

Universidad Peruana Cayetano Heredia

Facultad de Ciencias y Filosofía Alberto Cazorla Talleri



“Equivalencia “in vitro” de dos tabletas Multifuentes de Clorhidrato de Biperideno de 2 mg. frente al comparador”

Joel Eleazar Alcántara Guerrero

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Lima – Perú

2019

ASESOR

MSc. María Cleofé Salas Arruz

MIEMBROS DEL JURADO

Dr. Alfonso Zavaleta Martínez Vargas

MSc. Ana Colarossi Salinas

Q.F. Patricia Hilda León Paredes

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la posible intercambiabilidad (equivalencia terapéutica) entre el producto de referencia Akineton y dos formulaciones multifuente (denominados como M y A), comercializadas en el Perú, de tabletas de clorhidrato de biperideno 2 mg de liberación inmediata, mediante un estudio equivalencia in vitro, evaluando sus perfiles de disolución a tres diferentes (ácido clorhídrico pH 1.2, acetato de sodio pH 4.5 y fosfato de potasio pH 6.8).

El Clorhidrato de Biperideno corresponde al grupo I (BCS). Los lotes seleccionados cumplieron las especificaciones de control de calidad, según la USP 40.

Los perfiles de disolución obtenidos en los tres medios fueron evaluados mediante los métodos estadísticos del modelo independiente (factor de similitud F2 y el factor de diferencia F1) y el modelo dependiente (compara las Kd bajo el modelo matemático del perfil del producto de referencia), como recomienda FDA.

Los factores de similitud F2, entre el producto de referencia y la formulación del producto M fueron 23.93, 27.16 y 31.21 y producto A fueron 21.89, 23.72 y 29.79 en los tres medios de disolución a los pH de 1,2 ; 4,5 y 6.8 respectivamente (menores de a 50%) y para F1, factor de diferencia para M fue 35.48, 25.6, 30.49 y A fue 39.70, 28.63, 34.86 (mayores a 15).

Se determinó que el perfil de disolución del producto de referencia I, se ajusta mejor al modelo matemático de "Raíz cúbica" en los tres medios de disolución.

La Eficiencia de disolución y la velocidad de disolución fue mayor en los productos multifuente M y A en comparación al producto de Referencia en los tres pH evaluados.

Se concluye que los productos multifuentes de origen nacional no son equivalentes terapéuticos en el ensayo de equivalencia in-vitro en ninguno de los tres medios de disolución bajo los dos modelos estadísticos.

Palabras clave: Multifuente, Bioequivalencia, Disolución in vitro, Bioexención, Perfil de disolución

ABSTRACT

In the present work the possibility of exchanging (therapeutic equivalence) the reference product Akineton and two multi-source formulations (denominated as M and A), marketed in Peru, tablets of 2-mg biperidene hydrochloride immediate release, through a study is evaluated. of in vitro equivalence, evaluating their information profiles to three different (hydrochloric acid pH 1.2, sodium acetate pH 4.5 and potassium phosphate pH 6.8).

Biperidene Hydrochloride corresponds to group I (BCS). The selected lots met the quality control specifications, according to USP 40.

The dependent profile and the dependent model (compare the Kd under the mathematical model of the reference product profile), as recommended by the FDA.

The factors of similarity F2, between the reference product and the configuration of product M are 23.93, 27.16 and 31.21 and product A were 21.89, 23.72 and 29.79 in the media at pH 1.2; 4.5 and 6.8 respectively (less than 50%) and for F1, the difference factor for M was 35.48, 25.6, 30.49 and A was 39.70, 28.63, 34.86 (greater than 15).

Determine the production profile of the reference product I, better fits the "cubic root" model in the three publication media.

The efficiency of production and the speed of production was greater in multi-source products.

It is concluded that multifunctional products of national origin are not therapeutic equivalents in the in vitro equivalence test in any of the media.

Keywords: Multifuente, Bioequivalence, In vitro dissolution, Bioexención, Dissolution profile

INDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT.....	6
ABREVIATURAS	13
GLOSARIO.....	14
I. INTRODUCCIÓN.....	18
II. MARCO TEÓRICO.....	20
2.1 Biofarmacia	20
2.1.1 Liberación del fármaco.....	20
2.1.2 Estudios de Biodisponibilidad (BD) y Bioequivalencia (BE).....	21
2.1.3 Estudios de bioequivalencia in vitro	23
2.1.4 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB)	23
2.1.5 Bioexención y Normatividad	24
2.1.6 Medicamentos Genéricos en el Perú	28
2.2 CLORHIDRATO DE BIPERIDENO.....	30
2.2.1 Historia y naturaleza	30
2.2.2 Química 31	
2.2.3 Farmacología(DrugBank data base)	32
2.2.4 Farmacocinética	33
2.2.4.1 Absorción y biodisponibilidad	33
2.2.4.2 Distribución	33
2.2.4.3 Metabolismo y eliminación.....	33

2.2.5	Usos terapéuticos.....	34
2.2.6	Eventos adversos	35
III.	HIPÓTESIS.....	36
IV.	OBJETIVOS.....	36
4.1	Objetivo General	36
4.2	Objetivos Específicos.....	36
V.	DISEÑO EXPERIMENTAL	37
VI.	MATERIALES Y MÉTODOS	37
6.1	Material.....	37
6.1.1	Reactivos	37
6.1.2	Equipos e Instrumentos	38
6.1.3	Patrón de Referencia.....	39
6.1.4	Muestras	39
5.2	Métodos:.....	40
5.2.1	Control De Calidad (Multifuentes yPatrón Comparador):	40
6.1.4.1	Peso promedio	40
6.1.4.2	Ensayos de identidad	40
6.1.4.3	Valoración:	41
6.1.5	Perfiles de disolución	42
6.1.5.1	Condiciones Experimentales	42
6.1.5.1.1	Preparación de los medios.....	43
6.1.5.1.2	Preparación de la solución Estándar	44
6.1.5.1.3	Preparación de la muestra	44

6.1.6	Análisis Estadístico	44
VII.	RESULTADOS	50
7.1	Control de Calidad (Multifuentes y Patrón Comparador):.....	50
7.2	Perfiles de disolución del Comparador y Multifuentes.....	53
7.3	Análisis Estadístico:	57
VIII.	DISCUSION.....	63
IX.	CONCLUSIONES	69
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	70
	ANEXO 1	80
	ANEXO 2	81
	ANEXO 3:.....	82
	ANEXO 4	85
	ANEXO 5	88
	ANEXO 6	91
	ANEXO 7	93
	ANEXO 8	103

LISTA DE ILUSTRACIONES

Figura 1: MOVIMIENTO DEL FÁRMACO EN TGI -----	22
Figura 2: Sistema de Clasificación Biofarmacéutica -----	24
Figura 3: DROGAS ANTICOLINERGICAS-----	31
Figura 4: CLORHIDRATO DE BIPERIDENO -----	32
Figura 5 Perfil de disolución de tabletas de Biperideno de 2 mg (productos I, M y A) en ácido clorhídrico pH 1.2. -----	54
Figura 6 Perfil de disolución de tabletas de Biperideno de 2 mg (productos I, M y A) en buffer acetato pH 4.5 -----	55
Figura 7 Perfil de disolución de tabletas de Biperideno de 2 mg (productos I, M y A) en buffer fosfato pH 6.8-----	56

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Criterios Para Aceptar Bioexención	26
Tabla 2: Definiciones De Medicamento Generico En Países Latinoamericano	29
Tabla 3: Toxicidad.....	34
Tabla 4: Condiciones experimentales para los perfiles de disolución de Biperideno.....	42
Tabla 5: Ecuaciones de modelos matemáticos	48
Tabla 6: Análisis Físico- Químico de la muestra de clorhidrato de Biperideno	50
Tabla 7: <i>Criterios de Selección</i>	52
Tabla 8: <i>Porcentaje promedio liberado de clorhidrato de Biperideno en medio pH 1.2, resultados f1 y f2</i>	54
Tabla 9: <i>Porcentaje promedio liberado de clorhidrato de Biperideno en medio pH 4.5, resultados f1 y f2</i>	55
Tabla 10: <i>Porcentaje promedio liberado de clorhidrato de Biperideno en medio pH 6.8, resultados f1 y f2</i>	56
Tabla 11: <i>Coefficientes de variación porcentual de los perfiles de disolución de clorhidrato de Biperideno</i>	57
Tabla 12: <i>Valores f1 y f2 clorhidrato de biperideno equipo 2 (paletas)</i>	58
Tabla 13: Valores promedio de los 12 vasos obtenidos para eficiencia de la disolución (ED) y tiempo medio de disolución (TMD) para los productos I, M y A	59

Tabla 14: Evaluación del Modelo que corresponde al producto de Referencia (I): Valores de R 2 y Kd obtenidos en los medios de disolución apH 1.2, pH 4.5 y pH 6.8	61
Tabla 15 Constante de disolución kd del modelo estadístico raíz cubica	62

ABREVIATURAS

BSC:	Sistema de Clasificación Farmacéutica
BD:	Biodisponibilidad
BE:	Bioequivalencia
BPM:	Buenas Prácticas de Manufactura
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
OMS:	Organización Mundial de la Salud
PDMUNE:	Petitorio Nacional Único de Medicamentos Esenciales
Tmax:	Tiempo máximo
USP:	Farmacopea de los Estados Unidos
UV:	Ultravioleta
%CV:	Coficiente de variación expresado en porcentaje

GLOSARIO

Área bajo la curva (ABC): parámetro farmacocinética que refleja la cantidad total de fármaco que se encuentra en solución en función del tiempo.

Absorción: Pasode la IFA desde el sitio de administración hacia el interior del organismo (tejido sanguíneo).

Alternativas farmacéuticas: Medicamentos que contienen la misma cantidad molar de la mismas fracciones farmacéuticas activas, pero difieren en la forma farmacéutica (ejemplo comprimidos vs cápsulas), concentración y/o en la composición química (por ejemplo diferente sal o diferente éster). Las alternativas farmacéuticas proveen la misma cantidad de fracción activa por la misma vía de administración, pero no son consideradas equivalentes farmacéuticos. Ellos pueden o no ser equivalentes terapéuticos.

Biodisponibilidad : Velocidad y extensión a la cual un ingrediente farmacéutico activo, o la fracción activa, es absorbido de una forma farmacéutica y llega a estar disponible en el sitio de acción.

Bioequivalencia: Dos productos son bioequivalentes si son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas y su biodisponibilidad en términos de la curva concentración máxima y tiempo (C_{max} y T_{max}) y la exposición total (área bajo la curva AUC), después de su administración en la misma dosis molar bajo las mismas condiciones, es similar, a tal grado que puede esperarse que sus efectos sean esencialmente los mismos.

Bioexención: Este término se aplica al proceso regulatorio de aprobación de un producto, donde la aplicación (dossier) se aprueba a partir de la evidencia de equivalencia que no surge de estudios de equivalencia in vivo.

Buenas prácticas de manufactura (BPM) Constituyen la parte del aseguramiento de la calidad que garantiza que los productos sean producidos y controlados, de manera consistente, observando los estándares de calidad apropiados para el uso previsto, de acuerdo con lo establecido en la autorización de comercialización.

Estudios de equivalencia terapéutica para demostrar la intercambiabilidad: son los estudios que permiten determinar la equivalencia terapéutica entre el medicamento multifuente y el de referencia, empleando metodología in vivo o in vitro

Estudios de bioequivalencia: son estudios farmacocinéticos in vivo en seres humanos, en los cuales se mide el ingrediente farmacéutico activo (IFA) y/o sus metabolitos en función del tiempo, en un fluido biológico accesible como sangre, plasma, suero u orina para obtener medidas farmacocinéticas, como área bajo la curva (AUC) y concentración máxima (C_{max}) que representa exposición sistémica.

Equivalentes farmacéuticos: Medicamentos que contienen la misma cantidad molar de IFA, en la misma forma farmacéutica, que están destinados a ser administrados por la misma vía y cumplen con estándares de calidad idénticos o comparables.

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. Esto puede demostrarse por estudios de equivalencia apropiados como farmacocinéticos, farmacodinámicos, estudios clínicos o in vitro.

Intercambiabilidad: Calidad de ser medicamento intercambiable. La intercambiabilidad incluye la equivalencia de la forma farmacéutica, así como la equivalencia de las indicaciones e instrucciones para su uso.

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

Medicamento Multifuente: Son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas que pueden o no ser equivalentes terapéuticos. Los medicamentos Multifuentes que hayan demostrado equivalencia in vivo o in vitro, se consideran terapéuticamente equivalentes al producto de referencia y pueden ser declarados intercambiables.

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.

Producto de referencia o comparador: Medicamento con el cual el medicamento multifuente pretende ser intercambiable.

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

Ventana terapéutica:Intervalo de concentraciones plasmáticas de fármaco dentro del cual la posibilidad de obtener una respuesta clínica deseable es satisfactoria. Este intervalo se establece entre las concentraciones mínimas que pueden producir efectos terapéuticos y las concentraciones mínimas que pueden generar efectos tóxicos.

Cinética de orden cero: Se puede observar en los casos donde se disuelve una pequeña cantidad de producto sólido en un gran volumen de disolvente, aquí la velocidad es constante con el tiempo e independiente de la concentración de soluto. Se puede utilizar para formas de dosificación que no desintegren y bajo la hipótesis que la superficie permanece constante durante la liberación del fármaco. En esencia el principio activo se encuentra en un reservorio saturado y se libera por partición desde el reservorio porque cada intervalo de tiempo

corresponderá a la erosión de una capa de polímero y la liberación del fármaco incorporado en esa capa.

Cinética de orden uno: A medida que el fármaco en estado sólido va disminuyendo, la solución se va enriqueciendo con el soluto. Al ir aumentando la concentración en la solución, la velocidad está en función de la concentración de fármaco disuelto. La superficie (S) del fármaco expuesta al medio de disolución varía a lo largo del proceso de disolución en función de la cantidad de fármaco remanente, sin disolver.

Modelo de la raíz cuadrada: El efecto de la porosidad en la liberación de fármacos a partir de una matriz insoluble se estudió por Higuchi y expresó la ley de la raíz cuadrada: El espesor de la capa de difusión k es proporcional a la raíz cuadrada del diámetro del volumen del medio de disolución. El espesor de la capa de difusión k es proporcional a la raíz cuadrada del diámetro del volumen del medio de disolución.

Modelo raíz cúbica: Representa una función lineal cuando la raíz cúbica de la fracción no liberada está relacionada con el tiempo. Esto es cierto cuando las condiciones de equilibrio no se modifican y la superficie de la partícula disminuye proporcionalmente con el tiempo. Esto es cierto cuando las condiciones de equilibrio no se modifican y la superficie de la partícula disminuye proporcionalmente con el tiempo.

Modelo Weibull: Es un modelo empírico, no deducido de ningún Fundamento cinético, presenta algunas deficiencias y tiene sido objeto de algunas críticas (Pedersen y Myrick, 1978; Christensen et al., 1980), tales como: No hay ningún fundamento cinético y solo podría describir, pero no caracterizar adecuadamente, las propiedades cinéticas de disolución del fármaco, no hay ningún parámetro único relacionado con el tasa de disolución intrínseca de la droga y Tiene un uso limitado para establecer in vivo / in vitro.

I. INTRODUCCIÓN

El incremento del costo de los medicamentos se ha convertido en un aspecto trascendente en la política sanitaria en muchos países, dado que su accesibilidad para la población forma parte de los derechos de la ciudadanía; es por eso que los medicamentos Multifuentes se constituyen como una alternativa de bajo costo en el tratamiento de múltiples enfermedades, dado que su producción no requiere la inversión que se genera al momento de desarrollar un nuevo fármaco (4). En concordancia con estas políticas, la OMS promueve el empleo de medicamentos genéricos, porque constituye una vía para mejorar los sistemas de salud en los países en vías de desarrollo (45); sin embargo, es necesario demostrar que el producto genérico (multifunte) es bioequivalente con su respectivo fármaco patrón para esperar que sus efectos sean los mismos y en consecuencia la eficacia y seguridad.(80)

En el mercado nacional se evidencia un alto precio promedio de medicamentos y un accionar pasivo del sector salud por la calidad del producto multifunte(48), esto se ve reflejado en que en el 2009, se aprobó la ley, en cuyo artículo 20 del capítulo VI, establece la implementación gradual sobre la intercambiabilidad de medicamentos. Recientemente en setiembre del año 2018 se cuenta con una legislación que exija estudios de intercambiabilidad, sin embargo, el cumplimiento de estas exigencias se encuentran pendientes por ende resulta incierta la biodisponibilidad de los medicamentos en el mercado peruano.

La intercambiabilidad terapéutica se establece demostrando la equivalencia terapéutica de los medicamentos Multifuentes(56); para lo cual estudios in-vitro resulta ser un enfoque práctico y económico, en especial en los países en vías de desarrollo, donde la tecnología y los recursos son limitados para los estudios in vivo , sin embargo para este tipo de ensayos es necesario que el

medicamento en estudio cumpla con los requisitos de bioexención, el cual se apoya en el sistema de clasificación biofarmacéutica.(24)

La exigencia de demostrar la intercambiabilidad comenzó desde 1970, en países como EEUU, Canadá e Inglaterra, tras evidenciarse que formulaciones de medicamentos Multifuentes presentaban problemas de biodisponibilidad con relevancia clínica (ineficacia o toxicidad); cobrando de esta manera una importancia similar las propiedades farmacocinéticas como de calidad, para asegurar un medicamento eficaz y seguro.(21)

Países Latinoamericanos como Chile, Colombia, México, Brasil y Argentina, en respuesta a la necesidad de medicamentos intercambiables, desde 1990, han incorporado en su legislación políticas de control para un gran número de medicamentos, principalmente pruebas in vitro; mientras que pruebas in vivo, se reservan sólo a un número menor de medicamentos que obligatoriamente las requieren, basado en su riesgo clínico y sanitario.(5). En Chile el consumo de medicamentos Multifuentes ha mantenido un crecimiento de un 27% en el 2012 a 36% para el 2017(81), porque sus políticas de uso de estos productos se correlacionan con estudios de Equivalencia terapéutica; similar comportamiento ha tenido Brasil cuyo consumo de productos genéricos al 2010 alcanzan el 63% del mercado.(68).

Este estudio pretende ser una evaluación preliminar para determinar si uno de los productos nacionales de clorhidrato de Biperideno, puede optar a Bioexención. Se seleccionó este producto debido a sus características biofarmacéuticas y también porque se encuentra dentro del Petitorio Nacional de medicamentos y es un medicamento adyuvante en el tratamiento de parkinsonismos(79) y alteraciones extrapiramidales inducidos por fármacos.(78), en el Perú se ha reportado que los trastornos neuro-psiquiátricos son las enfermedades que generan la mayor cantidad de años de vida saludables perdidos (72).

Con la salida del Trihexifenidilo del mercado en el año 2005 se dejó en nuestro medio como único anticolinérgico para uso en antiparkinsoniano sal biperideno(13),

esto hace más importante realizar una evaluación de la disponibilidad de los productos multifuentes, más aún cuando se han descrito problemas con la dosificación y abuso del medicamento(13); por otro lado diferentes entes reguladores latinoamericanos consideran al clorhidrato de Biperideno como un candidato para realizar estudios de equivalencia in- vitro por las características de solubilidad y permeabilidad del principio activo.(42).

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Biofarmacia

2.1.1 Liberación del fármaco

La liberación es el proceso por el cual un fármaco, entregado en un vehículo farmacéutico, llega a la condición de “partículas de fármaco libre”, imprescindible para su acceso a la circulación sistémica; y por lo tanto una adecuada absorción solo se lograría controlando la solubilidad intrínseca del fármaco (determinada por la formulación o la aplicación de tecnología en el desarrollo de la forma farmacéutica). (67) Además este proceso (disgregación, desagregación y disolución), ocurre en todas las formas farmacéuticas, excepto en las que ya se administran disueltas, en el caso de formas farmacéuticas sólidas se clasifica en: sistemas de liberación inmediata y de liberación modificada.(67)

Bajo la comprensión sobre que la disolución es determinante para la absorción , se fundamenta la tendencia a emplear los ensayos in-vitro sobre los ensayos clínicos para determinar la bioequivalencia, asumiendo que los comportamientos similares en la velocidad de disolución dos fármacos tendrían una semejante disponibilidad orgánica, sin embargo la mayor dificultad que plantea los estudios in-vitro es reproducir la compleja fisiología gastrointestinal; debido a que esta velocidad estará determinada por la cantidad de fármaco

presente y las condiciones circundantes a la tableta; así por ejemplo el efecto del pH sobre la solubilidad del fármaco.(22) Esto trae como consecuencia que biodisponibilidad variada se traduzca en respuestas terapéuticas inadecuadas. Si la velocidad de disolución es lenta o incompleta, el nivel sanguíneo alcanzado con el fármaco resultará bajo e insuficiente, pero si es muy rápida puede provocar saturaciones o niveles en sangre elevados (toxicidad). (26)

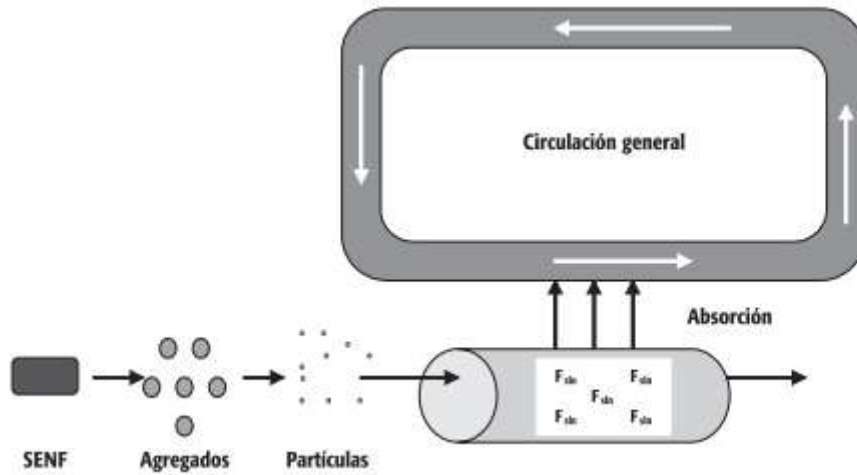
2.1.2 Estudios de Biodisponibilidad (BD) y Bioequivalencia (BE)

Los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia ofrecen información esencial para asegurar la efectividad y seguridad de medicamentos. La primera comprende la tasa y el grado de absorción del ingrediente activo de una droga, para alcanzar la circulación sistémica sanguínea y por ende estar disponible en el sitio de acción (Figura 1) ; mientras que la bioequivalencia se define como la ausencia de una diferencia significativa en la tasa y el grado de absorción de la fracción activa de dos equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas, cuando son administrados a la misma dosis molar y bajo condiciones similares, en un estudio cuyo diseño es apropiado.(53)

Con el crecimiento de la capacidad bio-analítica a mediados de la década de 1950, fue posible realizar con mayor facilidad este tipo de estudios; esto llevó a esfuerzos nacionales e internacionales para estandarizar criterios de BD y BE y determinar los procedimientos apropiados para su evaluación. En 1967 la Food and Drug Administration (FDA) definió los métodos para estudiar los posibles medicamentos "problemáticos", y reconoció que la bioequivalencia es un importante factor en el desarrollo de fármacos; teniendo un mayor impacto si la droga tuviese un índice terapéutico estrecho; entonces se debe realizar estudios de bioequivalencia cuando la formulación de la forma de dosificación farmacéutica ha sido modificada, por ejemplo cambios en la composición, parámetros de producción o alteración en la tecnología del proceso. Entre los métodos apropiados para evaluar la equivalencia se han descrito cuatro: Estudios farmacocinéticas en humanos (Bioequivalencia) en el que la sustancia activa o sus metabolitos puede ser medidos en los fluidos biológicos, Estudios

farmacodinámicos comparativos en seres humanos, Ensayos clínicos comparativos y Estudios “in vitro” (Equivalencia).(45)

Figura1: MOVIMIENTO DEL FÁRMACO EN TGI



Fuente: Baena, Y., & Ponce, L. F. (2008)

2.1.3 Estudios de bioequivalencia in vitro

Los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia in vivo representan costos significativos, principalmente por la participación de seres humanos, por ello los métodos in vitro resulta propicio para predecir el comportamiento in vivo de formas farmacéuticas sólidas.(11)

Los estudios comparativos de disolución in vitro generalmente deben realizarse bajo agitación leve a 37 ± 0.5 ° C con al menos doce unidades de dosificación y a un pH fisiológicamente relevante (rango de pH de 1.0 a 6.8), tomando preferentemente la metodología farmacopeica o se pueden usar métodos alternativos siempre que sean los suficientemente discriminatorios.(11)El análisis de las comparaciones pueden hacerse por los métodos de modelos dependientes o independientes. Finalmente, pero fundamental, el estudio in vitro puede ser suficientes para demostrar la equivalencia entre dos productos farmacológicos, siempre y cuando el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica permiten una evaluación de la disolución perfiles.(34)

2.1.4 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB)

El concepto de BCS fue desarrollado por Gordon Amidon en 1995 para establecer el marco científico de clasificación de drogas basadas en tres principales criterios que rigen la tasa y el grado de absorción de la forma de dosificación y son la solubilidad, disolución y permeabilidad intestinal.(37)

De acuerdo con BCS, las sustancias farmacéuticas o ingredientes farmacéuticos activos se dividen en clases de alta / baja solubilidad y de alta / baja permeabilidad de la siguiente manera (Figura 2).

Figura2: Sistema de Clasificación Biofarmacéutica

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

Fuente: Baena, Y., & Ponce, L. F. (2008).

Actualmente, las pautas de BCS son provistas por varias autoridades reguladoras como la Organización Mundial de la Salud y FDA de los Estados Unidos; el principio básico detrás de BCS es que los medicamentos que tienen el mismo perfil de solubilidad y permeabilidad resulten con el mismo perfil en el plasma; sin embargo la disolución se ve afectada si se realizan cambios importantes en el formulación, entonces para demostrar la equivalencia se pueden usar los datos de disolución como un sustituto de los datos farmacocinéticas.(6)

2.1.5 Bioexención y Normatividad

Una Bioexención significa que los estudios de biodisponibilidad y / o bioequivalencia *in vivo* no son considerados necesarios para la aprobación de la equivalencia terapéutica del nuevo producto, siendo las pruebas de disolución adoptadas como la base sustituta para reducir costos y tiempo de estudios in vivo.(15)

El riesgo de inequidad terapéutica de dos productos de liberación inmediata nunca puede reducirse a cero, incluso si se realiza un estudio clínico completo. (56) En

comparación con los estudios clínicos las pruebas de equivalencia *in vitro* y las bioequivalencias se basan en estadísticas y datos científicos que se supone que son representativos de los productos en relación.

Uno de los criterios más importantes para decidir si la bioequivalencia es apropiada es el sistema de Clasificación biofarmacéutica de la API (Tabla 2). Por ejemplo, los productos que contienen API con BCS clase IV están excluidos de los procedimientos de bioequivalencia, además los productos que contienen API clase III solo son elegibles si se disuelven rápidamente, para la OMS, las API de Clase II solo son elegibles para el procedimiento de bioequivalencia en países que utilizan los criterios de la OMS y luego solo en el caso de un ácido débil que es altamente soluble a pH 6.8. Por el contrario, las API de Clase I son elegibles para el procedimiento de bioequivalencia en todas las jurisdicciones que lo aplican.(62)

Tabla 1: CRITERIOS PARA ACEPTAR BIOEXENCIÓN

	EMA		FDA	WHO		
FORMULACION						
BCS	BSC CLASE I	BSC CLASE II	BSC CLASE I	BSC CLASE I	BSC CLASE II	BSC CLASE III
EXIPIENTES	Los excipientes que pueden afectar la biodisponibilidad son cualitativamente los mismos	Los excipientes que pueden afectar la biodisponibilidad son cualitativamente y cuantitativamente los mismos	excipientes que se encuentran actualmente en formas de dosificación oral sólidas IR aprobadas por la FDA. No cantidades grandes de ciertos excipientes que puedan afectar la biodisponibilidad	debería ser que los excipientes ... estén bien establecidos para su uso en productos que contengan esa API, y no generarán diferencias con respecto a los procesos que afecten a la absorción, o que puedan conducir a interacciones que después de la farmacocinética de la API		
TIPO DE P.A.	No para los principios activos con índice terapéutico estrecho		No para los principios activos con índice terapéutico estrecho, ni para los que se absorben por la cavidad oral	El índice terapéutico es importante consideración para determinar si puede aplicarse la bioexención		
DISOLUCIÓN	Muy rápida (>85% en 15 min) o rápida disolución (>85% en 30 min)	Muy rápida (>85% en 15 min)	rápida disolución (>85% en 30 min)	rápida disolución (>85% en 30 min)	Ratio de solubilidad < 250 ml a pH 6.8 y rápida disolución (>85% en 30 min) en pH 6.8	Muy rápida (>85% en 15 min)
PRUEBA DE COMPARACIÓN IN-VITRO						
PRUEBA IN-VITRO	pH 1-6.8, no uso de surfactantes		pH 1.2; 4.5 y 6.8 o respuesta similar del fluido intestinal. No uso de surfactantes	pH 1.2; 4.5 y 6.8		
CRITERIO DE ACEPTACIÓN DE EQUIVALENCIA						
	Similar f2 u otras apropiados métodos estadísticos		Similar f2	Similar f2 u otras apropiados métodos estadísticos		

Fuente: Rohilla, S. (2012).

Los excipientes son importantes en las formulaciones sin embargo los análisis de BSC no los contemplan. Sin embargo, la evidencia de la literatura ilustra cómo los excipientes pueden afectar la fracción de dosis absorbida cambiando así las características de disolución de la API. Grandes cantidades de ciertos excipientes, como surfactantes (por ejemplo, lauril sulfato de sodio) u osmóticos los ingredientes (p. ej., sorbitol) pueden ser problemáticos.(73)

Requisitos para un estudio de bioexención(62)

- a) Permiso de las autoridades reguladoras como la OMS, la FDA, la EMEA, etc. Ingrediente farmacéutico activo debe tener alta solubilidad y alta permeabilidad de acuerdo con el sistema de clasificación biofarmacéutica
- b) El estudio de disolución in vitro en tres medios diferentes (Buffer pH 1.2, Fluido gástrico simulado sin enzimas o 0.1N HCl, Tampón pH 4.5, Tampón pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzimas) a 37 ° C
- c) 12 muestras en cada medio, paleta 50rpm o canasta 100rpm. El tiempo de muestreo de minutos depende del tipo de dosificación según la OMS.
- d) Los datos de los productos de prueba y referencia deben ser similares (en los tres medios).

- e) Los productos se consideran similares si el factor de similitud f_2 es 50 o más o ambos medicamentos muestran 85% disolución en 15 min.

2.1.6 Medicamentos Genéricos en el Perú

Un medicamento genérico es aquella especialidad farmacéutica que tiene el mismo principio activo, la misma dosis, la misma forma farmacéutica y las mismas características cinéticas, dinámicas y técnicas que unos medicamentos que no está protegido por patente y que se usa como referencia legal técnica. La principal característica desde el punto de vista farmacoterapéutico es que el medicamento genérico debe demostrar la bioequivalencia.(48)

En el Perú se considera a los productos genéricos como los productos cuyo nombre comercial coincide con el DCI en comparación a medicamentos innovadores y similares, reflejándose desbalance en el control de precios (Tabla 2). los requerimientos para asegurar la intercambiabilidad de productos Multifuentes no son obligatorios, por lo que existe la necesidad de una política de control de que garanticen la calidad y accesibilidad a estos medicamentos. Un análisis de los de medicamentos en el Perú, comparado con Colombia y Chile, demostró que el consumo promedio anual es menor, pero los precios promedio de los medicamentos de marca y genéricos consumidos son mayores.(48)

Tabla 2: DEFINICIONES DE MEDICAMENTO GENERICO EN PAÍSES LATINOAMERICANOS

Grupo	País	Definición
Países con definición de medicamento genérico	Brasil	Medicamento genérico: según la Ley 9787 del 10 de febrero de 1999, es un medicamento similar a un producto de referencia o innovador, que pretende ser intercambiable con este, generalmente producido luego de la expiración o renuncia de la protección por patentes o de otros derechos de exclusividad, comprobada su eficacia, seguridad y calidad y designado por la denominación común brasileña o, en su ausencia, por la denominación común internacional (DCI).
	México	Medicamento genérico intercambiable: según la Norma Oficial Mexicana-177-SSA1-1998, es la especialidad farmacéutica con el mismo fármaco o sustancia activa y forma farmacéutica, con igual concentración o potencia, que utiliza la misma vía de administración y con especificaciones farmacopeas iguales o comparables, que después de cumplir con las pruebas reglamentarias requeridas, se ha comprobado que sus perfiles de disolución o su biodisponibilidad u otros parámetros, según sea el caso, son equivalentes a las del medicamento innovador o producto de referencia, y que se encuentra registrado en el Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables, y se identifica con su denominación genérica.
	Panamá	Producto farmacéutico genérico o producto genérico: según el Decreto Ejecutivo No. 421, es un medicamento de fuente múltiple que puede ser intercambiable con el producto de referencia. Usualmente es fabricado sin la licencia de la empresa innovadora y se comercializa después de la expiración de la patente o los derechos de exclusividad.
Países sin definición pero con términos asociados	Argentina	Medicamento similar: según la Disposición ANMAT No. 3185/99, es un producto que contiene sustancias terapéuticamente activas como base de su formulación, así como formas farmacéuticas, vías de administración, posología, indicaciones, contraindicaciones, precauciones, advertencias, reacciones adversas, pruebas de disolución y otros datos correlativos semejantes al producto registrado en el país o países de los Anexos, pudiendo diferir en características tales como tamaño y forma, excipientes, período de vida útil, envase primario.
	Costa Rica	Medicamento o producto farmacéutico multiorigen: según Art. 3 del Decreto No. 28466-S, son medicamentos farmacéuticamente equivalentes que pueden o no ser equivalentes terapéuticamente. Cuando son equivalentes terapéuticos son intercambiables. Medicamento de nombre genérico: medicamento que se distribuye o expende rotulado con el nombre común del principio activo, o sea, sin identificarse con una marca de fábrica o nombre comercial.
	Colombia	Medicamento competidor: según la Resolución 1400 de 2001, es el producto farmacéutico que contiene un principio activo que ya ha sido aceptado en las Normas Farmacológicas Colombianas y no es aquel producto con el cual se ha desarrollado la investigación completa de su desarrollo, desde su síntesis química hasta su utilización clínica.
Países con definición simple de genérico	Perú	Medicamento genérico: según el Decreto Supremo D.S. 010-97-SA, es el producto farmacéutico cuyo nombre corresponde a la DCI del principio activo, recomendada por la Organización Mundial de la Salud, y no es identificado con un nombre de marca.
	Bolivia	A los fines reglamentarios, los medicamentos reconocidos por la Ley No. 1737 de 17 de diciembre de 1996 son: a) medicamentos genéricos (con DCI) y b) medicamentos de marca comercial, entre otros.
	Ecuador	Medicamento genérico: según la Ley 2000-12, debe entenderse como medicamentos genéricos los que se registran y emplean con la DCI del principio activo, propuesta por la Organización Mundial de la Salud, o en su ausencia con una denominación genérica convencional reconocida internacionalmente, cuya patente de invención haya expirado. Estos medicamentos tendrán los mismos niveles de calidad, seguridad y eficacia requeridos para los de marca.

Fuente: González, C. P. V., Fitzgerald, J. F., & Bermúdez, J. A. (2006).

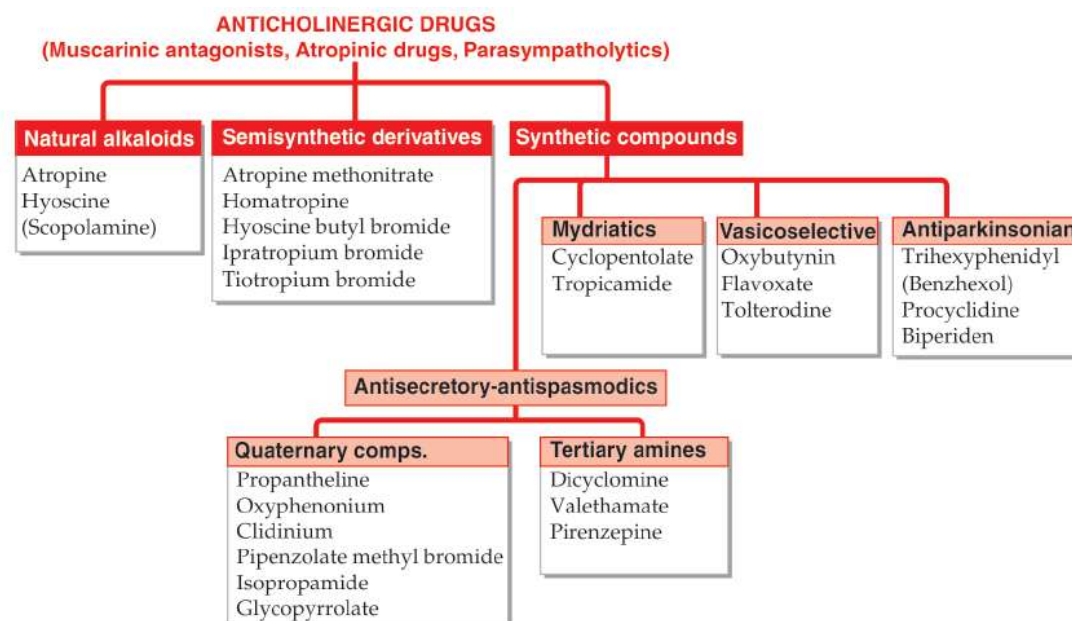
Otro punto importante, es la gran participación en el mercado nacional farmacéutico de medicamentos similares de marca, que, a pesar de no tener un perfil comprobado de eficacia y seguridad, tan igual que los Multifuentes DCI, tienen un precio bastante elevado. Debido a la gran variedad de principios activos comercializados en el país, se ha considerado un programa de implementación basado en 4 criterios: Nivel de riesgo sanitario, Exigencia sanitaria de estudios de bioequivalencia en otros países, Sistema de clasificación biofarmacéutica y Registro epidemiológico; con los cuales se clasificaron los medicamentos incluidos en el Petitorio Nacional Único de Medicamentos Esenciales. Así, en función al riesgo sanitario, se ha determinado Anti convulsionantes, Antiepilépticos, inmunosupresores, antituberculosos, anti fúngicos, anticolinérgicos, entre otros que requieren estudios de bioequivalencia.(44)

2.2 CLORHIDRATO DE BIPERIDENO

2.2.1 Historia y naturaleza

Fue sintetizado por primera vez por el químico alemán Wilfried Klavehn, luego en marzo de 1953, la droga fue patentada y vendida bajo el nombre de Akineton derivado del griego (α -, *sin* y κίνησις *kinēsis*, *Movimiento*). (35) Este Anticolinérgico sintético (Figura: 3) fue una de las drogas trascendentes para el tratamiento del parkinsonismo arteriosclerótico, idiopático y post-encefálico durante más de un siglo.(65). En la actualidad es usado como un adyuvante en el tratamiento del Parkinson, el cual fue descrito por Barbeau en 1962 como un desequilibrio entre la dopamina y la acetilcolina, por ende, el déficit dopaminérgico da lugar a una hiperactividad relativa de neuronas colinérgicas, entonces un bloqueo colinérgico ayudaría indirectamente al déficit dopaminérgico. Adicionalmente se ha utilizado para aliviar los síntomas extrapiramidales inducidos por derivados de fenotiazina y reserpina. (27); (71)

Figura3: DROGAS ANTICOLINERGICAS

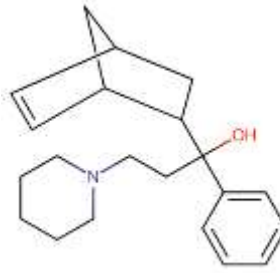


FUENTE: Tripartí, K. D. (2010).

2.2.2 Química

Este principio activo pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como aralkilaminas. Estas son alquilaminas en las que el grupo alquilo está sustituido en un átomo de carbono por un grupo hidrocarburo aromático. La molécula es pequeña cuyo nombre IUPAC es 1-Bicyclo [2.2.1] hept-5-en-2-yl-1-fenil-3-piperidin-1-yl-propan-1-ol (Figura 4).

Figura4: CLORHIDRATO DE BIPERIDENO



Formula química $C_{21}H_{29}NO$; pka = 9.3; Peso molecular 51420.375 Da

Fuente: DrugBankdatabase

2.2.3 Farmacología(DrugBank data base)

Biperideno es un agente anticolinérgico débil comparado con la atropina. Tiene, por lo tanto, algunos efectos anti-secretores, antiespasmódicos y midriáticos. Estudios sobre la unión a los receptores muscarínicos humanos muestran una alta afinidad al Biperideno por la subclase M1, la clase principal de receptores muscarínicos en el cerebro. En suma, es un agente efectivo y confiable para el tratamiento de episodios agudos de alteraciones extra piramidales que a veces se observan durante el tratamiento con agentes neurolépticos. La acatisia, la acinesia, los temblores discinéticos, el rigor, la crisis oculógira, el tortícolis espasmódico y la sudoración profusa se reducen o eliminan marcadamente. Se ha demostrado un efecto activador psicomotor del Biperideno en varios modelos animales.(9).

2.2.4 Farmacocinética

2.2.4.1 Absorción y biodisponibilidad

Después de la administración oral es rápidamente absorbido con un tiempo de demora de media hora y las vidas medias en estado constante (Biperideno 2 mg dos veces al día durante seis días) fueron de 16 a 33 horas para los voluntarios jóvenes y de 26 a 41 para los pacientes añosos. Las concentraciones plasmáticas pico se alcanzan después de aproximadamente 1,5 horas. La biodisponibilidad es de alrededor del 33.5% debido al extenso metabolismo de primer paso. Los pacientes geriátricos demostraron una biodisponibilidad significativamente más alta (área bajo la curva) que voluntarios jóvenes.(42)

2.2.4.2 Distribución

El Biperideno se une extensamente a las proteínas plasmáticas. Además de la albúmina, la alfa-1-glicoproteína ácida es otra compañera potencial de unión. El grado de unión, independiente de la concentración hasta un nivel muy por encima del nivel terapéutico, es de aproximadamente 95% en los caucásicos y de aproximadamente 90% en los japoneses. No se conoce a ciencia cierta la causa de esta diferencia.(12) La unión del Biperideno a las proteínas plasmáticas es de 94% en mujeres y de 93% en hombres.(36)

2.2.4.3 Metabolismo y eliminación

El Biperideno se metaboliza casi completamente. El Biperideno no modificado es indetectable en la orina. El metabolito principal del Biperideno se forma por la hidroxilación en el anillo de bicicloheptano (60%) aunque también se produce cierta hidroxilación en el anillo de piperidina (40%).(38) Aproximadamente iguales cantidades de los diferentes metabolitos (conjugados y productos de la

hidroxilación) son excretados a través de la orina y las heces. (57). No se encuentra disponible información farmacocinética para pacientes con disfunción hepática y renal. La vida media de eliminación se ha determinado como 18.4 horas, y puede ser prolongada en pacientes geriátricos (24 a 37 horas). La toxicidad se ha determinado en ratas (tabla 3).

Tabla 3: Toxicidad

Se han usado los siguientes símbolos: O, LD50 en ratones usando administración oral en mmol / kg; Valor de IP, LD50 en ratones usando administración intraperitoneal en mmol / kg; Valor IV, LD50 en ratones que usan administración intravenosa en mmol / kg. LogO, el logaritmo del valor LD50 en ratones usando la administración oral en mmol / kg; LogIP, el logaritmo del

#	Drug	Class	f_u	Log P	Reference ^a	O	IP	IV	TD
29.	Biperiden	Bases	0.10	4.25	DrugBank Database	1.7	0.5	0.2	0.17017

valor de LD50 en ratones usando la administración intraperitoneal en mmol / kg; LogIV, el logaritmo del valor LD50 en ratones usando administración intravenosa en mmol / kg; TD, el cociente entre el valor LD50 en ratones que usa administración oral en mmol / kg / la dosis diaria definida en mmol

FUENTE: Svennebring, A. (2016).

2.2.5 Usos terapéuticos

Indicado en paciente con síntomas mínimos de la enfermedad de Parkinsonismos. También se utiliza en pacientes que no toleran, no responden o presentan contraindicaciones para la levodopa. En el tratamiento de parkinsonismo inducido por fármacos (antipsicóticos, cinaricina, metoclopramida, etc.) se retiran estos medicamentos y se puede añadir un anticolinérgico, ya que en

estos casos el problema no es un déficit de dopamina sino un bloqueo del receptor dopaminérgico, mejorando la sintomatología.(27)

2.2.6 Eventos adversos

- **Trastornos del sistema inmune:** hipersensibilidad, incluyendo erupción.
- **Trastornos psiquiátricos:** reducción de la etapa REM del sueño, caracterizado por aumento de la latencia de este período y un menor porcentaje de esta etapa. Se ha informado de tolerancia a este efecto.
- Los siguientes eventos adversos son propios de las drogas anticolinérgicas. Puede no haberse establecido una relación causa y efecto.
- **Trastornos psiquiátricos:** ansiedad, euforia, agitación, confusión, delirio, alucinaciones.
- **Trastornos del sistema nervioso:** deterioro de la memoria, somnolencia, ataxia, convulsiones.
- **Trastornos oculares:** midriasis.
- **Trastornos cardíacos:** taquicardia, bradicardia.
- **Trastornos gastrointestinales:** boca seca, constipación.
- **Trastornos renales y urinarios:** retención urinaria.

En Perú se han registrado casos de dependencia y el desarrollo de cuadros compatibles con el síndrome anticolinérgico. (29)

III. HIPÓTESIS

La performance de los perfiles de disolución de los productos multifuentes son equivalentes frente al comparador, demostrando que al menos una de las tabletas de clorhidrato de biperideno Multifuentes de origen nacional es un candidato para optar a bioexención.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Establecer si alguna de las tabletas de clorhidrato de Biperideno de origen nacional es un equivalente terapéutico al producto de referencia a través de estudios *in vitro*, para optar a bioexención.

4.2 Objetivos Específicos

- a) Establecer si los medicamentos A y M son equivalentes *in vitro* al medicamento de referencia mediante una evaluación de la cinética de liberación-disolución
- b) Determinar los perfiles de disolución del medicamento de referencia y de los medicamentos genéricos en estudio en tres medios de disolución diferentes.
- c) Determinar experimentalmente la similitud entre los perfiles de disolución de Biperideno en tabletas de 2 mg Multifuentes e comparador con diferentes modelos estadísticos.
- d) Realizar un control de calidad acorde a las especificaciones farmacopeicas de comprimidos genéricos y de referencia de Clorhidrato de biperideno 2 mg.

V. DISEÑO EXPERIMENTAL

Con el objeto de evaluar la equivalencia terapéutica entre el producto de referencia "I" y dos marcas comerciales de origen nacional, se realizó estudios in vitro comparando los perfiles de disolución del producto referencia (NC y DCI) y dos productos nacionales (multifuentes) determinando estadísticamente los factores de similitud y diferencia, en cada caso.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Material

6.1.1 Reactivos

Metanol grado HPLC,

Ácido clorhídrico PA ACS,

Hidróxido de sodio perlas PA ACS,

Fosfato monobásico de Sodio PA ACS,

Fosfato difásico de Sódio PA ACS,

Purpura de Bromo resol ACS,

Cloroformo ACS,

Ácido Acético Glacial (J.T. Baker),

Agua ultra pura,

Solución de lavado Extran® al 2% (Merck),

Acetato de sodio (Merck).

6.1.2 Equipos e Instrumentos

Destilador MILLI Q,

Ultrasonido marca: Branson,

Modelo: 5510R-DTH,

Balanza analítica METTLER TOLEDO MS 105, (Alcance 0,01 mg)

Disolutor modelo DISTEK 2100 C y termocirculador modelo TCS- 0200 C,

Potenciometro sevencompact s220,

Equipo de filtración al vacío,

Espectrofotómetro ultravioleta visible con arreglo de diodos HP 8453E

Cronometro digital marca: VWR, modelo: 62344-588,

Otros Materiales

Material de vidrio clase A de uso común en laboratorio (pipetas, beakers, fiolas, peras de extracción),

Filtros Grade 41: 20 µm

Jeringas plásticas de 10 mL,

Cubetas de cuarzo, de 10 cm.

Material de escritorio

6.1.3 Patrón de Referencia

Se trabajó con un estándar secundario de clorhidrato de Biperideno (Lote: 16005BPH) trazado a un estándar USP Primario (Lote: R038J0). El valor de la potencia del estándar secundario fue de 100 % (Ver Certificado, Anexo 1)

6.1.4 Muestras

Para el estudio comparativo, se trabajó con tres formulaciones comerciales de Clorhidrato de Biperideno de 2 mg de liberación inmediata (100 tabletas de cada una). Una de las formulaciones corresponde a la marca del innovador (AKINETON 2 mg de Laboratorio Bagó Lote 1009063) de procedencia Estado Unidense (Espacenet Patent search, 2018) la cual se comercializa en Perú, por lo que se le consideró como patrón comparador, tomando en cuenta las recomendaciones del DECRETO SUPREMO N° 024-2018-SA, por otro lado las otras dos formulaciones provienen de dos laboratorios nacionales con DCI: "*Clorhidrato de Biperideno*" y que en adelante denominaremos Multifuente A y Multifuente M.

Los medicamentos Multifuentes (A y M), fueron adquiridos en boticas y farmacias de venta particular, con fecha de vencimiento (A: 07/19 y M: 11/19). Todos los medicamentos seleccionados provinieron de laboratorios con certificación de BPM.

Los criterios de selección para la elección de los lotes fueron en base a lo descrito en el segundo suplemento de la Farmacopea Mexicana séptima edición y son los siguientes:

- a) Las fechas de fabricación de los productos Multifuentes no deben diferenciarse en más de seis meses respecto a la fecha de la referencia.
- b) El medicamento de referencia y el medicamento de prueba deben tener la misma forma farmacéutica y la misma dosis.
- c) Deben cumplir con el Control de calidad dentro de especificaciones farmacopeicas.
- d) El porcentaje de la valoración del medicamento de prueba no debe diferir en más del 5% del medicamento de referencia.

5.2 Métodos:

5.2.1 Control De Calidad (Multifuentes y Patrón Comparador):

Con el objeto de verificar el criterio descrito en el ítem 5.1.4 se realizaron los siguientes análisis de control de calidad (QC) descritos en la monografía de “Clorhidrato de Biperideno, Tabletas” en la USP40 evaluando para los parámetros de calidad: peso promedio, identificación, prueba de disolución y valoración. Adicional se describió las características físicas y excipientes y se registró los siguientes datos: fecha de vencimiento, registro sanitario,

6.1.4.1 Peso promedio:

Se pesaron de manera individual veinte comprimidos de cada lote y marca, se determinó el peso promedio, así como la desviación estándar y el coeficiente de variación

6.1.4.2 Ensayos de identidad

Se trituraron hasta polvo fino 20 tabletas de cada muestra, se pesó una cantidad de polvo equivalente a 10 mg de clorhidrato de biperideno, se adicionaron 5 mL de agua y 5 mL de metanol, se agitó y filtró, luego en un separador con 2 ml de hidróxido de sodio 1N y 10 de cloroformo, para tomar la fase apolar. Similar

tratamiento se siguió con el estándar; finalmente se picó y se desarrolló en una placa cromatografía, previamente acondicionada, con una fase móvil de metanol e hidróxido de amonio. Se reveló con vapor de yodo.

6.1.4.3 Valoración:

Las tabletas de Clorhidrato de Biperideno deben contener según USP no menos del 93.0 % y no más del 107,0 % de la cantidad de $C_{21}H_{29}NO$. Se pesaron y pulverizaron 20 tabletas de cada marca de Clorhidrato de Biperideno. A una cantidad de polvo equivalente a 40ug de Biperideno, se añadió agua y metanol hasta enrase, se tomó 5 mL y se agregó en un separador junto con 10 mL de solución amortiguadora y 20 mL de cloroformo, se filtró y colectó la fase clorofórmica; finalmente se leyó en un espectrofotómetro a una longitud de onda 408nm en una celda de 1 cm.

Se verificó que el porcentaje de la valoración del medicamento de prueba no difiera en más del 5% del medicamento de referencia.

6.1.4.4 Test de disolución:

Se evaluaron seis tabletas de clorhidrato de biperideno por lote y marca empleando el aparato II (paleta), las condiciones especificadas en la técnica se describen en la tabla 1. Transcurridos 45 minutos del ensayo, una alícuota de 75 mL de disolución se extrajo de cada vaso, se realizó una extracción con cloroformo y se cuantificó por espectrofotometría a una longitud de onda de 408nm. El criterio de aceptación es "No menos del 75 % de la cantidad declarada debe disolverse en 45 minutos"

Tabla 4 Condiciones de la Prueba de disolución de Biperideno

EQUIPO	Paletas
VELOCIDAD DE ROTACIÓN (rpm)	50
MEDIO DE DISOLUCIÓN	Ácido clorhídrico pH 1.2
TEMPERATURA DEL MEDIO	37 ± 0.5
VOLUMEN DEL MEDIO (mL)	500
DILUCION REALIZADA (v/v) CON MEDIO DE DISOLUCIÓN	1:100
LONGITUD DE ONDA (nm)	408
BLANCO	AGUA

6.1.5 Perfiles de disolución del Comparador y Multifuentes

Para realizar los perfiles de disolución se han seguido los lineamientos descritos en la guía publicada por la WHO (2006), FDA (1997) y la sección Bioequivalencia de la USP 40.

6.1.5.1 Condiciones Experimentales

Se empleó como base la técnica analítica descrita en la monografía de la USP 40 (Anexo 6), variando el pH de los medios señalados en World Health Organization (2006).

Los perfiles de disolución o cinética de disolución se llevaron a cabo en un lote de cada marca para los tres pH diferentes:

- Medio ácido clorhídrico pH 1.2,
- Medio acetato de sodio pH 4.5 y
- Medio fosfato de potasio pH 6.8.

Se tomarán alícuotas de 75 mL con reposición de medio fresco con igual temperatura ($37^{\circ}\text{C} \pm 0.1$) a los 5, 15, 30, 45 y 60 minutos. Las lecturas de absorbancia se realizaron en el espectrofotómetro UV a 408 nm.

Criterios de Aceptación para los porcentajes de disolución a obtener en cada tiempo y Medio de Disolución acorde con las recomendaciones de la FDA:

- a) El Coeficiente de variación de los datos que corresponden a los porcentajes de disolución de las 12 tabletas por cada tiempo de hasta 15 minutos (5, 10 y 15 minutos) debe ser menor al 20% en los tres medios de disolución.
- b) El Coeficiente de variación de los datos que corresponden a los porcentajes de disolución de las 12 tabletas por tiempos de muestreo superior a 15 minutos ((30, 45, 60 minutos) debe ser menor al 10% en los tres medios de disolución.

6.1.5.1.1 Preparación de los medios

Las soluciones para los medios fueron preparadas de acuerdo con lo indicado en el USP 40.

Medio Ácido clorhídrico pH 1.2

Se midió 6 L de agua purificada con fiola de 1000 mL y se colocó en un recipiente de 10 L. Luego al último litro de agua se añadió 5.95 mL de HCl Q.P. Finalmente se tomó el valor del pH con un pHmetro.

Medio Acetato pH 4.5

Se midió 7 L de agua purificada con una probeta de 1000 mL y se colocó en un recipiente de 10 litros. Luego al último litro de agua se añadió 11.45 mL de ácido acético glacial 37% y 37.95 g de acetato de sodio. Finalmente se tomó el valor del pH con un pHmetro.

Medio Fosfato pH 6.8

Se midió 7L de agua purificada con una probeta de 1000 mL y se colocó en un recipiente de 10 L. Luego al último litro de agua se añadió 9.05 g Hidróxido de sodio y 69.29 g Fosfato Monobásico de potasio. Finalmente se tomó el valor del pH con un pHmetro.

6.1.5.1.2 Preparación de la solución Estándar

Primero se pesó alrededor de 40 mg, luego se colocó en una fiola de 50mL con metanol para que se disuelva. Después que se disolvió el principio activo, se extrajo 5mL y se colocó en una fiola de 500 mL donde se llevó a volumen con el medio correspondiente. Se llevó a pH 5.3 dos soluciones estándar para cada medio en fiola de 100 mL. La concentración final de cada solución estándar fue 2 μ g/mL. Finalmente se extrajo con cloroformo y la fase apolar se procedió a leer a 408 nm.

6.1.5.1.3 Preparación de la muestra

El volumen de la muestra tomada en los tiempos correspondientes fue 75mL y rápidamente se filtró. Se tomó 50 mL de la solución filtrada, se colocó en una fiola de 100 mL y se enrasó a volumen con agua. Finalmente se extrajo con cloroformo y la fase apolar se procedió a leer a 408 nm.

6.1.6 Análisis Estadístico

Con el objeto de evaluar si los perfiles de disolución obtenidos de los productos Multifuentes (a y M) eran equivalentes en comparación al perfil de disolución del producto de referencia o comparador, se aplicaron los siguientes métodos, recomendados por la FDA: Método del modelo independiente y Método del modelo dependiente.(24), así mismo se empleó el Cálculo de los parámetros amodelísticos complementario al modelo independiente el cual se emplea para caracterizar el tiempo y eficiencia de los perfiles de disolución(2):

a) Método independiente:

El método independiente compara los factores de similitud F2 que es una transformación logarítmica de la sumatoria del error al cuadrado de las diferencias entre ambos productos en los periodos de tiempo, y el Factor de Diferencia F1 que mide el porcentaje de error entre las dos curvas en los períodos de tiempo, **debiendo ser F2 estar entre 50 y 100, y F1 entre 0 y 15 para considerar que los procesos de la disolución de los perfiles analizados son equivalentes.**

Factor de diferencia (F1):

$$f1 = \frac{\sum_{t=1}^n |Rt - Tt|}{\sum_{t=1}^n Rt}$$

(n) es el número de puntos, (R) producto de referencia, (T) producto comparado, (t) tiempo

Factor de Similitud (F2):

$$f2 = 50 \times \log\left(\frac{1}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^n (R-T)^2}{n}}}\right)$$

(n) es el número de puntos, (R) producto de referencia, (T) producto comparado, (t) tiempo

a.1 **Calculo de los Parámetros Amodelísticos complementarios al modelo independiente**

El modelo calcula dos parámetros para cada formulación (EF y TMD), que luego se compararan entre formulaciones para evaluar si sus características en eficiencia y tiempo de disolución son iguales.

- La eficiencia de disolución (EF) determina eficiencia de la formulación es decir que cantidad se disuelve de toda la tableta, si se obtiene un valor alto de este parámetro, hace referencia a que, en los primeros tiempos del proceso de disolución, se produce una liberación y disolución rápida del ingrediente activo (Guzmán, 2013).
- El tiempo medio de disolución (TMD) para determinar con que velocidad se disuelve la formulación. El valor de TMD disminuye con un aumento en la tasa de liberación.

El modelo independiente, incluye los siguientes cálculos:

- La eficiencia de disolución (EF) aplica el método de los trapecios (AUC). y es necesario que se haya disuelto, como mínimo, el 90% de la dosis:

$$EF(\%) = \frac{AUC_0^T}{Q_{100} \cdot T} \cdot 100$$

Porcentaje de disolución máxima disuelta (Q100), T es el área total (tiempo T),

- El tiempo medio de disolución (TMD) se calcula a partir de las curvas acumulativas de las cantidades disueltas de fármaco en función del tiempo, mediante la ecuación

$$MDT = \frac{\sum_{j=1}^n t_{jmid} \times \Delta M_j}{\sum_{j=1}^n \Delta M_j}$$

Tiempo intermedio (t_j) incremento de las cantidades de fármaco disuelto (ΔM_j)

a1.1 Luego de determinar los parámetros de EF% y MDT de cada formulación (comparador, multifuente A y multifuente M) en los doce vasos a los tres pH (1.2,4.5,6.8), los valores obtenidos fueron sometidos a análisis estadístico

empleando un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación $\alpha = 0,05$ en el programa estadístico SPSS, para detectar la existencia de diferencias significativas entre las formulaciones.

b) Método Dependiente:

Este método evalúa si los perfiles de disolución de los productos multifuentes son semejantes en comportamiento del perfil de disolución del producto referente o comparador.

El método dependiente describe distintos modelos matemáticos que definen la forma de la curva de disolución o comportamiento a la cual correspondería un perfil (orden cero, primer orden, raíz cuadrática, Weibull ó raíz cubica).

Este método consiste en determinar el ajuste al modelo más apropiado del producto comparador o de referencia. Luego de obtener el modelo que mejor describe el comportamiento del producto comparador, se aplica dicho modelo a los perfiles de disolución obtenidos en los productos multifuentes para determinar la constante de disolución de cada perfil y luego compararlos.

Para determinar cuál de los modelos el mejor ajuste le corresponde al producto de referencia en los tres medios analizados, se contrastó el coeficiente de determinación (R^2) y se empleó un parámetro discriminatorio de modelos, el criterio de información de Akaike (AIC, del inglés Akaike Información Criterium); mientras más pequeños es el AIC, mejor es el ajuste al modelo(2).

Luego de determinar el modelo matemático que mejor se ajusta al producto de Referencia y calcular las constantes de disolución (K_d) por cada vaso, se aplica la este modelo a los productos multifuentes y se obtiene también sus K_d , finalmente se compara si hay diferencia significativas entre los K_d del producto de referencia y el producto multifuente. Si $p \leq 0,05$, hay diferencia significativa y las curvas no son equivalentes, mientras que si $p > 0,05$ no hay diferencia significativa y las formulaciones tienen curvas equivalentes.

Se empleo las herramientas proporcionadas por el programa de acceso libre Biofarmacia Moderna V 6 . Para detectar la existencia de diferencias significativas entre los productos multifuentes y referencia, se comparó con una prueba ANOVA aplicando un nivel de significación $\alpha = 0,05$, a los

parámetros de constante de disolución (Kd) obtenidos en cada perfil del modelo elegido.(82)

Tabla 5: Ecuaciones de modelos matemáticos

MODELOS	ECUACIONES	
Orden cero	$Q = K_0 \times (t - t_0)$	<p>donde:</p> <p>Q es la cantidad de fármaco disuelto a cada tiempo.</p> <p>K_0 es la constante de disolución de orden cero.</p> <p>t_0 es el período de latencia o tiempo que tarda en iniciarse el proceso de disolución</p>
Orden uno	$\ln(Q_\infty - Q) = \ln Q_\infty - K_0(t - t_0)$	<p>donde:</p> <p>Q_∞ es la cantidad de fármaco disuelto a tiempo infinito, que coincide con la dosis si la disolución es total.</p> <p>Q es la cantidad de fármaco disuelto a cada tiempo.</p> <p>$(Q_\infty - Q)$ es la cantidad de fármaco remanente en el lugar de disolución.</p> <p>K_0 es la constante de disolución</p>
Raíz cuadrada	$Q = K_d \times (t - t_0)^{1/2}$	<p>donde:</p> <p>Q es la cantidad de fármaco disuelto.</p> <p>t_0 es el período de latencia o tiempo que tarda en iniciarse el proceso de disolución</p>
		<p>donde:</p> <p>Q es la cantidad de fármaco disuelto a</p>

<p>Función de Weibull (sin base fisicoquímica)</p>	$Q = Q_{\infty} \left(1 - e^{-\left(\frac{t-t_0}{td}\right)^B} \right)$	<p>tiempo t.</p> <p>Q_{∞} es la cantidad de fármaco disuelto a tiempo infinito que coincide con la dosis si la disolución es total.</p> <p>t_0 es el período de latencia o tiempo que tarda en iniciarse el proceso de disolución.</p> <p>Td es el tiempo que tarda en disolverse el 63,2% de la dosis.</p> <p>B es un parámetro de forma, adimensional.</p>
<p>Raíz Cubica</p>	$Q = Q_{\infty} - \left(Q_{\infty}^{\frac{1}{3}} - Kd \times t \right)^3$	<p>donde:</p> <p>Kd es la constante de disolución.</p> <p>Q_{∞} es la cantidad de fármaco disuelto a tiempo infinito, que coincide con la dosis si la disolución es total.</p> <p>Q es la cantidad de fármaco disuelto en cada intervalo de tiempo.</p>
<p>Criterio de Información de Akaike (AIC).</p>	$AIC = n \times LN(SSQ) + 2p$	<p>donde:</p> <p>n es el número de pares de datos experimentales empleados en el ajuste.</p> <p>SSQ es la suma de los cuadrados de los residuales.</p> <p>p es el número de parámetros de la función de ajuste.</p>

FUENTE: Aguilar Ros, Antonio. Biofarmacia y Farmacocinética: Ejercicios y problemas resueltos. 2008: 27-61

VII. RESULTADOS

7.1 Control de Calidad (Multifuentes y Patrón Comparador):

Las características físicas de cada medicamento en estudio se muestran en la Tabla 6, donde se observa que los medicamentos genéricos “A”, “M” y “I” presentan características físico-químicas similares entre sí; diferenciándose del medicamento de referencia solo en las dimensiones de la tableta. Con respecto a los excipientes, los productos multifuentes presentan los mismos excipientes, cualitativamente descrito en el inserto, y difieren del producto referencia en el tipo de diluyente y la presencia del aglutinante. (Anexo 2)

Tabla 6: Análisis Físico-Químico de la muestra de clorhidrato de Biperideno

ANÁLISIS	PRODUCTO			ESPECIFICACIONES	RESULTADO
	Referencia	M	A		
<i>DESCRIPCIÓN</i>	Tabletas blanquecinas con una cara lisa y otra con incisión intermedia			No aplica	Las tres tabletas presentan las mismas características visuales.
<i>DIMENSIÓN</i> <i>Ancho x alto</i>	9.026 ± 0.005 x 2.278 ± 0.015	7.071 ± 0.007 x 2.966 ± 0.011	7.138 ± 0.022 x 2.841 ± 0.023	No aplica	El producto referencia es una tableta de mayores dimensiones que los productos multifuentes
<i>PESO PROMEDIO</i>	200.64 ± 2.169	140.65 ± 1.010	140.79 ± 1.561	No aplica	El producto referencia presenta un mayor peso promedio

	ANÁLISIS	PRODUCTO	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
				que los productos multifuentes
<i>IDENTIFICACIÓN</i>	Positivo a Clorhidrato de Biperideno Rf de Muestra=0.647 Rf del estándar =0.648	Positivo a Clorhidrato de Biperideno Rf de Muestra=0.65 Rf del estándar =0.648	Positivo a Clorhidrato de Biperideno Rf de Muestra=0.65 Rf del estándar =0.648	El valor Rf de la muestra principal de la solución muestra corresponde a la solución estándar. Los lotes de referencia, A y M cumplen con los criterios de identificación
<i>VALORACIÓN</i>	MT1= 98.8% MT2= 99.2% X̄= 99.0%	MT1=93.7% MT2=94.5% X̄= 94.1%	MT1=96.3% MT2=96.7% X̄= 96.5%	93,0 %-107,0% Los lotes de referencia, A y M cumplen con los criterios de valoración
<i>DISOLUCIÓN</i>	MT1=101% MT2=104% MT3=99% MT4=102% MT5=103% MT6=107%	MT1=96% MT2=102% MT3=104% MT4=95% MT5=99% MT6=97%	MT1= 102% MT2=101% MT3=99% MT4=100% MT5=96% MT6=98%	No menos de 75% (Q) de Clorhidrato de Biperideno. Los lotes de referencia, A y M cumplen con los criterios de disolución

M= multifuente 1, A= multifuente 2

7.1.1 Cumplimiento de los criterios de selección de los lotes a estudiar:

Con los resultados obtenidos en el control de calidad, se evidencia el cumplimiento de los criterios de selección c y d, además de verificar el cumplimiento de las especificaciones de calidad establecidas en la monografía oficial USP, siendo el porcentaje de variación en la valoración de 4.9% entre “M” y la referencia, mientras 2.54% entre “A” y la referencia. (Tabla 7)

Tabla 7: Criterios de Selección

CRITERIO	RESULTADOS
<p>a) Las fechas de fabricación de los productos Multifuentes no deben diferenciarse en más de seis meses respecto a la fecha de la referencia.</p>	<p>Fecha de fabricación del producto de referencia: 09/2010</p> <p>Fecha de fabricación del producto Multifuente A: 07/2010 (02 meses de diferencia)</p> <p>Fecha de fabricación del producto Multifuente M: 01/2011 (04 meses de diferencia)</p>
<p>b) El medicamento de referencia y el medicamento de prueba deben tener la misma forma farmacéutica y la misma dosis.</p>	<p>Forma farmacéutica del producto Referente: Tabletas de liberación inmediata.</p> <p>Forma farmacéutica del producto M: Tabletas de liberación inmediata.</p> <p>Forma farmacéutica del producto A: Tabletas de liberación inmediata.</p>
<p>c) Deben cumplir con el Control de calidad dentro de especificaciones farmacopeicas.</p>	<p>Ver Tabla 6</p>
<p>d) El porcentaje de la valoración del medicamento de prueba no debe diferir en más del 5% del medicamento de referencia.</p>	<p>% Variación Referencia vs M= 4.9%</p> <p>% Variación Referencia vs A = 2.54%</p>

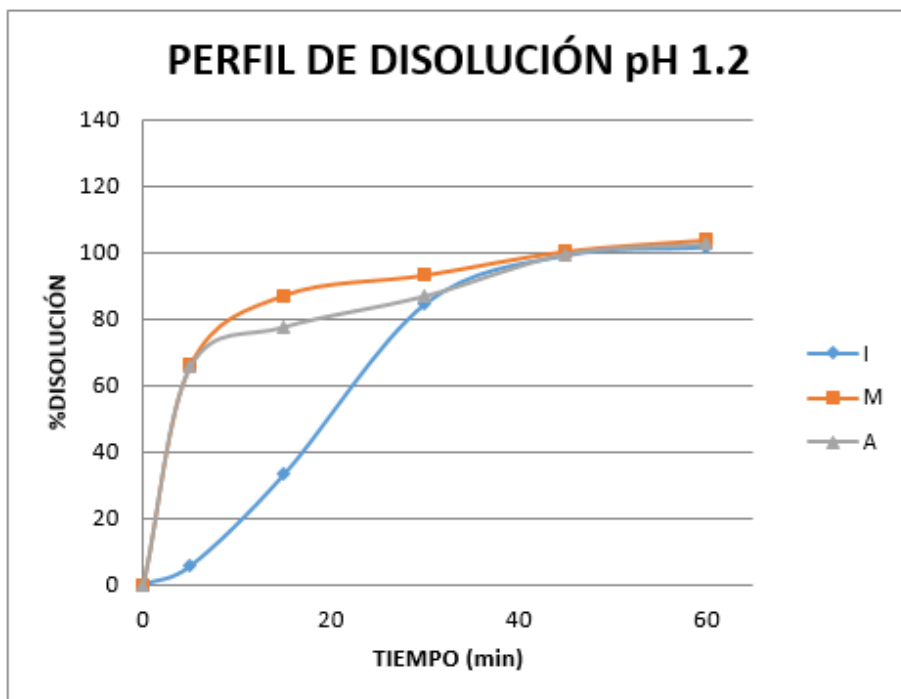
7.2 Perfiles de disolución del Comparador y Multifuentes

En las ilustraciones 5, 6 y 7 y las tablas 8,9 y 10 se observan gráficamente y se detalla la media de los porcentajes de disolución en cada tiempo de muestreo en los medios: solución ácido clorhídrico (pH 1.2), Medio acetato (pH 4.5) y Medio fosfato (pH 6.8).

Cumplimiento de los criterios de aceptación de los Coeficientes de Variación de los porcentajes de Disolución para cada medio de disolución:

El Coeficiente de variación (CV) de los porcentajes de disolución obtenidos para el producto de referencia y los medicamentos Multifuentes (A y M) en los 3 medios de disolución (pH 1,2 4,5 y 6,8) estuvieron dentro de los criterios de aceptación que fija la guía FDA, siendo menores del 17,51% para tiempos de hasta 15 minutos (máximo permisible 20%) y menor al 3,58 % para tiempos mayores de 15 minutos (máximo permisible 10%). (Ver tabla 11)

Figura5: Perfil de disolución de tabletas de Biperideno de 2 mg (productos I, M y A) en ácido clorhídrico pH 1.2.



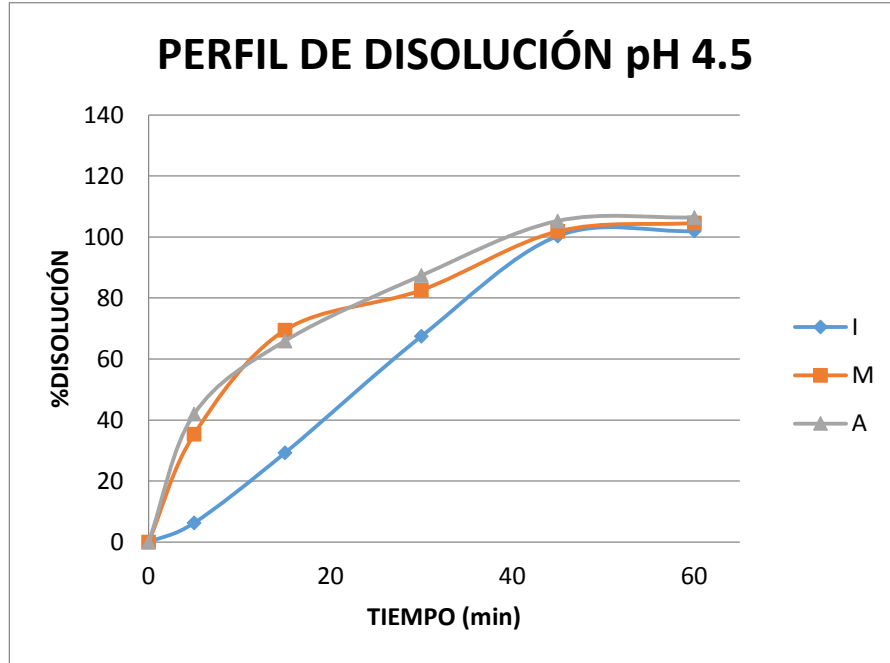
Cada punto representa el promedio de 12 unidades \pm SD. De arriba hacia abajo, la primera curva corresponde al producto A (gris), la segunda al producto M(naranja) y la tercera al producto I (azul).[Gráfico Excel]

Tabla 8: Porcentaje promedio liberado de clorhidrato de Biperideno en medio pH 1.2, resultados f1 y f2

PRODUCTO	Tiempo (minutos)				
	T5	T15	T30	T45	T60
Referencia	5,51	33,22	84,48	99,10	101,51
Producto M	66,05	87,15	93,21	100,38	103,80
Producto A	65,51	77,50	86,80	99,42	102,48

M= multifuente 1, A= multifuente 2

Figura6: Perfil de disolución de tabletas de Biperideno de 2 mg (productos I, M y A) en buffer acetato pH 4.5



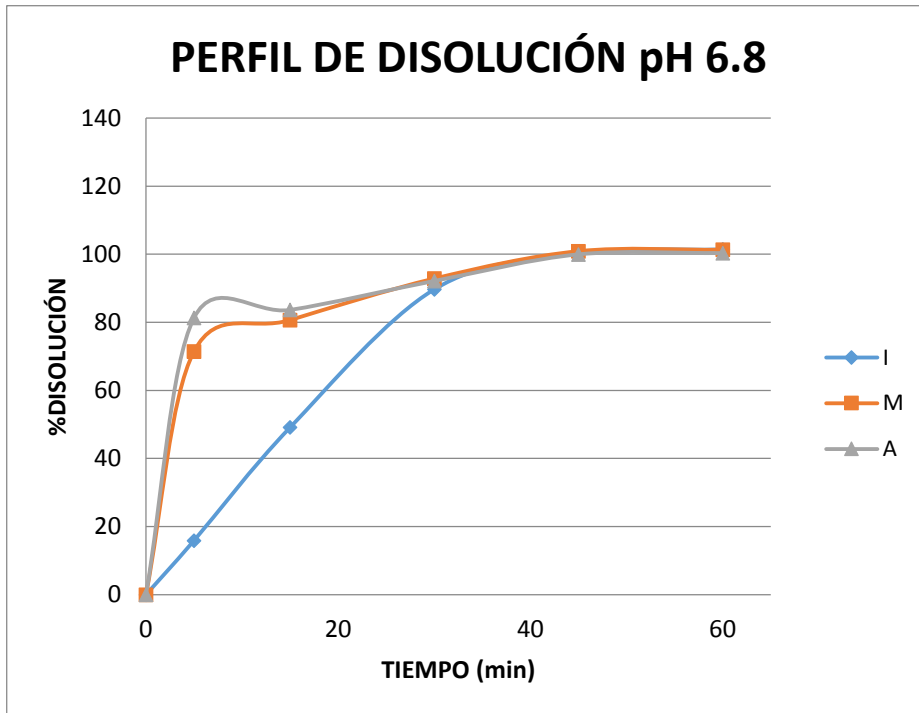
Cada punto representa el promedio de 12 unidades \pm SD. De arriba hacia abajo, la primera curva corresponde al producto A (gris), la segunda al producto M(naranja) y la tercera al producto I (azul).[Gráfico Excel]

Tabla 9: Porcentaje promedio liberado de clorhidrato de Biperideno en medio pH 4.5, resultados f1 y f2

PRODUCTO	Tiempo (minutos)				
	T5	T15	T30	T45	T60
Referencia	6,26	29,23	67,45	100,32	101,93
Producto M	35,30	63,60	82,59	101,82	104,58
Producto A	41,95	62,35	87,37	103,28	106,42

M= multifuente 1, A= multifuente 2

Figura7 Perfil de disolución de tabletas de Biperideno de 2 mg (productos I, M y A) en buffer fosfato pH 6.8



Cada punto representa el promedio de 12 unidades \pm SD. De arriba hacia abajo, la primera curva corresponde al producto A (gris), la segunda al producto M(naranja) y la tercera al producto I (azul).[Gráfico Excel]

Tabla 10: Porcentaje promedio liberado de clorhidrato de Biperideno en medio pH 6.8, resultados f1 y f2

PRODUCTO	Tiempo (minutos)				
	T5	T15	T30	T45	T60
Referencia	15,90	49,13	89,69	100,28	101,43
Producto M	71,46	80,66	92,85	100,89	101,31
Producto A	81,30	83,64	92,15	99,96	100,34

M= multifuente 1, A= multifuente 2

Tabla 11: Coeficientes de variación porcentual de los perfiles de disolución de clorhidrato de Biperideno

PRODUCTO	TIEMPO				
	T5	T15	T30	T45	T60
	%CV pH 1.2				
I	17,51	10,71	3,58	2,48	2,46
M	6,76	2,84	2,23	2,73	1,25
A	2,15	2,02	2,75	3,30	2,18
	%CV pH 4.5				
I	12,02	3,22	2,92	0,67	0,62
M	2,86	1,68	0,95	1,22	1,12
A	2,26	1,79	0,50	3,24	0,85
	%CV pH 6.8				
I	4,53	1,92	1,16	1,12	1,21
M	0,88	0,80	0,65	1,80	1,86
A	10,83	1,47	1,18	1,15	1,39

I= Comparador, M= multifuente 1, A= multifuente 2

7.3 Análisis Estadístico:

A) Aplicación del método de modelo independiente

Luego de aplicar el modelo se encontro que el perfil de disolución de los productos multifuente "M" y "A", no son equivalentes con el producto comparador o de referencia en ninguno de los tres medios de disolución

En la tabla 12 se observa los valores encontrados para F1 (factor de diferencia) y F2 (factor de similitud) para las 2 comparaciones en los tres medios de disolución: En todos los casos los valores de f1 fueron mayores a 15 y valores de f2 menores de 50.

Tabla 12: Valores f1 y f2 clorhidrato de biperideno equipo 2 (paletas).

Producto	Medios de Disolución					
	pH 1.2		pH 4.5		pH 6.8	
	F1	F2	F1	F2	F1	F2
Ref. vs M	35.48	23.93	25.6	27.16	30.49	31.21
Ref. vs A	39.70	21.89	28.63	23.72	34.86	29.79

M= multifuente 1, A= multifuente 2

B) Calculo de los Parámetros Amodelísticos complementarios al modelo independiente:

Eficencia de Disolución (ED):

La ED fue mucho mayor en los productos multifuente “M” y “A” en comparación al producto de Referencia en los tres pH evaluados, lo que indica que, en los primeros tiempos del proceso de disolución, se produjo una liberación y disolución rápida del ingrediente activo (Guzmán et al., 2013)(33); así mismo para el principio activo estudiado clorhidrato de biperideno el EF es mayor en el pH 6.8. Los resultados de la eficiencia de la disolución (ED) del producto de referencia y Multifuente se detalla en la Tabla 13.

Tiempo Medio de Disolución (TMD):

El tiempo medio de disolución indica el tiempo promedio requerido para la disolución del fármaco. A menor valor de TMD la velocidad de disolución es más rápida. Los valores de TMD se detallan en la tabla 13. El pH del medio también afecta a

la velocidad del proceso de disolución, se encontró que para el producto de referencia (I) y los productos multifuente (M) y (A), la velocidad de disolución es más rápida a pH 6.8, sin embargo comparando las tres formulaciones a pH 6.8 la velocidad de disolución es mas del doble en los productos multifuentes en comparación al producto de referencia. Se observa que la velocidad de disolución para los pH 1,2 y 4.8 tambien es mayor para los productos multifuentes.

Tabla 13 Valores promedios de los 12 vasos obtenidos para la, eficiencia de la disolución (ED) y tiempo medio de disolución (TMD) para los productos I, M y A

	pH 1,2			pH 4,5			pH 6,8		
	I	M	A	I	M	A	I	M	A
% Eficiencia =	65,2%	84,6%	81,7%	60,4%	73,5%	74,4%	71,4%	85,7%	87,9%
Tiempo medio =	21.5	9.8	11.3	24.3	16.6	15.8	18.0	8.8	7.3

I= Referencia , M= multifuente 1, A= multifuente 2

El análisis de varianza para el tiempo medio de disolución y la eficiencia de la disolución muestra que los productos “M” y “A” respecto al comparador son diferentes significativamente ($p \leq 0,05$). (ANEXO 7).

C) Aplicación del método de modelo dependiente

Luego de aplicar el método se determinó el mejor ajuste del producto de referencia, teniendo en cuenta los valores de R^2 (ceranos a la unidad) y como factor discriminador se emplea el menor valor de AIC , resultando como modelo más adecuado a la cinética de disolución del producto de referencia: el modelo “Raíz cúbica” en los pH 1.2 ($R^2 = 0.995$ y $AIC = -24.36$) y 4.5 ($R^2 = 0.996$ y $AIC = -14.70$) y a pH 6.8 ($R^2 = 0.97$ y $AIC = -14.69$), se destaca que los resultado de los valores de R^2 de este modelo no son los que más se aproximan a la unidad en todos los medios, sin embargo la calidad de ajuste que nos muestran los valore AIC hace indiscutible dicho resultado. (Ver Tabla 14)

Luego se empleó el modelo seleccionado (Raíz cubica) y se determinó las constantes de disolución (Kd) para los productos "M" y "A" a pH 1,2 ; 4,5 y 6,8 en cada uno de los doce perfiles (Tabla 15) y finalmente se contrastó con las Kd del producto comparador; se encontró que el perfil de disolución del producto de referencia no es equivalente al producto multifuente M, ni al producto multifuente A, en ningún medio de disolución siendo para todos los casos $p \leq 0,05$, siendo las diferencias estadísticamente significativas. (Ver tabla 15)

El análisis estadístico ANOVA de las constantes de disolución (Kd) del modelo estadístico raíz cubica (Tabla 15), nos muestra que en al menos un promedio de las constantes de disolución de una de las formulaciones es diferente, con 95 % de confiabilidad (Anexo 8); y la prueba ad hoc tukey nos indica que la formulación de Referencia (R) es distinto de los multifuentes "M" y "A" ($p \leq 0,05$), mientras que no hay diferencia significativa entre productos multifuentes ($p > 0,05$). (Ver tabla 15)

Tabla 14 Evaluación del Modelo que corresponde al producto de Referencia (I): Valores de R^2 y K_d obtenidos en los medios de disolución a pH 1,2, pH 4,5 y pH 6,8

Modelo	Estadística	Referencia	Referencia	Referencia
		pH 1,2	pH 4,5	pH 6,8
ORDEN CERO	R^2	0.87	0.84	0.94
	ko	0.0363	0.031	0.034
	AIC	-2.85	-3.08	-6.47
ORDEN UNO	R^2	0.96	0.96	0.849
	Kd	0.0938	0.1085	0.099
	AIC	-0.41	0.58	5.88
RAIZ CUADRADA	R^2	0.94	0.96	0.94
	Kd	2.2225	1.9513	2.198
	AIC	-6.96	-9.62	-7.01
FUNCIÓN WEIBULL	R^2	0.999	0.997	0.95
	β	1.99	1.3665	1.735
	td	22.02	13.70	19.89
	AIC	-7.95	-12.24	-1.57
RAIZ CUBICA	R^2	0.995	0.996	0.97
	Kd	0.0232	0.0238	0.022
	AIC	-24.36	-14.70	-14.69

Coefficiente de determinación (R^2), constante de disolución (ko), tiempo que tarda en disolverse el 63,2% de la dosis (td), parámetro de forma, adimensional asociada a la pendiente (β), AkaikeInformationCriterium (AIC)

Tabla 15 Constante de disolución kd del modelo estadístico Raíz Cubica

Formulaciones	Constante de disolución Kd								
	pH 1.2			pH 4.5			pH 6.8		
	Ref.	Mult. M	Mult. A	Ref.	Mult. M	Mult. A	Ref.	Mult. M	Mult. A
VASO 1	0,0231	0,0165	0,0153	0,024	0,0198	0,0212	0,0223	0,0153	0,0146
VASO 2	0,0238	0,015	0,0164	0,0237	0,0205	0,0237	0,0221	0,015	0,0143
VASO 3	0,0226	0,015	0,017	0,0243	0,0205	0,0201	0,0228	0,0153	0,0183
VASO 4	0,0231	0,0153	0,0148	0,024	0,02	0,0199	0,0219	0,0197	0,0159
VASO 5	0,0234	0,0162	0,0155	0,0237	0,0196	0,0204	0,0259	0,0202	0,0157
VASO 6	0,0247	0,0169	0,0151	0,0233	0,0196	0,0201	0,0225	0,015	0,0188
VASO 7	0,0232	0,0137	0,017	0,0234	0,0196	0,02	0,0226	0,0145	0,0143
VASO 8	0,0229	0,0161	0,0172	0,0235	0,0196	0,0201	0,0215	0,015	0,011
VASO 9	0,0237	0,0149	0,0163	0,0237	0,0203	0,0213	0,0221	0,0196	0,0126
VASO 10	0,0266	0,0138	0,0157	0,0238	0,0206	0,0186	0,0222	0,0201	0,0126
VASO 11	0,0227	0,0139	0,0139	0,0248	0,0206	0,0189	0,023	0,0189	0,0164
VASO 12	0,0228	0,0148	0,0154	0,0241	0,0204	0,0185	0,0228	0,0156	0,0158
Valor de p al 95% de confianza (Referencia Versus Multifuentes)		p=0.000	p=0.000		p=0.000	p=0.000		p=0.000	p=0.000
Valor de p al 95% de confianza (M versus A)		p=0.506			p=0.971			p=0.053	

Nota: $p \leq 0,05$, hay diferencia significativa y las curvas no son equivalentes, si $p > 0,05$ no hay diferencia significativa y las formulaciones tienen curvas equivalentes.

VIII. DISCUSION

La equivalencia terapéutica para optar a bioexención, supone que el ingrediente activo tenga alta solubilidad y alta permeabilidad (clase I según BCS); además las unidades posológicas deberían exhibir características de liberación-disolución in vitro muy rápidas o rápidas en tres pH, basados en la generación de perfiles cinéticos de disolución, en lugar del clásico Test de Disolución de Farmacopea(61). En el presente estudio se eligió un activo (Clorhidrato de biperideno) que pertenece a la clase I según la lista de medicamentos esenciales de la OMS (84) sin embargo luego de evaluar sus características de liberación en los tres medios de disolución de pH 1,2; 4,5 y 6.8 recomendados en la Guía FDA, 2001 (24) se encontró que los perfiles de disolución de los productos multifuentes M y A, no son equivalentes al producto de referencia AKINETON y por ende no cumplen con ser candidatos para la bioexención ó exoneración de los estudios de equivalencia in vivo.

Existen diversos trabajos(14,27,57) que consideran el uso de hasta tres lotes para asegurar que el procesos de liberación del principio activo desde la forma farmacéutica no presenta variaciones estadísticamente significativas y garantiza una respuesta terapéutica reproducible, en otras palabras el objetivo de usar tres lotes de una misma formulación asegura que de encontrarse equivalencia no sea solo probabilístico sino que esa empresa farmacéutica garantiza que todos sus lotes pasan por un mismo proceso de fabricación homogéneo y validado sin embargo ninguna guía revisada(8,32,37,59)establece un numero de lotes mayor a uno para un estudio de equivalencia in vitro. En este trabajo se realizó el estudio de equivalencia in vitro entre 3 productos farmacéuticos que contienen clorhidrato de biperideno, que pertenecen a laboratorios fabricantes que cumplen con las “buenas prácticas de manufactura”, y por lo cuál se puede asumir que la fabricación de los lotes es uniforme; por lo que en este trabajo solo se consideró sólo un solo lote. En relación a los requisitos de

calidad, todos los productos evaluados cumplieron con las especificaciones de la farmacopea USP 40 haciendo factible su comparación.

En relación a su clasificación biofarmacéutica existen estudios que respaldan al clorhidrato de biperideno como clase I (altamente soluble y altamente permeable); uno de estos estudios es el presentado por Kasim et al. en el 2004, quienes clasificaron 29 fármacos en base a una correlación de la permeabilidad de la membrana intestinal humana y los cálculos de coeficiente de partición y coeficiente de distribución; otro estudio con una clasificación similar fue presentado por Varma et al. en el 2005, quienes evaluaron la contribución cuantitativa de la permeabilidad pasiva al flujo mediado por la glicoproteína P (mediado por la gp-P) y la actividad funcional de la P-gp para determinar la absorción intestinal de fármacos; sin embargo existe el estudio presentado por Lindenberg et al. (2004) que lo clasificó en el grupo III (baja permeabilidad y alta solubilidad), porque en su revisión bibliográfica los datos recopilados sobre permeabilidad no fueron completamente satisfactorios para alcanzar la clase I, así por ejemplo considera que la mejor y más segura forma de clasificar un medicamento como altamente permeable es mediante un estudio de biodisponibilidad absoluta con una biodisponibilidad superior al 90%, mientras que la baja biodisponibilidad (menor a 90%) podría atribuirse a una degradación en el tracto GI o a un efecto de primer paso, esta última premisa es atribuida al Clorhidrato de Biperideno, según este trabajo. En torno a esta interrogante de determinar la clasificación biofarmacéutica del clorhidrato de Biperideno, tenemos el trabajo de Abalos et al. (2012), quienes demostraron que el biperideno tiene alta permeabilidad, inclusive superior al tartrato de metoprolol, naproxeno sódico y teofilina, sin diferencia significativa entre los flujos apical a basolateral y viceversa en el modelo CaCo-2, haciendo la recomendación de realizar una exención de los estudios de bioequivalencia in vivo para este producto.

Por otro lado sobre la solubilidad del principio activo; Kasim et al. en el 2004 define al clorhidrato de biperideno como "ligeramente soluble" (Requiere entre 100 a

1000 partes de solvente para una parte de soluto); además Dubey et al. en 2015 demuestra que las formulaciones con una complejación de hidroxipropil β -ciclodextrina aplicadas al clorhidrato de biperideno aumentan su solubilidad, debido a que considera que el clorhidrato de biperideno es una droga con problemas de solubilidad acuosa, deficiente disolución y biodisponibilidad oral; esta afirmación resulta contradictoria a lo descrito en la guía documentada según la guía en la WHO, también tenemos el trabajo presentado por Kataria et al., 2012, el cual clasifica a este activo como altamente soluble; y sobre la biodisponibilidad del producto, si bien es cierto solo alcanza el 33.5% en humanos(42), esto se debe a su amplio metabolismo de primer paso que tiene lugar en el hígado(32), o a una posible inestabilidad intestinal no evidenciada, que afecta el efecto de primer paso del fármaco, causada por enzimas de la luz gastrointestinal, enzimas de la pared intestinal, enzimas bacterianas y enzimas hepáticas; los tres primeros tipos de enzimas son de interés en la administración oral de fármacos, ya que el uso de formulaciones apropiadas puede reducirse fuertemente o excluir completamente un metabolismo pre-sistémico por estas enzimas.(83) Aunque hasta la fecha el metabolismo del clorhidrato de biperideno no tiene una comprensión completa (Schatzberger et al., 2013)(63), solo se conoce que sufre una serie de reacciones metabólicas de hidroxilación o deshidratación aunque el orden de estas sigue siendo desconocido.(49).

En referencia a los dos párrafos anteriores (permeabilidad y solubilidad) es necesario tener en cuenta que muchos de los estudios realizados son en la materia prima del principio activo y no en el producto final, es decir a la formulación propia de cada fabricante los cuales varían excipientes que pueden modificar las características de permeabilidad solubilidad, por lo que sería recomendable realizar la clasificación biofarmacéutica a cada formulación previo al estudio de bioexención.

Por último referente a la liberación-disolución el BCS sugiere que para medicamentos de alta solubilidad, alta permeabilidad (clase 1) y en algunos casos para medicamentos de alta solubilidad, baja permeabilidad (clase 3), disolución del 85% en 0.1N HCl en 15 minutos puede asegurar que la biodisponibilidad del medicamento "No esta limitado por la disolución, en estos casos, el paso limitante de la velocidad para la absorción del fármaco es el vaciado gástrico"(23); es decir en estos casos realiza el estudio de equivalencia a través de los perfiles de disolución no es apropiado. En el presente estudio se observo que a los 15 minutos de los productos multifuente A y M en los tres medios tienen un porcentaje de liberación mucho mayor al producto de referencia, sin embargo no llegan ala 85% (ver tabla 01 , del ANEXO 2)

La dificultad para cumplir con este criterio (disolución mayor al 85%) es mayor en el medio cuyo pH fue de 4.5, especialmente en el producto de referencia; una posible causa de este comportamiento se deba a que el clorhidrato de biperideno es un ácido débil con un pka elevado ($pka = 9.3$), condición que reduce su forma ionizada en medios con pHs que tienden a aumentar. (7), sin embargo no acontece lo mismo con el pH 6.8.

El comportamiento mostrado por los productos multifuentes A y M en líneas generales es de una liberación rápida en condición in vitro, superando al producto de referencia, pudiendo alcanzar niveles de toxicidad si la dosis es muy elevada, aunque no hay referencias exactas de los límites se describe al clorhidrato de biperideno como un fármaco potente con una dosis máxima de 16 mg/día y una vida media de eliminación de 18-24 horas (17), en el Perú se han reportado casos de toxicidad en pacientes a los que se administraron dosificaciones entre 14 mg y 20 mg diarios.(29)

En el análisis realizado de los perfiles de disolución se fundamentó en las diferentes alternativas sugeridas por las guías de la FDA (23) , según los resultados obtenidos se evidenció que los productos multifuente M y A carecen de similitud teniendo en cuenta los valores f_1 y f_2 del modelo independiente, además los parámetros amodelísticos señalan al producto de referencia

con "menor eficiencia de disolución y un tiempo medio de disolución más prolongado." Es importante la comparación de los parámetros amodelísticos especialmente la eficiencia de disolución porcentual, porque en estudios in vivo suponemos que el grado de absorción de un fármaco es proporcional a la concentración del fármaco en solución y el tiempo que esta solución está en contacto con una región de absorción adecuada del tracto gastrointestinal, el parámetro de Eficiencia de Disolución se describe en una función que relaciona estas dos variables.(2), es decir en forma teórica es posible presumir que los productos multifuentes A y M se absorban en mayor cantidad que el producto de referencia. Asimismo, debido a que la disponibilidad del fármaco in vivo se estima integrando el área bajo la curva del nivel sanguíneo parece razonable expresar resultados in vitro de manera similar y se puede relacionar teóricamente con la curva de concentración plasmática vs. Tiempo, obtenido mediante técnicas de deconvolución de datos in vivo(2). También, cuando se debe mostrar una relación entre la disolución y otra variable (por ejemplo, el efecto de la presión de compactación de la tableta), tal vez sea más realista utilizar la Eficiencia de Disolución, que tiene en cuenta el perfil de disolución en su conjunto.(43)

Además en el análisis del método del modelo dependiente se determinó que el modelo matemático que mejor se ajusta a las propiedades cinéticas de la disolución del Clorhidrato del Biperideno de referencia es el modelo Raíz cubica, el cual supone que la liberación del fármaco está limitada por la velocidad de disolución y no por la difusión a través de la matriz, también considera que las condiciones de equilibrio no se modifican y que la disolución ocurre en planos paralelos a la superficie del agente activo siempre y cuando las dimensiones de la tableta disminuyan proporcionalmente, pero manteniendo las características geométricas(10); lo cual es coherente a formas de dosificación farmacéuticas como las tabletas. Respecto al análisis estadístico del parámetro cinético (constante de disolución (Kd)) del modelo escogido ratifica los resultados del modelo independiente, demostrando una vez más la

diferencia entre los productos de multifuente A y M y el producto de Referencia.

Los excipientes también pueden afectar la velocidad y la extensión de la absorción, sin embargo para este trabajo solo se cuenta con la información cualitativa de los excipientes presentes en las formulaciones estudiadas, demostrando una diferencia entre los elementos usados para los productos Multifuentes y de referencia. Por lo expuesto, es claro que existe diferencias en cuanto al diseño y formulación de los medicamentos multifuentes, lo cual puede conllevar a que sus biodisponibilidades resulten disímiles al medicamento de referencia.

Por lo tanto el producto farmacéutico en este estudio no puede homologarse a la seguridad y eficacia certificada del medicamento de referencia, cabe señalar que existen alertas sobre productos farmacéuticos “genéricos” que cumplen con los requisitos de calidad fisicoquímicos, pero la eficacia terapéutica no es la adecuada desencadenando efectos secundarios y tóxicos (ALERTA DIGEMID N° 35 – 2018; N° 12 - 2003). De acuerdo a esto, se hace indispensable contar y aplicar una política de intercambiabilidad basada en la evidencia científica experimental, para que los medicamentos genéricos mantengan cualidades del medicamento de referencia con un precio menor, siendo óptimo para el alcance de pacientes con recursos limitados o para el abastecimiento del sistema público.

IX. CONCLUSIONES

- 1) El perfil de disolución de los productos comerciales denominados como "M" y "A"-Clorhidrato de Biperideno no son equivalente in vitro frente al producto de referencia Akineton- Clorhidrato de Biperideno® denominado en el presente trabajo como "I"; en ninguno de los tres medios de disolución a los pH de 1,2 ; 4,5 y 6.8, bajo ninguno de los dos modelos estadísticos (dependiente e independiente)
- 2) Al comparar los perfiles de disolución del producto "M" y del producto de referencia, los factores de similitud (F2) en los tres medios de disolución a los pH de 1,2 ; 4,5 y 6.8 fueron menores de 50%.
- 3) Al comparar los perfiles de disolución del producto "A" y del producto de referencia Akineton, los factores de similitud (F2) en los tres medios de disolución a los pH de 1,2 ; 4,5 y 6.8 fueron menores de 50%
- 4) El comportamiento cinético del producto de referencia Akineton en los tres medios de disolución corresponde al modelo matemático de Raíz cúbica mientras que los productos comerciales M y A corresponden a un modelo matemático distinto en los tres medios de disolución.
- 5) La Eficiencia de disolución (ED) y la velocidad de disolución, (inversa al tiempo medio de disolución, TMD) fueron mayores en los productos multifuente M (pH 1,2: 84,6% y 9.8; pH 4,5: 73,5% y 16.6; pH 6,8: 85,7% y 8.8) y A (pH 1,2: 81,7% y 11.3; pH 4,5: 74,4% y 15.8; pH 6,8: 87,9% y 7.3) en comparación al producto de Referencia (pH 1,2: 65.2% y 21.5; pH 4,5: 60,4% y 24.3; pH 6,8: 71,4% y 18.0) en los tres pH evaluados, lo que indica que, en los primeros tiempos del proceso de disolución (de 0 a 30 minutos), se produjo una liberación y disolución rápida del ingrediente activo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Abalos, I. S., Rodríguez, Y. I., Lozano, V., Cereseto, M., Mussini, M. V., Spinetto, M. E., & Pesce, G. Transepithelial transport of biperiden hydrochloride in Caco-2 cell monolayers. *Environmental toxicology and pharmacology*, . (2012). 34(2), 223-227.
2. Aguilar Ros, Antonio. Biofarmacia y Farmacocinética: Ejercicios y problemas resueltos. Elseiver España ;2008.
3. Aquino, J. R. A., & Oliva, C. A. A. Guía para establecer las bases de la realización de estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia de productos farmacéuticos de administración oral. REVISTA DE LA ACADEMIA PERUANA DE SALUD, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM.2003
4. Arieta, A. G., Solá, C. A., & García, C. H.. Medicamentos genéricos: evidencias y mitos. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. 2010;34(3): 71-82.
5. AIS. (Acción internacional para la salud). Genéricos y bioequivalencia. Balance y perspectivas América Latina. Genéricos y bioequivalencia. Balance y perspectivas América Latina; noviembre 2004.
6. Baena, Y., & Ponce, L. F. Importancia y fundamentación del sistema de clasificación biofarmacéutico, como base de la exención de estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia in vivo. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas.2008;37(1).
7. Beale, J. M., Block, J., & Hill, R. *Organic medicinal and pharmaceutical chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
8. Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products — General Considerations. Guidance for Industry. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) March 2003 BP Revision 1.
9. Brunton, L. L. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica.12a. McGraw Hill Mexico; 2012

10. BRUSCHI, Marcos Luciano. Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems. Woodhead Publishing, 2015.
11. Chen L, Shah VP, Crommelin DJ, Shargel L, Bashaw D, Bhatti M, et al. Harmonization of Regulatory Approaches for Evaluating Therapeutic Equivalence and Interchangeability of Multisource Drug Products: Workshop Summary Report. The AAPS Journal 2011; 13(4): 556–564.
12. Chen X, Ji ZL, Chen YZ: TTD: base de datos de objetivos terapéuticos. Nucleic Acids Res. 2002; 30 (1): 412-5.
13. Cortez-Vergara, C., Núñez-Moscoso, P., & Cruzado, L. Abuso de anticolinérgicos en pacientes con esquizofrenia: reportes de caso y breve revisión de la literatura. Revista de Neuro-Psiquiatría, 2012. 75(4).
14. DAZA CALDERÓN, M. L. . Biodisponibilidad y bioequivalencia in vitro en cápsulas de amoxicilina de 500 mg comercializados en Bolivia. Revista conciencia, 2013.1, 93.
15. DI MAIO, Rossanna; MOREALE, Jorge. Entendiendo los estudios de bioequivalencia. Biomedicina, 2012, vol. 7, no 2, p. 6-14.
16. DrugBank database Actualizado el 02 de julio de 2018 20:44, BIPERIDEN. [Internet Blog]. [Consultado 15 Julio, 2018]. Disponible en: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00810>
17. Dubey, A., Singh, V., Juyal, D., & Rawat, G. Solubility enhancement of biperidine hcl by complexation with hydroxypropyl β -cyclodextrin. Journal of Applied Pharmaceutical Research, 2015. 3(2), 2729-2729.
18. E. Demirtürk, O. Levent, Evaluation of in vitro dissolution profile comparison methods of immediate release gliclazide Tablet formulations, Hacettepe University, Journal of Faculty of Pharmacy. 2005; 25
19. Espacenet Patent search. «Amino alcohols substituted by bicycloalkyl residues and a process of making same». Abril, 1957. [Consultado el 01 de agosto de 2018].
20. Disponible en https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=US&NR=2789110A&KC=A&FT=D&ND=&date=19570416&DB=&locale=en_EP

21. Estévez, F., Parrillo, S., & Cedrés, M. Estudios de bioequivalencia in vivo para demostrar la intercambiabilidad de medicamentos. *Revista Médica del Uruguay*. 2012; 28(3): 165-173.
22. Fagiolino, P. Biodisponibilidad y bioequivalencia de medicamentos. *TÓPICOS DE ACTUALIZACIÓN EN NEUROBIOLOGÍA*. 2010; 339.
23. FDA Guidance for Industry. Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. USA Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). 1997.
24. FDA. Guía para la industria: Exención de los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia in vivo para formas posológicas orales sólidas de liberación inmediata en base a un sistema de clasificación de biofarmacéuticas. 2001
25. Fontaine, N., & Reynders, D. . Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use. *Official Journal of the European Communities*. 2001; 311 :67-128.
26. Fonseca C. Desarrollo de Ensayos de Disolución de Deflazacort en tabletas [Internet]. Universidad Central de Venezuela. Venezuela 2012. [Consultado: 15 de mayo del 2018] Disponible en URL: <http://saber.ucv.ve/xmlui/handle/123456789/2800>
27. Francisco J. Morón. *Farmacología clínica Morón / Rodríguez*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas. 2009
28. FRÍAS, M. F. M. (2008). Estudio preliminar de bioequivalencia "in vitro" de comprimidos genéricos de clorfenamina maleato comercializados en Chile
29. Fiestas, L., Tomateo-Torvisco, J. D., & Masías-Arias, L. U. Adicción a biperideno y síndrome anticolinérgico: A propósito de un caso. *Revista de Neuro-Psiquiatría*. 2011: 74(3).
30. Government of India New Delhi. Guidelines for bioavailability and bioequivalence studies [Internet] 2005 [cited 2018 Feb 9]. Disponible en < <http://cdsco.nic.in/html/be%20guidelines%20draft%20over10%20march%2016,%2005.pdf>>.

31. González, C. P. V., Fitzgerald, J. F., & Bermúdez, J. A. Definición de medicamento genérico: ¿ Un fin o un medio? Análisis de la regulación en 14 países de la Región de las Américas. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 2006; 20, 314-323.
32. Grimaldi, R., Perucca, E., Ruberto, G., Gelmi, C., Trimarchi, F., Hollmann, M., & Crema, A. Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies following the intravenous and oral administration of the antiparkinsonian drug biperiden to normal subjects. *European journal of clinical pharmacology*, 1986. 29(6), 735-737.
33. Guzmán, M. P., Lerma, Y. O., & Aristizábal, Y. B. Estudio comparativo de la liberación in vitro de metformina, a partir de dos productos multifuente de liberación inmediata, comercializados en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. 2013, 42(2), 169-189.
34. FDA, Guidance for Industry. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). August 2000
35. H. HAAS and W. KLAVEHN. Über 3-Piperidino-l-phenyl-l-bicycloheptenylpropanol.(1) (Akineton). Aus den Wissenschaftlichen Laboratorien der Knoll AG, Ludwigshafen a. Rh. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* 1995; Bd. 226, S. 18—35
36. Hosoi R, Kobayashi K, Watanabe Y, Inoue O: Evaluación de las propiedades de unión in vivo de 3H-NMPB y 3H-QNB en cerebro de ratón. *J Neural Transm (Viena)*. 1999; 106 (7-8): 583 - 92.
37. IRIARTE BALLESTA, Ramón. Desarrollo de medios de disolución biorrelevantes para fármacos con problemas de bioequivalencia. 2015.
38. Imming P, Sinning C, Meyer A: Drogas, sus objetivos y la naturaleza y cantidad de dianas farmacológicas. *NatRevDrugDiscov*. 2006 Oct; 5 (10): 821-34.
39. INVIMA. INSTRUCTIVO DE EVALUACIÓN DE ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD Y BIOEQUIVALENCIA [Internet]. Colombia: Código: ASS-RSA-IN02; 2017 [09 de

- Diciembre del 2018 consultado]. Disponible en: <https://www.invima.gov.co/procesos/archivos/ASS/RSA/ASS-RSA-IN028.pdf>
40. Kasim, N.A., Whitehouse, M., Ramachandran, C., Bermejo, M., Lennernäs, H., Hussain, A.S., Junginger, H.E., Stavchansky, S.A., Midha, K.K., Shah, V.P., Amidon, G.L. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. *Mol. Pharmacol.* 2004. 12, 85–96
 41. Kataria, M. K., & Bhandari, A. . Bio pharmaceutics Drug Disposition Classification System: An Extension of Bio pharmaceutics Classification System. *International Research Journal of Pharmacy*, 2012. 3(3), 5-10
 42. Khandelwal, A., Bahadduri, P. M., Chang, C., Polli, J. E., Swaan, P. W., & Ekins, S. Computational models to assign biopharmaceutics drug disposition classification from molecular structure. *Pharmaceutical research*. 2007; 24(12):2249-2262.
 43. Khan, K. A. The concept of dissolution efficiency. *J. Pharm. Pharmacol.* 1975, 27 (1), 48–49. DOI: 10.1111/j.2042-7158.1975.tb09378.x.
 44. Laguna Gya N., Blázue, A, Pzo C. Legislacion sobre autorización de genéricos. *Farm. Hospitalaria*. 2006 ;30:379-384
 45. Laosa, O., Guerra, P., López-Durán, J. L., Mosquera, B., & Frías, J. Estudios de bioequivalencia: la necesidad de establecer la fiabilidad de los medicamentos genéricos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2009;26(4): 553-562.
 46. Lindenberg, M., Kopp, S., Dressman, J.B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004. 58, 265–278.
 47. Manzo, R. H., Olivera, M. E., Amidon, G. L., Shah, V. P., Dressman, J. B., & Barends, D. M. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Amitriptyline hydrochloride. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2006;95(5), 966-973.

48. Meza, K. L., Monteverde, L. D., & Juárez, J. R. Intercambiabilidad de medicamentos multifuente en el Perú: Necesidad de establecer una directiva técnica. *Ciencia e Investigación*.2013; 16(2), 64-67.
49. Minakata, K., Yamagishi, I., Nozawa, H., Hasegawa, K., Suzuki, M., Gonmori, K., ... & Watanabe, K. Quantitation of biperiden in whole blood by MALDI-QTOF tandem mass spectrometry, and estimation of new metabolites in urine of deceased subjects treated with biperiden antemortem. *Forensic Toxicology*, 2017.35(1), 86-93.
50. Ministerio de Salud. Resolución Ministerial N° 708-2015/MINSA. Lima, 06 de noviembre del 2015.
51. Ministerio del interior, Imprenta Nacional de Colombia, Diario Oficial , Edición No. 49.836 . Bogotá, D. C., miércoles, 6 de abril de 2016
52. Ministerio de Salud. Petitorio Nacional Único de Medicamentos Esenciales para el Sector Salud. Lima Perú.2015
53. Mundhe, A., Fuloria, N. K., Pande, S., &Biyani, K. BCS BASED BIOWAIVERS AND THEIR CURRENT REGULATORY ISSUES. *American Journal of PharmResearch*,2013. 3(6).
54. Navarro, G., & Cabral, P. Aplicación de métodos modelo-dependiente y modelo-independiente en el desarrollo de una formulación de comprimidos de Captopril. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*.2009; 38.
55. Nayak, A. K., & Pal, D. Comparative in vitro bioequivalence analysis of some ciprofloxacin HCl generic tablets. *International Journal of PharmaceuticalSciences and Research*.2010; Vol. 1, Issue 8
56. Placencia Medina, M. D. La Bioequivalencia como requisito de calidad de los medicamentos genéricos/multifuente: estudio comparativo en países latinoamericanos.2010.
57. Pehl C, Wendl B, Kaess H, Pfeiffer A: Efectos de dos fármacos anticolinérgicos, cloruro de trospio y biperideno, sobre la motilidad y potenciales evocados del esófago. *AlimentPharmacolTher*. 1998 Oct; 12 (10): 979-84.

58. Pérez Guzmán, M. R. . Estudio de bioequivalencia in vitro de dos formas farmacéuticas perorales multifuente de liberación inmediata con metformina como principio activo (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia).2013
59. RAMOS, G. Dra. QF. PEZOA, R. Ministerio de salud/ instituto de salud pública de Chile. Genéricos y bioequivalencia: pruebas, necesidad (pertinencia de bioequivalencia en genéricos) [powerpoint] Lima, Noviembre 2005.
60. Rao, P. M., Babu, A. M., Sree, K. N., Rameswarapu, N. S., Mallikharjunarao, K. L., &Desu, P. K. Formulation development and in-vitro evaluation of immediate releasetablets of biperiden HCL cyclodextrin complexes. Int J Res PharmNanosci, 2013, 757-67.
61. República de Chile, Instituto de Salud Pública. Guía técnica G- BIOF 02: Bioexención de los estudios de biodisponibilidad/bioequivalencia para establecer Equivalencia Terapéutica de Formas Farmacéuticas Sólidas Orales. Departamento de Control Nacional/ Sub-departamento de seguridad/ Sección Biofarmacia; p.4-53. 2007.
62. Rohilla, S. BiowaiversCriteria and Requirements. International Journal of Pharmaceutical&Biological Archive. 2012; 3(4).
63. Schatzberg, A. F., &Nemeroff, C. B. (Eds.). Essentials of clinical psychopharmacology. American Psychiatric. 2013 Pub.p394
64. Secretaría de Salud. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS MEXICANOS. Segundo suplemento de la Séptima Ed. Mexico DF.2002
65. Silva, H. PSICOFARMACOLOGÍA Y PATOLOGÍA MÉDICA. Revista Médica Clínica Las Condes.2017; 28(6), 830-834
66. Svennebring, A. TheconnectionBetween Plasma ProteinBinding and AcuteToxicity as Determinedbythe LD50 Value. Drugdevelopment research.2016; 77(1), 3-11.
67. Talevi, A., Quiroga, P., & Ruiz, M. E. Procesosbiofarmacéuticos. 2016;:16- 24
68. Teixeira, A. A indústria farmacêutica no Brasil: um estudo do impacto socioeconômico dos medicamentos genéricos. ARARAQUARA-SP.2015

69. Tripathi, K. D. Pharmacological Classification of Drugs: With Doses and Preparations. Jaypee Brothers Medical Publishers. 2010.
70. Varma, M.V., Sateesh, K., Panchagnula, R. Functional role of P-glycoprotein in limiting intestinal absorption of drugs: Contribution of passive permeability to P-glycoprotein mediated efflux transport. Mol. Pharmacol. 2005.
71. Velasco M. Alvarez G. J. Compendio de Psiconeurofarmacología. Anticolinérgicos. 1987: 230.
72. Velásquez, A. La carga de enfermedad y lesiones en el Perú y las prioridades del plan esencial de aseguramiento universal. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2009; 26(2): 222-231.
73. Villafuerte Robles, Leopoldo. "Los excipientes y su funcionalidad en productos farmacéuticos sólidos." Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. 2011. 42.1: 18-36.
74. World Health Organization. Multisource (Generic) Pharmaceutical Products: Guidelines on Registration Requirements to Establish Interchangeability Draft Revision. Disponible en: http://www.who.int/medicines/services/expertcommittees/pharmprep/QAS04_093Rev4_final.pdf.
75. WHO, 2006. World Health Organization Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Fortieth Report, Geneva
76. World Health Organization. Trastornos Neurológicos: Desafíos Para la Salud Pública. 2006:7-29
77. World Health Organization. Technical Report Series No. 937, Anexo 8. Proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms. 2006.
78. World Health Organization. Tratamiento farmacológico de los trastornos mentales en la atención primaria de salud. In Tratamiento farmacológico de los trastornos mentales en la atención primaria de salud. 2010.
79. World Health Organization. WHO Essential Drug List Nº 19. 2015

80. Zavaleta Martínez-Vargas, A., Salas Arruz, M., & Zavaleta Boza, C. Bioequivalencia de medicamentos in vivo e in vitro (Bioexención). Diagnóstico (Perú), 2016 55(1), 17-27.
81. Zuñiga, F. R. Estudio de Mercado para productos y servicios derivados de tecnologías de aseguramiento de la calidad en la producción de medicamentos en Chile. Gestión de las Personas y Tecnología. Revista Gestión De Las Personas Y Tecnología – Issn 0718-5693 –Edición Nº 15.2012; 64-72.
82. Tsong, Y., Hammerstrom, T., Sathe, P., & Shah, V. P. Statistical assessment of mean differences between two dissolution data sets. Drug Information Journal, 1996. 30(4), 1105-1112.
83. De Sousa, I. P., & Bernkop-Schnürch, A. . Pre-systemic metabolism of orally administered drugs and strategies to overcome it. Journal of Controlled Release, 2014 pg. 192, 301-309.
84. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. . Proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms. WHO technical report series, 2006 ,(937).
85. Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 1124, anexo técnico 1. Guía de biodisponibilidad y bioequivalencia - 2016. Fecha de consulta: 21 de julio de 2017. Disponible en: <https://www.invima.gov.co/images/bioequivalencia/Resoluci%C3%B3n%201124%20de%202016.pdf>

ANEXO 1: Certificado de estandar Secundario de clorhidrato de Biperideno,

BOLETIN DE ESTANDAR SECUNDARIO

NOMBRE	: BIPERIDENO CLORHIDRATO
LOTE	: 160050174
CANTIDAD RECIBIDA	: 0.0000g
FECHA INGRESO	: 2016.03.11
PROVEEDOR	: Sotom Labs Private Limited
MANUAL	: USP 39
VENCIMIENTO	: 2020.07.30
ENVASE	: PRIMARIO: DOBLE BOLSA DE POLIETILENO. HERMÉTICAMENTE CERRADO. SECUNDARIO: ENVASE HERMÉTICAMENTE CERRADO.
FECHA DE ANALISIS	: 2016.10.21

ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
IDENTIFICACIÓN	PRESENTA EN FORMA DE AGUIJA DE PLACMA RECORDADAS EN UN COLOR BLANCO A BLANCO OPACAS O BLANCO AMARILLENTO	CONFORME
IDENTIFICACIÓN	A) ABSORCIÓN EN EL INFRAROJO: EL ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE LA MUESTRA PRESENTA MÁXIMOS Y MÍNIMOS A LAS MISMAS LONGITUDES DE ONDA QUE EL DEL ESTÁNDAR DE REFERENCIA DE BIPERIDENO CLORHIDRATO	CONFORME
	B) ABSORCIÓN EN EL ULTRAVIOLETA: LOS ESPECTROS DE ABSORCIÓN EN LA SOLUCIÓN DE PROBAY DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR PRESENTAN MÁXIMOS Y MÍNIMOS A LAS MISMAS LONGITUDES DE ONDA Y LAS ABSORPTIVIDADES A 257NM CUALQUIERA CON RESPETO A LA MUESTRA SECA NO SUPERAN EN MÁS DE 10%	CONFORME
	C) SE PRESENTA EN COLOR VERDE	CONFORME
	D) SE FORMA UN PRECIPITADO AMARILLO QUE SE DISUELVE AL AGITARLO EL AGREGADO DE MÁS ORGANO SE PRESENTA UN PRECIPITADO QUE NO SE DISUELVE AL AGITARLO	CONFORME
	E) CLORURO: CON NITRATO DE PLATA SE LAS SOLUCIONES DE CLORURO PRESENTA UN PRECIPITADO BLANCO GRUESO QUE ES INSOLUBLE EN ÁCIDO NITRICO PERO SOLUBLE EN UN LIGERO EXCESO DE AMONIACO DE MARCHA EN	CONFORME
PÉRDIDA POR SECADO	NO MÁS DE 0.5%	0.2%
VALORES % DE IMPUREZA CLORURO DE SODIO	90% - 92.0%	100.0%
VALORES % DE IMPUREZA CLORURO DE BIPERIDENO		100.0%

ESTANDAR PRIMARIO USP LOTE: R03810; CATALOGO: 1073004;
POTENCIA: 100.0%

TRAZABILIDAD: N° DE CONTROL MP01601

OBSERVACIONES:

RESOLUCIÓN: APROBADO FECHA: 2016.10.21

ANALISTA: J. FLORES

ANEXO 2: Comparación cualitativa de la composición de excipientes

EXCIPIENTES		
I	M	A
CELULOSA MICROCRISTALINA	CELULOSA MICROCRISTALINA	CELULOSA MICROCRISTALINA
ALMIDON DE MAIZ	ALMIDON GLICOLATO DE SODIO	ALMIDON GLICOLATO DE SODIO
ESTEARATO DE MAGNESIO	ESTEARATO DE MAGNESIO	ESTEARATO DE MAGNESIO
LACTOSA MONOHIDRATADA	LACTOSA MONOHIDRATADA	LACTOSA MONOHIDRATADA
POVIDONA		
TALCO		

I= Comparador , M= marca genérica 1, A= marca genérica 2

Tabla 01: Porcentaje de Liberación a los 15 minutos en los tres medios de disolución (pH 1,2; 4,5 y 6,8)

PRODUCTO	Tiempo 15 (minutos)		
	pH 1,2	pH 4,5	pH 6,8
Referencia	33,22	29,23	49,13
Producto M	87,15	63,60	80,66
Producto A	77,50	62,35	83,64

M= multifuente 1, A= multifuente 2

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

I	TIEMPO				
	DISOLUCIÓN	T5	T15	T30	T45
VASO 1	6,04	35,23	83,56	98,99	101,34
VASO 2	4,70	37,25	84,90	101,35	102,35
VASO 3	5,37	33,22	81,88	96,64	100,67
VASO 4	6,71	28,52	86,57	100,00	104,03
VASO 5	7,05	27,52	87,58	100,33	103,02
VASO 6	4,03	36,58	80,87	104,36	104,70
VASO 7	4,03	38,93	86,24	99,66	101,68
VASO 8	5,70	31,21	85,90	100,00	105,37
VASO 9	5,03	32,21	84,89	98,32	99,33
VASO 10	6,38	35,23	81,21	97,98	97,65
VASO 11	5,70	32,89	86,57	96,31	99,66
VASO 12	5,37	29,87	83,56	95,30	98,32
PROMEDIO	5,51	33,22	84,47	99,10	101,51
DS	0,96	3,56	2,94	2,46	2,49
%CV	17,51	10,71	3,58	2,48	2,46

M	TIEMPO				
	DISOLUCIÓN	T5	T15	T30	T45
VASO 1	58,42	85,41	92,58	101,47	103,17
VASO 2	62,86	91,56	94,63	101,12	103,86
VASO 3	63,54	87,46	93,95	99,42	103,86
VASO 4	64,57	85,75	93,61	100,44	104,20
VASO 5	69,69	86,09	93,61	103,17	103,52
VASO 6	59,45	90,19	98,73	106,25	107,62
VASO 7	73,45	83,70	91,56	96,34	103,86
VASO 8	67,99	84,38	92,24	101,81	102,49
VASO 9	69,35	86,78	93,27	100,78	103,52
VASO 10	68,67	90,53	91,90	98,05	102,83
VASO 11	69,01	87,80	90,88	97,03	103,17
VASO 12	65,59	86,09	91,56	98,73	103,52
PROMEDIO	66,05	87,15	93,21	100,38	103,80
DS	4,46	2,48	2,07	2,74	1,29
%CV	6,76	2,84	2,23	2,73	1,25

A	TIEMPO				
	T5	T15	T30	T45	T60
DISOLUCIÓN					
VASO 1	63,28	77,52	84,15	95,41	100,71
VASO 2	66,26	75,20	85,81	101,38	105,02
VASO 3	66,92	77,85	87,46	104,03	105,35
VASO 4	67,25	76,53	87,79	95,08	100,05
VASO 5	66,26	79,18	88,13	99,06	103,03
VASO 6	65,60	78,85	83,82	96,41	102,04
VASO 7	64,60	79,84	89,45	103,36	104,36
VASO 8	65,93	74,54	84,48	104,03	106,02
VASO 9	67,25	77,19	88,46	100,38	101,71
VASO 10	64,27	78,52	89,12	97,40	99,39
VASO 11	63,28	77,85	83,16	99,72	101,38
VASO 12	65,27	76,86	89,78	96,74	100,71
PROMEDIO	65,51	77,50	86,80	99,42	102,48
DS	1,41	1,56	2,39	3,28	2,23
%CV	2,15	2,02	2,75	3,30	2,18

ANEXO 4: Resultados del porcentaje de disolución de 12 tabletas de los medicamentos I, M, A y referencia en los tiempos establecidos en solución Acetato, pH 4.5.

I	TIEMPO				
	T5	T15	T30	T45	T60
DISOLUCIÓN					
VASO 1	5,84	28,19	64,00	100,32	101,59
VASO 2	6,60	30,48	69,59	99,81	101,34
VASO 3	7,11	28,70	68,07	101,34	102,10
VASO 4	6,35	29,97	66,29	100,07	101,08
VASO 5	6,60	28,45	65,78	100,58	102,61
VASO 6	7,62	30,22	66,29	99,31	101,85
VASO 7	5,08	28,45	67,81	99,56	102,86
VASO 8	5,84	28,95	70,35	99,81	102,10
VASO 9	6,35	29,46	69,34	100,07	101,85
VASO 10	6,86	29,21	68,83	101,08	102,61
VASO 11	5,59	27,94	68,07	100,58	100,83
VASO 12	5,33	30,73	65,02	101,34	102,35
PROMEDIO	6,26	29,23	67,45	100,32	101,93
DS	0,75	0,94	1,97	0,68	0,63
%CV	12,02	3,22	2,92	0,67	0,62

M	TIEMPO				
	DISOLUCIÓN	T5	T15	T30	T45
VASO 1	34,54	64,00	82,54	101,08	104,64
VASO 2	35,81	63,75	83,05	101,85	102,86
VASO 3	35,30	62,48	81,78	103,88	105,91
VASO 4	36,32	64,26	82,29	102,10	104,39
VASO 5	33,78	62,73	81,53	100,32	106,16
VASO 6	34,03	65,53	83,81	100,58	104,64
VASO 7	35,05	63,75	83,56	100,83	105,40
VASO 8	37,08	61,72	82,04	100,58	104,89
VASO 9	36,57	63,24	83,31	102,35	103,88
VASO 10	34,80	62,73	82,04	104,13	105,91
VASO 11	35,56	64,26	83,31	101,85	102,61
VASO 12	34,80	64,77	81,78	102,35	103,62
PROMEDIO	35,30	63,60	82,59	101,82	104,58
DS	1,01	1,07	0,79	1,25	1,17
%CV	2,86	1,68	0,95	1,22	1,12

A	TIEMPO				
	T5	T15	T30	T45	T60
DISOLUCIÓN					
VASO 1	40,89	61,97	86,86	104,89	105,15
VASO 2	42,92	62,73	87,37	105,40	104,89
VASO 3	43,18	61,46	87,88	104,03	105,66
VASO 4	41,14	62,23	86,86	104,39	107,94
VASO 5	41,91	61,71	86,60	105,40	106,93
VASO 6	42,92	61,46	87,88	105,15	107,43
VASO 7	41,15	62,99	87,37	104,13	106,42
VASO 8	43,43	65,02	87,62	105,66	107,18
VASO 9	41,15	63,75	87,88	106,42	106,67
VASO 10	41,65	61,21	87,12	97,40	106,42
VASO 11	42,16	61,97	87,37	99,72	105,91
VASO 12	40,89	61,71	87,62	96,74	106,42
PROMEDIO	41,95	62,35	87,37	103,28	106,42
DS	0,95	1,11	0,43	3,35	0,91
%CV	2,26	1,79	0,50	3,24	0,85

ANEXO 5 :Resultados del porcentaje de disolución de 12 tabletas de los medicamentos I, M, A y referencia en los tiempos establecidos en solución fosfato, pH 6.8.

I	TIEMPO				
	T5	T15	T30	T45	T60
DISOLUCIÓN					
VASO 1	16,09	48,61	91,31	99,52	100,50
VASO 2	14,78	49,59	88,02	99,19	100,83
VASO 3	16,42	48,94	89,66	99,85	100,18
VASO 4	15,77	49,92	90,65	99,52	101,49
VASO 5	15,43	50,91	89,01	101,49	100,83
VASO 6	16,09	47,62	89,99	98,86	99,52
VASO 7	17,41	48,28	88,35	102,47	103,46
VASO 8	16,75	50,25	89,34	99,52	102,80
VASO 9	15,77	49,59	88,68	99,84	101,49
VASO 10	15,44	48,61	90,32	101,16	103,13
VASO 11	15,11	48,94	89,99	100,50	100,83
VASO 12	15,77	48,28	90,98	101,49	102,15
PROMEDIO	15,90	49,13	89,69	100,28	101,43
DS	0,72	0,94	1,04	1,12	1,23
%CV	4,53	1,92	1,16	1,12	1,21

M	TIEMPO				
	DISOLUCIÓN	T5	T15	T30	T45
VASO 1	71,60	79,81	92,95	99,85	101,49
VASO 2	70,62	81,78	93,28	99,19	101,16
VASO 3	71,93	80,47	93,28	101,82	105,91
VASO 4	71,27	81,45	92,95	102,18	99,19
VASO 5	70,94	79,81	92,29	103,46	99,85
VASO 6	71,60	81,45	93,28	99,52	101,49
VASO 7	72,59	80,47	91,96	98,20	102,15
VASO 8	72,26	80,14	93,28	99,52	101,82
VASO 9	70,94	80,15	92,47	102,47	101,16
VASO 10	71,27	80,80	92,62	103,79	101,16
VASO 11	71,90	80,80	91,96	99,85	98,20
VASO 12	70,62	80,80	93,93	100,83	102,15
PROMEDIO	71,46	80,66	92,85	100,89	101,31
DS	0,63	0,65	0,60	1,81	1,89
%CV	0,88	0,80	0,65	1,80	1,86

A	TIEMPO				
	T5	T15	T30	T45	T60
DISOLUCIÓN					
VASO 1	75,54	83,75	91,96	98,53	98,86
VASO 2	82,11	82,44	90,32	100,50	100,83
VASO 3	62,69	82,11	93,61	101,16	101,16
VASO 4	88,53	82,44	93,61	101,81	101,49
VASO 5	88,67	85,40	92,62	101,16	100,18
VASO 6	72,26	82,77	92,94	100,18	97,88
VASO 7	72,26	83,42	91,96	98,53	102,15
VASO 8	91,96	82,44	91,53	98,53	101,82
VASO 9	85,40	85,07	90,97	99,52	100,83
VASO 10	85,40	85,07	90,98	99,52	100,83
VASO 11	82,11	85,07	93,28	99,19	98,20
VASO 12	88,68	83,75	91,96	100,83	99,85
PROMEDIO	81,30	83,64	92,15	99,96	100,34
DS	8,80	1,23	1,09	1,15	1,39
%CV	10,83	1,47	1,18	1,15	1,39

IMPUREZAS

- **RESIDUO DE INCINERACIÓN (281):** No más de 0,1%
- **IMPUREZAS COMUNES (466)**
 Solución estándar: Usar metanol como disolvente.
 Solución de prueba: Usar metanol como disolvente.
 Fase móvil: Una mezcla de metanol e hidróxido de amonio (100:1,5)
 Visualización: 117
 Criterios de aceptación: Cumple con los requisitos.

PRUEBAS ESPECÍFICAS

- **INTERVALO O TEMPERATURA DE FUSIÓN, Clase I (741):** 112-118
- **PERDIDA POR SECADO (731)**
 Análisis: Secar a 105° durante 3 horas.
 Criterios de aceptación: No más de 1,0%

REQUISITOS ADICIONALES

- **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en envases bien cerrados y resistentes a la luz.
- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP (11)**
 ER Biperideno USP
41294

Eliminar lo siguiente:

Clorhidrato de Biperideno



$C_{21}H_{29}NO \cdot HCl$ 347,92
 1-piperidinopropanol, α -bicyclo[2,2,1]hept-5-en-2-yl(4-phenyl-, hydrochloride;
 Clorhidrato de α -5-norbornen-2-il- α -fenil-1-piperidinopropanol (1233:82:1)

DEFINICIÓN

El Clorhidrato de Biperideno contiene no menos de 98,0% y no más de 101,0% de clorhidrato de biperideno ($C_{21}H_{29}NO \cdot HCl$), calculado con respecto a la sustancia seca.

IDENTIFICACIÓN

- **A. ABSORCIÓN EN EL INFRAROJO (197K)**
- **B. ABSORCIÓN EN EL ULTRAVIOLETA (197U)**
 Longitud de onda analítica: 257 nm
 Solución muestra: 1 mg/mL de Clorhidrato de Biperideno en metanol
 Criterios de aceptación: Las absorptividades, calculadas con respecto a la sustancia seca, no difieren en más de 3,0%.
- **C**
 Muestra: 20 mg de Clorhidrato de Biperideno
 Análisis: Disolver la Muestra en 5 mL de ácido fosfórico.
 Criterios de aceptación: Se produce un color verde.
- **D**
 Solución muestra: 2 mg/mL de Clorhidrato de Biperideno en agua
 Análisis: Agregar bromo SR, gota a gota, a una porción de 5 mL de la Solución muestra.
 Criterios de aceptación: Se forma un precipitado amarillo que se disuelve al agitarlo. La adición de más bromo SR produce un precipitado que no se disuelve al agitarlo.

- **E. IDENTIFICACIÓN—PRUEBAS GENERALES, Cloruros (191)**
 Solución muestra: 2 mg/mL de Clorhidrato de Biperideno en agua
 Análisis: Proceder según se indica en el capítulo usando una porción de 5 mL de la Solución muestra.
 Criterios de aceptación: Cumple con los requisitos.

VALORACIÓN

- **PROCEDIMIENTO**
 Muestra: 500 mg de Clorhidrato de Biperideno
 Blanco: 80 mL de ácido acético glacial
 Sistema volumétrico
 Modo: Valoración directa
 Solución volumétrica: Ácido perclórico 0,1-N 5V
 Detección del punto final: Visual
 Análisis: Disolver la Muestra en 80 mL de ácido acético glacial, entibiando ligeramente, si fuera necesario, para lograr su disolución. Enfriar, agregar 1 gota de cristal violeta SR y 10 mL de acetato mercúrico SR. Valorar con Solución volumétrica hasta un punto final azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mL de ácido perclórico 0,1-N equivale a 34,79 mg de clorhidrato de biperideno ($C_{21}H_{29}NO \cdot HCl$).
 Criterios de aceptación: 98,0%-101,0% con respecto a la sustancia seca

IMPUREZAS

- **IMPUREZAS COMUNES (466)**
 Solución estándar: Usar metanol como disolvente.
 Solución de prueba: Usar metanol como disolvente.
 Fase móvil: Una mezcla de metanol e hidróxido de amonio (100:1,5)
 Visualización: 117
 Criterios de aceptación: Cumple con los requisitos.

PRUEBAS ESPECÍFICAS

- **PERDIDA POR SECADO (731)**
 Análisis: Secar a 105° durante 3 horas.
 Criterios de aceptación: No más de 0,5%

REQUISITOS ADICIONALES

- **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en envases bien cerrados y resistentes a la luz.
- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP (11)**
 ER Clorhidrato de Biperideno USP
41294

Cambiar la redacción:

Clorhidrato de Biperideno, Tabletas

DEFINICIÓN

Las Tabletas de Clorhidrato de Biperideno contienen no menos de 93,0% y no más de 107,0% de la cantidad declarada de $C_{21}H_{29}NO \cdot HCl$.

IDENTIFICACIÓN

- **PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA (201)**
 Solución estándar: Disolver 10 mg de ER Clorhidrato de Biperideno USP en 5 mL de agua, mezclar, y someter a ultrasonido hasta dispersar el polvo. Agregar 5 mL de metanol al matraz, mezclar, y someter a ultrasonido durante 15 minutos. Filtrar la solución en un separador, agregar 2 mL de hidróxido de sodio 1 N y 10 mL de cloroformo, y agitar durante 3 minutos. Filtrar la capa cloroformica en un matraz con tapón y usar el filtrado cloroformico.
 Solución muestra: Agregar 5 mL de agua a una cantidad de Tabletas reducidas a polvo fino, equivalente a

10 mg de clorhidrato de biperideno; mezclar, y someter a ultrasonido hasta dispersar el polvo. Agregar 5 mL de metanol al matraz, mezclar, y someter a ultrasonido durante 15 minutos. Filtrar la solución en un separador, agregar 2 mL de hidróxido de sodio 1 N y 10 mL de cloroformo, y agitar durante 3 minutos. Filtrar la capa cloroformica en un matraz con tapón y usar el filtrado cloroformico.

Adsorbente: Capa de mezcla de gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm; acondicionar la placa calentándola a 105° durante 1 hora y dejar que se enfríe.

Volumen de aplicación: 20 µL

Fase móvil: Metanol e hidróxido de sodio (100:1,5)

Visualización: Vapor de yodo, 10 minutos

Análisis: Aplicar por separado la solución muestra y la solución estándar a la placa cromatográfica. Dejar que las aplicaciones se sequen y desarrollar el cromatograma en la fase móvil hasta que el frente de la fase móvil haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara de desarrollo, marcar el frente de la fase móvil y dejar que la fase móvil se evapore. Localizar las manchas en la placa exponiéndola durante 10 minutos a vapores de yodo en una cámara cerrada preequilibrada, en cuyo fondo contenga cristales de yodo.

Criterios de aceptación: El valor R_f de la mancha principal de la solución muestra corresponde al de la solución estándar.

VALORACIÓN

PROCEDIMIENTO

Solución A: 38 g/L de fosfato monobásico de sodio y 2 g/L de fosfato dibásico de sodio en agua. Ajustar a un pH de 5,3 ± 0,1, si fuera necesario.

Solución B: Disolver 400 mg de púrpura de bromocresol en 30 mL de agua, agregar 6,3 mL de hidróxido de sodio 0,1 N y diluir con agua hasta 500 mL.

Solución amortiguadora de fosfato-púrpura de bromocresol: Mezclar volúmenes iguales de solución A, solución B y cloroformo; agitar en un separador, y desecar el cloroformo. Si se extrae un color apreciable, repetir con porciones adicionales de cloroformo hasta que no se extraiga color.

Solución madre del estándar: 0,8 mg/mL de ER clorhidrato de Biperideno USP en metanol.

Solución estándar: 40 µg/mL de ER clorhidrato de Biperideno USP, preparado según se indica a continuación: Transferir un volumen adecuado de solución madre del estándar a un matraz volumétrico adecuado, agregar un volumen de agua equivalente al 25% del volumen del matraz, y diluir con metanol a volumen.

Solución muestra: Concentración nominal de 40 µg/mL de clorhidrato de biperideno, a partir de no menos de 20 Tabletas, preparada según se indica a continuación: Transferir una porción de Tabletas reducidas a polvo fino, para obtener la concentración nominal final, a un matraz volumétrico adecuado; agregar un volumen de agua equivalente al 25% del volumen del matraz y calentar en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfríar y diluir con metanol a volumen.

Blanco: Metanol y agua (3:1)

Análisis

Muestras: Solución estándar, solución muestra y blanco. Transferir 5,0 mL de solución estándar, solución muestra y de blanco a sendos separadores, que contengan 10,0 mL de solución amortiguadora de fosfato-púrpura de bromocresol. Extraer la solución en cada separador con 20,0 mL de cloroformo durante 2 minutos. Después que las capas se separen, pasar cada extracto cloroformico a través de papel de filtro (Whatman Nº 31 o equivalente) recogiendo en sendos matraces volumétricos de 50 mL con tapón de vidrio. De la misma forma, extraer la solución en cada separador con otra porción de 20,0 mL de cloroformo, filtrar, y lavar cada filtro con 8 mL de cloro-

formo, recogiendo cada filtrado y lavado combinados, respectivamente, en el matraz volumétrico de 50 mL que contiene el primer extracto. Diluir cada uno con cloroformo a volumen. Determinar concuntamente las absorbancias de las soluciones en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorbancia aproximadamente a 408 nm, con un espectrofotómetro adecuado, usando el blanco para ajustar el instrumento.

Calcular el porcentaje de la cantidad declarada de $C_{17}H_{27}NO \cdot HCl$ en las Tabletas tomadas:

$$\text{Resultado} = (A_u/A_s) \times (C_s/C_u) \times 100$$

A_u = absorbancia de la solución muestra
 A_s = absorbancia de la solución estándar
 C_s = concentración de ER clorhidrato de Biperideno USP en la solución estándar (µg/mL)
 C_u = concentración nominal de la solución muestra (µg/mL)

Criterios de aceptación: 93,0%–107,0%

PRUEBAS DE DESEMPEÑO

DISOLUCIÓN (711)

Medio: Ácido clorhídrico 0,01 N; 500 mL

Aparato: 2: 50 rpm

Tiempo: 45 min

[Nota—Determinar la cantidad disuelta de $C_{17}H_{27}NO \cdot HCl$ usando el siguiente método.]

Solución amortiguadora de fosfato-púrpura de bromocresol: Preparar según se indica en la valoración.

Solución madre del estándar: 0,8 mg/mL de ER clorhidrato de Biperideno USP en metanol.

Solución estándar: 2 µg/mL de ER clorhidrato de Biperideno USP, preparado de la siguiente manera: Pipetear 5 mL de solución madre del estándar y transferir a un matraz volumétrico de 500 mL y agregar ácido clorhídrico 0,01 N a volumen. Pipetear 25 mL de esta solución y transferir a un vaso de precipitados adecuado, y ajustar con hidróxido de sodio 0,01 N a un pH de 5,3. Transferir esta solución a un matraz volumétrico de 100 mL con ayuda de agua y diluir con agua a volumen.

Solución muestra: Muestrear según Disolución (711). Filtrar 75 mL de la solución en análisis; pipetear 50 mL del filtrado transparente y transferir a un vaso de precipitados adecuado, y ajustar con hidróxido de sodio 0,01 N a un pH de 5,3. Transferir esta solución a un matraz volumétrico de 100 mL con ayuda de agua y diluir con agua a volumen.

Blanco: Agua

Análisis

Muestras: Solución estándar, solución muestra y blanco. Pipetear 20,0 mL de solución estándar, de solución muestra y de blanco y transferir a sendos separadores, que contengan 10,0 mL de solución amortiguadora de fosfato-púrpura de bromocresol. Extraer la solución en cada separador con 40,0 mL de cloroformo durante 10 minutos. Después que las capas se separen, pasar cada extracto cloroformico a través de papel de filtro recogiendo en sendos recipientes con tapón de vidrio, desechando los primeros 10 mL de cada filtrado. Determinar la cantidad disuelta de $C_{17}H_{27}NO \cdot HCl$ a partir de las absorbancias de los extractos de la solución muestra y la solución estándar a la longitud de onda de máxima absorbancia, aproximadamente a 408 nm (celdas de 10 cm), usando el blanco para ajustar el instrumento.

Tolerancias: No menos de 75% (Q) de $C_{17}H_{27}NO \cdot HCl$

UNIFORMIDAD DE UNIDADES DE DOSIFICACIÓN (905): Cumplir con los requisitos

REQUISITOS ADICIONALES

• **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en envases impermeables.

ANEXO 7 : Análisis de varianza para los datos de Eficiencia de la Disolución, Tiempo Medio de Disolución con SPSS

A) EFICIENCIA DE DISOLUCIÓN

EFICIENCIA DE DISOLUCIÓN %									
pH 1,2			pH 4,5			pH 6,8			
I	M	A	I	M	A	I	M	A	
65,5	83,8	81,0	59,4	73,2	75,2	72,0	85,2	87,9	
66,1	85,6	79,9	61,4	74,7	76,0	71,0	85,6	87,0	
64,4	84,2	81,3	60,7	72,8	75,1	72,0	82,9	85,3	
63,9	83,9	82,5	60,6	73,8	73,6	71,5	87,8	88,5	
64,5	85,8	82,0	59,6	71,6	74,3	72,2	87,0	89,7	
64,5	84,5	80,8	60,3	73,7	74,3	71,9	85,5	88,7	
66,7	83,4	82,4	59,6	73,0	74,7	70,4	84,3	85,0	
63,5	85,3	79,4	60,8	72,7	75,3	70,6	85,1	87,3	
66,0	85,2	83,0	60,9	74,3	75,3	71,1	85,9	87,9	
66,7	85,4	84,0	60,7	72,9	72,7	70,6	86,5	87,9	
66,0	84,1	81,4	60,8	75,0	73,8	71,7	87,6	90,0	
65,0	83,7	82,8	60,0	74,1	72,7	71,4	85,3	89,3	
PROMEDIO	65,2	84,6	81,7	60,4	73,5	74,4	71,4	85,7	87,9
DESV. EST.	1,10	0,82	1,34	0,61	0,96	1,06	0,62	1,39	1,57

La Tabla describe la eficiencia de disolución de cada vaso analizado, I= referencia, A y

M= productos multifuente

ANOVA

	Suma de cuadras	gl	Media cuadrática	F	Sig.
pH1.2 Entre grupos	2614,974	2	1307,487	1075,495	,000
Dentro de grupos	40,118	33	1,216		
Total	2655,092	35			
pH4.5 Entre grupos	1474,047	2	737,023	911,155	,000
Dentro de grupos	26,693	33	,809		
Total	1500,740	35			
pH6.8 Entre grupos	1933,237	2	966,619	611,413	,000
Dentro de grupos	52,172	33	1,581		
Total	1985,409	35			

Comparaciones múltiples

HSD Tukey

Variable	(I)	pr (J)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
dependiente	1	2					

pH1.2	I	M	-19,34167*	,45013	,000	-20,4462	-18,2371
		A	-16,47500*	,45013	,000	-17,5795	-15,3705
	M	I	19,34167*	,45013	,000	18,2371	20,4462
		A	2,86667*	,45013	,000	1,7621	3,9712
	A	I	16,47500*	,45013	,000	15,3705	17,5795
		M	-2,86667*	,45013	,000	-3,9712	-1,7621
pH4.5	I	M	-13,08333*	,36717	,000	-13,9843	-12,1824
		A	-14,01667*	,36717	,000	-14,9176	-13,1157
	M	I	13,08333*	,36717	,000	12,1824	13,9843
		A	-,93333*	,36717	,041	-1,8343	-,0324
	A	I	14,01667*	,36717	,000	13,1157	14,9176
		M	,93333*	,36717	,041	,0324	1,8343
pH6.8	I	M	-14,35833*	,51332	,000	-15,6179	-13,0988
		A	-16,50833*	,51332	,000	-17,7679	-15,2488
	M	I	14,35833*	,51332	,000	13,0988	15,6179
		A	-2,15000*	,51332	,001	-3,4096	-,8904
	A	I	16,50833*	,51332	,000	15,2488	17,7679
		M	2,15000*	,51332	,001	,8904	3,4096

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

pH1.2

HSD Tukey^a

producto	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
I	12	65,2333		
A	12		81,7083	
M	12			84,5750
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12,000.

pH4.5

HSD Tukey^a

producto	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
I	12	60,4000		
M	12		73,4833	
A	12			74,4167
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12,000.

ph6.8

HSD Tukey^a

producto	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
I	12	71,3667		
M	12		85,7250	
A	12			87,8750
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12,000.

B) TIEMPO MEDIO DE DISOLUCIÓN

TIEMPO MEDIO DE DISOLUCIÓN									
pH 1,2			pH 4,5			pH 6,8			
I	M	A	I	M	A	I	M	A	
21,41	10,35	11,78	24,89	16,76	15,36	17,58	9,09	7,48	
21,11	9,36	12,29	23,77	15,86	14,86	18,27	8,90	7,79	
22,07	10,03	11,49	24,10	16,97	15,35	17,60	10,48	9,31	
22,21	10,14	10,71	24,22	16,37	16,35	17,92	7,59	6,77	
21,78	8,94	11,13	24,76	17,71	15,88	17,58	8,00	6,11	
22,08	10,03	11,85	24,40	16,55	15,83	17,63	8,92	7,07	
20,85	10,23	10,95	24,83	16,88	15,72	18,48	9,59	9,29	
22,53	9,23	12,58	24,09	16,96	15,33	18,43	9,13	7,37	
21,08	9,30	10,45	24,03	16,08	15,34	18,20	8,66	7,26	
20,71	9,31	9,98	24,15	16,92	16,83	18,44	8,34	7,25	
21,10	9,98	11,52	24,09	15,70	16,17	17,81	7,65	6,08	
21,63	10,27	10,61	24,60	16,24	16,87	17,97	9,08	6,27	
PROMEDIO	21,5	9,8	11,3	24,3	16,6	15,8	18,0	8,8	7,3
DESV. EST.	0,59	0,49	0,78	0,36	0,57	0,63	0,36	0,82	1,07

La Tabla describe la eficiencia de disolución de cada vaso analizado, I= referencia, A y

M= productos multifuente

ANOVA

	Suma de cuadras	gl	Media cuadrática	F	Sig.
pH1.2	Entre grupos	2	493,117	1232,390	,000
	Dentro de grupos	33	,400		
	Total	35			
pH4.5	Entre grupos	2	265,710	940,700	,000
	Dentro de grupos	33	,282		
	Total	35			
pH6.8	Entre grupos	2	400,779	618,719	,000
	Dentro de grupos	33	,648		
	Total	35			

Comparaciones múltiples

HSD Tukey

Variable depen	(I)	(J)	Diferencia de	Error est	Sig.	Intervalo de confianza al 95%

pH	Medida	Muestra	Mediana (I-J)	Desviación estándar	Intervalo	Límites	
						inferior	superior
pH1.2	I	M	11,78250*	,25824	,000	11,1488	12,4162
		A	10,26833*	,25824	,000	9,6347	10,9020
	M	I	-11,78250*	,25824	,000	-12,4162	-11,1488
		A	-1,51417*	,25824	,000	-2,1478	-,8805
	A	I	-10,26833*	,25824	,000	-10,9020	-9,6347
		M	1,51417*	,25824	,000	,8805	2,1478
pH4.5	I	M	7,74417*	,21697	,000	7,2118	8,2766
		A	8,50333*	,21697	,000	7,9709	9,0357
	M	I	-7,74417*	,21697	,000	-8,2766	-7,2118
		A	,75917*	,21697	,004	,2268	1,2916
	A	I	-8,50333*	,21697	,000	-9,0357	-7,9709
		M	-,75917*	,21697	,004	-1,2916	-,2268
pH6.8	I	M	9,20667*	,32857	,000	8,4004	10,0129
		A	10,65500*	,32857	,000	9,8488	11,4612
	M	I	-9,20667*	,32857	,000	-10,0129	-8,4004

	A	1,44833*	,32857	,000	,6421	2,2546
A	I	-10,65500*	,32857	,000	-11,4612	-9,8488
	M	-1,44833*	,32857	,000	-2,2546	-,6421

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

pH1.2

HSD Tukey^a

producto	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
M	12	9,7642		
A	12		11,2783	
I	12			21,5467
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12,000.

pH4.5

HSD Tukey^a

producto	N	Subconjunto para alfa = 0.05
----------	---	------------------------------

		1	2	3
A	12	15,8242		
M	12		16,5833	
I	12			24,3275
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12,000.

ph6.8

HSD Tukey^a

producto	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
A	12	7,3375		
M	12		8,7858	
I	12			17,9925
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12,000.

ANEXO 8 : Análisis de varianza para los datos kd del modelo estadístico raíz cubica con SPSS

ANOVA

	Suma de cuadras	gl	Media cuadrática	F	Sig.
pH1.2 Entre grupos	,001	2	,000	225,406	,000
Dentro de grupos	,000	33	,000		
Total	,001	35			
pH4.5 Entre grupos	,000	2	,000	67,171	,000
Dentro de grupos	,000	33	,000		
Total	,000	35			
pH6.8 Entre grupos	,000	2	,000	46,707	,000
Dentro de grupos	,000	33	,000		
Total	,001	35			

Comparaciones múltiples

HSD Tukey

Variable	(I)	(J)	Diferencia de medias (I-J)	Error estánd	Sig.	Intervalo de confianza al 95%
depen- dencia	Formulaci	Formulaci				

nte	ón	ació n		ar		Límite infe rior	Límite su pe ri or
pH1.2	R	M	,0084167*	,0004448	,000	,007325	,009508
		A	,0079167*	,0004448	,000	,006825	,009008
	M	R	-,0084167*	,0004448	,000	-,009508	-,007325
		A	-,0005000	,0004448	,506	-,001591	,000591
	A	R	-,0079167*	,0004448	,000	-,009008	-,006825
		M	,0005000	,0004448	,506	-,000591	,001591
pH4.5	R	M	,0035833*	,0003612	,000	,002697	,004470
		A	,0036667*	,0003612	,000	,002780	,004553
	M	R	-,0035833*	,0003612	,000	-,004470	-,002697
		A	,0000833	,0003612	,971	-,000803	,000970
	A	R	-,0036667*	,0003612	,000	-,004553	-,002780
		M	-,0000833	,0003612	,971	-,000970	,000803
pH6.8	R	M	,0056667*	,0008229	,000	,003647	,007686
		A	,0076667*	,0008229	,000	,005647	,009686
	M	R	-,0056667*	,0008229	,000	-,007686	-,003647
		A	,0020000	,0008229	,053	-,000019	,004019

A	R	,0076667*	,0008229	,000	-,009686	-,005647
	M	-,0020000	,0008229	,053	-,004019	,000019

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.