

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA



**ESTUDIO DE EQUIVALENCIA TERAPÉUTICA IN VITRO DE TABLETAS DE
ENALAPRIL MALEATO 20 mg DE PRODUCCIÓN NACIONAL**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PARA OPTAR AL GRADO DE
MAESTRA EN QUÍMICA

PRESENTADO POR
LIC. GLORIA CECILIA MENJÍVAR ORTIZ
LIC. ZULEYMA YAMILETH SOLANO DE NAVARRETE

CIUDAD UNIVERSITARIA, JUNIO DE 2015

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL

DRA. ANA LETICIA DE AMAYA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICA

DECANO

MSC. MARTIN ENRIQUE GUERRA CÁCERES

SECRETARIO

LIC. CARLOS ANTONIO QUINTANILLA APARICIO

ESCUELA DE QUIMICA

DIRECTORA

MSC. GLORIA CONTRERAS DE PANAMEÑO

COORDINADORA DE LA MAESTRIA EN QUIMICA

MSC. BESSY EVELYN GÁLVEZ

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA

PARA OPTAR AL GRADO DE
MAESTRA EN QUÍMICA

**ESTUDIO DE EQUIVALENCIA TERAPÉUTICA IN VITRO DE TABLETAS DE
ENALAPRIL MALEATO 20 mg DE PRODUCCIÓN NACIONAL**

PRESENTADO POR
LIC. GLORIA CECILIA MENJÍVAR ORTIZ
LIC. ZULEYMA YAMILETH SOLANO DE NAVARRETE

TRABAJO DE GRADUACIÓN APROBADO POR
DOCENTE ASESOR
DR. ORLANDO CANJURA URRUTIA

CIUDAD UNIVERSITARIA, JUNIO DE 2015

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso por darme fortaleza y ayudarme en todo momento para finalizar este proyecto, sin El nada soy.

A la Virgencita Maria por cuidarme y mantenerme siempre cerca de su hijo.

A mi madre por apoyarme en cada momento que lo he necesitado.

A mi hermano Enrique que siempre me ha dado la fuerza e inspiración de seguir adelante y cumplir las metas que me he propuesto.

A mi esposo Rene que me apoyo desde que éramos novios, con paciencia y comprensión para poder alcanzar esta meta.

A Zuleyma que me ha dado ánimo cuando más lo he necesitado, juntas logramos el objetivo propuesto. Gracias a Dios por su valiosa amistad.

A mi familia y amigos que de alguna manera colaboraron con el logro de esta meta, que me dieron palabras de aliento y ayuda desinteresada.

A nuestro asesor Dr. Orlando Canjura que siempre ha estado disponible para ayudarnos y orientarnos durante todo el proceso

Gloria Cecilia Menjivar de Sagastume

AGRADECIMIENTOS

A Dios y María Auxiliadora, por darme paciencia, perseverancia, fortaleza y sabiduría para alcanzar este triunfo.

A mis padres, Delmy y Armando, por su apoyo incondicional y dedicación durante toda mi vida.

A mi esposo, Orlando, por su comprensión, apoyo, consejo y siempre animarme para culminar este objetivo.

A toda mi familia, por siempre creer en mí y tener una palabra de ánimo justo cuando lo necesitaba.

A mi compañera y amiga, Cecilia, por su invitación a elaborar el trabajo juntas, ya que esto nos encaminó a convivir más, apoyarnos y comprendernos, para finalmente lograr nuestro objetivo.

Finalmente, al asesor de este trabajo de investigación, Dr. Orlando Canjura, que nos brindó sus conocimientos, consejos y su apoyo incondicional durante todo el proceso, tanto en lo académico como en lo administrativo.

Zuleyma Yamileth Solano de Navarrete

ÍNDICE DE CONTENIDO

IV	RESUMEN	16
V	INTRODUCCIÓN	17
VI	FUNDAMENTO TEÓRICO	19
6.1	Biodisponibilidad	19
6.2	Bioequivalencia	20
6.3	Métodos para documentar la biodisponibilidad y la bioequivalencia	21
6.3.1	Estudios farmacocinéticos	21
6.3.2	Estudios farmacodinámicos	22
6.3.3	Estudios clínicos comparativos	22
6.3.4	Estudios in vitro	23
6.4	Estudios de disolución (in vitro)	23
6.4.1	Tiempo de disolución	23
6.4.2	Teoría y mecanismo de disolución	26
6.4.3	Tiempo de disolución intrínseco	26
6.4.4	Factores influyentes en el tiempo de disolución	31
6.4.5	Prueba de disolución	31
6.5	Correlación in vivo – in vitro	35
6.6	Definición de correlación in vivo-in vitro	36
6.7	Bioexención	37
6.7.1	Criterios recomendados para la excepción de la evidencia de biodisponibilidad o bioequivalencia in vivo	37
6.7.2	Biodisponibilidad o bioequivalencia demostrada por evidencias obtenidas in vitro en lugar de datos in vivo	40
6.8	Sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB)	41
6.8.1	Solubilidad	42

6.8.2	Permeabilidad	42
6.8.3	Disolución	43
6.9	Metodología para clasificar principios activos y determinar características de disolución de medicamentos	44
6.9.1	Determinación de la clasificación para solubilidad de principios activos	44
6.9.2	Determinación de la clasificación para permeabilidad de principios activos	45
6.9.3	Determinación de características de disolución y similitud de los perfiles de disolución del medicamento	50
6.10	Métodos matemáticos empleados en la comparación de perfiles de disolución	51
6.10.1	Método dependiente de modelo	52
6.10.2	Procedimiento de región de certeza multivariado independiente de modelo	53
6.10.3	Enfoque independiente de modelo utilizando un factor de similitud	53
6.11	Uniformidad de unidades de dosificación	56
6.12	Cromatografía líquida de alta eficiencia	59
6.12.1	Equipo	60
6.12.2	Procedimiento de operación	63
6.12.3	Aptitud del sistema	64
6.13	Características y propiedades del medicamento a estudiar	67
6.13.1	Mecanismo de acción	68
6.13.2	Farmacocinética y metabolismo	69
VII	METODOLOGÍA	71
7.1	Delimitación de la investigación	71
7.2	Diseño de pruebas in vitro	71
7.2.1	Equipos	71
7.2.2	Reactivos	72
7.2.3	Preparación de reactivos	72

	7.2.4 Condiciones cromatográficas	73
	7.2.5 Determinación de solubilidad	74
	7.2.6 Determinación de perfiles de disolución	75
	7.2.7 Determinación de pruebas adicionales	77
VIII	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	85
IX	CONCLUSIONES	137
X	RECOMENDACIONES	139
XI	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	140
XII	ANEXOS	143

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Área superficial humedecida	25
Figura 2	Flujo de solvente en superficie del disco	27
Figura 3	Difusión en capa	29
Figura 4	Solución acuosa de ácido 2-naftoico 0.5M a 25°C	30
Figura 5	Canasta elemento de agitación	33
Figura 6	Paleta elemento de agitación	34
Figura 7	Gráfico de perfil de disolución en ácido clorhídrico del medicamento propranolol clorhidrato	54
Figura 8	Parámetros cromatográficos; tiempo de retención y factor de capacidad	59
Figura 9	Diagrama de equipo HPLC	60
Figura 10	Bomba (componente de equipo HPLC)	61
Figura 11	Inyector de automuestreador (componente de equipo HPLC)	61
Figura 12	Columnas para equipos HPLC	62
Figura 13	Detector ultravioleta (componente de equipo HPLC)	63
Figura 14	Esquema con parámetros cromatográficos; factor de asimetría	66
Figura 15	Estructura molecular de enalapril maleato	67
Figura 16	Cromatograma de estándar de concentración 0.08 mg/mL en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	86
Figura 17	Cromatograma de muestra en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	88
Figura 18	Cromatograma de estándar de concentración 5.56 mcg/ mL en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	91
Figura 19	Cromatograma – tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	93

Figura 20	Gráfico de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	94
Figura 21	Cromatograma de estándar de concentración 5.56 mcg/ mL en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	96
Figura 22	Cromatograma – tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	98
Figura 23	Gráfico de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	99
Figura 24	Gráfico de perfil de disolución de medicamento de referencia versus medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	100
Figura 25	Cromatograma de estándar de concentración 5.56 mcg/ mL en solución buffer pH 4.5	102
Figura 26	Cromatograma – tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5	104
Figura 27	Gráfico de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5	105
Figura 28	Cromatograma de estándar de concentración 5.56 mcg/ mL en solución buffer pH 4.5	107
Figura 29	Cromatograma – tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 4.5	109
Figura 30	Gráfico de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 4.5	110
Figura 31	Gráfico de perfil de disolución de medicamento de referencia versus medicamento de prueba en solución buffer pH 4.5	111
Figura 32	Cromatograma de estándar de concentración 5.56 mcg/ mL	

	en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	113
Figura 33	Cromatograma – tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	115
Figura 34	Gráfico de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	116
Figura 35	Cromatograma de estándar de concentración 5.56 mcg/ mL en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	118
Figura 36	Cromatograma – tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	120
Figura 37	Gráfico de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	121
Figura 38	Gráfico de perfil de disolución de medicamento de referencia versus medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	123
Figura 39	Cromatograma de estándar de compuestos relacionados	124
Figura 40	Cromatograma de medicamento de referencia para compuestos relacionados	125
Figura 41	Cromatograma de medicamento de prueba para compuestos relacionados	127
Figura 42	Cromatograma de solución de aptitud del sistema	129
Figura 43	Cromatograma de solución estándar 0.2 mg/mL	130
Figura 44	Cromatograma de medicamento de referencia para ensayo	131
Figura 45	Cromatograma de solución estándar 0.2 mg/mL	132
Figura 46	Cromatograma de medicamento de prueba para ensayo	133
Figura 47	Cromatograma de uniformidad de contenido de medicamento	

	de referencia	135
Figura 48	Cromatograma de uniformidad de contenido de medicamento	
	de prueba	136

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Estándar de concentración 0.08 mg/ mL en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	85
Tabla 2	Resumen de estándares de concentración 0.08 mg/mL	87
Tabla 3	Muestra de concentración 0.08mg/mL en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	87
Tabla 4	Resumen de muestras	89
Tabla 5	Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de disolución – solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	90
Tabla 6	Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	92
Tabla 7	Resumen de resultados de medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	94
Tabla 8	Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de disolución en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	95
Tabla 9	Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	97
Tabla 10	Resumen de resultados de medicamento de Prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	99
Tabla 11	Cálculo para factor de similitud y factor de diferencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	100
Tabla 12	Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de	

	disolución en solución buffer pH 4.5	101
Tabla 13	Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5	103
Tabla 14	Resumen de resultados de medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5	105
Tabla 15	Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de Disolución en solución buffer pH 4.5	106
Tabla 16	Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 4.5	108
Tabla 17	Resumen de resultados de medicamento de prueba en solución buffer pH 4.5	110
Tabla 18	Cálculo para factor de similitud y factor de diferencia en solución buffer pH 4.5	111
Tabla 19	Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de disolución en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	112
Tabla 20	Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	114
Tabla 21	Resumen de resultados de medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	116
Tabla 22	Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de disolución en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	117
Tabla 23	Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	119
Tabla 24	Resumen de resultados de medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	121
Tabla 25	Cálculo para factor de similitud y factor de diferencia en	

	solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	122
Tabla 26	Áreas de 5 inyecciones repetidas de estándar de compuestos relacionados	124
Tabla 27	Áreas de medicamento de referencia en compuestos relacionados	125
Tabla 28	Resultados de medicamento de referencia en compuestos relacionados	126
Tabla 29	Áreas de medicamento de prueba en compuestos relacionados	126
Tabla 30	Resultados de medicamento de prueba en compuestos relacionados	127
Tabla 31	Resultados de solución de aptitud del sistema	128
Tabla 32	Áreas de 5 inyecciones repetidas de estándar	130
Tabla 33	Porcentaje sobre lo rotulado y mg/ tableta de medicamento de referencia	131
Tabla 34	Áreas de 5 inyecciones repetidas de estándar	132
Tabla 35	Porcentaje sobre lo rotulado y mg/ tableta de medicamento de prueba	133
Tabla 36	Porcentaje de diferencia en ensayo	134
Tabla 37	Resultado de uniformidad de contenido de medicamento de referencia	134
Tabla 38	Resultado de uniformidad de contenido de medicamento de prueba	135

RESUMEN

El enalapril maleato, un pro-fármaco del enalaprilat diseñado para su administración oral, es un inhibidor de la enzima de conversión de la angiotensina (ECA), una peptidil-dipeptidasa que cataliza la conversión de la angiotensina I a la angiotensina II, sustancia vasoconstrictora. La angiotensina II también estimula la secreción de aldosterona por la corteza suprarrenal. El principio activo enalapril maleato se utiliza para controlar la hipertensión y la insuficiencia cardíaca. El objetivo de esta investigación fue estudiar la equivalencia terapéutica in vitro del medicamento enalapril maleato 20 mg tableta, de formulación nacional, utilizando cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Además, se determinó experimentalmente la solubilidad de la materia prima, se efectuaron pruebas adicionales de compuestos relacionados, ensayo y uniformidad de unidades de dosificación para complementar los perfiles de disolución. Finalmente se correlacionaron los datos experimentales con el producto de referencia Renitec 20 mg tableta, concluyendo que el medicamento prueba de fabricación nacional no es equivalente terapéutico del medicamento de referencia.

INTRODUCCIÓN

Para medir la biodisponibilidad y establecer la bioequivalencia en una forma farmacéutica sólida de liberación inmediata, se pueden utilizar varios métodos in vivo e in vitro. En orden de preferencia descendente, estos métodos incluyen estudios farmacocinéticos, farmacodinámicos, clínicos y perfiles de disolución in vitro [1].

La absorción de un fármaco desde una forma de dosificación sólida, tras la administración oral, depende de la liberación del principio activo en el producto medicinal, la disolución o solubilización del fármaco bajo condiciones fisiológicas y la permeabilidad por el sistema gastrointestinal. Debido a la naturaleza crítica de los primeros dos pasos, la disolución in vitro puede ser relevante para la predicción del rendimiento in vivo.

La disolución in vitro es la prueba fisicoquímica más usada para estimar la liberación del principio activo a partir de la forma dosificada, útil para evaluar la variabilidad interlote en cuanto a características de liberación y, en algunos casos, para predecir la biodisponibilidad (BA) y bioequivalencia (BE) de los productos utilizando diferentes medios de disolución en condiciones similares a las que puede encontrar un fármaco dentro del organismo.

Por la estrecha relación existente entre la velocidad de disolución de la droga in vitro y la absorción in vivo, se consideraba al estudio de disolución como el criterio necesario y suficiente para permitir la comercialización de un producto. Pero hay que tener en cuenta que el estudio de disolución in vitro no puede sustituir al estudio de bioequivalencia, hasta tanto no sea relacionado con datos in vivo. Esto quiere decir que es un error dar por sentado la bioequivalencia entre dos formulaciones, solo por la similitud encontrada en los perfiles de disolución in vitro o la bioinequivalencia en caso de perfiles diferentes [2].

Con base en esta consideración, las pruebas de disolución in vitro se utilizan para las formas de dosificación oral sólidas, como comprimidos y cápsulas, para evaluar la calidad de un producto medicinal lote a lote, guiar el desarrollo de nuevas formulaciones, asegurar la calidad y el rendimiento del producto después de ciertos cambios, tales como: cambios en la formulación, el proceso de fabricación, el sitio de fabricación y el aumento en escala del proceso de fabricación.

Para el desarrollo de estos ensayos es primordial el conocimiento acerca de la solubilidad, permeabilidad, disolución y farmacocinética de un producto medicinal al definir las especificaciones de las pruebas de disolución para el fármaco [3]. La base utilizada para establecer las especificaciones de disolución in vitro es el sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB).

En el presente trabajo se establece el proceso mediante el cual se debe ejecutar y documentar un estudio de equivalencia terapéutica in vitro para comprimidos comerciales de enalapril maleato, utilizando perfiles de disolución basados en el sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB).

El enalapril está clasificado dentro del SCB como clase III: alta solubilidad – baja permeabilidad, por lo que aplica para bioexención, es decir, que se puede demostrar la equivalencia terapéutica mediante estudios in vitro [4]. Además este presenta un estudio de bioequivalencia y biodisponibilidad in vivo en el producto líder o innovador Renitec® del laboratorio farmacéutico Merck [5].

Esta propuesta inicia con el planteamiento del problema:

¿"Existe equivalencia terapéutica in vitro en las tabletas de enalapril maleato 20 mg de producción nacional", justificando de esta manera el estudio de perfiles de disolución?

En los antecedentes se muestran ejemplos de estudios anteriormente realizados, y en el fundamento teórico las herramientas para que se realice un estudio de equivalencia terapéutica in vitro utilizando perfil de disolución.

FUNDAMENTO TEÓRICO

La farmacoterapia consiste en el empleo de principios activos, en diversas formas farmacéuticas, lo cual tiene como preámbulo una serie de estudios, entre ellos biodisponibilidad, bioequivalencia, farmacocinéticos, farmacodinámicos, entre otros, hasta llegar a su aplicación dosificada.

6.1 Biodisponibilidad

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la biodisponibilidad como la razón y extensión mediante la cual la porción activa, de una forma farmacéutica de dosificación, es absorbida y se encuentra disponible en el sitio de acción. La cuantificación del principio activo generalmente no es posible en el sitio de acción. El principio activo se encuentra en la circulación general y se considera que mantiene un equilibrio con la concentración en el sitio de acción [4].

Para medir o evaluar la biodisponibilidad de formas farmacéuticas sólidas, que no están destinadas a ser absorbidas en el torrente sanguíneo, se utilizan parámetros que reflejen la velocidad y la concentración del ingrediente activo disponible en el sitio de acción.

Desde una perspectiva farmacocinética, los datos de biodisponibilidad para una formulación dada proveen un cálculo de la fracción relativa de la dosis administrada oralmente, absorbida en la circulación sistémica, cuando se comparan con los datos de biodisponibilidad para una formulación farmacéutica en solución, suspensión o intravenosa. Además, los estudios de biodisponibilidad proveen otra información farmacocinética en relación con la distribución, la eliminación, los efectos de los nutrientes en la absorción del fármaco, la proporcionalidad de la dosis, la linealidad farmacocinética de las fracciones activas y, donde corresponda, las fracciones inactivas.

Los datos de biodisponibilidad también pueden proveer información indirecta acerca de las propiedades de una sustancia del fármaco antes de entrar en la circulación sistémica, tal como la permeabilidad y la influencia de enzimas y transportadores presistémicos como la glucoproteína-p [6].

Se puede documentar la biodisponibilidad para productos farmacéuticos administrados oralmente desarrollando perfiles de exposición sistémica, mediante la medición de la concentración de ingredientes activos o fracciones activas y, cuando corresponda, sus metabolitos. Los patrones de exposición sistémica reflejan tanto la liberación de la sustancia farmacológica del medicamento, así como una serie de posibles acciones presistémicas o sistémicas después de la liberación del fármaco. Se deberían realizar estudios comparativos adicionales para entender la contribución relativa de estos procesos al patrón de exposición sistémica [6].

6.2 Bioequivalencia

La OMS define: dos productos farmacéuticos como bioequivalentes si ellos son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas; y son biodisponibles en términos de C_{max} (concentración máxima), T_{max} (tiempo máximo de absorción) y ABC (área bajo la curva) termino que refleja la cantidad total de fármaco que alcanza la circulación sistémica y relaciona las variaciones de la concentración plasmática en función del tiempo. De tal forma que después de la administración de la misma dosis molar bajo las mismas condiciones son similares, al grado que sus efectos pueden ser esencialmente los mismos [4].

También, la Administración de Drogas y Alimentos (FDA por sus siglas en inglés "Food and Drugs Administration") define la bioequivalencia como "la ausencia de una diferencia significativa en la velocidad y medida en que el ingrediente activo, o la fracción activa de equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas, se hace disponible en el sitio de acción farmacológico, cuando se administra en la misma dosis molar, con la misma cantidad de agua, en condiciones similares de salud, ayuno, sexo y edad de sujetos de prueba, bajo un estudio clínico apropiado".

Según las definiciones, tanto la bioequivalencia como la biodisponibilidad del producto se enfocan en la liberación del ingrediente activo y su absorción posterior en la circulación sistémica [6].

6.3 Métodos para documentar la biodisponibilidad y la bioequivalencia.

Para medir la biodisponibilidad y establecer la bioequivalencia, de las formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata, se pueden utilizar varios métodos in vivo e in vitro. En orden descendente de preferencia estos métodos incluyen: estudios farmacocinéticos, estudios farmacodinámicos, estudios clínicos y estudios in vitro. La biodisponibilidad depende de la calidad de producto y la bioequivalencia depende con frecuencia de medidas farmacocinéticas tales como ABC y C_{max} que reflejan la exposición sistémica [6].

6.3.1 Estudios farmacocinéticos

Las definiciones de biodisponibilidad y bioequivalencia, expresadas en términos de velocidad y medida de absorción del ingrediente activo o la fracción activa en el sitio de acción, enfatizan el uso de medidas farmacocinéticas en una matriz biológica accesible como la sangre, el plasma o el suero, para indicar la liberación de la sustancia farmacológica del medicamento en la circulación sistémica. Este enfoque se apoya en que por lo general no es posible medir la fracción activa o el ingrediente activo en el sitio de acción y, además en que existe cierta relación entre la eficacia/inocuidad y la concentración de la fracción activa, su metabolito o metabolitos importantes en la circulación sistémica.

Para medir la biodisponibilidad basada en la calidad del producto y establecer la bioequivalencia se podrá considerar la confianza de las mediciones farmacocinéticas, como un bioensayo que evalúa la liberación de la sustancia farmacológica del medicamento en la circulación sistémica.

Un estudio típico es el estudio cruzado, en éste se supone que la eliminación, el volumen de distribución y la absorción, según lo determinado por variables fisiológicas,

tales como; vaciado gástrico, movilidad y pH, tienen menos variabilidad en ocasiones, comparadas con la variabilidad que resulta de la formulación del comprimido propiamente dicho. Por lo tanto, se pueden determinar diferencias entre los dos productos debido a factores de formulación [6].

6.3.2 Estudios farmacodinámicos

La farmacodinamia está definida como el proceso por el cual se lleva a cabo el mecanismo de acción del principio activo (droga) con los receptores en el organismo [19].

No se recomiendan estudios farmacodinámicos para productos farmacéuticos de administración oral cuando el fármaco se absorbe en la circulación sistémica. Se puede utilizar un enfoque farmacocinético para evaluar la exposición sistémica y establecer la bioequivalencia. Sin embargo, en aquellos casos donde no es posible un enfoque farmacocinético, se podrán utilizar métodos farmacodinámicos validados adecuadamente para demostrar la bioequivalencia [6].

6.3.3 Estudios clínicos comparativos

Cuando no existan otros medios, los ensayos clínicos bien controlados en seres humanos pueden ser útiles para proveer evidencia de apoyo a la biodisponibilidad o bioequivalencia. Sin embargo, por lo general se considera insensible el uso de ensayos clínicos comparativos como enfoque para demostrar la bioequivalencia y deberá evitarse en lo posible. El uso de estudios de bioequivalencia con criterios de valoración de ensayos clínicos, puede ser apropiado para demostrar la bioequivalencia de productos farmacéuticos de administración oral, cuando no es viable la medición de los ingredientes activos o las fracciones activas en un fluido biológico accesible utilizando enfoque farmacocinético o no se puedan estudiar los mecanismos de acción relacionando la concentración del fármaco y el efecto de éste sobre un organismo con un enfoque farmacodinámico [6].

6.3.4 Estudios in vitro

En determinadas circunstancias, se puede documentar la bioequivalencia y la biodisponibilidad de calidad del producto utilizando enfoques *in vitro*. Para productos farmacéuticos altamente solubles, altamente permeables, de disolución rápida, administrados oralmente, la documentación de bioequivalencia utilizando un enfoque *in vitro* (estudios de perfiles de disolución) es apropiado con base en el sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB) [6].

También se utilizan las pruebas de disolución para evaluar la calidad de lote a lote, donde el enfoque puede convertir una de las pruebas, con procedimientos definidos, en una especificación del fármaco para permitir la liberación de los lotes. También se utilizan las pruebas de disolución para proveer control de procesos y seguridad cualitativa, y evaluar la necesidad de estudios de bioequivalencia adicionales relacionados con cambios menores posteriores a la aprobación de la FDA, donde la disolución puede funcionar como señal de bioinequivalencia [6].

La caracterización por disolución *in vitro* se recomienda para todas las formulaciones de productos investigados (incluso formulaciones prototipo), particularmente si se están definiendo las características de absorción *in vivo* para las diversas formulaciones de los productos. Es posible que tales esfuerzos permitan establecer una correlación *in vitro-in vivo*. Cuando hay una correlación o asociación *in vitro-in vivo* disponible, la prueba *in vitro* puede servir no sólo de especificación de control de calidad para el proceso de fabricación, sino también de indicador del desempeño del producto *in vivo* [6], cuyos aspectos se plantean en el siguiente apartado.

6.4 Estudios de disolución (in vitro).

6.4.1 Tiempo de disolución.

La evaluación del tiempo de disolución de productos farmacéuticos sólidos es extremadamente importante en el desarrollo, formulación y control de calidad de éstos.

Puede ser medido experimentalmente, teóricamente con un modelo, y en algunas ocasiones puede predecirse por las propiedades fisicoquímicas del sistema.

Existe variedad de métodos y equipos para determinar el tiempo de disolución de formas farmacéuticas orales de disolución inmediata, los cuales están incluidos en un gran número de procedimientos estandarizados y definidos por la farmacopea de los Estados Unidos (USP, por sus siglas en inglés: United States Pharmacopeia), entre ellos los más utilizados son: aparato de disolución 1, aparato de disolución 2 (Ver figuras 5 y 6), aparato de disolución de flujo continuo, entre otros [14].

El tiempo de disolución de un sólido puede ser definido como dm/dt , donde m es la masa (g) de sólido disuelta en un tiempo t (s).

En el método de disolución de lote, la concentración de soluto disuelto en un tiempo t , c_t (g/mL) analizada, es representativa del volumen, V (mL), del medio de disolución, así:

$$m = Vc_t \quad (1)$$

y

$$dm/dt = V(dc_t/dt) \quad (2)$$

El método de disolución para evaluación de lotes es simple de operar y puede ser reproduciblemente estandarizado, pero tiene las siguientes desventajas:

- a. La hidrodinámica es usualmente caracterizada pobremente, con la excepción del método de disco.
- b. Un pequeño cambio en el tiempo de disolución puede crear una indetectable perturbación en la curva del tiempo de disolución.
- c. La concentración del soluto disuelto c_t puede no ser uniforme en el volumen de la solución V [14].

Noyes y Whitney encontraron que cuando se usa el método de disolución para evaluación de lotes, la concentración de soluto disuelto c_t incrementa con el tiempo siguiendo una cinética de primer orden ($dx/dt = k(a-x)$) [14]:

$$dm/dt = k_{nw}(c_s - c_t) \quad (3)$$

Donde k_{nw} (1/s) es la constante de proporcionalidad de Noyes y Whitney, y c_s (g/mL), es la concentración de saturación del soluto (solubilidad máxima).

Combinando las ecuaciones anteriores se obtiene:

$$dm/dt = k_{nw}V(c_s - c_t) \quad (4)$$

Para una disolución cuando $t = 0$, entonces c_t es un valor alrededor del 5-10 porcentaje de c_s , la presunción $c_t \ll c_s$ es válida. En estas circunstancias se encuentran las "Condiciones Sink" [14], entonces:

$$(dm/dt)_{t \rightarrow 0} = (dc_t/dt)_{t \rightarrow 0} V = k_{nw}Vc_s \quad (5)$$

El tiempo de disolución que posee un sólido usualmente es proporcional al área superficial humedecida $A(\text{cm}^2)$ que se está disolviendo, como se observa en la figura 1.

$$dm/dt \propto A \quad (6)$$

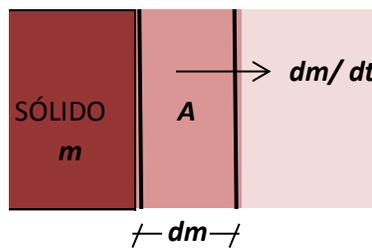


Figura 1- Área superficial humedecida

El tiempo de disolución por unidad del área superficial es el **flujo de la masa, J** ($\text{mg}/\text{cm}^2\text{s}$), usualmente llamada "tiempo de disolución intrínseco" que en las ciencias farmacéuticas está dado por,

$$J = (dm/dt)1/A \quad (7)$$

De las ecuaciones (4) y (7) se definen las condiciones constantes,

$$J = (dm/dt)1/A = k_{nw}V(c_s - c_t)1/A \quad (8)$$

El coeficiente de transferencia de masa, k_1 (cm/s) tiene dimensiones de longitud/tiempo relacionado a k_{nw} , y se define de la siguiente manera

$$k_1 = K_{nw}V/A \quad (9)$$

Sustituyendo en la ecuación (8), se obtiene

$$J = (dm/dt)1/A = k_1(c_s - c_t) \quad (10)$$

Bajo condiciones sink, $c_t \ll c_s$, entonces,

$$J_{t \rightarrow 0} = (dm/dt)_{t \rightarrow 0} (1/A) = k_1 c_s \quad (11)$$

Las ecuaciones (10) y (11) son aplicables generalmente en mecanismos independientes de disolución.

6.4.2 Teoría y mecanismo de disolución.

Existen varios mecanismos que tienen como propósito la disolución de los sólidos, el más común de estos es cuando se forma una película delgada de una solución saturada de concentración c_b , dando como resultado una interface sólido-líquido, que al mezclarse bien genera una concentración disuelta del sólido en un tiempo específico.

6.4.3 Tiempo de disolución intrínseco.

Los tiempos de disolución intrínsecos de las formas farmacéuticas sólidas pueden ser calculados por el tiempo de disolución utilizando la superficie del área.

Para sólidos pulverizados, los métodos son dos:

- a. Método de tiempo de disolución intrínseca del "polvo"
- b. Método de tiempo de disolución intrínseca del "disco"

En el método del disco, el polvo está comprimido por un procedimiento para producir discos compactos o tabletas. El disco expuesto se somete a una velocidad de rotación constante en el medio de disolución.

Para este propósito el disco debe ser colocado en un recipiente adecuado, es decir en un vaso de disolutor.

El tiempo de disolución, representado por dm/dt , en el método para evaluación de lotes, es determinado cuando la superficie del disco queda expuesta a humectación por el medio de disolución. La apariencia de los sólidos que forman parte de los discos antes de ser compactados se han comparado con los sólidos residuales después de la prueba de disolución con un difractor de rayos-X. Los sólidos residuales pueden sufrir cambios de fase, incluyendo polimorfismo, formación de solvatos o sólidos amorfos.

El tiempo de disolución de un sólido en el "método de disco rotante" está determinado por el control de la hidrodinámica del sistema y es tratada teóricamente por Levich, esta teoría considera una fuerza de convección debido a la rotación e ignora la convección natural, la que puede ocurrir a bajas velocidades de rotación [14].

En la figura 2 se muestra como el flujo de solvente pasa cerca de la superficie del disco [14].

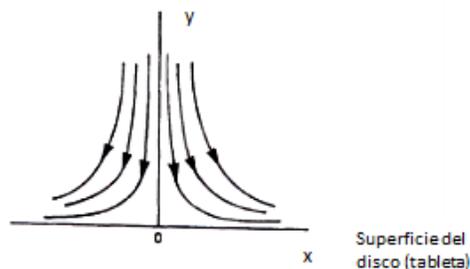


Figura 2 - Flujo de solvente en superficie del disco [14]

El espesor aparente, h (cm), de la capa de difusión de la nueva superficie del disco viene dada por la siguiente ecuación:

$$h = 1.612(cm)D^{1/3} \nu^{1/6} \omega^{-1/2} \quad (12)$$

Donde: D (cm²/s) es el coeficiente de difusión de la primera ley de Fick, ω (rad/s) es la velocidad angular del disco, y ν (cm²/s) es la viscosidad cinemática del fluido que mide el esfuerzo cortante y el gradiente de velocidad, teniendo en cuenta también la densidad del fluido, viene dada por:

$$\nu = \eta/\rho \quad (13)$$

Donde: η (g/cm s) es la viscosidad dinámica la cual mide el esfuerzo cortante con el gradiente de velocidad y ρ (g/cm³) es la densidad del fluido.

Si la velocidad de rotación de los discos es expresada como frecuencia de agitación W (revoluciones/s),

$$\omega = 2\pi W \quad (14)$$

Entonces:

$$h = 0.643(cm)D^{1/3} \nu^{1/6} W^{-1/2} \quad (15)$$

El espesor actual δ (cm) de la difusión en capa corresponde a un decremento no lineal en c (g/ mL), con un incremento en x (Figura 3) y es proporcional al espesor aparente, h (cm); entonces,

$$h = 0.893\delta \quad (16)$$

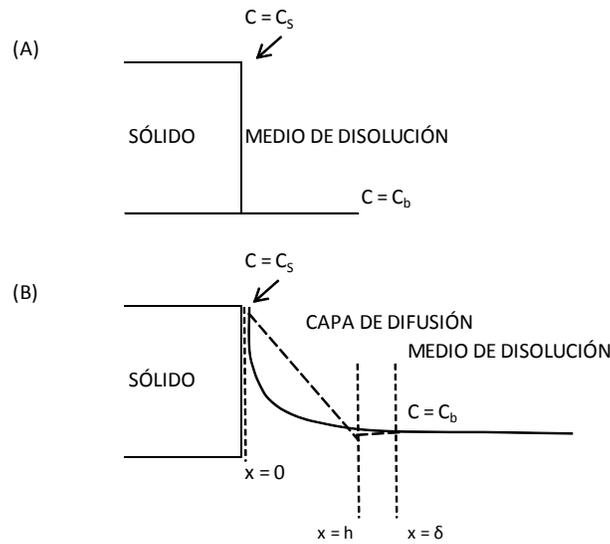


Figura 3 - Difusión en capa [14]

Teniendo en cuenta que el tiempo de disolución, ahora, se expresa como:

$$J = (dm/dt (1/A) = -D/h(c_s - c_t) \quad (17)$$

Donde: A (cm²) es la superficie del área del sólido disuelto y D (cm²/s) es la difusividad (coeficiente de difusión) del soluto disuelto.

Por otra parte, la relación de masas será:

$$M^{1/3} - M_o^{1/3} = k_{HC}t \quad (18)$$

Donde: M (mg) es la masa del polvo no disuelto a un tiempo t (s), M_o (mg) es la masa original del polvo en un tiempo $t = 0$, y $k_{HC}t$ (mg) es la constante de tiempo de disolución de Hixon-Crowell para partículas esféricas de igual tamaño, lo cual se asume y se expresa por:

$$k_{HC}t = 2Dc_sM_o^{1/3}/hd \quad (19)$$

Donde d (cm) es el diámetro de partícula en un tiempo $t = 0$.

Eliminando h (cm) en las ecuaciones (17), (18) y (15) se tiene la siguiente expresión del tiempo de disolución intrínseco (J):

$$J = 0.620D^{2/3}v^{1/6}(c_s - c_t)\omega^{1/2} \quad (20)$$

Donde: w (rad/s) es la velocidad angular:

$$J = 1.555D^{2/3}v^{1/6}(c_s - c_t)W^{1/2} \quad (21)$$

Donde: W (revoluciones/s) es la frecuencia de agitación.

La dependencia de J sobre $\omega^{1/2}$ es predicha por la ecuación anterior (20), ilustrada en la figura 4, para el ácido 2-naftoico disuelto en solución acuosa teniendo una fuerza iónica de 0.5M a 25°C. Las dos ecuaciones anteriores (20) y (21) muestran la difusividad del soluto a medir [14].

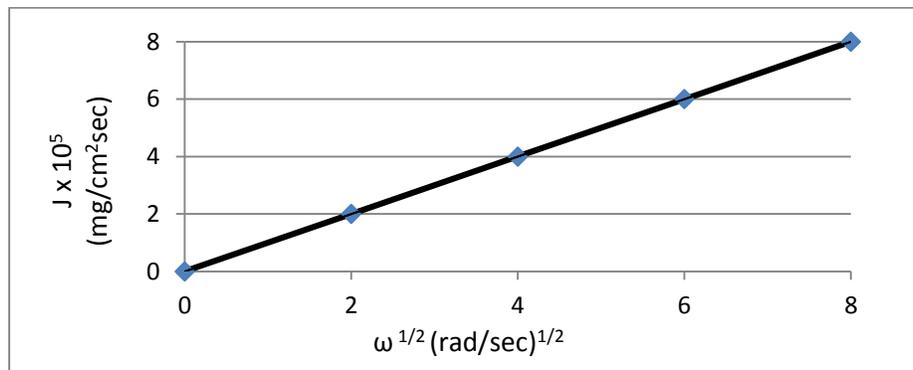


Figura 4 – Gráfico de solución acuosa de ácido 2-naftoico 0.5M a 25°C [14]

La difusividad, D , de una partícula es inversamente proporcional a su radio, r , de acuerdo a la ecuación de Stokes-Einstein.

$$D = kT/6\pi\eta r \quad (22)$$

Donde k es la constante de Boltzmann, T es la temperatura absoluta, y η es la viscosidad dinámica [14].

6.4.4 Factores influyentes en el tiempo de disolución.

Como se ha mencionado anteriormente hay muchos factores que influyen en el tiempo de disolución, algunos de los cuales pueden resumirse así:

- a. solubilidad del sólido, c_s , y la temperatura, T .
- b. Concentración del principio activo en el vaso de disolución, si no está bajo condiciones sink, ecuación (4).
- c. El volumen, V , del medio de disolución en un método de disolución para evaluación de lotes, ecuación (4).
- d. Área superficial humedecida, la cual es medida a diferentes tiempos de disolución, ecuación (7).
- e. Condiciones en el medio de disolución.

Las condiciones en el medio de disolución pueden influenciar en el tiempo de disolución como sigue:

- El tiempo de agitación, el tipo de agitación o el flujo del solvente.
- La difusividad del soluto disuelto.
- La viscosidad dinámica o cinemática y la densidad.
- La concentración y pH del buffer, y los valores de pKa del sólido disuelto y el buffer. Estos factores pueden ser sumados.
- Formación de complejos entre el soluto disuelto y la interacción de un ligando, o la solubilización del disolvente por una superficie activa del agente en solución. Cada uno de estos fenómenos tienden a incrementar el tiempo de disolución [14].

6.4.5 Prueba de disolución

Está diseñada para determinar el cumplimiento con los requerimientos de disolución establecidos en la monografía individual (procedimiento analítico por principio activo y forma farmacéutica) incluida en la farmacopea vigente, e incluye los siguientes componentes [15].

6.4.5.1 Equipo

Actualmente existen 7 diferentes configuraciones en el equipo disolutor para realizar la prueba de disolución, los cuales se listan a continuación:

1. Aparato 1: canasta
2. Aparato 2: paleta
3. Aparato 3: cilindro reciprocante
4. Aparato 4: celda de flujo continuo
5. Aparato 5: paleta sobre disco
6. Aparato 6: cilindro giratorio
7. Aparato 7: disco reciprocante

Para las formas de dosificación, tableta o cápsula se utilizan los aparatos 1 y 2.

Aparato 1

Consiste en un depósito o vaso de vidrio u otro material inerte transparente; un motor; un eje o barra móvil metálica; y una canasta cilíndrica.

Los vasos están sumergidos parcialmente en un baño de agua de tamaño adecuado para mantener la temperatura dentro del vaso a 37 ± 0.5 °C durante la prueba, es recomendable que el ensamble del equipo permita visualizar la unidad que se examina. El vaso es cilíndrico, con un fondo hemisférico, si tiene capacidad de un litro las dimensiones son: altura entre 160 mm y 210 mm con un diámetro interior entre 88 y 106 mm. Si la capacidad es de dos litros, las dimensiones son: altura entre 280 y 300 mm, diámetro interior entre 145 y 155 mm. Es conveniente una tapadera ajustada, para disminuir la evaporación.

La barra y la canasta tienen que ser de acero inoxidable tipo 316 o equivalente y las dimensiones están detalladas en la figura 5.

La barra tiene que tener una posición de no más de 2 mm del eje vertical del vaso y una rotación suave sin desviarse.

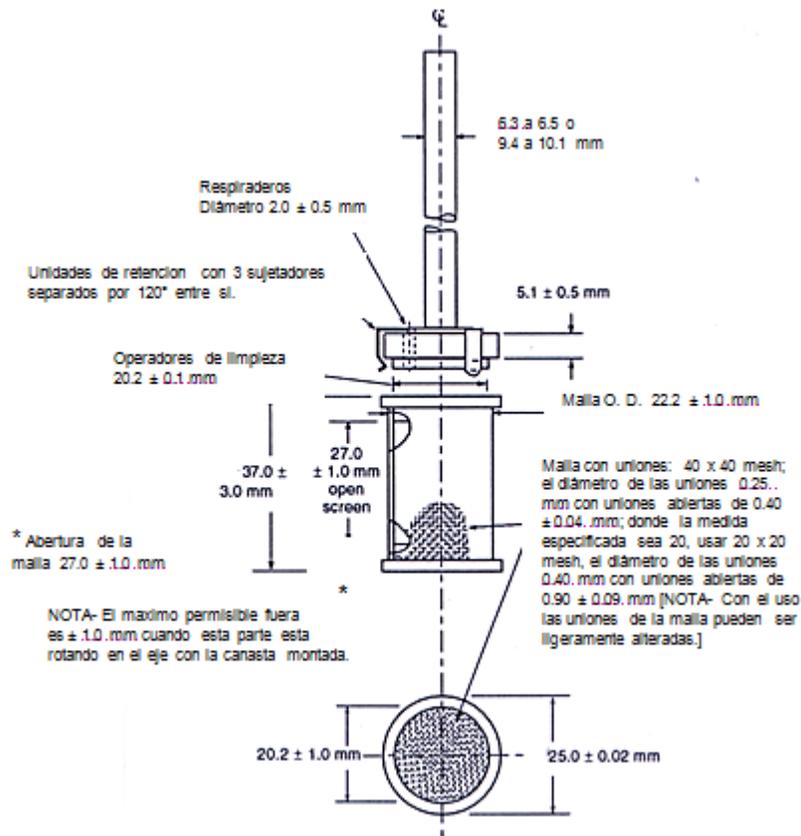


Figura 5 - Canasta elemento de agitación [15]

Aparato 2

Se utiliza el ensamble del aparato 1, excepto que consiste en una paleta formada por una barra y una hélice, las cuales se usan como elemento de agitación, estas tienen que ser de acero inoxidable tipo 316 o equivalente y las dimensiones están detalladas en la figura 6.

La distancia entre la hélice y el fondo interior del vaso debe ser $25 \pm 2 \text{ mm}$ y debe mantenerse durante la realización de la prueba. La unidad de dosis se deja caer para que descienda a la parte inferior interna del vaso antes de iniciar la rotación de la paleta. Una pequeña pieza de material no reactivo en forma de espiral se puede colocar a la unidad de dosis para que no flote.

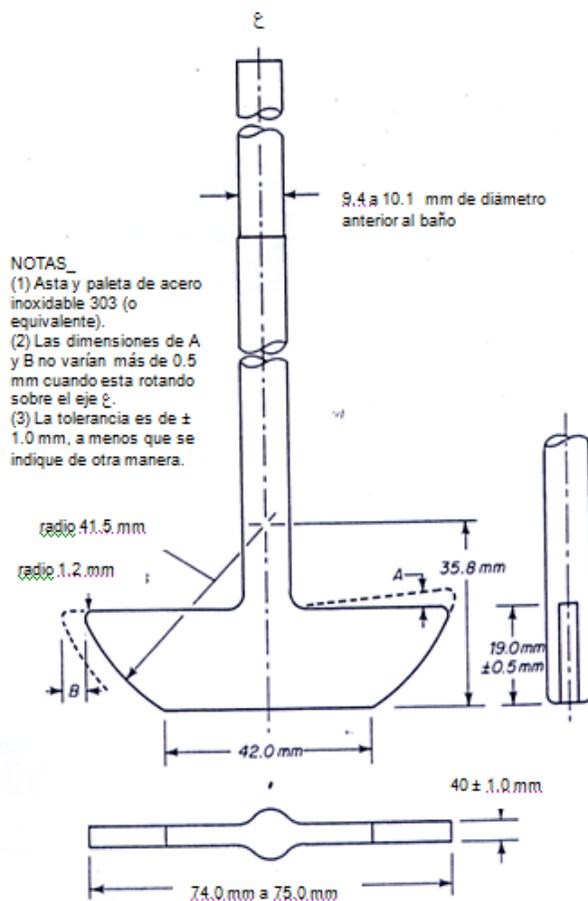


Figura 6 - Paleta elemento de agitación [14]

6.4.5.2 Medio de disolución

Se utiliza el medio especificado en la monografía individual. Si el medio de disolución es una solución buffer, ajustar el pH de la solución dentro de ± 0.05 unidades de pH.

6.4.5.3 Tiempo

Cuando se especifique un tiempo, la prueba debe concluir en un periodo único si los requerimientos para una mínima cantidad disuelta se cumplen. Si dos o más tiempos son especificados, las muestras deben ser extraídas en los tiempos especificados dentro de una tolerancia de $\pm 2\%$.

6.5 Correlación in vivo – in vitro

La disolución in vitro es la prueba fisicoquímica más usada para estimar la liberación del principio activo a partir de la forma dosificada, evaluar la variabilidad interlote en cuanto a características de liberación y, en algunos casos, para predecir la biodisponibilidad (BA) y bioequivalencia (BE) de los productos. Por la estrecha relación existente entre la velocidad de disolución de la droga in vitro y la absorción in vivo, ***se consideraba al estudio de disolución como el criterio necesario y suficiente para permitir la comercialización de un producto.***

Es necesario hacer énfasis en dos aspectos fundamentales:

- a. El estudio de disolución in vitro no puede sustituir al estudio de bioequivalencia, hasta tanto no sea relacionado con datos in vivo. Esto quiere decir que es un error dar por sentado la bioequivalencia entre dos formulaciones, solo por la similitud encontrada en los perfiles de disolución in vitro o la bioinequivalencia en caso de perfiles diferentes. La verificación in vivo del procedimiento in vitro y sus especificaciones, es el único criterio razonable, terapéuticamente relevante y económicamente justificable para aceptar lotes de producción. Las guías y recomendaciones internacionales mencionan explícitamente la necesidad de la verificación in vivo de las especificaciones in vitro.
- b. La comprobación de bioequivalencia realizada a un lote de una formulación, no puede ser adjudicada a todos los lotes que serán manufacturados posteriormente. Es innegable la imposibilidad de realizar un estudio in vivo a cada uno de los lotes que se fabrican, es aquí donde la correlación in vivo-in vitro desempeña una función determinante en el aseguramiento de la calidad de todos los lotes que saldrán al mercado. Después de los sucesos con los glicósidos cardiotónicos, cuando se detectaron problemas de biodisponibilidad en diferentes formulaciones genéricas que estaban en el mercado y entre las que se encontraba la digoxina, la FDA en 1972 adoptó una filosofía de trabajo que se estaba desarrollando, basada en estudios simultáneos de disolución in vitro y biodisponibilidad, con el objetivo de obtener correlaciones in vivo-in vitro.

Escogió para ello, productos que mostraron diferencias en las velocidades de disolución y les realizó el estudio in vivo [2].

6.6 Definición de correlación in vivo-in vitro

La USP y la FDA proponen cada una su definición de correlación in vivo-in vitro, a saber:

Definición USP: La correlación in vivo-in vitro consiste en el establecimiento de una relación entre una propiedad biológica o un parámetro derivado de una propiedad biológica producida por una forma dosificada, y una característica fisicoquímica de la misma forma dosificada.

Definición FDA: La correlación in vivo-in vitro consiste en el establecimiento de una relación entre la disolución in vitro de una forma de dosificación de liberación inmediata y una respuesta in vivo, como la concentración plasmática del fármaco o la cantidad de fármaco absorbido.

A partir de estas definiciones y de la experiencia acumulada por muchos investigadores que han trabajado desde principios de la década de 1960 sobre este tema, se ha dividido la manera de obtener correlaciones en 3 niveles, en orden descendente según su capacidad para predecir la curva plasmática completa que resultará de la administración de una forma dosificada dada [2].

A continuación se definen los 3 niveles propuestos:

Nivel A: Relación punto a punto entre la disolución y una respuesta in vivo como la concentración plasmática del fármaco o la cantidad de fármaco absorbido.

Nivel B: Utiliza los principios del análisis de momentos estadísticos. Se compara el tiempo medio de disolución in vitro (MDT) con el tiempo medio de residencia (MRT).

Nivel C: Esta categoría relaciona un punto de tiempo de disolución y un parámetro farmacocinético como ABC, $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{m\acute{a}x}$ [2].

El objetivo de la correlación in vivo – in vitro es obtener una prueba de disolución que sirva como sustituto del estudio de bioequivalencia durante el escalado o cambios en

el sitio de manufactura y equipos, y, en segundo lugar, ajustar especificaciones de disolución para cada formulación en particular, teniendo en cuenta que para obtener datos experimentales no se utilizan seres vivos.

Para obtener una correlación es imprescindible desarrollar y validar un método de disolución que sea lo suficientemente sensible, como para detectar diferencias en las velocidades de disolución entre los lotes, de manera que sirva como sustituto del estudio in vivo.

Así, con el método de disolución escogido y los datos obtenidos en los estudios de biodisponibilidad (BA) o bioequivalencia (BE) se obtienen las especificaciones de disolución in vitro, esto no es más que un intervalo de valores de porcentaje disuelto in vitro, en el cual pueden desviarse los lotes de una formulación y aun así resultar bioequivalentes [2].

6.7 Bioexención

La documentación de bioequivalencia es el mecanismo principal usado para vincular el producto genérico con el innovador, en su seguridad y eficacia terapéutica. La bioequivalencia puede ser evidenciada mediante estudios in vivo o con estudios in vitro. Para productos farmacéuticos orales de liberación inmediata, altamente solubles, altamente permeables y de disolución rápida se puede optar por la bioexención con base en el método llamado sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB/ BCS, por sus siglas en inglés), utilizando perfiles de disolución.

6.7.1 Criterios recomendados para la excepción de la evidencia de biodisponibilidad o bioequivalencia in vivo

En general, ambos ensayos in vivo e in vitro son necesarios para los productos farmacéuticos administrados por vía oral. Los ensayos in vivo se requieren para todos los medicamentos genéricos con ciertas excepciones. Basándose en la información científica las autoridades reguladoras pueden exceptuar el requisito para la biodisponibilidad o la bioequivalencia [9].

La equivalencia entre dos productos farmacéuticos puede considerarse evidente, siempre que el producto farmacéutico satisface uno de los siguientes criterios:

- a. Formulaciones administradas parenteralmente (administración intravenosa, intramuscular, subcutánea o intratecal) como soluciones acuosas que contienen la(s) misma(s) sustancia(s) activa(s) en la misma concentración y los mismos excipientes en concentraciones comparables.
- b. Soluciones para uso oral que contienen la sustancia activa en la misma concentración y no contienen un excipiente, que se sabe o sospecha que afecte el tránsito gastrointestinal o la absorción de la sustancia activa.
- c. Administrados en estado gaseoso.
- d. Polvos para reconstituir y hacer una solución que reúna los criterios (a) o (b) señalados anteriormente.
- e. Preparados óticos u oftálmicos en soluciones acuosas, conteniendo la(s) misma(s) sustancia(s) activa(s) en la misma concentración y, esencialmente, los mismos excipientes en concentraciones comparables;
- f. Tópicos preparados como soluciones acuosas, conteniendo la(s) misma(s) sustancia(s) activa(s) en la misma concentración y, esencialmente, los mismos excipientes en concentraciones comparables;
- g. Productos para inhalación o en aerosol nasal, ensayados para ser administrados con o sin, esencialmente, el mismo dispositivo, preparados como soluciones acuosas y conteniendo la(s) misma(s) sustancia(s) activa(s) en la misma concentración y, esencialmente, los mismos excipientes en concentraciones comparables. Esto exige una prueba in vitro especial que documente el desempeño comparable del dispositivo del producto de inhalación.

Para los literales e, f y g señalados anteriormente, es conveniente que el laboratorio fabricante demuestre que los excipientes en el producto genérico son esencialmente los mismos, y en concentraciones comparables con los del producto de referencia.

El riesgo de llegar a una decisión inadecuada que el medicamento de prueba es equivalente al medicamento de referencia, se puede reducir clasificando correctamente el principio activo y siguiendo las recomendaciones de prueba de disolución y la comparación de los perfiles de disolución. En todos los casos debería demostrarse además que los excipientes incluidos en la formulación del medicamento de prueba están bien establecidos para su uso en productos que contienen dicho principio activo, y que los excipientes utilizados no conducirán a las diferencias entre el medicamento de referencia y medicamento de prueba con respecto a los procesos que afectan la absorción (por ejemplo, los efectos sobre la motilidad gastrointestinal o interacciones con los procesos de transporte), o lo que podría dar lugar a interacciones que alteran la farmacocinética del principio activo.

La evidencia de que cada excipiente presente en el medicamento de prueba está bien establecido y no afecta la motilidad gastrointestinal u otros procesos que afectan a la absorción, se puede documentar con la siguiente información:

- a. El excipiente está presente en el medicamento de referencia, o el excipiente es utilizado en una serie de otros productos que contienen el mismo principio activo y que tienen las autorizaciones de comercialización en los países que participan en el Comité Internacional de Armonización (ICH) o países asociados; y
- b. El excipiente está presente en el medicamento de prueba en una cantidad similar a la del medicamento de referencia, o el excipiente está presente en el medicamento de prueba en una cantidad normalmente utilizada para ese tipo de forma de dosificación.

La información sobre la composición de los productos de la droga con la autorización de comercialización se encuentra disponible en los sitios web de algunas autoridades nacionales de reglamentación farmacéutica, como FDA. Los ejemplos de excipientes conocidos por tener bioinequivalencia causada y que habría sido predicha por las pruebas de disolución incluyen tensioactivos, manitol y sorbitol.

Como regla general, cuanto más cerca este la composición del medicamento de prueba a la del medicamento de referencia con respecto a los excipientes, menor es

el riesgo de una decisión apropiada sobre la equivalencia utilizando una bioexención basada en los SCB.

En caso que el laboratorio fabricante no pueda proporcionar esa información acerca del producto innovador y la autoridad reguladora farmacéutica no tenga acceso a los datos o están protegidos bajo derechos de exclusividad según los reglamentos locales, deberían realizarse los estudios in vivo [9].

6.7.2 Biodisponibilidad o bioequivalencia demostrada por evidencias obtenidas in vitro en lugar de datos in vivo

Para el uso de medicamentos, las autoridades deberían exceptuar el requisito para la presentación de las pruebas obtenidas in vivo que demuestren la biodisponibilidad del producto farmacéutico, si este se encuentra en la misma forma farmacéutica pero en concentración diferente, y es proporcionalmente similar en sus ingredientes activos e inactivos, comparándolo con otro producto farmacéutico elaborado en el mismo sitio para el cual el mismo fabricante ha obtenido aprobación, y además cumple uno de los siguientes criterios [9]:

1. Se ha demostrado la biodisponibilidad del otro producto farmacéutico a utilizar como referencia;
2. Ambos productos farmacéuticos cumplen con una prueba in vitro apropiada aprobada por una autoridad reguladora farmacéutica o en farmacopeas de referencia aceptadas, o se ha demostrado la correlación in vivo–in vitro;
3. El laboratorio fabricante presente las evidencias que indican que ambos productos farmacéuticos son proporcionalmente similares en sus ingredientes activos e inactivos. O sea, la proporción de los principios activos y los excipientes entre las concentraciones es esencialmente la misma;
4. El producto farmacéutico es un producto reformulado que es idéntico, salvo por un color, sabor o preservativo diferente que no podría afectar la biodisponibilidad del producto reformulado, a otro producto farmacéutico

para el cual el mismo fabricante ha obtenido aprobación y se han cumplido las condiciones siguientes:

- a. Se ha demostrado la biodisponibilidad del otro producto;
 - b. Ambos productos farmacéuticos cumplen con un ensayo in vitro apropiado aprobado por la autoridad reguladora.
5. La autoridad reguladora, por una buena razón, puede requerir evidencia de biodisponibilidad in vivo o bioequivalencia para cualquier producto farmacéutico, si determina que cualquier diferencia entre el producto farmacéutico y un fármaco dado podría afectar la biodisponibilidad o bioequivalencia del producto farmacéutico [9].

6.8 Sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB).

El sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB) es un marco científico para clasificar los principios activos con base en su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal. Cuando se combina con la disolución del medicamento, el SCB toma en cuenta tres factores principales que gobiernan la velocidad y el alcance de la absorción del fármaco, a partir de formas posológicas orales sólidas de liberación inmediata: disolución, solubilidad y permeabilidad intestinal [3].

Según el SCB, los ingredientes farmacéuticos activos (principios activos) se clasifican en cuatro clases:

- clase I: alta solubilidad - alta permeabilidad
- clase II: baja solubilidad - alta permeabilidad
- clase III: alta solubilidad - baja permeabilidad
- clase IV: baja solubilidad - baja permeabilidad

Además, las formas posológicas orales sólidas de liberación inmediata se clasifican por su disolución rápida o lenta [4].

Es posible que las diferencias observadas in vivo entre la velocidad y el alcance de la absorción de un fármaco, en dos productos orales sólidos farmacéuticamente equivalentes, se deban a diferencias en la disolución del fármaco in vivo. Sin embargo,

cuando la disolución in vivo de una forma posológica oral sólida de liberación inmediata es rápida en relación con el vaciamiento gástrico y el fármaco tiene alta permeabilidad, es poco probable que la velocidad y el alcance de la absorción del fármaco dependan de la disolución y del tiempo de tránsito gastrointestinal del fármaco. Bajo tales circunstancias es posible que no haga falta la demostración de biodisponibilidad o bioequivalencia in vivo, para los medicamentos que contienen principios activos de la clase I, III y algunos de la clase II, siempre que los excipientes no tengan efectos relevantes en el tránsito gastrointestinal y la permeabilidad [3, 8].

El método del SCB puede usarse para justificar bioexenciones de principios activos *altamente solubles* y *altamente permeables* (por ejemplo: clase I, clase III), en formas posológicas orales sólidas de liberación inmediata que exhiben una *disolución in vitro* *rápida*. [3,7].

A continuación se presentan los métodos recomendados para determinar solubilidad, permeabilidad y disolución in vitro [3,7].

6.8.1 Solubilidad

La solubilidad se basa en la mayor concentración posológica del producto de liberación inmediata objeto de una solicitud de bioexención. Un principio activo se considera *altamente soluble* cuando la mayor concentración posológica es soluble en 250 mL o menos de medio acuoso en el rango de pH 1.0 – 7.5. El cálculo de volumen anterior se deriva de protocolos de estudios de bioequivalencia típicos que prescriben, a voluntarios humanos en ayunas, la administración de un medicamento con 8 onzas de agua [3,7].

6.8.2 Permeabilidad

La permeabilidad se basa indirectamente en la medida de absorción (fracción de dosis absorbida, no biodisponibilidad sistémica) de un principio activo en el hombre, y

directamente en mediciones de la velocidad de transferencia de masa por la membrana intestinal humana.

Como alternativa se pueden usar sistemas no humanos capaces de predecir la medida de absorción del fármaco en el hombre (por ejemplo: métodos de cultivo de células epiteliales in vitro).

Ante la ausencia de evidencia que sugiera inestabilidad en el sistema gastrointestinal, se considera que el principio activo es *altamente permeable* cuando se determina que la medida de absorción en el hombre es del 90% o más, de una dosis administrada con base en una determinación de balance de masa o en comparación con una dosis de referencia intravenosa [3,7].

6.8.3 Disolución

Se considera que un medicamento de liberación inmediata es de *muy rápida disolución* cuando no menos del 85% de la cantidad declarada del principio activo se disuelve dentro de 15 minutos, y de *rápida disolución* cuando no menos del 85% de la cantidad declarada del principio activo se disuelve dentro de 30 minutos, en ambas situaciones se emplea el aparato 1 de la farmacopea estadounidense (USP) a 100 rpm (o el aparato 2 a 75 rpm) en un volumen alrededor de 900 mL en cada uno de los siguientes medios [3,7]:

- a. 0.1 N de HCl o fluido gástrico simulado USP sin enzimas
- b. Tampón de pH 4.5
- c. Tampón de pH 6.8 o fluido intestinal simulado USP sin enzimas [3,7].

Es importante destacar que cuando el principio activo, contenido tanto en el producto de referencia (innovador) como en el producto en estudio, ***se disuelve en un porcentaje de 85% o más de la cantidad declarada del fármaco a los 15 minutos o menos, utilizando los tres medios de disolución recomendados en el SCB, no es necesaria la comparación de perfiles de disolución*** [3, 7].

6.9 Metodología para clasificar principios activos y determinar características de disolución de medicamentos

Para clasificar los principios activos y determinar las características de disolución de los medicamentos de liberación inmediata, según el SCB, se recomiendan los siguientes métodos:

6.9.1 Determinación de la clasificación para solubilidad de principios activos

Un objetivo del método del SCB es determinar la solubilidad de equilibrio de un principio activo bajo condiciones de pH fisiológicas, clasificándola como alta solubilidad o baja solubilidad

El perfil de solubilidad y pH del principio activo probado deberá determinarse a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ en un medio acuoso con un pH en el rango de 1.0 – 7.5. Se deberá evaluar un número suficiente de condiciones de pH para definir con precisión el perfil de solubilidad y pH.

El número de condiciones de pH para una determinación de solubilidad puede basarse en las características de ionización del principio activo evaluado. Por ejemplo, cuando el pKa de un fármaco está en la gama de 3 – 5, se deberá determinar la solubilidad a $\text{pH} = \text{pKa}$, $\text{pH} = \text{pKa} + 1$, $\text{pH} = \text{pKa} - 1$; y a $\text{pH} = 1.0$ y 7.5 . Se recomienda un mínimo de tres determinaciones reiteradas de solubilidad en cada condición de pH.

Según la variabilidad del estudio, es posible que haga falta una reiteración adicional para proveer un cálculo de solubilidad confiable.

Las soluciones de tampones estándares descritos en la USP se consideran apropiados en estudios de solubilidad. Si estos tampones no son apropiados, por razones físicas o químicas, se pueden utilizar otras soluciones tampones, debiéndose verificar el pH de la solución después de agregar el principio activo al tampón.

Se deberá determinar la concentración del principio activo en los tampones (o las condiciones de pH) seleccionados, usando metodología analítica, cuyo procedimiento este validado y permita diferenciar el principio activo de sus productos de degradación. Si se observa la degradación del principio activo como función de la composición de tampón o el pH, se deberá reportar como un dato más de estabilidad [7].

6.9.2 Determinación de la clasificación para permeabilidad de principios activos

Para la clasificación de permeabilidad de un principio activo en sujetos humanos se puede determinar usando los métodos de balance de masa, biodisponibilidad absoluta o perfusión intestinal. Los métodos recomendados que no involucran seres humanos incluyen la perfusión intestinal in vivo o in situ en un modelo animal apropiado (por ejemplo, ratas), y métodos de permeabilidad in vitro usando tejidos intestinales extirpados o capas simples de células epiteliales apropiadas. En muchos casos, es posible que un solo método sea suficiente (por ejemplo, cuando la biodisponibilidad absoluta es del 90% o más, o cuando se recupera el 90% o más del fármaco administrado en la orina).

Cuando un solo método no demuestra en forma concluyente la permeabilidad, es aconsejable usar dos métodos distintos. La estructura química y ciertos atributos fisicoquímicos del principio activo como el coeficiente de partición en sistemas específicos, pueden proporcionar información útil acerca de sus características de permeabilidad. Esta información se puede usar como justificación adicional de una clasificación [7].

6.9.2.1 Estudios farmacocinéticos en el hombre

La farmacocinética está definida como un conjunto de procesos que suceden cuando un principio activo ingresa al organismo, entre ellos están: absorción, distribución, metabolismo (biotransformación) y eliminación [19].

- a. Estudios de balance de masa

Los estudios farmacocinéticos de balance de masa se emplean para documentar la medida de absorción de un fármaco, utilizando isótopos estables marcados o un principio activo con marcas radioactivas.

Este tipo de estudio presenta una alta variabilidad en los datos; para proporcionar un cálculo confiable en la medida de absorción es necesario el empleo de un elevado número de sujetos de prueba, razón por la cual no es muy utilizado [7].

b. Estudios de biodisponibilidad absoluta

Para determinar la biodisponibilidad absoluta oral, se utiliza como referencia la administración intravenosa del principio activo.

Debe emplearse un número suficiente de sujetos de prueba para disminuir la variabilidad de datos en los estudios, y obtener resultados confiables de la medida de absorción. Cuando se obtiene un valor de biodisponibilidad absoluta de un fármaco del 90% o más, no hacen falta datos adicionales para documentar la estabilidad del fármaco en el fluido gastrointestinal [7].

6.9.2.2 Métodos de permeabilidad intestinal

En la determinación de la permeabilidad de un principio activo es posible aplicar los siguientes métodos:

- a. Estudios de perfusión intestinal in vivo en seres humanos,
- b. Estudios de perfusión intestinal in vivo o in situ usando modelos animales apropiados,
- c. Estudios de permeabilidad in vitro usando tejidos intestinales extirpados humanos o animales,
- d. Estudios de permeabilidad in vitro a lo largo de una capa simple de células epiteliales cultivadas [7].

Se considera que los modelos animales in vivo o in situ y los métodos in vitro, como los que usan capas simples de células epiteliales cultivadas (animales o humanas), son apropiados para fármacos transportados pasivamente. La baja permeabilidad de algunos principios activos, observados en el hombre, podría ser resultado de la

circulación de los fármacos por transportadores de membranas como la glicoproteína-P (P-gp) [7].

Cuando los transportadores circulatorios como la glicoproteína-P (P-gp), están ausentes en los modelos, o su grado de expresión es bajo en comparación con el del hombre, puede haber una mayor probabilidad de error en la clasificación de permeabilidad para un fármaco sujeto a circulación, en comparación con un fármaco transportado en forma pasiva.

Deberá caracterizarse la expresión de transportadores conocidos en sistemas de estudio seleccionados. La función de los transportadores circulatorios como la glicoproteína P-gp se puede mostrar con técnicas como estudios de transporte bidireccional, mostrando una mayor velocidad en el sentido basolateral-ápice, en comparación con el sentido ápice-basolateral usando fármacos modelos o sustancias químicas a concentraciones que no saturan el sistema circulatorio (por ejemplo: ciclosporina A, vinblastina, rodamina 123), [7].

La guía para la industria de la FDA [7] menciona que en este momento no se puede establecer un criterio de aceptación para la circulación intestinal. En lugar de ello, recomienda limitar el uso de métodos de prueba de permeabilidad no humanos para los principios activos transportados por mecanismos pasivos.

Es posible que estudios farmacocinéticos sobre proporcionalidad o linealidad posológica proporcionen información para evaluar la relevancia de la circulación in vitro observado en un fármaco. Por ejemplo, que haya menos inquietudes asociadas con el uso de métodos in vitro para un fármaco que tiene una velocidad de transporte más alta en el sentido basolateral-ápice a bajas concentraciones, pero que exhibe farmacocinética lineal en el hombre [7].

Para aplicar el SCB, se puede suponer un transporte pasivo aparente cuando se satisface una de las siguientes condiciones:

- a. Presenta relación lineal (farmacocinética) entre la dosis (por ejemplo una gama posológica clínica relevante) y las mediciones de biodisponibilidad absoluta (área bajo la curva concentración - tiempo) en el hombre.
- b. Presenta falta de dependencia en la permeabilidad medida in vivo o in situ en un modelo animal, con una concentración inicial del fármaco (por ejemplo: 0.01, 0.1 y 1 veces la mayor concentración posológica disuelta en 250 mL) en el fluido de perfusión.
- c. Presenta falta de dependencia en la permeabilidad medida in vitro de la concentración inicial del fármaco (por ejemplo: 0.01, 0.1 y 1 veces la mayor concentración posológica disuelta en 250 mL) con en el fluido donante y sentido de transporte (por ejemplo, no existe diferencia estadísticamente significativa en la velocidad de transporte, entre el sentido ápice-basolateral y basolateral-ápice, para las concentraciones del fármaco seleccionadas) utilizando un método de cultivo de células in vitro apropiado cuya expresión de transportadores de circulación es conocida.

La aptitud de un método de permeabilidad previsto para la aplicación del SCB, debe establecer una relación categoría-orden entre los valores de permeabilidad y el alcance de los datos de absorción del fármaco en sujetos humanos, usando un número suficiente de fármacos modelos. Para los estudios de perfusión intestinal in vivo en el hombre se recomiendan seis fármacos modelos; para perfusión intestinal in vivo o in situ en animales y cultivo de células in vitro, veinte fármacos modelos [7].

Los fármacos modelos deben representar una gama de absorción baja (menor al 50%), moderada (entre 50% – 89%) y alta (90%), y mantener el mismo protocolo de estudio, después de esto no hace falta volver a probar todos los fármacos modelos seleccionados para estudios posteriores cuyo fin sea clasificar un principio activo. En su lugar se debe usar un fármaco modelo de baja permeabilidad y otro de alta permeabilidad como patrones internos ya sea incluido en el fluido de perfusión o el fluido donante junto con el principio activo probado. Estos dos patrones internos se suman al marcador de volumen de fluido (o un compuesto de permeabilidad cero como

el polietilenglicol 4000) que se incluye en ciertos tipos de técnicas de perfusión como las de lazo cerrado.

La selección de patrones internos debe basarse en la compatibilidad con el principio activo probado, no deben exhibir ninguna interacción física, química o permeable significativa.

Cuando no sea factible seguir este protocolo se debe determinar la permeabilidad de los patrones internos en los mismos sujetos, animales o tejidos, siguiendo la evaluación del principio activo probado. Los valores de permeabilidad de los dos patrones internos no deberán diferir significativamente en las distintas pruebas, incluyendo las que se realizan para demostrar la aptitud del método. Al final de una prueba in situ o in vitro se debe determinar la cantidad de fármaco en la membrana.

Para un determinado método de prueba con condiciones fijas, es posible que la selección de un patrón interno de alta permeabilidad, cercana al límite de la clase baja/alta, facilite la clasificación del principio activo probada. Por ejemplo, se podrá determinar que el principio activo probado es altamente permeable cuando su valor de permeabilidad es igual o mayor que la del patrón interno de alta permeabilidad seleccionado [7].

6.9.2.3 Inestabilidad en el sistema gastrointestinal

La determinación del alcance de la absorción en el hombre, con base en estudios de balance de masa en la orina, no considera el alcance de la degradación de un fármaco en el fluido gastrointestinal antes de impregnar la membrana intestinal. Además, algunos métodos para determinar la permeabilidad podrían basarse en la pérdida o el aclaramiento del fármaco de los fluidos introducidos por perfusión en el sistema gastrointestinal humano o animal, ya sea in vivo o in situ. La documentación de la pérdida del fármaco en el sistema gastrointestinal surge por la impregnación de la

membrana intestinal, en lugar de un proceso de degradación, lo cual ayudará a establecer la permeabilidad.

La estabilidad en el sistema gastrointestinal se puede documentar usando fluidos gástricos e intestinales obtenidos de sujetos humanos. Se incuban las soluciones de principios activos en estos fluidos a 37°C, durante un período representativo del contacto medicamentoso in vivo con éstos; por ejemplo, 1 hora en fluido gástrico y 3 horas en fluido intestinal. Luego se determinan las concentraciones del fármaco mediante un método de ensayo validado que indique la estabilidad. Una degradación significativa del fármaco (> 5%) en este protocolo podría sugerir una posible inestabilidad, la cuantificación puede ser realizada mediante técnicas cromatográficas apropiadas para las sustancias químicas a evaluar. La obtención de fluidos gastrointestinales de sujetos humanos requiere intubación y puede ser difícil en algunos casos.

Debido a lo anterior se pueden sustituir por fluidos gastrointestinales animales apropiados o simulados como los fluidos gástrico e intestinal USP justificando debidamente [7].

6.9.3 Determinación de características de disolución y similitud de los perfiles de disolución del medicamento

Las pruebas de disolución deben realizarse en el aparato que indica la USP (1 o 2), usando 900 mL de los siguientes medios de disolución:

- a. 0.1 N de HCl o fluido gástrico simulado USP sin enzimas
- b. Tampón de pH 4.5 (acetato)
- c. Tampón de pH 6.8 (fosfato) o fluido intestinal simulado USP sin enzimas. Para cápsulas y comprimidos recubiertos de gelatina, se pueden usar fluidos gástrico o intestinal simulado USP (con enzimas).

La selección del aparato para probar la disolución (aparato 1 o 2), durante el desarrollo del fármaco, debe basarse en una **comparación de la disolución in vitro y los datos farmacocinéticos in vivo disponibles para el producto.**

El aparato 1 (*método de canasta*) se prefiere por lo general para cápsulas y productos que tienden a flotar; el aparato 2 (*método de paleta*), para los comprimidos. Para algunas formas posológicas comprimidas la disolución in vitro (no in vivo) puede ser lenta, debido a como el producto desintegrado se deposita en el fondo del matraz de disolución. En tales situaciones se podrá preferir el aparato 1 antes que el aparato 2. Si hace falta modificar las condiciones de prueba para reflejar mejor la disolución rápida in vivo (como el uso de una velocidad giratoria distinta), se pueden justificar tales modificaciones comparando la disolución in vitro con los datos de absorción in vivo.

Para respaldar una solicitud de bioexención, es necesario evaluar un mínimo de 12 unidades posológicas de un medicamento. Una vez iniciada la prueba de disolución se deberán recolectar muestras en diferentes intervalos de tiempo para caracterizar el perfil de disolución del medicamento (por ejemplo, 10, 15, 20 y 30 minutos) [7].

6.10 Métodos matemáticos empleados en la comparación de perfiles de disolución

La comparación de los perfiles de disolución in vitro de cápsulas, tabletas y polvos, proporciona información necesaria para discernir entre las formulaciones durante el desarrollo de un producto, evaluar su estabilidad y optimizar la forma de dosificación.

La comparación de las curvas del perfil de disolución permite además, evaluar el efecto producido en la disolución por los cambios en las variables del proceso de manufactura, y puede ser empleada como un instrumento de aseguramiento de la calidad para medir la uniformidad de lote a lote.

Los perfiles de disolución pueden considerarse similares en razón de:

- a. Similitud global de los perfiles
- b. Similitud en cada punto temporal de disolución de la muestra.

Para realizar la comparación de perfiles de disolución se utilizan métodos independientes o dependientes del modelo [3].

6.10.1 Método dependiente de modelo.

En la literatura se han descrito muchos modelos matemáticos para el ajuste de los perfiles de disolución.

A continuación se lista el procedimiento a seguir para la aplicación de estos modelos:

- a. Si ya se tienen datos conocidos de formulaciones anteriores, son recomendados modelos con más de tres parámetros, como los modelos lineal, cuadrático, logístico, Probit y Weibull.
- b. Usando los datos para el perfil generado para cada unidad, contrastar los datos con el modelo más apropiado.
- c. Se fija una región de similitud basada en la variación de parámetros del modelo contrastado, con las unidades de prueba (por ejemplo, cápsulas o tabletas) correspondientes a datos conocidos de formulaciones anteriores.
- d. Calcular la distancia estadística multivariada (multivariate statistical distance MSD, por sus siglas en inglés) en los parámetros del modelo entre los datos conocidos de formulaciones anteriores y los nuevos.
- e. Calcular el intervalo de confianza del 90% de la verdadera MSD entre los grupos de datos de prueba y referencia, de acuerdo a la guía para la Industria de la FDA.
- f. Comparar los límites de la región de certeza con la región de similitud. Si la región de certeza está dentro de los límites de la región de similitud, se considera que el nuevo grupo de datos es similar al grupo de datos conocidos de formulaciones anteriores [3].

6.10.2 Procedimiento de región de certeza multivariado independiente de modelo.

Cuando el coeficiente de variación (CV) dentro del grupo de datos es más del 15%, conviene emplear más de un procedimiento independiente de modelo multivariado, para la comparación de los perfiles de disolución. Se sugieren los siguientes pasos:

- a. Determinar los límites de similitud en términos de MSD con base en diferencias de disolución entre los grupos de datos conocidos de formulaciones anteriores y los nuevos.
- b. Calcular la MSD entre las medias de los datos conocidos de formulaciones anteriores y los nuevos.
- c. Calcular el intervalo de confianza del 90% de la verdadera MSD entre los grupos de datos conocidos de formulaciones anteriores y los nuevos.
- d. Comparar el límite superior del intervalo de confianza con el límite de similitud. Se considera que el grupo de datos conocidos de formulaciones anteriores es similar con los nuevos si el límite superior del intervalo de confianza es igual o menor al límite de similitud [3].

6.10.3 Enfoque independiente de modelo utilizando un factor de similitud.

Un enfoque independiente de modelo sencillo utiliza un factor de diferencia (f_1) y un factor de similitud (f_2), para comparar los perfiles de disolución, propuestos por Jeffrey W. Morre y colaboradores en 1996. El factor de diferencia (f_1) calcula la diferencia porcentual (%) entre las dos curvas en cada punto temporal y es una medida del error relativo entre las dos curvas, a continuación se proporciona la ecuación para su cálculo [3]:

$$f_1 = \frac{[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|] 100}{[\sum_{t=1}^n R_t]} \quad (23)$$

Donde n es el número de puntos temporales, R_t es el valor de disolución del grupo de datos de referencia en el tiempo t , y T_t es el valor de disolución del grupo de datos de prueba en el tiempo t .

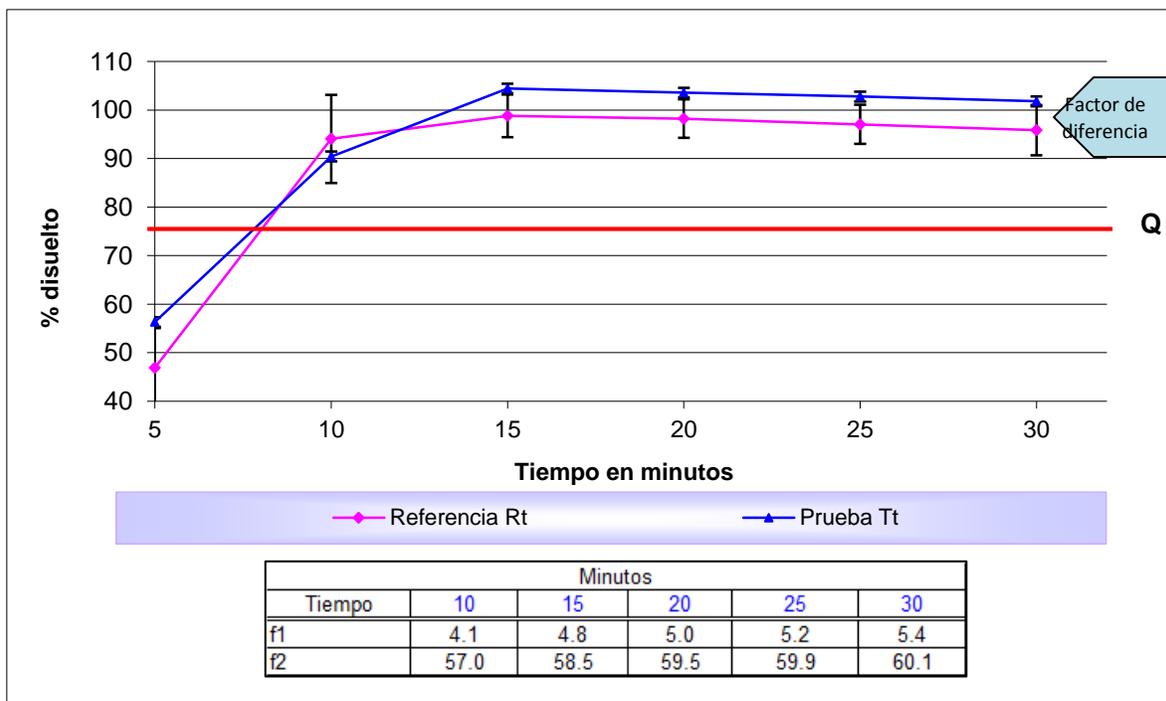


Figura 7 – Gráfico de perfil de disolución en ácido clorhídrico del medicamento propranolol clorhidrato

El factor de similitud (f_2) es una transformación de raíz cuadrada recíproca logarítmica de la suma del error cuadrado y es una medición de la similitud en la disolución porcentual (%) entre las dos curvas, cuya ecuación para su cálculo es la siguiente [3].

$$f_2 = 50 \log \left\{ 1 + \left(\frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (Rt - Tt)^2 \right)^{-0.5} 100 \right\} \quad (24)$$

Procedimiento específico para determinar los factores de diferencia y similitud:

- Determinar el perfil de disolución de dos productos (12 unidades de cada uno) de los productos de prueba y referencia.
- Usando los valores de disolución medios de ambas curvas en cada intervalo temporal, calcular el factor de diferencia (f_1) y el factor de similitud (f_2) usando las ecuaciones (23) y (24).
- Para que las curvas se consideren similares, los valores de f_1 deberán estar cerca de 0, y los valores de f_2 deberán estar cerca de 100. Por lo general, los valores de f_1 de hasta 15 (0-15) y los valores de f_2 mayores de 50 (50-100)

aseguran la igualdad o equivalencia de las dos curvas y, por lo tanto, del rendimiento de los productos de prueba y referencia.

Este método independiente de modelo es más conveniente para la comparación de los perfiles de disolución cuando hay 3, 4 o más puntos temporales de disolución disponibles [3].

Considerar los siguientes requisitos adicionales:

- a. Las mediciones de disolución de los grupos de datos de prueba y referencia deberán realizarse bajo exactamente las mismas condiciones. Los puntos temporales de disolución para ambos perfiles deberán ser los mismos (por ejemplo, 15, 30, 45, 60 minutos).
- b. Sólo se deberá considerar una medición después de la disolución del 85% de ambos productos.
- c. Para permitir el uso de datos medios, el coeficiente de variación en el punto temporal más temprano (por ejemplo, 15 minutos) no deberá ser más del 20%, y en otros puntos temporales no deberá ser más del 10% [3].
- d. Se debe contar con tres o más puntos de muestreo de perfil de disolución [16].
- e. La diferencia promedio entre los perfiles de disolución de la formulación de prueba y la de referencia, a cada tiempo de muestreo, no debe exceder el 15% [16].
- f. Los medicamentos de prueba y de referencia deben tener al menos un año de vigencia antes de su fecha de caducidad al momento de realizar el estudio [18].
- g. El porcentaje de valoración del medicamento de prueba debe estar dentro de los límites farmacopeicos y no debe diferir en más del 5% del medicamento de referencia [18].
- h. Los medicamentos de prueba y de referencia deben cumplir con los requisitos de uniformidad de unidades de dosificación descritos en la farmacopea vigente [18].

6.11 Uniformidad de unidades de dosificación.

Para garantizar la uniformidad de las unidades de dosificación, cada unidad en un lote debe tener un contenido de fármaco dentro de un intervalo estrecho alrededor de la cantidad declarada en la etiqueta.

Se define como el grado de uniformidad en el contenido del fármaco entre las unidades de dosificación. Se puede demostrar mediante uno de los siguientes dos métodos, uniformidad de contenido o variación de peso.

La prueba de uniformidad de contenido se basa en la valoración individual de contenido de un fármaco en un número de unidades de dosificación para determinar si el contenido individual se encuentra dentro de los límites fijados. El método de uniformidad de contenido se puede aplicar en todos los casos.

La prueba de variación de peso es aplicable para las siguientes formas farmacéuticas:

- a. Soluciones para inhalación, destinadas para nebulizaciones y soluciones envasadas en envases unitarios y en cápsulas blandas.
- b. Sólidos (incluidos los polvos, gránulos y sólidos estériles) envasados en envases unitarios y que no tienen sustancias agregadas ya sea activas o inactivas.
- c. Sólidos (incluidos los sólidos estériles) envasados en envases unitarios, con o sin sustancias activas o inactivas agregadas, que hayan sido preparadas por liofilización a partir de soluciones verdaderas en sus envases finales y que declaren el método de preparación.
- d. Cápsulas duras, tabletas sin cubierta o tabletas recubiertas con películas que contengan 25 mg o más de un fármaco que corresponda al 25% o más, en peso, de la unidad de dosificación o, en el caso de cápsulas duras, el contenido de las cápsulas, excepto que se demuestre la uniformidad de otros fármacos presentes en proporciones menores en cumplimiento de los requisitos de uniformidad de contenido.

La prueba de uniformidad de contenido se requiere para todas las formas farmacéuticas que no cumplen las condiciones enumeradas anteriormente para la prueba de variación de peso.

Cuando se requiere para el cumplimiento de la prueba de uniformidad de contenido, aplicar la cláusula que permite el uso de métodos alternativos, los fabricantes pueden cumplir con este requisito mediante la aplicación de la prueba de variación de peso, cuando la desviación estándar relativa (RSD), por las siglas en inglés de la concentración del fármaco en las unidades de dosificación final no es más de 2%. La determinación de la RSD puede basarse en datos de validación del proceso y de datos del desarrollo del producto en poder del fabricante. La RSD de la concentración es la RSD de la concentración por unidad de dosificación (p/p o p/v), en donde la concentración por unidad de dosificación es igual al resultado de la valoración por unidad de dosis dividido por el peso de la unidad de dosificación individual, dada por la siguiente fórmula:

$$RSD = \frac{100s}{X} \quad (25)$$

En donde, s es la desviación estándar de la muestra, X es la media de los contenidos individuales, expresada como porcentaje de la cantidad declarada.

Sin embargo, aunque se emplee la prueba de variación de peso con tales propósitos, el producto deberá cumplir con la prueba oficial de uniformidad de contenido.

Para la prueba de uniformidad de contenido, se seleccionan 30 unidades y se procede como se indica a continuación para cada forma farmacéutica específica:

- a. Formas farmacéuticas sólidas: valorar 10 unidades individualmente usando un método analítico apropiado, puede ser el utilizado en el ensayo.
- b. Formas farmacéuticas líquidas: realizar la valoración sobre la cantidad de material bien mezclado que se retira de un envase individual en condiciones normales de uso y expresar los resultados como la dosis entregada.

Para ambos casos, se determina el valor de aceptación el cual hace referencia al cumplimiento de la prueba, si es menor a L1 “máximo valor de aceptación permitido” (L1 = 15.0%). A continuación la fórmula a utilizar:

$$AV = |M - X| + ks \quad (26)$$

En donde, **M** es valor de corrección indicado en USP (Apartado 905), **X** es la media de los contenidos individuales, **k** es la constante de aceptabilidad, **s** es la desviación estándar de la muestra.

El valor de **M** dependerá del valor de **T**, que es el contenido deseado por unidad de dosificación al momento de la fabricación, expresado como porcentaje de la cantidad declarada. Por lo general se le asigna un valor de 100.0%, y para los propósitos de fabricación **T** es el valor deseado aprobado por el fabricante al momento de la fabricación.

Para los cálculos de **AV**, la constante de aceptabilidad **k**, presenta siguientes valores:

si *n* (cantidad de muestras) : 10, entonces **k** es igual a 2.4

si *n* (cantidad de muestras) : 30, entonces **k** es igual a 2.0

Y para **M** utilizar los siguientes valores:

M : cuando $T \leq 101.5$, el valor de referencia es:

Si $98.5\% \leq X \leq 101.5\%$

Si $X < 98.5\%$, entonces: $M = 98.5\%$

Si $X > 101.5\%$, entonces: $M = 101.5\%$

M : cuando $T > 101.5$, el valor de referencia es:

Si $98.5\% \leq X \leq T$, entonces: $M = X$

Si $X < 98.5\%$, entonces: $M = 98.5\%$

Si $X > T$, entonces: $M = T\%$

6.12 Cromatografía líquida de alta eficiencia

Para realizar los estudios de perfiles de disolución, se emplean diversas técnicas de cuantificación, entre ellas la cromatografía líquida de alta eficiencia, la cual fue utilizada en el presente trabajo.

Es una técnica de separación basada en una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida, estas separaciones se logran por procesos de partición, adsorción o intercambio iónico, según el tipo de fase estacionaria empleada. Los compuestos que se van a analizar se disuelven en un medio adecuado y la mayoría de las separaciones tienen lugar a temperatura ambiente. Por lo tanto, la mayoría de los fármacos (analitos), aun siendo compuestos no volátiles o térmicamente inestables, pueden analizarse por HPLC sin descomposición o sin necesidad de hacer derivados volátiles.

El tiempo de elución de un compuesto puede ser descrito por su factor de capacidad, k' , que depende de la naturaleza química del analito, la composición y la velocidad de flujo de la fase móvil y la composición y el área de la fase estacionaria. La longitud de la columna es un parámetro determinante de la resolución. Solo los compuestos que tienen diferentes factores de capacidad pueden ser separados por HPLC.

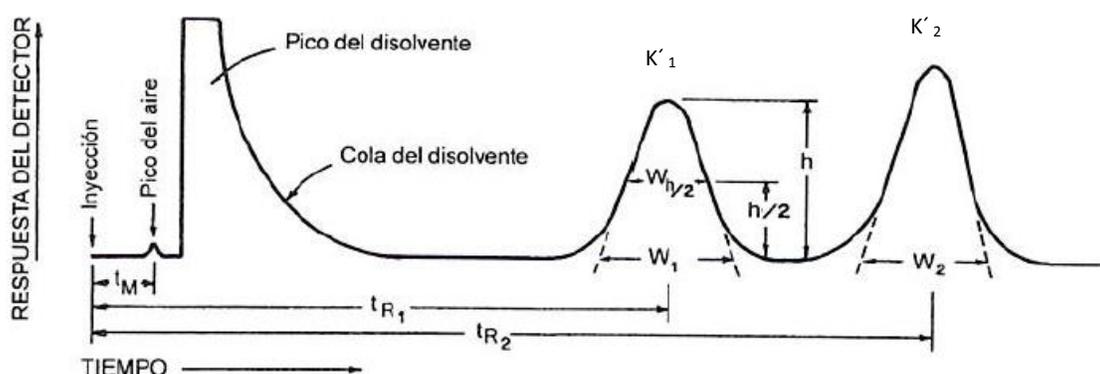


Figura 8 - Parámetros cromatográficos; tiempo de retención y factor de capacidad

6.12.1 Equipo

Un cromatógrafo de líquidos consta de un recipiente que contiene la fase móvil, una bomba para forzar el paso de esta a través del sistema a alta presión, un inyector para introducir la muestra, una columna cromatográfica, un detector y un dispositivo de recolección de datos como una computadora, un integrador o un registrador.

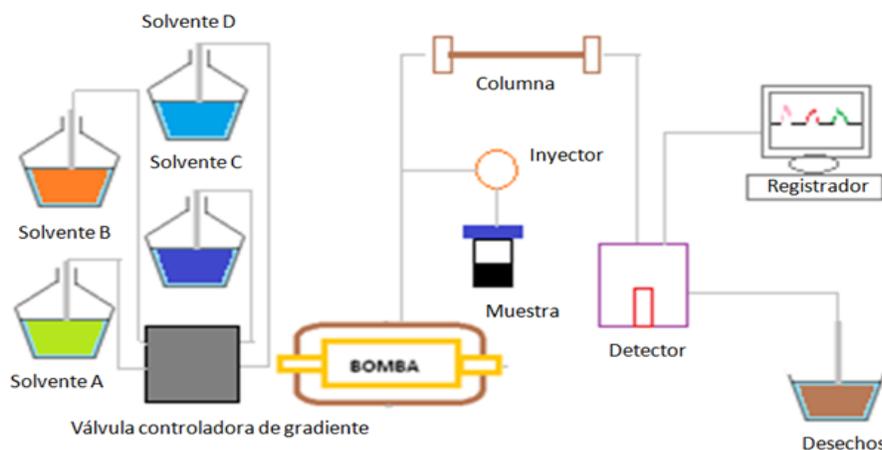


Figura 9 - Diagrama de equipo HPLC

6.12.1.1 Sistemas de bombeo

Adminstran cantidades exactas de fase móvil desde los recipientes hasta la columna mediante una tubería y uniones adecuadas para altas presiones. Los sistemas modernos constan de una o varias bombas reguladoras controladas por computadora que pueden programarse para variar la relación entre los componentes de la fase móvil, según se requiera para la cromatografía en gradiente, o para mezclar la fase móvil en corridas isocráticas (es decir, fases móviles que tienen una composición fija de disolventes). Las presiones operativas son típicamente de hasta 5000 psi o más, con velocidades de flujo de hasta aproximadamente 10 mL/min. Las bombas deben construirse con materiales inertes a los componentes corrosivos de la fase móvil y ser capaces de bombear la fase móvil a una velocidad constante, con fluctuaciones mínimas, durante períodos de tiempo prolongados.



Figura 10 - Bomba (componente de equipo HPLC)

6.12.1.2 Inyectores

Después de ser disueltos en la fase móvil u otra solución apropiada, los compuestos que se van a analizar se inyectan al cromatógrafo, ya sea manualmente usando jeringas o inyectores de espiral, o utilizando inyectores automáticos. Estos últimos constan de un carrusel o una gradilla para sostener los viales de muestra, con la parte superior tapada con un septo o un tapón perforable, y un dispositivo de inyección para transferir la muestra desde los viales a un espiral conectado al cromatógrafo. Hay inyectores automáticos que se programan para controlar el volumen de muestreo, el número de inyecciones, los ciclos de enjuague del espiral, el intervalo entre las inyecciones y otras variables operativas.



Figura 11 - Inyector de automuestreador (componente de equipo HPLC)

6.12.1. 3 Columnas

Para la mayoría de los análisis farmacéuticos, la separación se logra por la partición de los compuestos presentes en la solución de prueba entre la fase móvil y la estacionaria. Los sistemas que constan de fases estacionarias polares y fases móviles no polares se describen como de fase normal, por el contrario, cuando se emplean fases móviles polares y fases estacionarias no polares se denomina cromatografía en fase reversa. La afinidad de un compuesto por la fase estacionaria y, por consiguiente, su tiempo de retención en la columna, se controla mediante la composición de la fase móvil más o menos polar. La polaridad de la fase móvil se puede variar mediante el agregado de un segundo y, a veces, un tercer o hasta un cuarto componente, con la finalidad de cambiar los porcentajes finales en la mezcla. Por lo general, las columnas se emplean a temperatura ambiente.



Figura 12 - Columnas para equipos HPLC

6.12.1.4 Detectores

El tipo de detector a utilizar depende de las características de los compuestos a determinar; estos pueden ser detectores de longitud de onda fija, variable y múltiple; de red de diodos; de refractometría diferencial; fluorométricos; electroquímicos; potenciométricos, voltamétricos y polarográficos.

La mayoría de los métodos farmacopeicos de HPLC requieren el uso de detectores espectrofotométricos. Este tipo de detector consta de una celda de flujo colocada en el extremo de la columna. Un haz de radiación UV pasa a través de la celda de flujo y se introduce en el detector. A medida que los compuestos eluyen de la columna, pasan a través de la celda y absorben la radiación, lo que da lugar a cambios cuantificables en el nivel de energía.

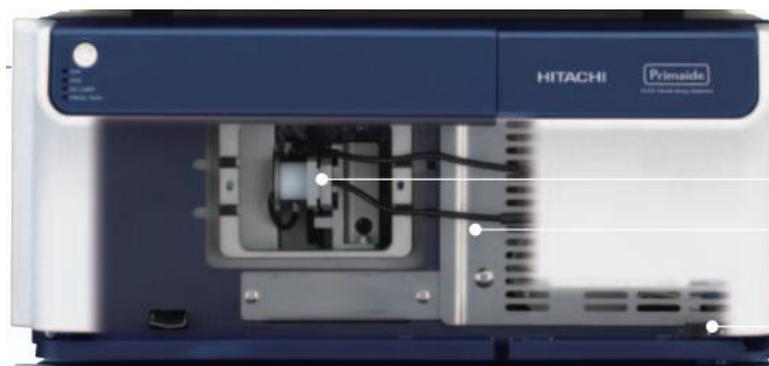


Figura 13 - Detector ultravioleta (componente de equipo HPLC)

6.12.1.5 Dispositivos de recolección de datos

Las estaciones de datos reciben y almacenan la señal de los detectores e imprimen el cromatograma completo con las alturas y las áreas de los picos, la identificación de la muestra y las variables del método. Además, se utilizan para controlar la mayoría de las variables, proporcionando períodos largos de operación sin necesidad de supervisión.

6.12.2 Procedimiento de operación

- a. Equilibrar la columna y el detector con fase móvil a la velocidad de flujo especificada hasta obtener una señal constante.
- b. Inyectar una muestra a través del inyector o usar un muestreador automático.
- c. Comenzar el programa de gradientes o procedimiento isocrático.
- d. Registrar el cromatograma.
- e. Analizar según se indica en la monografía.

6.12.3 Aptitud del sistema

Debido a las variaciones normales en el equipo, los suministros y las técnicas, se requiere una prueba de aptitud del sistema para asegurar que un sistema operativo dado pueda aplicarse de manera general, lo cual se detalla a continuación:

6.12.3.1 Número de platos teóricos (N)

Es una medida de la eficiencia de la columna. Para los picos gaussianos, se calcula por la siguiente ecuación

$$N = 16(t_R/W)^2 \quad (27)$$

En donde t_R es el tiempo de retención de la sustancia y W es el ancho del pico en su base, obtenido al extrapolar los lados relativamente rectos del pico hasta la línea base (Ver Figura 8).

El valor de los platos teóricos depende de la sustancia cromatografiada, así como de las condiciones operativas, por ejemplo, las velocidades de flujo y la temperatura del gas transportador o la fase móvil, la calidad del relleno, la uniformidad del relleno dentro de la columna y, para las columnas capilares, el espesor de la película de fase estacionaria, y el diámetro interno y la longitud de la columna.

Cuando se utilizan integradores electrónicos, el número de platos teóricos se calcula por la ecuación

$$N = 5.54 (t_R/ W_{h/2})^2 \quad (28)$$

En donde $W_{h/2}$ es el ancho del pico a la mitad de la altura, obtenido directamente por medio de integrador electrónico (Ver Figura 8).

6.12.3.2 Tiempo de retención relativa (RRT)

También se conoce como retención relativa no ajustada, se determina por la ecuación

$$RRT = t_{R2}/t_{R1} \quad (29)$$

En donde t_{R2} es el tiempo de retención medido en el punto de inyección del compuesto de interés y t_{R1} es el tiempo de retención medido en el punto de inyección del compuesto de referencia.

6.12.3.3 Desviación estándar relativa porcentual

Se calcula a través de la fórmula siguiente

$$\%RSD = \frac{100}{X} \left[\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - X)^2}{N - 1} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (30)$$

En donde X_i es una medida individual en un conjunto de N mediciones y X es la media aritmética del conjunto.

6.12.3.4 Factor de retención (k)

También es conocido como factor de capacidad (k') y se define como

$$k = \frac{\text{cantidad de la sustancia en la fase estacionaria}}{\text{cantidad de la sustancia en la fase móvil}} \quad (31)$$

o

$$k = \frac{\text{tiempo de la sustancia en la fase estacionaria}}{\text{tiempo de la sustancia en la fase móvil}} \quad (32)$$

Además, puede determinarse a partir del cromatograma mediante la ecuación:

$$k = (t_R - t_M)/t_M \quad (33)$$

En donde t_M es el tiempo de retención del componente no retardado, aire con detección por conductividad térmica.

6.12.3.5 Resolución (R_s)

Es la separación de dos componentes que eluyen adyacentes en una mezcla, calculada por

$$R_s = 2(t_{R2} - t_{R1}) / (W_1 + W_2) \quad (34)$$

Donde t_R es el tiempo de retención de la sustancia y W es el ancho del pico en su base, obtenido al extrapolar los lados relativamente rectos del pico hasta la línea base (Ver Figura 8).

Si se utiliza integrador electrónico, la resolución se determina por la ecuación

$$R_s = 1.18(t_{R2} - t_{R1}) / (W_{1, h/2} + W_{2, h/2}) \quad (35)$$

Donde t_R es el tiempo de retención de la sustancia y $W_{h/2}$ es el ancho del pico a media altura desde su base (Ver Figura 8).

6.12.3.6 Factor de simetría (A_s)

También es conocido como asimetría (T), y se calcula utilizando la siguiente fórmula

$$A_s = W_{0.05} / 2f \quad (36)$$

En donde f es la distancia entre el máximo del pico y el borde inicial del pico; la distancia se mide en un punto ubicado al 5% de la altura del pico desde la línea base y $W_{0.05}$ es el ancho del pico al 5% de altura, como se observa en la figura 14.

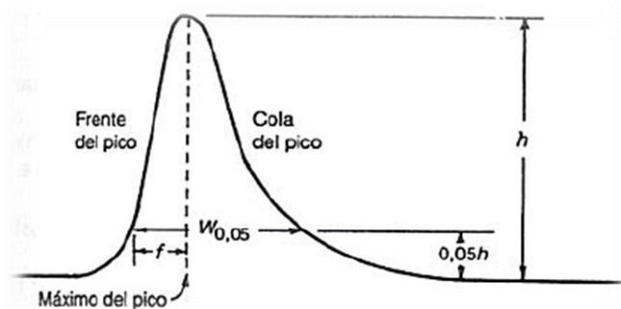


Figura 14 – Esquema con parámetros cromatográficos; factor de asimetría

6.13 Características y propiedades del medicamento a estudiar

El principio activo enalapril maleato es muy importante por su uso en el control de la hipertensión y la insuficiencia cardíaca.

En muchos pacientes con insuficiencia cardíaca que ya presentan sintomatología, el enalapril maleato retarda el empeoramiento, reduce la necesidad de hospitalizaciones y en algunos casos ayuda a prolongar la vida. En pacientes que no han presentado síntomas, ayuda a evitar el debilitamiento de la función cardíaca y a retardar el desarrollo de los síntomas (dificultad para respirar, cansancio por actividades físicas ligeras como caminar, inflamación de tobillos y pies) [17].

Las dosis usuales son de 2.5 mg, 5 mg, 10 mg y 20 mg, las cuales son fabricadas por diferentes laboratorios farmacéuticos tanto nacionales como extranjeros, por ello es necesario evaluar la equivalencia terapéutica de los medicamentos genéricos.

Según el SCB el enalapril maleato está clasificado como clase III: alta solubilidad – baja permeabilidad, lo que indica que aplica para la bioexención [4].

El enalapril maleato es una sal químicamente llamada (S)-1-[N-[1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]-L-alanyl]-L-proline, (Z)-2-butenedioate salt (1:1), de fórmula empírica $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$, y con fórmula estructural:

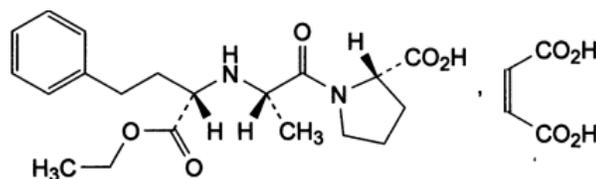


Figura 15 - Estructura molecular de enalapril maleato

Es un polvo cristalino casi blanco. Funde aproximadamente a 144°C. Prácticamente insoluble en disolventes orgánicos no polares; poco soluble en disolventes orgánicos semipolares; moderadamente soluble en agua; soluble en alcohol; fácilmente soluble en metanol y en dimetilformamida.

El enalapril, es un pro-fármaco del enalaprilat, diseñado para administración oral, inhibidor de la enzima de conversión de la angiotensina (ECA) [17].

6.13.1 Mecanismo de acción

El enalaprilat intravenoso, o el enalapril oral que resulta de la hidrólisis en el organismo a enalaprilat, inhibe la enzima de conversión de la angiotensina (ECA) tanto en el hombre como en los animales de experimentación. La ECA es una peptidil-dipeptidasa que cataliza la conversión de la angiotensina I a la angiotensina II, una sustancia vasoconstrictora. La angiotensina II también estimula la secreción de aldosterona por la corteza suprarrenal. Los efectos beneficiosos del enalapril en la hipertensión y la insuficiencia cardíaca se deben a la supresión del sistema renina-angiotensina-aldosterona.

La inhibición de la ECA lleva consigo una disminución de los niveles plasmáticos de angiotensina II, produciendo una disminución de la respuesta vasopresora y de la secreción de aldosterona. Aunque la disminución de la secreción de aldosterona no es muy grande, ocasiona un pequeño aumento de los niveles plasmáticos de potasio.

En los pacientes hipertensos tratados con enalapril, durante 48 semanas, este aumento llegó a ser de 0.2 mEq/L. En los pacientes tratados con enalapril asociado a un diurético tiazídico, no se observó prácticamente ningún cambio en los niveles de potasio.

La supresión de la angiotensina II produce, por un efecto de retroalimentación negativa, un aumento de los niveles de renina. La ECA es similar a la kininasa, una enzima que degrada la bradikina, y por lo tanto, la supresión de su actividad aumenta los niveles de bradikina, un péptido con potentes efectos vasodepresores. No se sabe muy bien qué papel juega este péptido en los efectos terapéuticos del enalapril. En efecto, si bien es seguro que el enalapril disminuye la presión arterial, actuando sobre el sistema renina-angiotensina-aldosterona, no se sabe porqué el fármaco reduce la hipertensión en pacientes con bajos niveles de renina. Este efecto se

observa sobre todo en pacientes de raza negra que tienen una hipertensión con bajos niveles de renina y que responden peor que los pacientes blancos a los efectos del enalapril en monoterapia [17].

6.13.2 Farmacocinética y metabolismo

Después de la administración oral del enalapril se observan concentraciones séricas máximas al cabo de 1 hora. A partir de los datos de la excreción urinaria, se deduce que el enalapril se absorbe en un 60% aproximadamente. Además la absorción del enalapril no es afectada por la presencia de alimento en el tracto digestivo [17].

Una vez absorbido, el enalapril se hidroliza a enalaprilat, el verdadero inhibidor de la ECA. Las concentraciones máximas se alcanzan unas 4 horas después de una dosis oral de enalapril.

La excreción del enalapril es sobre todo por vía renal. Aproximadamente el 94% de la dosis administrada se recupera en la orina o las heces como enalaprilat o enalapril. En la orina se detectan enalaprilat y enalapril, sin que se hayan observado otros metabolitos diferentes. Después de una inyección intravenosa de una dosis única, el perfil farmacocinético del enalaprilat es poliexponencial con una prolongada fase de eliminación terminal que corresponde con la parte del fármaco que se une a la ECA. La cantidad de fármaco unida no aumenta con la dosis, lo que indica que el punto de fijación es saturable.

El tiempo de vida media de eliminación efectiva, determinada a partir de datos cinéticos después de dosis orales múltiples es de unas 11 horas.

La biodisponibilidad del enalapril y del enalaprilat en pacientes con insuficiencia renal es similar a la de pacientes con función renal normal hasta llegar a una filtración glomerular de 30 mL/min, momento en el que aumenta el tiempo para llegar a la concentración máxima del fármaco y las concentraciones de equilibrio. En presencia

de esta insuficiencia renal, también se prolonga el tiempo de vida media de eliminación.

El enalaprilat es dializable a una velocidad de 62 mL/min. Los estudios en perros indican que el enalapril casi no cruza la barrera hematoencefálica, por lo tanto el enalaprilat no entra en el cerebro.

Otra forma de seguir la cinética es administrando el fármaco marcado con ^{14}C , se detectó radioactividad en la leche de las ratas lactantes y en la placenta de hámsteres preñadas.

La administración de enalapril a pacientes con hipertensión ligera a moderada ocasiona la reducción de la presión arterial tanto en posición supina como de pie, sin que se observe un componente ortostático. La hipotensión postural sintomática es infrecuente, aunque puede darse en pacientes con depleción de volumen.

En la mayoría de los pacientes estudiados, después de una dosis oral de enalapril, el inicio del efecto antihipertensivo se observa una hora después de la administración, produciéndose la máxima reducción de la presión arterial a las 6 horas. A las dosis recomendadas el efecto antihipertensivo se mantiene al menos durante 24 horas, aunque en algunos pacientes hay que esperar algunas semanas para que se alcance la reducción óptima de la presión arterial. Los efectos antihipertensivos del enalapril se mantienen durante la administración crónica del fármaco y no se observan efectos de rebotes hipertensivos cuando se suspende la medicación de forma abrupta [17].

METODOLOGÍA

Las etapas del estudio se detallan a continuación:

7.1 Delimitación de la investigación

La elección del principio activo enalapril maleato fue realizada con base en la clase III: alta solubilidad, baja permeabilidad del SCB, debido a que este grupo permite efectuar un estudio de equivalencia terapéutica in vitro.

La selección del medicamento de prueba y su respectivo laboratorio fabricante, fue hecha con base en la información obtenida de las adjudicaciones del Ministerio de Salud (MINSAL) [21], Fondo Solidario para la Salud (FOSALUD) [22], y del Instituto Salvadoreño del Seguro Social (ISSS) [23], ya que así consideramos las tabletas de enalapril maleato 20 mg de formulación nacional dispensadas durante el año 2013 a la población salvadoreña.

Conocido el nombre y el laboratorio fabricante del medicamento de prueba, este fue comprado en farmacia local, verificando un tiempo de caducidad apropiado de acuerdo a la bibliografía, de igual forma se compró el medicamento de referencia.

7.2 Diseño de pruebas in vitro

7.2.1 Equipos:

- a. Disolutor, marca Hanson Research, modelo SR8PLUS
- b. Balanza analítica, marca Mettler Toledo, modelo AX205 delta range
- c. Ultrasonido, marca Branson, modelo 8510
- d. Equipo de filtración, marca Whatman
- e. Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, marca Shimadzu, modelo LC-2010 AHT
- f. Cristalería adecuada para la preparación de muestras y estándar
- g. Hot plate y agitador magnético, marca PMC, modelo 520C

7.2.2 Reactivos:

- a. Acetonitrilo HPLC
- b. Fosfato de sodio monobásico
- c. Agua HPLC
- d. Agua desmineralizada
- e. Ácido fosfórico
- f. Cloruro de sodio
- g. Ácido clorhídrico
- h. Hidróxido de sodio
- i. Acetato de sodio anhidro
- j. Ácido acético glacial
- k. Fosfato de potasio monobásico
- l. Enalapril maleato materia prima
- m. Enalapril maleato estándar USP
- n. Enalapril maleato estándar de trabajo
- o. Enalaprilat estándar USP

7.2.3 Preparación de reactivos:

- a. **Solución amortiguadora fosfato pH 2.2:** Disolver 1.38 g de fosfato de sodio monobásico, en agua HPLC, disolver con 800 mL de agua desmineralizada, ajustar con ácido fosfórico a pH 2.2. Diluir con agua desmineralizada a 1000.0 mL y mezclar.
- b. **Fase móvil:** Preparar una mezcla filtrada y desgasificada de solución amortiguadora fosfato pH 2.2 y acetonitrilo (75: 25)
- c. **Ácido acético 2N:** Medir 116 mL de ácido acético glacial y agregarlos con cuidado a un frasco volumétrico de 1000 mL, conteniendo 500 mL de agua desmineralizada, aforar con agua desmineralizada y homogenizar.
- d. **Hidróxido de sodio 1N:** Pesar 40.0g de hidróxido de sodio y agregarlos con cuidado a un frasco volumétrico de 1000 mL, conteniendo 500 mL de agua desmineralizada, aforar con agua desmineralizada y homogenizar.
- e. **Hidróxido de sodio 0.2N:** Pesar 8.0g de hidróxido de sodio y agregarlos con cuidado a un frasco volumétrico de 1000 mL, conteniendo 500 mL de agua desmineralizada, aforar con agua desmineralizada y homogenizar.
- f. **diluyentes:**
 - **Solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP:** Pesar 2.0 g de cloruro de sodio y colocarlos en un balón volumétrico de 1000 mL, disolver con agua, y agregar 7 mL de ácido clorhídrico, aforar. Regular a pH 1.2 con ácido clorhídrico o hidróxido de sodio.

- **Solución buffer pH 4.5:** Pesar 1.8031 g de acetato de sodio anhidro y colocarlos en un balón volumétrico de 1000 mL, disolver con agua, y agregar 14 mL de ácido acético 2N, aforar. Regular a pH 4.5 con ácido acético 2N o hidróxido de sodio 1N.
- **Solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima:** Pesar 6.8 g de fosfato de potasio monobásico y colocarlos en un balón volumétrico de 1000 mL, disolver con agua, y agregar 77 mL de hidróxido de sodio 0.2N, aforar. Regular a pH 6.8 con ácido clorhídrico o hidróxido de sodio.

7.2.4 Condiciones cromatográficas

a. Equipo	cromatógrafo líquido de alta eficiencia
b. Detector	ultravioleta
c. Longitud de onda	215 nm
d. Columna	empaque L7 (RP-8) (4.0 mm * 250.0 mm * 5 μ m)
e. Pre-columna	empaque L7 (RP-8) (4.0 mm * 4.0 mm * 5 μ m)
f. Temperatura	50 °C
g. Flujo fase móvil	2.0 mL/min
h. Volumen a inyectar	50.0 μ L
i. Tiempo de retención	9.5 minutos \pm 20%
j. Tiempo de estabilización	60 minutos o el necesario para pasar prueba de ruido
k. Eficiencia de columna	no menos de 1000 platos teóricos para enalaprilat, no menos de 300 para enalapril maleato y no menos de 2500 platos teóricos para enalapril dicetopiperazina
l. Resolución	entre el ácido maleico y el enalaprilat no es menor de 2.0; entre enalaprilat y enalapril maleato no es menor de 2.0 y entre enalapril maleato y enalapril dicetopiperazina no es menor de 2.0
m. Factor de asimetría	no es mayor de 2.0
n. Factor de capacidad k'	no es menor de 1.5
o. Tiempos de retención	0.3 para ácido maleico; 0.5 para enalaprilat;

relativos	1.0 para enalapril maleato y 1.5 para enalapril dicetopiperazina
p. RSD	para inyecciones repetidas no es más de 2.0% para el pico de enalapril y 5.0% para el pico de enalaprilat

Nota: El área del pico correspondiente al producto de degradación, inducida por calor, de enalapril dicetopiperazina (si estuviera presente, con los tiempos de retención relativos de aproximadamente 1.2) no es mayor de 15% del área de enalapril dicetopiperazina.

7.2.5 Determinación de solubilidad experimental del enalapril maleato

7.2.5.1 Estándar y muestra de enalapril maleato

Preparar el estándar y muestra con los siguientes diluyentes:

- Solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP
- Solución buffer pH 4.5
- Solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

Estándar: Transferir 80.00 mg de enalapril maleato estándar de trabajo exactamente pesado, a un frasco volumétrico de 100 mL, agregar 70 mL de diluyente, usando ultrasonido para disolver si es necesario, aforar y mezclar. De esta solución tomar una alícuota de 5.0 mL y transferirla a un frasco volumétrico de 50 mL; aforar con diluyente. Esta es la solución del estándar y tiene una concentración conocida de 0.08 mg/mL de enalapril maleato.

Muestra: Pesar 20.00 mg de enalapril maleato materia prima y transferir a un erlenmeyer de 500 mL, agregar 250 mL de diluyente y agitar durante 24 horas con agitador magnético y a 37°C. Esta es la solución final de la muestra que tiene una concentración estimada de 0.08 mg/mL de enalapril maleato.

7.2.5.2 Procedimiento

Adecuar las condiciones del cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificadas en las condiciones cromatográficas. Inyectar por separado las soluciones estándar y las muestras previamente filtradas por membrana de nylon de 0.45 micras o menos.

7.2.5.3 Cálculos:

Determinar la cantidad en mg y % disuelto de enalapril maleato materia prima ($C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$) por las fórmulas:

$$\text{mg disueltos} = C(A_{mx}/A_{st})250$$
$$\% \text{ disuelto} = \text{mg disueltos}(100/P_{mx})$$

Donde:

C	:	concentración del estándar en mg/mL
A _{mx}	:	área de muestra
A _{st}	:	área del estándar
250	:	volumen de diluyente
100	:	factor para determinar porcentaje
P _{mx}	:	Peso real de muestra en mg

7.2.6 Determinación de perfiles de disolución experimentales del medicamento enalapril maleato 20 mg tableta de formulación nacional

Condiciones experimentales:

a.	Aparato	2
b.	Medios de disolución	-solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP -solución buffer pH 4.5 -solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP
c.	Volumen del medio	900 mL
d.	Velocidad de agitación	75 rpm
e.	Temperatura del medio	37 °C

f.	Tiempos de muestreo	5,10,15,20,30 y 45 minutos
g.	Q (tolerancia)	80%
h.	Volumen de alícuota tomada	10 mL con reposición del medio de disolución
i.	Unidades ensayadas	12 unidades de cada medicamento evaluado

7.2.6.1 Preparación del estándar de disolución:

Transferir 111.10 mg de enalapril maleato estándar de referencia a un balón volumétrico de 100 mL, añadir 50 mL de diluyente y emplear ultrasonido si es necesario para disolver, aforar con el mismo solvente y mezclar. Tomar una alícuota de 10.0 mL y colocarla en un balón volumétrico de 100 mL, aforar con diluyente y mezclar. De esta solución tomar las siguientes alícuotas por separado y colocarlas en balones volumétricos individuales de 10 mL: 0.5 mL, 1.0 mL, 2.0 mL, 3.0 mL y 4.0 mL; aforar con diluyente y mezclar para homogenizar.

Las concentraciones finales de enalapril maleato son:

- 5.56 µg/mL (equivalente al 25%)
- 11.11 µg/mL (equivalente al 50%)
- 22.22 µg/mL (equivalente al 100%)
- 33.33 µg/mL (equivalente al 150%)
- 44.44 µg/mL (equivalente al 200%).

7.2.6.2 Preparación de las muestras:

Pesar individualmente 12 tabletas; colocar 1 tableta en cada uno de los vasos del disolutor que contienen 900 mL de medio de disolución; eliminar las burbujas de aire de la superficie de la unidad de dosificación. Inmediatamente operar el disolutor a 75 rpm, extraer 10mL de cada vaso en los tiempos: 10, 15, 20, 30 y 45 minutos, filtrar a través de papel filtro Whatman #1 o equivalente, descartando los primeros mL del filtrado; del filtrado claro tomar un volumen y filtrarlo a través de filtro de membrana de 0.45 µm o de porosidad más fina.

Nota: Sacar las muestras de la zona media entre la superficie del medio de disolución y el fondo del vaso a no menos de 1.0 cm de la pared del vaso.

7.2.6.3 Procedimiento:

Adecuar las condiciones del cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificadas en las condiciones cromatográficas. Inyectar por separado las soluciones estándar y las muestras previamente filtradas por membrana de nylon de 0.45 micras o menos.

7.2.6.4 Cálculos:

Construir la curva de regresión lineal $y = mx+b$,

Donde:

x : concentración

y : áreas

m : pendiente

b : intercepto

Despejando x , para obtener los resultados de porcentaje disuelto en cada punto temporal

$$x = (y-b)/m$$

Donde:

y : respuesta en unidades de área

x : porcentaje disuelto en cada tiempo

7.2.7 Determinación de pruebas adicionales

7.2.7.1 Compuestos relacionados

7.2.7.1.1 Preparación de solución estándar de compuestos relacionados:

Transferir 200.0 mg de enalapril maleato estándar de trabajo exactamente pesado, a un frasco volumétrico de 100 mL, agregar 70 mL de diluyente, usar ultrasonido para disolver si es necesario. Aforar con diluyente y mezclar, de esta solución tomar una alícuota de 10.0 mL y transferirla a un balón volumétrico de 100 mL.

De la solución estándar de enalaprilat tomar una alícuota de 0.5 mL y transferirla al balón que contiene estándar de enalapril maleato, aforar con diluyente. Transferir 1.0 mL de esta solución a un balón volumétrico de 100 mL, aforar con solución amortiguadora y mezclar. Filtrar por membrana de nylon de 0.45 micras o menos, descartando la primera porción del filtrado. Esta es la solución final del estándar que tiene una concentración conocida de enalapril maleato 0.002 mg/ mL, y de enalaprilat 0.00002 mg/ mL.

7.2.7.1.2 Preparación de la muestra:

Transferir no menos de 5 tabletas equivalente a 100.0 mg de enalapril maleato, a un balón volumétrico de 500 mL, agregar 250 mL de diluyente, agitar durante 10 minutos en ultrasonido y 30 minutos mecánicamente. Aforar con diluyente. Agitar en ultrasonido por 10 minutos más. Filtrar por membrana de nylon de 0.45 micras o menos, descartando la primera porción del filtrado. Esta es la solución final de la muestra que tiene una concentración estimada de 0.2 mg/mL de enalapril maleato.

7.2.7.1.3 Procedimiento:

Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µL) de la solución de aptitud del sistema, la solución estándar de compuestos relacionados, la solución amortiguadora y la muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos en la preparación prueba que constituyan más de 0.1% de la respuesta del pico de enalapril y que no se observen en la solución amortiguadora.

7.2.7.1.4 Cálculos:

Calcular el porcentaje de enalaprilat anhidro (como enalapril maleato) presente en la porción de tabletas tomada, por la fórmula:

$$\% \text{ de enalaprilat anhidro} = (M_{em}/M_{ea})(CV/N)(r_u/r_s)(100/L)$$

Donde:

M_{em} : peso molecular de enalapril maleato (492.52)

M_{ea} : peso molecular de enalaprilat anhidro (348.39)

- C : concentración en mg/mL de enalaprilat en la preparación estándar
- V : volumen del balón volumétrico que contiene la preparación de la muestra
- N : número de tabletas tomado para la preparación de la muestra
- r_u : área del pico de enalaprilat en la muestra
- r_s : área del pico del Estándar de enalaprilat
- L : cantidad de enalapril maleato declarado en la etiqueta

Calcular el porcentaje de enalapril dicetopiperazina (como enalapril maleato) presente en la porción de tabletas tomada, por la fórmula:

$$\% \text{ de enalapril dicetopiperazina} = (M_{em}/M_{ed})(C'V/N)(r_u/1.25r_s)(100/L)$$

Donde:

- M_{em} : peso molecular de enalapril maleato (492.52)
- M_{ed} : peso molecular de enalapril dicetopiperazina (358.44)
- C' : concentración en mg/mL de enalapril maleato en la solución estándar de compuestos relacionados
- V : volumen del balón volumétrico que contiene la preparación de la muestra
- N : número de tabletas tomado para la preparación de la muestra
- r_u : área de respuesta del pico de enalapril dicetopiperazina obtenido en la preparación de la muestra
- r_s : área de respuesta del pico de enalapril maleato obtenido en la solución estándar de compuestos relacionados
- 1.25 : respuesta del enalapril dicetopiperazina en relación con la respuesta de pico de enalapril maleato
- L : cantidad de enalapril maleato declarado en la etiqueta (20)

Calcular el porcentaje cualquier otro compuesto relacionado presente en la porción de tabletas tomada, por la fórmula:

$$\% \text{ cualquier otro compuesto relacionado} = (C'V/N)(r_R/r_s)(100/L)$$

Donde:

- r_R : es la suma de las respuestas (áreas) de todo compuesto relacionado, distinto del ácido maleico, enalapril, enalaprilat y enalapril dicetopiperazina, obtenidas a partir de la preparación de la muestra
- r_s : área de respuesta del pico de enalapril maleato obtenido de la solución estándar de compuestos relacionados
- C' : concentración en mg/mL de enalapril maleato en la solución estándar de compuestos relacionados
- V : volumen del balón volumétrico que contiene la preparación de la muestra
- N : número de tabletas tomado para la preparación de la muestra
- L : cantidad de enalapril maleato declarado en la etiqueta (20)

Criterios de aceptación:

La suma de todos los compuestos relacionados incluyendo aquellos de enalaprilat y enalapril dicetopiperazina no es mayor del 5.0%.

7.2.7.2 Ensayo: cuantificación del principio activo

Diluyente: solución amortiguadora fosfato pH 2.2.

7.2.7.2.1 Preparación de solución estándar de enalaprilat:

Pesar exactamente 20.0 mg de enalaprilat USP y transferir a un balón volumétrico de 50 mL adicionar 25 mL de agua desmineralizada y disolver, aforar con el mismo solvente. Esta solución tiene una concentración final de 0.4 mg/mL de enalaprilat.

7.2.7.2.2 Preparación de solución de enalapril dicetopiperazina:

Pesar exactamente 20.0 mg de enalapril maleato estándar de trabajo y transferirlos a una beaker de 100 mL cuidadosamente hasta formar un montículo en el fondo del beaker. Colocar el beaker sobre un hot plate, aproximadamente a la mitad de la temperatura máxima de la placa, para fundir el sólido. Cuando se observe fusión (después de 5 o 10 minutos de calentamiento), retirar inmediatamente el beaker del hot plate y dejar que se enfríe. (**Nota:** evitar el recalentamiento, más allá del punto de fusión observado inicialmente, para prevenir la degradación inducida por calor, la cual generaría un color marrón). Agregar 50 mL de acetonitrilo al residuo enfriado en el beaker y someter a ultrasonido hasta disolución completa. La solución típicamente contiene por cada mL entre 0.2 y 0.4 mg de enalapril dicetopiperazina.

7.2.7.2.3 Preparación del estándar:

Transferir 200.0 mg de enalapril maleato estándar de trabajo exactamente pesado, a un frasco volumétrico de 100 mL, agregar 70 mL de diluyente, usar ultrasonido para disolver si es necesario. Aforar con diluyente y mezclar, de esta solución tomar una alícuota de 10.0 mL y transferirla a un balón volumétrico de 100 mL.

De la solución estándar de enalaprilat tomar una alícuota de 0.5 mL y transferirla al balón que contiene estándar de enalapril maleato, aforar con diluyente. Esta es la solución del estándar y tiene una concentración conocida de 0.2 mg/mL de enalapril maleato y 0.002 mg/mL de enalaprilat.

7.2.7.2.4 Preparación de solución aptitud del sistema:

Transferir 0.5 mL de solución de enalapril dicetopiperazina a una balón volumétrico de 25 mL, aforar con la solución del estándar y homogenizar. Esta solución tiene una concentración final aproximada de 0.006 mg/mL de enalapril dicetopiperazina, 0.2 mg/mL de enalapril maleato y 0.002 mg/mL de enalaprilat.

7.2.7.2.5 Preparación de la muestra:

Transferir no menos de 5 tabletas equivalente a 100.0 mg de enalapril maleato, a un balón volumétrico de 500 mL, agregar 250 mL de diluyente, agitar durante 10 minutos

en ultrasonido y 30 minutos mecánicamente. Aforar con diluyente. Agitar en ultrasonido por 10 minutos más. Esta es la solución final de la muestra que tiene una concentración estimada de 0.2 mg/mL de enalapril maleato.

7.2.7.2.6 Procedimiento:

Adecuar las condiciones del cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificadas en las condiciones cromatográficas. Inyectar por separado las soluciones estándar y las muestras previamente filtradas por membrana de nylon de 0.45 micras o menos.

7.2.7.2.7 Cálculos:

Determinar la cantidad en mg de enalapril maleato ($C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$) en cada tableta tomada por la fórmula:

$$\text{mg/tab} = C(\text{Amx}/\text{Ast})(\text{Wprom}/\text{Wmx})500$$
$$\% \text{ declarado} = (\text{mg/tab})5$$

Donde:

C	:	concentración del estándar en $\mu\text{g/mL}$
Amx	:	área de muestra
Ast	:	área del estándar
Wprom	:	peso promedio de las tabletas
Wmx	:	peso de muestra
500	:	factor de dilución
5	:	factor

7.2.7.3 Uniformidad de unidades de dosificación, por medio de uniformidad de contenido

Diluyente: solución amortiguadora fosfato pH 2.2.

7.2.6.1.1 Preparación de solución estándar de enalaprilat:

Pesar exactamente 20.0 mg de enalaprilat USP y transferir a un balón volumétrico de 50 mL adicionar 25 mL de agua desmineralizada y disolver, aforar con el mismo solvente. Esta solución tiene una concentración final de 0.4 mg/mL de enalaprilat.

7.2.7.3.2 Preparación del estándar:

Transferir 200.0 mg de enalapril maleato estándar de trabajo exactamente pesado, a un frasco volumétrico de 100 mL, agregar 70 mL de diluyente, usar ultrasonido para disolver si es necesario. Aforar con diluyente y mezclar, de esta solución tomar una alícuota de 10.0 mL y transferirla a un balón volumétrico de 100 mL.

De la solución estándar de enalaprilat tomar una alícuota de 0.5 mL y transferirla al balón que contiene estándar de enalapril maleato, aforar con diluyente. Esta es la solución del estándar y tiene una concentración conocida de 0.2 mg/mL de enalapril maleato y 0.002 mg/mL de enalaprilat.

7.2.7.3.3 Preparación de la muestra:

Transferir una tableta intacta e individual equivalente a 20 mg de enalapril maleato, a un balón volumétrico de 100 mL, agregar 70 mL de diluyente y agitar durante 15 minutos en ultrasonido, luego aforar con diluyente. Esta es la solución final de la muestra que tiene una concentración estimada de 200.0 µg/mL de enalapril maleato.

7.2.7.3.2 Procedimiento:

Adecuar las condiciones del cromatógrafo líquido de alta eficiencia, según las especificadas en las condiciones cromatográficas. Inyectar por separado las soluciones estándar y las muestras previamente filtradas por membrana de nylon de 0.45 micras o menos.

7.2.7.3.3 Cálculos:

Determinar la cantidad en mg de enalapril maleato ($C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$) en cada tableta tomada por la fórmula:

$$\text{mg/ tab} = C(A_{mx}/A_{st})100$$

$$\% \text{ declarado} = (\text{mg/tab})5$$

Donde:

C : concentración del estándar en µg/mL

A_{mx} : área de muestra

Ast : área del estándar
100 : factor de dilución
5 : factor

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Clasificación de solubilidad del enalapril maleato

8.1.1 Estándar

Tabla 1- Estándar de concentración 0.08 mg/mL en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

Solución de trabajo	Área	Factor de respuesta
Estándar 1	2535464.0	31693.3
Estándar 2	2536191.0	31702.4
Estándar 3	2540625.0	31757.8
Estándar 4	2543545.0	31794.3
Estándar 5	2547978.0	31849.7
Promedio	2540760.6	31759.5
Desviación estándar	5215.3	
RSD (%)	0.2	
Solución de control	Área	Factor de respuesta
Estándar 1	2560477.0	32006.0
Estándar 2	2564988.0	32062.4
Estándar 3	2565153.0	32064.4
Estándar 4	2566990.0	32087.4
Estándar 5	2569414.0	32117.7
Promedio	2565404.4	32067.6
Desviación estándar	3282.8	
RSD (%)	0.1	
RSD del factor de respuesta		1%

El estándar cumple con los criterios de aceptación: RSD de 5 inyecciones repetidas menor al 2.0%, RSD de factor de respuesta entre ambas soluciones, no excede el 2%.

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08

ESTANDAR ENALAPRIL MALEATO EN BUFFER 1.2 - 80.00 mcg/mL

Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA.met

Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL MALEATO 20 mg 23-01-14-.seq

Nombre del archivo: c:\ezstart\projects\default\data\enalapril maleato 20 mg\cal_enalpers23-01-2014 05-31-53 p.m.001-rep1.dat

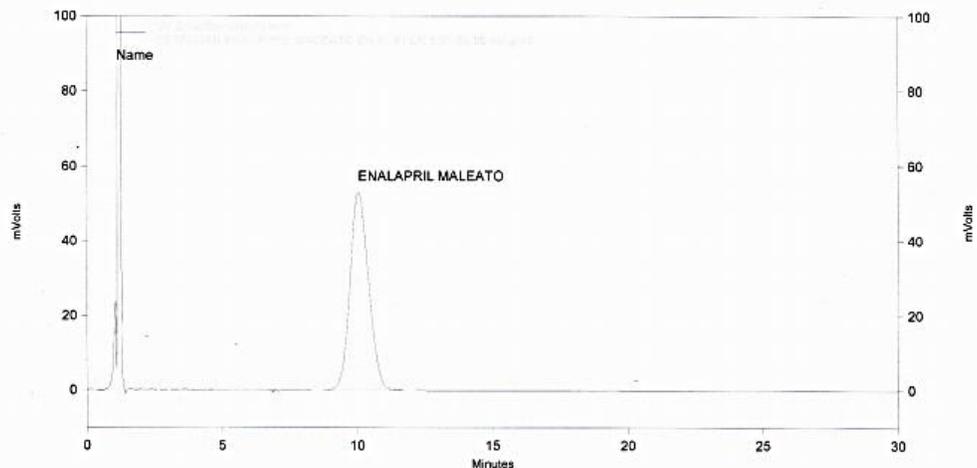
Descripcion: ESTANDAR PERFIL DE SOLUBILIDAD - ENALAPRIL MALEATO 80.00 mcg/mL EN BUFFER FOSFATO PH: 1.2

Vial: 2-1

Volumen inyección: 50

Analista: LIC. ERICK AVALOS

ENALAPRIL MALEATO



UV Detector Ch1 - 215nm

Results

No.	Nombre	Tiempo retencion	Area	Altura
10	ENALAPRIL MALEATO	10.0	2535464	53162

Codigo de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL MALEATO 20 mg 23-01-14-.seq

UV Detector Ch1-215nm

Sample ID	Area	Height
ESTANDAR ENALAPRIL MALEATO E...	2535464	53162
ESTANDAR ENALAPRIL MALEATO E...	2536191	52087
ESTANDAR ENALAPRIL MALEATO E...	2540625	53056
ESTANDAR ENALAPRIL MALEATO E...	2543545	53410
ESTANDAR ENALAPRIL MALEATO E...	2547978	54414

Min:	2535464	52087
Max:	2547978	54414
Mean:	2540761	53226
Std Dev:	5215	833
%RSD:	0.21	1.57

Figura 16 – Cromatograma de estándar de concentración 0.08 mg/mL en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

Tabla 2 – Resumen de estándares de concentración 0.08 mg/mL

Medio de disolución	RSD 5 inyecciones repetidas solución de trabajo menor al 2.0%	RSD 5 inyecciones repetidas solución de control menor al 2.0%	RSD factor de respuesta entre ambas soluciones no excede el 2%.
Solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	0.2%	0.1%	1%
Solución buffer pH 4.5	0.1%	0.2%	2%
Solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	0.2%	0.2%	2%

Las áreas por estándar en cada medio de disolución, se encuentran en los anexos 1 y 2.

Todos los estándares cumplen con los criterios de aceptación: RSD de 5 inyecciones repetidas menor al 2.0% y, RSD de factor de respuesta entre ambas soluciones, no excede el 2%.

8.1.2 Muestra de materia prima

Tabla 3 – Muestra de concentración 0.08 mg/mL en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

Materia prima	Área	mg disueltos	% disuelto
Muestra 1	2597164.0	20.4	102.2
Muestra 2	2601676.0	20.5	102.4
Muestra 3	2577115.0	20.3	101.4
Muestra 4	2585454.0	20.4	101.8
Promedio	2590352.3	20.4	102.0
Desviación estándar	11163.1	0.1	0.4
RSD (%)	0.4	0.4	0.4

De acuerdo a los resultados obtenidos, el porcentaje disuelto es 102.0% en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP.

SHIMADZU

Código de equipo: CFQ-HPLC-08

PERFIL DE SOLUBILIDAD - ENALAPRIL MALEATO EN BUFFER 1.2

Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA.met

Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL MALEATO 20 mg 23-01-14-.seq

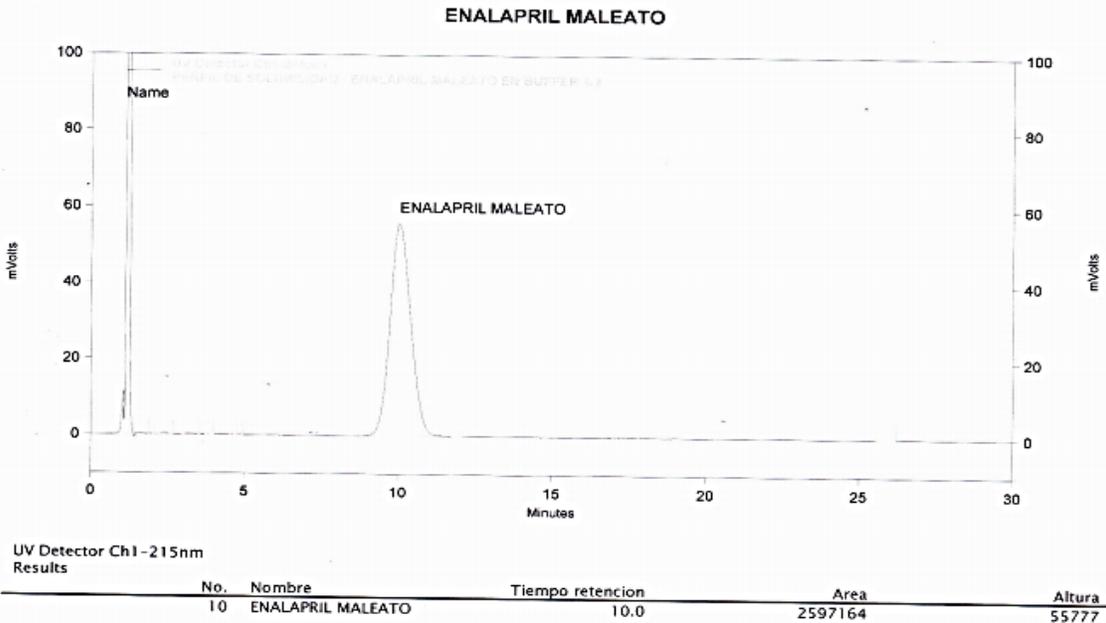
Nombre del archivo: c:\ezstart\projects\default\data\enalapril maleato 20 mg\enalpers23-01-2014 08-09-14 p.m.001-rep1.dat

Descripcion: PERFIL DE SOLUBILIDAD - ENALAPRIL MALEATO EN BUFFER FOSFATO PH: 1.2 - MX 1-1 A TEMPERATURA AMBIENTE

Vial: 2-2

Volumen inyección: 50

Analista: LIC. ERICK AVALOS



Código de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL MALEATO 20 mg 23-01-14-.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MAL...	ENALAPRIL MALEATO
Sample ID	Area	Height
PERFIL DE SOLUBILIDAD - ENALAPRI...	2597164	55777
PERFIL DE SOLUBILIDAD - ENALAPRI...	2601676	56068
PERFIL DE SOLUBILIDAD - ENALAPRI...	2577115	55579
PERFIL DE SOLUBILIDAD - ENALAPRI...	2585454	55716
Min:	2577115	55579
Max:	2601676	56068
Mean:	2590352	55785
Std Dev:	11163	206
%RSD:	0.43	0.37

Figura 17 – Cromatograma de muestra en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

Tabla 4 – Resumen de muestras

Medio de disolución	Área	mg disueltos	% disuelto
solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP	2590352.3	20.4	102.0
solución buffer pH 4.5	2647568.3	20.7	103.5
solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP	2668634.3	20.3	101.6

Los datos por muestras de materia prima en cada medio de disolución, se presentan en los anexos 3 y 4.

Los porcentajes disueltos de materia prima son: 102.0% en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP; 103.5% en solución buffer pH 4.5 y 101.6% en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP; estos valores obtenidos coinciden con un principio activo de alta solubilidad.

8.2 Clasificación de permeabilidad del enalapril maleato

De acuerdo al SCB de Amidon – está clasificada como alta Permeabilidad.

8.3 Determinación de los perfiles de disolución del medicamento enalapril maleato 20 mg tableta de formulación nacional

8.3.1 Medio de disolución: solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

a. Estándar de trabajo – medicamento de referencia

Tabla 5 – Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de disolución – solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

n	x (%)	y (área)	f (y/x)
1	25	185234	7409
2	50	372018	7440
3	100	722073	7221
4	150	1075970	7173
5	200	1450412	7252
Σ	525	3805707	36496

Criterios de aceptación

Símbolo	Valor	Descripción	Límites
n	5	Grados de libertad	*****
t	0,2196	Valor t de student práctico (0.05, n-1)	2,086
m	7186,23	Pendiente de la línea de regresión	*****
b	6587,25	Intercepto	*****
r	1,000	Coeficiente de correlación	≥ 0.999
r ²	1,000	Coeficiente de determinación	≥ 0.998
RSD f. r.	1.4542	RSD del factor de respuesta	$\leq 2.0 \%$
Er	0,0535	Error relativo %	$\leq 2.0 \%$

Ecuación final

$y = mx + b$
$y = 7186.23 x + 6587.25$

SHIMADZU

Código de equipo: CFQ-HPLC-08

CURVA DE CALIBRACION - PERFIL DE DISOLUCION - BUFFER pH 1.2

Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB PERFIL DISOLUCION.met

Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH1.2.seq

Descripcion: ESTANDAR PERFIL DE DISOLUCION AL 25%

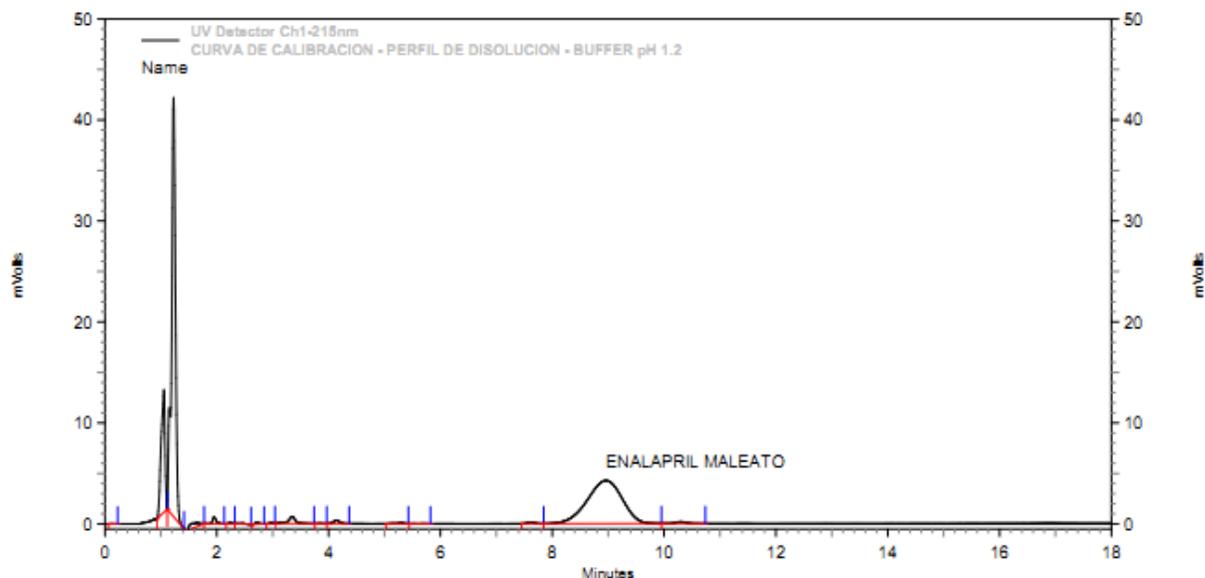
ENALAPRIL MALEATO 5.56 mcg/mL

Vial: 1-91

Volumen inyección: 50

Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO



UV Detector Ch1-215nm

Results

No.	Nombre	Tiempo retencion	Area	Altura
16	ENALAPRIL MALEATO	9.0	185084	4258

Codigo de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH1.2.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Retention Time	Area	Height
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	9.0	185084	4258
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	9.0	185384	4297
Min:	9.0	185084	4258
Max:	9.0	185384	4297
Mean:	9.0	185234	4278
Std Dev:	0.0	212	28
%RSD:	0.05	0.11	0.64

Figura 18 – Cromatograma de estándar de concentración 5.56 µg/mL en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

b. Resultados perfil de disolución – medicamento de referencia

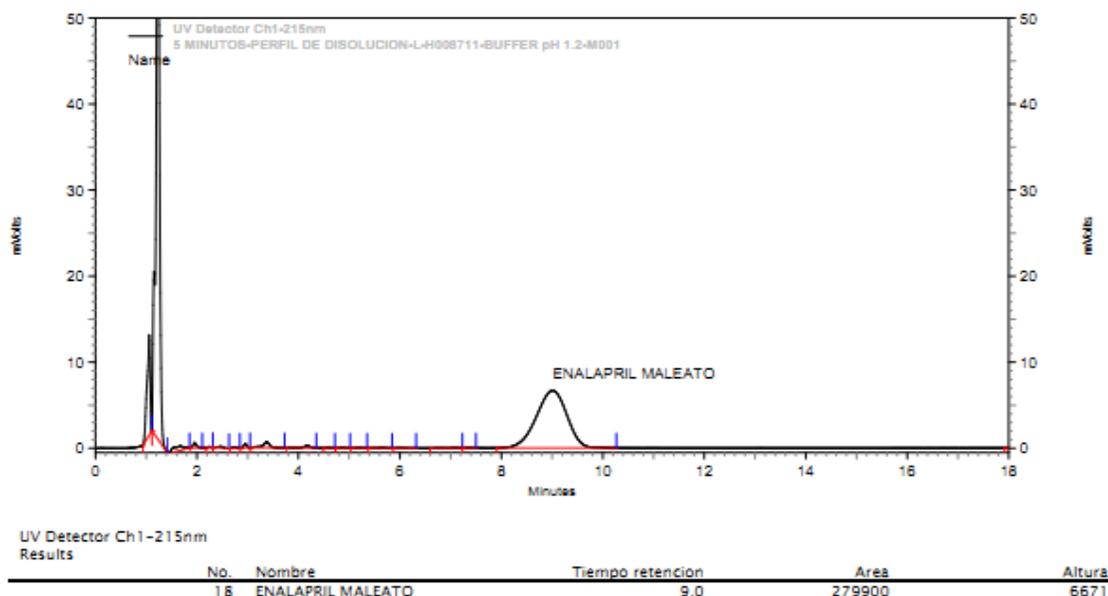
Tabla 6 - Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 1 - 5 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	279900	7.6	38
2	199.0	331961	9.1	45
3	201.0	274972	7.5	37
4	196.0	271728	7.4	37
5	199.0	331751	9.0	45
6	197.0	286530	7.8	39
7	200.0	277968	7.6	38
8	198.0	288449	7.8	39
9	196.0	254944	6.9	35
10	201.0	242538	6.6	33
11	199.0	263022	7.1	36
12	201.0	274574	7.5	37
Promedio				38
Desviación estándar				4
RSD (%)				10
Límite inferior				33
Límite superior				45

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08
 5 MINUTOS-PERFIL DE DISOLUCION-L-H008711-BUFFER pH 1.2-M001
 Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB PERFIL DISOLUCION.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH1.2.seq
 Descripción: L - H008711 PERFIL DE DISOLUCION ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA. LIDER. 5 MIN
 Vial: 1-1
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO



Codigo de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH1.2.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Retention Time	Area	Height
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.0	279900	6671
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.0	331961	7938
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.0	274972	6570
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.0	271728	6476
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.0	331751	7939
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.1	286530	6853
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.1	277968	6637
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.1	288449	6892
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.1	254944	6078
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.1	242538	5778
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.1	263022	6271
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	9.1	274574	6551
Min:	9.0	242538	5778
Max:	9.1	331961	7939
Mean:	9.1	281528	6721
Std Dev:	0.0	26817	649
%RSD:	0.32	9.53	9.66

Figura 19 – Cromatograma - tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

Tabla 7 – Resumen de resultados de medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

	Tiempo 1 5 minutos	Tiempo 2 10 minutos	Tiempo 3 15 minutos	Tiempo 4 20 minutos	Tiempo 5 30 minutos	Tiempo 6 45 minutos
% Recup. promedio	38	69	90	98	98	98
Desviación estándar	4	5	4	1	1	1
RSD (%)	10	8	4	2	1	1
Límite inferior	33	63	84	95	96	96
Límite superior	45	79	96	100	99	100

Los resultados por cada tiempo evaluado del medicamento de referencia, se encuentran en los anexos 5 al 9.

Los datos de porcentaje de recuperación obtenidos en el perfil de disolución del medicamento de referencia en medio de disolución: solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP, pueden utilizarse en los cálculos finales debido a que el RSD cumple, ya que en el punto temporal más temprano (5 minutos) expresado en la tabla 6 es menor a 20%, y para los otros puntos, expresados en la tabla 7, los RSD son menores a 10%.

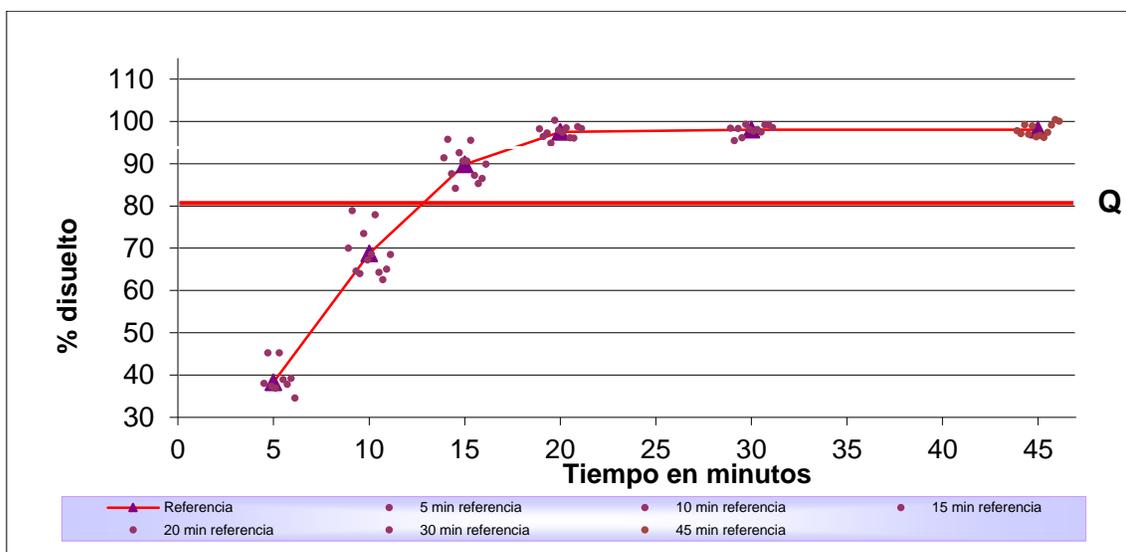


Figura 20 - Gráfico de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

Los promedios de recuperación incrementan en relación al tiempo transcurrido, hasta los 20 minutos, luego este valor es constante hasta el final de la prueba.

c. Estándar de trabajo – medicamento de prueba

Tabla 8 - Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de disolución en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

n	x (%)	y (área)	f (y/x)
1	25	196120	7845
2	50	395127	7903
3	100	771647	7716
4	150	1119692	7465
5	200	1561199	7806
Σ	525	4043785	38735

Criterios de aceptación

Símbolo	Valor	Descripción	Límites
n	5	Grados de libertad	*****
t	0.1185	Valor t de student práctico (0.05, n-1)	2.086
m	7679.04	Pendiente de la línea de regresión	*****
b	2458.29	Intercepto	*****
r	0.999	Coeficiente de correlación	≥ 0.999
r ²	0.999	Coeficiente de determinación	≥ 0.998
RSD f. r.	1.9823	RSD del factor de respuesta	$\leq 2.0 \%$
Er	0.054	Error relativo %	$\leq 2.0 \%$

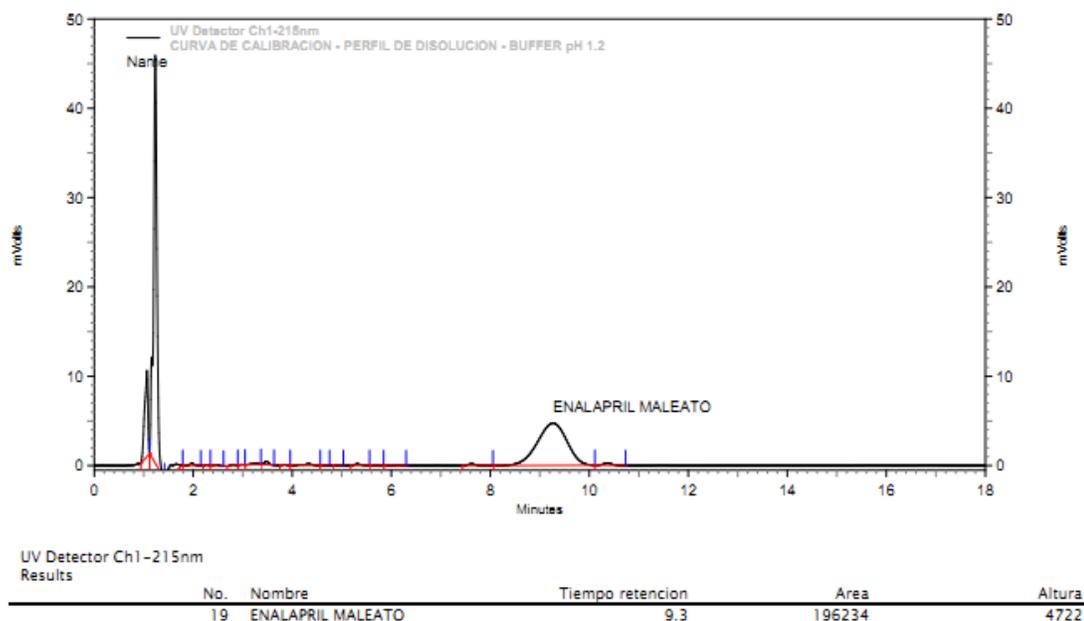
Ecuación final

$y = mx + b$
$y = 7679.04 x + 2458.29$

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08
 CURVA DE CALIBRACION - PERFIL DE DISOLUCION - BUFFER pH 1.2
 Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB PERFIL DISOLUCION.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH1.2.seq
 Descripción: ESTANDAR PERFIL DE DISOLUCION AL 25%
 ENALAPRIL MALEATO 5.56 mcg/mL
 Vial: 1-96
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO



Codigo de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH1.2.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Retention Time	Area	Height
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	9.3	196234	4722
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	9.3	196006	4725
Min:	9.3	196006	4722
Max:	9.3	196234	4725
Mean:	9.3	196120	4724
Std Dev:	0.0	161	2
%RSD:	0.05	0.08	0.04

Figura 21 – Cromatograma de estándar de concentración 5.56 µg/mL en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

d. Resultados perfil de disolución – medicamento de prueba

Tabla 9 - Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 1 - 5 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	746630	19.4	97
2	199.0	725571	18.8	94
3	201.0	685785	17.8	89
4	196.0	728557	18.9	95
5	199.0	672912	17.5	87
6	197.0	796780	20.7	103
7	200.0	789144	20.5	102
8	198.0	740114	19.2	96
9	196.0	747728	19.4	97
10	201.0	759681	19.7	99
11	199.0	793893	20.6	103
12	201.0	674252	17.5	87
Promedio				96
Desviación estándar				6
RSD (%)				6
Límite inferior				87
Límite superior				103

SHIMADZU

Código de equipo: CFQ-HPLC-08

5 MINUTOS-PERFIL DE DISOLUCION-L-F3030-BUFFER pH 1.2-M001

Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB PERFIL DISOLUCION.met

Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH1.2.seq

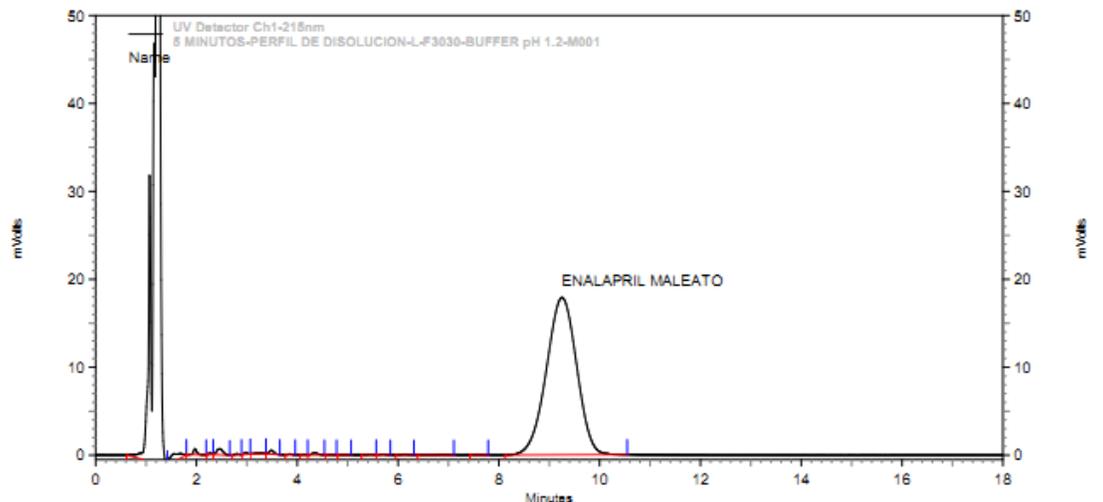
Descripción: L - F3030 PERFIL DE DISOLUCION ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA. 5 MIN

Vial: 2-1

Volumen inyección: 50

Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO



UV Detector Ch1-215nm

Results

No.	Nombre	Tiempo retención	Area	Altura
20	ENALAPRIL MALEATO	9.3	746630	17886

Código de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH1.2.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Retention Time	Area	Height
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	746630	17886
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	725571	17309
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	685785	16349
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	728557	17407
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	672912	16006
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	796780	18972
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	789144	18776
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	740114	17580
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	747728	17919
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	759681	18175
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	793893	18842
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	9.3	674252	16014
Min:	9.3	672912	16006
Max:	9.3	796780	18972
Mean:	9.3	738421	17603
Std Dev:	0.0	43804	1047
%RSD:	0.14	5.93	5.95

Figura 22 – Cromatograma - tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

Tabla 10 – Resumen de resultados de medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

	Tiempo 1 5 minutos	Tiempo 2 10 minutos	Tiempo 3 15 minutos	Tiempo 4 20 minutos	Tiempo 5 30 minutos	Tiempo 6 45 minutos
% Recup. promedio	96	102	103	103	103	104
Desviación estándar	6	4	4	4	4	3
RSD (%)	6	3	4	4	4	3
Límite inferior	87	93	95	98	99	98
Límite superior	103	106	110	110	108	107

Los resultados del medicamento de prueba por cada uno de los tiempos, se encuentran en anexos desde el 10 hasta el 14.

Los datos de porcentaje de recuperación obtenidos en el perfil de disolución del medicamento de prueba en medio de disolución: solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP, pueden utilizarse en los cálculos finales debido a que el RSD cumple, ya que en el punto temporal más temprano (5 minutos) expresado en la tabla 9 es menor a 20%, y para los otros puntos, expresados en la tabla 10, los RSD son menores a 10%.

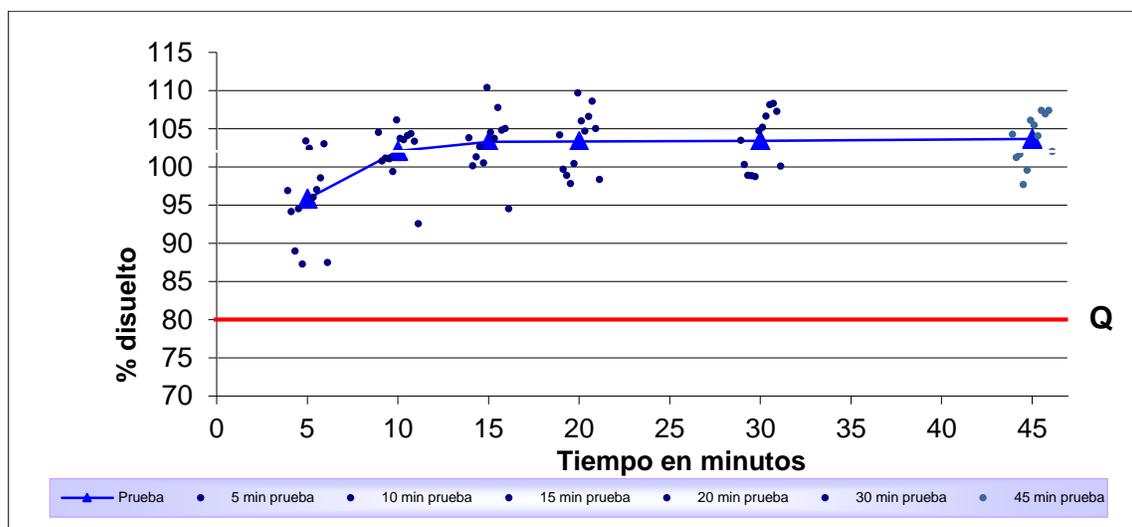


Figura 23 - Gráfico de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

Los promedios de recuperación incrementan en relación al tiempo transcurrido, hasta los 10 minutos, luego este valor es constante hasta el final de la prueba.

e. Determinación del factor de similitud y factor de diferencia

Criterios

- f2: Factor de similitud : entre 50% y 100%
- f1: Factor de diferencia : entre 0% y 15%

Tabla 11 - Cálculo para factor de similitud y factor de diferencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

Minutos						
Tiempo	5	10	15	20	30	45
R	38	69	90	98	98	98
T	96	102	103	103	103	104
R-T	-57.58	-33.31	-13.48	-5.81	-5.37	-5.61
(R-T) ²	3315.58	1109.26	181.69	33.75	28.86	31.51
N	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00	6.00
$\sum (R-T)^2$		4424.84	4606.53	4640.28	4669.14	4700.65
f1		85	53	37	29	25
f2		16	20	23	26	28

Los resultados expresados en la tabla 11, indican que el medicamento de prueba no presenta un perfil de disolución similar al del medicamento de referencia en medio de disolución: solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP, ya que el valor de factor de similitud a los 45 minutos $f_2=28$ es menor de 50, y el valor del factor de diferencia $f_1=25$, es mayor a 15.

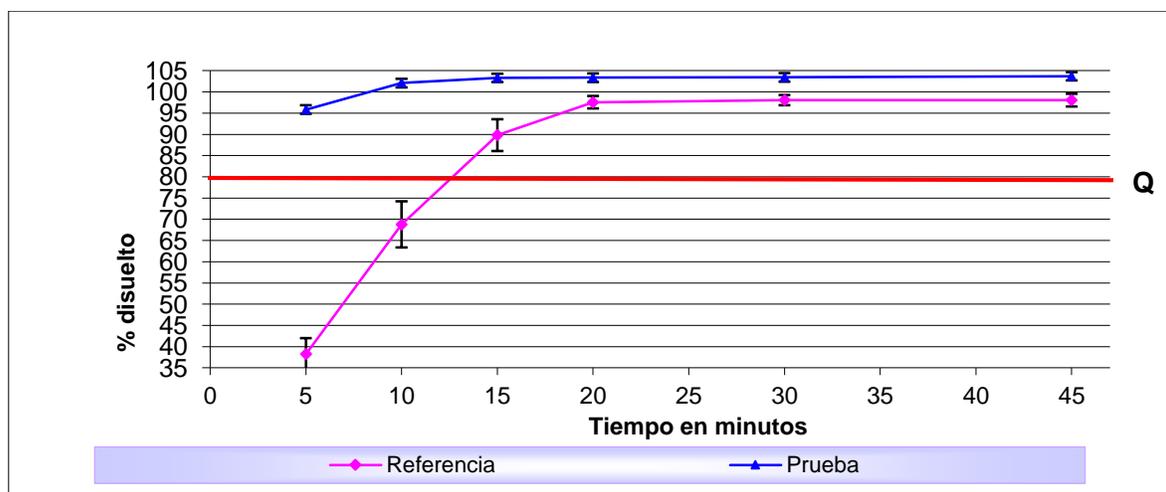


Figura 24 - Gráfico de perfil de disolución de medicamento de referencia versus medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

El medicamento de prueba no presenta un perfil de disolución similar al medicamento de referencia, ya que a los 5, 10 y 15 minutos los valores de porcentaje de recuperación son más elevados.

8.3.2 Medio de disolución: solución buffer pH 4.5

a. Estándar de trabajo – medicamento de referencia

Tabla 12 – Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de disolución en solución buffer pH 4.5

n	x (%)	y (área)	f (y/x)
1	25	183374	7335
2	50	365051	7301
3	100	721017	7210
4	150	1092008	7280
5	200	1444571	7223
Σ	525	3806021	36349

Criterios de aceptación

Símbolo	Valor	Descripción	Límites
n	5	Grados de libertad	*****
t	0.553	Valor t de student práctico (0.05, n-1)	2.086
m	7220.58	Pendiente de la línea de regresión	*****
b	3043.79	Intercepto	*****
r	1.000	Coeficiente de correlación	≥ 0.999
r ²	1.000	Coeficiente de determinación	≥ 0.998
RSD f. r.	0.6	RSD del factor de respuesta	$\leq 2.0 \%$
Er	0.1	Error relativo %	$\leq 2.0 \%$

Ecuación final

$y = mx + b$
$y = 7220.58 x + 3043.79$

SHIMADZU

Código de equipo: CFQ-HPLC-08

CURVA DE CALIBRACION - PERFIL DE DISOLUCION - BUFFER pH 4.5

Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB PERFIL DISOLUCION.met

Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH4.5.seq

Descripcion: ESTANDAR PERFIL DE DISOLUCION AL 25%

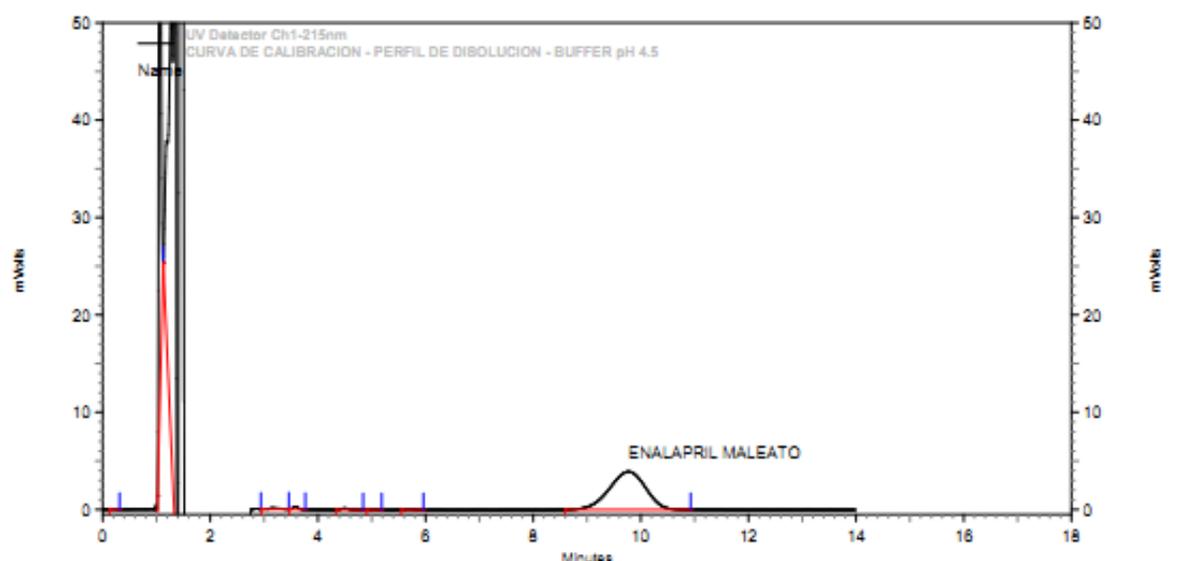
ENALAPRIL MALEATO 5.56 mcg/mL

Vial: 1-91

Volumen inyección: 50

Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO



UV Detector Ch1-215nm

Results

No.	Nombre	Tiempo retencion	Area	Altura
14	ENALAPRIL MALEATO	9.8	183266	3901

Código de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH4.5.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Area	Height	ESTD C...
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	183266	3901	25
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	183481	3917	25
Min:	183266	3901	25
Max:	183481	3917	25
Mean:	183374	3909	25
Std Dev:	152	11	0
%RSD:	0.08	0.29	0.00

Figura 25 – Cromatograma de estándar de concentración 5.56 µg/mL en solución buffer pH 4.5

b. Resultados perfil de disolución – medicamento de referencia

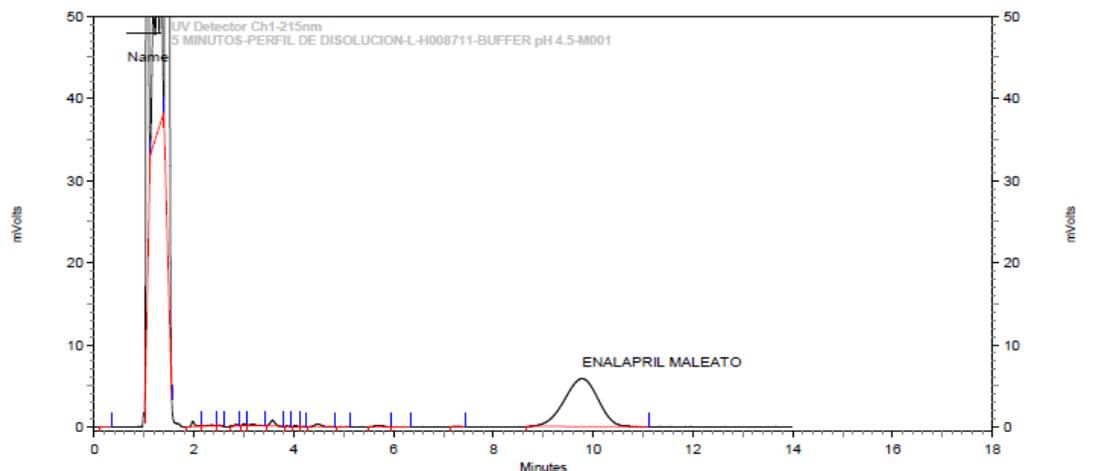
Tabla 13 - Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5

tiempo 1 - 5 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	273506	7.5	37
2	201.0	311508	8.5	43
3	200.0	279006	7.6	38
4	198.0	294618	8.1	40
5	199.0	310330	8.5	43
6	199.0	233568	6.4	32
7	200.0	232048	6.3	32
8	202.0	218524	6.0	30
9	199.0	242103	6.6	33
10	201.0	214797	5.9	29
11	201.0	286038	7.8	39
12	199.0	249767	6.8	34
Promedio				36
Desviación estándar				5
RSD (%)				13
Límite inferior				29
Límite superior				43

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08
 5 MINUTOS-PERFIL DE DISOLUCION-L-H008711-BUFFER pH 4.5-M001
 Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL.MALEATO.20.MG.TAB.PERFIL.DISOLUCION.MET
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.PH4.5.SEQ
 Descripcion: L - H008711 PERFIL DE DISOLUCION ENALAPRIL.MALEATO.20.MG.TABLETA.LIDER.5.MIN
 Vial: 1-1
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO



UV Detector Ch1-215nm
 Results

No.	Nombre	Tiempo retencion	Area	Altura
20	ENALAPRIL MALEATO	9.8	273506	5825

Codigo de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH4.5.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Area	Height	ESTD C...
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	273506	5825	38
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	311508	6452	43
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	279006	5521	39
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	294618	6084	41
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	310330	6410	43
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	233568	4824	32
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	232048	4830	32
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	218524	4565	30
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	242103	5098	33
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	214797	4451	30
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	286038	6025	39
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	249767	5338	34
Min:	214797	4451	30
Max:	311508	6452	43
Mean:	262151	5452	36
Std Dev:	34666	707	5
%RSD:	13.22	12.97	13.22

Figura 26 – Cromatograma - tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5

Tabla 14 – Resumen de resultados de medicamento de referencia en solución buffer
pH 4.5

	Tiempo 1 5 minutos	Tiempo 2 10 minutos	Tiempo 3 15 minutos	Tiempo 4 20 minutos	Tiempo 5 30 minutos	Tiempo 6 45 minutos
% Recup. promedio	36	67	89	97	97	97
Desviación estándar	5	6	4	2	1	1
RSD (%)	13	9	5	2	1	1
Límite inferior	29	58	82	93	95	95
Límite superior	43	79	96	98	99	98

Los resultados del medicamento de referencia por cada tiempo se encuentran en los anexos desde el 15 hasta el 19.

El perfil de disolución del medicamento de referencia en medio de disolución: solución buffer pH 4.5, puede ser utilizado en los cálculos finales debido a que el RSD en los puntos temporales cumple con criterio establecido; para el tiempo 1 (5 minutos) expresado en la tabla 13 es menor a 20%, y para los otros puntos temporales, expresados en la tabla 14, son menores a 10%.

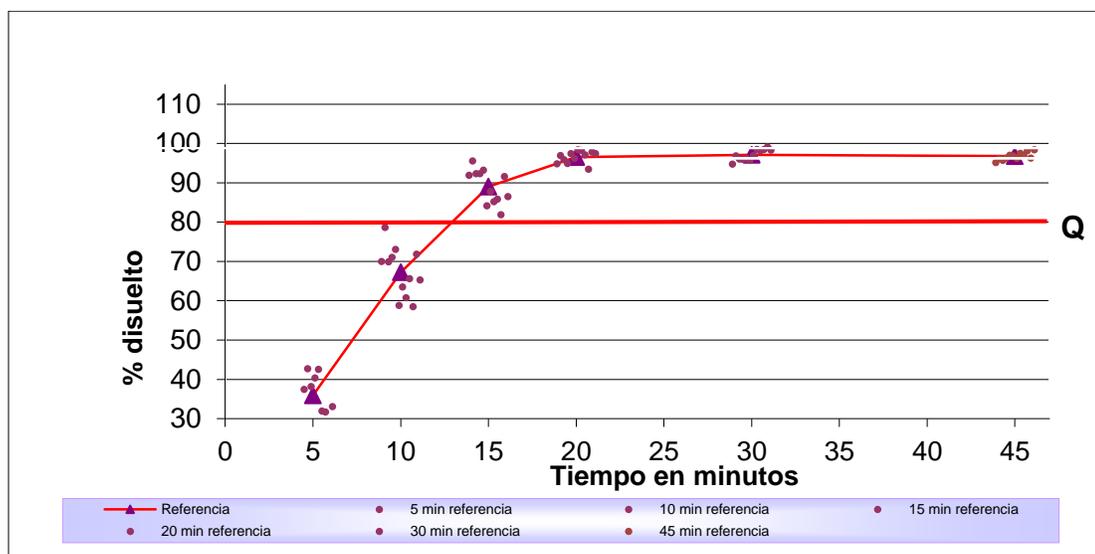


Figura 27 - Gráfico de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5

Los porcentajes de recuperación incrementan en relación al tiempo, hasta los 20 minutos, posteriormente el valor se mantiene constante hasta los 45 minutos.

c. Estándar de trabajo – medicamento de prueba

Tabla 15 – Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de disolución en solución buffer pH 4.5

n	x (%)	y (área)	f (y/x)
1	25	185210	7408
2	50	362197	7244
3	100	724134	7241
4	150	1082379	7216
5	200	1449988	7250
Σ	525	3803908	36359

Criterios de aceptación

Símbolo	Valor	Descripción	Límites
n	5	Grados de libertad	*****
t	0.395	Valor t de student práctico (0.05, n-1)	2,086
m	7224.27	Pendiente de la línea de regresión	*****
b	2232.87	Intercepto	*****
r	1.000	Coeficiente de correlación	≥ 0.999
r ²	1.000	Coeficiente de determinación	≥ 0.998
RSD f. r.	1.0	RSD del factor de respuesta	$\leq 2.0 \%$
Er	0.1	Error relativo %	$\leq 2.0 \%$

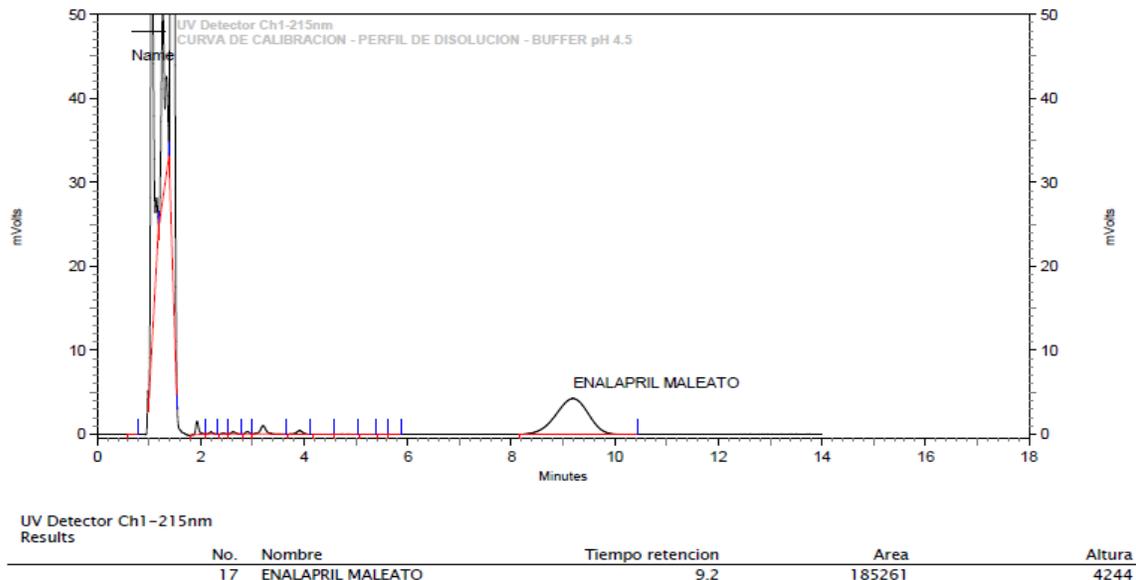
Ecuación final

$y = mx + b$
$y = 7224.27 x + 2232.87$

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08
 CURVA DE CALIBRACION - PERFIL DE DISOLUCION - BUFFER pH 4.5
 Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB PERFIL DISOLUCION.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH4.5.seq
 Descripcion: ESTANDAR PERFIL DE DISOLUCION AL 25%
 ENALAPRIL MALEATO 5.56 mcg/mL
 Vial: 2-91
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO



Codigo de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH4.5.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Area	Height	ESTD C...
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	185261	4244	25
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	185159	4221	25
Min:	185159	4221	25
Max:	185261	4244	25
Mean:	185210	4233	25
Std Dev:	72	16	0
%RSD:	0.04	0.38	0.00

Figura 28 – Cromatograma de estándar de concentración 5.56 µg/mL en solución buffer pH 4.5

d. Resultados perfil de disolución – medicamento de prueba

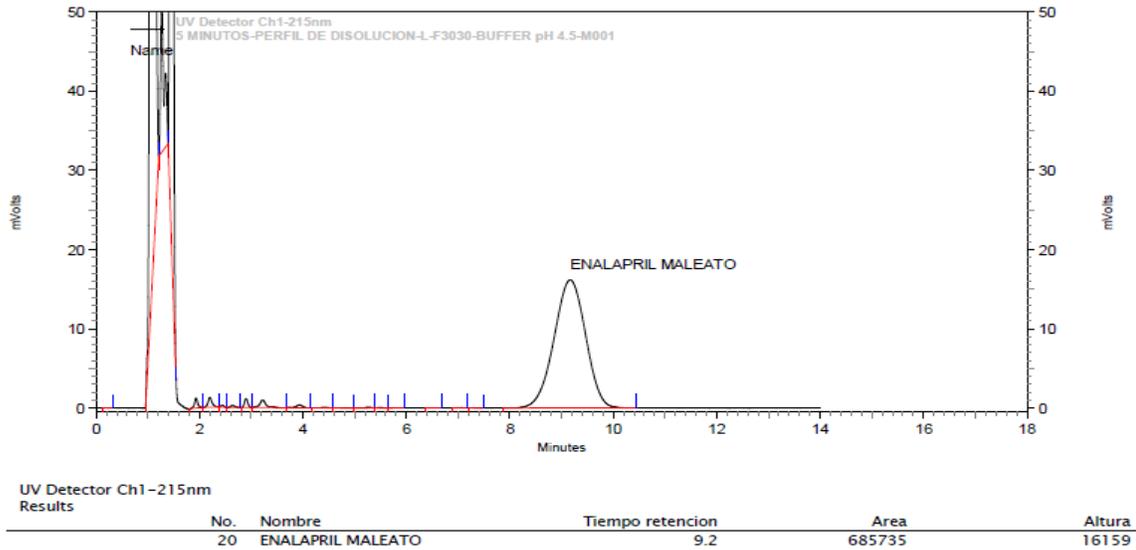
Tabla 16 - Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 4.5

tiempo 1 - 5 minutos				
	peso (mg)	área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	685735	18.9	95
2	209.0	569094	15.7	78
3	201.0	671611	18.5	93
4	206.0	679662	18.8	94
5	205.0	723841	20.0	100
6	207.0	708498	19.6	98
7	195.0	656931	18.1	91
8	205.0	663124	18.3	91
9	203.0	630816	17.4	87
10	208.0	740384	20.4	102
11	199.0	694624	19.2	96
12	194.0	611292	16.9	84
Promedio				92
Desviación estándar				7
RSD (%)				7
Límite inferior				78
Límite superior				102

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08
 5 MINUTOS-PERFIL DE DISOLUCION-L-F3030-BUFFER pH 4.5-M001
 Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB PERFIL DISOLUCION.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH4.5.seq
 Descripción: L - F3030 PERFIL DE DISOLUCION ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA. 5 MIN
 Vial: 2-1
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO



Codigo de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH4.5.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Area	Height	ESTD C...
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	685735	16159	95
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	569094	13399	79
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	671611	15853	93
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	679662	16048	94
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	723841	17125	100
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	708498	16743	98
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	656931	15388	91
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	663124	15507	92
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	630816	14801	87
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	740384	17429	102
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	694624	16351	96
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	611292	14320	84
Min:	569094	13399	79
Max:	740384	17429	102
Mean:	669634	15760	92
Std Dev:	48303	1167	7
%RSD:	7.21	7.41	7.21

Figura 29 – Cromatograma - tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 4.5

Tabla 17 – Resumen de resultados de medicamento de prueba en solución buffer
pH 4.5

	Tiempo 1 5 minutos	Tiempo 2 10 minutos	Tiempo 3 15 minutos	Tiempo 4 20 minutos	Tiempo 5 30 minutos	Tiempo 6 45 minutos
% Recup. Promedio	92	100	102	102	102	102
Desviación estándar	7	4	4	4	3	3
RSD (%)	7	4	4	4	3	3
Límite inferior	78	88	90	92	95	97
Límite superior	102	106	107	107	106	106

Los resultados del medicamento de prueba, están desde el anexo 20 hasta el 24.

Los valores que reflejan los porcentajes de recuperación del perfil de disolución del medicamento de prueba en medio de disolución: solución buffer pH 4.5, pueden utilizarse en los cálculos finales debido a que el RSD en los puntos temporales cumple con los criterios, para el punto temporal (5 minutos) expresado en la tabla 16 el RSD es menor a 20%, y para los demás puntos, presentados en la tabla 17, los valores de RSD son menores a 10%.

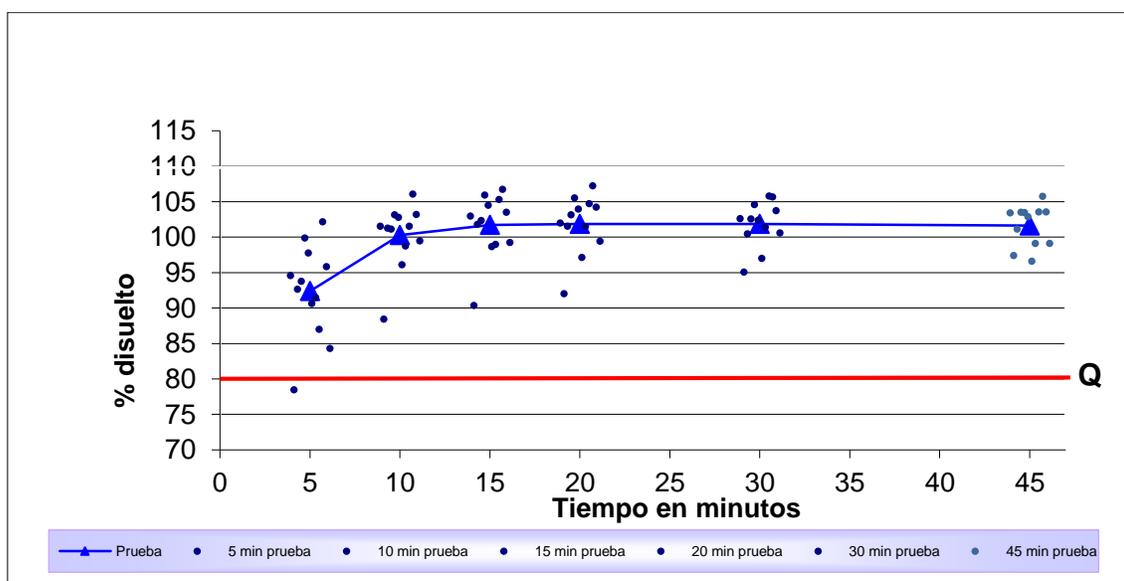


Figura 30 - Gráfico de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer
pH 4.5

Los datos promedios de los porcentajes de recuperación obtenidos están cercanos entre sí, tienen un incremento en relación al tiempo, pero el dato inicial es elevado comparándolo con el medicamento de referencia.

e. Determinación del factor de similitud y factor de diferencia

Criterios

- f2: Factor de similitud : entre 50% y 100%
- f1: Factor de diferencia : entre 0% y 15%

Tabla 18 - Cálculo para factor de similitud y factor de diferencia en solución buffer pH 4.5

Minutos						
Tiempo	5	10	15	20	30	45
R	36	67	89	97	97	97
T	92	100	102	102	102	102
R-T	-56.50	-33.03	-12.69	-5.31	-4.77	-4.90
(R-T) ²	3192.09	1091.10	160.91	28.20	22.71	23.96
N	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00	6.00
$\sum (R-T)^2$		4283.19	4444.10	4472.30	4495.01	4518.98
f1		87	53	37	29	24
f2		17	21	24	26	28

Los valores detallados en la tabla anterior indican que el medicamento de prueba no presenta un perfil de disolución similar al del medicamento de referencia en medio de disolución: solución buffer pH 4.5, ya que ambos factores a los 45 minutos están fuera de los rangos establecidos; factor de similitud $f_2=28$ y factor de diferencia $f_1=24$.

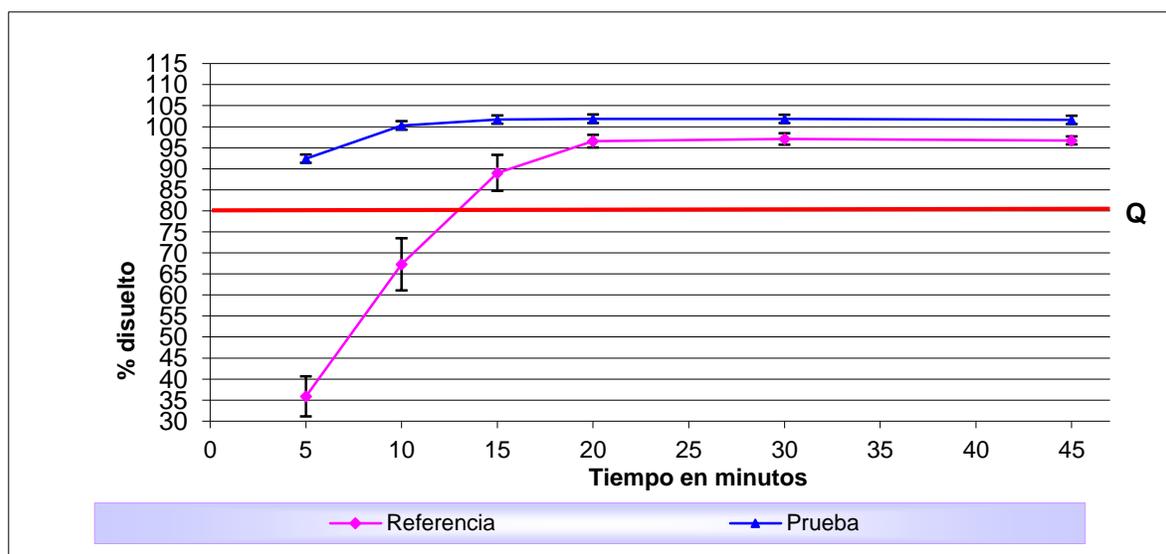


Figura 31 - Gráfico de perfil de disolución de medicamento de referencia versus medicamento de prueba en solución buffer pH 4.5

En el gráfico anterior se observa una diferencia significativa entre el medicamento de prueba y el de referencia a los 5, 10 y 15 minutos, por lo que se considera que sus perfiles de disolución no son similares.

8.3.3 Medio de disolución: solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

a. Estándar de trabajo – medicamento de referencia

Tabla 19 – Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de disolución en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

n	x (%)	y (área)	f (y/x)
1	25	175459	7018
2	50	368970	7379
3	100	734486	7345
4	150	1083172	7221
5	200	1448221	7241
Σ	525	3810308	36205

Criterios de aceptación

Símbolo	Valor	Descripción	Límites
n	5	Grados de libertad	*****
t	0.156	Valor t de student práctico (0.05, n-1)	2.086
m	7235.18	Pendiente de la línea de regresión	*****
b	2367.47	Intercepto	*****
r	1.000	Coeficiente de correlación	≥ 0.999
r ²	1.000	Coeficiente de determinación	≥ 0.998
RSD f. r.	1.7	RSD del factor de respuesta	$\leq 2.0 \%$
Er	0.1	Error relativo %	$\leq 2.0 \%$

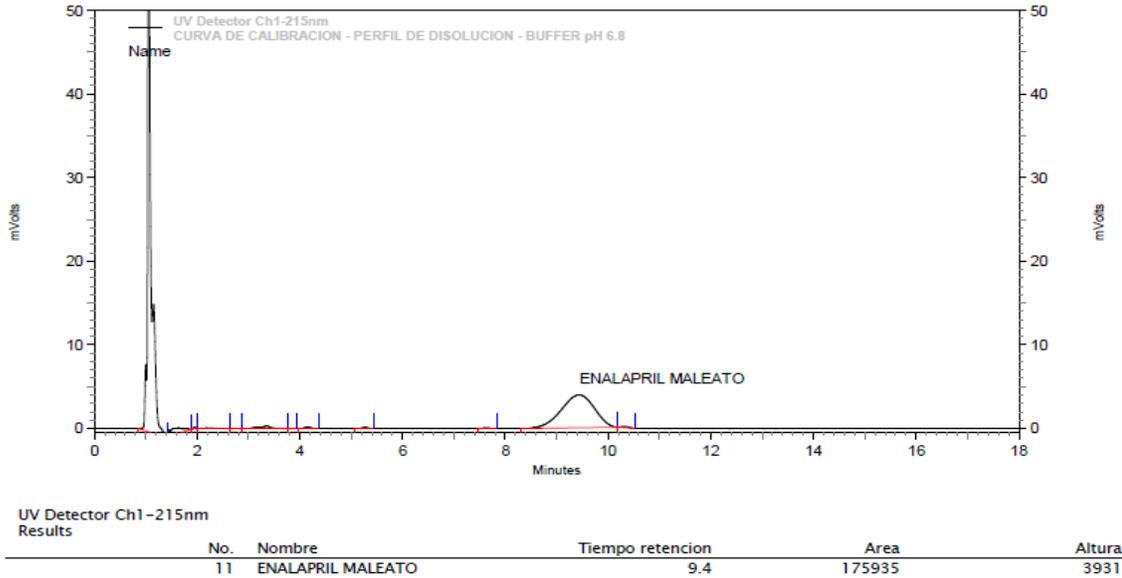
Ecuación final

$y = mx + b$
$y = 7235.18 x + 2367.47$

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08
 CURVA DE CALIBRACION - PERFIL DE DISOLUCION - BUFFER pH 6.8
 Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB PERFIL DISOLUCION.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH6.8.seq
 Descripcion: ESTANDAR PERFIL DE DISOLUCION AL 25%
 ENALAPRIL MALEATO 5.56 mcg/mL
 Vial: 2-91
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menivar

ENALAPRIL MALEATO



Codigo de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH6.8.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Area	Height	ESTD C...
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	175935	3931	25
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	174982	3913	25
Min:	174982	3913	25
Max:	175935	3931	25
Mean:	175459	3922	25
Std Dev:	674	13	0
%RSD:	0.38	0.32	0.00

Figura 32 – Cromatograma de estándar de concentración 5.56 µg/mL en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

b. Resultados perfil de disolución – medicamento de referencia

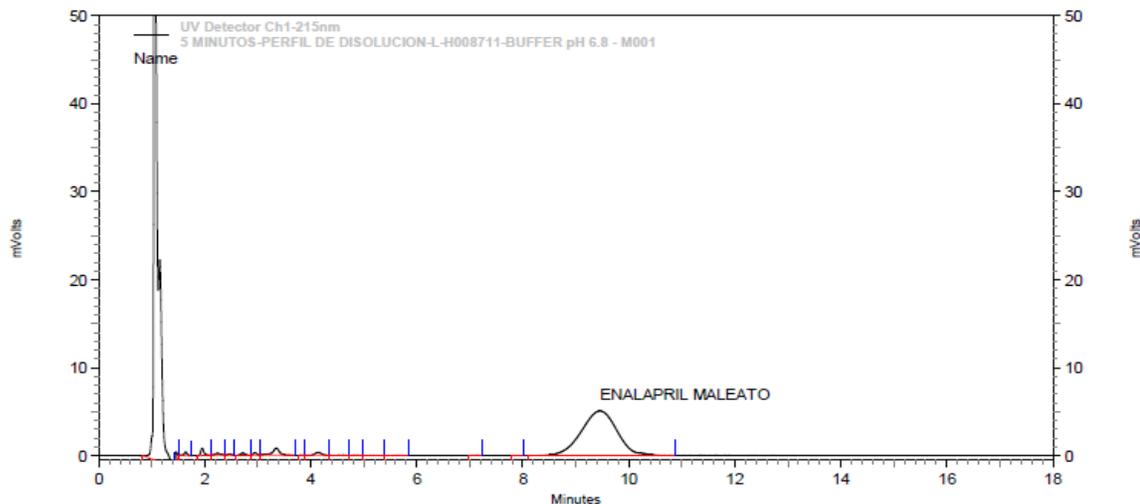
Tabla 20 - Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 1 - 5 minutos				
	peso (mg)	área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	235525	6.4	32
2	201.0	376883	10.4	52
3	200.0	217455	5.9	30
4	198.0	213855	5.8	29
5	199.0	282607	7.7	39
6	199.0	284685	7.8	39
7	200.0	255242	7.0	35
8	202.0	225020	6.2	31
9	199.0	301654	8.3	41
10	201.0	251081	6.9	34
11	201.0	256246	7.0	35
12	199.0	249747	6.8	34
Promedio				36
Desviación estándar				6
RSD (%)				17
Límite inferior				29
Límite superior				52

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08
 5 MINUTOS-PERFIL DE DISOLUCION-L-H008711-BUFFER pH 6.8 - M001
 Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB PERFIL DISOLUCION.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH6.8.seq
 Descripcion: L - H008711 PERFIL DE DISOLUCION ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA. LIDER. 5 MIN
 Vial: 2-1
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO



UV Detector Ch1-215nm
Results

No.	Nombre	Tiempo retencion	Area	Altura
18	ENALAPRIL MALEATO	9.5	235525	5050

Codigo de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH6.8.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Area	Height	ESTD C...
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	235525	5050	32
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	376883	8155	52
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	217455	5085	30
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	213855	4996	29
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	282607	6207	39
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	284685	6226	39
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	255242	5622	35
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	225020	4892	31
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	301654	6653	42
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	251081	5928	35
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	256246	5566	35
5 MIN PD L-H008711 ENALAPRIL ...	249747	5517	34

Min:	213855	4892	29
Max:	376883	8155	52
Mean:	262500	5825	36
Std Dev:	45152	922	6
%RSD:	17.20	15.82	17.20

Figura 33 – Cromatograma - tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

Tabla 21 – Resumen de resultados de medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

	Tiempo 1 5 minutos	Tiempo 2 10 minutos	Tiempo 3 15 minutos	Tiempo 4 20 minutos	Tiempo 5 30 minutos	Tiempo 6 45 minutos
% Recup. Promedio	36	68	91	99	101	100
Desviación estándar	6	7	5	2	2	1
RSD (%)	17	10	5	2	2	1
Límite inferior	29	58	84	96	99	98
Límite superior	52	86	99	103	104	103

Los resultados del medicamento de referencia en cada uno de los tiempos, se encuentran en los anexos desde el 25 hasta el 29.

Los porcentajes de recuperación encontrados a partir del perfil de disolución del medicamento de referencia en medio de disolución: solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP, pueden ser utilizados en los cálculos finales debido a que el RSD en los puntos temporales cumple con los criterios establecidos; para el punto temporal más temprano (5 minutos) expresado en la tabla 20 el RSD es menor a 20%, y para los puntos temporales de 10 a 45 minutos, detallados en la tabla 21, los valores de RSD son menores a 10%.

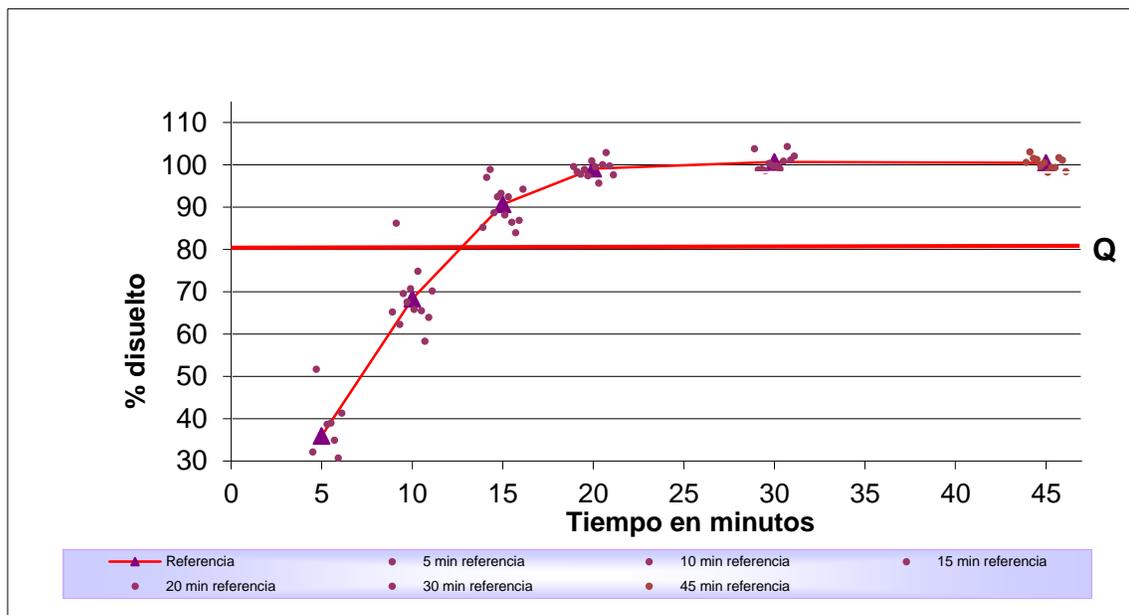


Figura 34 – Gráfico de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

Los promedios de porcentaje de recuperación incrementan gradualmente con el tiempo transcurrido.

c. Estándar de trabajo – medicamento de prueba

Tabla 22 – Ecuación de la recta de regresión lineal para perfil de disolución en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

n	x (%)	y (área)	f (y/x)
1	25	188763	7551
2	50	364978	7300
3	100	736574	7366
4	150	1090377	7269
5	200	1453715	7269
Σ	525	3834407	36754

Criterios de aceptación

Símbolo	Valor	Descripción	Límites
n	5	Grados de libertad	*****
t	0.223	Valor t de student práctico (0.05, n-1)	2,086
m	7234.74	Pendiente de la línea de regresión	*****
b	7233.60	Intercepto	*****
r	1.000	Coefficiente de correlación	≥ 0.999
r ²	1.000	Coefficiente de determinación	≥ 0.998
RSD f. r.	1.4	RSD del factor de respuesta	$\leq 2.0 \%$
Er	0.1	Error relativo %	$\leq 2.0 \%$

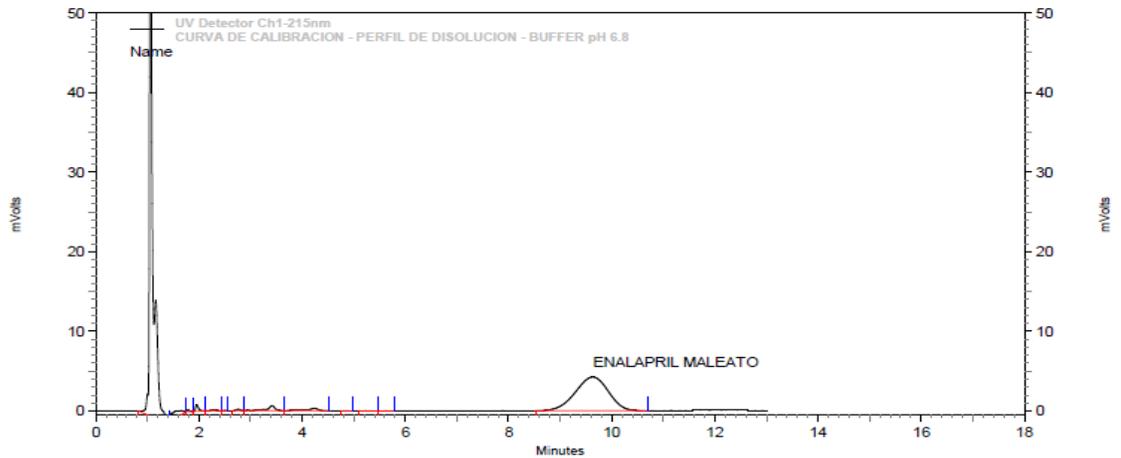
Ecuación final

$y = mx + b$
$y = 7234.74 x + 7233.60$

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08
 CURVA DE CALIBRACION - PERFIL DE DISOLUCION - BUFFER pH 6.8
 Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB PERFIL DISOLUCION.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH6.8.seq
 Descripción: ESTANDAR PERFIL DE DISOLUCION AL 25%
 ENALAPRIL MALEATO 5.56 mcg/mL
 Vial: 1-91
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO



UV Detector Ch1-215nm Results				
No.	Nombre	Tiempo retencion	Area	Altura
13	ENALAPRIL MALEATO	9.6	188254	4223

Codigo de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH6.8.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Area	Height	ESTD C...
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	188254	4223	25
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	189272	4228	25
Min:	188254	4223	25
Max:	189272	4228	25
Mean:	188763	4226	25
Std Dev:	720	4	0
%RSD:	0.38	0.08	0.00

	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
	Retention Time	Asymmetry	USP The...
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	9.6	0.9	1020
ESTANDAR PD 25% ENALAPRIL M...	9.6	0.9	1015
Min:	9.6	0.9	1015
Max:	9.6	0.9	1020
Mean:	9.6	0.9	1017
Std Dev:	0.0	0.0	4
%RSD:	0.05	0.43	0.34

Figura 35 – Cromatograma de estándar de concentración 5.56 µg/mL en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

d. Resultados perfil de disolución – medicamento de prueba

Tabla 23 - Tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 1 - 5 minutos				
	peso (mg)	área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	633028	17.3	86
2	209.0	645609	17.6	88
3	201.0	751648	20.6	103
4	206.0	695420	19.0	95
5	205.0	660226	18.1	90
6	207.0	686344	18.8	94
7	195.0	690328	18.9	94
8	205.0	748254	20.5	102
9	203.0	610022	16.7	83
10	208.0	726383	19.9	99
11	199.0	649588	17.8	89
12	194.0	686319	18.8	94
Promedio				93
Desviación estándar				6
RSD (%)				7
Límite inferior				83
Límite superior				103

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08

5 MINUTOS-PERFIL DE DISOLUCION-L-F3030-BUFFER pH 6.8 - M001

Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL_MALEATO 20 mg TAB PERFIL DISOLUCION.met

Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL_MALEATO.BUFFER.pH6.8.seq

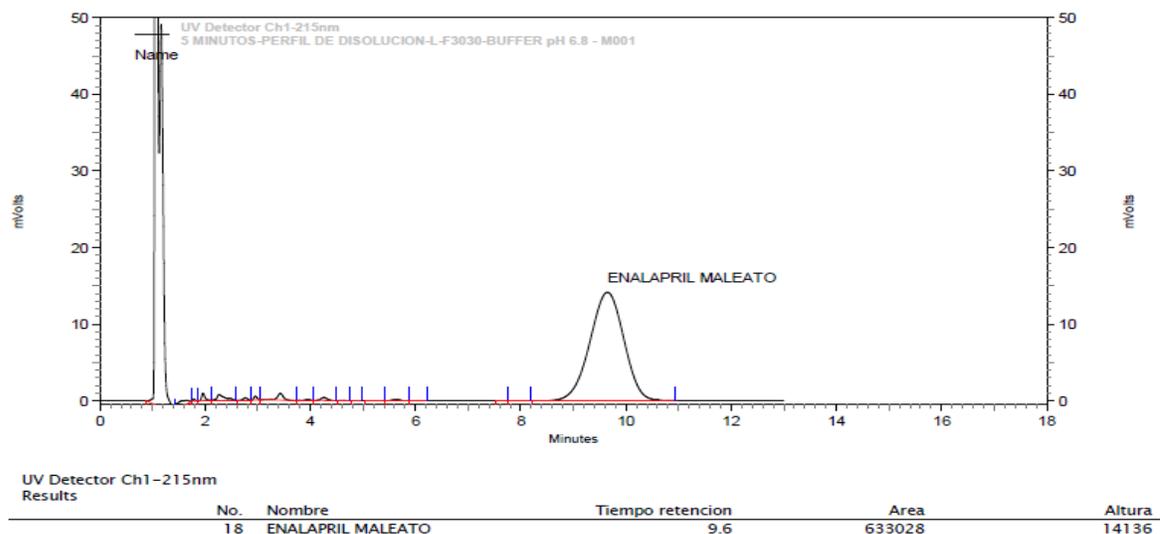
Descripcion: L - F3030 PERFIL DE DISOLUCION ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA. LIDER. 5 MIN

Vial: 1-1

Volumen inyección: 50

Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO



Codigo de Equipo: CFQ-HPLC-08

Sequence name: ENALAPRIL.MALEATO.BUFFER.pH6.8.seq

UV Detector Ch1-215nm	ENALAPRIL MALE...	ENALAPRIL MALE...	ENALAP...
Sample ID	Area	Height	ESTD C...
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	633028	14136	87
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	645609	14419	89
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	751648	16837	103
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	695420	15591	95
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	660269	14790	91
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	686344	15329	94
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	690328	15466	95
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	748254	16745	103
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	610022	13650	84
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	726383	16242	100
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	649588	14386	89
5 MIN PD L-F3030 ENALAPRIL MA...	686319	15072	94
Min:	610022	13650	84
Max:	751648	16837	103
Mean:	681934	15222	94
Std Dev:	44643	1017	6
%RSD:	6.55	6.68	6.55

Figura 36 – Cromatograma - tiempo 5 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

Tabla 24 – Resumen de resultados de medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

	Tiempo 1 5 minutos	Tiempo 2 10 minutos	Tiempo 3 15 minutos	Tiempo 4 20 minutos	Tiempo 5 30 minutos	Tiempo 6 45 minutos
% Recup. Promedio	93	102	106	106	104	106
Desviación estándar	6	5	4	3	3	3
RSD (%)	7	5	4	3	3	3
Límite inferior	83	91	96	101	100	101
Límite superior	103	110	111	110	109	112

Los resultados del medicamento de prueba en cada uno de los tiempos, están ubicados en los anexos desde el 30 hasta el 34.

Los datos de porcentaje de recuperación obtenidos a partir del perfil de disolución del medicamento de prueba en medio de disolución: solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP, pueden ser utilizados en los cálculos finales debido a que el RSD en los puntos temporales cumple con los criterios establecidos; para el punto temporal más temprano (5 minutos) expresado en la tabla 23 es menor a 20%, y para los puntos temporales de 10 a 45 minutos, expresados en la tabla 24, los valores de RSD son menores a 10%.

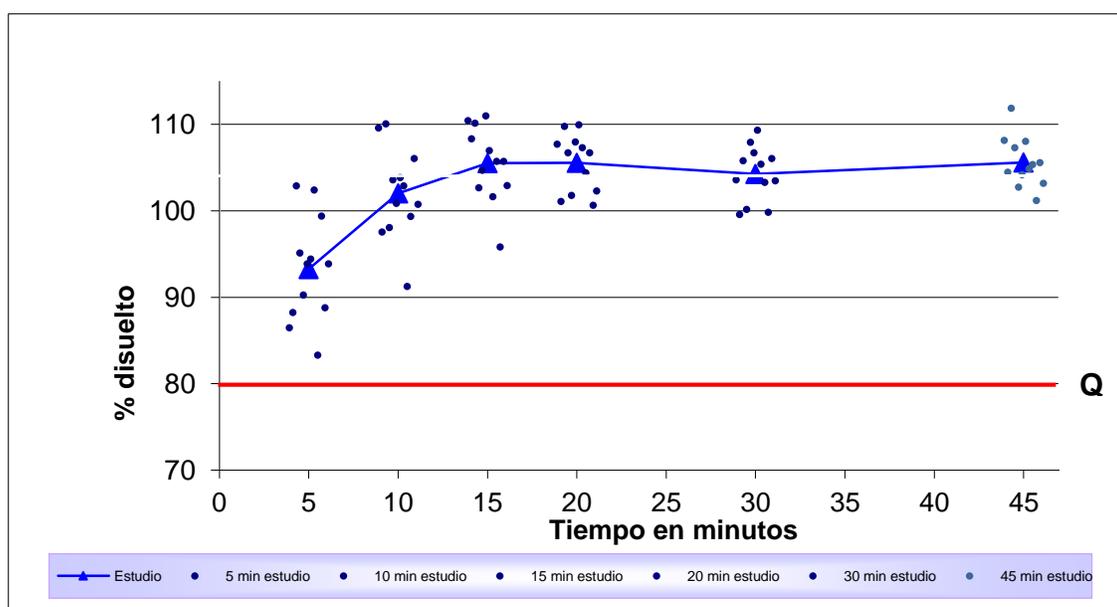


Figura 37 - Gráfico de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

Los promedios de porcentaje de recuperación incrementan con relación al tiempo, hasta los 15 minutos; desde los 20 minutos los valores se mantienen relativamente constantes.

e. Determinación del factor de similitud y factor de diferencia

Criterios

- f2: Factor de similitud : entre 50% y 100%
- f1: Factor de diferencia : entre 0% y 15%

Tabla 25 – Cálculo para factor de similitud y factor de diferencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

	Minutos					
Tiempo	5	10	15	20	30	45
R	36	68	91	99	101	100
T	93	102	106	106	104	106
R-T	-57.30	-33.59	-14.80	-6.42	-3.56	-5.11
(R-T) ²	3283.76	1128.16	218.91	41.18	12.69	26.11
N	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00	6.00
∑ (R-T) ²		4411.92	4630.83	4672.01	4684.70	4710.81
f1		87	54	38	29	24
f2		16	20	23	26	28

Los resultados expresados en la tabla 25, indican que el medicamento de prueba no presenta un perfil de disolución similar al del medicamento de referencia en medio de disolución: solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP, ya que la diferencia porcentual entre ambos productos es significativa (R-T), y afecta el resultado final del factor de similitud a los 45 minutos f2=28, que debe ser mayor de 50, y del factor de diferencia f1=24, que debe ser menor a 15.

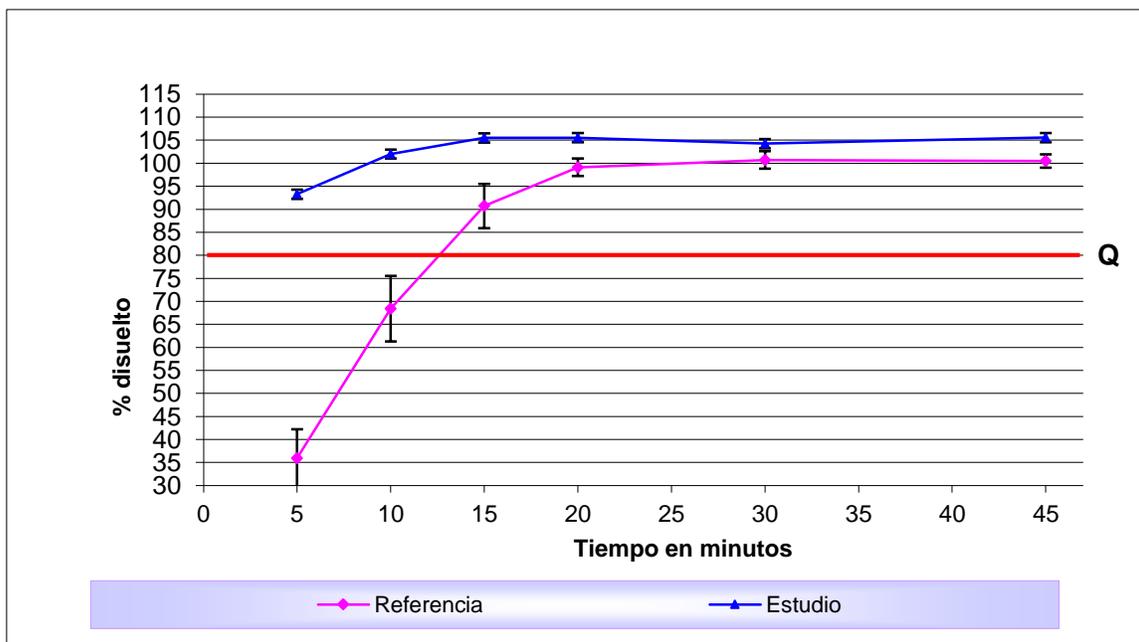


Figura 38 - Gráfico de perfil de disolución de medicamento de referencia versus medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

En el gráfico se observa una diferencia significativa entre ambas curvas, mayormente desde los 5 minutos hasta los 20 minutos, luego de este tiempo se hacen similares.

8.4 Determinación de pruebas adicionales

8.4.1 Compuestos relacionados

a. Estándar de compuestos relacionados

Las señales obtenidas de los picos correspondientes a los compuestos presentes se identifican por medio del tiempo de retención (t_R), la desviación de este es permitida hasta un 10%. Los t_R para cada uno de ellos son: ácido maleico 1.2 min, enalapril dicetopiperazina 1.6 min y en 25.5 min (se cuantifica con esta última), enalaprilat 2.3 min y el enalapril maleato 10.0 min.

El % RSD de las áreas para inyecciones repetidas no es más de 2.0% para el pico de enalapril y 5.0% para el pico de enalaprilat; resultando 0.4% y 4.9% respectivamente, cumpliendo ambos el requisito establecido.

Tabla 26 - Áreas de 5 inyecciones repetidas de estándar de compuestos relacionados

tr	1	2	3	4	5	Promedio	%RSD	Señal	Concentración
1.2	116860	104752	104986	105062	118200	108250		Enalapril + fase móvil	
1.6	8632	10450	10425	9644	9708	10057		Enalapril dicetopiperacina	
2.0	1178	1099	1115	1165	1155	1134		Fase móvil	
2.3	1224	1103	1141	1171	1083	1144	4.9	Enalaprilat	0.00002 mg/mL
3.2	1802	1811	1679	1908	1878	1819		Fase móvil	
3.6	1776	1822	1832	1814	1799	1817		Fase móvil	
4.5	1208	1205	1233	1207	1214	1215		Fase móvil	
10.0	64154	63883	64297	64628	64309	64279	0.4	Enalapril maleato	0.002 mg/mL

SHIMADZU

LABORATORIOS TERAMED

Código de equipo: CFQ-HPLC-08

ESTANDAR - COMPUESTOS RELACIONADOS ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB

Nombre del método: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA COMPUESTOS RELACIONADOS.met

Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL MALEATO 20 mg 22-01-14-.seq

Nombre del archivo: c:\ezstart\projects\default\data\enalapril maleato 20 mg\cal_enalcomrel22-01-2014 06-02-22 p.m.002-rep1.dat

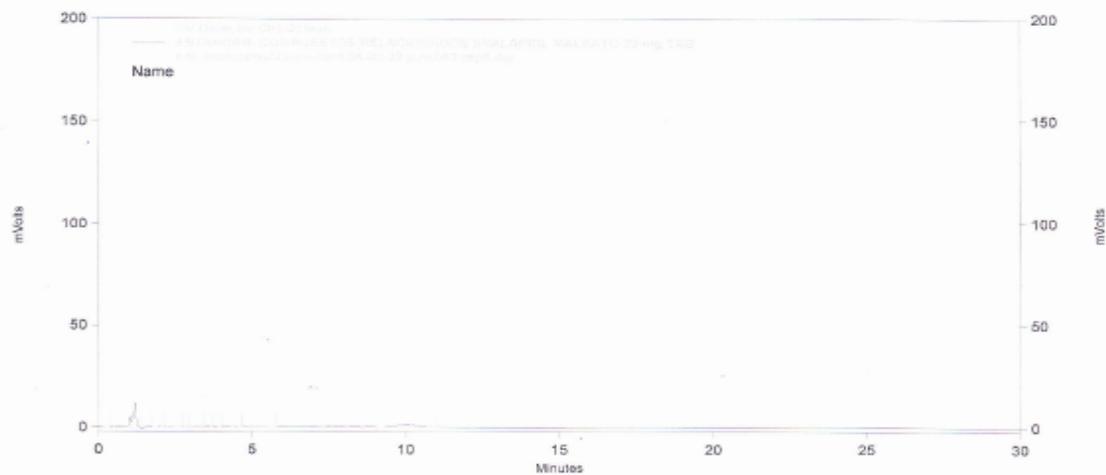
Descripción: ESTANDAR COMPUESTOS RELACIONADOS - ENALAPRIL MALEATO 2.00 mcg/mL + ENALAPRILAT 0.02 mcg/mL

Vial: 1-2

Volumen inyección: 50

Analista: LIC. ERICK AVALOS

ENALAPRIL MALEATO



UV Detector
Ch1 - 215nm
Results

No.	Nombre	Tiempo retencion	Area	Altura
1		0.2	138	19
2		1.2	116860	12566
3		1.6	8632	467
4		2.0	1178	238
5		2.3	1224	112
6		2.8	296	56
7		3.2	1802	139
8		3.6	1776	260
9		3.9	40	9
10		4.5	1208	136
11		5.6	127	14
12		10.0	64154	1365

Figura 39 – Cromatograma de estándar de compuestos relacionados

b. Resultados de medicamento de referencia

Tabla 27 - Áreas de medicamento de referencia en compuestos relacionados

t _R	1-1	1-2	2-1	2-2	Promedio	Señal
1.2	7793613	7810780	7715595	7729874	7762466	ácido maleico
1.5	8409	8352	8124	8148	8258	enalapril Dicetopiperazina
2.0	1358	1357			1358	Fase móvil
2.4	24566	24696	24323	24475	24515	enalaprilat
2.8	1608	1586	1295	1326	1454	
3.2	2497	2538	2756	2863	2664	Fase móvil
3.6	3519	3572			3546	Fase móvil
4.5	2471	2422	1268	1256	1854	Fase móvil
7.4	11036	11222	11138	11134	11133	
8.3	2888	2919	2928	2927	2916	
9.5	6437205	6460148	6365915	6387802	6412768	enalapril
25.5	6140	9228	8816	9220	8351	enalapril Dicetopiperazina
Suma de áreas de compuestos relacionados, distinto del ácido maleico, enalapril, enalaprilat y enalapril Dicetopiperazina					15502	

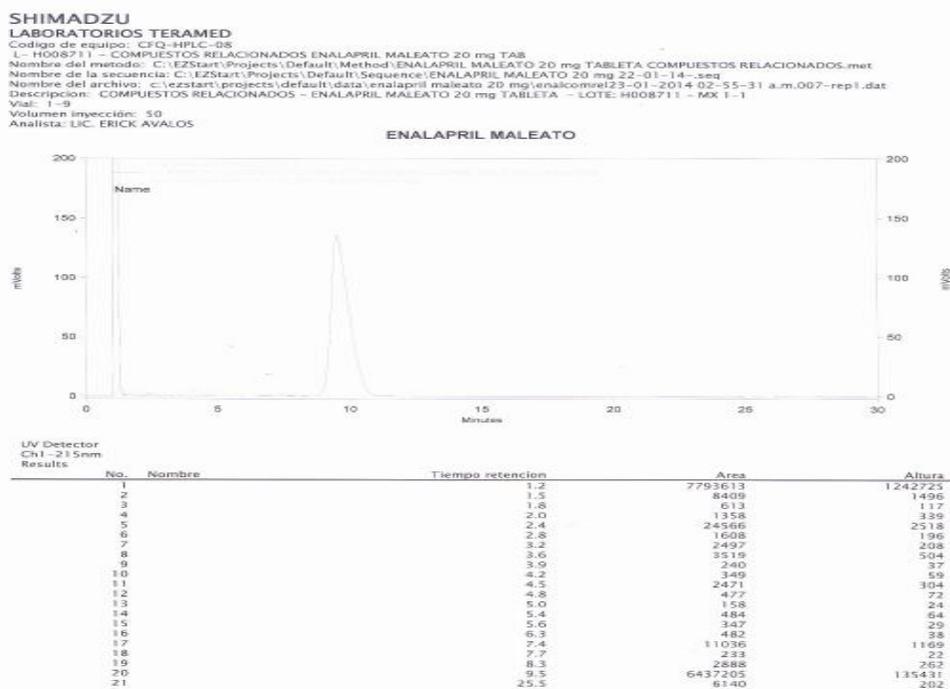


Figura 40 – Cromatograma de medicamento de referencia para compuestos relacionados

Tabla 28 – Resultados de medicamento de referencia en compuestos relacionados

Criterios de Aceptación	La suma de todos los compuestos relacionados incluyendo aquellos de enalaprilat y enalapril Dicotopiperazina no es más de 5.0%.
Resultados	
Porcentaje de enalaprilat	3.0%
Porcentaje de enalapril Dicotopiperazina (como enalapril maleato)	0.1%
Porcentaje de cualquier otro compuesto relacionado	0.2%
Suma de todos los compuestos relacionados	3.3%

El medicamento de referencia cumple con el criterio de aceptación para compuestos relacionados no mayor a 5.0%, ya que el resultado expresado en la tabla 28 nos indica que la sumatoria de todos los compuestos relacionados es de 3.3%.

c. Resultados de medicamento de prueba

Tabla 29 - Áreas de medicamento de prueba en compuestos relacionados

t _R	1-1	1-2	2-1	2-2	Promedio	Señal
1.2	8176904	8184134	8317949	8338471	8254365	ácido maleico
1.5	6354	6443	6542	6716	6514	enalapril Dicotopiperazina
1.7	2185	2163	3465	3500	2828	Fase móvil
2.0	2658	2673	1238	1253	1956	Fase móvil
2.4	56069	56136	57289	57557	56763	enalaprilat
2.7	1477	1474	2448	2454	1963	
3.2	2527	2439	3180	3187	2833	Fase móvil
3.6	3779	3788			3784	Fase móvil
4.5	2485	2488	1416	1447	1959	Fase móvil
5.4	1211	1224	1258	1178	1218	
7.0	1220	1279	1245	1236	1245	
7.4	1506	1572	1482	1522	1521	
9.5	6483564	6486248	6588402	6600860	6539769	enalapril
12.4	8944	8947	9045	9137	9018	
25.4	160680	160612	164010	164327	162407	enalapril Dicotopiperazina
Suma de áreas de compuestos relacionados, distinto del ácido maleico, enalapril, enalaprilat y enalapril Dicotopiperazina					14965	

**SHIMADZU
LABORATORIOS TERAMED**

Código de equipo: CFQ-HPLC-08
 L- F3030 - COMPUESTOS RELACIONADOS ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB
 Nombre del método: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA COMPUESTOS RELACIONADOS.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL MALEATO 20 mg 22-01-14- seq
 Nombre del archivo: c:\ezstart\projects\default\data\enalapril maleato 20 mg\enalcomrel23-01-2014 12-50-05 a.m.005-rep1.dat
 Descripción: COMPUESTOS RELACIONADOS - ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA - LOTE: F3030 - MX 1-1
 Vial: 1-7
 Volumen inyección: 50
 Analista: LIC. ERICK AVALOS

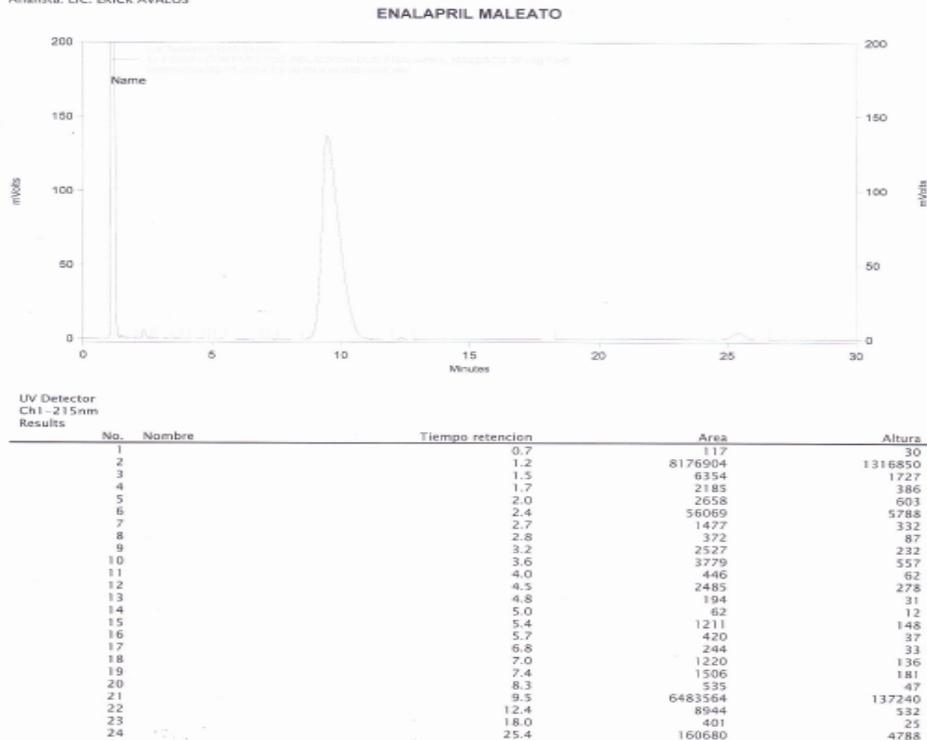


Figura 41 – Cromatograma de medicamento de prueba para compuestos relacionados

Tabla 30 - Resultados de medicamento de prueba en compuestos relacionados

Criterios de Aceptación	La suma de todos los compuestos relacionados incluyendo aquellos de enalaprilat y enalapril Dicotopiperazina no es más de 5.0%.	
Resultados		
Porcentaje de enalaprilat		7.0%
Porcentaje de enalapril Dicotopiperazina (como enalapril maleato)		2.8%
Porcentaje de cualquier otro compuesto relacionado		0.2%
Suma de todos los compuestos relacionados		10.0%

El medicamento de prueba no cumple con el criterio de aceptación de compuestos relacionados no mayor a 5.0%, ya que el resultado expresado en la tabla 30, indica que la sumatoria de todos los compuestos relacionados es de 10.0%.

8.4.2 Ensayo: cuantificación del principio activo

a. Solución aptitud del sistema

Tabla 31 - Resultados de solución de aptitud del sistema

Compuesto	Eficiencia de columna		Factor de asimetría	
	Criterio	Resultado	Criterio	Resultado
ácido maleico				
enalaprilat	No menos de 1000	1346		
enalapril maleato	No menos de 300	838	No es mayor de 2.0	1.5
enalapril Dicotopiperazina	No menos de 2500	12778		

Compuesto	Desviación estándar relativa		Tiempos de retención relativos	
	Criterio	Resultado	Criterio	Resultado
ácido maleico			0.3	0.1
enalaprilat	No es más de 5.0%	0.4	0.5	0.2
enalapril maleato	No es más de 2.0%	0.3	1.0	1.0
enalapril Dicotopiperazina			1.5	2.7

Compuesto	Factor de capacidad k'		Resolución	
	Criterio	Resultado	Criterio	Resultado
ácido maleico				
enalaprilat			No es menor de 2.0	2.6
enalapril maleato	No es menor de 1.5	8.4	No es menor de 2.0	14.2
enalapril Dicotopiperazina			No es menor de 2.0	32.0

Los resultados de los parámetros cromatográficos obtenidos en la aptitud del sistema están detallados en la tabla 31, donde se puede verificar el cumplimiento, con excepción del tiempo de retención relativo, el cual difiere de lo esperado. Este parámetro sirve para proporcionar información acerca de la separación existente entre los picos de los analitos evaluados, resultando mejor de lo esperado, y apoyando esta conclusión se encuentra la resolución que también es mayor de la esperada.

SHIMADZU

LABORATORIOS TERAMED

Código de equipo: CFQ-HPLC-08

SOLUCIÓN DE APTITUD DEL SISTEMA

Nombre del método: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA COMPUESTOS RELACIONADOS.met

Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL MALEATO 20 mg 22-01-14-.seq

Nombre del archivo: c:\ezstart\projects\default\data\enalapril maleato 20 mg\cal_enalcomrel22-01-2014 03-25-17 p.m.001-repl.dat

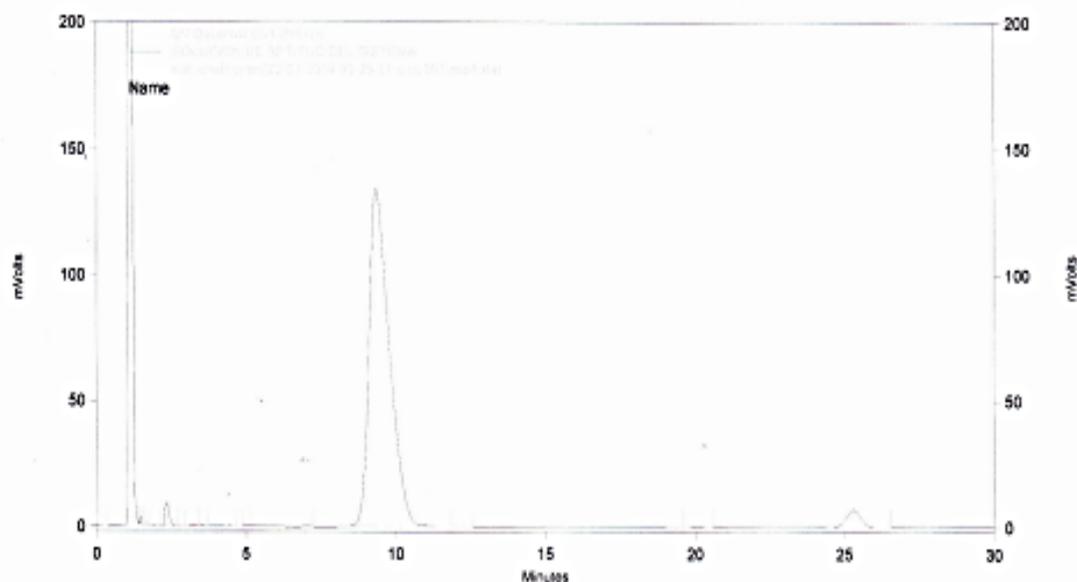
Descripción: SOLUCIÓN DE APTITUD DEL SISTEMA - ENALAPRIL MALEATO 200.00 mcg/mL + ENALAPRILAT 2.00 mcg/mL + ENALAPRIL DICETOPIPERAZINA 4.00-8.00 mcg/mL

Vial: 1-1

Volumen inyección: 50

Analista: LIC. ERICK AVALOS

ENALAPRIL MALEATO



UV Detector
Ch1 - 215nm
Results

No.	Nombre	Tiempo retención	Area	Altura
1		0.2	164	25
2		1.2	7699635	1245602
3		1.5	9361	3119
4		1.7	3427	853
5		2.0	1338	327
6		2.3	90684	9435
7		2.8	369	73
8		3.2	1560	128
9		3.5	2739	405
10		4.5	1917	214
11		4.8	442	63
12		5.0	147	21
13		7.0	1532	153
14		9.3	6300652	134278
15		12.2	1445	74
16		19.3	676	40
17		20.1	8739	346
18		25.3	227129	6788

Figura 42 – Cromatograma de solución de aptitud del sistema

b. Estándar de ensayo – medicamento de referencia

Tabla 32 - Áreas de 5 inyecciones repetidas de estándar

Estándar	Área
Inyección 1	6890822
Inyección 2	6910139
Inyección 3	6909471
Inyección 4	6910047
Inyección 5	6911202
Promedio	6906336
RSD de 5 inyecciones (%)	0.1

El RSD de 0.1% es menor del 2.0% por lo tanto puede ser utilizado para el cálculo del ensayo.

SHIMADZU

Código de equipo: CFQ-HPLC-08
 ESTANDAR ENSAYO ENALAPRIL MALEATO 001
 Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB ENSAYO.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.ENSAYO.seq
 Descripción: ESTANDAR ENSAYO ENALAPRIL MALEATO 0.2 mg/mL + ENALAPRILAT 0.002 mg/mL
 Vial: 2-61
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO

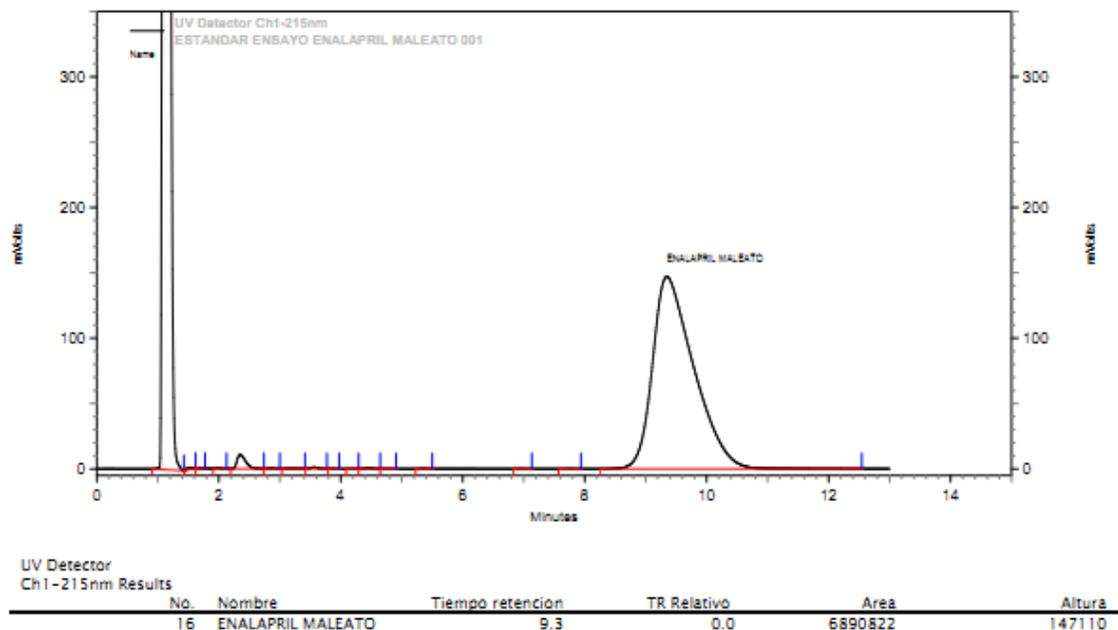


Figura 43 – Cromatograma de solución estándar 0.2 mg/mL

c. Ensayo – medicamento de referencia

Tabla 33 - Porcentaje sobre lo rotulado y mg/tableta de medicamento de referencia

FD (ensayo)		500	
Peso promedio (mg)		199.1	
Muestra 1		Muestra 2	
Peso	995.5	Peso	995.5
Área 1	6829983	Área 1	6878172
Área 2	6846258	Área 2	6900092
Área promedio	6838120.5	Área promedio	6889132
mg/tab	19.8	mg/tab	20.0
% Rotulado	99.0	% Rotulado	99.8
% Rotulado promedio		99.4	
Límites		90.0% - 110.0%	

De acuerdo a los resultados presentados en la tabla 33, se verifica que el medicamento de referencia, cumple con los límites establecidos para la valoración (90.0% al 110.0%), ya que el promedio de dos muestras es 99.4%.

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08
 L-H008711 ENSAYO ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA 001
 Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB ENSAYO.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.ENSAYO.seq
 Descripción: L H008711 ENSAYO ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA. LIDER. M 1
 Vial: 2-62
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO

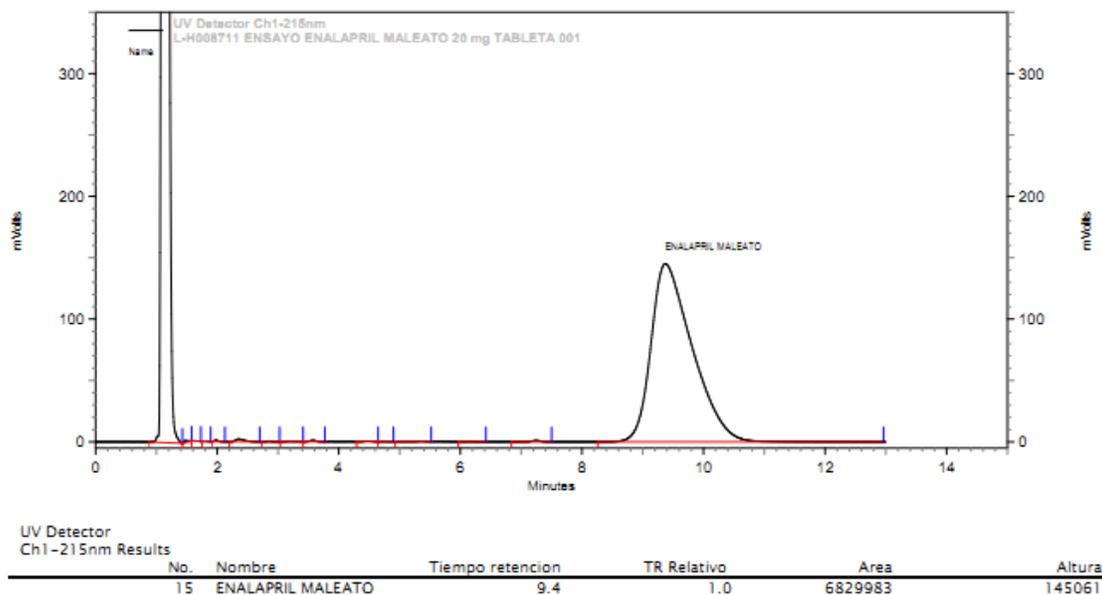


Figura 44 – Cromatograma de medicamento de referencia para ensayo

d. Estándar de ensayo de medicamento de prueba

Tabla 34 - Áreas de 5 inyecciones repetidas de estándar

Estándar	Área
Inyección 1	7081590
Inyección 2	7056246
Inyección 3	7041540
Inyección 4	7028465
Inyección 5	7012978
Promedio	7044164
RSD de 5 inyecciones (%)	0.4

El RSD de 0.4% es menor del 2.0% por lo tanto puede ser utilizado para el cálculo del ensayo.

SHIMADZU

Codigo de equipo: CFQ-HPLC-08
 ESTANDAR ENSAYO ENALAPRIL MALEATO 001
 Nombre del metodo: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB ENSAYO.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.ENSAYO.seq
 Descripción: ESTANDAR ENSAYO ENALAPRIL MALEATO 0.2 mg/mL + ENALAPRILAT 0.002 mg/mL
 Vial: 2-66
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO

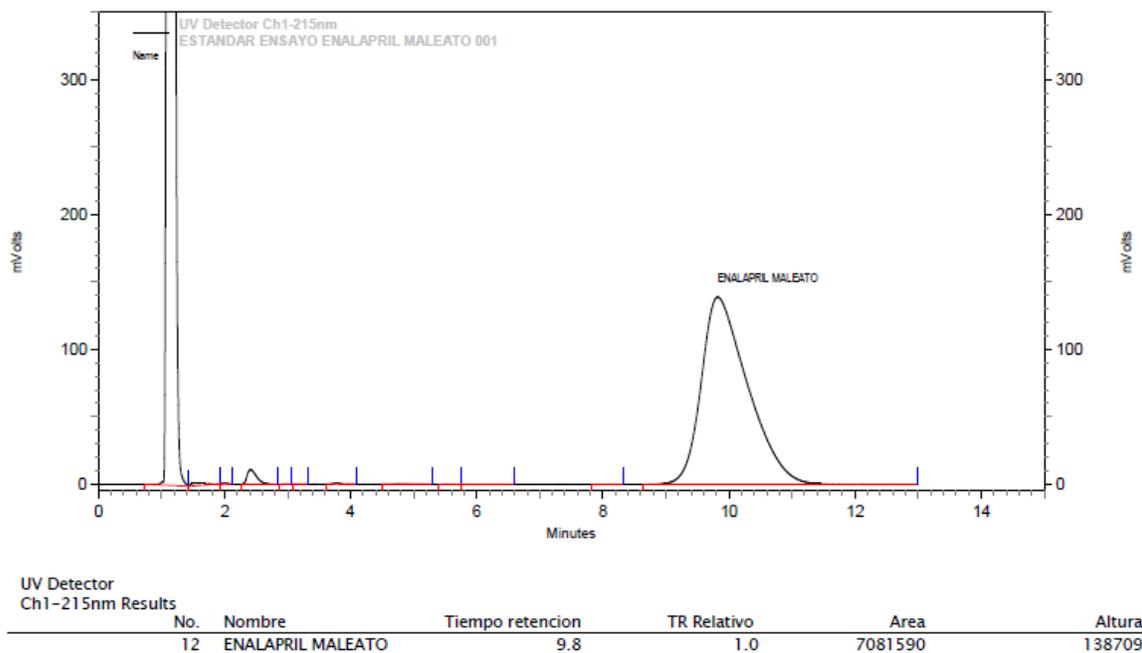


Figura 45 – Cromatograma de solución estándar 0.2 mg/mL

e. Ensayo – medicamento de prueba

Tabla 35 - Porcentaje sobre lo rotulado y mg/tableta de medicamento de prueba

FD (ensayo)		500	
Peso promedio (mg)		203.15	
Muestra 1		Muestra 2	
Peso	1015.8	Peso	1015.8
Área 1	7139536	Área 1	7337489
Área 2	7239966	Área 2	7347037
Área promedio	7189751	Área promedio	7342263
mg/tab	20.4	mg/tab	20.8
% Rotulado	102.1	% Rotulado	104.2
% Rotulado promedio		103.1	
Límites		90.0% - 110.0%	

Los resultados presentados en la tabla 35, indican que el medicamento de prueba cumple con los límites establecidos para la valoración (90.0% al 110.0%), ya que el resultado promedio de dos muestras es 103.1%.

SHIMADZU

Código de equipo: CFQ-HPLC-08
 L-F3030 ENSAYO ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA 001
 Nombre del método: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB ENSAYO.met
 Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.ENSAYO.seq
 Descripción: L F3030 ENSAYO ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA. M 1
 Vial: 2-64
 Volumen inyección: 50
 Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO

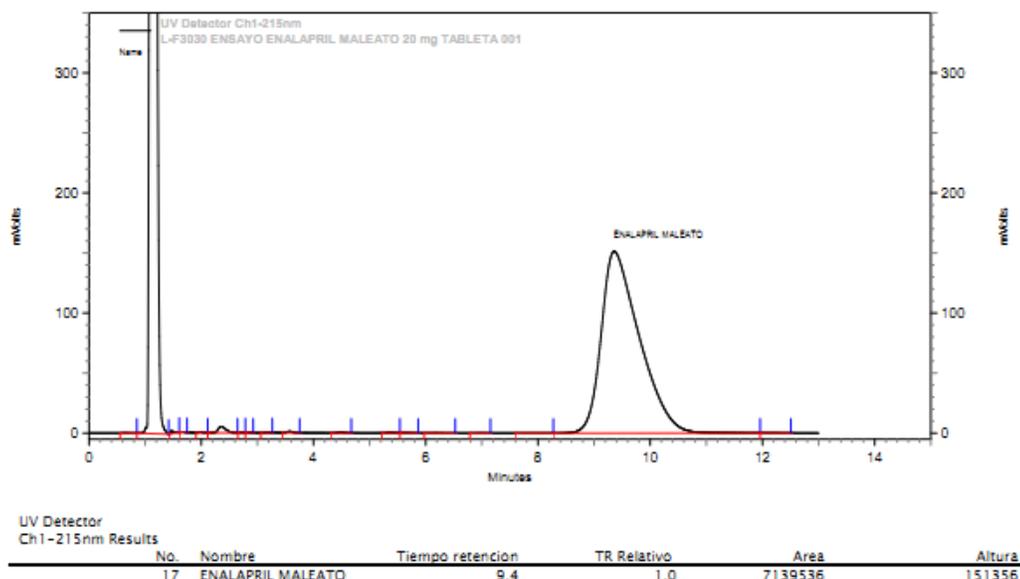


Figura 46 – Cromatograma de medicamento de prueba para ensayo

f. Porcentaje de diferencia entre ensayos - medicamento de referencia y medicamento de prueba

Tabla 36 - Porcentaje de diferencia en ensayo

% Rotulado referencia	99.4%
% Rotulado prueba	103.1%
% Diferencia en ensayo	3.8%

La diferencia existente en el porcentaje de valoración 3.8%, presentada en la tabla 36 cumple con el criterio que establece la FDA, ya que es menor del 5.0%.

8.4.3 Uniformidad de unidades de dosificación, por medio de uniformidad de contenido

Tabla 37 - Resultado de uniformidad de contenido del medicamento de referencia

Número	Área	mg/tab	% práctico
1	6983058	20.2	101.1
2	6886104	19.9	99.7
3	6931899	20.1	100.4
4	7053861	20.4	102.1
5	7020382	20.3	101.7
6	6832043	19.8	98.9
7	6829786	19.8	98.9
8	6896893	20.0	99.9
9	7039781	20.4	101.9
10	7042289	20.4	102.0
Promedio		20.1	100.7

Criterio de aceptación	AV ≤ L1
Definición (límite inferior)	90.0%
Definición (límite superior)	110.0%
T (promedio de límites)	100.0%
k	2.4
s	1.3
RSD	1.3%
M	100.7
L1	15.0%
L2	25.0%
AV (valor de aceptación)	3.1%

Los resultados presentados en la tabla 37 demuestran que el medicamento de referencia cumple con la prueba; ya que AV = 3.1% es menor o igual a 15.0%.

SHIMADZU

Código de equipo: CFQ-HPLC-08

L-H008711 UDC ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA 001

Nombre del método: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB ENSAYO.met

Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.ENSAYO.seq

Descripción: L H008711 UNIFORMIDAD DE CONTENIDO ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA. LIDER. M 1

Vial: 2-1

Volumen inyección: 50

Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO

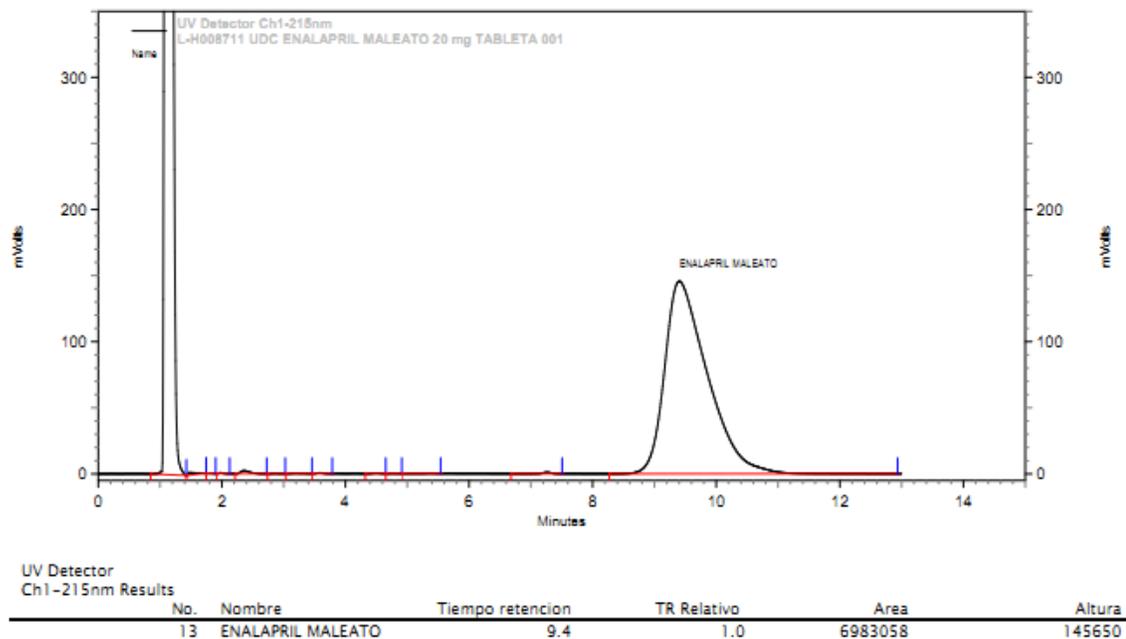


Figura 47 – Cromatograma de uniformidad de contenido de medicamento de referencia

Tabla 38 - Resultado de uniformidad de contenido de medicamento de prueba

Número	Área	mg/tab	% práctico
1	7363153	20.9	104.5
2	7643272	21.7	108.5
3	7276813	20.7	103.3
4	6998407	19.9	99.4
5	7726327	21.9	109.7
6	7605285	21.6	108.0
7	7739336	22.0	109.9
8	7397371	21.0	105.0
9	7784061	22.1	110.5
10	7751449	22.0	110.0
Promedio		21.4	106.9

Criterio de aceptación		AV ≤ L1
Definición (límite inferior)		90.0%
Definición (límite superior)		110.0%
T (promedio de límites)		100.0%
k		2.4
s		3.7
RSD		3.4%
M		101.5
L1		15.0%
L2		25.0%
AV (valor de aceptación)		14.2%

El resultado del valor de aceptación (AV) presentado en la tabla 38 indica el cumplimiento de este análisis para el medicamento de prueba, ya que AV = 14.2%, es menor o igual a 15.0%.

SHIMADZU

Código de equipo: CFQ-HPLC-08

L-F3030 UDC ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA 001

Nombre del método: C:\EZStart\Projects\Default\Method\ENALAPRIL MALEATO 20 mg TAB ENSAYO.met

Nombre de la secuencia: C:\EZStart\Projects\Default\Sequence\ENALAPRIL.MALEATO.ENSAYO.seq

Descripción: L F3030 UNIFORMIDAD DE CONTENIDO ENALAPRIL MALEATO 20 mg TABLETA. M 1

Vial: 2-11

Volumen inyección: 50

Analista: Lic. Cecilia Menjivar

ENALAPRIL MALEATO

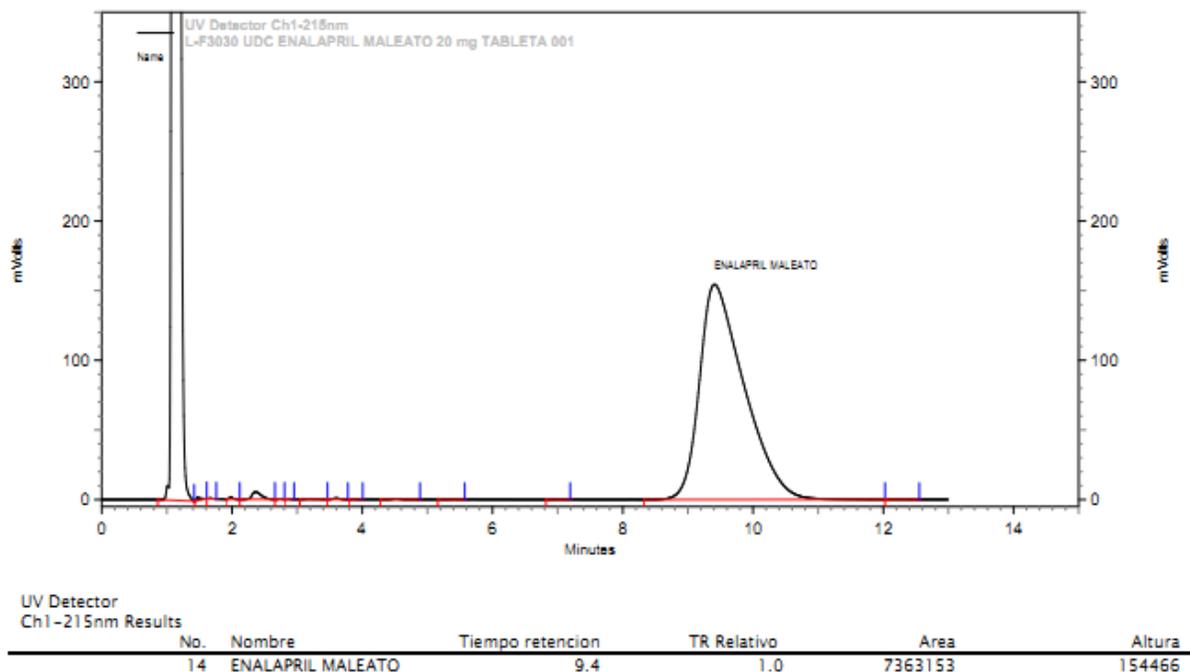


Figura 48 – Cromatograma de uniformidad de contenido de medicamento de prueba

CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos de porcentaje disuelto de materia prima en los tres medios de disolución: 102.0% en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP, 103.5% en solución buffer pH 4.5 y 101.6% en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP; confirman que el enalapril maleato es un principio activo **altamente soluble**, ya que la mayor concentración posológica se solubiliza en 250 mL de medio acuoso en el rango de pH 1.0 – 7.5.
2. La sumatoria de todos los compuestos relacionados (enalaprilat, enalapril dicetopiperazina y cualquier otro compuesto relacionado) fue de 3.3% para el medicamento de referencia, Renitec 20 mg tableta del laboratorio Merck Sharp & Dohme Ltd., y de 10.0% para el medicamento de prueba, de fabricación nacional. Esto indica que el medicamento de referencia cumple con el criterio de aceptación no mayor a 5.0% establecido en la farmacopea de los Estados Unidos vigente, no así el medicamento de prueba.
3. Los porcentajes obtenidos en la prueba de valoración fueron para el medicamento de referencia: 99.4% y 103.1% para el medicamento de prueba; es decir que ambos se encuentran dentro de la especificación vigente de farmacopea de los Estados Unidos: 90.0% al 110.0%, y la diferencia entre ambos es de 3.8%, cumpliendo además, con el criterio establecido de no diferir en más del 5.0%.
4. En la prueba de uniformidad de unidad de dosis por uniformidad de contenido, los resultados del valor de aceptación fueron: 3.1% y 14.2%, para los medicamentos de referencia y de prueba respectivamente; ambos cumplen con el valor de aceptación menor o igual a 15.0%.

5. De acuerdo con el método matemático: enfoque independiente de modelo utilizando un factor de similitud, que comprende el uso de 6 puntos temporales de disolución, para el medicamento de referencia y de prueba, se concluye que para los medios: solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP, solución buffer pH 4.5 y solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP; no presentan similitud en sus perfiles de disolución, ya que los resultados de los factores de similitud (f2), están por debajo de la especificación del 50% al 100% (28%, 28% y 28% respectivamente), y los factores de diferencia (f1) obtenidos (25%, 24% y 24% respectivamente), se encuentran arriba de la especificación del 0% al 15%.
6. Debido a que en ambos medicamentos, referencia y prueba, el contenido rotulado se disuelve en más del 85% a los 15 minutos en los tres medios de disolución, se confirma su clasificación como **muy rápida disolución**, por lo tanto, no es necesario emplear el f2 y caracterizar la curva ascendente. Aseverando que este medicamento aplica para bioexención utilizando prueba de disolución, según lo especifica OMS.
7. Aunque se estableció que el medicamento está clasificado como muy rápida disolución, es un riesgo aseverar que es equivalente terapéutico del medicamento de referencia, debido a que para el presente estudio no se conoce la composición cuali-cuantitativa de los excipientes utilizados en la fabricación del medicamento de prueba, ya que estos pueden afectar en los procesos de absorción o podrían generar interacciones que alteren la farmacocinética del principio activo.
8. Con base en los resultados obtenidos del medicamento enalapril maleato 20 mg de formulación nacional, con el producto de referencia Renitec 20 mg tableta, se concluye que no son equivalentes terapéuticos.

RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio de bioequivalencia y biodisponibilidad in vivo del medicamento de prueba enalapril maleato 20 mg tableta de formulación nacional, para confirmar que dicho producto no es equivalente terapéutico del medicamento de referencia e innovador Renitec® del laboratorio farmacéutico Merck, debido a que no se conoce la composición cuali-cuantitativa de los excipientes utilizados en la fabricación del medicamento de prueba, ya que estos pueden afectar en los procesos de absorción o podrían generar interacciones que alteren la farmacocinética del principio activo.
2. Actualmente en El Salvador no son realizados estudios de bioexención, por lo que se comunicara a las instituciones gubernamentales de salud, que para considerar un medicamento como equivalente terapéutico del innovador, debe realizarse un estudio de equivalencia terapéutica in vitro en tres medios de disolución que simulen los valores de pH normales del sistema digestivo humano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] U.S. Food and Drug Administration (FDA). Silver Spring: U.S. Department of Health & Human Services, CDER. Revised as of april 1, 2014. CFR - Code of Federal Regulations, Title 21, part 320, sec. 320.24. Disponible en:
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=320.24>
- [2] Carrión D, Gonzalez C, Olivera L, Correa A. Bioequivalencia. Introducción a la correlación in vivo- in vitro. Parte I. Revista cubana de farmacia. 1999; 33(2):132-142.
- [3] U.S. Food and Drug Administration (FDA). Silver Spring: U.S. Department of Health & Human Services, CDER. 1997 (page last updated: 02/24/2010). Guía para la industria. Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata. Disponible en:
<http://www.fda.gov/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm200707.htm>
- [4] World Health Organization (WHO). WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Geneva: WHO; 2006. Technical report series 937.
- [5] U.S. Food and Drug Administration (FDA). Silver Spring: U.S. Department of Health & Human Services, CDER. 1999 (last update: july 7, 2005). Reference listed drug labeling approved in february 1999. Disponible en:
<http://www.fda.gov/cder/whatsnew.htm>
- [6] U.S. Food and Drug Administration (FDA). Silver Spring: U.S. Department of Health & Human Services, CDER. 2000 (page last updated: 02/24/2010). Guía para la industria. Estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia para productos farmacéuticos administrados oralmente - consideraciones generales. Disponible en:
<http://www.fda.gov/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm201469.htm>

- [7] U.S. Food and Drug Administration (FDA). Silver Spring: U.S. Department of Health & Human Services, CDER. 2000 (page last updated: 02/24/2010). 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 biofarmacéutica. Disponible en:
<http://www.fda.gov/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm201453.htm>
- [8] Sección de Biofarmacia. Subdepartamento de Seguridad. Departamento de Control Nacional. Instituto de Salud Pública de Chile. Guía técnica G-BIOF 02: bioexención de los estudios de biodisponibilidad/ bioequivalencia para establecer equivalencia terapéutica de formas farmacéuticas sólidas orales. 2007. 2:11-15; 3:16-38.
- [9] Organización Panamericana de la Salud (OPS), Organización Mundial de la Salud (OMS). IV Conferencia panamericana para la armonización de la reglamentación farmacéutica. Criterios científicos para los ensayos de bioequivalencia (*in vivo* e *in vitro*), las bioexenciones y las estrategias para su implementación. Documento borrador. 2005. 8-17.
- [10] Pereda D, Perez N, Martinez L, Chang A. Evaluación comparativa de la liberación *in vitro* de metildopa de producción nacional contra Aldomet®. Revista cubana de farmacia. 2001; 35(1):13-17.
- [11] Navarro M, Cabral P. Salud Militar. Desarrollo de formulación de captopril 25 mg comprimidos. 2005; Vol. 27: 9-16.
- [12] Breña M. Diseño y desarrollo de una formulación para gemfibrozilo 600 mg tableta recubierta. Versión 01. Universia: Cybertesis Perú. 2010 (fecha de contribución 29 de junio de 2010). Disponible en:
http://biblioteca.universia.net/irARecurso.do?page=http%3A%2F%2Fwww.cybertesis.edu.pe%2Fsisbib%2F2005%2Fbrena_fm%2Fhtml%2Findex-frames.html&id=34694707
- [13] Gascón A, Cuadrado A, Solinís M, Hernández R, Castilla A, Ramírez E, *et al.* Equivalencia farmacocinética - farmacodinámica entre dos formulaciones orales

de furosemida. En: VI Congreso SEFIG y 3^{as} Jornadas TF. Universidad del país Vasco.

- [14] Brittain H. Physical Characterization of Pharmaceutical Solids. Edition: 1st New Jersey. Murray Hill. 1995.
- [15] Comité de expertos de la USP. Farmacopea de los Estados Unidos Americanos, USP 36, NF 31. Estados Unidos. 2013.
- [16] García R. Consideraciones sobre algunos métodos matemáticos empleados en la comparación de perfiles de disolución. Sintefarma 8(1): 2002.
- [17] Merck & Co. INC. Inserto del producto Renitec®. 2007.
- [18] Secretaría de Salud de Estados Unidos Mexicanos. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013. 2013; .4: 7.
- [19] Goodman, Gilman. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11 Th. Ed. San Diego, California. Mc.Graw-Hill's. 2005.
- [20] Cuellar N. Determinación de la bioequivalencia en voluntarios sanos entre dos formulaciones orales de enalapril: Renitec® vs. Albec®. Escuela superior de medicina. Instituto Politécnico Nacional. México.2008.
- [21] Resolución de adjudicación 19/2013. Licitación: LPI – B - SM2015 - MINSAL/04, adquisición de medicamentos para equipos comunitarios de salud (ECOS) familiar del Ministerio de Salud. 2013.
- [22] Resolución de adjudicación 012/2013. Licitación: Contratación directa 01/2013, adquisición de medicamentos para los establecimientos de salud en horarios de FOSALUD 2013. 2013
- [23] Acuerdo #2012-1262.sep. Licitación: Contratación directa No. M - 008/2012 - P/2013, adquisición de medicamentos con requisito de lista 4, parte I. 2013

ANEXOS

Anexo 1 - Estándar en solución buffer pH 4.5

Solución de trabajo	Área	Factor de respuesta
Estándar 1	2556250.0	31953.1
Estándar 2	2556685.0	31958.6
Estándar 3	2559244.0	31990.6
Estándar 4	2560579.0	32007.2
Estándar 5	2562388.0	32029.9
Promedio	2559029.2	31987.9
Desviación estándar	2595.6	
RSD (%)	0.1	
Solución de control	Área	Factor de respuesta
Estándar 1	2634680.0	32933.5
Estándar 2	2642377.0	33029.7
Estándar 3	2649125.0	33114.1
Estándar 4	2644017.0	33050.2
Estándar 5	2637312.0	32966.4
Promedio	2641502.2	33018.8
Desviación estándar	5685.4	
RSD (%)	0.2	
RSD del factor de respuesta		2%

Anexo 2 - Estándar en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima

USP

Solución de trabajo	Área	Factor de respuesta
Estándar 1	2620622.0	32757.8
Estándar 2	2621668.0	32770.9
Estándar 3	2631610.0	32895.1
Estándar 4	2629768.0	32872.1
Estándar 5	2631723.0	32896.5
Promedio	2627078.2	32838.5
Desviación estándar	5484.0	
RSD (%)	0.2	
Solución de control	Área	Factor de respuesta
Estándar 1	2731445.0	34143.1
Estándar 2	2737144.0	34214.3
Estándar 3	2738244.0	34228.1
Estándar 4	2743214.0	34290.2
Estándar 5	2740284.0	34253.6
Promedio	2738066.2	34225.8
Desviación estándar	4362.9	
RSD (%)	0.2	
RSD del factor de respuesta		2%

Anexo 3 - Solubilidad en solución buffer pH 4.5

Materia prima	Área	mg disueltos	% disuelto
Muestra 1	2636858.0	20.6	103.0
Muestra 2	2639851.0	20.6	103.2
Muestra 3	2652708.0	20.7	103.7
Muestra 4	2660856.0	20.8	104.0
Promedio	2647568.3	20.7	103.5
Desviación estándar	11213.8	0.1	0.4
RSD (%)	0.4	0.4	0.4

Anexo 4 - Solubilidad en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima
USP

Materia prima	Área	mg disueltos	% disuelto
Muestra 1	2697758.0	20.5	102.7
Muestra 2	2701589.0	20.6	102.8
Muestra 3	2634790.0	20.1	100.3
Muestra 4	2640400.0	20.1	100.5
Promedio	2668634.3	20.3	101.6
Desviación estándar	35948.2	0.3	1.4
RSD (%)	1.3	1.3	1.3

Anexo 5 - Tiempo 10 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 2 - 10 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	510138	14.0	70
2	199.0	573500	15.8	79
3	201.0	470707	12.9	65
4	196.0	466800	12.8	64
5	199.0	535003	14.7	74
6	197.0	489967	13.5	67
7	200.0	499720	13.7	69
8	198.0	566499	15.6	78
9	196.0	468651	12.9	64
10	201.0	456389	12.5	63
11	199.0	474003	13.0	65
12	201.0	498891	13.7	69
Promedio				69
Desviación estándar				5
RSD (%)				8
Límite inferior				63
Límite superior				79

Anexo 6 - Tiempo 15 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 3 - 15 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	663762	18.3	91
2	199.0	694866	19.2	96
3	201.0	636437	17.5	88
4	196.0	611898	16.8	84
5	199.0	672381	18.5	93
6	197.0	658434	18.1	91
7	200.0	658436	18.1	91
8	198.0	693434	19.1	96
9	196.0	633834	17.5	87
10	201.0	619851	17.1	85
11	199.0	628416	17.3	87
12	201.0	653064	18.0	90
Promedio				90
Desviación estándar				4
RSD (%)				4
Límite inferior				84
Límite superior				96

Anexo 7 - Tiempo 20 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 4 - 20 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	712724	19.7	98
2	199.0	699661	19.3	96
3	201.0	705678	19.5	97
4	196.0	688489	19.0	95
5	199.0	727467	20.1	100
6	197.0	710651	19.6	98
7	200.0	707184	19.5	97
8	198.0	714753	19.7	99
9	196.0	697966	19.2	96
10	201.0	697052	19.2	96
11	199.0	716470	19.8	99
12	201.0	713375	19.7	98
Promedio				98
Desviación estándar				1
RSD (%)				2
Límite inferior				95
Límite superior				100

Anexo 8 - Tiempo 30 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 5 - 30 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	714178	19.7	98
2	199.0	692984	19.1	96
3	201.0	713499	19.7	98
4	196.0	697525	19.2	96
5	199.0	720535	19.9	99
6	197.0	711857	19.6	98
7	200.0	709356	19.6	98
8	198.0	711651	19.6	98
9	196.0	707401	19.5	98
10	201.0	719936	19.9	99
11	199.0	720125	19.9	99
12	201.0	715078	19.7	99
Promedio				98
Desviación estándar				1
RSD (%)				1
Límite inferior				96
Límite superior				99

Anexo 9 - Tiempo 45 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 6 - 45 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	709714	19.6	98
2	199.0	704640	19.4	97
3	201.0	719985	19.9	99
4	196.0	703681	19.4	97
5	199.0	717546	19.8	99
6	197.0	699410	19.3	96
7	200.0	701603	19.3	97
8	198.0	698259	19.2	96
9	196.0	706711	19.5	97
10	201.0	719232	19.8	99
11	199.0	728683	20.1	100
12	201.0	726026	20.0	100
Promedio				98
Desviación estándar				1
RSD (%)				1
Límite inferior				96
Límite superior				100

Anexo 10 - Tiempo 10 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 2 - 10 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	805271	20.9	105
2	199.0	776331	20.2	101
3	201.0	779379	20.2	101
4	196.0	778795	20.2	101
5	199.0	765872	19.9	99
6	197.0	817772	21.2	106
7	200.0	799272	20.8	104
8	198.0	797823	20.7	104
9	196.0	802158	20.8	104
10	201.0	803969	20.9	104
11	199.0	796493	20.7	103
12	201.0	713386	18.5	93
Promedio				102
Desviación estándar				4
RSD (%)				3
Límite inferior				93
Límite superior				106

Anexo 11 - Tiempo 15 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 3 - 15 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	799876	20.8	104
2	199.0	771599	20.0	100
3	201.0	780708	20.3	101
4	196.0	790964	20.5	103
5	199.0	774608	20.1	101
6	197.0	850553	22.1	110
7	200.0	805332	20.9	105
8	198.0	799365	20.8	104
9	196.0	830425	21.6	108
10	201.0	807397	21.0	105
11	199.0	809236	21.0	105
12	201.0	728472	18.9	95
Promedio				103
Desviación estándar				4
RSD (%)				4
Límite inferior				95
Límite superior				110

Anexo 12 - Tiempo 20 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 4 - 20 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	802833	20.8	104
2	199.0	768290	19.9	100
3	201.0	762223	19.8	99
4	196.0	753631	19.6	98
5	199.0	773826	20.1	100
6	197.0	844970	21.9	110
7	200.0	816727	21.2	106
8	198.0	806477	20.9	105
9	196.0	821363	21.3	107
10	201.0	836679	21.7	109
11	199.0	809062	21.0	105
12	201.0	758033	19.7	98
Promedio				103
Desviación estándar				4
RSD (%)				4
Límite inferior				98
Límite superior				110

Anexo 13 - Tiempo 30 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 5 - 30 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	797244	20.7	104
2	199.0	772953	20.1	100
3	201.0	762118	19.8	99
4	196.0	761781	19.8	99
5	199.0	760778	19.8	99
6	197.0	806954	21.0	105
7	200.0	810274	21.0	105
8	198.0	821684	21.3	107
9	196.0	833293	21.6	108
10	201.0	834353	21.7	108
11	199.0	826584	21.5	107
12	201.0	771433	20.0	100
Promedio				103
Desviación estándar				4
RSD (%)				4
Límite inferior				99
Límite superior				108

Anexo 14 - Tiempo 45 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 1.2 o fluido gástrico simulado sin enzima USP

tiempo 6 - 45 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	203.0	803499	20.9	104
2	199.0	779866	20.2	101
3	201.0	783260	20.3	102
4	196.0	752672	19.5	98
5	199.0	767238	19.9	100
6	197.0	817356	21.2	106
7	200.0	812624	21.1	106
8	198.0	801894	20.8	104
9	196.0	827361	21.5	107
10	201.0	823795	21.4	107
11	199.0	827329	21.5	107
12	201.0	786193	20.4	102
Promedio				104
Desviación estándar				3
RSD (%)				3
Límite inferior				98
Límite superior				107

Anexo 15 - Tiempo 10 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5

tiempo 2 - 10 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	508660	14.0	70
2	201.0	570671	15.7	79
3	200.0	507824	14.0	70
4	198.0	516249	14.2	71
5	199.0	530834	14.6	73
6	199.0	427743	11.8	59
7	200.0	461908	12.7	64
8	202.0	442095	12.2	61
9	199.0	476721	13.1	66
10	201.0	425246	11.7	58
11	201.0	521980	14.4	72
12	199.0	474643	13.1	65
Promedio				67
Desviación estándar				6
RSD (%)				9
Límite inferior				58
Límite superior				79

Anexo 16 - Tiempo 15 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5

tiempo 3 - 15 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	666696	18.4	92
2	201.0	692818	19.1	96
3	200.0	669929	18.5	92
4	198.0	669626	18.5	92
5	199.0	675932	18.6	93
6	199.0	610729	16.8	84
7	200.0	636936	17.6	88
8	202.0	618254	17.0	85
9	199.0	623208	17.2	86
10	201.0	594256	16.4	82
11	201.0	664339	18.3	92
12	199.0	627655	17.3	87
Promedio				89
Desviación estándar				4
RSD (%)				5
Límite inferior				82
Límite superior				96

Anexo 17 - Tiempo 20 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5

tiempo 4 - 20 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	687901	19.0	95
2	201.0	703282	19.4	97
3	200.0	695712	19.2	96
4	198.0	688535	19.0	95
5	199.0	706820	19.5	97
6	199.0	697613	19.2	96
7	200.0	713802	19.7	98
8	202.0	712356	19.6	98
9	199.0	704322	19.4	97
10	201.0	677812	18.7	93
11	201.0	709440	19.6	98
12	199.0	706629	19.5	97
Promedio				97
Desviación estándar				2
RSD (%)				2
Límite inferior				93
Límite superior				98

Anexo 18 - Tiempo 30 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5

tiempo 5 - 30 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	687408	19.0	95
2	201.0	702261	19.4	97
3	200.0	696454	19.2	96
4	198.0	696086	19.2	96
5	199.0	697592	19.2	96
6	199.0	694047	19.1	96
7	200.0	703012	19.4	97
8	202.0	713838	19.7	98
9	199.0	711790	19.6	98
10	201.0	714031	19.7	98
11	201.0	718542	19.8	99
12	199.0	712692	19.7	98
Promedio				97
Desviación estándar				1
RSD (%)				1
Límite inferior				95
Límite superior				99

Anexo 19 - Tiempo 45 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 4.5

tiempo 6 - 45 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	690285	19.0	95
2	201.0	698027	19.3	96
3	200.0	694486	19.2	96
4	198.0	698061	19.3	96
5	199.0	703714	19.4	97
6	199.0	702706	19.4	97
7	200.0	697880	19.2	96
8	202.0	707203	19.5	98
9	199.0	702823	19.4	97
10	201.0	712057	19.6	98
11	201.0	698084	19.3	96
12	199.0	713500	19.7	98
Promedio				97
Desviación estándar				1
RSD (%)				1
Límite inferior				95
Límite superior				98

Anexo 20 - Tiempo 10 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en
solución buffer pH 4.5

tiempo 2 - 10 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	735844	20.3	102
2	209.0	641287	17.7	88
3	201.0	733764	20.3	101
4	206.0	732784	20.2	101
5	205.0	747404	20.6	103
6	207.0	745059	20.6	103
7	195.0	696442	19.2	96
8	205.0	715807	19.8	99
9	203.0	735851	20.3	102
10	208.0	768571	21.2	106
11	199.0	747788	20.6	103
12	194.0	720794	19.9	99
Promedio				100
Desviación estándar				4
RSD (%)				4
Límite inferior				88
Límite superior				106

Anexo 21 - Tiempo 15 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en
solución buffer pH 4.5

tiempo 3 - 15 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	746265	20.6	103
2	209.0	655081	18.1	90
3	201.0	737691	20.4	102
4	206.0	741790	20.5	102
5	205.0	767753	21.2	106
6	207.0	757173	20.9	105
7	195.0	715042	19.7	99
8	205.0	717310	19.8	99
9	203.0	763212	21.1	105
10	208.0	773588	21.4	107
11	199.0	749953	20.7	104
12	194.0	719422	19.9	99
Promedio				102
Desviación estándar				4
RSD (%)				4
Límite inferior				90
Límite superior				107

Anexo 22 - Tiempo 20 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en
solución buffer pH 4.5

tiempo 4 - 20 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	739104	20.4	102
2	209.0	667236	18.4	92
3	201.0	735832	20.3	102
4	206.0	747433	20.6	103
5	205.0	764710	21.1	106
6	207.0	753455	20.8	104
7	195.0	704044	19.4	97
8	205.0	735551	20.3	102
9	203.0	758871	20.9	105
10	208.0	777079	21.5	107
11	199.0	755160	20.8	104
12	194.0	720681	19.9	99
Promedio				102
Desviación estándar				4
RSD (%)				4
Límite inferior				92
Límite superior				107

Anexo 23 - Tiempo 30 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en
solución buffer pH 4.5

tiempo 5 - 30 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	743496	20.5	103
2	209.0	689261	19	95
3	201.0	727997	20.1	100
4	206.0	743342	20.5	103
5	205.0	757953	20.9	105
6	207.0	742142	20.5	102
7	195.0	703133	19.4	97
8	205.0	734910	20.3	101
9	203.0	766566	21.2	106
10	208.0	765729	21.1	106
11	199.0	751889	20.8	104
12	194.0	729019	20.1	101
Promedio				102
Desviación estándar				3
RSD (%)				3
Límite inferior				95
Límite superior				106

Anexo 24 - Tiempo 45 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en
solución buffer pH 4.5

tiempo 6 - 45 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	749385	20.7	103
2	209.0	705848	19.5	97
3	201.0	732996	20.2	101
4	206.0	750198	20.7	104
5	205.0	749914	20.7	103
6	207.0	745506	20.6	103
7	195.0	700116	19.3	97
8	205.0	718292	19.8	99
9	203.0	750337	20.7	104
10	208.0	766377	21.2	106
11	199.0	750475	20.7	104
12	194.0	718321	19.8	99
Promedio				102
Desviación estándar				3
RSD (%)				3
Límite inferior				97
Límite superior				106

Anexo 25 - Tiempo 10 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 2 - 10 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	474921	13.1	65
2	201.0	626619	17.3	86
3	200.0	453309	12.5	62
4	198.0	506208	13.9	70
5	199.0	491535	13.5	68
6	199.0	514283	14.2	71
7	200.0	478925	13.2	66
8	202.0	544337	15.0	75
9	199.0	476818	13.1	66
10	201.0	424587	11.7	58
11	201.0	465257	12.8	64
12	199.0	510480	14.0	70
Promedio				68
Desviación estándar				7
RSD (%)				10
Límite inferior				58
Límite superior				86

Anexo 26 - Tiempo 15 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 3 - 15 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	619225	17.1	85
2	201.0	704892	19.4	97
3	200.0	718606	19.8	99
4	198.0	644261	17.7	89
5	199.0	671875	18.5	93
6	199.0	677922	18.7	93
7	200.0	640616	17.6	88
8	202.0	671575	18.5	92
9	199.0	628419	17.3	87
10	201.0	610321	16.8	84
11	201.0	631414	17.4	87
12	199.0	685007	18.9	94
Promedio				91
Desviación estándar				5
RSD (%)				5
Límite inferior				84
Límite superior				99

Anexo 27 - Tiempo 20 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 4 - 20 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	723635	19.9	100
2	201.0	714660	19.7	98
3	200.0	710570	19.6	98
4	198.0	718322	19.8	99
5	199.0	707436	19.5	97
6	199.0	733345	20.2	101
7	200.0	722745	19.9	100
8	202.0	695222	19.2	96
9	199.0	726510	20.0	100
10	201.0	747472	20.6	103
11	201.0	724663	20.0	100
12	199.0	709097	19.5	98
Promedio				99
Desviación estándar				2
RSD (%)				2
Límite inferior				96
Límite superior				103

Anexo 28 - Tiempo 30 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 5 - 30 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	754015	20.8	104
2	201.0	717937	19.8	99
3	200.0	718781	19.8	99
4	198.0	716468	19.7	99
5	199.0	728865	20.1	100
6	199.0	724930	20.0	100
7	200.0	724335	20.0	100
8	202.0	719687	19.8	99
9	199.0	732870	20.2	101
10	201.0	757727	20.9	104
11	201.0	734696	20.2	101
12	199.0	741181	20.4	102
Promedio				101
Desviación estándar				2
RSD (%)				2
Límite inferior				99
Límite superior				104

Anexo 29 - Tiempo 45 minutos de perfil de disolución medicamento de referencia en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 6 - 45 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	197.0	730302	20.1	101
2	201.0	748213	20.6	103
3	200.0	737664	20.3	102
4	198.0	735432	20.3	101
5	199.0	724731	20.0	100
6	199.0	729974	20.1	101
7	200.0	713582	19.7	98
8	202.0	721537	19.9	99
9	199.0	721914	19.9	99
10	201.0	738875	20.4	102
11	201.0	734330	20.2	101
12	199.0	714678	19.7	98
Promedio				100
Desviación estándar				1
RSD (%)				1
Límite inferior				98
Límite superior				103

Anexo 30 - Tiempo 10 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 2 - 10 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	799946	21.9	110
2	209.0	713016	19.5	98
3	201.0	803404	22	110
4	206.0	716675	19.6	98
5	205.0	756577	20.7	104
6	207.0	737111	20.2	101
7	195.0	758616	20.8	104
8	205.0	751709	20.6	103
9	203.0	667629	18.3	91
10	208.0	725952	19.9	99
11	199.0	774598	21.2	106
12	194.0	736090	20.1	101
Promedio				102
Desviación estándar				5
RSD (%)				5
Límite inferior				91
Límite superior				110

Anexo 31 - Tiempo 15 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 3 - 15 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	806241	22.1	110
2	209.0	791049	21.7	108
3	201.0	803932	22	110
4	206.0	749905	20.5	103
5	205.0	764674	20.9	105
6	207.0	810223	22.2	111
7	195.0	781103	21.4	107
8	205.0	742581	20.3	102
9	203.0	772189	21.1	106
10	208.0	700566	19.2	96
11	199.0	772124	21.1	106
12	194.0	751955	20.6	103
Promedio				106
Desviación estándar				4
RSD (%)				4
Límite inferior				96
Límite superior				111

Anexo 32 - Tiempo 20 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 4 - 20 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	786549	21.5	108
2	209.0	738702	20.2	101
3	201.0	801419	22	110
4	206.0	779184	21.3	107
5	205.0	743547	20.4	102
6	207.0	788281	21.6	108
7	195.0	802682	22	110
8	205.0	783514	21.5	107
9	203.0	762622	20.9	104
10	208.0	779325	21.3	107
11	199.0	735466	20.1	101
12	194.0	747397	20.5	102
Promedio				106
Desviación estándar				3
RSD (%)				3
Límite inferior				101
Límite superior				110

Anexo 33 - Tiempo 30 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 5 - 30 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	756734	20.7	104
2	209.0	727662	19.9	100
3	201.0	772645	21.2	106
4	206.0	732036	20	100
5	205.0	788022	21.6	108
6	207.0	779183	21.3	107
7	195.0	798223	21.9	109
8	205.0	769702	21.1	105
9	203.0	754600	20.7	103
10	208.0	729580	20	100
11	199.0	774482	21.2	106
12	194.0	755802	20.7	103
Promedio				104
Desviación estándar				3
RSD (%)				3
Límite inferior				100
Límite superior				109

Anexo 34 - Tiempo 45 minutos de perfil de disolución medicamento de prueba en solución buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima USP

tiempo 6 - 45 minutos				
	peso (mg)	Área	mg/tab	% Recuperación
1	206.0	789620	21.6	108
2	209.0	763080	20.9	104
3	201.0	816516	22.4	112
4	206.0	783551	21.5	107
5	205.0	750488	20.5	103
6	207.0	761037	20.8	104
7	195.0	788938	21.6	108
8	205.0	766037	21	105
9	203.0	769560	21.1	105
10	208.0	739326	20.2	101
11	199.0	770912	21.1	106
12	194.0	753616	20.6	103
Promedio				106
Desviación estándar				3
RSD (%)				3
Límite inferior				101
Límite superior				112