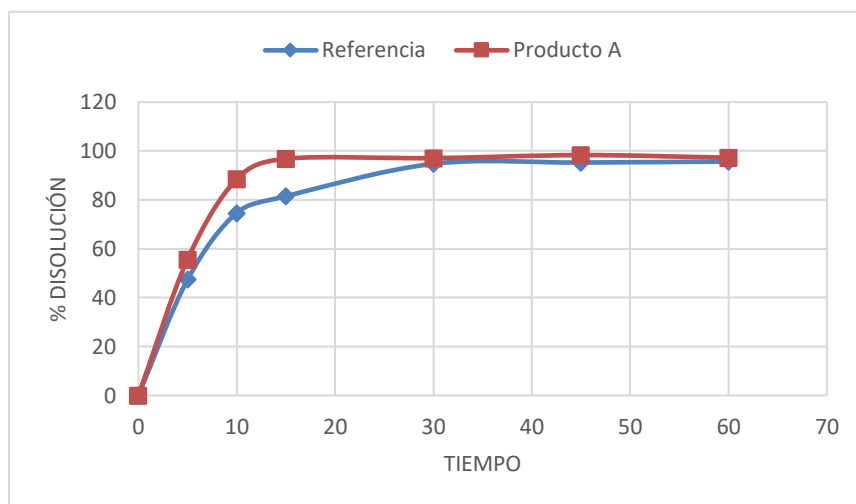


Figura 15.- Perfil de disolución del medicamento genérico A vs medicamento de referencia en buffer fosfato de potasio, pH 6.8.

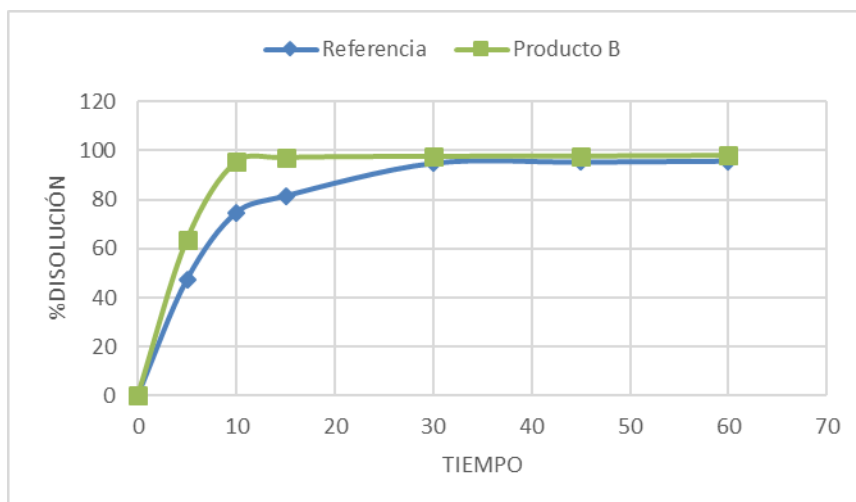


Figura 16.- Perfil de disolución del medicamento genérico B vs medicamento de referencia en buffer fosfato de potasio, pH 6.8.

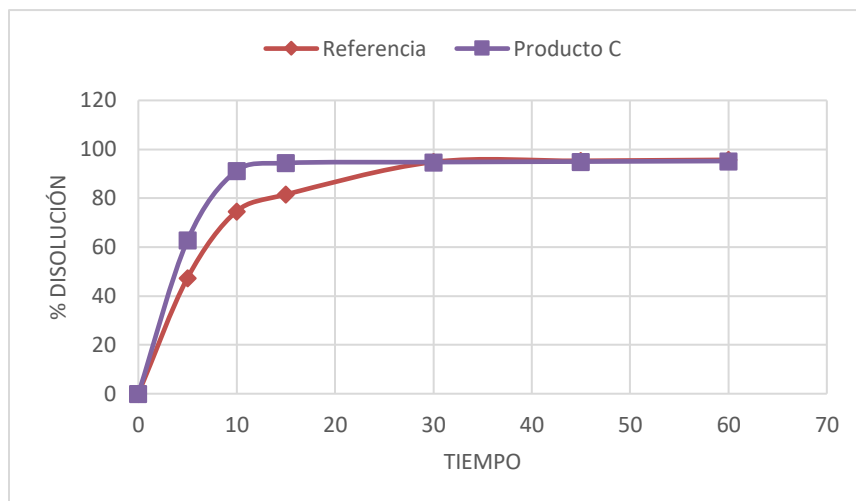


Figura 17.- Perfil de disolución del medicamento genérico C vs medicamento de referencia en buffer fosfato, pH 6.8.

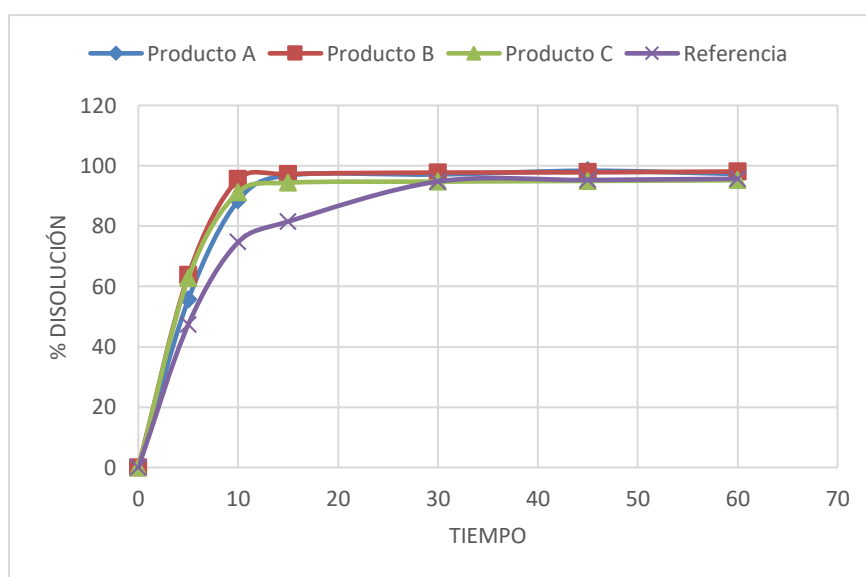


Figura 18.- Perfil de disolución de los medicamentos genéricos A, B y C vs medicamento de referencia en buffer fosfato de potasio, pH 6.8

Se describe los resultados de los valores de f1 y f2 (**Tabla 9**). En medio ácido clorhídrico pH 1.2, ningún valor de f1 ni f2 cumplió con la especificación, mientras que en buffer acetato de sodio pH 4.5 sólo el medicamento genérico A de los 3 medicamentos en estudio obtuvieron valores de f1 y f2 dentro del rango establecido. Por último, todos los medicamentos genéricos

presentaron valores aceptables en buffer fosfato de potasio pH 6.8 (Ver los cálculos empleados para determinar los valores del factor f1 y f2 en Anexo 6, 7 y 8).

Por lo indicado anteriormente que, para establecer bioequivalencia entre un medicamento genérico y el medicamento de referencia sus perfiles de disolución deben ser similares en los tres medios de disolución, por lo tanto, se determina que ningún medicamento evaluado son bioequivalentes al medicamento de referencia mediante la prueba de disolución *in vitro*.

Tabla 9.- Valores del factor f1 y f2 de los medicamentos genéricos de metformina clorhidrato versus el referencial (Glucophage 850 mg)

Medicamentos	pH 1.2			pH 4.5			pH 6.8		
	f1	f2	CUMPLE	f1	f2	CUMPLE	f1	f2	CUMPLE
Genérico A	23.03	40.30	No	13.23	50.25	Sí	9.06	59.02	Sí
Genérico B	33.21	31.90	No	24.43	37.19	No	12.42	52.19	Sí
Genérico C	29.63	34.93	No	21.58	39.56	No	9.33	56.02	Sí

VII.- DISCUSIÓN

El presente trabajo tuvo como objetivo principal establecer si existe bioequivalencia *in vitro* entre tres medicamentos genéricos en tabletas que contienen metformina clorhidrato de 850 mg con el medicamento de referencia. Para esto, primero se evaluó sus características físicas y fisicoquímicas, luego se llevó a cabo el perfil de disolución de los medicamentos genéricos en estudio frente al medicamento de referencia.

Se observó diferencias en cuanto a sus características físicas donde el medicamento de referencia presentó forma redonda, sin ranura en ninguna de sus caras mientras los medicamentos genéricos A, B y C tuvieron forma alargada con una ranura central en su cara superior, además se evidenció entre los productos genéricos diferencias en el tamaño de sus tabletas y en su composición, ya que los excipientes son mencionados en el caso del medicamento de referencia pero no en el de los medicamentos genéricos. Por lo expuesto, queda claro que existe desigualdad en cuanto al diseño y formulación de los medicamentos genéricos, lo cual puede conllevar a que sus biodisponibilidades resulten diferentes al medicamento innovador; los factores que pueden impactar en la velocidad de disolución del principio activo y causar consecuencias en la biodisponibilidad de un producto abarcan aquellos que están asociados a las propiedades fisicoquímicas del principio activo y excipientes: tamaño, forma y densidad de partícula, estructura cristalina (polimorfos), entre otros; y numerosas variables implicadas en la formulación y proceso de elaboración como cantidad utilizada de desintegrante, lubricante, naturaleza de diluyente, fuerza de compresión, tiempo del mezclado, método de elaboración, etc.³⁴ Metformina clorhidrato presenta dos diferentes polimorfos, la forma termodinámicamente estable (Forma I) y el polimorfo metaestable (Forma II), ambos con estructuras monoclinicas, cada una presenta características propias de compresión y flujo que, según el utilizado, repercutirá en la velocidad de disolución. Por lo general el polimorfo metaestable presenta mayor velocidad de disolución que el polimorfo estable³⁵.

Como se mencionó anteriormente, el método de elaboración empleado ya sea por granulación húmeda o por granulación seca, puede ocasionar transformaciones de tipo micrométrico al principio activo y excipientes (cambios en tamaño, superficie, etc.) o de tipo polimórficos como consecuencia de la humectación, secado o la acción mecánica del compactador, dichos cambios no se esperarían con el método de compresión directa. Si bien es cierto, se desconoce el método

de elaboración utilizado en los productos, pero se sabe que uno de los excipientes del medicamento innovador es Povidona K, un aglutinante empleado en el método de granulación húmeda, además metformina clorhidrato es un compuesto termoestable que a temperatura de 300°C aún mantiene su estructura, lo cual puede dar indicio de que se elaboró por el método de granulación húmeda³⁴.

Los resultados de los ensayos fisicoquímicos muestran que todos los medicamentos (R, A, B y C) en estudio cumplieron con los ensayos de la USP 38: con la etapa S1 de la prueba de disolución donde cada tableta presentó un porcentaje de disolución no menor de Q+5% (75%), con la prueba de valoración del principio activo (95-105%) cuyos valores fueron R= 96.97%, A=95.46%, B=100.54% y C=97.65% y prueba de uniformidad de dosis por variación de peso, donde se obtuvieron valores de L1 menores a 15 (R=2.8, A=6.6, B=1.6 y C=3.6). De la prueba de valoración, se esperaría que el contenido de metformina clorhidrato del medicamento innovador (R) se encuentre cerca al 100%, pero el porcentaje obtenido fue 97% (96.97%); de igual modo los valores de la cantidad de metformina liberada de las 6 tabletas analizadas mediante la prueba de disolución (encontrándose en un rango de 96.89% - 98.70%) se aproximan al resultado de la prueba de valoración, además con los valores de la prueba de uniformidad de dosis (L1=2.8) se confirma que es un lote homogéneo. Debido a que el lote fue adquirido de un establecimiento farmacéutico, la variación del casi 3% pudo deberse a problemas relacionadas con las condiciones de almacenamiento que generó una caída en la potencia del producto, sin embargo, el medicamento cumplió con el rango establecido. Asimismo, el resultado de la prueba de valoración del medicamento A (95.46%) se encuentra cerca al límite de 95%, pero se debe tener en cuenta que, en la prueba de disolución, una tableta logró liberar 95.66% de su contenido y los valores de las tabletas restantes se encontraron en un rango entre 100.15% - 101.08%; si bien el medicamento A cumplió con la prueba de uniformidad de dosis (L1=6.6), fue el que mayor valor presentó a comparación de los otros productos del estudio cuyos valores se aproximaron a 1, demostrando así que existe cierta variabilidad en cuanto al contenido.

Con respecto al estudio de bioequivalencia *in vitro*, ningún medicamento demostró ser bioequivalencia al medicamento de referencia. La disolución del medicamento de referencia en los tres buffers fue no menos del 85% de su contenido en 30 minutos (cumple con el criterio de rápida disolución), por otro lado, los medicamentos genéricos evaluados (A, B y C) tuvieron

una disolución no menos del 85% de su contenido en menos de 15 minutos (cumplen con el criterio de muy rápida disolución). Las diferencias se vieron reflejadas en los valores que se obtuvo del factor f_1 y f_2 siendo sólo aceptables en los siguientes medios: para el medicamento A en buffer acetato de sodio pH 4.5 ($f_1 = 13.23$, $f_2 = 50.25$) y buffer fosfato de potasio pH 6.8 ($f_1 = 9.06$, $f_2 = 59.02$), para los medicamentos B y C sólo en buffer fosfato de potasio pH 6.8 ($f_1 = 12.42$, $f_2 = 52.19$ y $f_1 = 9.33$, $f_2 = 56.02$ respectivamente) y ningún producto presentó valores de f_1 y f_2 dentro del rango establecido en solución ácido clorhídrico pH 1.2. En la tesis realizada por Milena Pérez (Colombia, 2013) se reportaron resultados similares a los nuestros, el medicamento de referencia en buffer fosfato de potasio pH 6.8 logró disolverse más del 85% de su contenido en 30 minutos y en otros medios su disolución fue más lenta, lográndose en 45 minutos (solución ácido clorhídrico pH 1.2 y buffer acetato de sodio pH 4.5) en comparación de los medicamentos genéricos que se disolvieron más rápidamente cuyos valores de f_2 hallados fueron menores que 50, siendo considerados no bioequivalentes *in vitro*⁴⁸. La rápida disolución de los medicamentos genéricos en estudio podría significar que la liberación del principio activo no estuvo influenciada por los efectos de la formulación sino por su alta solubilidad. En la bibliografía se encontró que, desarrollar una formulación de metformina clorhidrato es un desafío debido a su difícil compresión, alta dosis y su alta solubilidad en agua (>300 mg /mL a 25°C); por la razón que tiende a presentar rápida liberación inicial en el tracto digestivo. Por otro lado, la rápida disolución de los medicamentos genéricos podría originar diferencias en cuanto a su velocidad y cantidad de absorción con respecto al medicamento de referencia lo cual podría repercutir en su biodisponibilidad ya que al encontrarse expuesto por mayor tiempo al hígado este procederá a su degradación, por lo que el paciente terminará recibiendo menor cantidad de dosis (biodisponibilidad absoluta de Glucophage es de 50% a 60%)^{61,28}.

De acuerdo a lo mencionado anteriormente y en relación a la normativa de la FDA y OMS, el medicamento de referencia no cumpliría con el requisito para bioexención de medicamentos que pertenecen a la clase III de la BCS que establece que el porcentaje debe ser $\geq 85\%$ de su contenido en 15 minutos en los tres medios, por lo tanto, aunque los medicamentos genéricos de metformina clorhidrato en estudio cumplen con dicho requisito no pueden asegurar bioequivalencia con el medicamento de referencia porque éste último no lo cumple^{39,40}. La disolución rápida *in vitro* (no menos del 85% de su contenido en 30 minutos) para fármacos altamente solubles y altamente permeables (Clase I), puede asegurar muy probablemente una

rápida disolución *in vivo*. Sin embargo, la demostración de la rápida disolución *in vitro* de los fármacos Clase III puede no asegurar una rápida disolución *in vivo* porque sus condiciones pueden cambiar. Gordon Amidon et al. (2002) estableció que, para minimizar la posibilidad de anomalías del comportamiento de disolución, el criterio de disolución para fármacos de Clase III debe ser no menor del 85% de su contenido en 15 minutos⁵. Sin embargo, algunos autores como Ching Ling Cheng et al. (Taiwan, 2004) apoyan la extensión del criterio de tiempo de velocidad a 30 minutos, después de realizar un estudio de bioequivalencia *in vivo* a dos formulaciones de metformina clorhidrato 500 mg que se disuelven rápidamente y tienen perfiles de disolución *in vitro* similares donde se concluyó que son bioequivalentes; y otros, como Irena Homšek et al. (Serbia, 2010) quienes tras investigar la influencia de las condiciones experimentales de dos formulaciones con bioequivalencia *in vivo* comprobada obtuvieron como resultados que el valor de f2 solo cumplió en buffer fosfato de potasio pH 6.8, por lo que aseguran que realizar la comparación de los perfiles de disolución en medio fosfato a pH 6.8, que es lo recomendado por la USP 38 para la prueba de disolución; es suficiente para obtener datos confiables ya que la cantidad absorbida depende de la permeabilidad y no de su disolución^{50,14}.

En relación con los estudios *in vitro* de metformina clorhidrato 500 mg, en el estudio de Ching Ling Cheng et al. (Taiwan, 2004), el medicamento de referencia y el medicamento de prueba liberaron más del 85% de su contenido de metformina en 30 minutos (medicamentos de rápida disolución), donde se reportaron valores de f2 y f1 dentro del rango establecido. En otro estudio como la realizada por Oyetunde et al. (2012), la disolución del medicamento de referencia fue mayor a 85% de su contenido a los 45 minutos en medio ácido clorhídrico pH 1.2 y en buffer acetato de sodio pH 4.5, mientras que en buffer fosfato de potasio pH 6.8 se logró en 30 minutos, resultando que solo una formulación genérica de las 4 formulaciones de metformina clorhidrato 500 mg en estudio fue bioequivalente al referencial. La FDA indica que para productos con concentraciones múltiples de liberación inmediata que presenten cinética lineal, se puede realizar el estudio de bioequivalencia *in vivo* a la concentración más alta y se puede otorgar exenciones para las formulaciones de concentraciones menores, con la condición de que sus formulaciones sean proporcionalmente similares al medicamento comparador. Metformina clorhidrato no presenta cinética lineal, por tal motivo no cumple con dicho requisito^{50,49,62}.

Este trabajo se realizó siguiendo las pautas internacionales de la FDA, pero en nuestro país, DIGEMID ha implementado y aún se encuentra en revisión “LA DIRECTIVA SANITARIA QUE REGULA LOS ESTUDIOS DE EQUIVALENCIA TERAPÉUTICA PARA DEMOSTRAR LA INTERCAMBIABILIDAD DE MEDICAMENTOS” donde se detallan los lineamientos para realizar los estudios de bioequivalencia⁴⁶.

Siguiendo con la directiva sanitaria mencionada anteriormente, el presente estudio cumplió con el primer criterio que se refiere a que el medicamento de referencia debe ser el producto innovador fabricado en el primer país de origen (Glucophage fue producido por Jean Sterne por primera vez en Francia). Asimismo, los medicamentos genéricos cumplieron con las siguientes pautas: fueron elaboradas mediante Buenas Prácticas de Manufactura, sus contenidos de IFA no difirieron +/- 5% en relación con el producto de referencia, presentaron número de lote y fecha de vencimiento, pero no se cumplió con el requisito de mostrar su fórmula cuali-cuantitativa porque aún no hay una norma en nuestro país que exija dicha información, resaltando que la presente directiva sanitaria aún se encuentra en revisión. Con respecto a los requisitos de calidad, tanto el producto de referencia como los medicamentos genéricos cumplieron con las especificaciones para la prueba de identificación, contenido, disolución y uniformidad de contenido y con el tiempo de vigencia que debe ser un año antes de su fecha de vencimiento al momento de realizar el estudio, siendo los meses entre febrero- mayo del 2016 el periodo en que se llevó a cabo el presente estudio. En cuanto a la cantidad de muestra utilizada, se trabajó con un lote por producto por el motivo que nuestro trabajo se trata de una evaluación preliminar, en caso se deba realizar un estudio siguiendo con todas las pautas establecidas por las entidades reguladoras por lo menos se debe emplear dos lotes de fabricación. Para la representación de los perfiles de disolución, este trabajo se basó en el criterio propuesto por la FDA, el cual indica que el coeficiente de variación no debe ser superior al 20% en los primeros puntos y en los últimos no deben superar el 10%, mientras que la presente directiva difiere con lo mencionado en que sólo un punto inicial debe no ser superior al 20%.

En Perú, se reportó estudios de bioequivalencia *in vitro* e *in vivo* de Ibuprofeno (SCB, clase II), propranolol 40 mg (SCB, clase II), diazepam de 10 mg (SCB, clase I) y ciclosporina mg (SCB, clase II), pero no existe evidencia de estudios sobre bioequivalencia de metformina clorhidrato *in vivo* ni *in vitro*^{52,53,54}.

Como se mencionó anteriormente, la información de algunos excipientes se muestra en el recetario del medicamento de referencia, pero no de los medicamentos genéricos. Se han reportado que algunos excipientes convencionales usados en las formulaciones de tabletas de metformina clorhidrato como avicel, povidona, estearato de magnesio, hidroxipropilmetilcelulosa (recubrimiento) no afectan significativamente la motilidad gastrointestinal ni la permeabilidad de metformina. Sin embargo, Dimitrijevic *et al.* demostraron que los tensioactivos no iónicos (Solulan y polisorbato) potencian la absorción en monocapas de células Caco-2⁵⁰.

Todos los medicamentos cumplieron con los parámetros indicados por la USP 38 pero no con la prueba de bioequivalencia *in vitro*. Cabe mencionar al respecto que en reporte de casos de alerta dados por la falta de efecto terapéutico de los medicamentos genéricos ocurridos con: dicumarol, levotiroxina, prednisona, difenilhidantoína, fenitoína, valproato, carbamazepina y oxitetraciclina los cuales ocasionaron crisis epilépticas, toxicidad, efectos secundarios neurológicos, erupciones cutáneas y efectos secundarios gastrointestinales cumplían con los requisitos fisicoquímicos de control de calidad, pero luego se comprobó que las diferencias en la eficacia terapéutica se debió a una disminución o aumento en la biodisponibilidad del genérico respecto al referente⁶³.

Es primordial que, en nuestro país, la prueba de bioequivalencia sea un requisito indispensable para la inscripción de los medicamentos genéricos con el único fin de poner a disposición de los pacientes, medicamentos de eficaces, seguros y de calidad que ayuden a salvar vidas y mejorar la salud de los peruanos.

VIII. CONCLUSIONES

- 1) Se verificó que los medicamentos genéricos A, B, C y medicamento de referencia Glucophage 850 mg cumplen con las especificaciones de calidad según farmacopea vigente USP 38 como la prueba disolución (cada tableta presentó un porcentaje de disolución no menor a 75%), valoración del principio activo (R= 96.97%, A=95.46%, B=100.54% y C=97.65%) y uniformidad de dosis (R=2.8, A=6.6, B=1.6 y C=3.6), también se evaluó sus aspectos técnicos y se comprobó que cuentan con registro sanitario y fecha de vencimiento vigente.

- 2) Se realizaron los perfiles de disolución de los medicamentos A, B, C y medicamento de referencia que mostraron un coeficiente de variación dentro de los rangos establecidos por la FDA, los cuales fueron para los primeros puntos (5 y 10 minutos) menor a 20% y para el resto (15, 30, 45 y 60 minutos) menor a 10%. Además, los perfiles de disolución evidenciaron que el medicamento de referencia cumple con el criterio de medicamento de rápida disolución ($\geq 85\%$ del principio activo de la cantidad declarada es disuelta en 30 minutos) y los medicamentos genéricos cumplen con el criterio de medicamento de muy rápida disolución ($\geq 85\%$ del principio activo de la cantidad declarada es disuelta en 15 minutos).

- 3) Se estableció su similitud y diferencia mediante el método independiente factor f_1 y f_2 , los cuales cumplieron para el medicamento A en pH 4.5 ($f_1 = 13.23$, $f_2 = 50.25$) y pH 6.8 ($f_1 = 9.06$, $f_2 = 59.02$) y para los medicamentos B y C sólo en pH 6.8 ($f_1 = 12.42$, $f_2 = 52.19$ y $f_1 = 9.33$, $f_2 = 56.02$ respectivamente).

- 4) Dado los resultados expuestos, los medicamentos genéricos de Metformina clorhidrato 850 mg de nacionalidad peruana a las cuales se les denominó A, B y C no son bioequivalentes *in vitro* al medicamento de referencia Glucophage 850 mg.

IX. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

1. Lema Spinelli S. Acceso a los medicamentos: las patentes y los medicamentos genéricos: las consecuencias de considerar al medicamento como un bien de mercado y no social. *Rev Bioét Derecho*. 2015;(34):81–89.
2. Estévez F, Parrillo S, Cedrés M. Estudios de bioequivalencia in vivo para demostrar la intercambiabilidad de medicamentos. *Rev Médica Urug*. septiembre de 2012;28(3):165–73.
3. Montpart Costa E. Registro de medicamentos genéricos de uso humano: Estudio jurídico comparado entre Europa y Estados Unidos. el 21 de julio de 2015 [citado el 25 de julio de 2016]; Disponible en: <http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/66747>
4. García Arieta A, Hernández García C, Avendaño Solá C. Regulación de los medicamentos genéricos: evidencias y mitos. *Inf Ter Sist Nac Salud*. 2010;34(3):71–82.
5. Dahan A, Miller JM, Amidon GL. Prediction of Solubility and Permeability Class Membership: Provisional BCS Classification of the World's Top Oral Drugs. *AAPS J*. 2009;11(4):740–6.
6. Storpirtis S, Gai MN, Cristofolletti R. Generic and similar products in Latin American countries: Current aspects and perspectives on bioequivalence and biowaivers. *Pharm Policy Law*. 2014;16(3, 4):225–248.
7. Zavaleta A, Salas M, Zavaleta C. Bioequivalencia de medicamentos *in vivo* e *in vitro* (Bioexención). *Diagnóstico*. 2016; 55: 17-27
8. Association for Accessible Medicines. 2016 Annual Report [Internet]. Washington, DC; 2016 [citado el 8 de Marzo de 2017]. Disponible en: <https://accessiblemeds.org/sites/default/files/2017-06/AAM-Annual-Report-2017.pdf>
9. Cameron A, Laing R. Cost savings of switching private sector consumption from originator brand medicines to generic equivalents. *World Health Rep* [Internet]. 2010 [citado el 24 de julio de 2017]; Disponible en: <http://www.who.int/entity/healthsystems/topics/financing/healthreport/35MedicineCostSavings.pdf>
10. Nam Han Cho, David Whiting, Nita Forouhi, Leonor Guariguata, Ian Hambleton, Rui Li *et al*. Atlas de la DIABETES de la FID. 7ma Ed. Bélgica; 2015

11. Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HAW. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008;359(15):1577–1589
12. Thrasher J. Pharmacologic Management of Type 2 Diabetes Mellitus: Available Therapies. *Am J Med*. junio de 2017;130(6):S4–17
13. DIGEMID. Uso racional de medicamentos [Internet]. Lima; DIGEMID [citado el 12 de junio de 2017]. Disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/Main.asp?seccion=686>
14. Homšek I, Parojčić J, Dačević M, Petrović L, Jovanović D. Justification of metformin hydrochloride biowaiver criteria based on bioequivalence study. *Arzneimittelforschung*. 2010;60(09):553–559.
15. Dirección Regional Salud. Boletín Farmacovigilancia y Tecnovigilancia [Internet]. Tacna; 2015 [citado el 09 de Julio de 2017]. Disponible en: <http://www.tacna.minsa.gob.pe/uploads/demid/2015/BOLETIN%20DE%20FARMACO%20VIGILANCIA%20Y%20TECNOVIGILANCIA.pdf>
16. DIGEMID. Alerta DIGEMID N°20-2016: Lotes de productos farmacéuticos observados por resultados críticos de control de calidad [Internet]. Perú; 2016 [citado el 09 de Julio de 2017]. Disponible en: http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Alertas/2016/ALERTA_20-16.pdf.
17. OMS. Informe Mundial sobre la Diabetes. 2016 p. 1–4
18. Ruth Colagiuri, Jonathan Brown, Katie Dain, Sheree Dodd y Ann Keeling. Plan Mundial contra la Diabetes 2011 - 2021- Federación Internacional de Diabetes. Bruselas; 2010.
19. Ministerio de Salud. La diabetes mellitus como tema central del Día Mundial de la Salud 2016. *Boletín Epidemiológico del Perú*;2016:297-298.
20. del Olmo González E, Pérez MC, Gumpert SA. Actualización del tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2. *Inf Ter Sist Nac Salud*. 2008;32(1):1–16.
21. William T. Cefalu, MD. STANDARDS OF MEDICAL CARE IN DIABETES - 2017. *Diabetes Care*. 2017;40:S1-135.
22. Guyton & John E. Hall. Tratado de Fisiología Médica. 13a Ed. España: Elseiver; 2016.
23. Raza H, John A, Howarth FC. Increased Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Zucker Diabetic Rat Liver and Brain. *Cell Physiol Biochem*. el 11 de febrero de 2015;35(3):1241–51.

24. Brunton Laurence L., Bruce A. Chabner; Bjorn C. Knollmann .“Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica”. 12ª Ed. España: McGraw Hill Interamericana Editores,S.A.; 2012.
25. Bailey C, Day C. Metformin: its botanical background. Pract Diabetes Int. 2004;21(3):115–7.
26. Holman R. Metformin as first choice in oral diabetes treatment: the UKPDS experience. Journ Annu Diabetol Hotel Dieu. 2007:13-20
27. DrugBank. Metformin Hydrochloride. [citado el 5 de marzo de 2017]. Disponible en: <https://www.drugbank.ca/salts/DBSALT000114>
28. Merck Peruana. Glucophage 850 mg [Internet]. Perú [citado el 07 de Mayo de 2017]. Disponible en: <http://www.corporacionmisalud.com/sistema/vademecum/PLM/productos/32065.htm>
29. Foretz M, Guigas B, Bertrand L, Pollak M, Viollet B. Metformin: From Mechanisms of Action to Therapies. Cell Metab. Diciembre de 2014;20(6):953–66.
30. WHO. Revision of monograph on tablets. Marzo, 2011. [citado el 14 de Mayo de 2017]. Disponible en: http://www.who.int/medicines/publications/pharmacopoeia/Tabs-GeneralMono-rev-FINAL_31032011.pdf
31. Alvarez Rabasco. Biofarmacia y Farmacocinética Básica.
32. Camarasa J. Equivalencia de productos farmacéuticos: estudios “*in vitro*” e “*in vivo*”. Barcelona, 2010 [citado el 07 de Mayo de 2017]. Disponible en: <http://rafc.cat/images/PDF/dr%20domenech%20%20%20%2015-11-2010.pdf>
33. Baena Y, DLeón LP. Importancia y fundamentación del sistema de clasificación biofarmacéutico, como base de la exención de estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia in vivo. Rev Colomb Cienc Quím Farm [Internet]. 2008 [citado el 8 de diciembre de 2016];37(1). Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v37n1/v37n1a02>
34. Ghayas S, Sheraz MA, Anjum F, Baig MT. Factors influencing the dissolution testing of drugs. Pak J Health Res. 2013;1:1–11.

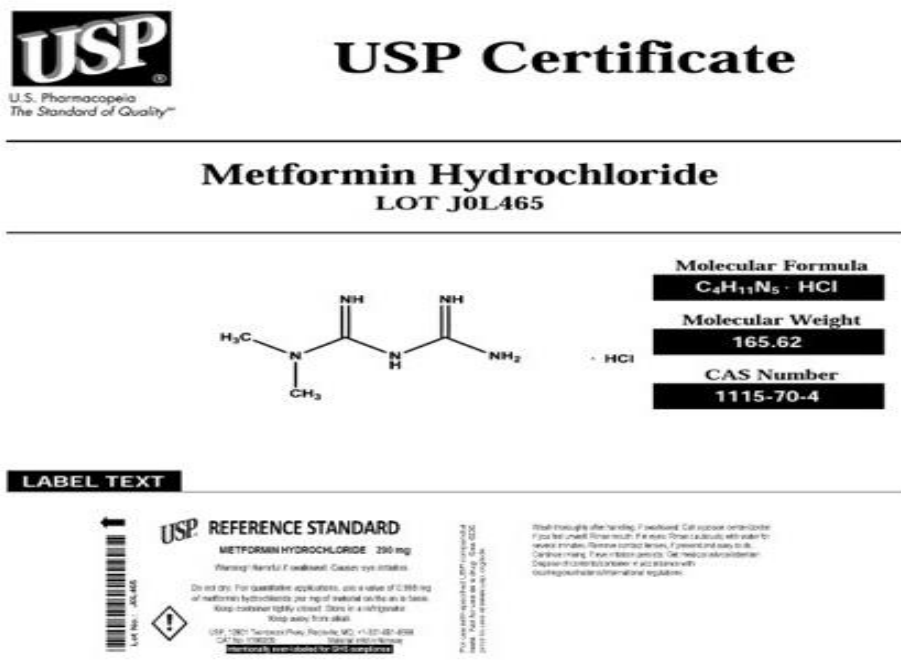
35. Chilukuri DM, Sunkara G, Young D, editores. Pharmaceutical product development: in vitro-in vivo correlation. New York: Informa Healthcare; 2007. 204 p. (Drugs and the pharmaceutical sciences).
36. Di Maio R, Moreale J. Entendiendo los estudios de Bioequivalencia. *Biomedicina*. 2012; 7 (2): 6-14.
37. Laosa O, Guerra P, López-Durán JL, Mosquera B, Frías J. Estudios de bioequivalencia: la necesidad de establecer la fiabilidad de los medicamentos genéricos. *ResearchGate*. el 1 de octubre de 2009;26(4):553–62.
38. Pérez Guzmán M, Orobio Lerma Y, Baena Aristizábal Y. Comparative study for *in vitro* release of metformin of two immediate-release multisource products, marketed in Colombia. *Rev Colomb Cienc Quím-Farm*. 2013;42(2):169–189.
39. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Fortieth Report. WHO Technical Report Series 937. World Health Organization. Geneva 2006.
40. US Food and Drug Administration. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. 2015[citado el 9 de Noviembre de 2016]; Disponible en: <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070246.pdf>
41. Yu LX, Amidon GL, Polli JE, Zhao H, Mehta MU, Conner DP, *et al*. Biopharmaceutics classification system: the scientific basis for biowaiver extensions. *Pharm Res*. 2002;19(7):921–925.
42. Sachan N, Bhattacharya A, Pushkar S, Mishra A. Biopharmaceutical classification system: A strategic tool for oral drug delivery technology. *Asian J Pharm*. 2009;3(2):76.
43. Saavedra I, Itarriaga V, Ávila L, Quiñones L. Estudios de bioexención (*in vitro*) para establecer equivalencia de medicamentos. *Cuad Méd Soc Chile*. 2011;51(2):66–76.
44. Tsume Y, Mudie DM, Langguth P, Amidon GE, Amidon GL. The Biopharmaceutics Classification System: Subclasses for in vivo predictive dissolution (IPD) methodology and IVIVC. *Eur J Pharm Sci Off J Eur Fed Pharm Sci*. el 16 de junio de 2014;57:152–63.
45. González CPV, Fitzgerald JF, Bermudez JAZ, others. Definición de medicamento genérico? un fin o un medio? Análisis de la regulación en 14 países de la Región de las Américas. 2006 [citado el 13 de agosto de 2017]; Disponible en: <http://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/18300>

46. DIGEMID. Directiva sanitaria que regula los estudios de equivalencia terapéutica para demostrar la intercambiabilidad de medicamentos. 2014[citado el 20 de Enero de 2017]. Disponible en:
http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Publicaciones/DocumentosVarios/P32_2014-10-27_Directiva_Equivalencia.pdf
47. El Peruano. Disponen la prepublicación del Decreto Supremo y del Reglamento que regula la Intercambiabilidad de Medicamentos, en el Portal Institucional y en el enlace de documento en consulta del Ministerio de Salud. 2015. [citado el 20 de Enero de 2017]. Disponible en:
<http://busquedas.elperuano.com.pe/normaslegales/disponen-la-prepublicacion-del-decreto-supremo-y-del-reglame-resolucion-ministerial-no-708-2015minsa-1309952-1/>
48. Pérez Guzmán MR, others. Estudio de bioequivalencia *in vitro* de dos formas farmacéuticas perorales multifuente de liberación inmediata con metformina como principio activo [Internet]. Universidad Nacional de Colombia; 2013 [citado el 13 de agosto de 2017]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/11201/>
49. Oyetunde OO, Tayo F, Akinleye MO, Aina BA. *In Vitro* Equivalence Studies of Generic Metformin Hydrochloride Tablets and Propranolol Hydrochloride Tablets Under Biowaiver Conditions in Lagos State, Nigeria. *Dissolution Technol.* 2012;19(4):51–5.
50. Cheng C-L, Yu LX, Lee H-L, Yang C-Y, Lue C-S, Chou C-H. Biowaiver extension potential to BCS Class III high solubility-low permeability drugs: bridging evidence for metformin immediate-release tablet. *Eur J Pharm Sci.* julio de 2004;22(4):297–304.
51. Villalva O, Ortiz J, Grandez M, Isasi J, Yantas D, Fiestas V. Estudio de Bioequivalencia de Ibuprofeno tabletas. Lima: INS;2007 [citado el 20 de Mayo de 2017]. Disponible en: http://www.bvs.ins.gob.pe/insprint/cindoc/informes_tecnicos/38.pdf
52. Ruidias-Romero D, Alva-Plasencia P, Quiliche J, Sánchez Y. BIOEQUIVALENCIA *IN VITRO* DE TABLETAS DE PROPRANOLOL 40 mg MULTIFUENTE E INNOVADOR. *PHARMACIENCIA.* 2014;1(2):28–34.
53. Herrera-Calderon O, Grande-Ortiz M. Equivalencia terapéutica de tabletas de diazepam dispensadas en la ciudad de Ica, Perú. *Rev Medica Hered.* 2012;23(3):154–159.

54. Aliaga Veli RJ, Pozo Albornoz T. Estudio de equivalencia *in vitro* de ciclosporina en cápsulas de gelatina blanda empleadas en el HNERM. 2010 [citado el 18 de agosto de 2017]; Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/1634>.
55. Solares NS Comparación de los perfiles de disolución de Albendazol genérico de producción Guatemalteca y el producto innovador. [Tesis]. 2010 [citado el 21 de Enero de 2017]. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2988.pdf
56. Franco-Ospina LA, Matiz-Melo GE, Pájaro-Bolívar IB. Estudio biofarmacéutico comparativo de marcas comerciales de tabletas de ciprofloxacino disponibles en el mercado colombiano. *Rev Salud Publica Bogota*. 2012;14(4):695–709
57. Ponce D' León L, Jaramillo A. Estudio de bioequivalencia *in vitro* de cuatro productos de amoxicilina del mercado colombiano. *Rev Colomb Cienc Quím-Farm*.33(1):70-76.
58. Ramírez GJL. Estudio de bioequivalencia *In Vitro* de anticonvulsivantes en fármacos comerciales y genéricos con carbamazepina [Tesis]. 2015 [citado el 21 de Enero de 2017]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3795>
59. FRÍAS MFM. Estudio preliminar de bioequivalencia" *in vitro*" de comprimidos genéricos de clorfenamina maleato comercializados en Chile. [citado el 13 de agosto de 2017]; Disponible en: http://www.thesis.uchile.cl/tesis/uchile/2008/qf-moraga_mf/pdfAmont/qf-moraga_mf.pdf
60. The United States Pharmacopeia and National Formulary. USP 38/NF33. 2015.
61. Literature review. Diabetes Mellitus & its treatment. [citado el 24 de Marzo de 2017]; Disponible en: http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/70474/11/11_chapter_2.pdf
62. US Food and Drug Administration. Guidance for Industry; Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Form.1997. [citado el 24 de Enero de 2017]; Disponible en: <https://www.fda.gov/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm200707.htm>
63. Crawford P, Feely M, Guberman A, Kramer G. Are there potential problems with generic substitution of antiepileptic drugs? *Seizure*. abril de 2006;15(3):165–76.

X. ANEXOS

ANEXO 1: Certificado USP de Metformina clorhidrato, Lote: J0L465, Curva de calibración ((8.6 – 25.6 ug/mL) del estándar USP, Lectura de absorbancia y cálculo de la potencia del estándar secundario



USP
U.S. Pharmacopeia
The Standard of Quality™

USP Certificate

Metformin Hydrochloride
LOT J0L465

Molecular Formula
C₄H₁₁N₅ · HCl

Molecular Weight
165.62

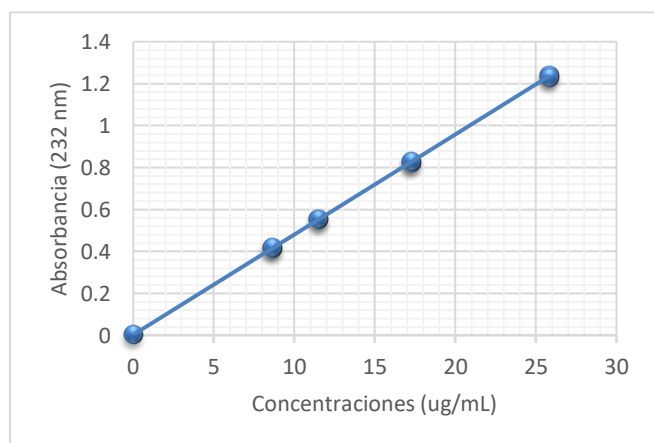
CAS Number
1115-70-4

LABEL TEXT

USP REFERENCE STANDARD
METFORMIN HYDROCHLORIDE 250 mg
Warning: Harmful if inhaled. Causes eye irritation.
Do not dry. For quantitative applications, use a value of 0.999 mg of metformin hydrochloride per mg of material unless otherwise stated.
Keep container tightly closed. Store in a refrigerator.
Keep away from heat.

USP, 1301 Pershing Drive, Rockville, MD, 20850-4000
© 2013 USP
www.usp.com

Jeri L. Joth
Quality Assurance



$$y = 0.0478x + 0.0023$$

$$R^2 = 0.9999$$

Peso (mg)	Absorbancia	Potencia
21.2	0.81171	99.842
21.3	0.81551	99.840
21	0.80405	99.839
Promedio		99.84

ANEXO 2: Resultados de la prueba de disolución de los medicamentos A, B, C y referencia.

N° Tabletas	Referencia	%	A	%	B	%	C	%
	(Abs)	Disolución	(Abs)	Disolución	(Abs)	Disolución	(Abs)	Disolución
1	0.8871	97.84	0.9688	100.39	1.1286	102.65	1.0123	99.88
2	0.8894	96.89	0.9801	100.15	1.1393	100.67	1.0208	99.68
3	0.8982	98.57	0.9864	101.08	1.1246	101.23	0.9936	98.00
4	0.9023	97.13	0.9314	95.66	1.1363	103.30	1.0528	102.08
5	0.8988	97.49	0.9699	100.49	1.1374	104.30	1.0296	99.93
6	0.9072	98.70	0.9771	100.53	1.1494	102.75	0.9903	97.12
PROMEDIO	0.8972	97.77	0.9690	99.72	1.1359	102.48	1.0166	99.45

ANEXO 3: Resultados del porcentaje de disolución de 12 tabletas de los medicamentos A, B, C y referencia en los tiempos establecidos en solución ácido clorhídrico, pH 1.2.

PRODUCTO A						
TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	50.97	90.63	104.01	105.34	102.98	101.78
DISOLUCIÓN 2	56.07	90.86	105.12	108.83	104.65	107.38
DISOLUCIÓN 3	47.24	85.61	104.24	106.95	107.48	104.37
DISOLUCIÓN 4	54.90	91.21	105.10	105.63	102.73	103.79
DISOLUCIÓN 5	53.43	93.75	109.62	113.29	104.86	112.74
DISOLUCIÓN 6	49.79	89.30	107.14	108.79	104.49	105.13
DISOLUCIÓN 7	49.04	83.87	95.30	105.41	104.77	104.07
DISOLUCIÓN 8	42.59	81.53	96.70	105.96	102.76	100.53
DISOLUCIÓN 9	43.90	83.25	95.36	103.69	99.73	98.72
DISOLUCIÓN 10	44.01	83.70	93.14	103.98	99.15	100.69
DISOLUCIÓN 11	47.16	85.06	95.65	102.95	106.09	100.43
DISOLUCIÓN 12	47.07	84.19	96.68	100.04	102.46	97.24
PROMEDIO	48.85	86.92	100.67	105.90	103.51	103.07
DS	4.380	3.987	5.689	3.368	2.411	4.190
%CV	8.97	4.59	5.65	3.18	2.33	4.07

PRODUCTO B						
TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	86.51	102.84	102.06	101.16	103.76	101.77
DISOLUCIÓN 2	67.23	101.47	101.04	101.25	101.96	102.35
DISOLUCIÓN 3	81.45	103.22	104.26	104.18	103.12	103.65
DISOLUCIÓN 4	85.61	102.14	102.97	101.29	101.79	106.93
DISOLUCIÓN 5	89.30	101.89	102.07	102.29	101.88	101.74
DISOLUCIÓN 6	63.60	103.96	103.18	103.61	102.35	103.53
DISOLUCIÓN 7	74.00	106.88	110.28	110.30	107.56	108.60
DISOLUCIÓN 8	81.70	107.32	107.54	107.19	104.89	107.02
DISOLUCIÓN 9	72.12	106.18	108.53	107.98	103.95	106.22
DISOLUCIÓN 10	75.85	107.37	105.37	106.07	106.41	105.88
DISOLUCIÓN 11	63.78	106.04	104.63	106.46	105.49	105.24
DISOLUCIÓN 12	57.09	106.14	106.60	109.11	107.03	105.04
PROMEDIO	74.85	104.62	104.88	105.07	104.18	104.83
DS	10.370	2.252	2.866	3.226	2.076	2.231
%CV	13.85	2.15	2.73	3.07	1.99	2.13

PRODUCTO C

TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	75.52	99.49	99.44	101.68	104.12	101.36
DISOLUCIÓN 2	71.48	98.71	100.46	102.95	103.10	101.05
DISOLUCIÓN 3	70.72	100.15	100.09	101.92	103.68	105.43
DISOLUCIÓN 4	72.16	99.69	101.08	102.97	105.64	102.53
DISOLUCIÓN 5	70.69	98.42	101.04	104.96	103.85	104.80
DISOLUCIÓN 6	72.62	98.55	99.60	105.03	103.38	101.33
DISOLUCIÓN 7	71.45	96.51	96.58	97.95	105.33	98.33
DISOLUCIÓN 8	69.70	95.89	96.69	96.97	97.64	97.98
DISOLUCIÓN 9	65.29	94.20	99.35	99.58	98.70	99.12
DISOLUCIÓN 10	67.22	95.25	106.63	98.89	100.46	99.85
DISOLUCIÓN 11	68.16	94.58	96.90	96.54	98.01	97.74
DISOLUCIÓN 12	70.99	96.54	95.73	96.03	97.14	97.27
PROMEDIO	70.50	97.33	99.47	100.46	101.75	100.57
DS	2.674	2.084	2.930	3.218	3.153	2.696
%CV	3.79	2.14	2.95	3.20	3.10	2.68

PRODUCTO DE REFERENCIA

TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	36.23	63.66	68.08	101.32	108.84	105.50
DISOLUCIÓN 2	21.67	36.41	55.37	79.70	103.39	109.77
DISOLUCIÓN 3	28.47	43.71	62.77	79.96	102.55	109.81
DISOLUCIÓN 4	26.36	43.78	58.33	83.37	101.59	105.01
DISOLUCIÓN 5	28.29	49.11	70.53	86.56	102.81	103.73
DISOLUCIÓN 6	27.20	43.61	68.06	88.84	103.53	102.87
DISOLUCIÓN 7	31.48	53.89	74.01	95.20	103.81	102.06
DISOLUCIÓN 8	35.77	48.99	71.33	95.52	104.37	105.73
DISOLUCIÓN 9	36.13	43.94	71.55	98.47	103.69	103.52
DISOLUCIÓN 10	37.34	60.06	67.39	101.08	102.87	103.00
DISOLUCIÓN 11	37.57	59.71	75.75	84.99	103.33	106.24
DISOLUCIÓN 12	36.01	60.03	71.73	92.18	102.51	104.64
PROMEDIO	31.88	50.58	67.91	90.60	103.61	105.16
DS	5.330	8.719	6.185	7.801	1.803	2.505
%CV	16.72	17.24	9.11	8.61	1.74	2.38

ANEXO 4: Resultados del porcentaje de disolución de 12 tabletas de los medicamentos A, B, C y referencia en los tiempos establecidos en solución acetato de sodio, pH 4.5.

PRODUCTO A						
TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	34.30	64.77	91.02	99.24	101.80	100.37
DISOLUCIÓN 2	56.78	86.02	94.09	98.62	93.47	98.08
DISOLUCIÓN 3	48.88	80.29	99.65	97.41	99.48	99.59
DISOLUCIÓN 4	45.29	83.01	93.73	97.38	98.90	96.60
DISOLUCIÓN 5	34.08	72.59	98.54	104.20	103.87	105.73
DISOLUCIÓN 6	51.94	85.23	98.43	99.79	97.66	99.28
DISOLUCIÓN 7	49.90	82.00	95.62	97.38	94.21	93.62
DISOLUCIÓN 8	32.54	68.51	89.37	98.32	100.59	95.94
DISOLUCIÓN 9	53.68	84.61	96.56	94.72	93.63	94.68
DISOLUCIÓN 10	48.35	82.05	99.77	98.07	96.24	97.08
DISOLUCIÓN 11	43.94	77.45	98.29	96.76	96.22	95.71
DISOLUCIÓN 12	52.37	83.70	93.74	96.68	95.15	97.60
PROMEDIO	46.00	79.19	95.73	98.21	97.60	97.86
DS	8.228	6.963	3.403	2.302	3.374	3.189
%CV	17.89	8.79	3.55	2.34	3.46	3.26

PRODUCTO B						
TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	69.90	100.02	98.59	98.86	99.69	100.13
DISOLUCIÓN 2	87.06	98.82	99.35	99.57	101.29	100.67
DISOLUCIÓN 3	58.02	99.45	101.56	98.87	100.37	102.90
DISOLUCIÓN 4	45.64	99.32	97.90	98.86	98.76	100.21
DISOLUCIÓN 5	60.70	99.73	99.76	101.02	101.44	100.26
DISOLUCIÓN 6	71.11	98.52	99.49	98.93	98.10	100.08
DISOLUCIÓN 7	86.56	100.83	102.23	100.46	100.23	100.50
DISOLUCIÓN 8	86.85	98.36	99.83	100.48	100.72	97.82
DISOLUCIÓN 9	67.36	98.38	100.73	99.43	98.84	98.79
DISOLUCIÓN 10	83.63	101.02	101.57	99.62	100.00	99.95
DISOLUCIÓN 11	72.35	102.11	104.73	103.83	103.30	102.05
DISOLUCIÓN 12	64.83	97.32	99.92	97.99	97.99	98.67
PROMEDIO	71.16	99.49	100.47	99.83	100.06	100.17
TIEMPO	5	10	15	30	45	60
DS	13.082	1.347	1.841	1.524	1.535	1.384
%CV	18.38	1.35	1.83	1.53	1.53	1.38

PRODUCTO C

TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	69.78	94.93	94.70	95.75	96.62	97.20
DISOLUCIÓN 2	69.94	95.48	98.06	98.79	97.53	98.89
DISOLUCIÓN 3	67.50	95.66	96.82	97.32	101.65	95.73
DISOLUCIÓN 4	69.03	94.73	94.84	95.97	95.89	96.33
DISOLUCIÓN 5	67.03	94.82	96.20	97.25	97.17	97.88
DISOLUCIÓN 6	65.87	95.23	98.25	98.22	97.86	97.33
DISOLUCIÓN 7	71.11	92.24	93.00	93.47	94.17	94.47
DISOLUCIÓN 8	71.92	94.84	94.30	95.39	95.20	95.86
DISOLUCIÓN 9	68.88	95.92	97.00	98.62	97.49	99.12
DISOLUCIÓN 10	68.09	95.03	97.08	98.09	97.80	96.98
DISOLUCIÓN 11	66.06	95.25	98.31	97.76	99.86	99.57
DISOLUCIÓN 12	67.62	95.04	98.54	98.21	99.99	99.06
PROMEDIO	68.57	94.93	96.42	97.07	97.60	97.37
DS	1.895	0.922	1.830	1.605	2.109	1.594
%CV	2.76	0.97	1.90	1.65	2.16	1.64

PRODUCTO DE REFERENCIA

TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	33.85	60.96	78.25	97.01	97.86	98.48
DISOLUCIÓN 2	31.48	53.33	72.48	97.97	97.42	98.67
DISOLUCIÓN 3	29.88	47.22	61.79	96.48	97.65	97.40
DISOLUCIÓN 4	31.67	55.96	73.68	95.64	98.56	98.89
DISOLUCIÓN 5	27.52	52.39	71.10	97.31	97.04	96.21
DISOLUCIÓN 6	30.24	46.51	63.67	96.10	98.93	98.83
DISOLUCIÓN 7	43.12	70.25	68.43	96.34	98.35	97.79
DISOLUCIÓN 8	44.42	68.41	68.00	95.32	100.77	99.07
DISOLUCIÓN 9	46.49	76.44	85.27	97.47	100.39	101.20
DISOLUCIÓN 10	29.54	49.67	69.01	96.75	99.90	100.08
DISOLUCIÓN 11	32.98	53.58	71.04	96.82	100.68	101.69
DISOLUCIÓN 12	35.80	60.65	78.00	95.69	101.40	99.40
PROMEDIO	34.75	57.95	71.73	96.58	99.08	98.98
DS	6.396	9.576	6.510	0.802	1.493	1.526
%CV	18.41	16.53	9.08	0.83	1.51	1.54

ANEXO 5: Resultados del porcentaje de disolución de 12 tabletas de los medicamentos A, B, C y referencia en los tiempos establecidos en buffer fosfato de potasio, pH 6.8.

PRODUCTO A

TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	55.72	88.77	95.91	96.60	96.93	96.71
DISOLUCIÓN 2	59.37	89.13	94.56	95.23	94.67	95.32
DISOLUCIÓN 3	55.73	85.74	93.14	95.21	94.09	94.43
DISOLUCIÓN 4	57.51	88.07	94.97	96.21	96.05	95.99
DISOLUCIÓN 5	56.67	91.10	97.87	98.75	98.03	97.89
DISOLUCIÓN 6	53.75	87.92	98.54	99.24	99.18	98.48
DISOLUCIÓN 7	55.91	90.61	96.90	97.51	98.92	97.08
DISOLUCIÓN 8	56.32	87.56	95.75	94.94	95.98	95.00
DISOLUCIÓN 9	59.54	90.50	98.72	97.78	98.42	98.49
DISOLUCIÓN 10	58.99	90.50	98.21	96.91	99.49	98.96
DISOLUCIÓN 11	48.31	85.79	98.07	98.46	108.57	99.75
DISOLUCIÓN 12	49.93	86.15	99.43	98.36	99.73	99.16
PROMEDIO	55.64	88.49	96.84	97.10	98.34	97.27
DS	3.508	1.944	1.957	1.483	3.735	1.781
%CV	6.30	2.20	2.02	1.53	3.80	1.83

PRODUCTO B

TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	51.88	96.12	96.76	95.84	97.85	97.15
DISOLUCIÓN 2	74.76	94.55	96.42	96.59	96.79	96.72
DISOLUCIÓN 3	43.88	91.65	97.94	98.26	98.22	97.99
DISOLUCIÓN 4	67.54	90.77	98.08	98.03	98.03	97.59
DISOLUCIÓN 5	53.73	94.24	99.21	98.13	97.60	98.43
DISOLUCIÓN 6	75.19	97.43	98.22	98.88	98.98	98.89
DISOLUCIÓN 7	75.74	97.07	96.90	99.74	98.61	100.24
DISOLUCIÓN 8	76.52	98.70	98.71	98.71	98.92	97.93
DISOLUCIÓN 9	62.78	96.05	95.86	97.11	97.97	99.06
DISOLUCIÓN 10	45.87	96.03	96.41	97.12	96.86	96.85
DISOLUCIÓN 11	67.09	98.09	96.32	97.99	97.21	97.87
DISOLUCIÓN 12	69.66	95.40	96.09	96.45	96.81	98.44
PROMEDIO	63.72	95.51	97.24	97.74	97.82	98.10
DS	11.970	2.408	1.126	1.134	0.787	1.003
%CV	18.79	2.52	1.16	1.16	0.80	1.02

PRODUCTO C

TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	61.45	89.52	91.86	92.76	93.39	92.45
DISOLUCIÓN 2	61.24	90.12	94.15	94.09	94.01	93.97
DISOLUCIÓN 3	61.86	90.69	92.66	93.45	93.58	93.61
DISOLUCIÓN 4	61.58	89.06	93.79	92.23	94.14	92.39
DISOLUCIÓN 5	62.28	89.26	93.14	93.65	92.81	92.89
DISOLUCIÓN 6	61.00	90.40	92.20	93.27	93.50	93.39
DISOLUCIÓN 7	64.99	92.57	95.51	96.12	95.76	97.69
DISOLUCIÓN 8	64.30	92.04	96.76	96.92	97.44	98.64
DISOLUCIÓN 9	63.45	92.79	95.59	96.11	95.09	95.47
DISOLUCIÓN 10	63.77	92.41	95.99	96.68	96.36	96.97
DISOLUCIÓN 11	64.67	93.97	95.73	96.33	97.51	97.89
DISOLUCIÓN 12	63.05	92.02	95.22	95.35	96.05	97.01
PROMEDIO	62.80	91.24	94.38	94.75	94.97	95.20
DS	1.417	1.598	1.638	1.675	1.628	2.334
%CV	2.26	1.75	1.74	1.77	1.71	2.45

PRODUCTO DE REFERENCIA

TIEMPO (MINUTOS)	5	10	15	30	45	60
DISOLUCIÓN 1	63.82	85.41	92.89	92.61	95.16	94.02
DISOLUCIÓN 2	45.67	75.34	88.57	93.13	94.83	91.99
DISOLUCIÓN 3	53.80	78.73	92.82	93.74	94.59	96.19
DISOLUCIÓN 4	41.07	70.93	88.30	92.96	94.03	94.17
DISOLUCIÓN 5	37.49	64.72	81.54	92.47	93.57	94.05
DISOLUCIÓN 6	39.95	66.20	84.01	92.72	93.41	93.17
DISOLUCIÓN 7	40.30	67.38	82.89	95.61	96.71	98.26
DISOLUCIÓN 8	47.73	78.89	93.02	97.62	98.46	98.11
DISOLUCIÓN 9	57.01	82.35	95.40	95.96	96.05	97.20
DISOLUCIÓN 10	54.84	80.73	94.73	97.83	95.69	97.23
DISOLUCIÓN 11	42.05	70.47	88.72	96.30	95.58	96.79
DISOLUCIÓN 12	45.18	74.92	92.96	96.51	95.29	96.95
PROMEDIO	47.41	74.67	81.50	94.79	95.28	95.68
DS	8.196	6.751	4.757	2.048	1.404	2.089
%CV	17.29	9.04	5.31	2.16	1.47	2.18

ANEXO 6: Cálculos de los valores de f1 y f2 para establecer similitud entre los medicamentos de prueba A, B y C con el medicamento de referencia en medio ácido clorhídrico pH 1.2.

Tiempo (minutos)	R	P _A	R	P _B	R	P _C
5	31.88	48.85	31.88	74.85	31.88	70.50
10	50.58	86.92	50.58	104.62	50.58	97.33
15	67.91	100.67	67.91	104.88	67.91	99.47
30	90.60	105.90	90.60	105.07	90.60	100.46
45	103.61	103.51	103.61	104.18	103.61	101.75
60	105.16	103.07	105.16	104.83	105.16	100.57
Tiempo (minutos)	R-P _A		R-P _B		R-P _C	
5	16.97		42.98		38.62	
10	36.34		54.04		46.76	
15	32.76		36.97		31.56	
30	15.31		14.47		9.86	
45	0.09		0.58		1.85	
60	2.09		0.33		4.59	
Tiempo (minutos)	(R-P _A) ²		(R-P _B) ²		(R-P _C) ²	
5	288.03		1847.07		1491.83	
10	1320.58		2920.79		2186.20	
15	1073.53		1366.78		995.97	
30	234.27		209.49		97.18	
45	0.01		0.33		3.43	
60	4.35		0.11		21.09	
f1	23.03		33.21		29.63	
f2	40.30		31.90		34.93	

*R (porcentaje de disolución del producto de referencia)

*P_A, P_B y P_C (Porcentaje de disolución del producto A, B y C)

ANEXO 7: Cálculos de los valores de f1 y f2 para establecer similitud entre los medicamentos de prueba A, B y C con el medicamento de referencia en medio acetato pH 4.5.

Tiempo(minutos)	R	P_A	R	P_B	R	P_C
5	34.75	46.00	34.75	71.16	34.75	68.57
10	57.95	79.19	57.95	99.49	57.95	94.93
15	71.73	95.73	71.73	100.47	71.73	96.42
30	96.58	98.21	96.58	99.83	96.58	97.07
45	99.08	97.60	99.08	100.06	99.08	97.60
60	98.98	97.86	98.98	100.17	98.98	97.37
Tiempo(minutos)	 R-P_A 		 R-P_B 		 R-P_C 	
5	11.25		36.42		33.82	
10	21.24		41.54		36.98	
15	24.01		28.74		24.70	
30	1.64		3.25		0.49	
45	1.48		0.98		1.48	
60	1.12		1.19		1.61	
Tiempo(minutos)	(R-P_A)²		(R-P_B)²		(R-P_C)²	
5	126.67		1326.06		1143.72	
10	450.99		1725.63		1367.74	
15	576.37		826.20		609.98	
30	2.69		10.57		0.24	
45	2.18		0.97		2.19	
60	1.25		1.43		2.58	
f1						
Cumple: (0-10)	13.23		24.43		21.58	
f2						
Cumple: (50-100)	50.25		37.19		39.56	

*R (porcentaje de disolución del producto de referencia)

*P_A, P_B y P_C (Porcentaje de disolución del producto A, B y C)

ANEXO 8: Cálculos de los valores de f1 y f2 para establecer similitud entre los medicamentos de prueba A, B y C con el medicamento de referencia en medio buffer pH 6.8.

Tiempo (minutos)	R	P_A	R	P_B	R	P_C
5	47.41	55.64	47.41	63.72	47.41	62.80
10	74.67	88.49	74.67	95.51	74.67	91.24
15	81.50	96.84	81.50	97.24	81.50	94.38
30	94.79	97.10	94.79	97.74	94.79	94.75
45	95.28	98.34	95.28	97.82	95.28	94.97
60	95.68	97.27	95.68	98.10	95.68	95.20
Tiempo (minutos)	 R-P_A 		 R-P_B 		 R-P_C 	
5	8.23		16.31		15.39	
10	13.81		20.83		16.56	
15	15.34		15.74		12.88	
30	2.31		2.95		0.04	
45	3.06		2.54		0.31	
60	1.59		2.42		0.48	
Tiempo (minutos)	(R-P_A)²		(R-P_B)²		(R-P_C)²	
5	67.78		266.00		236.93	
10	190.80		434.00		274.38	
15	235.19		247.71		165.90	
30	5.34		8.69		0.00	
45	9.35		6.46		0.10	
60	2.54		5.85		0.23	
f1	9.06		12.42		9.33	
Cumple: (1-10)						
f2	59.02		52.19		56.02	
Cumple: (50-100)						

*R (porcentaje de disolución del producto de referencia)

*P_A, P_B y P_C (Porcentaje de disolución del producto A, B y C)

