

Estudio comparativo de la calidad biofarmacéutica de Clonazepam 0,5 mg comercializados en el mercado peruano

Comparative study of the biopharmaceutical quality of Clonazepam 0.5 mg commercialized in the Peruvian market

Lennin Rodriguez-Saavedra^{1,2}, Zoila Moreno-Garrido¹, Diego Aroca-Sevillano³

¹ Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Lima, Perú.

² Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Trujillo, Perú.

³ Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, Brasil

<http://dx.doi.org/10.30827/ars.v6i1i4.15204>

Artículo original Original Article

Correspondencia Correspondence

Lennin Rodriguez-Saavedra
lennin.rodriguez@unmsm.edu.pe

Financiación Fundings

Sin financiación

Conflicto de interés Competing interest

Los autores dejan constancias que no existe ningún tipo de conflicto de intereses con la investigación realizada y los resultados expresados en el presente artículo.

Agradecimientos Acknowledgements

A la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de San Marcos y a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, especialmente a la cátedra de Tecnología Farmacéutica, Biofarmacia y Farmacocinética por el apoyo brindado con el laboratorio y los equipos.

Received: 17.04.2020
Accepted: 07.08.2020

RESUMEN

Introducción: el Clonazepam pertenece a un grupo de medicamentos llamados benzodiazepinas. Se sabe que estos medicamentos actúan en el cerebro a través del GABA. Es un anticonvulsivante utilizado para varios tipos de ataques, incluyendo ataques miotónicos o atónicos, epilepsia fotosensible, y crisis de ausencia, aunque puede desarrollarse tolerancia. Raras veces es eficaz en ataques tónico-clónicos generalizados o parciales.

Método: el presente estudio se realizó para analizar los parámetros comparativos de control de calidad in vitro mediante la evaluación de la variación de peso, friabilidad, dureza, tiempo de desintegración y perfil de disolución entre el medicamento innovador (Rivotril®) y medicamentos multifuente que son comercializados en el mercado peruano. Para realizar el estudio comparativo, se seleccionaron tabletas de Clonazepam 0,5 mg multifuente de diferentes laboratorios comparándolos con el medicamento innovador y se evaluaron las características fisicoquímicas y biofarmacéuticas. Los ensayos farmacopeicos se evaluaron según lo establecido en la USP 42.

Resultados: los resultados permitieron establecer que todas las marcas analizadas cumplieron los criterios de aceptación establecidos en la farmacopea para cada principio activo y que el comportamiento biofarmacéutico de ellas era muy similar para ambos tipos de molécula.

Conclusiones: se estableció que todas las tabletas multifuente de Clonazepam 0,5 mg incluidos en esta investigación son bioequivalentes con la marca innovadora elegida y, por lo que permite proponer a la comunidad científica la determinación de la equivalencia biofarmacéutica como elemento de apoyo en la toma de decisiones de compra en el servicio farmacéutico.

Palabras clave: Clonazepam; intercambiabilidad; control de calidad.

ABSTRACT

Introduction: Clonazepam belongs to a group of medications called benzodiazepines. It is known that these drugs act in the brain through GABA. It is an anticonvulsant used for various types of attacks, including myotonic or atonic attacks, photosensitive epilepsy, and absence attacks, although tolerance may develop. It is rarely effective in generalized or partial tonic-clonic attacks.

Method: the present study was carried out to analyze the comparative parameters of in vitro quality control by evaluating the variation in weight, friability, hardness, disintegration time and dissolution profile between the innovative drug (Rivotril®) and multi-source drugs that are marketed in the Peruvian market. To carry out the comparative study, Clonazepam 0.5 mg multi-source tablets were selected from different laboratories comparing them with the innovative medicine and the physicochemical and biopharmaceutical characteristics were evaluated. Pharmacopoeial trials were evaluated as established in USP 42.

Results: the results made it possible to establish that all the brands analyzed met the acceptance criteria established in the pharmacopoeia for each active ingredient and that their biopharmaceutical behavior was very similar for both types of molecule.

Conclusions: it was established that all Clonazepam 0.5 mg multi-source tablets included in this research are bioequivalent with the chosen innovative brand and, therefore, allow the determination of biopharmaceutical equivalence as a support element in decision-making to be proposed to the scientific community purchase in the pharmaceutical service

Keywords: Clonazepam; interchangeability; quality control.

INTRODUCCIÓN

Se ha empleado el monitoreo de medicamentos posteriores a la comercialización para juzgar la calidad, eficacia terapéutica y seguridad de la medicina. La información obtenida de dicho monitoreo podría ser utilizada para el desarrollo de productos y la mejora de la normativa vigente. En esta investigación se estudió la comparación de la calidad biofarmacéutica de tabletas de Clonazepam 0,5 mg innovador y multifuente comercializados en el mercado peruano.

El nombre químico del Clonazepam (CZP) es 1,3-dihidro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona en el que los hidrógenos en las posiciones 5 y 7 están sustituidos por grupos 2-clorofenilo y nitro, respectivamente. Se utiliza en el tratamiento de todos los tipos de epilepsia y convulsiones, así como en el mioclonos y los movimientos anormales asociados y los trastornos de pánico. Sin embargo, su uso puede verse limitado por el desarrollo de la tolerancia y la sedación. Tiene un papel como anticonvulsivo, modulador del ácido gamma-aminobutírico (GABA) y fármaco ansiolítico. Es una 1,4-benzodiazepina y un miembro de monoclorobenzenos (Figura 1). Es un compuesto básico, con un pKa de 4,9 y se encuentra casi totalmente bajo forma no ionizada (90 %) a pH fisiológico de 7,4, pudiendo de esta manera atravesar fácilmente las membranas celulares. Con respecto a sus características organolépticas, es un polvo cristalino blanquecino a amarillo, prácticamente inodoro e insípido. Por ser un derivado de las benzodiazepinas posee propiedades ansiolíticas, sedantes, hipnóticas y anticonvulsivas. Además, potencia las actividades inhibitorias del GABA al unirse al receptor GABA, ubicado en el sistema límbico y el hipotálamo. Esto aumenta la frecuencia de apertura del canal de cloruro, lo que permite el flujo de iones de cloruro en la neurona y, en última instancia, conduce a la hiperpolarización de la membrana y a una disminución de la excitabilidad neuronal. Fue sintetizado al final de los años 1960 por La Roche y se comercializa con el nombre comercial Rivotril®⁽¹⁾.

De acuerdo con el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS) propuesto por Amidon, G. et al.(1995), las sustancias farmacológicas son clasificados en cuatro clases según su solubilidad y permeabilidad. En diferentes investigaciones realizadas por el Food & Drug Administration (FDA), con-

cluyen que el CZP está en el BCS Clase I, estas sustancias presentan buena solubilidad en agua y además se absorben con facilidad a través de la mucosa gastrointestinal^(2,3,4). Por esto, su biodisponibilidad por vía oral es prácticamente del 100%, siempre y cuando no presente metabolismo presistémico ni se degrade a nivel gastrointestinal⁽⁵⁾. Para Iriarte, R.(2015), algunos medicamentos multifuente pueden estar exentos de presentar estudios de biodisponibilidad "in vivo" ya que, por sus características, pueden demostrar bioequivalencia a través de otros métodos. Estos medicamentos se comercializan por un procedimiento diferente, y se denominan bioexenciones⁽⁶⁾. Según Alfredo, L.; Campos, S.(2017), una bioexención es la autorización de comercialización de una formulación oral basándose, única y estrictamente, en criterios de disolución, en sustitución de un estudio de bioequivalencia "in vivo"⁽⁷⁾.

Usando el trabajo de Löbenberg y Amidon(2000), la FDA presentó en el año 2003 las primeras guías para la exención de estudios de bioequivalencia "in vivo", para las formas farmacéuticas orales de liberación inmediata pertenecientes a la clase I del sistema BCS (alta solubilidad y alta permeabilidad)⁽⁸⁾. Esta iniciativa permitía demostrar la bioequivalencia mediante unos ensayos de disolución "in vitro"⁽⁹⁾.

Al principio, las bioexenciones eran usadas por los propios fabricantes de los medicamentos de referencia cuando necesitaban realizar cambios post-registro, o cambios de escala que no afectaban a la indicación de la formulación⁽¹⁰⁾.

Para Shah et al. 2016, el riesgo de una discrepancia terapéutica por errores de bioequivalencia siempre existe al usar un medicamento genérico, incluso si se lleva a cabo un ensayo clínico completo. La autorización de un medicamento por bioexención se realiza basándose en estadísticas y datos científicos representativos del producto⁽¹¹⁾. Según Baishya et al. 2018, actualmente existe un comportamiento psicológico común de que los productos farmacéuticos de alto costo fabricados por las principales compañías farmacéuticas son mejores en comparación con los productos de bajo costo fabricados por pequeñas empresas a escala⁽¹²⁾. Hasta la fecha no existen suficientes estudios de este medicamento usado frecuentemente para los casos clínicos anteriormente mencionados. Estos hechos dirigieron el interés para evaluar la calidad de algunas marcas de CZP disponibles comercialmente en el mercado peruano con especial énfasis en la desintegración y estudio de disolución debido a su enorme prominencia prediciendo la biodisponibilidad y la calidad del producto. Seis unidades de cada marca se utilizaron para la disolución. Otros parámetros de calidad para las tabletas se realizaron como dureza, friabilidad, variación de peso, tiempo de desintegración, cuantificación

de principio activo y uniformidad de contenido también fueron determinados de acuerdo con los protocolos establecidos. Los resultados de la prueba fueron sometidos a análisis estadísticos para comparar el Perfil de disolución. Modelos de enfoques independientes de factor de diferencia (f_1), factor de similitud (f_2) y Eficiencia de disolución (% ED) también fueron empleados⁽¹³⁾.

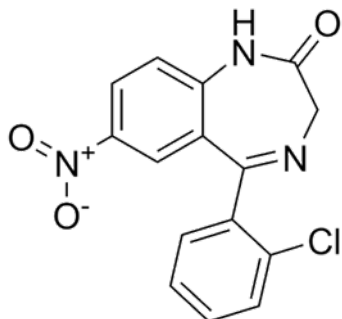


Figura 1. Fórmula estructural del Clonazepam, USP 42.

MÉTODOS

Materiales

Todos los productos químicos utilizados fueron comprados de Merck Company. Las tabletas de Clonazepam 0,5 mg (de fabricación nacional e importado) se compraron en las diferentes boticas autorizadas del mercado local. El estándar de Clonazepam fue adquirido de E. Merck, Darmstadt, Alemania. Las pruebas de cromatografía de líquidos de alto rendimiento se realizaron en un HPLC-20 AT pump, SPD-20 A UV/visible detector (Shimadzu, Japón). Empleando membranas Millipore(0,45) fabricadas en USA. Utilizando equipos para medir la friabilidad, la dureza, el tiempo de desintegración y la disolución como: el medidor de friabilidad (Veego friabilator VFT-2, USA), los aparatos de disolución (TDT-08L, Electrolab, USA), el probador de dureza (8M, Dr. Schleuniger, Switzerland), el aparato de desintegración (Model: VDT-2, Veego USA) y balanza analítica (Model: AY-200, SHIMADZU Corporation, Japan). Se utilizó para medir la variación de los pesos de las tabletas.

Medición de la dureza de las tabletas de Clonazepam (prueba de dureza)

Sobre la base del método publicado en la USP 42, se tomaron por separado 20 tabletas de cada uno de los tipos utilizados en esta investigación Clonazepam innovador (CZPR), Clonazepam multifuente 1 (CZPM1) y Clonazepam multifuente 2 (CZPM2). El grado de dureza de cada tipo se midió mediante el siguiente procedimiento: Poner en funcionamiento el equipo, se seleccionó la unidad de trabajo para la dureza "(kp)" de kilopondios. Al mismo tiempo, la barra medidora se abrió para dar campo a la tableta a ensayar, retirando el protector plástico y colocan-

do la primera tableta entre la barra estacionaria y la barra medidora (movible). La barra medidora movible inició su movimiento horizontal hacia la barra estacionaria de modo que presionó la tableta hasta provocar su ruptura. En ese momento en la pantalla se visualizó el valor de la dureza obtenida de cada tableta. La barra medidora se abre automáticamente, dando el espacio necesario para proceder a limpiar la zona, retirar el protector plástico y con la ayuda de una brocha eliminar la tableta rota. Una vez realizada la limpieza, se colocó la siguiente tableta a ensayar procediendo como se indica desde el segundo punto⁽¹⁴⁾.

Medición de la friabilidad de las tabletas de Clonazepam (prueba de friabilidad).

Sobre la base de los métodos informados en la USP 42, para tabletas con un peso unitario igual o menor a 650 mg, se tomó una muestra de tabletas enteras correspondiente lo más cercano posible a 6,5 g. Para tabletas con un peso unitario mayor a 650 mg, tomar una muestra de 10 tabletas enteras. Debió quitarse el polvo de las tabletas cuidadosamente antes de realizar la prueba. Pesar con exactitud la muestra de tabletas y colocarla en el tambor. Hacer girar el tambor a 25 rpm x 4 minutos y retirar las tabletas. Quitar el polvo suelto de las tabletas como se hizo anteriormente y pesar con exactitud. Cada conjunto de tabletas se colocó simultáneamente en el instrumento Friability Tester. Se calcularon los porcentajes de friabilidad de los comprimidos. Generalmente la prueba se realiza una vez. Si se encuentran tabletas claramente agrietadas, segmentadas o rotas en la muestra de tabletas después de la prueba, se puede decir que no ha pasado la prueba. Para este caso se considera aceptable una pérdida media máxima de peso de la muestra utilizada de no más de 1,0%⁽¹⁴⁾.

Medición del tiempo de desintegración de las tabletas de Clonazepam.

El instrumento estuvo equipado con una canasta que contuvo 6 tubos de extremo abierto con una longitud de 7,5-8 cm y un diámetro de 2,15 cm. Un tamiz de acero inoxidable de malla 10 se puso debajo de los tubos. En un vaso beaker de 1 000 mL de capacidad se colocó el medio de desintegración. El volumen del líquido en el recipiente es tal que, en el punto más alto del recorrido ascendente, la malla de alambre permanece al menos 15 mm por debajo de la superficie del líquido y desciende a no menos de 25 mm del fondo del recipiente, en el recorrido descendente. En ningún momento puede quedar sumergida la parte superior del montaje canastilla-gradilla. Verificar que el medio especificado como líquido de inmersión (agua purificada) este a 37 °C ± 2 °C. Controlar la temperatura del baño de agua manteniendo el termómetro sumergido durante todo el ensayo.

Cada vez, se tomaron seis tabletas al azar de cada grupo de muestra y a cada tubo de vidrio de extremo abierto, se colocó una tableta y se cubrió con una lámina de plástico de 9,35–9,65 mm de espesor y 20,55–20,85 mm de diámetro. La lámina está hecha de un material plástico transparente adecuado, con un peso específico entre 1,18–1,20. Luego, se encendió el instrumento y se registró el tiempo de desintegración de cada tableta. Se determinaron y registraron el tiempo de desintegración mínimo, máximo y promedio de cada tipo de tableta. El tiempo mínimo de desintegración corresponde al momento en que la primera tableta comenzó a desintegrarse y el tiempo máximo de desintegración fue el momento en que la última tableta comenzó a desintegrarse. De acuerdo con la regla general, las seis tabletas recubiertas en agua destilada deben desintegrarse en un período de hasta 15 minutos. Se considera que las muestras se han desintegrado y se registra el tiempo de desintegración cuando: no quedan residuos en la canastilla, los residuos de la muestra (forma farmacéutica sólida evaluada) constituyen una masa blanda sin presencia de contenido (polvo, gránulos, etc.) y cuando quedan fragmentos insolubles del recubrimiento, que permanecen en la canastilla o se adhieren a la superficie del disco⁽¹⁴⁾.

Variación de peso.

Se seleccionaron al azar 20 tabletas de cada uno de los tipos de tabletas y se pesaron con una balanza analítica precisa. De acuerdo con las referencias auténticas, el rango aceptable debe estar dentro del 92,5–107,5% del peso del medio⁽¹⁴⁾.

Preparación de la solución madre.

Pesar con exactitud alrededor de 20 mg de ER Clonazepam (Estándar de Referencia), transferir a un matraz volumétrico de 200 mL, adicionar 50 mL de diluyente, llevar al ultrasonido hasta disolver y llevar a volumen con diluyente. Transferir 10 mL de la solución anterior a un matraz volumétrico de 50 mL, diluir y llevar a volumen con diluyente. Homogeneizar. Filtrar por membrana HVLP de 0,45 µm e inyectar (Concentración aproximada: 0,02 mg/mL de Clonazepam)⁽¹⁴⁾.

Preparación de las soluciones estándar.

Para trazar la curva de calibración, se necesitaron concentraciones de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0 mg/mL. De la solución madre mencionada anteriormente, se tomaron 2, 4, 6, 8 y 10 mL y cada uno se colocó en un matraz volumétrico individual de 10 mL, luego se llevaron a volúmenes exactos de 10 mL agregando la solución de agua purificada: metanol:tetrahidrofurano (60:52:13 V/V) a cada uno de los matraces. Por lo tanto, se obtuvieron soluciones con concentraciones de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0 mg/mL que se usaron para

trazar la curva de calibración e inyección en el instrumento de HPLC⁽¹⁴⁾.

Elaboración de la curva de calibración del estándar.

Para elaborar la curva estándar, se inyectaron 5 veces y cada vez 20 µL de cada una de las soluciones estándar preparadas en el equipo de HPLC desde las concentraciones más bajas a las más altas. Los cromatogramas y los datos relevantes, como el área del pico, la altura del pico, el tiempo de retención, etc., se registraron y guardaron como tablas de informe de pico en el programa del software. Para garantizar la precisión del método de medición de todos los procedimientos para elaborar la curva de calibración se repitieron tres veces. Luego, se trazó la curva de calibración. Sobre la base de la curva de calibración, las muestras desconocidas se inyectaron en el instrumento de HPLC y los cromatogramas se registraron, luego se determinaron las cantidades de activo de las muestras desconocidas⁽¹⁴⁾.

Cuantificación del principio activo.

Tomar no menos de 20 tabletas y moler a polvo fino. Pesar con exactitud alrededor de 3200 mg de muestra (equivalente a 10 mg de Clonazepam), transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, agregar 75 mL de diluyente y llevar a ultrasonido la muestra por 30 minutos con agitación intermitente cada 5 minutos y evitando que se caliente, atemperar y llevar a volumen con diluyente. Homogeneizar y filtrar por membrana HVLP de 0,45 µm e inyectar (Concentración aproximada: 0,1 mg/mL de Clonazepam). Las Tabletadas de Clonazepam 0,5 mg deben contener no menos de 90,0% y no más de 110,0% ($\pm 0,05$ mg) de la cantidad declarada⁽¹⁴⁾.

Uniformidad del contenido.

Se utilizó 10 comprimidos de cada tipo. Para este ensayo se agregó una tableta (equivalente a 0,5 mg de Clonazepam) a un matraz volumétrico de 25 mL, agregar 10 mL de diluyente y agitar manualmente procurando la humectación de la tableta y llevar al ultrasonido por 20 minutos con agitación intermitente cada 5 minutos, atemperar y llevar a volumen con diluyente. Homogeneizar y filtrar por membrana de 0,45 µm e inyectar (Concentración aproximada: 0,02 mg/mL de Clonazepam)⁽¹⁴⁾.

Medición de la velocidad y perfil de disolución.

De acuerdo con las condiciones informadas en la monografía de Clonazepam en la Farmacopea de la USP 42, se usó 900 mL de agua desgasificada como medio de disolución. Las mediciones se realizaron mediante un instrumento de disolución tipo cesta con 75 rpm. La temperatura del medio se ajustó a 37°C $\pm 0,5$ °C. Según la farmacopea de USP 42,

el 75% del ingrediente activo de la tableta debe disolverse en el medio después de 45 minutos. En esta investigación, se colocaron individualmente 6 comprimidos de cada tipo en la canasta especial del instrumento y se midió y calculó la extensión de la velocidad de disolución como porcentaje del ingrediente activo liberado en varios momentos. Después del inicio de la prueba, se extrajo una alícuota de 20 mL del medio de disolución en intervalos de tiempo de 5, 10, 15, 20, 30, 45 y 60 minutos, y se filtró individualmente por membrana de PVDF (hidrófila) de 0,45 µm y de 25 mm. Mientras tanto, después de cada extracción de la alícuota de 20 mL, se añadieron 20 mL de agua desgasificada al medio de disolución para obtener el volumen hasta 900 mL. La cuantificación del fármaco fue realizada a través de método cromatográfico de HPLC. Las condiciones utilizadas para el análisis fueron: fase móvil agua:metanol:acetonitrilo 40:30:30, 20 µL de volumen de inyección, flujo de 1 mL/min, columna C18 4 mm x 30 cm L1, y detector a 254 nm.⁽¹⁴⁾ Se determinó el grado de disolución como el porcentaje liberado del ingrediente activo. Al dividir los mg del posible ingrediente activo de una tableta de Clonazepam (0,5 mg) en el volumen total del medio de disolución (900 mL), se obtuvo una concentración de 11,1 µg/mL. Esta concentración fue considerada como 100% de liberación de fármaco. Al dividir las concentraciones obtenidas a partir de los datos de HPLC para cada tableta individual en los tiempos especificados, se calculó el porcentaje de liberación para cada tableta⁽¹⁴⁾.

Eficiencia de disolución (ED%)

La eficiencia de disolución (ED) se empleó para comparar la liberación del fármaco de las diferentes marcas. La eficiencia de disolución es el área bajo la curva de disolución dentro de un rango de tiempo expresado como un porcentaje de la curva de disolución al máximo durante el mismo período de tiempo. Se puede decir que el medicamento innovador y el producto multifuente son equivalentes si la diferencia entre sus eficiencias de disolución está dentro de los límites apropiados (± 10%, que a menudo se usa)⁽¹⁵⁾.

RESULTADOS

Tabla 1. Dureza promedio (KP) y Velocidad de desintegración (min) de los comprimidos innovador y multifuente de Clonazepam 0,5 mg.

CLONAZEPAM	PRO-MEDIO (KP)	D.S.	PRO-MEDIO (MIN)	D.S.
CZPR	4,4	0,19	5,3	0,10
CZPM1	4,5	0,28	5,5	0,05
CZPM2	4,5	0,28	5,8	0,12

Tabla 2. Peso promedio de los comprimidos innovador y multifuente de Clonazepam 0,5 mg.

CLONAZEPAM	PROMEDIO (mg)	C.V.	D.S.	VARIANZA
CZPR	89,8	1,73%	1,55	2,42
CZPM1	89,9	1,63%	1,46	2,14
CZPM2	90,3	0,87%	0,78	0,61

Tabla 3. Especificación establecida del porcentaje peso perdido después del ensayo de friabilidad según USP 42 para los comprimidos innovador y multifuente de Clonazepam 0,5 mg.

CLO-NAZE-PAM	PESO INICIAL (mg)	PESO FINAL (mg)	% DE PERDIDA	ESPECIFICACIÓN USP 42	CUMPLE
CZPR	6652,0	6638,7	0,20	% DE PERDIDA < 1%	SI
CZPM1	6749,1	6714,3	0,52		SI
CZPM2	6697,3	6670,2	0,40		SI

Tabla 4. Porcentaje promedio del contenido de principio activo según lo declarado (%) y Porcentaje promedio de la cantidad disuelta de 6 tabletas para establecer la velocidad de disolución (Q%) de los comprimidos innovador y multifuente de Clonazepam 0,5 mg.

CLONAZEPAM	PROMEDIO (%)	D.S.	Q% (PROMEDIO)	D.S.
CZPR	101,81	0,39	99	1,21
CZPM1	100,13	0,39	100	1,05
CZPM2	99,87	0,28	99	1,03

Tabla 5. Factor de Diferencia (f1) y Factor de similitud (f2) de CZPR con los CZPM1 y CZPM2.

f1	CZPM1	CZPM2
CZPR	7,86	4,45
f2	CZPM1	CZPM2
CZPR	58,40	69,96

Tabla 6. Perfil de disolución y Eficiencia de disolución (ED%) del CZPR, CZPM1 y CZPM2.

TIEMPO	CZPR		CZPM1		CZPM2	
	MEDIA	D.S.	MEDIA	D.S.	MEDIA	D.S.
0	0	0	0	0	0	0
5	77,01	10,02	83,00	5,49	92,48	6,82
10	85,78	10,08	93,57	5,01	105,97	1,42
15	90,13	10,37	98,75	4,41	108,44	1,99
20	92,32	11,68	100,36	4,00	108,68	1,83
30	94,60	11,19	101,23	3,38	108,07	1,82
45	96,67	11,32	103,43	4,51	108,35	1,67
60	97,43	10,92	103,25	3,60	107,21	1,57
ED%	88,67		95,36		92,66	

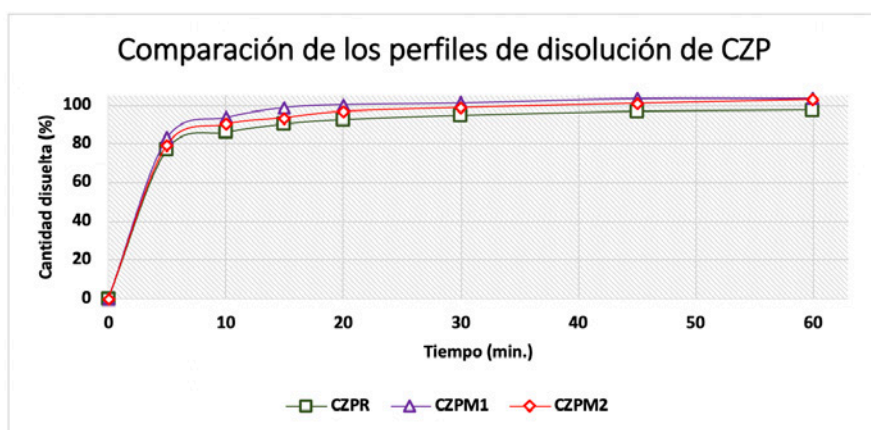


Figura 2. Perfil de disolución de tabletas de Clonazepam 0,5 mg. innovador y multifuente. (CZPR, CZPM1 y CZPM2).

DISCUSIÓN

Los estudios de bioequivalencia *in vitro* están constituidos por estudios comparativos de perfiles de disolución y pruebas fisicoquímicas, en donde se determina la cantidad o porcentaje del principio activo disuelto en función del tiempo bajo condiciones controladas y validadas. Para productos farmacéuticos altamente solubles, y altamente permeables, la bioequivalencia *in vitro* (estudios de disolución) es apropiada y considerada como criterio necesario y suficiente para comparar los medicamentos innovador y multifuentes. El uso de estas técnicas ha permitido no exigir bioequivalencia *in vivo* para un número importante de medicamentos⁽¹⁶⁾.

Todas las tabletas de Clonazepam 0,5 mg utilizadas en esta investigación estaban dentro de su vida útil de 3 años a partir de la fecha de fabricación. Los comprimidos fueron sometidos a una serie de pruebas para evaluar los parámetros de calidad. No se encontraron anomalías en la apariencia física de las muestras de diferentes marcas.

Las muestras obtenidas del mercado local fueron sometidas a una serie de pruebas para evaluar los parámetros de calidad. La prueba de dureza del material es indicativa de su resistencia. La característica física más importante para evaluar la tableta es la dureza⁽¹⁷⁾. El límite aceptable de dureza de una tableta es de 5 a 8 Kp. Además, una fuerza entre 4 y 10 Kp también se considera satisfactoria⁽¹⁸⁾. Se determinó la dureza de las diferentes tabletas de Clonazepam y estaba entre 4,4 y 4,5 Kp que cumple con la especificación USP (Tabla 1).

El tiempo de desintegración de las tabletas de Clonazepam 0,5 mg se muestra en la Tabla 1. Ninguna de las muestras excedió la especificación del tiempo de desintegración que estaba entre 5,3 y 5,8 min.

La prueba de variación de peso es un método satisfactorio para determinar la uniformidad del contenido del medicamento de las tabletas y sirve como un indicador de las buenas prácticas de manufactura (BPM) mantenidas por los fabricantes, así como la cantidad de ingrediente farma-

céutico activo (IFA) contenido en la formulación⁽¹⁹⁾. La variación de peso para todas las tabletas utilizadas en este estudio mostró cumplimiento dentro de las especificaciones oficiales, ya que ninguno de los productos se desvió de la especificación. Cuando la variación de peso está dentro de las especificaciones, se cree que las tabletas contienen un ingrediente activo uniforme para dar la respuesta terapéutica deseada, pero cuando la variación de peso está fuera de la especificación, se piensa que las tabletas contienen menos o más ingrediente activo para dar una respuesta terapéutica ineficaz o efecto tóxico respectivamente. Puede variar debido al resultado de las deficientes propiedades de flujo de granulación, lo que resulta en un relleno desigual de la matriz⁽¹⁸⁾. Se observó que todas las marcas cumplen con la especificación USP que estaba entre $89,8 \text{ mg} \pm 1,55\%$, $89,9 \text{ mg} \pm 1,46\%$ y $90,3 \text{ mg} \pm 0,78\%$ (Tabla 2).

Los resultados de la prueba de friabilidad son inferiores al 1%, y según la farmacopea, el límite es del 1% del peso inicial de las tabletas, por lo que todas las tabletas de Clonazepam 0,5 mg pasaron a la prueba de friabilidad, lo que significa que todas estas marcas de tabletas de Clonazepam tienen buena resistencia y puede tolerar los golpes durante el transporte de las mismas (Tabla 3).

Los resultados de las pruebas de dosaje de todas las marcas fueron de entre 99,87 y 101,81% que cumplen con la especificación USP 42 para la prueba de ensayo (Tabla 4).

Se determinó la velocidad de disolución de las diferentes tabletas de Clonazepam 0,5 mg. La especificación USP es mayor a 85% de la cantidad declarada, los resultados mostrados en la tabla 4 indican que la disolución entre el 99 y 100% se encuentra dentro de lo establecido por la farmacopea.

Para comparar los perfiles de disolución de las tabletas, se empleó un enfoque independiente del modelo de factor de diferencia (f_1) y factor de similitud (f_2).

El factor de diferencia (f_1) es el porcentaje de diferencia entre dos curvas en cada punto y es una medida del error relativo entre las dos curvas. El factor de similitud (f_2) es una transformación de raíz cuadrada recíproca logarítmica de la suma del error al cuadrado y es una medida de la similitud en el porcentaje (%) de disolución entre dos curvas⁽¹⁹⁾. La Tabla 5 muestra los valores f_1 y f_2 de diferentes marcas con respecto a la marca innovadora elegida.

En el cálculo de f_2 , generalmente solo se considera una medición después de que el producto comparador haya alcanzado el 85% de disolución.

Los valores para f_2 son más de 50 y todos los valores de f_1 son menos de 15. Por lo tanto, podemos decir que todas las marcas son equivalentes con el producto innovador (Tabla 5).

La eficiencia de disolución (ED) también se empleó para comparar la liberación del fármaco del medicamento innovador y multifuentes. La eficiencia de disolución es el área bajo la curva de disolución dentro de un rango de tiempo. Algunos estudios de bioequivalencia indican que cuando la diferencia de eficiencia de disolución del medicamento innovador con el multifuente no difiere de $\pm 10\%$ se consideran como equivalentes^(20,21). La ED de los multifuentes no difirió en 10% con la marca innovadora. Entonces, podemos decir que todos los medicamentos multifuentes en estudio son equivalentes a la marca innovadora.

Los resultados del estudio del perfil de disolución muestran que las diferentes marcas liberan aproximadamente el 100% del medicamento en una hora. Todas liberan más del 70% del principio en 5 minutos (Tabla 6), lo que significa que el principio activo, se disuelve rápidamente en estas marcas. Los datos demuestran que el estudio de disolución de Clonazepam cumple con los estándares de la farmacopea y al no existir diferencia significativa en los diferentes tiempos de muestreo, nos permiten establecer que pueden intercambiarse los medicamentos multifuente de Clonazepam con el innovador (Figura 2).

CONCLUSIONES

En la práctica industrial actual, para comparar el medicamento innovador con los multifuentes, las pruebas in vitro juegan un papel importante. Esta investigación revela que no hay diferencias notables en los parámetros de calidad de los productos investigados. Los datos presentados demuestran que los multifuentes de Clonazepam 0,5 mg comparados con el innovador cumplen con los parámetros de bioequivalencia e intercambiabilidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jiménez L, Rodríguez Y. Determinación de una técnica selectiva por cromatografía en capa fina para identificación de benzodiazepinas [Pregrado]. Universidad Norbert Wiener; 2017. 10 p.
2. FDA - Food and Drug Administration U.S. Food & Drug Administration: Guía para la Industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata. [Internet]. Centro de Evaluación e Investigación de Drogas. Guidances (Drugs).1997. [citado 10 dic 2019] Disponible en: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guia-para-la-industria-pruebas-de>

- disolucion-de-formas-de-dosificacion-oral-solidas-de-liberacion.
3. Comparability Protocols for Human Drugs and Biologics [Internet]. FDA - Food and Drug Administration U.S.: Guidance for Industry Guidance for Industry Contains Nonbinding Recommendations. 2016. [citado 12 dic 2019]. Disponible en: <http://www.fda.gov/CombinationProducts/default.htm>
 4. Amidon G, Lennernäs H, et al. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo. *AAPS J*. 1995;12(1):413-420.
 5. Fatima S, Jamil S, et al. In-vitro dissolution testing for therapeutic equivalence of metronidazole immediate release tablets available in Karachi, Pakistan. *Int J Pharm Sci Res*. 2017; 8(7): 3133-37.
 6. Iriarte, R. Desarrollo de Medios de Disolución Biorrelevantes para Fármacos con Problemas de Bioequivalencia [Pregrado]. Universidad Miguel Hernández, España, 2015. 1-37.
 7. Segura Campos, L. "Medicamentos Genéricos: Su Importancia Económica En Los Sistemas Públicos de Salud y La Necesidad de Estudios in Vitro Para Establecer Su Bioequivalencia". *Pensamiento Actual*. 2017; 17(28): 119-131.
 8. Amidon L, Hans L, Vinod P, et al. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *AAPS J*. 1995; 12(3): 413-20.
 9. Granero L and Polache A. Absorption of Drugs after Oral Administration. *Int Pharm Sci Encyclopedia*. 2010.
 10. Ono A and Kiyohiko S. Application of the BCS Biowaiver Approach to Assessing Bioequivalence of Orally Disintegrating Tablets with Immediate Release Formulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2014; 64(11): 37-43.
 11. Shah P, Flavian S, et al. Commonality between BCS and TCS. *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier 2016: 509 (2): 35-40.
 12. Baishya H, Gogoi B, Bordoloi D, Gogoi P. In-vitro evaluation of two marketed brands of dexamethasone tablets IP as per Indian pharmacopoeia. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2018; 3(1): 197-201.
 13. Domínguez V, Collares M, et al. Uso racional de benzodiazepinas: hacia una mejor prescripción. *Rev Urug Med Int*. 2016; 1(3): 14-24.
 14. Farmacopea de los Estados Unidos de América, Formulario Nacional, USP, USP 42-NF 37, The Pharmacopeial Convention, United Book Press, Baltimore, 2019.
 15. R. Kalakuntla U, Veerlapati M, Chepuri R. Effect of various super disintegrants on hardness, disintegration and dissolution of medicine from dosage form. *J Adv Sci Res*. 2010; 1(1):15.
 16. World Health Organization. Proposal to Waive the In Vivo Bioequivalence Requirements for the Model List of Essential Medicines Immediate Release, Solid Oral Dosage Forms. In WHO Expert Committee On Specifications for Pharmaceutical Preparations. Fortieth Report. Technical Report Series N° 937. Annex 8. Geneva: World Health Organization; 2006.p.391- 437.
 17. Karmakar P and Golam K. In-Vitro Comparative Evaluation of Quality Control Parameters between Paracetamol and Paracetamol/Caffeine Tablets Available in Bangladesh. *Int C Pharm J Online (JOL)*. 2012; 103-9.
 18. Musa H, Sule Y, Gwarzo M. Assessment of physicochemical properties of metronidazole tablets marketed in Zaria, Nigeria. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2011; 3:27-29.
 19. Murtha J, Julian T, Radebaugh G. Simultaneous determination of pseudoephedrine hydrochloride, chlorpheniramine maleate, and dextromethorphan hydrobromide by second-derivative photodiode array spectroscopy. [Determinación simultanea de clorhidrato de pseudoefedrina, maleato de clorfenamina e bromhidrato de dextrometorfano mediante espectroscopia de matriz de fotodiodos]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1988; 77(8):715-718.
 20. Kostag K, Teixeira M, Costa M, De Almeida T, El Seoud O. Assessing cellulose dissolution efficiency in solvent systems based on a robust experimental quantification protocol and enthalpy data. *Holzforchung*. 2019; 73(12):1103-1112.
 21. Manali D, PrajapataShital B, ButaniaMukesh C, Gohel B. Liquefied: A promising technique to improve dissolution efficiency and bioavailability of poorly water soluble nimodipine. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2019; 53:1773-2247.