

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS AMÉRICAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA DE FARMACIA**



**TÍTULO**

**“ANÁLISIS DE LA BIOEQUIVALENCIA IN VITRO DE LAS CAPSULAS DE 300 mg DE UN PRODUCTO GENÉRICO DE GABAPENTINA COMPARADO CON EL PRODUCTO DE REFERENCIA APROBADO OFICIALMENTE POR EL MINISTERIO DE SALUD DE COSTA RICA A PARTIR DE LOS PERFILES DE DISOLUCIÓN POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC) EN UN LABORATORIO FARMACÉUTICO NACIONAL DE CALIDAD DURANTE EL II CUATRIMESTRE DEL 2023”**

**Nombre del estudiante:**

**Emmanuel Castro Rodríguez**

**Tutor:**

**Brayan Murillo Castillo**

**Año 2023**

**Modalidad de tesis para optar por el grado de Licenciatura en Farmacia**

## **I. Resumen:**

En la presente investigación se realizó una comparación por perfiles de disolución entre dos productos farmacéuticos equivalentes terapéuticos de cápsulas de Gabapentina 300 mg, utilizando como *producto original* de referencia, establecido por el Ministerio de Salud de Costa Rica, Neurontin® 300 mg del laboratorio Pfizer Puerto Rico, y un *producto genérico* de la misma forma farmacéutica como la contraparte; realizando un análisis estadístico de los resultados, es posible determinar si existe una similitud tal, que ambos productos puedan considerarse bioequivalentes in vitro.

Se utilizó la monografía oficial de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) como guía para establecer los parámetros del método analítico a utilizar y la técnica instrumental utilizada fue Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) con detector ultravioleta - visible, para la obtención de los resultados.

Inicialmente se realizó una caracterización de ambos medicamentos mediante pruebas de control de calidad según la farmacopea USP (ensayo, uniformidad de unidades de dosificación y ensayo de desempeño o disolución), ambos medicamentos obtuvieron resultados muy satisfactorios y se consideran aceptables en todas las pruebas.

Posteriormente se realizó una verificación del método analítico, utilizando tres medios de disolución diferentes, a distintos valores de pH, que son los utilizados en los perfiles de disolución. En todos los casos la verificación del método entregó resultados aceptables.

Se culmina con la realización de los perfiles de disolución, en tres medios de disolución diferentes, a 12 unidades de ambos medicamentos, con muestreos a los 5, 10, 15, 20, 30, 40 y 60 minutos, y tras un análisis de los resultados, se determina que el medicamento genérico no puede considerarse como bioequivalente in vitro.

## **II. Agradecimientos**

*Agradezco a Dios, que me permitió la oportunidad de culminar un proceso de estudio y formación profesional en Licenciatura en Farmacia.*

*A mis padres, por su apoyo incondicional durante tantos años.*

*A la Caja Costarricense de Seguro Social por facilitar insumos y equipos para llevar a cabo este proyecto.*

*A mi tutor, el Dr. Bryan Murillo Castillo, por su paciencia y sus consejos durante todo el camino investigativo y por depositar su confianza en mí y en este proyecto.*

*A mis compañeros, amigos y colegas laboratoristas químicos, cuyo consejo y experiencia sirvieron de base para llevar a cabo esta investigación.*

*A mis profesores, que aportaron inmensurable conocimiento durante todo el proceso de formación y alimentaron el deseo de investigación y curiosidad científica a lo largo de la carrera.*

### **III. Dedicatoria**

*Dedico esta investigación a todos los y las pacientes de la Caja Costarricense de Seguro Social, que cuentan con el principio de universalidad y solidarismo de la institución para sobrellevar las situaciones más difíciles, en momentos de enfermedad y flaqueza.*

*A mis padres, que han estado incondicionalmente a mi lado en cada paso del proceso, por ser un ejemplo a seguir y por impulsar mis deseos de formación y superación.*

#### **IV. Tabla de contenidos**

CAPITULO I – INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Introducción.....	2
1.2 Planteamiento del problema.....	3
1.3 Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo General.....	5
1.3.2 Objetivos Específicos .....	5
1.4 Justificación .....	6
1.5 Antecedentes .....	8
1.5.1 Antecedentes Históricos.....	8
1.5.2 Antecedentes Internacionales.....	11
1.5.3 Antecedentes Nacionales .....	12
CAPÍTULO II – MARCO TEÓRICO .....	14
2.1 Producto farmacéutico de marca.....	15
2.2 Producto farmacéutico genérico. ....	15
2.3 Medicamentos equivalentes terapéuticos.....	16
2.4 Bioequivalencia. ....	17
2.5 Bioequivalencia in vitro.....	18
2.6 Perfiles de disolución.....	18
2.7 Factores de diferencia f1 y f2. ....	19
2.8 Marco Legal sobre bioequivalencia en Costa Rica.....	20
2.9 Medicamentos anticonvulsivantes. ....	22
2.10 Gabapentina. ....	23

2.11 Laboratorio farmacéutico de calidad. ....	24
2.12 Control de Calidad Físicoquímico de productos farmacéuticos. ....	24
2.13 Metodología analítica. ....	25
2.13.1 Optimización de métodos analíticos. ....	26
2.13.2 Estudio estadístico de homocedasticidad. ....	27
2.13.3 Friabilidad de métodos analíticos. ....	28
2.14 Cromatografía líquida de alta eficiencia. ....	29
2.14.1 Fase móvil en pruebas de cromatografía líquida de alta eficiencia. ....	29
2.14.2 Pico cromatográfico. ....	30
2.14.4 Eficiencia de la columna cromatográfica. ....	32
2.15 Ensayo de disolución de medicamentos sólidos. ....	33
2.15.1 Medios de disolución. ....	35
2.16 Concentración de sustancias representada como masa / volumen. ....	36
2.17 Solución de estándar primario. ....	37
2.18 Curvas de calibración en análisis de cromatografía de alta eficiencia. ....	38
<b>CAPÍTULO III – MARCO METODOLÓGICO</b> .....	<b>41</b>
3.1 Enfoque de la investigación. ....	42
3.2 Tipo de investigación. ....	43
3.3 Fuentes de Información. ....	43
3.4 Criterios de búsqueda de la información. ....	44
3.5 Criterios de Inclusión y criterios de exclusión. ....	45
3.6 Instrumentos analíticos a utilizar para el desarrollo del proyecto. ....	46
3.7 Procedimiento para realizar las pruebas de evaluación de la calidad de los medicamentos. ....	47
3.7.1 Condiciones analíticas para la prueba de desempeño (disolución). ....	47
3.7.2 Preparación del medio de disolución. ....	50

3.7.3 Preparación de la fase móvil para el análisis del ensayo de disolución por HPLC. .....	50
3.7.4 Preparación de las muestras de disolución para el análisis por HPLC. ....	51
3.7.5 Preparación de solución estándar para el análisis por HPLC. ....	52
3.7.6 Preparación y acondicionamiento del equipo HPLC para análisis de la prueba de disolución. ....	52
3.7.7 Cálculo de los resultados del análisis de prueba de disolución por HPLC. ....	53
3.7.8 Condiciones para la prueba de ensayo (valoración promedio). ....	53
3.7.9 Preparación del diluyente para la prueba de ensayo. ....	55
3.7.10 Preparación de la solución muestra para la prueba de ensayo (valoración promedio). ....	55
3.7.11 Preparación de la solución estándar para la prueba de ensayo (valoración promedio). ....	56
3.7.12 Preparación de la fase móvil para el análisis de la prueba de ensayo por HPLC. .....	56
3.7.13 Preparación y acondicionamiento del equipo HPLC para análisis de la prueba de ensayo. ....	57
3.7.14 Cálculo de los resultados del análisis de la prueba de ensayo por HPLC. ....	57
3.7.15 Condiciones para la prueba de uniformidad de unidades de dosificación. ....	58
3.8 Procedimiento de verificación de métodos analíticos. ....	64
3.8.1 Preparación del medio de pH 1,2. ....	65
3.8.2 Preparación del medio de pH 4,5. ....	65
3.8.3 Preparación del medio de pH 6,8. ....	66
3.8.4 Preparación de la curva de calibración para verificación del método. ....	66
3.8.5 Preparación de las muestras a utilizar en la verificación del método analítico. ..	67
3.9 Procedimiento para realización de los perfiles de disolución. ....	68
3.9.1 Preparación del medio de pH 1,2. ....	68
3.9.2 Preparación del medio de pH 4,5. ....	68
3.9.3 Preparación del medio de pH 6,8. ....	69
3.9.4 Realización de las pruebas de disolución para determinación de bioequivalencia in vitro. ....	69

3.10 Procedimiento de evaluación de perfiles de disolución.....	70
<b>CAPÍTULO IV - ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS .....</b>	<b>71</b>
4.1 Análisis de los resultados obtenidos en la caracterización de los medicamentos y las pruebas de control de calidad.....	72
4.1.1 Análisis de los resultados obtenidos de la valoración promedio del producto original.....	72
4.1.2 Análisis de los resultados obtenidos de la prueba de uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso del producto original.....	76
4.1.3 Análisis de los resultados obtenidos del ensayo de disolución del producto original.....	81
4.1.4 Análisis de los resultados obtenidos de la valoración promedio del producto genérico.....	85
4.1.5 Análisis de los resultados obtenidos de la prueba de uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso del producto genérico.....	87
4.1.6 Análisis de los resultados obtenidos de la prueba de disolución del producto genérico.....	89
4.2 Análisis de los resultados obtenidos de la verificación del método analítico para la evaluación de los perfiles de disolución.....	91
4.2.1 Análisis de la linealidad y repetibilidad para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 1,2 de ácido clorhídrico y cloruro de potasio como diluyente.....	92
4.2.2 Análisis de la exactitud para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 1,2 de ácido clorhídrico y cloruro de potasio como diluyente.....	99
4.2.3 Análisis de la precisión para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 1,2 de ácido clorhídrico y cloruro de potasio como diluyente.....	104
4.2.4 Análisis de la linealidad y repetibilidad para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 4,5 de acetato de sodio y ácido acético como solución diluyente.....	105
4.2.5 Análisis de la exactitud para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 4,5 de acetato de sodio y ácido acético como solución diluyente.....	112

4.2.6 Análisis de la precisión para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 4,5 de acetato de sodio y ácido acético como solución diluyente. ....	116
4.2.7 Análisis de la linealidad y repetibilidad para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 6,8 de fosfato de potasio monobásico e hidróxido de sodio como solución diluyente. ....	117
4.2.8 Análisis de la exactitud para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 6,8 de fosfato de potasio monobásico e hidróxido de sodio como solución diluyente. ....	122
4.2.9 Análisis de la precisión para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 6,8 de fosfato de potasio monobásico e hidróxido de sodio como solución diluyente. ....	125
4.2.10 Análisis del resultado de los perfiles de disolución aplicados a ambos medicamentos en tres medios de disolución con diferente valor de pH.....	126
CAPÍTULO V- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	139
CAPÍTULO VI- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	144
CAPÍTULO VII- ANEXOS.....	160

## V. Lista de tablas

Tabla 1. Criterios de búsqueda utilizados según objetivo.....	44
Tabla 2. Criterios de exclusión y criterios de inclusión para la selección de artículos científicos.....	46
Tabla 3. Equipos analíticos utilizados para la elaboración del proyecto de investigación. ..	47
Tabla 4. Condiciones del método para la determinación de la prueba de desempeño.....	48
Tabla 5. Condiciones específicas del equipo HPLC para la determinación de la prueba de desempeño. ....	48
Tabla 6. Reactivos químicos necesarios para la elaboración de la prueba de desempeño....	49
Tabla 7. Condiciones del método para la prueba de ensayo (valoración promedio). ....	53
Tabla 8. Condiciones específicas del equipo HPLC para la prueba de ensayo. ....	54
Tabla 9. Reactivos químicos necesarios para la elaboración de la prueba de ensayo.....	54
Tabla 10. Lista de reactivos químicos a utilizar para la preparación de los medios de disolución en perfiles de disolución.....	64
Tabla 11. Medios de disolución a utilizar en la prueba de perfiles de disolución. ....	65
Tabla 12. Especificaciones para la preparación de la curva de calibración a utilizar para la verificación del método analítico.....	67
Tabla 13. Preparación de muestras enriquecidas para verificación del método analítico.....	68
Tabla 14. Resultados obtenidos de la valoración promedio del producto original por HPLC. ....	73
Tabla 15. Condiciones para el cálculo del valor de aceptación para la prueba de uniformidad de unidades de dosificación según USP. ....	77

Tabla 16. Resultados obtenidos de la prueba uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso de las cápsulas de Gabapentina 300 mg.....	80
Tabla 17. Resumen de resultados obtenidos de la prueba de uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso.....	81
Tabla 18. Criterios de aceptación para los diferentes etapas del ensayo de disolución de productos de liberación inmediata. ....	82
Tabla 19. Resultados obtenidos del ensayo de disolución del producto original. ....	84
Tabla 20. Resultados obtenidos de la prueba de disolución del producto original por HPLC. ....	84
Tabla 21. Resultados obtenidos de la valoración promedio del producto genérico por HPLC. ....	86
Tabla 22. Resultados obtenidos de la prueba de uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso de las cápsulas genéricas de Gabapentina 300 mg. ....	88
Tabla 23. Resumen de resultados obtenidos de la prueba de uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso del producto genérico.....	88
Tabla 24. Resultados obtenidos de la prueba de disolución del producto genérico.....	90
Tabla 25. Resultados obtenidos de la prueba de disolución del producto genérico por HPLC. ....	90
Tabla 26. Información relacionada a la preparación del estándar madre para preparación de la curva de calibración. ....	93
Tabla 27. Valores de áreas de la curva 1 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.....	93
Tabla 28. Valores de áreas de la curva 2 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.....	94

Tabla 29. Valores de áreas de la curva 3 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.....	94
Tabla 30. Valores de áreas y concentración de los patrones de la curva de calibración. ....	95
Tabla 31. Resumen de resultados para el análisis de exactitud del método en medio de pH 1,2. ....	100
Tabla 32. Resultados estadísticos del análisis de exactitud del método en medio de pH 1,2. ....	101
Tabla 33. Resultados de la evaluación de precisión del método en medio de pH 1,2. ....	104
Tabla 34. Información relacionada a la preparación del estándar madre para preparación de la curva de calibración. ....	105
Tabla 35. Valores de áreas de la curva 1 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.....	106
Tabla 36. Valores de áreas de la curva 2 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.....	106
Tabla 37. Valores de áreas de la curva 3 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.....	107
Tabla 38. Valores de áreas y concentración de los patrones de la curva de calibración. ....	107
Tabla 39. Resumen de resultados para el análisis de exactitud del método en medio de pH 4,5. ....	113
Tabla 40. Resultados estadísticos del análisis de exactitud del método en medio de pH 4,5. ....	114
Tabla 41. Resultados de la evaluación de precisión del método en medio de pH 4,5. ....	116
Tabla 42. Información relacionada a la preparación del estándar madre para preparación de la curva de calibración. ....	117

Tabla 43. Valores de áreas de la curva 1 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.....	118
Tabla 44. Valores de áreas de la curva 2 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.....	118
Tabla 45. Valores de áreas de la curva 3 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.....	119
Tabla 46. Valores de áreas y concentración de los patrones de la curva de calibración. ....	120
Tabla 47. Resumen de resultados para el análisis de exactitud del método en medio de pH 6,8. ....	123
Tabla 48. Resultados estadísticos del análisis de exactitud del método en medio de pH 6,8. ....	124
Tabla 49. Resultados de la evaluación de precisión del método en medio de pH 6,8. ....	125
Tabla 50. Resumen de resultados del perfil de disolución utilizando un medio de disolución de pH 1,2.....	130
Tabla 51. Resumen de resultados del perfil de disolución utilizando un medio de disolución de pH 4,5.....	133
Tabla 52. Resumen de resultados del perfil de disolución utilizando un medio de disolución de pH 6,8.....	135
Tabla 53. Resumen de resultados de verificación del método en cada medio de disolución. ....	140
Tabla 54. Resumen de resultados de factores f1 y f2 para los perfiles de disolución.....	141

## **VI. Lista de ilustraciones**

Ilustración 1. Estructura molecular de Gabapentina <sup>49</sup> .....	24
Ilustración 2. Equipo de HPLC marca Shimatzu, modelo LC-2030 Plus <sup>82</sup> .....	49
Ilustración 3. Aparato de disolución marca Hanson, modelo Vision G2 Elite 8 <sup>83</sup> .....	51
Ilustración 4. Corridas cromatográficas de las muestras de valoración promedio de producto original de cápsulas de Gabapentina 300 mg.....	76

## VII. Lista de gráficos

Gráfico 1. Ecuación de la recta para determinación de linealidad y repetibilidad para el buffer de pH 1,2. ....	96
Gráfico 2. Evaluación de residuales para la curva de calibración de pH 1,2.....	97
Gráfico 3. Ecuación de la recta para determinación de linealidad y repetibilidad para el buffer de pH 4,5.....	108
Gráfico 4. Evaluación de residuales para la curva de calibración de pH 4,5.....	109
Gráfico 5. Ecuación de la recta para determinación de linealidad y repetibilidad para el buffer de pH 6,8. ....	120
Gráfico 6. Evaluación de residuales para la curva de calibración de pH 6,8.....	121
Gráfico 7. Porcentajes disueltos en función del tiempo para el perfil de disolución con medio de pH 1,2.....	131
Gráfico 8. Porcentajes disueltos en función del tiempo para el perfil de disolución con medio de pH 4,5.....	134
Gráfico 9. Porcentajes disueltos en función del tiempo para el perfil de disolución con medio de pH 6,8.....	136



## **CAPITULO I – INTRODUCCIÓN**

## 1.1 Introducción

En el presente proyecto de investigación se pretende optimizar una metodología analítica para realizar una comparación entre cápsulas de Gabapentina genéricas que contiene 300 mg de principio activo, con su producto de referencia original establecido por el Ministerio de Salud de Costa Rica, mediante el uso de la prueba de disolución y la técnica analítica de cromatografía líquida de alta presión (HPLC), la comparación se desarrolla en las instalaciones de un laboratorio de control de calidad de medicamentos nacional. Se utilizan muestras de un producto genérico importado y el medicamento de marca Neurontin® 300 mg definido por el Ministerio de Salud como referencia oficial.

El desarrollo de perfiles de disolución debe realizarse de manera que simule las condiciones fisiológicas de los pacientes, de manera que, se evalúa el desempeño de los medicamentos a tres valores de pH diferentes, uno con características ácidas, un pH intermedio y uno con valores alcalinos. Según el Ministerio de Salud de Costa Rica, se deben realizar mediciones de muestras para los fármacos de liberación inmediata a los tiempos 10, 15, 20, 30, 45 y 60 minutos<sup>1</sup>. Para la evaluación de la conformidad de las pruebas de disolución, se utiliza como referencia la monografía oficial de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), tanto para las pruebas de valoración promedio, como la prueba de ensayo de disolución.

La optimización del método analítico se realiza mediante una verificación de los parámetros más importantes a evaluar, como la linealidad del método y del sistema, exactitud, repetibilidad y robustez del método; lo que garantiza la confiabilidad de los resultados y cumplir con los requisitos solicitados por el Ministerio de Salud de Costa Rica<sup>2</sup>.

Esta investigación sirve de complemento evaluativo en el proceso de compra de medicamentos del Seguro Social costarricense, que puede aportar una justificación para que se exija a los proveedores del mercado nacional, cumplir con estándares más rigurosos y demostrar que los medicamentos genéricos que se adquieren, no tienen deficiencias en cuanto su acción terapéutica y tienen un mejor perfil de efectos secundarios.

## 1.2 Planteamiento del problema

En este apartado, se realiza un análisis sobre la problemática que envuelve los procesos de bioequivalencia de medicamentos genéricos contra los medicamentos de referencia o de marca, que permite a los pacientes e instituciones adquirir medicamentos más asequibles con la garantía de que se tendrán efectos terapéuticos equivalentes como los que se obtienen con los medicamentos de marca.

La Gabapentina se lanzó al mercado en 1993 y está aprobada por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) como fármaco anticonvulsivo para el tratamiento de las convulsiones de inicio parcial en adultos con o sin convulsiones generalizadas continuas<sup>3</sup>. Existen diferentes formas farmacéuticas como cápsulas, tabletas y soluciones orales, que se usan en combinación con otros medicamentos para tratar las convulsiones en pacientes epilépticos. Además, se puede utilizar como tratamiento para el dolor de la neuralgia postherpética. En pacientes diagnosticados con epilepsia, se ha demostrado que se produce un aumento en los niveles del neurotransmisor GABA en el cerebro humano, posiblemente a través de cambios en la síntesis de GABA o la reversión de los transportadores neuronales de GABA, lo que conduce a la liberación no vesicular del neurotransmisor GABA. Aunque no se tiene muy claro su mecanismo de acción, la gabapentina parece unirse a las proteínas transportadoras de aminoácidos y actuar sobre receptores únicos a nivel cerebral<sup>4</sup>.

Desde su introducción al mercado, su uso ha sido ampliamente difundido. Según un estudio realizado en 2002 por la FDA, alrededor del 95 % de los pacientes que toman gabapentina lo hacen para tratar una afección para la cual la agencia reguladora aún no ha aprobado su uso<sup>3</sup>. Comúnmente, su uso no aprobado incluye el tratamiento de ansiedad generalizada y trastornos de ansiedad social, además la gabapentina ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la depresión y como tratamiento adyuvante en el síndrome de abstinencia al alcohol en pacientes en proceso de deshabitación<sup>3</sup>.

En Costa Rica, esta droga es utilizada desde el año 2004, y su uso en la Caja Costarricense de Seguro Social está regulado por la Normativa del Comité Central de Farmacoterapia de la institución, donde se aprobó su empleo en dolor neuropático y epilepsia. Desde ese entonces sus indicaciones han cambiado y en la actualidad, su uso se encuentra aprobado para tratar neuralgia postherpética como cuarta línea de tratamiento tras la utilización de analgésicos no narcóticos, AINES, antidepresivos tricíclicos y anticonvulsivantes; y en epilepsia refractaria luego de haber agotado las alternativas terapéuticas disponibles en la lista oficial de medicamentos<sup>3</sup>.

La presente investigación pretende obtener un resultado de la comparación del medicamento genérico comercializado en Costa Rica, contra el medicamento de marca Neurontin ® 300 mg, para determinar si son bioequivalentes terapéuticos de manera in vitro.

Debido a que el uso de este medicamento ha ido en aumento desde su introducción al mercado y en la Caja Costarricense de Seguro Social se utiliza como alternativa terapéutica para algunas patologías fuera de su aprobación oficial, según la Lista Oficial de Medicamentos<sup>3</sup>; es de vital importancia establecer un criterio farmacológico que permita conocer si existe o no, una diferencia significativa entre ambas marcas de medicamentos.

Siguiendo los lineamientos del Ministerio de Salud de Costa Rica, se realiza una verificación del método analítico y se realizan los perfiles de disolución con diferentes medios de disolución, lo que permite calcular la diferencia por medio de los factores de diferencia  $f_1$  y similitud  $f_2$ , mediante análisis estadísticos de los resultados.

Estas diferencias entre los medicamentos son muy importantes, debido a que tendrán un impacto directo en la acción terapéutica del medicamento in vivo. La velocidad de disolución de un fármaco administrado por vía oral es un requisito previo fundamental, para que se dé la absorción y la molécula pueda situarse en el tejido diana; además, las propiedades fisicoquímicas del principio activo, los excipientes utilizados y las técnicas y pasos utilizados durante el desarrollo de su formulación impactan en el proceso de liberación in vitro del fármaco. Los medicamentos genéricos deben demostrar mediante estudios tanto in vivo como

in vitro, que tienen la capacidad de comportarse como el medicamento de marca, que entregan la misma cantidad de ingrediente activo al momento de su ingesta por vía oral, y se sabe que la disolución del medicamento es el paso limitante durante el proceso de absorción<sup>5</sup>.

La comparación de los perfiles de disolución puede determinar el porcentaje del ingrediente activo que se disuelve con el tiempo en condiciones controladas, identificando si existen similitudes entre los equivalentes de fármacos, convirtiéndolos en un marco de referencia para determinar el comportamiento probable del fármaco en el cuerpo<sup>6</sup>.

Por tanto, se plantea como interrogante de investigación: ¿es posible determinar mediante la optimización del método analítico y los perfiles de disolución adecuados, si un medicamento genérico que contine 300 mg de Gabapentina es bioequivalente en condiciones in vitro, con su medicamento de referencia Neurontin ® 300 mg?

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo General**

Analizar los resultados de un estudio de bioequivalencia in vitro de Gabapentina cápsulas genéricas que contienen 300 mg con su producto de referencia a nivel nacional.

#### **1.3.2 Objetivos Específicos**

- a. Optimizar la metodología analítica de disolución y cuantificación para las cápsulas de Gabapentina según la metodología de los libros oficiales.
- b. Evaluar el control de calidad fisicoquímico de las cápsulas de Gabapentina a través de los ensayos de disolución, valoración y uniformidad de dosificación.

- c. Realizar los perfiles de disolución del medicamento de referencia y del medicamento genérico en estudio en tres medios de disolución diferentes.
- d. Determinar los valores del factor de diferencia  $f_1$  y similitud  $f_2$  entre los perfiles de disolución del medicamento de referencia y el medicamento genérico en estudio mediante los análisis estadísticos.

#### **1.4 Justificación**

En el presente apartado, se pretende explicar la importancia de los estudios de bioequivalencia in vitro y de cómo pueden impactar los tratamientos de los pacientes usuarios, además de las implicaciones legales y regulatorias actuales a las que se deben someter los laboratorios fabricantes.

Desde hace varias décadas, la industria farmacéutica ha evolucionado radicalmente, gracias a los avances tecnológicos que envuelven todos los sectores productivos, este hecho impacta los estándares de calidad y seguridad de los medicamentos. Un concepto importante que surge de tener formas farmacéuticas con propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas similares, es la intercambiabilidad de medicamentos (poder usar diferentes marcas del mismo principio activo, esperando el mismo resultado); esto obliga a la industria a tener mejores regulaciones, con parámetros más estrictos de eficacia y seguridad y la necesidad de demostrar que los medicamentos genéricos se comportan como un medicamento de marca.

Según el Ministerio de Salud de Costa Rica<sup>7</sup>, desde el año 2021, mediante la Resolución, MS-CTI-001-2021, se actualiza la Lista de Principios Activos con requisito de Equivalencia Terapéutica, publicada en el diario Oficial La Gaceta N.º 28, el miércoles 10 de

febrero del 2021, donde se incluye la Gabapentina como principio activo de riesgo sanitario de medicamento multiorigen que debe cumplir con las pruebas de bioequivalencia.

Quiere decir que este medicamento, al formar parte de la lista de principios activos priorizados, debe demostrar bioequivalencia, en el plazo establecido por el MINSA para poder obtener el registro sanitario correspondiente.

En el caso del proceso de compra y adquisición de medicamentos de la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS), como parte de su cadena distribución de medicamentos, se encuentra el Laboratorio de Normas y Calidad de Medicamentos (LNCM) quien evalúa la conformidad de la calidad de los productos farmacéuticos adquiridos por la institución, verificando las especificaciones de calidad reconocidas internacionalmente y oficiales en Costa Rica. Este laboratorio cuenta con los equipos, infraestructura y estándares de referencia para realizar perfiles de disolución; sin embargo, estos no se llevan a cabo como parte del sistema de evaluación de la conformidad, pero a partir del 17 de julio del 2015, con la publicación en el diario Oficial La Gaceta, entra en rigor el decreto N.º 39061-S “Reglamento a la Ley Reguladora de la Investigación Biomédica” el cual permite el estudio en poblaciones humanas<sup>8</sup>, y se habilita un protocolo para realizar dichos estudios.

Considerando el hecho que la CCSS realiza la compra de medicamentos de acuerdo a su costo, dando prioridad a los proveedores con el precio más bajo, y en el momento de la compra, los medicamentos se registran en el Ministerio de Salud únicamente con la documentación presentada por el proveedor nacional o internacional; es muy necesario que el LNCM implemente un programa de verificación de la documentación de los proveedores, por medio de pruebas in vitro mediante perfiles de disolución<sup>8</sup>.

Además de que el sistema de compra de la CCSS es muy complejo y está sujeto a Ley de Contratación Administrativa, no siempre es posible adquirir un medicamento del mismo proveedor por un periodo prolongado de tiempo, a no ser que sea un producto original con patente vigente. Por lo tanto, la adquisición de medicamentos queda a expensas de diversos

oferentes nacionales o internacionales, que en igualdad de condiciones y en el cumplimiento de la Ficha Técnica oficial de la institución, se optará por el que tenga el menor precio<sup>9</sup>.

Por lo tanto, con esta investigación, al evaluar las características farmacodinámicas y farmacocinéticas de un medicamento genérico con un principio activo tan ampliamente utilizado como la Gabapentina, mediante un estudio de bioequivalencia, puede aportar un valor agregado y evidencia para demostrar que el uso de dicho medicamento no tendrá diferencia significativa contra el medicamento de marca.

## **1.5 Antecedentes**

En este apartado, se analizan los principales trabajos y fundamentos teóricos que sustentan la presente investigación. Exponiendo investigaciones y trabajos donde se desarrollan validaciones de métodos analíticos para el análisis de perfiles de disolución y estudios de bioequivalencia, tanto nacionales como internacionales.

### **1.5.1 Antecedentes Históricos**

- **Organización Mundial de la Salud (OMS).**

La OMS está a cargo de promover el desarrollo, fomentar la seguridad sanitaria, fortalecer los sistemas de salud y promover la investigación y la información en el sistema de la ONU. Surgió luego de una reunión en 1945, conformada por una serie de diplomáticos, con el propósito de establecer una Organización Mundial de la Salud, lo que desencadenaría la entrada en vigor de la constitución de la OMS el 7 de abril de 1948<sup>10</sup>.

La finalidad de la validación de los métodos analíticos, la presentación de los datos, las características de los procedimientos analíticos y las que se deben considerar para cada uno de los diferentes ensayos se describen en el informe técnico<sup>11</sup>.

- **Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP).**

La Farmacopea de los Estados Unidos de América, es una organización científica no gubernamental, sin fines de lucro, enfocada en la seguridad y calidad de medicamentos, suplementos dietéticos y alimentos<sup>12</sup>, cuyos inicios se remontan a 1820, y su razón de ser se atribuye a la necesidad de estandarizar y armonizar la información sobre medicamentos. En el año 1990, se crea la Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América, la cual se dedica a desarrollar programas para la preparación de materiales de referencia, revisión constante de sus monografías, incorporación de nuevos medicamentos y estandarización con diferentes farmacopeas y organizaciones<sup>13</sup>.

La USP en el capítulo 1225, sobre validación de procedimientos resumidos, indica los parámetros requeridos para la validación de métodos analíticos, según la técnica a utilizar, proporciona documentación y guías sobre la validación de diferentes métodos analíticos<sup>14</sup>, que se considera como un marco de referencia oficial en el país.

- **Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA).**

La FDA tiene sus inicios a partir de la ley de la pureza de los alimentos y medicamentos en 1906<sup>15</sup>. Esta organización tiene dentro de sus objetivos: proteger y promover la salud pública y colaborar con los desafíos que aportan las industrias de vanguardia en producción y distribución de alimentos y medicamentos.

Esta organización representa un marco de referencia en temas de disolución de medicamentos y el uso seguro de los mismos<sup>15</sup>.

La FDA promueve una guía, que incluye recomendaciones para el desarrollo de pruebas de disolución, reglas para el establecimiento de sus especificaciones, métodos para el análisis estadístico de los datos de perfiles de disolución comparativos y otros requisitos para exonerar a ciertos principios activos de un estudio de bioequivalencia in vivo. También sugiere recomendaciones para las pruebas de disolución como prueba necesaria dentro del proceso de aseguramiento de la calidad de los medicamentos<sup>16</sup>.

- **Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA).**

El RTCA actual entra en vigencia en abril del 2016, y se establecen las instrucciones para la validación de métodos analíticos empleados en el proceso de control de calidad de los fármacos, cuyo reglamento, mediante la resolución N.º 339-2014 (COMIECO LXVII) del Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.42:07 Productos Farmacéuticos, el Reglamento de validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos, el cual debe ser aplicado a todas las metodologías analíticas oficiales y no oficiales, para el cumplimiento de normativas vigentes respecto a las buenas prácticas de manufactura<sup>17</sup>.

- **Ministerio de Salud de Costa Rica (MINSA).**

El MINSA desarrolla un reglamento que establece las directrices para la validación de métodos analíticos, que es un requisito para llevar a cabo el Registro Sanitario de Medicamentos, y se establecen los lineamientos que se deben seguir para presentar la validación de un procedimiento analítico; dicho reglamento desarrollado bajo el decreto N.º 29968-S<sup>18</sup>, establece la lista de productos farmacéuticos multiorigen que se encuentran en el lista de productos priorizados que deben demostrar bioequivalencia terapéutica<sup>19</sup>.

Este Ministerio también define los lineamientos para la realización de perfiles de disolución comparativos, que incluye los criterios para el análisis estadístico y método analítico, sustentado en las guías oficiales USP, de acuerdo a: Guía técnica para la presentación y evaluación de los estudios de perfiles de disolución comparativos, publicada en el año 2009<sup>1</sup>.

- **Otros estudios y publicaciones.**

En el artículo: Bioequivalencia. Introducción a la correlación in vivo-in vitro, se trata el tema de que la prueba de disolución in vitro es ampliamente utilizada para estimar la liberación del medicamento y como medida para predecir la biodisponibilidad de los fármacos; pero que dicho estudio de bioequivalencia in vitro, no puede ser reemplazado hasta

que esté relacionado con los datos de estudios in vivo, y además destaca la importancia de cuidar las variables más críticas de los procesos de manufactura para disminuir la variabilidad entre lotes y poder garantizar una correcta reproducibilidad en el tiempo. Asimismo, resalta la necesidad de establecer una correlación de estudios in vivo con estudios in vitro para obtener especificaciones de velocidad de disolución in vitro adecuadas<sup>20</sup>.

### **1.5.2 Antecedentes Internacionales**

Parra<sup>21</sup>, en su artículo “Biodisponibilidad comparativa entre dos formulaciones de Gabapentina cápsulas de 300 mg en voluntarios sanos colombianos”, estudia los resultados de estudios comparativos in vivo de Neurontin® (como producto de referencia) y Gabapentex® (como producto genérico). Donde establece las condiciones para que los medicamentos genéricos apliquen para el estudio de bioequivalencia, en los que destacan; que el laboratorio fabricante cumpla con Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), y que ambos productos tengan condiciones idénticas de: concentración de principio activo, estructura molecular, forma farmacéutica y vía de administración. Y concluyen, luego del análisis de datos de área bajo la curva (ABC) y concentración máxima en sangre ( $C_{max}$ ), que no existe diferencia significativa entre ambos medicamentos.

Ponce D'León<sup>22</sup>, en su artículo “Estudio de bioequivalencia in vitro de cuatro productos de amoxicilina del mercado colombiano”, se estudian los resultados de un estudio in vitro de varias marcas comerciales de amoxicilina, inicialmente se verifican los parámetros de control de calidad fisicoquímica de tres diferentes lotes de cada fabricante, se estandarizan y validan el método a utilizar para la comparación siguiendo lineamiento USP y el estudio de bioequivalencia in vitro siguiendo los lineamientos propuestos por FDA, y utilizando el método estadístico de factores de similitud  $f_1$  y  $f_2$ , se logra concluir que dos de los lotes en estudio son bioequivalentes, y dos lotes tienen resultados no conformes.

Rojas<sup>23</sup>, en su tesis titulada “Validación de método analítico para test de disolución con objetivo de realizar estudio de bioexención de levofloxacino comprimidos recubiertos de 500 mg y 750 mg”, plantea la validación de un método analítico para la cuantificación de levofloxacino de liberación inmediata en un laboratorio de Chile, para que el medicamento genérico adquiera bioexención, para esto se realizan perfiles de disolución a niveles de pH de 1.2, 4.5 y 6.8; utilizando como referencia Tavanic ® de Sanofi Aventis, con la validación de la metodología y el estudio estadístico de los resultados se concluye que el método utilizado es adecuado y se puede aplicar para estudios de bioequivalencia.

### **1.5.3 Antecedentes Nacionales**

Guevara<sup>24</sup>, en su tesis “Validación del método analítico por cromatografía líquida de alta resolución para un perfil de disolución de azitromicina tabletas recubiertas de 500 mg en un laboratorio farmacéutico nacional, durante septiembre del 2021 a diciembre del 2021”, propone la verificación y validación de un método analítico utilizando la técnica cromatografía líquida de alta presión (HPLC) para ser utilizado como sustento de un estudio de bioequivalencia in vitro de dicho medicamento. Siguiendo los lineamientos del Ministerios de Salud de Costa Rica. En el estudio se logra demostrar que el método es confiable a valores de pH de 4.5 y 6.8, pero no se obtienen resultados conformes para el pH 1.2; este estudio se utiliza como evidencia para la renovación del Registro Sanitario del medicamento en Costa Rica.

Campos<sup>25</sup> publica el artículo “Medicamentos genéricos: su importancia económica en los sistemas públicos de salud y la necesidad de estudios in vitro para establecer su bioequivalencia”, donde expone el concepto de medicamento genérico y la importancia de demostrar bioequivalencia para poder demostrar que medicamentos multiorigen son intercambiables con su medicamento de marca homólogo. Se explica, además, el sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB), que permite exentar a ciertos medicamentos de estudio in vivo, y obtener la clasificación de bioequivalente con resultados de estudios de perfiles de

disolución. Se destaca la utilidad de estudios *in vitro*, como una herramienta para dar seguridad en el uso de medicamentos genéricos y beneficiar especialmente a los sistemas de salud pública de los países en vías de desarrollo con medicamentos más asequibles.

Castiglioni<sup>26</sup>, en su tesis titulada “Evaluación del impacto de resultados S2 en las pruebas de disolución farmacopeica de fármacos multiorigen presentes en la lista de medicamentos priorizados y que deben demostrar equivalencia terapéutica *in vitro*” para lo obtención del grado de maestría en Análisis y Control de Calidad de Medicamentos (UCR); evalúa la variabilidad de la prueba de disolución de varios lotes de Irbesartán en la Caja Costarricense de Seguro Social. Se describe el proceso de validación en un medio de pH 6,8 apegado a los lineamientos del MINSA en el año 2019, y desarrolla una validación de un perfil de disolución de Irbesartán, para compararlo con el medicamento de referencia en el Costa Rica. Se concluye que los lotes empleados si corresponden a equivalentes terapéuticos, en un medio amortiguador de fosfatos a pH 6,8 según los resultados de los factores f1 y f2 obtenidos; también concluye que la validación del método analítico empleado cuenta con las características de desempeño buscadas.

## **CAPÍTULO II – MARCO TEÓRICO**

En el presente capítulo, se detallan los conceptos más relevantes para esta investigación. Se recogen un conjunto de definiciones y conceptos teóricos, que define el alcance de la investigación. Bajo las premisas aquí presentadas se establece un marco conceptual que sirve de guía para el desarrollo del proyecto.

## **2.1 Producto farmacéutico de marca.**

Un fármaco original o innovador es un medicamento desarrollado por una compañía farmacéutica y que se encuentra protegido por una patente. Estos medicamentos son también conocidos como medicamentos de marca o de patente<sup>27</sup>.

El fin último de un fármaco original o innovador es proporcionar una solución innovadora para una afección médica específica. Pueden incluir una combinación única de ingredientes activos, una forma de dosificación innovadora o una mejora en la eficacia o seguridad en comparación con los medicamentos existentes. Aunque los fármacos originales o innovadores suelen ser más costosos que los productos farmacéuticos genéricos, pueden ofrecer una solución más efectiva o mejorada para determinadas afecciones médicas. Por lo tanto, son una parte importante del desarrollo y mejora continuos de los tratamientos médicos disponibles<sup>28</sup>.

## **2.2 Producto farmacéutico genérico.**

Un producto farmacéutico genérico es un medicamento que se compone de los mismos ingredientes activos que el medicamento de marca original, pero que se produce y comercializa sin la marca del fabricante original. Los productos farmacéuticos genéricos deben demostrar que son bioequivalentes al medicamento de marca, lo que significa que deben tener la misma cantidad de ingrediente activo y que no exista una diferencia significativa en el porcentaje de absorción de la droga en el cuerpo<sup>29</sup>.

Además, los productos farmacéuticos genéricos deben cumplir con los mismos estándares de calidad, seguridad y eficacia que los medicamentos de marca, lo que es verificado por las agencias reguladoras de medicamentos antes de que se autorice su comercialización<sup>30</sup>.

La ventaja de los productos farmacéuticos genéricos es que son mucho más económicos que los medicamentos de marca, lo que los hace accesibles a una población más amplia. Además, ayudan a reducir los costos del sistema de atención médica y a aumentar el acceso a medicamentos esenciales para una amplia gama de afecciones médicas<sup>30</sup>.

### **2.3 Medicamentos equivalentes terapéuticos.**

Es importante reconocer el término de medicamentos equivalente terapéuticos, ya que esta categoría es la utilizada para realizar estudios de bioequivalencia. Los estudios de bioequivalencia son necesarios para garantizar que dos formulaciones de un medicamento, aunque pueden contener los mismos ingredientes activos, tengan una absorción similar en el cuerpo humano y, por lo tanto, produzcan resultados terapéuticos equivalentes. Para llevar a cabo estos estudios, se comparan dos formulaciones de un medicamento: el producto de prueba y el producto de referencia.

Es crucial que los medicamentos utilizados en estos estudios sean equivalentes terapéuticamente, es decir, que tengan la misma composición de ingredientes activos, la misma concentración, y se administren de la misma manera. Esto garantiza que cualquier diferencia en los resultados del estudio se deba únicamente a diferencias en la formulación y no a diferencias en la actividad terapéutica del medicamento en sí<sup>31</sup>.

Medicamento equivalente se refiere a un producto farmacéutico que contiene los mismos ingredientes activos, es idéntico en potencia o concentración, forma de dosificación y vía de administración que otro medicamento. Estos medicamentos se consideran intercambiables y se espera que produzcan el mismo efecto terapéutico cuando se administran a pacientes en las mismas condiciones<sup>32</sup>.

## **2.4 Bioequivalencia.**

Se entiende por bioequivalencia entre dos productos cuando presentan una biodisponibilidad comparable en condiciones experimentales apropiadas que se realizan en un ensayo clínico. La bioequivalencia demuestra la intercambiabilidad entre el medicamento genérico y el medicamento original desde el punto de vista de la calidad, seguridad y eficacia<sup>33</sup>.

Después del vencimiento de la patente del producto original o innovador, las compañías que quieran comercializar un producto genérico deben optar por estudios de bioequivalencia. Los estudios de bioequivalencia se utilizan como herramienta para demostrar que un medicamento genérico tiene la misma eficacia terapéutica que el medicamento innovador de referencia, existiendo entonces la posibilidad del uso alternativo de uno u otro. De esta forma, se evita la realización de nuevos ensayos clínicos, que resultan muy complejos y costosos de llevar a cabo, mientras se recurre a los estudios de bioequivalencia mucho más asequibles<sup>34</sup>.

Estos estudios se basan en el principio de que, en una misma persona, si un mismo principio activo contenido en dos medicamentos similares (la especialidad genérica y la de referencia) se absorbe en la misma cantidad y velocidad en sangre, se hallará en el lugar donde ejerce la acción en una concentración similar ejerciendo entonces un efecto terapéutico también similar. En estos estudios, los datos farmacocinéticos se asimilan a los datos terapéuticos para poder establecer la equivalencia<sup>34</sup>.

Por su naturaleza, los estudios de bioequivalencia deben realizarse en humanos para realizar la comparación entre la concentración sérica máxima del o los principios activos puestos a prueba. Estas pruebas no dejan de ser costosas y tardar varios meses, por lo que existe una alternativa a las mismas si las características del principio activo así lo permiten.

## **2.5 Bioequivalencia in vitro.**

El conocimiento de las características de la disolución acuosa y de la absorción intestinal de los fármacos que tienen forma farmacéutica sólida oral de liberación inmediata, se utiliza como base para un Sistema de Clasificación Biofarmaceutica, que permite agrupar a los principios activos en 4 clases: la Clase I de alta solubilidad y alta permeabilidad, la Clase II de baja solubilidad y alta permeabilidad, la Clase III de alta solubilidad y baja permeabilidad, y la Clase IV de baja solubilidad y baja permeabilidad. A partir de esta clasificación, se establece que, en algunos medicamentos, la bioequivalencia convencional pueda ser reemplazada por la bioequivalencia in vitro, permitiendo una exención de la necesidad de bioequivalencia *in vivo*, que requiere realizarse en humanos<sup>35</sup>.

Los estudios de bioequivalencia in vitro están constituidos por estudios comparativos de perfiles de disolución, 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 el medicamento innovador y el de fuentes múltiples<sup>35</sup>.

## **2.6 Perfiles de disolución.**

El perfil de disolución es una técnica que se utiliza para evaluar la liberación de un principio activo de una forma farmacéutica sólida en un medio líquido. Esta técnica se utiliza para determinar la velocidad y la eficacia de la disolución de una forma farmacéutica sólida, como un comprimido o una cápsula<sup>36</sup>.

Los perfiles de disolución se realizan mediante la colocación de una muestra de la forma farmacéutica sólida en un vaso del equipo de disolución con un medio líquido con diferentes valores de pH y la monitorización de la cantidad de principio activo que se disuelve con el tiempo. Los resultados se representan gráficamente en un perfil de disolución<sup>36</sup>. Estas pruebas son importantes para la disolución de una forma farmacéutica sólida, ya que, es un

paso crítico en el proceso de absorción del principio activo en el cuerpo. La velocidad y la eficacia de la disolución pueden afectar la biodisponibilidad y la eficacia terapéutica del principio activo<sup>36</sup>.

Esta prueba es utilizada para optimizar la formulación de formas farmacéuticas sólidas, para evaluar la calidad de los productos farmacéuticos y para comparar diferentes formulaciones. También se utiliza para comparar la calidad de productos similares y para evaluar el impacto de los cambios en la formulación o el proceso de fabricación en la disolución de la forma farmacéutica sólida<sup>37</sup>.

## **2.7 Factores de diferencia f1 y f2.**

Los factores de diferencia f1 y f2 son medidas estadísticas utilizadas en la evaluación de los perfiles de disolución de formas farmacéuticas sólidas. Son herramientas valiosas en la evaluación de los perfiles de disolución y se utilizan para determinar la similitud y la homogeneidad de la disolución de formas farmacéuticas sólidas.

Estos factores se utilizan para comparar la similitud de dos perfiles de disolución y determinar si la diferencia entre ellos es significativa o no. El factor de diferencia f1 es una medida de la similitud entre dos perfiles de disolución y se calcula como el porcentaje de tiempo en el que la concentración de un principio activo en un perfil es mayor o igual al 75% de la concentración en el otro perfil. Un valor f1 cercano a 100% indica una alta similitud entre los perfiles de disolución<sup>38</sup>.

Por otra parte, el factor de diferencia f2 se utiliza para determinar la homogeneidad de la disolución de una forma farmacéutica sólida. Se calcula como el porcentaje de tiempo en el que la concentración de un principio activo en un perfil es mayor o igual al 50% de la concentración máxima en ese perfil. Un valor f2 cercano a 100% indica una disolución uniforme y homogénea de la forma farmacéutica sólida<sup>38</sup>.

## **2.8 Marco Legal sobre bioequivalencia en Costa Rica.**

En el 2005, se publicó en el diario Oficial La Gaceta el Decreto N.º 32470-S del Reglamento para el Registro Sanitario de los medicamentos que requieren demostrar equivalencia terapéutica. El objetivo de este es establecer las directrices que deben cumplir en materia de equivalencia terapéutica, los medicamentos multiorigen e innovadores de origen alterno que así lo requieran para realizar el trámite de registro sanitario<sup>39</sup>.

Dicho reglamento hace referencia al Listado Priorizado de Productos, en donde se clasifican los productos a los cuales se les aplican las disposiciones contenidas en dicho reglamento. Este listado clasifica los productos en tres secciones principales<sup>39</sup>:

2.7.1 Productos que requieren demostrar su bioequivalencia a través de documentación de estudios in vivo e in vitro. Estos productos son considerados equivalentes terapéuticos cuando demuestren la bioequivalencia con documentación de estudios in vivo e in vitro.

2.7.2 Productos a los que se les exige provisionalmente la presentación de documentos de bioequivalencia in vitro, pero que posteriormente deben demostrar su bioequivalencia in vivo. Dichos productos no pueden ser considerados equivalentes terapéuticos hasta tanto no demuestren la bioequivalencia in vivo.

2.7.3 Productos que requieren demostrar su bioequivalencia únicamente a través de documentación de estudios in vitro.

Desde el 2005, y hasta la fecha, esta lista y sus actualizaciones se han publicado oficialmente en el diario Oficial La Gaceta en cinco ocasiones, siendo la más reciente la resolución MS-CTI-001 *Actualización de la Lista de Principios Activos con requisito de Equivalencia Terapéutica*, en donde se alcanzaban los 122 principios activos a los que se les solicita la presentación de estudios de bioequivalencia<sup>40</sup>.

En el reglamento antes mencionado, también se encuentran las condiciones que deben cumplirse para el registro sanitario o renovación de los medicamentos multiorigen, los

documentos requeridos en materia de bioequivalencia, los criterios para la selección del producto de referencia y disposiciones para la exoneración de la presentación de requisitos de bioequivalencia.

No obstante, el decreto ejecutivo N.º 36068 del 8 de junio de 2010, mediante resolución de la Sala Constitucional N.º 352-12, del 13 de enero de 2012, se suspendió la presentación de estudios de equivalencia terapéutica in vivo para productos que contenían principios activos de la Lista Priorizada que solicitaban registro sanitario o renovación ante el Ministerio de Salud. Sin embargo, se mantenían las pruebas de perfiles de disolución comparativos con el producto de referencia oficial para los medicamentos citados<sup>41</sup>.

Lo anterior se debía a que, mediante Voto N.º 2010-001668 de las quince horas y doce minutos del veintisiete de enero del 2010, la Sala Constitucional había declarado con lugar la Acción de Inconstitucionalidad interpuesta contra el Decreto N.º 31078, “Reglamento para las investigaciones en que participan seres humanos”, anulando dicho decreto y suspendiendo los estudios clínicos en seres humanos hasta tanto no existiera una ley que lo regulara, por lo que todo aquel estudio de bioequivalencia que se solicitara debía realizarse en el extranjero<sup>42</sup>.

El Consejo Técnico de Inscripción de Medicamentos del Ministerio de Salud resolvió el 29 de enero del 2021 (MS-CTI-001-2021) aumentar de 25 a 73 la cantidad de principios activos que requerían de estudios de bioequivalencia y su entrada en vigencia era de un año, no obstante el acuerdo MS-CTI-003-2021 se amplía por 2 años más la posibilidad de la presentación voluntaria de los estudios de perfiles de disolución y el estudio de bioequivalencia en un cambio post registro o durante la renovación del Registro Sanitario<sup>43</sup>.

En abril del 2022, el acuerdo MS-CTI-001-2022, modifica el acuerdo MS-CTI-003-2021 solicitando el estudio de bioequivalencia para nuevos registros sanitarios o renovaciones manteniendo los 2 años plazo para la entrada en vigencia<sup>40,43</sup>.

La Sala Constitucional mediante sentencia N.º 2022-015645, anuló los acuerdos MS-CTI-003-2021 y MS-CTI-001-2022 emitidos por el Consejo Técnico de Inscripción de Medicamentos, y que ampliaban el plazo de entrada en vigor del requisito de bioequivalencia para el registro de medicamentos que contienen principios activos de listado priorizado.

Por lo tanto, la gabapentina cápsulas 300 mg y otros principios activos a partir del 18 de enero del 2023 debían presentar los estudios de bioequivalencia para obtener o renovar el registro sanitario correspondiente.

## **2.9 Medicamentos anticonvulsivantes.**

Los medicamentos anticonvulsivantes son un grupo de fármacos utilizados para tratar la actividad convulsiva o la prevención de convulsiones en enfermedades como la epilepsia. Estos medicamentos actúan modulando la actividad de los neurotransmisores en el cerebro, reduciendo la excitabilidad neuronal y la propensión a las convulsiones<sup>44</sup>.

Existen diferentes tipos de medicamentos anticonvulsivantes, incluyendo barbitúricos, benzodiazepinas, ácido valproico, carbamazepina, lamotrigina, topiramato y gabapentina. Cada tipo de medicamento anticonvulsivante puede ser eficaz para tratar una determinada forma de epilepsia o para controlar las convulsiones en una persona con una afección específica<sup>45</sup>.

Es importante señalar que los medicamentos anticonvulsivantes no curan la enfermedad subyacente, sino que ayudan a controlar los síntomas y a mejorar la calidad de vida de las personas afectadas. Además, la elección de un medicamento anticonvulsivante puede ser influenciada por varios factores, incluyendo la edad, el peso, el tipo y la gravedad de la enfermedad y los efectos secundarios potenciales<sup>45</sup>.

## 2.10 Gabapentina.

La gabapentina es un fármaco anticonvulsivante utilizado en el tratamiento de diversas afecciones, incluyendo la epilepsia, el dolor neuropático y la ansiedad. Fue sintetizada por primera vez en el año 1972 por el profesor y químico japonés Hajime Hosobuchi en la Universidad de Tokio<sup>46</sup>.

Sin embargo, fue en el año 1989 cuando la gabapentina fue investigada en profundidad por el neurocientífico californiano Wilbur Franklin y su equipo en Parke-Davis (que pertenece a la empresa Pfizer), como un posible tratamiento para la epilepsia. Durante los ensayos clínicos, se descubrió que la gabapentina también era eficaz para aliviar el dolor neuropático<sup>46</sup>.

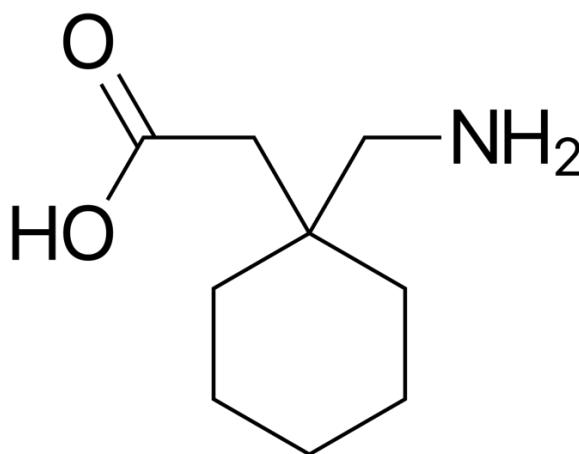
La Gabapentina fue aprobada por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos en 1994 y posteriormente por otras agencias reguladoras de todo el mundo para el tratamiento de la epilepsia. Desde entonces, ha sido ampliamente utilizada y ha demostrado ser una opción eficaz para el tratamiento de varios trastornos neurológicos y psiquiátricos<sup>47</sup>.

Actualmente, la gabapentina cuenta con la aprobación de la FDA para<sup>47</sup>:

- Neuralgia postherpética.
- Terapia adyuvante en el tratamiento de crisis parciales con o sin generalización secundaria en pacientes mayores de 12 años con epilepsia y población pediátrica de 3 a 12 años con crisis parcial.
- Síndrome de piernas inquietas (SPI) moderado a severo moderado a severo.

También tiene un uso no aprobado para el dolor neuropático, fibromialgia, trastorno bipolar, sofocos posmenopáusicos, temblores esenciales, ansiedad, depresivos resistentes y trastornos del estado de ánimo, síndrome del intestino irritable (SII), abstinencia de alcohol, analgesia posoperatoria, náuseas y vómitos, migraña profilaxis, dolor de cabeza, cistitis intersticial, neuropatía diabética dolorosa, fobia social, convulsiones tónico-clónicas

generalizadas, prurito (picazón), insomnio, trastorno de estrés posttraumático (TEPT) y tos crónica refractaria<sup>47,48</sup>.



**Ilustración 1. Estructura molecular de Gabapentina<sup>49</sup>.**

### **2.11 Laboratorio farmacéutico de calidad.**

Un laboratorio farmacéutico de calidad es un espacio de trabajo dedicado a la producción de medicamentos que cumplen con los estándares de calidad requeridos. Estos estándares incluyen requisitos relacionados con la identidad, pureza, potencia, seguridad, eficacia y estabilidad de los productos farmacéuticos<sup>50</sup>.

Dentro de las funciones principales de un laboratorio farmacéutico de calidad se encuentran: asegurar que los productos farmacéuticos cumplan con los requisitos reguladores y normativos y que se produzcan de manera segura y eficiente. Esto se logra mediante la implementación de prácticas de control de calidad rigurosas y mediante la adherencia a las buenas prácticas de manufactura (BPM).

### **2.12 Control de Calidad Físicoquímico de productos farmacéuticos.**

El control de calidad físicoquímico es un proceso en el que se evalúan las propiedades físicas y químicas de un producto farmacéutico con el objetivo de garantizar su calidad y

consistencia. Este proceso es esencial en la industria farmacéutica para asegurar que los productos cumplen con los estándares de calidad y seguridad requeridos para su uso seguro y efectivo<sup>51</sup>.

Durante el control de calidad fisicoquímico, se evalúan diferentes aspectos del producto, incluyendo su apariencia, consistencia, peso, tamaño, humedad, pH, solubilidad, estabilidad y otros aspectos relevantes para el desempeño de este. Estos ensayos se realizan en intervalos regulares durante el proceso de fabricación y almacenamiento, y también se llevan a cabo antes de la liberación del producto al mercado<sup>51</sup>.

El proceso de medición de las características fisicoquímicas de los medicamentos, es una parte integral de la gestión de la calidad en la industria farmacéutica, y se realiza siguiendo estrictas normativas y regulaciones, tales como las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Agencia de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), esto con el fin de asegurar que los productos farmacéuticos cumplen con los estándares requeridos, son seguros y efectivos para su uso, y también garantiza que se cumplen las expectativas del paciente y se mantengan los estándares de calidad de la industria.

### **2.13 Metodología analítica.**

El método de análisis fisicoquímico es un conjunto de procedimientos con un enfoque sistemático y riguroso para evaluar las propiedades químicas y físicas de una muestra. Se utiliza para determinar la composición, estructura, calidad y pureza de muchas sustancias. Incluye técnicas de análisis como espectroscopía, cromatografía, microscopía, polarimetría, entre otros. Los resultados arrojados de las distintas técnicas permiten identificar componentes individuales y evaluar su concentración y distribución en una muestra. Además, es posible la verificación y validación de los resultados obtenidos por otros métodos de análisis<sup>52</sup>.

Los resultados obtenidos de un método previamente validado, permite a los investigadores tomar decisiones informadas y basadas en hechos verificables. Los parámetros importantes que se evalúa son las especificaciones según la técnica, y son relativas al comportamiento del método, las cuales incluyen información sobre precisión, intervalo de trabajo, límite de detección, posibles interferencias y su veracidad<sup>53</sup>. La metodología analítica se divide en tres etapas principales: la recolección de datos, el análisis de datos y la presentación de resultados. Cada una de estas etapas requiere una rigurosa atención al detalle y a la calidad para garantizar la confiabilidad y la objetividad de los resultados obtenidos<sup>52</sup>.

### **2.13.1 Optimización de métodos analíticos.**

La optimización de métodos de análisis químico es un proceso que busca garantizar la repetibilidad, precisión, exactitud, selectividad y sensibilidad de un método de análisis antes de su aplicación en la investigación o en la industria. Esto se realiza mediante la evaluación cuidadosa y sistemática de los métodos con el fin de determinar su adecuación para el uso específico. La optimización de métodos de análisis químico es una parte integral del desarrollo y control de la calidad en la industria química, farmacéutica y alimentaria<sup>54</sup>.

El éxito de la optimización de métodos de análisis químico depende de la elección apropiada de los estándares, las muestras de referencia y las condiciones de análisis. El proceso de optimización de las condiciones del método también requiere una documentación cuidadosa y una evaluación crítica de los resultados obtenidos<sup>54</sup>.

El proceso de optimización de metodología analítica por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) puede incluir la evaluación de la linealidad, la precisión, la repetibilidad, la estabilidad, la selectividad y la sensibilidad del método, así como la evaluación de la capacidad del método para detectar y separar componentes específicos en una muestra, que depende además de otros factores, como la capacidad de las columnas analíticas. La

documentación cuidadosa y la evaluación crítica de los resultados son esenciales para garantizar una validez adecuada y la integridad de los resultados<sup>55</sup>.

### **2.13.2 Estudio estadístico de homocedasticidad.**

El estudio estadístico de homocedasticidad es un análisis que se realiza para evaluar la homogeneidad de las varianzas en un conjunto de datos. En términos simples, la homocedasticidad se refiere a la igualdad de varianzas entre diferentes grupos o categorías en un estudio. Este concepto es fundamental en estadística, especialmente en análisis de la varianza (ANOVA) y en pruebas de regresión, donde la violación de la homocedasticidad puede conducir a conclusiones erróneas o sesgadas. La homocedasticidad se verifica gráficamente mediante la observación de la dispersión constante de los puntos alrededor de la línea de regresión o a través de pruebas estadísticas formales, como la prueba de Levene o la prueba de Bartlett<sup>56</sup>.

La importancia del estudio de homocedasticidad radica en su impacto en la validez de los resultados de análisis estadísticos. Cuando los datos exhiben homocedasticidad, significa que las diferencias en las varianzas entre grupos o niveles de una variable explicativa no introducen sesgos significativos en las inferencias estadísticas. Por otro lado, la heterocedasticidad, donde las varianzas difieren entre grupos, puede provocar estimaciones de parámetros sesgadas y errores estándar incorrectos, lo que afecta la precisión y la confiabilidad de los resultados del análisis. Por lo tanto, la verificación de la homocedasticidad es crucial para garantizar la validez de los análisis estadísticos y las conclusiones que se extraen de ellos<sup>57</sup>.

El estudio de homocedasticidad se lleva a cabo utilizando diversas técnicas estadísticas, que incluyen pruebas formales de homogeneidad de varianzas y métodos gráficos, como diagramas de dispersión y gráficos de residuos. Estas herramientas permiten a los investigadores identificar posibles violaciones de la homocedasticidad y tomar medidas correctivas, como la transformación de los datos o la selección de métodos de análisis

estadístico robustos a la heterocedasticidad. En resumen, el estudio de homocedasticidad es esencial para garantizar la validez y la fiabilidad de los resultados estadísticos, especialmente en estudios que involucran comparaciones entre grupos o análisis de regresión<sup>58</sup>.

### **2.13.3 Friabilidad de métodos analíticos.**

La friabilidad en métodos analíticos se refiere a la capacidad de un método para mantener su precisión y exactitud a lo largo del tiempo y bajo diferentes condiciones. En otras palabras, es la estabilidad del método analítico frente a diversas influencias que podrían afectar su desempeño, como cambios en las condiciones de análisis, en el equipo utilizado o en el personal involucrado en la ejecución del método. La evaluación de la friabilidad de un método analítico es esencial para garantizar la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados obtenidos a través de dicho método en el laboratorio<sup>59</sup>.

Una manera de evaluar la friabilidad de un método analítico toma en cuenta estudios de validación y verificación, que incluyen pruebas exhaustivas para determinar la precisión, exactitud, robustez y sensibilidad del método bajo condiciones variables. Estos estudios pueden involucrar la realización de experimentos de repetibilidad y reproducibilidad, donde se analizan múltiples muestras en diferentes días y por diferentes analistas para evaluar la consistencia del método a lo largo del tiempo y entre operadores. Además, se pueden realizar estudios de estabilidad para determinar la capacidad del método para producir resultados consistentes a lo largo del tiempo cuando se almacenan las muestras o los reactivos analíticos<sup>60</sup>.

La evaluación de la friabilidad de métodos analíticos se basa en las directrices y normativas establecidas por organismos reguladores, como la Agencia de Medicamentos y Alimentación (FDA) o la Agencia Europea de Medicamentos (EMA). Estas directrices proporcionan pautas específicas sobre los requisitos y procedimientos para la validación y verificación de métodos analíticos en diversos campos, como la industria farmacéutica, alimentaria o ambiental. Los métodos analíticos que demuestran una alta friabilidad son

considerados más confiables y adecuados para su aplicación en el análisis de muestras en entornos de laboratorio, lo que garantiza la generación de resultados precisos y consistentes<sup>61</sup>.

## **2.14 Cromatografía líquida de alta eficiencia**

La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) es una técnica de separación y análisis de componentes en solución que se utiliza ampliamente en la industria farmacéutica, alimentaria, química y ambiental<sup>62</sup>.

En HPLC, una muestra se inyecta en un sistema de columna de separación, que contiene un material adsorbente. Los componentes de la muestra se separan a medida que fluyen a través de la columna debido a las interacciones entre los componentes y el material adsorbente. La separación se realiza en base a diferencias en la afinidad de los componentes por el material adsorbente y su velocidad de flujo a través de la columna. Después de la separación, los componentes individuales se detectan utilizando un detector específico, que puede ser un detector de masas, un detector UV-visible, un detector de fluorescencia, entre otros<sup>62</sup>.

La técnica de HPLC es conocida por su alta eficiencia y resolución en la separación de componentes, lo que la hace ideal para aplicaciones que requieren un análisis preciso y detallado. Además, es una técnica robusta y reproducible, lo que la hace ideal para aplicaciones en la industria farmacéutica, donde se requiere una gran precisión y confiabilidad en los resultados de los análisis<sup>63</sup>.

### **2.14.1 Fase móvil en pruebas de cromatografía líquida de alta eficiencia.**

La fase móvil en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es un componente esencial del sistema de separación. Consiste en el solvente o la mezcla de solventes que se bombean a través de la columna cromatográfica, llevando consigo la muestra a analizar. La composición de la fase móvil puede variar dependiendo del tipo de HPLC y del objetivo del

análisis. Generalmente, la fase móvil está compuesta por una mezcla de solventes orgánicos e inorgánicos, como acetonitrilo, metanol o agua, que se seleccionan según la polaridad de la muestra y la naturaleza de la columna. La fase móvil interactúa con la fase estacionaria en la columna, permitiendo la separación de los componentes de la muestra en función de sus interacciones químicas con la fase estacionaria y la fase móvil<sup>64</sup>.

La elección de la fase móvil es crucial para el éxito del análisis en HPLC, ya que afecta directamente la separación y la elución de los analitos. Los parámetros que se deben considerar al seleccionar la fase móvil incluyen la polaridad, la capacidad para disolver la muestra, la viscosidad y la compatibilidad con el detector utilizado. Por ejemplo, en análisis de compuestos polares, es común utilizar una fase móvil acuosa, mientras que, para compuestos menos polares, se pueden emplear solventes orgánicos. Además, se pueden agregar modificadores de fase móvil, como ácidos orgánicos o sales, para mejorar la resolución y la selectividad de la separación. La optimización de la fase móvil es un proceso iterativo que requiere consideraciones cuidadosas para lograr los mejores resultados analíticos<sup>64</sup>.

Las propiedades físicas y químicas de la fase móvil, así como su interacción con la fase estacionaria y los analitos, son aspectos cruciales para comprender su papel en la cromatografía líquida de alta resolución. La fase móvil actúa como un vehículo que transporta la muestra a través de la columna cromatográfica, facilitando la separación de los componentes en función de sus afinidades con la fase estacionaria y la fase móvil. La selección adecuada de la fase móvil es fundamental para lograr una separación eficiente y precisa de los analitos de interés. Por lo tanto, comprender las características y la influencia de la fase móvil es esencial para el diseño y la optimización de métodos de análisis en HPLC<sup>64</sup>.

### **2.14.2 Pico cromatográfico.**

Uno de los elementos más fundamentales en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es el pico cromatográfico, un pico cromatográfico se refiere a la representación

visual de un componente específico de la muestra que se está separando en la columna cromatográfica. El pico cromatográfico se forma debido a la elución del analito de interés de la columna a medida que la fase móvil lo transporta a través de la fase estacionaria. Las características ideales de un pico cromatográfico incluyen una forma simétrica y estrecha, así como una base basal bien definida. Estas características reflejan una separación eficiente y una alta resolución entre los componentes de la muestra<sup>65</sup>.

Al analizar un pico cromatográfico, se miden varias propiedades para evaluar la calidad de la separación. Por ejemplo, la resolución se refiere a la capacidad de separar dos picos adyacentes y se calcula midiendo la distancia entre los picos dividida por el ancho promedio de los picos. Cuanto mayor sea el valor de la resolución, mejor será la separación entre los componentes de la muestra. Otro parámetro que se debe medir, es el ancho del pico cromatográfico, se refiere a la distancia entre los puntos de inflexión de la curva del pico y es una medida de la eficacia de la separación<sup>65</sup>.

Además, los platos teóricos son una medida de la eficiencia de la columna y se calculan utilizando la ecuación de Van Deemter, que tiene en cuenta la difusión longitudinal, la difusión eddy y la resistencia a la transferencia de masa<sup>66</sup>.

La calidad de un pico cromatográfico y las propiedades medidas están estrechamente relacionadas con la selección adecuada de las condiciones cromatográficas, como la fase estacionaria, la fase móvil, la temperatura y el caudal. Además, el diseño de la columna y el detector utilizado también pueden influir en las características del pico. Por lo tanto, es importante optimizar estas condiciones para lograr una separación eficiente y precisa de los componentes de la muestra en HPLC<sup>66</sup>.

### **2.14.3 Factor de asimetría del pico cromatográfico.**

El factor de asimetría, también conocido como factor de forma o coeficiente de asimetría, es una medida utilizada para evaluar la simetría de un pico cromatográfico en cromatografía líquida de alta resolución. La simetría del pico cromatográfico es importante

porque indica la uniformidad en la elución del analito de interés de la columna cromatográfica. Un factor de asimetría ideal sería igual a 1,0 lo que indicaría una simetría perfecta del pico, es decir, que el frente del pico y la cola del pico tienen la misma forma y anchura. Sin embargo, en la práctica, los picos cromatográficos rara vez son perfectamente simétricos, por lo que los factores de asimetría pueden ser mayores o menores que 1,0<sup>67</sup>.

El cálculo de dicho factor se realiza dividiendo la distancia desde el punto máximo del pico hasta el punto de inflexión de la cola del pico entre la distancia desde el punto máximo del pico hasta el punto de inflexión del frente del pico. Un factor de asimetría menor que 1,0 indica que la cola del pico es más ancha que el frente, lo que se conoce como asimetría de la cola. Por el contrario, un factor de asimetría mayor que 1,0 indica que la cola del pico es más estrecha que el frente, lo que se conoce como asimetría del frente del pico. La asimetría en los picos cromatográficos puede deberse a una variedad de factores, como la interacción entre la fase móvil y la fase estacionaria, la presencia de impurezas o la saturación de la columna<sup>67</sup>.

El factor de asimetría es una medida importante en HPLC porque puede afectar la precisión y la exactitud del análisis. Una asimetría excesiva puede dificultar la integración precisa del pico y la determinación cuantitativa del analito. Por lo tanto, los factores de asimetría se utilizan para evaluar y optimizar las condiciones cromatográficas, como la selección de la fase móvil y la fase estacionaria, el caudal y la temperatura, con el fin de lograr picos cromatográficos simétricos y reproducibles<sup>67</sup>.

#### **2.14.4 Eficiencia de la columna cromatográfica.**

La eficiencia de la columna cromatográfica en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es una medida de la capacidad de la columna para separar los componentes de una muestra de manera eficaz y reproducible. Se relaciona directamente con la resolución de picos y la capacidad de separar analitos cercanos entre sí en el menor tiempo posible. Cuanto mayor sea la eficiencia de la columna, mejor será la resolución de los picos

cromatográficos y más precisa será la separación de los componentes de la muestra. La eficiencia de la columna se determina principalmente por la calidad de la fase estacionaria y la fase móvil utilizada, así como por las dimensiones físicas de la columna, como la longitud y el diámetro interno<sup>68</sup>.

Para evaluar la eficiencia de la columna en HPLC, se utilizan parámetros como el número de platos teóricos y la altura equivalente a un plato. El número de platos teóricos es una medida de la capacidad de separación de la columna y se calcula utilizando la ecuación de Van Deemter, que tiene en cuenta la difusión longitudinal, la difusión eddy y la resistencia a la transferencia de masa. Cuanto mayor sea el número de platos teóricos, mayor será la eficiencia de la columna y mejor será la separación de los componentes de la muestra.

Por otro lado, la altura equivalente a un plato es una medida de la eficacia de la columna en términos de la distancia necesaria para que un soluto pase a través de la columna<sup>68</sup>.

La eficiencia de la columna en HPLC es esencial para la obtención de resultados analíticos precisos y reproducibles en una amplia gama de aplicaciones, como el análisis farmacéutico, ambiental y bioquímico. Por lo tanto, es importante optimizar las condiciones cromatográficas, como la selección adecuada de la fase estacionaria y la fase móvil, así como las dimensiones de la columna, para maximizar la eficiencia de separación y garantizar la calidad de los resultados analíticos<sup>68</sup>.

### **2.15 Ensayo de disolución de medicamentos sólidos.**

La prueba de disolución de fármaco sólido es un método de evaluación crítico que se utiliza para evaluar la velocidad y el grado en que una sustancia farmacológica se disuelve de su forma farmacéutica sólida, como tabletas, cápsulas o polvos, cuando se expone a un medio de disolución específico. Esta prueba proporciona información crucial sobre la biodisponibilidad del fármaco, pues el proceso de disolución es un requisito previo para la absorción del fármaco en el cuerpo. La prueba de disolución ayuda a garantizar

características consistentes de liberación del fármaco en diferentes lotes del mismo producto farmacéutico y ayuda en el desarrollo, optimización y control de calidad de formulaciones farmacéuticas<sup>69</sup>.

Varios tipos de medicamentos, incluidas las formulaciones de liberación inmediata y de liberación controlada, están sujetos a pruebas de disolución. Las formulaciones de liberación inmediata, diseñadas para una rápida liberación y absorción del fármaco, generalmente se someten a pruebas de disolución para confirmar su capacidad para liberar el fármaco dentro de un período de tiempo específico. Por otro lado, las formulaciones de liberación controlada están formuladas para liberar el fármaco durante un período prolongado y se realizan pruebas de disolución para evaluar su cinética de liberación y garantizar que el fármaco se libere al ritmo previsto<sup>69</sup>.

Se utilizan varios dispositivos de disolución para realizar la prueba de disolución, incluida una paleta sobre disco, una cesta giratoria y un aparato de celda de flujo continuo. Estos dispositivos difieren en sus principios operativos y se seleccionan en función de las características físicas de la forma farmacéutica y los requisitos del medicamento. El aparato de paleta sobre disco emplea una paleta giratoria para agitar el medio de disolución, proporcionando una mezcla suave propicia para evaluar formulaciones de liberación inmediata. El aparato de cesta giratoria utiliza una cesta giratoria para sostener la forma farmacéutica, imitando las condiciones que se encuentran en el estómago. El aparato de celda de flujo continuo permite el flujo continuo del medio de disolución sobre la forma farmacéutica, adecuado para estudiar fármacos poco solubles o formulaciones de liberación controlada<sup>70</sup>.

La importancia de la prueba de disolución radica en su capacidad para predecir el rendimiento del fármaco in vivo y garantizar la calidad y eficacia del producto. Al simular condiciones fisiológicas en el laboratorio, la prueba de disolución proporciona información valiosa sobre el comportamiento del fármaco en el tracto gastrointestinal, lo que ayuda a identificar problemas de formulación o variaciones de fabricación que pueden afectar la liberación del fármaco. Además, las agencias reguladoras de todo el mundo, como la

Farmacopea de los Estados Unidos (USP) y la Farmacopea Europea (Ph. Eur.), exigen pruebas de disolución como parte del proceso de aprobación de medicamentos, lo cual subraya su importancia en el desarrollo farmacéutico y el cumplimiento normativo<sup>70</sup>.

Las técnicas analíticas comúnmente utilizadas para analizar los resultados de las pruebas de disolución incluyen la espectroscopia UV-visible, la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y la espectrofotometría. La espectroscopia UV-visible se emplea ampliamente por su simplicidad y rentabilidad en la cuantificación de concentraciones de fármacos en medios de disolución. La técnica de HPLC ofrece selectividad y sensibilidad superiores, lo que permite la determinación simultánea de múltiples componentes, incluidos ingredientes farmacéuticos activos y productos de degradación. La espectrofotometría, en particular la espectroscopia infrarroja (IR) y de resonancia magnética nuclear (RMN), puede proporcionar información adicional sobre las interacciones moleculares y los cambios en la estructura química durante la disolución<sup>71</sup>.

### **2.15.1 Medios de disolución.**

En los ensayos de disolución, el medio de disolución sirve como entorno simulado en el que se exponen las formas farmacéuticas sólidas para evaluar su comportamiento de disolución. El medio de disolución imita las condiciones fisiológicas que se encuentran en el tracto gastrointestinal, proporcionando un medio estandarizado para probar las características de liberación de fármacos de las formulaciones farmacéuticas. La selección de un medio de disolución apropiado es crucial, ya que influye directamente en la velocidad de disolución y el grado de liberación del fármaco, lo que a su vez afecta la biodisponibilidad y la eficacia terapéutica del fármaco. El medio de disolución debe ser capaz de solubilizar adecuadamente la sustancia farmacológica, mantener las condiciones de sumidero para evitar la saturación y replicar el pH y la composición de los fluidos biológicos relevantes<sup>72</sup>.

En los ensayos de disolución se utilizan varios medios de disolución, según los requisitos específicos del producto farmacéutico que se prueba. Los medios de disolución

comunes incluyen líquido gástrico simulado (SGF), líquido intestinal simulado (SIF) y soluciones tampón de fosfato de pH variable. El SGF, diseñado para simular el ambiente ácido del estómago, normalmente contiene ácido clorhídrico y, a veces, enzimas como la pepsina para replicar las condiciones gástricas. El SIF, destinado a imitar el ambiente alcalino del intestino delgado, puede incluir sales biliares y enzimas como la pancreatina. Además, a menudo se emplean soluciones tampón con valores de pH específicos para estudiar la influencia del pH en la disolución del fármaco, ya que puede afectar significativamente la solubilidad del fármaco y la cinética de liberación<sup>73</sup>.

La composición y el pH del medio de disolución se seleccionan cuidadosamente en función de factores como las propiedades fisicoquímicas del fármaco, el sitio previsto de absorción del fármaco y las características de la formulación. Por ejemplo, los fármacos que son ácidos o bases débiles pueden presentar una solubilidad dependiente del pH, lo cual requiere el uso de medios con valores de pH correspondientes al sitio de absorción para predecir con precisión el rendimiento in vivo. Además, la Farmacopea de EE. UU. (USP) y otras autoridades reguladoras proporcionan pautas y especificaciones para los medios y condiciones de disolución para garantizar la coherencia y reproducibilidad en las pruebas de disolución<sup>74</sup>.

## **2.16 Concentración de sustancias representada como masa / volumen.**

La concentración de una sustancia en miligramos por mililitro (mg/mL) es una medida de la cantidad de un soluto disuelto en un disolvente, expresada como la masa del soluto por unidad de volumen de la solución. Esta unidad de concentración se usa comúnmente en diversos campos, incluidos la química, la farmacia y la biología, donde se requieren mediciones precisas de la concentración de soluto. La concentración en mg/ml proporciona una medida cuantitativa de la presencia del soluto en la solución y es particularmente útil cuando se trata de sustancias que tienen masas molares bajas o que están disponibles en forma sólida<sup>75</sup>.

Para calcular la concentración de una sustancia en mg/mL, primero se debe determinar la masa del soluto (en miligramos) y luego dividir este valor por el volumen de la solución (en mililitros)<sup>75</sup>.

La concentración de mg/ml se utiliza ampliamente en formulaciones farmacéuticas, donde la dosificación precisa y la administración precisa del fármaco son fundamentales. En farmacia, es común preparar soluciones con concentraciones específicas de mg/mL para asegurar uniformidad y consistencia en la administración de medicamentos. Por ejemplo, los medicamentos líquidos orales, las soluciones intravenosas y los medicamentos inyectables a menudo se formulan para contener una cantidad específica de ingrediente activo por mililitro de solución, lo que facilita una dosificación precisa para los pacientes<sup>76</sup>.

La concentración de una sustancia en mg/mL también desempeña un papel crucial en la química analítica y los experimentos de laboratorio, donde las mediciones precisas son esenciales para una interpretación precisa de los datos y la reproducibilidad de los resultados. En técnicas analíticas como espectrofotometría, cromatografía y titulación, se preparan soluciones con concentraciones conocidas para calibrar instrumentos, construir curvas de calibración o determinar concentraciones desconocidas de analitos. Además, en la investigación biológica, se utilizan soluciones con concentraciones específicas de mg/ml para cultivos celulares, ensayos bioquímicos y pruebas de fármacos, lo cual permite a los investigadores controlar la cantidad de soluto entregado a las células u organismos<sup>76</sup>.

### **2.17 Solución de estándar primario.**

Una solución estándar primaria es una solución de concentración conocida que se utiliza como referencia en análisis volumétricos y calibración de instrumentos analíticos. Esta solución se prepara a partir de una sustancia de altísima pureza y estabilidad, conocida como estándar primario, que permite una determinación exacta y precisa de su concentración. Las sustancias estándar primarias suelen ser altamente solubles, químicamente puras y tener una masa molar alta para minimizar los errores en el pesaje. Estas sustancias se eligen en función

de su estabilidad, facilidad de preparación y compatibilidad con el método analítico que se utiliza<sup>77</sup>.

La preparación de una solución estándar primaria implica pesar con precisión una masa conocida de la sustancia estándar primaria y disolverla en un disolvente adecuado para obtener una solución de concentración conocida. Luego, la solución se diluye hasta el volumen deseado en un matraz volumétrico, que está calibrado para suministrar un volumen preciso de líquido. Luego, la solución estándar primaria se almacena en un recipiente herméticamente cerrado para evitar la contaminación o degradación, y su concentración se verifica periódicamente mediante titulación u otros métodos analíticos para garantizar la precisión y la estabilidad. La solución estándar primaria sirve como referencia para calibrar material de vidrio volumétrico, estandarizar soluciones valorantes y realizar análisis cuantitativos en diversos campos, incluidos químicos, productos farmacéuticos y pruebas ambientales<sup>77</sup>.

El uso de soluciones estándar primarias es esencial para lograr resultados precisos y reproducibles en análisis cuantitativos. Estas soluciones proporcionan un punto de referencia confiable para determinar la concentración de sustancias desconocidas y calibrar instrumentos analíticos como espectrofotómetros, medidores de pH y cromatógrafos. Al utilizar soluciones estándar primarias, los analistas pueden minimizar los errores asociados con la preparación de la solución, el pesaje y las mediciones volumétricas, mejorando así la precisión y confiabilidad de sus datos experimentales<sup>77</sup>.

### **2.18 Curvas de calibración en análisis de cromatografía de alta eficiencia.**

Las curvas de calibración son un componente esencial del análisis de cromatografía de alta eficiencia, como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o la cromatografía de gases (GC). Estas curvas son representaciones gráficas de la relación entre la concentración de analito en una muestra y una respuesta mensurable, típicamente área de pico o altura de pico, obtenida del detector cromatográfico. Las curvas de calibración se

construyen analizando soluciones estándar de concentraciones de analitos conocidas en condiciones cromatográficas idénticas a las utilizadas para el análisis de muestras. Luego se trazan los puntos de datos resultantes y se realiza un análisis de regresión para establecer una relación matemática entre la concentración del analito y la respuesta del detector<sup>78</sup>.

La construcción de curvas de calibración permite la cuantificación de analitos en muestras desconocidas en función de su respuesta cromatográfica. Comparando el área del pico o la altura del analito en la muestra con los valores correspondientes obtenidos de la curva de calibración, se puede determinar la concentración del analito en la muestra. Las curvas de calibración proporcionan un medio para traducir respuestas instrumentales en valores de concentración significativos, lo cual permite una cuantificación exacta y precisa de analitos en matrices complejas. Además, las curvas de calibración se pueden utilizar para evaluar la linealidad, la sensibilidad y el rango dinámico del método cromatográfico, lo que proporciona información valiosa sobre su rendimiento analítico<sup>78</sup>.

Se deben considerar varios factores al construir curvas de calibración para análisis cromatográficos. Estos incluyen seleccionar un rango apropiado de concentraciones de analitos que abarque las concentraciones esperadas en las muestras, garantizar la exactitud y precisión de las soluciones estándar utilizadas para la calibración y evaluar la idoneidad de la variable de respuesta elegida (área o altura del pico) para la cuantificación. Además, la selección de un modelo de regresión apropiado, como lineal, cuadrático o exponencial, es crucial para capturar con precisión la relación entre la concentración del analito y la respuesta del detector<sup>79</sup>.

La precisión y confiabilidad de las curvas de calibración en el análisis cromatográfico dependen de la calidad de los datos obtenidos durante el análisis de la solución estándar, la solidez del método cromatográfico y la idoneidad del modelo de regresión utilizado. Las comprobaciones periódicas de calibración y los experimentos de validación son esenciales para verificar la exactitud y precisión de las curvas de calibración y garantizar la validez de los resultados analíticos. En general, las curvas de calibración desempeñan un papel central

en el análisis cromatográfico cuantitativo, ya que proporcionan un enfoque sistemático y estandarizado para determinar la concentración de analitos en muestras complejas<sup>79</sup>.

## **CAPÍTULO III – MARCO METODOLÓGICO**

En el presente capítulo se describe el procedimiento a emplear para la elaboración del proyecto de investigación, el desarrollo metodológico de los perfiles de disolución comparativos, y también el procedimiento a seguir para la optimización del método analítico.

### **3.1 Enfoque de la investigación**

El enfoque de la presente investigación es de tipo cuantitativo, que corresponde a la aplicación de un método secuencial y probatorio, que tiene como objetivo medir con precisión ciertas variables en un contexto dado. La recopilación de datos se basa en observaciones, mediciones y registros realizados con diversos instrumentos de medición analítica estandarizados que la comunidad científica considera válidos y confiables; los resultados obtenidos se analizan con métodos estadísticos, que permiten identificar ciertos patrones de comportamiento y así tratar de probar diferentes teorías entre las muestras; por lo tanto, dichos estudios son objetivos y permiten replicar datos para confirmar o predecir un fenómeno en estudio<sup>80</sup>.

Dicho enfoque se establece a partir de una idea de investigación, de la que se despliegan objetivos y la pregunta de investigación. El surgimiento de distintas hipótesis y variables de investigación se origina a partir de una búsqueda bibliográfica que permite tener una perspectiva teórica del problema a investigar, pero es necesario definir el diseño de la investigación, que establezca la ruta de investigación y los procedimientos para cumplir los objetivos<sup>80</sup>.

El diseño de la presente investigación incluye los procedimientos para la optimización de métodos analíticos con diferentes diluentes y valores de pH, que son los mismos medios de disolución a utilizar en las pruebas de los perfiles de disolución; esta optimización permite determinar si las características de desempeño son adecuadas y generar datos aceptables, que permitan, posterior al análisis correspondiente, extraer conclusiones y responder la pregunta de investigación.

### **3.2 Tipo de investigación**

El presente trabajo de investigación se clasifica como investigación experimental o de laboratorio. Este tipo de investigación científica implica la manipulación y control de variables independientes con el fin de observar y medir sus efectos sobre una variable dependiente en un ambiente controlado y replicable.

Según Hernández<sup>80</sup>, la investigación experimental o de laboratorio es aquella que se lleva a cabo en un ambiente controlado en el que el investigador manipula una o más variables independientes para determinar su efecto sobre una variable dependiente. Se trata de una metodología que permite establecer relaciones causales entre variables y generar conocimiento sobre la naturaleza de los fenómenos estudiados.

En un estudio de laboratorio es fundamental conocer la capacidad de medición de los instrumentos y las incertidumbres asociadas a sus resultados. Esto permite establecer una incertidumbre combinada aplicable al resultado final, ya que, no es posible obtener resultados y asegurar que son exactos, pero si es posible medir que tanto se alejan del valor real. A medida que los equipos son más exactos y precisos, las condiciones experimentales (calibraciones y verificaciones) y ambientales (temperatura y humedad) son controladas, la incertidumbre se hace más pequeña y el resultado más confiable. Es por esto que el proceso de optimización de métodos es fundamental para iniciar las operaciones de laboratorio y la generación de datos.

### **3.3 Fuentes de Información**

De acuerdo a Hart<sup>81</sup>, las fuentes de información de una investigación son todos los recursos que se utilizan para obtener datos, información o conocimientos relevantes para el estudio en cuestión. Las fuentes de información pueden ser primarias o secundarias y pueden incluir:

- 3.3.1 Fuentes primarias: son aquellas que proporcionan información de primera mano sobre el tema de investigación y que han sido recopiladas por el investigador como entrevistas, observaciones, o experimentos.
- 3.3.2 Fuentes secundarias: son las que proporcionan información que ha sido compilada y analizada previamente por otra persona o entidad. Estas son libros, artículos de revistas científicas, informes, estadísticas, bases de datos, entre otros.

Es importante evaluar cuidadosamente la calidad y relevancia de las fuentes de información a utilizar. En el caso de investigaciones experimentales, la mayor fuente de información para obtener conclusiones, son los propios resultados de la investigación y que son los que determinan el éxito en el cumplimiento de los objetivos.

### 3.4 Criterios de búsqueda de la información.

En el siguiente apartado se organizan las herramientas de búsqueda de información y artículos científicos que sirven de apoyo a los resultados generados durante la investigación. En la Tabla 1, se detallan los motores de búsqueda y los descriptores utilizados en dichas páginas y los filtros aplicables en la búsqueda de términos de acuerdo a cada objetivo específico de la investigación.

**Tabla 1. Criterios de búsqueda utilizados según objetivo.**

<b>Objetivo</b>	<b>Descriptores</b>	<b>Motor de búsqueda</b>	<b>Periodo de estudio</b>	<b>Idioma</b>
Optimizar la metodología analítica de disolución y cuantificación para las cápsulas de Gabapentina según la metodología de los libros oficiales.	Optimización de metodología analítica de disolución de Gabapentina	Google académico Scielo Dialnet	2019 - 2023	Español / Inglés
	Cuantificación de cápsulas de Gabapentina 300 mg	Google académico Scielo Dialnet	2019 - 2023	Español / Inglés

Evaluar el control de calidad fisicoquímico de las cápsulas de Gabapentina a través de los ensayos de disolución, valoración y uniformidad de dosificación.	Control de calidad de cápsulas de Gabapentina 300 mg	Google académico Scielo Dialnet	2019 - 2023	Español / Inglés
	Prueba de disolución de cápsulas de Gabapentina 300 mg	Google académico Scielo Dialnet	2019 - 2023	Español / Inglés
Realizar los perfiles de disolución del medicamento de referencia y de los medicamentos genéricos en estudio en tres medios de disolución diferente.	Perfiles de disolución de cápsulas genéricas de Gabapentina 300 mg	Google académico Scielo Dialnet	2019 - 2023	Español / Inglés
Determinar los valores del factor de diferencia f1 y similitud f2 entre los perfiles de disolución del medicamento de referencia y los medicamentos genéricos en estudio mediante los análisis estadísticos.	Análisis estadísticos de factores f1 y f2 en perfiles de disolución	Google académico Scielo Dialnet	2019 - 2023	Español / Inglés

Fuente: Elaboración propia.

### 3.5 Criterios de Inclusión y criterios de exclusión.

En esta sección se describen los criterios a utilizar para incluir o excluir los artículos encontrados durante la búsqueda de información según objetivos, lo que permite delimitar y reducir la cantidad de material con valor agregado para la investigación.

Es decir, se establece un filtro para la información encontrada y que funciona de parámetro para incluir información como apoyo de los resultados. A continuación, en la Tabla 2, se detalla los conceptos clave que sirven de guía para seleccionar la información.

**Tabla 2. Criterios de exclusión y criterios de inclusión para la selección de artículos científicos.**

<b>Criterios de inclusión</b>	<b>Criterios de exclusión</b>
Artículos sobre pruebas de disolución en cápsulas de Gabapentina 300 mg.	Artículos sobre test de disolución en medicamentos en general.
Artículos sobre pruebas de control de calidad y cuantificación de Gabapentina cápsulas.	Artículos sobre pruebas de control de calidad de medicamentos en general.
Artículos sobre perfiles de disolución de cápsulas de Gabapentina 300 mg.	Artículos sobre perfiles de disolución de medicamentos en general.
Artículos sobre validación de métodos analíticos para perfiles de disolución.	Artículos sobre validación de métodos analíticos de otras técnicas.
Artículos sobre análisis estadístico de datos con factores f1 y f2 de perfiles de disolución.	Artículos de análisis estadístico de datos de otras pruebas analíticas.

Fuente: Elaboración propia.

### **3.6 Instrumentos analíticos a utilizar para el desarrollo del proyecto.**

Para el desarrollo del proyecto es necesario contar con instrumentos analíticos debidamente verificados y en uso, cristalería y reactivos químicos, sustancias de referencia y muestras de ambos medicamentos. Estos insumos son suministrados por parte del Laboratorio Farmacéutico Nacional.

**Tabla 3. Equipos analíticos utilizados para la elaboración del proyecto de investigación.**

<b>Equipo</b>	<b>Marca</b>	<b>Modelo</b>
Cromatógrafo Líquido de Alta Presión	Shimatzu	Prominence- i LC-2030 Plus
Balanza de precisión	Mettler Toledo	XP 26
Balanza de precisión	Sartorius	MSA36S-000-DH
Balanza analítica	Mettler Toledo	XP 205
Balanza granataria	Sartorius	LA620S
Disolutor	Hanson	Vision Elite 8
Disolutor	Agilent	708-DS

Fuente: Elaboración propia.

### **3.7 Procedimiento para realizar las pruebas de evaluación de la calidad de los medicamentos.**

Para realizar la evaluación de la conformidad de ambos productos, tanto el producto de marca como el genérico, se sigue la metodología oficial USP que establece las condiciones del método para las pruebas de desempeño y ensayo.

#### **3.7.1 Condiciones analíticas para la prueba de desempeño (disolución).**

El método USP requiere de las siguientes condiciones para la determinación de la prueba de disolución, aplicable a ambos medicamentos.

**Tabla 4. Condiciones del método para la determinación de la prueba de desempeño.**

<b>Característica del método</b>	<b>Especificación</b>
Medio de disolución	Ácido Clorhídrico 0,6 N
Volumen del medio de disolución	900 mL
Aparato de disolución	Aparato 2 (paletas)
Tiempo de disolución	20 minutos
Solución muestra	Muestra directa. Filtrada por 0,45 µm
Solución estándar	0,33 mg/mL de Gabapentina diluido en medio de disolución
Fase móvil	Buffer de fosfato de potasio monobásico y acetonitrilo
Técnica analítica	Cromatografía líquida de alta precisión
Valor de aceptación: Q	No menos de 80 %
Eficiencia de la columna	No menos de 7000 platos teóricos
Factor de cola del pico principal	No más de 2.0
Desviación estándar relativa	No más de 2.0 %

Fuente: Elaboración propia.

Es importante seguir las condiciones específicas del aparato de cromatografía líquida de alta precisión que se resumen en la siguiente tabla.

**Tabla 5. Condiciones específicas del equipo HPLC para la determinación de la prueba de desempeño.**

<b>Característica del método</b>	<b>Especificación</b>
Longitud de onda	210 nm
Dimensiones de la columna	4,6 mm x 25 cm, relleno de 5 µm
Tipo de columna	C8 (clasificación USP L7)
Velocidad de flujo	1,2 ml/min
Volumen de inyección	100 µL
Presión máxima permitida	300 bares
Temperatura de la columna	Ambiente

Fuente: Elaboración propia.



**Ilustración 2. Equipo de HPLC marca Shimadzu, modelo LC-2030 Plus<sup>82</sup>.**

Para la preparación de todas las soluciones necesarias para desarrollar la prueba de desempeño se utilizan los siguientes reactivos químicos.

**Tabla 6. Reactivos químicos necesarios para la elaboración de la prueba de desempeño.**

<b>Reactivo</b>	<b>Marca</b>
Ácido Clorhídrico concentrado	J.T. Baker

Fosfato monobásico de potasio	J.T. Baker
Hidróxido de potasio	Sigma-Aldrich
Acetonitrilo	Supelco (Merck)
Agua	Destilada y filtrada en el laboratorio

Fuente: Elaboración propia.

### 3.7.2 Preparación del medio de disolución.

Para elaboración del medio de disolución, se siguen las instrucciones del método oficial USP, que establece que se debe colocar 900 mL de Ácido Clorhídrico al 0,6 N, en cada frasco y realizar la prueba en 6 frascos<sup>12</sup>.

Para preparar 6 L de medio de disolución, se añaden 30,6 mL de Ácido Clorhídrico concentrado a 6 L de agua destilada y mezclar. Medir con la mayor exactitud posible 900 mL y colocar en cada frasco del aparato de disolución, cuyo baño debe estar a una temperatura de  $(37,0 \pm 0,5)$  ° C. Cuando cada uno de los frascos hayan alcanzado una temperatura uniforme y dentro del rango especificado, se puede iniciar la prueba de desempeño.

### 3.7.3 Preparación de la fase móvil para el análisis del ensayo de disolución por HPLC.

El método oficial USP requiere de preparar una fase móvil, que se prepara de la siguiente manera: disolver 1,2 g de fosfato de potasio monobásico de potasio en 940 mL de agua destilada, ajustar la solución a un pH de 6,9 utilizando hidróxido de potasio al 5N, adicionar 60 mL de acetonitrilo y mezclar<sup>12</sup>.

### 3.7.4 Preparación de las muestras de disolución para el análisis por HPLC.

Posterior al acondicionamiento del equipo de disolución, se colocan las muestras en cada uno de los frascos, con una diferencia de 30 segundos entre cada muestra, de esta manera se muestrea cada frasco con el mismo margen de tiempo. Al cabo de 20 minutos desde el inicio de la disolución, se extra y filtra por  $10\ \mu\text{m}$  una cantidad de muestra aproximada de 10 mL.

Para preparar los viales que se analizan en el equipo HPLC, se filtra cada muestra utilizando un filtro analítico de  $0,45\ \mu\text{m}$ . La potencia de las muestras corresponde a 300 mg de gabapentina, por lo tanto, la concentración final de las misma es de 0,33 mg/mL.



**Ilustración 3. Aparato de disolución marca Hanson, modelo Vision G2 Elite 8<sup>83</sup>.**

### **3.7.5 Preparación de solución estándar para el análisis por HPLC.**

La solución estándar que se utiliza para comparar la solución muestra, se debe preparar a partir de un estándar de pureza exactamente conocida, puede ser un estándar primario o bien un estándar secundario previamente preparado y trazable a un estándar primario. La concentración final de estándar sigue la siguiente fórmula:  $0,0011L$  mg/mL de Gabapentina, donde el factor  $L$ , es la potencia declarada en las cápsulas en mg. Para este caso las cápsulas tienen una potencia de 300 mg, por lo tanto, la concentración final del estándar debe ser 0,33 mg/mL. Para la preparación del mismo se deben colocar, con la mayor exactitud 8,30 mg de estándar, en un balón aforado de 25,0 mL y 5 mL de medio de disolución. Disolver con ayuda de ultrasonido, dejar enfriar y aforar con el medio de disolución. Realizar este paso por duplicado, de manera que se tenga un *Estándar de control* y un *Estándar de trabajo*.

### **3.7.6 Preparación y acondicionamiento del equipo HPLC para análisis de la prueba de disolución.**

La preparación del equipo de HPLC es fundamental para asegurar la confiabilidad de los resultados. Este proceso consiste en acondicionar la columna cromatográfica con la fase móvil durante un tiempo aproximado de 15 minutos. Posteriormente, realizar pruebas con las soluciones estándar para verificar las características del pico, como tiempo de retención, forma del pico principal, picos secundarios, y determinación del tiempo de corrida para muestra.

Una vez que el equipo cromatográfico se encuentre acondicionado se procede a realizar una secuencia, en la que se coloca el orden en el que se quiere que se realicen las respectivas inyecciones. Para verificar las condiciones cromatográficas durante la corrida de la secuencia, se inyecta una solución estándar al inicio de la corrida y al final de la misma.

### 3.7.7 Cálculo de los resultados del análisis de prueba de disolución por HPLC.

La metodología oficial USP establece la fórmula de cálculo que se debe aplicar para la determinación del porcentaje disuelto en la prueba de desempeño de la siguiente manera:

$$\% \text{ disuelto} = \frac{\text{área del pico de muestra}}{\text{área del pico de estándar}} \times \text{concentración estándar} \times 900 \text{ mL} \times \frac{1}{300 \text{ mg}} \times 100$$

Una vez determinado los resultados de porcentajes para cada muestra, se evalúan individualmente cada muestra y debe tener un resultado de Q + 5 %, esto para aplica formas farmacéuticas de liberación inmediata, y el requerimiento en el nivel S1, implica que, de las 6 unidades, ninguna es menor que Q + 5 %.

### 3.7.8 Condiciones para la prueba de ensayo (valoración promedio).

La monografía oficial USP establece las condiciones para el análisis del ensayo o valoración promedio del medicamento, este método es aplicable a ambos medicamentos, y los resultados obtenidos son igualmente válidos.

**Tabla 7. Condiciones del método para la prueba de ensayo (valoración promedio).**

<b>Característica del método</b>	<b>Especificación</b>
Diluyente	Buffer de fosfato de potasio monobásico
Solución muestra	Solución de muestra a 4.0 mg/mL del contenido de 20 cápsulas
Solución estándar	4.0 mg/mL de Gabapentina diluido en diluyente
Fase móvil	Buffer de fosfato de potasio monobásico y acetonitrilo
Técnica analítica	Cromatografía líquida de alta precisión
Valor de aceptación (%)	90.0 % a 110.0 %
Eficiencia de la columna	No menos de 7000 platos teóricos

Factor de cola del pico principal	No más de 2.0
Desviación estándar relativa	No más de 2.0 %

Fuente: Elaboración propia.

Estas condiciones son las que el producto debe cumplir para ser considerado como aceptable y válido, tanto el valor de aceptación como los parámetros de aptitud del método como el factor de cola, y la eficiencia de la columna (platos teóricos).

**Tabla 8. Condiciones específicas del equipo HPLC para la prueba de ensayo.**

Característica del método	Especificación
Longitud de onda	210 nm
Dimensiones de la columna	4,6 mm x 25 cm, relleno de 5 µm
Tipo de columna	C8 (clasificación USP L7)
Velocidad de flujo	1,2 ml/min
Volumen de inyección	50 µL
Presión máxima permitida	300 bares
Temperatura de la columna	Ambiente

Fuente: Elaboración propia.

Para la preparación de todas las soluciones necesarias, como fase móvil y diluyente para desarrollar la prueba de ensayo se utilizan los siguientes reactivos químicos.

**Tabla 9. Reactivos químicos necesarios para la elaboración de la prueba de ensayo.**

Reactivo	Marca
Fosfato monobásico de potasio	J.T. Baker
Hidróxido de potasio	Sigma-Aldrich

Acetonitrilo	Supelco (Merck)
Agua	Destilada y filtrada en el laboratorio

Fuente: Elaboración propia.

### **3.7.9 Preparación del diluyente para la prueba de ensayo.**

La metodología oficial USP para cápsulas de Gabapentina indica la preparación del diluyente a utilizar en la prueba de ensayo, que se debe prepara de la siguiente manera: 1,2 g de fosfato de potasio monobásico en un 1 L de agua destilada, ajustado con una solución de hidróxido de potasio (5 N) a un pH de 6,9. Esta solución se utiliza para disolver tanto la solución de muestra, como la solución estándar.

### **3.7.10 Preparación de la solución muestra para la prueba de ensayo (valoración promedio).**

La solución muestra debe tener una concentración final de 4,0 mg/mL que se prepara a partir de la mezcla del contenido de no menos de 20 capsulas. Se debe conocer el peso exacto de las 20 cápsulas, posteriormente vaciar el contenido en un recipiente adecuado y proceder a pesar las mismas 20 cápsulas vacías, se debe limpiar las cápsulas y evitar dejar cualquier residuo en las mismas. La diferencia de peso entre cápsulas llenas y vacías es el peso del contenido de las cápsulas, esta mezcla es conocida como pool de muestra.

Cuando se conoce el peso del contenido de las cápsulas, se divide entre la cantidad de unidades utilizadas en el pool, de esta manera se tiene un valor de peso promedio por muestra. En este caso el peso promedio se divide entre 20.

Con el valor de peso promedio de muestra, se calcula la cantidad de muestra que se debe pesar para tener el peso equivalente a 100 mg de principio activo (Gabapentina), como indica la monografía oficial, y se disuelve en solución diluyente, utilizando un balón aforado apropiado para tener una concentración final de 4,0 mg/mL.

La preparación de la solución muestra debe emplear balones de 25,0 mL, con un peso equivalente de 100 mg de principio activo.

Se puede colocar la muestra con una pequeña cantidad de diluyente en un baño ultrasónico durante 60 s, para asegurar que se disuelva completamente, una vez disuelto se lleva diluyente hasta la marca de aforo y se agita.

### **3.7.11 Preparación de la solución estándar para la prueba de ensayo (valoración promedio).**

La solución estándar, se utiliza para comparar y calcular el contenido de principio activo en la solución muestra, se debe preparar partiendo de un estándar de pureza y contenido de humedad exactamente conocida, puede ser un estándar primario o bien un estándar secundario previamente preparado y trazable a un estándar primario.

La concentración final de estándar es de 4,0 mg/mL de Gabapentina. Para la preparación del mismo se deben colocar, con la mayor exactitud 40 mg de estándar, en un balón aforado de 10,0 mL. Colocar una pequeña cantidad de disolvente y desintegrar el estándar con ayuda de ultrasonido, dejar enfriar y llevar hasta la marca de aforo con disolvente. Realizar este paso por duplicado, de manera que se tenga un *Estándar de control* y un *Estándar de trabajo*.

### **3.7.12 Preparación de la fase móvil para el análisis de la prueba de ensayo por HPLC.**

El método oficial USP para la prueba de ensayo requiere de preparar una fase móvil, disolviendo 1,2 g de fosfato de potasio monobásico de potasio en 940 mL de agua destilada, ajustando la solución a un pH de 6,9 utilizando hidróxido de potasio al 5N como regular del pH, adicionar 60 mL de acetonitrilo y mezclar hasta homogeneizar.

### **3.7.13 Preparación y acondicionamiento del equipo HPLC para análisis de la prueba de ensayo.**

La preparación del equipo de HPLC es esencial para garantizar resultados confiables. El proceso consiste en acondicionar la columna con la fase móvil durante aproximadamente 15 minutos.

Luego se realizan pruebas con soluciones estándar para examinar las propiedades y características de los picos, como el tiempo de retención, la forma del pico principal y del pico secundario, y la determinación del tiempo de retención de la muestra. Una vez que el equipo de cromatografía esté acondicionado, se realiza una secuencia en la que se inserta la el orden de inyecciones de muestras y estándares a realizar.

Para verificar las condiciones cromatográficas durante la secuencia, se inyectaron soluciones estándar al principio y al final de la misma.

### **3.7.14 Cálculo de los resultados del análisis de la prueba de ensayo por HPLC.**

La metodología oficial USP, establece la fórmula de cálculo que se debe aplicar para la determinación del porcentaje de contenido de principio activo en las cápsulas de la siguiente manera:

$$\% \text{ promedio} = \frac{\text{área del pico de la muestra}}{\text{área del pico del estándar}} \times \frac{\text{Concentración del estándar (mg/mL)}}{\text{Concentración de la muestra (mg/mL)}} \times 100$$

Una vez determinado el porcentaje promedio para el lote en estudio se compara con la especificación, que para las cápsulas de Gabapentina (C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub>) se establece como límite inferior 90,0 % y como límite superior 110,0 %.

### **3.7.15 Condiciones para la prueba de uniformidad de unidades de dosificación.**

La prueba de uniformidad de unidades de dosificación es un método para demostrar la uniformidad en la cantidad de sustancia activa en cada unidad de dosificación de un medicamento. Esta prueba se realiza mediante el análisis de la cantidad de sustancia activa en una muestra representativa de unidades de dosificación del lote.

El objetivo es asegurar que cada unidad de dosificación contenga una cantidad de sustancia activa dentro de un rango estrecho alrededor de la cantidad declarada en la etiqueta del medicamento.

Si la cantidad de sustancia activa en cada unidad de dosificación varía demasiado, puede haber riesgos para la seguridad y eficacia del medicamento. La prueba de uniformidad de contenido es una de las dos pruebas que se pueden utilizar para demostrar la uniformidad de las unidades de dosificación, la otra es la prueba de variación de peso.

La variación de peso es especialmente relevante en formas farmacéuticas sólidas, como tabletas y cápsulas, donde el peso de cada unidad puede influir en la dosis y, por lo tanto, en la eficacia del medicamento.

De acuerdo con la Farmacopea de los Estados Unidos, la prueba de variación de peso se puede aplicar a cápsulas duras, tabletas sin recubrimiento o tabletas recubiertas, que contienen 25 mg o más de una sustancia activa que comprende el 25 % o más, en peso, de la unidad de dosificación o, en el caso de cápsulas duras, el contenido de la cápsula<sup>12</sup>.

En el caso de las cápsulas de Gabapentina 300 mg, se cumplen las condiciones para aplicar el método de variación de peso a las cápsulas duras. Para esto se seleccionan 10 cápsulas del lote en estudio y se pesan individualmente. Posteriormente se remueve el contenido sólido y se pesa nuevamente cada cápsula vacía.

La diferencia entre el peso de cápsulas llenas y vacías (peso neto), es el peso del contenido de cada cápsula evaluada individualmente. Tomando en cuenta el valor del porcentaje obtenido en la prueba del ensayo se calcula el Valor de aceptación (AV por sus siglas en inglés) y el valor porcentual unitario de cada cápsula mediante las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ contenido unitario } (X_i) = \text{masa neta unitaria} \times \frac{\% \text{ de droga (ensayo)}}{\text{masa neta promedio}}$$

En cuanto al cálculo del valor de aceptación, se debe utilizar la siguiente fórmula:

$$AV = |\text{Valor de referencia } (M) - \% \text{ medio unitario } (\bar{x})| + \text{constante de aceptabilidad } (K) \times \text{desv. estándar } (s)$$

*Nota: el valor de aceptabilidad **K** en un análisis con una población de 10 unidades ( $n = 10$ ) tiene un valor de 2,4. Si el análisis se realiza con una población de 30 unidades ( $n = 30$ ), tiene un valor de 2,0.*

Existen dos casos en los cuales, el cálculo de Valor de aceptación puede variar según ciertas condiciones establecidas. Una de las condiciones que se debe conocer es el índice **T**, que se refiere al contenido objetivo por unidad de dosificación en el momento de la fabricación. En otras palabras, es la cantidad de principio activo que se espera que esté presente en cada unidad de dosificación del medicamento según las especificaciones de fabricación.

El valor de **T** es determinado durante el proceso de desarrollo y fabricación del medicamento, donde se establecen las formulaciones y especificaciones para garantizar que el producto final cumpla con los estándares de calidad y seguridad requeridos. Este valor se

basa en estudios de formulación, análisis de estabilidad, y otros factores relacionados con la eficacia y seguridad del medicamento.

Durante la prueba de uniformidad de contenido, el valor de **T** sirve como una referencia para evaluar si el contenido del principio activo en las unidades de dosificación cumple con las especificaciones establecidas. Los resultados de la prueba se comparan con este valor para determinar si el contenido del principio activo está dentro de los límites aceptables.

El capítulo general sobre Uniformidad de Unidades de Dosificación de la farmacopea de los Estados Unidos, establece el lineamiento para el cálculo del Valor de aceptación según sea el valor de T establecido por el fabricante, y a partir de esta variable se reconocen dos casos; el Caso 1, en el que el valor de T es menor o igual a 101,5 % ( $T \leq 101,5 \%$ ). O bien el Caso 2, donde T es mayor que 101,5 % ( $T > 105,5 \%$ ).

En el caso de las monografías específicas que no indiquen un valor de T particular, se puede asumir que T tiene un valor de 100,0 %.

En el Caso 1, para medicamentos en los que se cumple que:  $T \leq 101,5$  y la media del porcentaje de contenido unitario de cada cápsula ( $\bar{x}$ ) se encuentra en el rango entre 98,5 % y 101,5 %; entonces el Valor de referencia (M) será igual al valor de la media del porcentaje de contenido unitario. Expresado de otra manera, se puede decir que: si  $98,5 \% \leq \bar{x} \leq 101,5 \%$  entonces  $M = \bar{x}$ .

El cálculo del valor de aceptación cuando se cumplen las condiciones anteriores se expresa de la siguiente manera:

$$\text{valor de referencia (M)} = \% \text{ medio untario } (\bar{x})$$

$$AV = \text{constante de aceptabilidad (K)} \times \text{desv. estándar (s)}$$

Por otra parte, para medicamentos en el Caso 1, donde no se cumple la regla anterior, si no que se tiene una media del porcentaje de contenido unitario de cada cápsula ( $\bar{x}$ ) menor que 98,5 %; entonces el Valor de referencia (M) será igual a 98,5 %. Expresado de otra manera, se puede decir que: si  $\bar{x} < 98,5 \%$  entonces  $M = 98,5 \%$ .

El cálculo del valor de aceptación cuando se cumplen las condiciones mencionadas se expresa de la siguiente manera:

$$\text{valor de referencia (M)} = 98,5 \%$$

$$AV = 98,5 \% - \% \text{ medio untario } (\bar{x}) + \text{constante de aceptabilidad (K)} \times \text{desv. estándar (s)}$$

Otra alternativa de cálculo para medicamentos en el Caso 1, es cuando se cumple que el valor de la media del porcentaje de contenido unitario de cada cápsula ( $\bar{x}$ ) mayor que 101,5 %; entonces el Valor de referencia (M) será igual a 101,5. Expresado de otra manera, se puede decir que: si  $\bar{x} > 101,5 \%$  entonces  $M = 101,5$ .

Si esta condición se cumple, el cálculo del valor de aceptación se expresa de la siguiente manera:

$$\text{valor de referencia (M)} = 101,5 \%$$

$$AV = \% \text{ medio untario } (\bar{x}) - 101,5 \% + \text{constante de aceptabilidad (K)} \times \text{desv. estándar (s)}$$

Si se trata de un medicamento en el que se aplica el Caso 2, se aplica cuando se cumple que el valor de T es mayor que 101,5 % ( $T > 101,5 \%$ ). Se debe considerar el valor de la media del porcentaje de contenido unitario de cada cápsula ( $\bar{x}$ ) se encuentra en el rango entre 98,5 % y T; entonces el Valor de referencia (M) será igual al valor de la media del porcentaje

de contenido unitario. Expresado en una ecuación, se puede decir que: si  $98,5 \% \leq \bar{x} \leq T$  entonces  $M = \bar{x}$ .

El cálculo del valor de aceptación cuando se cumplen estas condiciones se expresa de la siguiente manera:

$$\text{valor de referencia (M)} = \% \text{ medio untario } (\bar{x})$$

$$AV = \text{constante de aceptabilidad (K)} \times \text{desv. estándar (s)}$$

Si el medicamento en el Caso 2, tiene una media del porcentaje de contenido unitario de cada cápsula ( $\bar{x}$ ) menor que 98,5 %; entonces el Valor de referencia (M) tomará el valor de 98,5 %. Expresado en una ecuación, se puede decir que: si  $\bar{x} < 98,5 \%$  entonces  $M = 98,5 \%$ .

El cálculo del valor de aceptación cuando se cumplen las condiciones mencionadas se expresa de la siguiente manera:

$$\text{valor de referencia (M)} = 98,5 \%$$

$$AV = 98,5 \% - \% \text{ medio untario } (\bar{x}) + \text{constante de aceptabilidad (K)} \times \text{desv. estándar (s)}$$

Si se tiene una condición diferente para medicamentos en el Caso 2, y se cumple que el valor de la media del porcentaje de contenido unitario de cada cápsula ( $\bar{x}$ ) mayor que T; entonces el Valor de referencia (M) será igual a T. Expresado de otra forma, se puede decir que: si  $\bar{x} > T$ ; entonces  $M = T$ .

Si se cumple la condición anterior, el cálculo del valor de aceptación se expresa de la siguiente manera:

$$\text{valor de referencia (M)} = T$$

$$AV = \% \text{ medio untario } (\bar{x}) - T + \text{constante de aceptabilidad } (K) \times \text{desv. estándar } (s)$$

El límite máximo especificado para el Valor de aceptación, también conocido como nivel L1 es de 15,0. En caso de que el medicamento evaluado tenga un valor de aceptación superior, se puede recurrir a una segunda prueba en la que se evalúan 20 unidades más. En este caso, el valor de aceptación se calcula con las 30 unidades, y tiene una aceptación máxima de 15,0.

Todas las fórmulas de cálculo anteriores se aplican cuando se tiene un población de 10 unidades, sin embargo se debe tener en cuenta, que en caso de que se tenga un resultado no conforme, es decir ( $AV > 15,0$ ) se realiza el procedimiento con 20 unidades más, y con los resultados de las 30 unidades, se deben cumplir las siguientes condiciones para que el producto sea aceptable: el cálculo del valor de aceptación se realiza de la misma forma, utilizando el valor porcentual medio unitario ( $\bar{x}$ ), pero los límites de aceptación se calculan utilizando la siguiente regla.

- Ninguna unidad debe ser menor que el resultado de la opresión:  $1 - (0,01) \times (L2)] \times M$
- Ninguna unidad debe ser mayor que el resultado de la opresión:  $1 + (0,01) \times (L2)] \times M$

*Nota: el valor de L2 es de 25,0*

En el caso de que se encuentre una o más unidades fuera de especificación, o bien el valor del valor de aceptación (AV) sea mayor que 15,0; el lote evaluado no cumple con la prueba de Uniformidad de Unidades de Dosificación, por lo tanto, el resultado de la prueba es no conforme.

### 3.8 Procedimiento de verificación de métodos analíticos.

Un procedimiento previo a la realización de perfiles de disolución, es la verificación de los métodos, debido a que se realiza una desviación importante del método oficial y se debe garantizar que los resultados obtenidos con el método modificado son confiables, repetibles y reproducibles, y se pueden utilizar para realizar cálculos y extraer conclusiones de estos resultados<sup>84</sup>.

Para la presente investigación, se requiere de la verificación de tres variantes del método oficial para determinación de prueba de desempeño o disolución. Esto debido a que se debe estudiar el comportamiento de ambas marcas del medicamento en tres medios de disolución diferentes<sup>85</sup>. Para lo cual se utilizan los siguientes reactivos químicos.

**Tabla 10. Lista de reactivos químicos a utilizar para la preparación de los medios de disolución en perfiles de disolución.**

<b>Reactivo</b>	<b>Marca</b>
Cloruro de potasio	Merck
Acetato de sodio	J.T Baker
Ácido acético	J.T Baker
Ácido clorhídrico	J.T Baker
Hidróxido de potasio	Sigma-Aldrich
Fosfato de potasio monobásico	Sigma-Aldrich
Hidróxido de sodio	Loba Chemie
Ácido fosfórico	J.T Baker
Agua destilada	N.A

Fuente: Elaboración propia.

Para cada uno de los medios se debe determinar el nivel linealidad y reproducibilidad, exactitud, precisión y sesgo<sup>86</sup>.

Los medios de disolución mencionados son buffer de diferente naturaleza, como se resumen en la siguiente tabla:

**Tabla 11. Medios de disolución a utilizar en la prueba de perfiles de disolución.**

<b>Medio de disolución</b>	<b>Valor de pH</b>
Cloruro de potasio + Ácido clorhídrico	1,2
Acetato de sodio + Ácido acético	4,5
Fosfato de potasio monobásico + Hidróxido de sodio	6,8

Fuente: Elaboración propia.

### **3.8.1 Preparación del medio de pH 1,2.**

Para la preparación del medio de disolución se lleva una cantidad de 19,01 g de cloruro de potasio a 3 L de agua destilada, cuando se tenga disuelto el reactivo, se añaden 22,5 mL de ácido clorhídrico y se mezcla. Se debe ajustar y verificar el valor de pH hasta alcanzar 1,2 con ácido clorhídrico o bien con hidróxido de potasio según sea la necesidad.

### **3.8.2 Preparación del medio de pH 4,5.**

Para la preparación del medio de disolución se pesan 8,95 g de acetato de sodio trihidrato en 3 L de agua destilada, se añaden 4 mL de ácido acético y se mezcla. Se ajusta el pH hasta un valor de 4,5 con ácido acético o hidróxido de sodio según sea el caso.

### **3.8.3 Preparación del medio de pH 6,8.**

Para la preparación de este medio de disolución se deben pesar 20,4 g de fosfato de potasio monobásico en 3 L de agua, cuando se haya disuelto se agregan 2,68 g de hidróxido de sodio (pellets). Se ajusta el pH a un valor de 6,8 con ácido fosfórico o hidróxido de sodio en solución según sea el caso.

### **3.8.4 Preparación de la curva de calibración para verificación del método.**

La curva de calibración es la herramienta que permite determinar varios parámetros en el proceso de verificación de un método analítico<sup>61</sup>. Para esta investigación, se utiliza una curva de calibración cuyo valor de 100% se toma desde el supuesto que el analito en la muestra se disuelve completamente, de manera que, por cada cápsula se tienen 300 mg de Gabapentina y el medio de disolución es de 900 mL, el valor equivalente a 100% es de 0,33 mg/mL.

Para lograr la realización de la curva de calibración a varios porcentajes se prepara un patrón madre concentrado a 1,65 mg/mL. Para lograr esta concentración se pesa con la mayor exactitud posible 165,0 mg de estándar de Gabapentina de pureza exactamente conocida en un balón aforado de 100,0 mL. Para cada curva de calibración se debe utilizar el medio de disolución como diluyente.

Para cada medio de disolución mencionado, se realizan tres curvas de calibración independientes, siguiendo diferentes diluciones, para lograr concentraciones correspondientes al 20%, 60%, 100%, 120% y 140%.

**Tabla 12. Especificaciones para la preparación de la curva de calibración a utilizar para la verificación del método analítico.**

<b>Alícuota del patrón madre (mL)</b>	<b>Balón (mL)</b>	<b>Concentración (mg/mL)</b>	<b>Porcentaje relativo (%)</b>
1	25,00	0,066	20
3	25,00	0,198	60
5	25,00	0,330	100
6	25,00	0,396	120
7	25,00	0,462	140

Fuente: Elaboración propia.

### **3.8.5 Preparación de las muestras a utilizar en la verificación del método analítico.**

Es necesario realizar muestras enriquecidas con estándar madre, a partir de la mezcla de no menos de 20 cápsulas del producto de marca. Para realizar la evaluación de las muestras enriquecidas, se pesa con la mayor exactitud posible una masa de muestra que corresponda al 50% de la concentración de la muestra. Quiere decir que la masa de muestra debe corresponder a 0,165 mg/mL, y las concentraciones finales de las muestras enriquecidas son de 60%, 100% y 140%.

Tomando en cuenta los datos obtenidos en la evaluación de la conformidad del producto y el valor de peso promedio y valoración promedio, se calcula la masa y volumen necesarios para obtener las concentraciones deseadas en las muestras.

Se preparan las muestras de la siguiente manera.

**Tabla 13. Preparación de muestras enriquecidas para verificación del método analítico.**

<b>Masa de muestra (g)</b>	<b>Balón (mL)</b>	<b>Volumen de estándar madre (mL)</b>	<b>Concentración final (mg/mL)</b>
0,00634	25,00	0,50	0,198
0,00632	25,00	2,50	0,330
0,00636	25,00	4,50	0,462

Fuente: Elaboración propia.

### **3.9 Procedimiento para realización de los perfiles de disolución.**

Para la realización de los perfiles de disolución, se deben realizar pruebas de desempeño a doce muestras en ambos medicamentos a tres diferentes medios de disolución, con una duración total de 1 hora, con distintos muestreos (5, 10, 15, 20, 30, 40 y 60 minutos).

#### **3.9.1 Preparación del medio de pH 1,2.**

Para la preparación del medio de disolución, se lleva una cantidad de 38,02 g de cloruro de potasio a 6 L de agua destilada, cuando se tenga disuelto el reactivo, se añaden 45 mL de ácido clorhídrico concentrado y se mezcla. Se debe ajustar y verificar el valor de pH hasta alcanzar 1,2 con ácido clorhídrico o bien con hidróxido de potasio según sea la necesidad. Este procedimiento se realiza por duplicado para conseguir un volumen total de 12 L de medio de disolución que se utilizan en la determinación de las 12 muestras.

#### **3.9.2 Preparación del medio de pH 4,5.**

Para la preparación del medio de disolución se pesan 17,9 g de acetato de sodio trihidrato en 6 L de agua destilada, se añaden 8 mL de ácido acético y se mezcla. Se ajusta el pH hasta un valor de 4,5 con ácido acético o hidróxido de sodio según sea el caso. Este procedimiento se realiza por duplicado para conseguir un volumen total de 12 L de medio de disolución que se utilizan en la determinación de las 12 muestras.

### **3.9.3 Preparación del medio de pH 6,8.**

Para la preparación de este medio de disolución, se deben pesar 40,8 g de fosfato de potasio monobásico en 6 L de agua, cuando se haya disuelto se agregan 5,36 g de hidróxido de sodio (pellets). Se ajusta el pH a un valor de 6,8 con ácido fosfórico o hidróxido de sodio en solución según sea el caso. Este procedimiento se realiza por duplicado para conseguir un volumen total de 12 L de medio de disolución que se utilizan en la determinación de las 12 muestras.

### **3.9.4 Realización de las pruebas de disolución para determinación de bioequivalencia in vitro.**

El procedimiento para realizar perfiles de disolución corresponde a la prueba de desempeño para productos sólidos o pruebas de disolución, que se realizan durante 60 minutos y se muestrean a diferentes tiempos.

Se deben colocar 900 mL de medio de disolución de pH 1,2 en cada uno de los seis frascos de disolución, en un baño que se encuentre a  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , una vez que todos los frascos alcancen la temperatura, se colocan las cápsulas de producto original en un sinker, se inicia la prueba de desempeño a 50 rpm y se agregan muestras a cada frasco cada 30 segundos.

Los muestreos se realizan a 5, 10, 15, 20, 30, 40 y 60 minutos. Y este procedimiento se realiza por duplicado para obtener datos de doce muestras. Se extraen 10 mL de muestra de cada frasco en cada muestreo y se repone el mismo volumen con medio en cada frasco. Esta muestra se utiliza directa para el análisis posterior.

El procedimiento anterior se realiza de la misma manera para el lote de producto genérico. Y además se repite para ambos medicamentos con los medios de disolución de pH 4,5 y 6,8.

Los resultados se analizan utilizando un equipo HPLC, siguiendo las condiciones metodológicas previamente verificadas.

### **3.10 Procedimiento de evaluación de perfiles de disolución.**

Los perfiles de disolución se realizan a doce muestras del mismo lote de ambos medicamentos a comparar, a tres diferentes medios de disolución (buffer que simulan el fluido intestinal). Se realizan muestreos durante 60 minutos para posteriormente comparar los resultados de ambos medicamentos en cada tiempo y mediante el cálculo estadístico de factores  $f_1$  y  $f_2$  se determina la similitud o diferencia entre ambos medicamentos y así lograr determinar si existe una bioequivalencia in vitro entre el medicamento genérico y el medicamento de marca propuesto por el Ministerio de Salud de Costa Rica como medicamento de referencia.

## **CAPÍTULO IV - ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS**

El presente capítulo pretende analizar todos los resultados obtenidos a partir de las pruebas prácticas realizadas al medicamento original y al medicamento genérico.

Se analizan los resultados obtenidos en la caracterización de ambos medicamentos y las pruebas de control de calidad realizadas. Posteriormente se discute sobre los resultados obtenidos de la verificación del método y los parámetros de aceptación del mismo.

Se estudian y analizan los resultados obtenidos de la comparación de los perfiles de disolución para la determinación de bioequivalencia in vitro.

#### **4.1 Análisis de los resultados obtenidos en la caracterización de los medicamentos y las pruebas de control de calidad.**

La caracterización de los medicamentos consiste en realizar pruebas de control de calidad, aplicando el método oficial de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), tanto en el medicamento original como en el medicamento genérico para poder comparar estos resultados y determinar si existe una diferencia significativa en las pruebas iniciales.

##### **4.1.1 Análisis de los resultados obtenidos de la valoración promedio del producto original.**

La valoración promedio o ensayo, es una prueba que se aplica a los medicamentos de todo tipo para determinar el contenido promedio en porcentaje del principio activo en el lote de la muestra en estudio.

Específicamente para este medicamento se utiliza la técnica de cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de principio activo presente en una mezcla del contenido de no menos de 20 cápsulas de Neurontin.

Los límites o rango en el que se considera que el lote es aceptable es 90,0 % hasta 110,0 %, según la monografía oficial.

En el caso del producto original, se obtuvo los resultados que se resumen en la siguiente tabla.

**Tabla 14. Resultados obtenidos de la valoración promedio del producto original por HPLC.**

<b>Requisito</b>	<b>Criterio de aceptación</b>	<b>Resultado</b>
Eficiencia de la columna	No menos de 7000 platos teóricos	8480 platos teóricos
Factor de asimetría	No más de 2,0	1,01
Desviación estándar relativa	No más de 2,0 %	0,77 %
Promedio de principio activo	(90,0 – 110,0) %	(99,3 ± 0,8) %

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados recopilados en la tabla anterior, se extraen de 12 inyecciones de la solución estándar de trabajo. El valor promedio del principio activo se tiene del promedio de las tres muestras individuales que se pesan a partir de una mezcla del contenido de 20 cápsulas de Gabapentina de 300 mg.

Como se observa en la tabla anterior, la cantidad de platos teóricos obtenidos con el pico principal del cromatograma del estándar de Gabapentina, son superiores en más de 1000 platos teóricos a los solicitados como mínimos por la monografía oficial, quiere decir que las interacciones del analito durante la corrida cromatográfica con la fase estacionaria de la columna y la fase móvil son óptimas para realizar el estudio cromatográfico.

Es importante conocer el concepto de platos teóricos, ya que este valor se utiliza para describir la eficiencia de una columna cromatográfica en cromatografía de gases (GC) o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Los platos teóricos son una medida de la capacidad de separación de la columna, las interacciones del analito con la fase estacionaria y la resolución de los picos cromatográficos. Cuantos más platos teóricos tenga una columna, mejor será su capacidad para separar los componentes de una muestra.

Asimismo, el factor de asimetría, también conocido como factor de cola o factor de asimetría de pico, es un parámetro que se utiliza para describir la simetría o forma del pico cromatográfico. Un factor de asimetría ideal es 1, lo que indica una simetría perfecta.

Si el factor de asimetría es mayor que 1, el pico se considera más ancho en la cola izquierda, lo que se conoce como asimetría positiva. Si es menor que 1, el pico es más ancho en la cola derecha, y esto se conoce como asimetría negativa.

La asimetría en los picos cromatográficos puede deberse a varios factores, como problemas en la columna, el detector o las condiciones de la muestra. En general, se prefiere que los picos sean simétricos para facilitar la cuantificación precisa de los componentes presentes en la muestra. Este parámetro se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Factor de asimetría} = \frac{\text{Anchura a la izquierda del pico}}{\text{Anchura a la derecha del pico}}$$

En el estándar de Gabapentina utilizado, se tiene un resultado de 1,01 de factor de asimetría, quiere decir que se tiene una forma del pico cromatográfico ideal.

El comportamiento del pico en la corrida está asociado a múltiples variables y factores, que incluyen la estabilidad y composición de la fase móvil, el flujo y la presión en la columna, la temperatura de trabajo, el grado de detectabilidad del detector, la pureza de la molécula, la concentración (mg/mL) del estándar utilizado, la precisión del volumen de inyección, entre otros.

Tomando en cuenta todos los parámetros mencionados, cuando se tiene un comportamiento ideal en un pico cromatográfico se puede interpretar que el equipo utilizado y la columna están en óptimas condiciones y los resultados obtenidos son altamente confiables para la extrapolación de resultados a partir de los valores de área de los picos.

El RSD (Relative Standard Deviation), o Desviación Estándar Relativa en español, es una medida de la variabilidad relativa de un conjunto de datos. En el contexto de un análisis cromatográfico, el RSD se utiliza para evaluar la precisión de los resultados obtenidos.

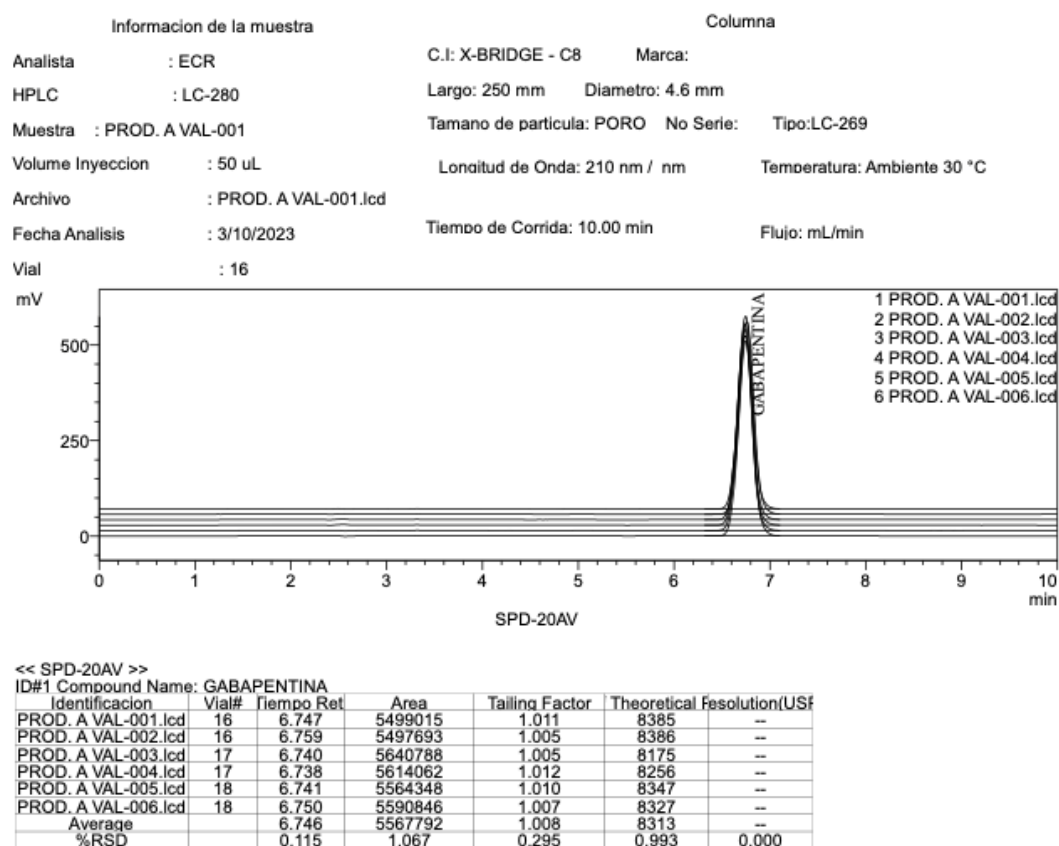
Un valor bajo de RSD indica que los resultados son consistentes y tienen una baja variabilidad en relación con la media. Esto sugiere una buena precisión en la técnica de análisis. En el contexto de HPLC, esto significa que los resultados de las mediciones cromatográficas son confiables y reproducibles.

El valor de RSD debe ser menor que 2,0 % para ser aceptable según la monografía. En este caso se tiene un valor de 0,77 %, quiere decir que existe muy baja variabilidad entre las áreas de los picos del estándar de Gabapentina preparado para esta prueba.

En muchos casos, los medicamentos tienen especificaciones establecidas para sus ingredientes activos o compuestos relacionados. El promedio obtenido en la prueba de valoración promedio mediante HPLC se compara con estos límites especificados. Si el promedio está dentro de los límites aceptables, se considera que el medicamento cumple con los estándares de calidad.

El promedio del contenido de principio activo en la muestra, debe estar en el rango de 90,0 % a 110,0 %. En este lote de muestra original se obtuvo un promedio de  $(99,3 \pm 0,8)$  % quiere decir que el lote cumple a cabalidad con las especificaciones y las condiciones cromatográficas.

Este resultado también permite concluir que la liberación y disolución del principio activo es el adecuado, que la solución disolvente y el método de desintegración mediante agitación mecánica y aplicación de ultrasonido es suficiente para aislar el principio activo de los excipientes.



**Ilustración 4. Corridas cromatográficas de las muestras de valoración promedio de producto original de cápsulas de Gabapentina 300 mg.**

#### 4.1.2 Análisis de los resultados obtenidos de la prueba de uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso del producto original.

La prueba de uniformidad de contenido en medicamentos sólidos es un ensayo utilizado para evaluar la uniformidad de la cantidad de principio activo en unidades individuales de una forma farmacéutica sólida, como tabletas o cápsulas. La interpretación de los resultados puede depender del método específico utilizado, y las pautas para la prueba se establecen en la Farmacopea de los Estados Unidos.

El método por variación de peso de múltiples unidades, consiste en tomar un número específico de unidades (por ejemplo, 10 cápsulas) y se mide su peso total, además del peso individual de cada cápsula vacía, seguidamente se calcula la variación porcentual respecto al peso promedio de todas las unidades; la interpretación de los resultados implica evaluar si la variación está dentro de los límites establecidos en la USP, la monografía o las especificaciones del fabricante, para garantizar una uniformidad aceptable del contenido de principio activo en las formas farmacéuticas sólidas.

La USP establece las condiciones y variables a considerar para el cálculo del valor de aceptación que se resumen en la siguiente tabla:

**Tabla 15. Condiciones para el cálculo del valor de aceptación para la prueba de uniformidad de unidades de dosificación según USP.**

Variable	Definición	Condición	Valor
$\bar{x}$	Valor medio del contenido individual de cada cápsula	N.A	N.A
n	Tamaño de muestra	N.A	N.A
K	Constante de aceptación	Si n = 10	2,4
		Si n = 30	2,0
s	Desviación estándar	N.A	N.A
M (caso 1), cuando $T \leq 101,5$	Valor de referencia	Si $98,5 \% \leq \bar{x} \leq 101,5 \%$	$M = \bar{x}$
		Si $\bar{x} < 98,5 \%$	$M = 98,5 \%$
		Si $\bar{x} > 101,5 \%$	$M = 101,5 \%$

M (caso 2), cuando T > 101,5	Valor de referencia	Si $98,5 \% \leq \bar{x} \leq T$	M = $\bar{x}$
		Si $\bar{x} < 98,5 \%$	M = 98,5 %
		Si $\bar{x} > T$	M = T %
L1	Valor de aceptación máximo	N.A	15,0 a no ser de que se especifique otro
L2	Rango de valores permitidos para la desviación de cada unidad	Mínimo $[1 - (0.01)(L2)]M$	25,0 a no ser de que se especifique otro
		Máximo $[1 + (0.01)(L2)]M$	

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos.

El valor de aceptación se calcula utilizando el valor del porcentaje del contenido de cada cápsula individual, el porcentaje obtenido en la prueba del ensayo y el valor del peso promedio de las 10 cápsulas, utilizando la siguiente fórmula:

$$AV = |\text{Valor de referencia (M)} - \% \text{ medio unitario } (\bar{x})| + \text{constante de aceptabilidad (K)} \times \text{desv. estándar (s)}$$

El valor de referencia se calcula de acuerdo a la especificación del nivel T establecido por el fabricante, de modo que, si no se especifica otro valor, se considera como T = 100,0 %. En este análisis en particular, se cumple el Caso 1 de Uniformidad de Unidades de Dosificación, en el que T es menor o igual a 101,5 % y la media del porcentaje de contenido unitario de cada cápsula ( $\bar{x}$ ) se encuentra en el rango entre 98,5 % y 101,5 %; por lo tanto, el Valor de referencia (M) tiene el mismo valor que la media del porcentaje de contenido unitario. Es decir, se cumple con la condición de:  $98,5 \% \leq \bar{x} \leq 101,5 \%$  entonces  $M = \bar{x}$ .

Por lo tanto, el cálculo del valor de aceptación se expresa de la siguiente manera:

$$AV = \text{constante de aceptabilidad (K)} \times \text{desv. estándar (s)}$$

Para una prueba en la que se utilizan 10 unidades, el valor de la constante de aceptabilidad toma un valor de 2,4. Si la prueba requiere el análisis de 20 unidades más, el valor de dicha constante es de 2,0.

En el contexto de la uniformidad de unidades de dosificación de cápsulas duras, el valor de aceptación del 15,0 se establece cuando se trabaja con una población de 10 unidades y la monografía no establece otro límite específico, este valor es una especificación comúnmente utilizada para evaluar la variabilidad en la cantidad de principio activo entre las unidades individuales de un lote.

Este valor se establece con el objetivo de garantizar que cada unidad de la forma farmacéutica (por ejemplo, tabletas o cápsulas) contenga una cantidad de principio activo dentro de un rango aceptable en comparación con la cantidad promedio indicada en la etiqueta del medicamento.

La especificación del 15,0 se basa en consideraciones de la variabilidad natural en la producción y el análisis de los medicamentos. Si la variabilidad es mayor al 25,0 para una población mayor, podría indicar problemas en la uniformidad de la fabricación o en el proceso de mezcla de los ingredientes activos y excipientes, por lo tanto, el lote no es aceptable.

Según la Farmacopea de los Estados Unidos, el límite máximo permitido para el valor de aceptación es de 15,0 (a no ser que se especifique otro límite). Quiere decir que el valor de 15,0 no es una regla universal y puede variar según las especificaciones establecidas por diferentes agencias reguladoras, farmacopeas o empresas farmacéuticas, o bien cuando el análisis debe extenderse a realizar 20 unidades más, y se tenga una población total de 30 unidades ( $n = 30$ ) en este caso el límite del valor de aceptación pasa a ser 25,0 y se deben calcular los valores máximos y mínimos permitidos en el análisis en particular.

En el caso de las cápsulas de Gabapentina 300 mg, se utiliza 15,0 como valor de aceptación para la uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso.

En la siguiente tabla se resumen los resultados encontrados para el lote analizado del medicamento original.

**Tabla 16. Resultados obtenidos de la prueba uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso de las cápsulas de Gabapentina 300 mg.**

Número de muestra	% contenido unitario
1	99,5
2	99,0
3	98,9
4	100,8
5	99,9
6	98,2
7	99,1
8	99,1
9	98,7
10	100,1
Desviación estándar	0,745

Fuente: Elaboración propia.

Para este lote de Gabapentina 300 mg cápsulas, el cálculo del valor de aceptación corresponde a la siguiente fórmula:

$$\text{Valor de aceptación (AV)} = 2,4 (K) \times 0,745(\text{desv. estándar}) = 1,79$$

Para evaluar la aceptación de la prueba es requerido analizar la variabilidad obtenida en el lote. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

**Tabla 17. Resumen de resultados obtenidos de la prueba de uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso.**

<b>Criterio a evaluar</b>	<b>Resultado</b>
% máximo obtenido	100,8 %
% mínimo obtenido	98,2 %
% promedio	99,3 %
Valor de aceptación	(1,79 ± 0,01) %

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con los resultados obtenidos, el producto cumple con la prueba de uniformidad de unidades de dosificación, el valor de aceptación es inferior a 15,0 y el promedio de las 10 unidades se encuentra en el rango de aceptación de 90,0 % a 110,0 %.

Además, los resultados máximos y mínimos se encuentran dentro del rango de aceptación, lo que permite tener un valor de aceptación muy bajo, en otras palabras, la variación entre muestras individuales es muy baja, se puede concluir que el lote es uniforme.

#### **4.1.3 Análisis de los resultados obtenidos del ensayo de disolución del producto original.**

La prueba de disolución de productos sólidos es un procedimiento comúnmente utilizado en la industria farmacéutica para evaluar la velocidad y la cantidad de sustancia activa que se libera de una forma farmacéutica sólida, como tabletas o cápsulas, cuando se encuentra en contacto con un medio líquido, también conocido como medio de disolución.

Las pruebas de desempeño se realizan para garantizar la consistencia y la calidad de las formas farmacéuticas sólidas. Durante la prueba, se sumerge la forma farmacéutica en un medio líquido (generalmente un fluido fisiológico simulado, ácido clorhídrico o una solución buffer) y se mide la cantidad de sustancia activa que se disuelve con el tiempo, utilizando

diferentes técnicas analíticas como espectroscopia ultravioleta o bien cromatografía líquida de alta eficiencia para la cuantificación.

Los criterios para la aprobación de la prueba de disolución pueden variar según el tipo de producto y la farmacopea específica. Los resultados se comparan con límites establecidos para garantizar que la forma farmacéutica libere la sustancia activa de manera adecuada y consistente. Los criterios de aceptación se definen normalmente como un valor de “Q”. Según la farmacopea de los Estados Unidos, la cantidad, Q, es la cantidad de ingrediente activo disuelto, especificada en la monografía individual de cada producto, que se expresa como un porcentaje del contenido declarado en la etiqueta del producto.

En la siguiente tabla se resumen los criterios de aceptación para la prueba de disolución en productos sólidos de liberación inmediata.

**Tabla 18. Criterios de aceptación para las diferentes etapas del ensayo de disolución de productos de liberación inmediata.**

<b>Etapa</b>	<b>Número de unidades analizadas</b>	<b>Criterio de aceptación</b>
S1	6	Ninguna unidad es menor que $Q + 5\%$ .
S2	6	El promedio de 12 unidades ( $S_1 + S_2$ ) es igual o mayor que Q, y ninguna unidad es menor que $Q - 15\%$ .
S3	12	El promedio de 24 unidades ( $S_1 + S_2 + S_3$ ) es igual o mayor que Q, no más de 2 unidades son menores que $Q - 15\%$ , y ninguna unidad es menor que $Q - 25\%$ .

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos<sup>73</sup>.

De la tabla anterior, se puede interpretar de la siguiente manera: la prueba de desempeño se inicia en la etapa S1 con 6 unidades, cuyo valor porcentual promedio de producto disuelto, debe ser mayor que el valor de Q en 5%. Por ejemplo, si el valor de Q = 75 %, el valor promedio de las 6 unidades debe ser mayor o igual a 80%.

Si este criterio no se cumple, se analizan 6 unidades nuevas (etapa S2), el promedio de las primeras unidades y las analizadas en la etapa S2, debe ser igual al valor de Q, pero ninguna de las 12 unidades debe tener un valor de inferior al valor de Q – 15 %. Continuando con el ejemplo de Q definido en 75 %, el criterio para la aceptación en etapa S2, establece que el promedio de todas unidades debe ser mayor o igual a 75 %, y ninguna unidad puede tener un valor menor que 60 %.

Es posible que estos parámetros no se consigan, por lo tanto, se debe continuar a la etapa S3 de la prueba. Esto quiere decir que se analizan 12 unidades nuevas del producto, y el resultado debe considerar todos los valores obtenidos desde la etapa S1 y S2, de manera que el promedio de las 24 unidades debe ser mayor o igual a Q; ninguna unidad puede tener un valor de Q – 25 %; y máximo dos unidades puede tener un valor de Q – 15 %.

Para ejemplificar este caso, en un análisis cuyo valor de Q está definido en 75 %, ninguna de las 25 unidades puede ser menor que 50 %, y no más de dos unidades puede tener un valor menor que 60 %.

Si las condiciones mencionadas en la etapa S3 no se cumplen, el producto no es aceptable para el ensayo de desempeño.

En el caso de los medicamentos de liberación inmediata, los tiempos de la prueba de disolución es muy variable y se especifica en cada monografía. En el caso de las cápsulas de Gabapentina 300 mg, la duración de la prueba es de 20 minutos, y el valor de Q es de 80 %.

Los resultados obtenidos en el test de disolución en etapa S1, se muestran en la siguiente tabla.

**Tabla 19. Resultados obtenidos del ensayo de disolución del producto original.**

Número de muestra	% contenido unitario
1	98,0
2	97,0
3	98,8
4	100,3
5	91,1
6	98,0

Fuente: Elaboración propia.

Al analizar la tabla anterior se puede observar que cada muestra tiene un porcentaje disuelto mayor a 85 %, por lo tanto, el resultado de la prueba es conforme.

Los resultados de los criterios de aceptación para el sistema cromatográfico se pueden observar en la siguiente tabla.

**Tabla 20. Resultados obtenidos de la prueba de disolución del producto original por HPLC.**

Requisito	Criterio de aceptación	Resultado
Eficiencia de la columna	No menos de 7000 platos teóricos	8804 platos teóricos
Factor de asimetría	No más de 2,0	1,08
Desviación estándar relativa	No más de 2,0 %	2,0 %
Tolerancia	No menos de 80 % (Q)	Ninguna unidad por debajo de Q + 5

Fuente: Elaboración propia.

Como se puede ver en la tabla, el resultado de platos teóricos es mayor que 7000, quiere decir que la separación de picos y las interacciones de la molécula del principio activo con la fase estacionaria son abundantes, por lo tanto, el resultado es aceptable.

El factor de asimetría es muy cercano a 1, a partir de este resultado se sabe que la forma del pico cromatográfico es ideal y la diferencia de anchura en ambos lados del pico es muy pequeña.

El valor de la desviación estándar relativa de las inyecciones sucesivas de estándar de trabajo, obtuvo un valor aceptable, en el límite permitido de 2,0 %.

En cuanto al resultado de la prueba de disolución, se observa que ninguna de las 6 unidades tiene un valor menor a  $Q + 5$  (superior a 85 %), por lo tanto, el producto cumple con el requerimiento en la etapa S1 de la prueba de desempeño.

#### **4.1.4 Análisis de los resultados obtenidos de la valoración promedio del producto genérico.**

A continuación, se analizan los resultados obtenidos en la prueba de valoración promedio del producto genérico. Para que se pueda utilizar como contraparte del producto original, este producto debe ser aceptable en todas las pruebas de calidad aplicadas al producto original.

En el caso del producto genérico, las condiciones cromatográficas, la monografía oficial de la Farmacopea de los Estados Unidos, la preparación de las muestras, los límites de aceptación, las condiciones ambientales y equipos de medición, son los mismos utilizados para el estudio del producto original. No se realiza ninguna variación del método ni se hacen cambios en la preparación de la muestra. Se utiliza la misma solución estándar con las mismas diluciones.

Los límites o rango en el que se considera que el lote es aceptable es 90,0 % hasta 110,0 %, según la monografía oficial. Estos límites se aplican igualmente para ambos productos.

En el caso del producto genérico, se obtuvo los resultados que se resumen en la siguiente tabla.

**Tabla 21. Resultados obtenidos de la valoración promedio del producto genérico por HPLC.**

<b>Requisito</b>	<b>Criterio de aceptación</b>	<b>Resultado</b>
Eficiencia de la columna	No menos de 7000 platos teóricos	7249 platos teóricos
Factor de asimetría	No más de 2,0	1,04
Desviación estándar relativa	No más de 2,0 %	0,12 %
Promedio de principio activo	(90,0 – 110,0) %	(99,2 ± 0,2) %

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados recopilados en la tabla anterior, se extraen de 12 inyecciones de la solución estándar de trabajo. El valor promedio del principio activo se tiene del promedio de las tres muestras individuales que se pesan a partir de una mezcla del contenido de 20 cápsulas de Gabapentina de 300 mg.

Como se observa en la tabla, la cantidad de platos teóricos obtenidos con el pico principal del cromatograma del estándar de Gabapentina, son superiores a los solicitados como mínimos por la monografía oficial, se puede concluir que las interacciones del analito durante la corrida cromatográfica con la fase estacionaria de la columna y la fase móvil son óptimas y suficientes para realizar el estudio cromatográfico.

En cuanto al factor de asimetría, evaluado del promedio de las 12 repeticiones de estándares para el pico principal de la solución estándar de Gabapentina, se tiene un valor de 1,04 esto quiere decir que la diferencia entre el área en ambos lados del pico es muy similar, es decir, se tiene un pico simétrico.

Cuando se analiza el valor de desviación estándar, se quiere evaluar la diferencia entre las áreas de los picos obtenidos por inyecciones sucesivas de la solución estándar de Gabapentina. En esta corrida se obtuvo un valor de 0,12 %; se considera que un valor aceptables para una desviación estándar es menor o igual a 2,0%. Se tiene un valor aceptable para este parámetro.

El valor más importante y el que determina el cumplimiento del producto como tal, es el promedio extraído de principio activo de la mezcla del contenido de las cápsulas. En el lote de medicamento genérico analizado se tiene un valor de 99,2 %. Este valor es aceptables y se encuentra dentro del rango de aceptación establecido entre 90,0 % y 110,0 %.

Por cuanto a la prueba de valoración promedio, tanto los parámetros de aceptación para el equipo cromatográfico como el porcentaje extraído de las muestras, cumplen a cabalidad, por lo tanto, el producto es aceptable.

#### **4.1.5 Análisis de los resultados obtenidos de la prueba de uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso del producto genérico.**

En este apartado se analizan los porcentajes obtenidos para cada una de las 10 muestras individual a la que se aplicó una variación de peso y el valor promedio de las mismas.

De acuerdo con la monografía oficial para las cápsulas de Gabapentina 300 mg, se utiliza 15,0 como valor de aceptación para la uniformidad unidades de dosificación.

A continuación, se presenta una tabla con los resultados de la variación de peso respectiva aplicada al medicamento genérico analizado.

**Tabla 22. Resultados obtenidos de la prueba de uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso de las cápsulas genéricas de Gabapentina 300 mg.**

Número de muestra	% contenido unitario
1	99,6
2	99,6
3	101,0
4	99,8
5	97,5
6	103,8
7	99,3
8	93,6
9	97,4
10	100,0
Desviación estándar	2,643

Fuente: Elaboración propia.

En este caso, el cálculo del valor de aceptación corresponde a la siguiente fórmula:

$$\text{Valor de aceptación (AV)} = 2,4 (K) \times 2,643(\text{desv. estándar}) = 6,343$$

Para evaluar la aceptación de la prueba de uniformidad de contenido es requerido analizar la variabilidad obtenida en el lote. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

**Tabla 23. Resumen de resultados obtenidos de la prueba de uniformidad de unidades de dosificación por variación de peso del producto genérico.**

Criterio a evaluar	Resultado
% máximo obtenido	103,8 %
% mínimo obtenido	93,6 %

% promedio	99,2 %
Valor de aceptación	(6,343 ± 0,003) %

Fuente: Elaboración propia.

Según los resultados obtenidos, el producto ha superado la prueba de uniformidad de contenido, con un valor de aceptación por debajo del 15,0. Además, la media de las 10 unidades se sitúa dentro del intervalo aceptable, oscilando entre el 90,0 % y el 110,0 %.

Si se compara el resultado de valor de aceptación entre el producto original y el producto genérico, se puede notar que el valor para el producto original es considerablemente más bajo que 6,3 obtenido en el producto genérico, esto quiere decir que el producto original tiene cantidades de principio activo similares entre cápsulas unitarias del mismo lote. No obstante, aunque el medicamento genérico tiene un valor más alto, está por debajo del límite de 15,0 y para este ensayo se considera conforme y se puede concluir que el lote es uniforme.

En este caso tanto el valor mínimo como el máximo se encuentran dentro del rango de aceptación, por lo tanto, el promedio también se encuentra dentro de los valores permitidos.

#### **4.1.6 Análisis de los resultados obtenidos de la prueba de disolución del producto genérico.**

Una de las pruebas fundamentales para simular el comportamiento del medicamento una vez ingerido por el paciente y lograr estimar el porcentaje de medicamento liberado a nivel gástrico, es la prueba de disolución.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la prueba de disolución aplicado al producto genérico, utilizando la técnica de HPLC para extrapolar los resultados a partir una solución estándar exactamente conocida.

**Tabla 24. Resultados obtenidos de la prueba de disolución del producto genérico.**

<b>Número de muestra</b>	<b>% contenido unitario</b>
1	100,8
2	99,4
3	98,4
4	105,4
5	98,1
6	98,9

Fuente: Elaboración propia.

Al analizar la tabla anterior, es evidente que todas las muestras tienen un porcentaje disuelto mayor a 85 % (es decir, todas son superiores a  $Q + 5$ ), obteniéndose un resultado conforme.

Los resultados de los criterios de aceptación para el sistema cromatográfico se encuentran en la siguiente tabla.

**Tabla 25. Resultados obtenidos de la prueba de disolución del producto genérico por HPLC.**

<b>Requisito</b>	<b>Criterio de aceptación</b>	<b>Resultado</b>
Eficiencia de la columna	No menos de 7000 platos teóricos	36523 platos teóricos
Factor de asimetría	No más de 2,0	1,22
Desviación estándar relativa	No más de 2,0 %	0,59 %
Tolerancia	No menos de 80 % (Q)	Ninguna unidad por debajo de $Q + 5$

Fuente: Elaboración propia.

Según se evidencia en la tabla, el valor de los platos teóricos supera los 7000, indicando una amplia separación de picos y una significativa interacción entre la molécula del principio activo y la fase estacionaria. En consecuencia, el resultado se considera satisfactorio para este parámetro.

En cuanto al factor de cola o factor de asimetría, se tiene un valor de 1,22. Siendo menor que 2,0 se puede concluir que el pico del estándar de Gabapentina es simétrico y no hay mayor diferencia entre ambos lados del pico.

Para este análisis, se tiene un valor de desviación estándar relativa de 0,59 %, se puede concluir que no existe una diferencia significativa entre las áreas del pico principal de las réplicas del estándar de trabajo.

El porcentaje unitario de liberación de cada una de las 6 muestras analizadas para este lote de medicamento genérico fue superior al valor de  $Q + 5$ , y se puede decir que el producto cumple con la prueba de disolución en la primera etapa (S1).

Si se comparan los resultados obtenidos con el producto original, se tiene que, para la prueba de disolución, que el producto genérico tiene mejores resultados unitarios y un porcentaje promedio mayor. Con este resultado, se puede afirmar que el producto genérico tiene una mayor y mejor liberación in vitro de principio activo, pero ambos medicamentos tienen un porcentaje de recuperación por valoración promedio de 99 %, por lo tanto, ambos productos cumplen con la especificación y son aceptables.

#### **4.2 Análisis de los resultados obtenidos de la verificación del método analítico para la evaluación de los perfiles de disolución.**

En este apartado se analizan los resultados de las pruebas realizadas para verificar las condiciones del método analítico para ser utilizado como método para determinar

posteriormente si existe bioequivalencia entre el medicamento de referencia y un medicamento genérico (equivalente terapéuticos), mediante perfiles de disolución.

El método que se verifica es el mismo utilizado para la caracterización de las muestras (monografía oficial), utilizando los mismos parámetros cromatográficos, pero con una variación en el diluyente para las muestras y las soluciones estándar; el diluyente a utilizar son los mismos medios de disolución que se emplean en los perfiles de disolución respectivos posteriormente.

Como parte de la verificación del método, se someten a evaluación varios aspectos como: linealidad y repetibilidad, exactitud, precisión y sesgo.

#### **4.2.1 Análisis de la linealidad y repetibilidad para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 1,2 de ácido clorhídrico y cloruro de potasio como diluyente.**

Para realizar una evaluación de los parámetros de linealidad y repetibilidad, es necesario realizar tres curvas de calibración individuales, utilizando la misma solución estándar madre para todas las curvas. Se preparan patrones que equivalen al 20 %, 60 %, 100 %, 120 % y 140 % con respecto al valor esperado en una liberación total del principio activo en un medio de 900 mL. Es decir, el valor esperado para cápsulas de 300 mg de Gabapentina se calcula como:

$$\text{Concentración de disolución total} = \frac{300 \text{ mg}}{900 \text{ mL}} = 0,333 \text{ mg/mL}$$

Este valor es equivalente al 100 %, por lo tanto, los patrones de la curva de calibración se preparan a partir de esta concentración siguiendo el procedimiento que se explica en el capítulo de metodología.

La información de la solución estándar y su concentración final para esta curva se encuentra en la siguiente tabla.

**Tabla 26. Información relacionada a la preparación del estándar madre para preparación de la curva de calibración.**

Masa (mg)	165,142
Potencia (%)	99,8
Agua (%)	0
Potencia	0,998
Concentración (mg/mL)	1,6481

Fuente: Elaboración propia.

En los siguientes cuadros, se encuentran los valores de áreas obtenidos para cada una de las curvas de calibración, que se utilizan para calcular la ecuación de la recta de la que se extrapolan los resultados de las muestras.

**Tabla 27. Valores de áreas de la curva 1 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.**

<b>Curva de calibración 1</b>		
Patrón	Áreas	Áreas Promedio
20%	158715	159416,0
	160117	
60%	468604	468593,5
	468583	
100%	779699	779363,5
	779028	
120%	935283	934999,5
	934716	
140%	1080665	1079410,5
	1078156	

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 28. Valores de áreas de la curva 2 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.**

<b>Curva de calibración 2</b>		
Patrón	Áreas	Áreas Promedio
20%	155496	156088,0
	156680	
60%	467759	468945,5
	470132	
100%	775726	776306,0
	776886	
120%	933653	932725,0
	931797	
140%	1079813	1078004,5
	1076196	

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 29. Valores de áreas de la curva 3 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.**

<b>Curva de calibración 3</b>		
Patrón	Áreas	Áreas Promedio
20%	151969	154487,5
	157006	
60%	465054	465777,5
	466501	
100%	772244	772973,0
	773702	
120%	928167	927589,0
	927011	
140%	1075562	1074649,5
	1073737	

Fuente: Elaboración propia.

Con base en la información anterior, se procede a calcular la ecuación de la recta, utilizando los valores de concentración de los patrones en *mg/mL* y la media de las áreas para cada uno de ellos. En el siguiente cuadro se muestran los resultados respectivos.

Para calcular la concentración exacta de cada patrón se utiliza el valor de concentración del estándar y se utiliza el factor de dilución particular para cada uno como se muestra en el siguiente ejemplo de cálculo.

$$\text{Concentración del patrón al 20\%} = \frac{1,6481 \text{ mg/mL} \times 1,0 \text{ mL}}{25,0 \text{ mL}} = 0,0659 \text{ mg/mL}$$

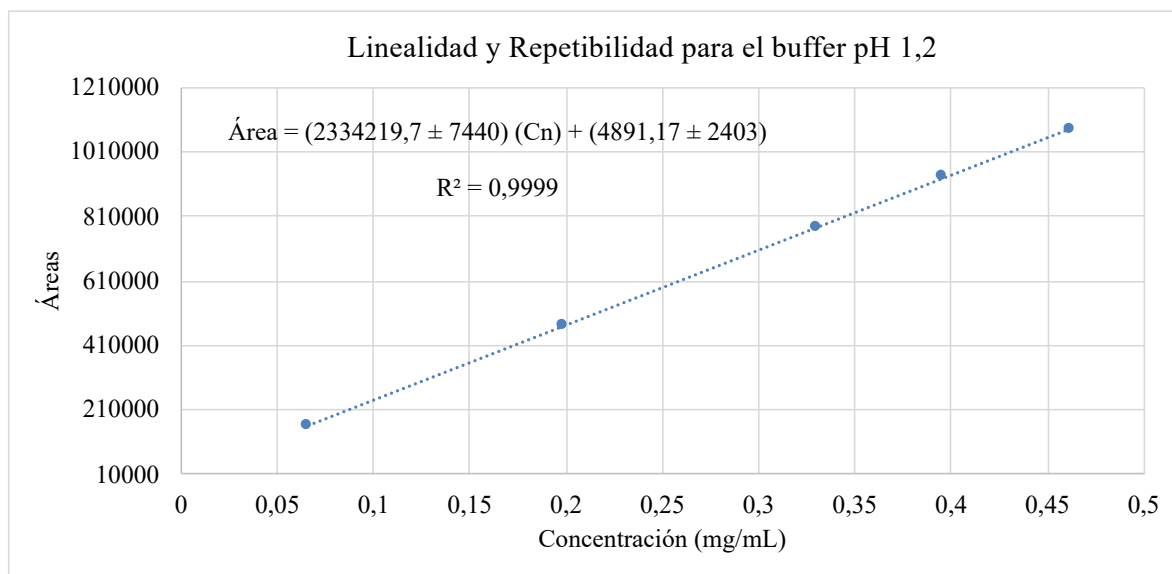
**Tabla 30. Valores de áreas y concentración de los patrones de la curva de calibración.**

<b>Patrón</b>	20%	60%	100%	120%	140%
<b>Áreas promedio de patrones</b>	159416	468593	779363	934999	1079410
	156088	468945	776306	932725	1078004
	154487	465777	772973	927589	1074649
<b>Concentración (mg/mL)</b>	0,0659	0,1978	0,3296	0,3955	0,4615
<b>Media de las áreas</b>	156664	467772	776214	931771	1077354

Fuente: Elaboración propia.

De los valores presentados en la tabla anterior, se obtiene el gráfico de la curva, de la que se evalúa el coeficiente de correlación, también conocido como  $R^2$ , que indica la fuerza de la relación entre las variables en el eje x (la concentración de los patrones) y las variables del eje y (áreas de los patrones). El gráfico que se obtuvo de utilizar el promedio de las áreas de las tres curvas para cada patrón es el siguiente.

**Gráfico 1. Ecuación de la recta para determinación de linealidad y repetibilidad para el buffer de pH 1,2.**



Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con los resultados mostrados en el gráfico, el coeficiente de correlación tiene un valor de 0,9999 lo cual es un valor muy apropiado y se puede concluir que existe una proporcionalidad muy estrecha entre el valor de áreas y las concentraciones de los patrones.

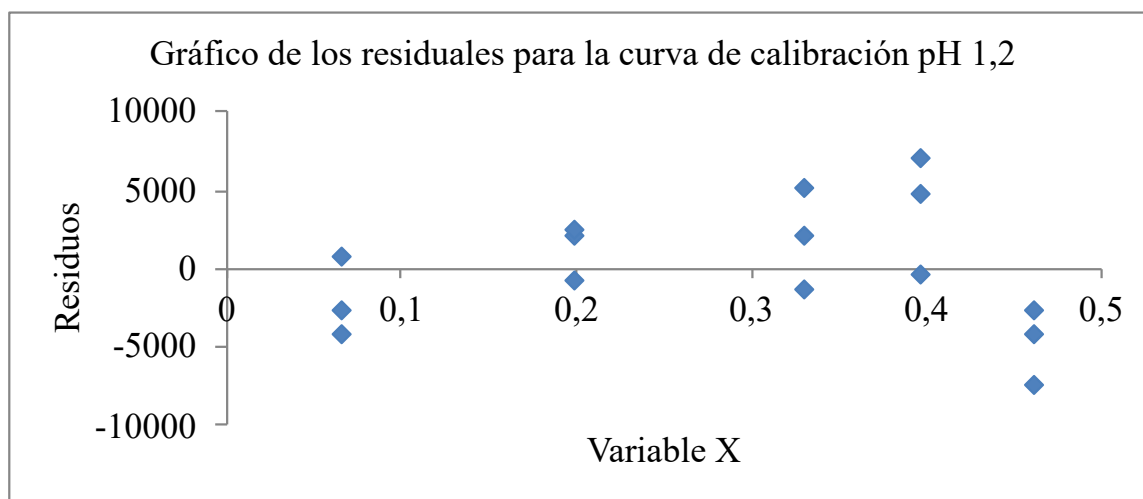
Este valor de regresión muy cercano a 1 sugiere que el modelo de regresión lineal utilizado para describir la relación entre las concentraciones y las áreas de los picos es extremadamente preciso.

La alta precisión del modelo implica que la variación en las concentraciones de patrones explica casi en su totalidad la variabilidad observada en las áreas de los picos cromatográficos. Este hallazgo es esencial en el ámbito cromatográfico, ya que proporciona una base sólida para la cuantificación precisa de las concentraciones de analitos en muestras desconocidas mediante la medición de las áreas de los picos.

Además, la proximidad de  $R^2$  a 1 sugiere que la técnica cromatográfica utilizada es altamente sensible y confiable para cuantificar concentraciones en un rango amplio. Sin embargo, es crucial tener en cuenta que, aunque la relación lineal es extremadamente precisa, otros factores como la selectividad, la sensibilidad y la reproducibilidad del método también pueden influir en la validez global de la técnica analítica.

A pesar de obtener un coeficiente de correlación cuadrado ( $R^2$ ) muy alto (0,9999), es importante considerar las posibles fuentes de error que podrían afectar la precisión y validez de los resultados en el análisis de concentraciones de patrones mediante cromatografía.

**Gráfico 2. Evaluación de residuales para la curva de calibración de pH 1,2.**



Fuente: Elaboración propia.

Un análisis de residuales es una técnica utilizada en estadística para evaluar la idoneidad de un modelo de regresión. El objetivo es examinar si los residuos, es decir, las diferencias entre los valores observados y los valores predichos por el modelo, para determinar si se muestra algún patrón sistemático. Esto es importante porque si los residuos exhiben un patrón, puede indicar que el modelo no captura completamente la estructura de los datos y que se necesitan ajustes adicionales.

Una vez realizada la regresión lineal, se debe analizar el modelo de los residuos, de manera que, si el modelo es adecuado, los residuos deberían distribuirse alrededor de cero de manera aleatoria y no deberían exhibir ningún patrón discernible. Por otra parte, si hay una tendencia en la gráfica de residuos, esto sugiere que el modelo no está capturando toda la información relevante en los datos. Podría ser necesario considerar términos adicionales en el modelo para corregir esta deficiencia.

En el gráfico anterior no se observa una tendencia definida entre los datos analizados, por lo tanto, se tienen errores indeterminados o aleatorios comunes dentro del proceso normal de análisis químico de fármacos.

Una variable importante que introduce errores determinados en los análisis químicos, es la presencia de impurezas o contaminantes en las muestras puede afectar la precisión del análisis, ya que pueden interferir con los picos cromatográficos y afectar las mediciones de área, además las variaciones en las condiciones instrumentales, como fluctuaciones en la temperatura, presión y condiciones del detector, pueden introducir errores en las mediciones de cromatografía.

Un factor crítico que puede interferir es la preparación de las muestras. Errores en la pesada de los estándares, diluciones incorrectas o inconsistencias en la preparación de la muestra pueden afectar los resultados de manera significativa.

Según los datos encontrados en el gráfico, también se puede afirmar que el método es reproducible, pues un  $R^2$  cercano a 1 indica un ajuste del modelo lineal muy bueno. En este contexto, la repetibilidad está respaldada por el hecho de que las concentraciones y las áreas de los picos siguen una relación lineal constante, lo que significa que el método es predecible y reproducible.

Además, se puede interpretar que el método es robusto, por la baja variabilidad en los resultados obtenidos bajo condiciones similares, esto indica que el método es robusto y resistente a pequeñas fluctuaciones en las mismas condiciones experimentales.

#### **4.2.2 Análisis de la exactitud para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 1,2 de ácido clorhídrico y cloruro de potasio como diluyente.**

Para determinar la exactitud de un método analítico por HPLC, utilizando muestras enriquecidas implica comparar los resultados obtenidos del análisis con los valores verdaderos o conocidos de las concentraciones de los analitos en las muestras.

Para esto, se prepara una serie de estándares certificados con concentraciones conocidas de los analitos de interés (curva de calibración utilizada para la linealidad). Estos estándares deben abarcar el rango de concentraciones que se espera encontrar en las muestras enriquecidas.

Las muestras enriquecidas, se preparan con el analito exactamente conocidos (estándar madre) hasta tener concentraciones previamente establecidas, simulando las condiciones reales de la muestra.

Para esta determinación se toma en cuenta el valor del peso promedio de las cápsulas de producto original, y el valor de recuperación de la prueba de ensayo del mismo, de manera que se pesan, a partir de la mezcla del contenido de 20 cápsulas, tres muestras cuyo peso en un balón aforado de 25,0 mL alcancen una concentración de 0,165 mg/mL que representa una concentración del 50 %.

Para alcanzar la concentración final deseada se añade un volumen de estándar madre de tal manera que se reponga la concentración y se logre tener los valores de 60 %, 100 % y 140 %. Para esto se debe añadir 0,5 mL a la primera muestra; 2,5 mL a la segunda muestra y 4,5 mL a la tercera muestra. Este procedimiento se realiza por triplicado y se inyecta cada muestra en el equipo de cromatografía por duplicado.

Teniendo en cuenta el valor de concentración del estándar madre, el porcentaje de pureza, el factor de dilución, y el volumen final, se calcula una concentración del estándar en cada muestra como se muestra en el siguiente ejemplo de cálculo.

$$\frac{\text{masa est. (165,142 mg)} \times \text{volumen est. (0,5 mL)} \times \text{potencia est. (99,8 \%)} }{\text{balón madre (100,0 mL)} \times \text{balón muestr. (25,0 mL)} \times 100} = 0,033 \text{ mg/mL}$$

De esta manera se conoce la concentración añadida a cada muestra, que se muestra en la siguiente tabla como (Cn estándar). La suma de la concentración de la muestra más la concentración del estándar se conoce como la *concentración teórica*, que se compara con la concentración extrapolada de la curva de calibración (*concentración recuperada*) calculada con los valores de área obtenidos en cada cromatograma de las muestras. La relación entre estos valores representa el *porcentaje de recuperación*, del que se analiza el promedio para determinar si el método es exacto.

A continuación, se presentan los resultados que resume los porcentajes de recuperación

**Tabla 31. Resumen de resultados para el análisis de exactitud del método en medio de pH 1,2.**

Porcentaje de muestra	Cn muestra	Cn estándar	Cn teórica	Cn recuperada	% recuperado
60%	0,16476	0,032962	0,19773	0,19851	100,4
100%	0,16424	0,164812	0,32906	0,33779	102,7
140%	0,16528	0,296661	0,46195	0,44506	96,3

Fuente: Elaboración propia.

La prueba de exactitud en un método analítico por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) es fundamental para evaluar la capacidad del método para proporcionar

resultados precisos y confiables. Como se puede ver en la tabla anterior, se logran porcentajes de recuperación muy aceptables. Se tiene una relación muy estrecha entre la concentración recuperada y la concentración teórica, lo cual significa que el método es capaz de recuperar completamente la cantidad añadida de analito en la muestra.

La elección del rango del 90,0 % al 110,0 % como aceptable para los porcentajes de recuperación en la prueba de exactitud refleja el reconocimiento de la variabilidad inherente en los procedimientos analíticos. Los procedimientos analíticos, incluidos los métodos HPLC, están sujetos a diversas fuentes de variabilidad. Estas pueden incluir variaciones en la preparación de muestras, cambios en las condiciones experimentales, fluctuaciones en la instrumentación, entre otros. La variabilidad puede surgir de múltiples etapas del proceso analítico, desde la extracción de la muestra hasta la detección y cuantificación del analito.

Estos límites no son arbitrarios; están respaldados por criterios de aceptación internacional y se encuentran en línea con las recomendaciones de organismos reguladores y estándares de la industria. Organizaciones como la Food and Drug Administration (FDA) en los Estados Unidos proporcionan directrices que incluyen este rango como aceptable.

Establecer un rango más amplio también tiene en cuenta la robustez del método. Un método robusto es capaz de tolerar variaciones en las condiciones experimentales sin afectar significativamente los resultados. La robustez es una propiedad valiosa en la verificación de métodos analíticos, y permitir cierta variabilidad en los porcentajes de recuperación contribuye a evaluar y mejorar la robustez del método.

**Tabla 32. Resultados estadísticos del análisis de exactitud del método en medio de pH 1,2.**

<b>Porcentaje de muestra</b>	<b>% recuperado</b>	<b>Coficiente de correl.</b>	<b>Coficiente de variación (%)</b>	<b>Sesgo (%)</b>
60%	100,4	1,00	0,298	-0,597
100%	102,7	0,97	0,012	-2,782
140%	96,3	1,04	0,526	3,586
<b>Promedio</b>	<b>99,8</b>	<b>1,0</b>	<b>0,3</b>	<b>0,07</b>

Fuente: Elaboración propia.

El coeficiente de correlación y el coeficiente de variación son parámetros importantes en el análisis de exactitud de un método analítico. Ambos se utilizan para evaluar la consistencia y la precisión del método.

El coeficiente de correlación mide la fuerza y la dirección de la relación lineal entre dos variables. En el contexto de la exactitud del método analítico, se usa para evaluar la relación entre las concentraciones añadidas de analito y las concentraciones medidas por el método. Un coeficiente de correlación cercano a 1 indica una fuerte correlación positiva, lo que significa que las concentraciones medidas y las concentraciones añadidas están altamente relacionadas. Idealmente, se busca un valor cercano a 1, pero un valor superior a 0.95 a menudo se considera aceptable. En el caso de este análisis se obtuvo un valor promedio ideal de 1,0.

Por otra parte, el coeficiente de variación es una medida de la dispersión relativa de un conjunto de datos en relación con su media. Se expresa como un porcentaje y se utiliza para evaluar la precisión del método.

Un % Coeficiente de Variación bajo indica una baja variabilidad relativa y, por lo tanto, una mayor precisión. Para la prueba de exactitud, se busca típicamente un % CV inferior al 5% o, en algunos casos, hasta el 10%, dependiendo de los requisitos del método y de las regulaciones aplicables.

En este caso, se tiene un valor de CV de 0,3 % esto indica que las mediciones son consistentes y que el método es preciso.

El análisis de estos parámetros en conjunto forma parte de la verificación del método analítico. La combinación de un alto coeficiente de correlación y un bajo porcentaje de coeficiente de variación sugiere que el método es preciso y proporciona mediciones consistentes y fiables.

En cuanto al valor promedio del sesgo obtenido en el porcentaje de recuperación de las muestras enriquecidas se obtuvo un valor de 0,07 %. El sesgo, en el contexto del porcentaje de recuperación en el análisis de exactitud de un método analítico, se refiere a la tendencia sistemática de obtener resultados que se desvían de los valores reales o esperados. El sesgo puede influir en la precisión y exactitud del método, y su cuantificación es esencial en la verificación del método.

El sesgo se expresa como la diferencia entre el valor medido y el valor real, dividida por el valor real y multiplicada por 100 para expresarla como un porcentaje. Como se expresa en la siguiente fórmula:

$$Sesgo (\%) = \frac{valor\ medio - valor\ real}{valor\ real} \times 100$$

Idealmente, se busca un sesgo cercano a cero, lo que indicaría que las mediciones no tienen una tendencia sistemática a sobreestimar o subestimar el valor real. Un sesgo cercano a cero, sugiere que el método es imparcial y produce resultados que se acercan a la verdad.

En este caso particular, el valor de sesgo tuvo un valor positivo. Esto se interpreta de la siguiente manera: si el sesgo es positivo, indica una tendencia sistemática a sobreestimar las concentraciones. Si es negativo, indica una tendencia sistemática a subestimarlas. La magnitud del sesgo es crucial; un sesgo pequeño puede considerarse aceptable dependiendo de los requisitos del método, y como se evaluó anteriormente un valor cercano a cero es el más recomendable.

#### 4.2.3 Análisis de la precisión para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 1,2 de ácido clorhídrico y cloruro de potasio como diluyente.

La precisión en el contexto de la verificación de un método analítico se refiere a la capacidad del método para proporcionar resultados coherentes y reproducibles bajo condiciones repetidas. La precisión se evalúa mediante la determinación de la desviación estándar y el Coeficiente de Variación o Desviación Estándar Relativa.

En la siguiente tabla, se tienen los valores de concentración de tres muestras, evaluadas por duplicado. Estos valores se extrapolan de la curva de calibración y se evalúan los valores estadísticos correspondientes.

**Tabla 33. Resultados de la evaluación de precisión del método en medio de pH 1,2.**

Áreas de muestras al 100 %	Concentración de muestras
793472	0,33783
793324	0,33777
793304	0,33776
792494	0,33742
792192	0,33729
792017	0,33721
<b>Desviación estándar</b>	<b>0,0003</b>
<b>Promedio de áreas</b>	<b>0,33755</b>
<b>Desviación estándar Relat.</b>	<b>0,081 %</b>

Fuente: Elaboración propia.

En el cuanto a la evaluación de la precisión, la desviación estándar se utiliza para cuantificar la variabilidad de las mediciones, si se tiene una desviación estándar baja indica que las mediciones son precisas y tienen poca variabilidad, además que un RSD baja, típicamente expresado como un porcentaje, indica una alta precisión, ya que la variabilidad relativa con respecto a la media es baja.

Idealmente, se busca una desviación estándar baja. En general, valores por debajo del 5% se consideran buenos, pero en algunos casos, hasta el 10% puede ser aceptable. Además, un RSD inferior al 5% es a menudo considerado aceptable en muchos métodos analíticos.

En ambos casos, los valores evaluados están cercanos a cero, quiere decir que el método entrega resultados con alta precisión y en confiable.

#### **4.2.4 Análisis de la linealidad y repetibilidad para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 4,5 de acetato de sodio y ácido acético como solución diluyente.**

Para la evaluación de este parámetro se realiza el mismo procedimiento mencionado en la sección anterior, mediante la preparación de tres curvas de calibración diferentes a partir de una solución estándar madre de Gabapentina preparada a 1,65 mg/mL.

En la siguiente tabla se resume la información con respecto a la solución estándar utilizada.

**Tabla 34. Información relacionada a la preparación del estándar madre para preparación de la curva de calibración.**

Masa (mg)	165,172
Potencia (%)	99,14
Agua (%)	0,1
Potencia	0,9904
Concentración (mg/mL)	1,6359

Fuente: Elaboración propia.

En las tablas siguientes se presentan los valores de áreas obtenidos para cada una de las curvas de calibración. Estos valores se emplean en el cálculo de la ecuación de la recta, de la cual se extrapolan los resultados correspondientes a las muestras.

**Tabla 35. Valores de áreas de la curva 1 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.**

<b>Curva de calibración 1</b>		
Patrón	Áreas	Áreas Promedio
20%	155441	155370
	155298	
60%	457480	457347
	457214	
100%	755423	755351
	755279	
120%	913915	915356
	916796	
140%	1063195	1064881
	1066566	

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 36. Valores de áreas de la curva 2 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.**

<b>Curva de calibración 2</b>		
Patrón	Áreas	Áreas Promedio
20%	155631	155511
	155391	
60%	457196	457238
	457279	
100%	754657	754676
	754695	

120%	914950	914170
	913389	
140%	1064453	1064996
	1065539	

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 37. Valores de áreas de la curva 3 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.**

<b>Curva de calibración 3</b>		
Patrón	Áreas	Áreas Promedio
20%	155406	155750
	156094	
60%	457574	457521
	457468	
100%	754537	754635
	754733	
120%	913295	915327
	917358	
140%	1065273	1064121
	1062968	

Fuente: Elaboración propia.

Con los datos presentados en las tablas anteriores, se construye una gráfica que se utiliza para determinar las concentraciones de muestras enriquecidas por medio de una extrapolación de la ecuación de la recta. Los datos resumidos para la construcción de dicha curva se encuentran a continuación.

**Tabla 38. Valores de áreas y concentración de los patrones de la curva de calibración.**

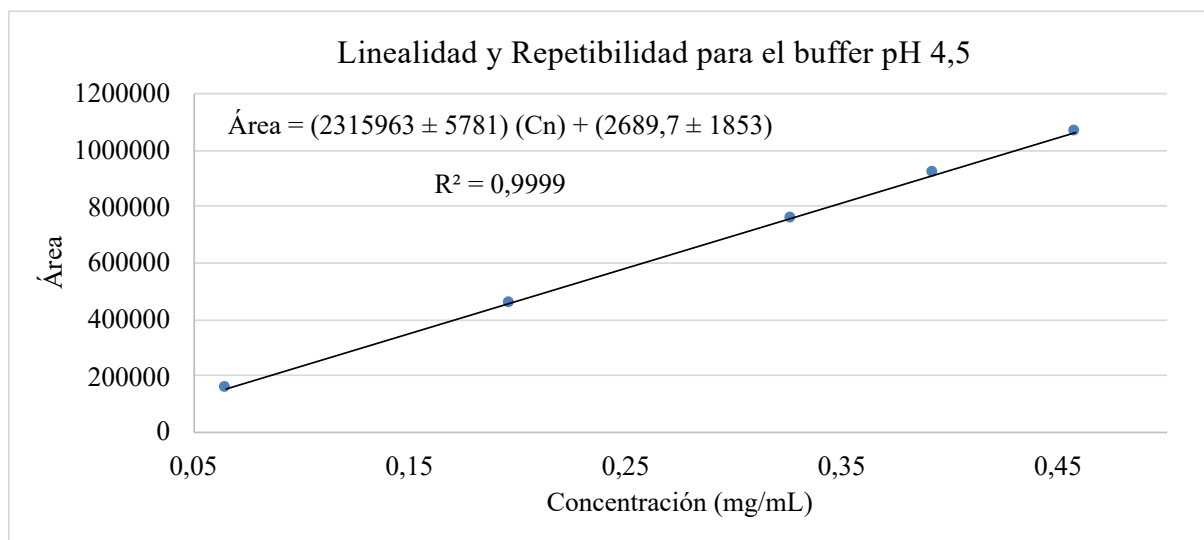
Patrón	20%	60%	100%	120%	140%
Áreas promedio de patrones	155370	457347	755351	915356	1064881

	155511	457238	754676	914170	1064996
	155750	457521	754635	915327	1064121
<b>Concentración (mg/mL)</b>	0,0654	0,1963	0,3272	0,3926	0,4580
<b>Media de las áreas</b>	155544	457369	754887	914951	1064666

Fuente: Elaboración propia.

Con la información del cuadro anterior, se utilizan los datos de áreas (Media de las áreas) en el eje vertical, y los valores de las concentraciones de los patrones exactamente conocidas y calculadas a partir del valor del estándar madre en el eje horizontal, se obtiene la siguiente gráfica.

**Gráfico 3. Ecuación de la recta para determinación de linealidad y repetibilidad para el buffer de pH 4,5**



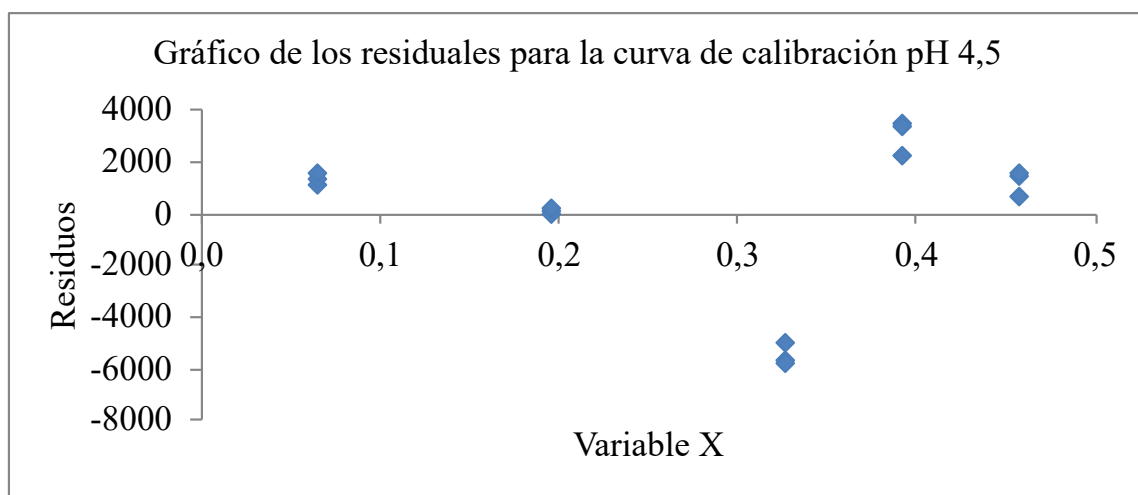
Fuente: Elaboración propia.

Tomando la ecuación obtenida en la gráfica anterior, es posible determinar con certeza las concentraciones de muestras que se analizarán más adelante en la determinación de exactitud del método.

Para determinar la aceptación de esta prueba, se debe tomar en cuenta el valor del coeficiente de determinación ( $R^2$ ), que es una medida estadística que indica la proporción de la variabilidad en la variable dependiente que es explicada por la variable independiente en un modelo de regresión. En el contexto de una ecuación de la recta utilizada para la determinación de la linealidad en una verificación de método analítico por HPLC, un valor de R cuadrado de 0,999 sugiere una fuerte correlación lineal entre las variables.

Este es un paso crítico en la verificación de un método analítico, ya que, la linealidad implica que la respuesta del detector es proporcional a la concentración del analito en una gama de concentraciones. En este caso, la ecuación de la recta se usa para modelar la relación entre la respuesta del detector y la concentración del analito.

**Gráfico 4. Evaluación de residuales para la curva de calibración de pH 4,5**



Fuente: Elaboración propia.

Si se analiza el gráfico anterior, se puede ver que tras en el estudio de residuales en los datos que conforman la curva de calibración, no se observa una tendencia, lo que significa

que los residuos o bien, las diferencias entre los valores observados y los valores predichos por el modelo, parecen distribuirse aleatoriamente alrededor de cero a lo largo de todo el rango de valores ajustados por el modelo. Esto es indicativo de que el modelo de regresión está capturando adecuadamente la estructura subyacente de los datos y que no hay patrones sistemáticos en las discrepancias entre las observaciones reales y las predicciones del modelo.

La falta de tendencia en la gráfica de residuales también sugiere que el supuesto de homocedasticidad, es decir se tiene una varianza constante de los errores. En otras palabras, la dispersión de los residuos parece ser constante en todo el rango de valores ajustados por el modelo.

Una manera de explicar la gráfica anterior, se puede decir que si no se tiene una tendencia en la gráfica de residuales es una señal positiva y sugiere que el modelo es apropiado para los datos disponibles. Además, la distribución aleatoria de los residuos alrededor de cero indica que no hay ningún patrón sistemático en las discrepancias entre las observaciones reales y las predicciones del modelo. Esto implica que el modelo no está sesgado hacia arriba o hacia abajo en ningún rango específico de valores ajustados.

Este comportamiento en los datos sugiere que el modelo es capaz de explicar la relación entre las variables predictoras y la variable de respuesta de manera satisfactoria. Dicho en otras palabras, el modelo está capturando la variabilidad en los datos de manera adecuada y no hay información importante que se esté perdiendo.

De igual forma, vale la pena analizar algunos aspectos importantes sobre la preparación de los estándares y se debe tener en cuenta las fuentes de error indeterminadas. Los errores indeterminados, también conocidos como errores aleatorios, son variaciones que afectan las mediciones y no siguen un patrón predecible. Estos errores pueden influir en el valor del coeficiente de correlación ( $R$ ) y, por ende, en el coeficiente de determinación ( $R^2$ ).

Al utilizar instrumentos de medición analítica tan precisos como los cromatógrafos, hay que considerar que se tiene un error inherente a los mismos, este error está asociado con

la variabilidad propia de los instrumentos. Incluye fluctuaciones en la respuesta del detector, cambios en las condiciones ambientales, la precisión del inyector, la estabilidad de la presión durante toda la corrida cromatográfica, la estabilidad de la temperatura en la columna, entre otros.

Para obtener un resultado satisfactorio, en este análisis se utilizó una sustancia patrón certificada y trazable a un estándar USP, y conociendo el valor de la pureza y porcentaje de agua se logra determinar las concentraciones con la menor incertidumbre posible. Además, se utilizaron balanzas micro analíticas calibradas y verificadas contra patrones de peso certificados. La calibración de una balanza asegura que las mediciones realizadas sean lo más precisas posible. La calibración ajusta la balanza para corregir cualquier desviación o error sistemático, lo cual significa que los resultados obtenidos son más cercanos al valor verdadero.

Según los datos representados en el gráfico, se puede afirmar con confianza que el método analítico es reproducible y robusto. La evidencia clave para respaldar esta conclusión proviene del coeficiente de determinación ( $R^2$ ), que se encuentra cerca de 1, indicando un ajuste excepcionalmente bueno del modelo lineal.

La reproducibilidad del método se infiere al observar la consistencia en la relación lineal entre las concentraciones de analito y las áreas de los picos. Un  $R^2$  cercano a 1 sugiere que las variaciones en las concentraciones están estrechamente asociadas con variaciones proporcionales en las áreas de los picos cromatográficos. Esto respalda la noción de que el método es predecible y capaz de producir resultados consistentes a lo largo de diferentes repeticiones bajo condiciones similares.

Adicionalmente, la interpretación de la baja variabilidad en los resultados obtenidos bajo condiciones experimentales similares sugiere que el método es robusto. La robustez se refiere a la capacidad del método para mantener su desempeño y precisión incluso cuando se somete a pequeñas fluctuaciones en las condiciones experimentales.

En este caso, la consistencia en los resultados bajo condiciones similares indica que el método es resistente a variaciones sutiles, lo que fortalece su aplicabilidad en entornos de laboratorio analíticos.

#### **4.2.5 Análisis de la exactitud para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 4,5 de acetato de sodio y ácido acético como solución diluyente.**

Para evaluar la exactitud de un método analítico mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), se emplea el enriquecimiento de muestras, un proceso que implica comparar los resultados del análisis con los valores reales o conocidos de las concentraciones de los analitos en esas muestras.

En este procedimiento, se crea una serie de estándares certificados que contienen concentraciones conocidas de los analitos de interés. Estos estándares, que conforman la curva de calibración utilizada para evaluar la linealidad del método, deben abarcar el rango de concentraciones que se espera encontrar en las muestras enriquecidas.

Las muestras enriquecidas se preparan utilizando una cantidad exactamente conocida del analito (a partir de un estándar madre) para obtener concentraciones predefinidas que simulan las condiciones reales de la muestra. Estas muestras enriquecidas se utilizan luego en el análisis por HPLC, y los resultados obtenidos se comparan con las concentraciones teóricas conocidas para evaluar cuán cercanos están los resultados del método a los valores reales.

Para esta determinación, se utilizan las mismas concentraciones finales que las utilizadas para el medio de pH 1,2. Además se utiliza la misma mezcla de muestras de producto original, se pesan muestras de tal manera que se alcance un valor del 50 % y se añaden volúmenes de estándar equivalentes para alcanzar valores de 60 %, 100 % y 140 %.

En la siguiente tabla, se encuentran los resultados de las concentraciones correspondientes a muestras preparadas (Cn muestra), la concentración de estándar añadido mediante las alícuotas en cada muestra (Cn estándar) y la suma de ambas concentraciones, que se puede ver en la tabla como *Cn teórica*, además se puede observar el valor de la concentración recuperada para cada muestra, *Cn recuperada*, que es la concentración extrapolada de la curva de calibración, que se calcula utilizando los valores de área en cada réplica. La relación entre los valores esperados teóricamente y los obtenidos es conocido como el porcentaje recuperado.

**Tabla 39. Resumen de resultados para el análisis de exactitud del método en medio de pH 4,5.**

<b>Porcentaje de muestra</b>	<b>Cn muestra</b>	<b>Cn estándar</b>	<b>Cn teórica</b>	<b>Cn recuperada</b>	<b>% recuperado</b>
60 %	0,16570	0,032717	0,19842	0,19277	97,2
100 %	0,16723	0,163586	0,33082	0,33844	102,3
140 %	0,16775	0,294455	0,46221	0,45963	99,4

Fuente: Elaboración propia.

Como se observa en la tabla, los valores del porcentaje recuperado son cercanos al 100,0 % y se tiene una relación muy cercana entre las concentraciones recuperadas y las esperadas teóricamente, esto quiere decir que el método es capaz de recuperar completamente el analito añadido a las muestras enriquecidas.

La evaluación de la precisión en un método analítico mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución es esencial para determinar qué tan confiable y exacto es dicho método. Como se muestra en la tabla anterior, los porcentajes de recuperación obtenidos son altamente satisfactorios, esto indica que el método es capaz de proporcionar resultados precisos y confiables.

Los métodos analíticos pueden experimentar variabilidad debido a diferentes factores, como la preparación de muestras, variaciones en las condiciones experimentales y fluctuaciones en la instrumentación, entre otros.

Esta variabilidad puede originarse en distintas etapas del proceso analítico, desde la extracción inicial de la muestra hasta la fase de detección y cuantificación del analito donde intervienen componentes del equipo como lámparas o bombas para mantener la presión. Es esencial abordar y minimizar estas fuentes de variabilidad para garantizar resultados precisos y confiables en el análisis, en este caso todos los valores se encuentran en el rango de aceptación entre 90,0 % y 110, 0 %; por lo tanto, se puede decir que se tiene un método exacto.

Es importante analizar otras variables estadísticas de las muestras enriquecidas cuando se habla del análisis de exactitud del método. En la siguiente tabla se resumen algunos parámetros.

**Tabla 40. Resultados estadísticos del análisis de exactitud del método en medio de pH 4,5.**

<b>Porcentaje de muestra</b>	<b>% recuperado</b>	<b>Coefficiente de correl.</b>	<b>Coefficiente de variación (%)</b>	<b>Sesgo (%)</b>
60 %	97,2	1,03	0,251	2,553
100 %	102,3	0,98	0,056	-2,610
140 %	99,4	1,01	0,136	0,191
<b>Promedio</b>	<b>99,6</b>	<b>1,0</b>	<b>0,1</b>	<b>0,045</b>

Fuente: Elaboración propia.

Analizando la tabla anterior, se puede ver que el promedio del coeficiente de correlación es 1,0; un coeficiente de correlación de 1,0 en un conjunto de datos indica una correlación perfecta y positiva entre las dos variables que se están analizando. Esto significa que a medida que el valor de una variable aumenta, el valor de la otra variable también aumenta en una relación lineal. Cuando el coeficiente de correlación es exactamente 1,0 todos

los puntos de datos se ajustan perfectamente a una línea recta ascendente en un diagrama de dispersión. Además, se puede decir que todos los puntos de datos del conjunto de datos se alinean perfectamente en una línea recta con una pendiente positiva. En otras palabras, no hay desviación de la relación lineal entre las variables.

Es importante destacar que, aunque un coeficiente de correlación de 1,0, indica una relación perfecta entre las variables en el conjunto de datos analizado, no implica necesariamente una relación causal entre ellas. Además, se debe considerar la posibilidad de que la correlación sea influenciada por datos atípicos o por la presencia de otras variables no incluidas en el análisis.

Por otra parte, el coeficiente de variación es una medida de dispersión relativa que se utiliza para evaluar la variabilidad de un conjunto de datos en relación con su media. Cuando se tiene un coeficiente de variación promedio es 0,1 en un conjunto de datos, esto significa que, en promedio, la variabilidad de los datos es relativamente baja en comparación con su media. Además, se puede decir que la desviación estándar de los datos es el 10% de la media, esto indica que, en promedio, los datos tienden a estar bastante cerca de la media. En otras palabras, este valor de CV puede ser indicativo de una mayor consistencia en los datos o una menor dispersión relativa.

En relación con el promedio del sesgo observado en el porcentaje de recuperación de las muestras enriquecidas, se registró un valor del 0,045 %. El sesgo, en el marco de la evaluación de la exactitud de un método analítico, está relacionado con la tendencia sistemática de los resultados que se alejan de los valores reales o esperados. Esta tendencia puede afectar la precisión y fiabilidad del método, su evaluación para verificar la validez del método es esencial.

Este valor de sesgo quiere decir que hay una tendencia sistemática en las mediciones que causa una pequeña discrepancia constante entre los resultados observados y los valores verdaderos o esperados. Es importante destacar que, aunque el sesgo promedio sea pequeño,

puede tener un impacto significativo en la precisión y fiabilidad del método analítico. Por lo tanto, es crucial tener en cuenta y corregir este sesgo para garantizar mediciones precisas y exactas.

#### **4.2.6 Análisis de la precisión para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 4,5 de acetato de sodio y ácido acético como solución diluyente.**

Durante la verificación de un método analítico, el estudio de la precisión hace referencia a la capacidad del método para proporcionar resultados reproducibles en las mismas condiciones. La precisión se puede evaluar utilizando de la desviación estándar y el Coeficiente de Variación o Desviación Estándar Relativa del conjunto de datos.

En la siguiente tabla, se tienen los valores de concentración de tres muestras, evaluadas por duplicado. Estos valores se extrapolan de la curva de calibración y se evalúan los valores estadísticos correspondientes.

**Tabla 41. Resultados de la evaluación de precisión del método en medio de pH 4,5.**

<b>Áreas de muestras al 100 %</b>	<b>Concentración de muestras</b>
787711	0,33896
786305	0,33835
787350	0,33881
785169	0,33786
788083	0,33912
784402	0,33753
<b>Desviación estándar</b>	<b>0,0006</b>
<b>Promedio de áreas</b>	<b>0,33844</b>
<b>Desviación estándar Relat.</b>	<b>0,188 %</b>

Fuente: Elaboración propia.

En la evaluación de la precisión, la desviación estándar se emplea para medir la variabilidad de las mediciones. Cuando la desviación estándar es baja, esto sugiere que las mediciones son precisas y tienen poca variabilidad. Además, un bajo coeficiente de variación (CV), expresado como un porcentaje, indica una alta precisión. Esto significa que la variabilidad relativa en comparación con la media es baja, lo que refuerza la confiabilidad y exactitud de las mediciones del método evaluado.

**4.2.7 Análisis de la linealidad y repetibilidad para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 6,8 de fosfato de potasio monobásico e hidróxido de sodio como solución diluyente.**

Siguiendo la misma metodología, la linealidad y repetibilidad se evalúa utilizando tres curvas de calibración individuales, que se preparan a partir de un estándar madre. Se preparan patrones que equivalen al 20 %, 60 %, 100 %, 120 % y 140 % con respecto al valor esperado en una liberación total del principio activo en un medio de 900 mL.

En la siguiente tabla se encuentra toda la información de la solución estándar y su concentración final para esta curva:

**Tabla 42. Información relacionada a la preparación del estándar madre para preparación de la curva de calibración.**

Masa (mg)	165,356
Potencia (%)	99,14
Agua (%)	0,1
Potencia	0,9904
Concentración (mg/mL)	1,6377

Fuente: Elaboración propia.

En los cuadros siguientes, se encuentran los valores de áreas obtenidos para cada una de las curvas de calibración, que se utilizan para calcular la ecuación de la recta de la que se extrapolan los resultados de las muestras.

**Tabla 43. Valores de áreas de la curva 1 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.**

<b>Curva de calibración 1</b>		
Patrón	Áreas	Áreas Promedio
20%	154154	154441
	154727	
60%	456323	456333
	456342	
100%	761733	762454
	763175	
120%	913558	915792
	918025	
140%	1060058	1060048
	1060038	

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 44. Valores de áreas de la curva 2 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.**

<b>Curva de calibración 1</b>		
Patrón	Áreas	Áreas Promedio
20%	154054	154018
	153981	
60%	456397	457469
	458540	
100%	761790	761876

	761961	
120%	917624	915594
	913564	
140%	1063973	1061364
	1058755	

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 45. Valores de áreas de la curva 3 de los patrones para determinar la ecuación de la recta.**

<b>Curva de calibración 1</b>		
Patrón	Áreas	Áreas Promedio
20%	153990	154063
	154135	
60%	456942	457160
	457378	
100%	761766	761874
	761981	
120%	914461	916354
	918246	
140%	1060898	1059946
	1058993	

Fuente: Elaboración propia.

Con base en la información anterior, se procede a calcular la ecuación de la recta, utilizando los valores de concentración de los patrones en *mg/mL* y la media de las áreas para cada uno de las réplicas de los mismos. En el siguiente cuadro, se muestran el resumen de los resultados respectivos.

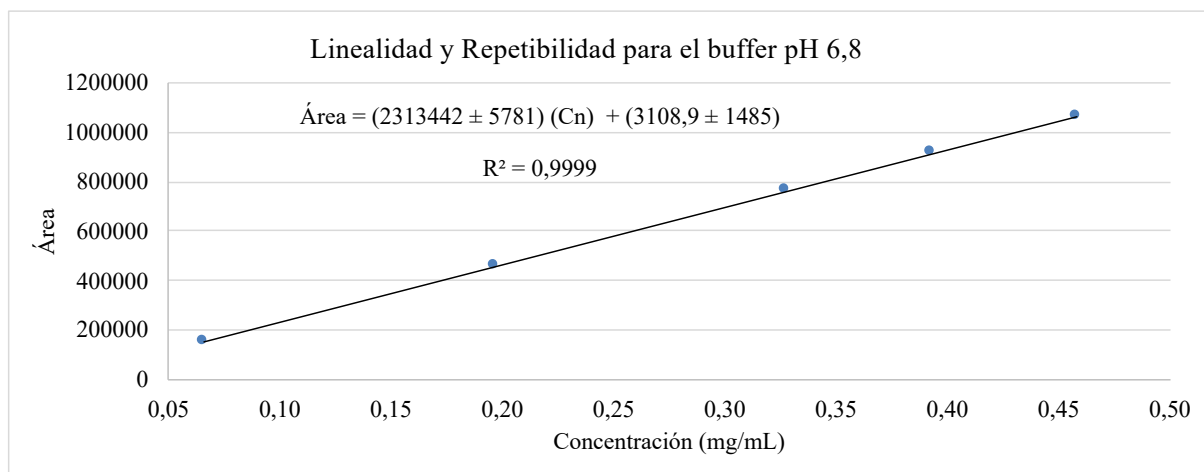
**Tabla 46. Valores de áreas y concentración de los patrones de la curva de calibración.**

Patrón	20%	60%	100%	120%	140%
Áreas promedio de patrones	154441	456333	762454	915792	1060048
	154018	457469	761876	915594	1061364
	154063	457160	761874	916354	1059946
Concentración (mg/mL)	0,0655	0,1965	0,3275	0,3930	0,4586
Media de áreas	154173,5	456987	762068	915913	1060453

Fuente: Elaboración propia.

De los valores presentados en la tabla anterior, se puede obtener el gráfico que contiene la curva de calibración, de la que se evalúa el coeficiente de correlación,  $R^2$ , que indica la fuerza de la relación entre las variables en el eje x (la concentración de los patrones) y las variables del eje y (áreas de los patrones). El gráfico que se obtuvo de utilizar el promedio de las áreas de las tres curvas para cada patrón es el siguiente:

**Gráfico 5. Ecuación de la recta para determinación de linealidad y repetibilidad para el buffer de pH 6,8.**



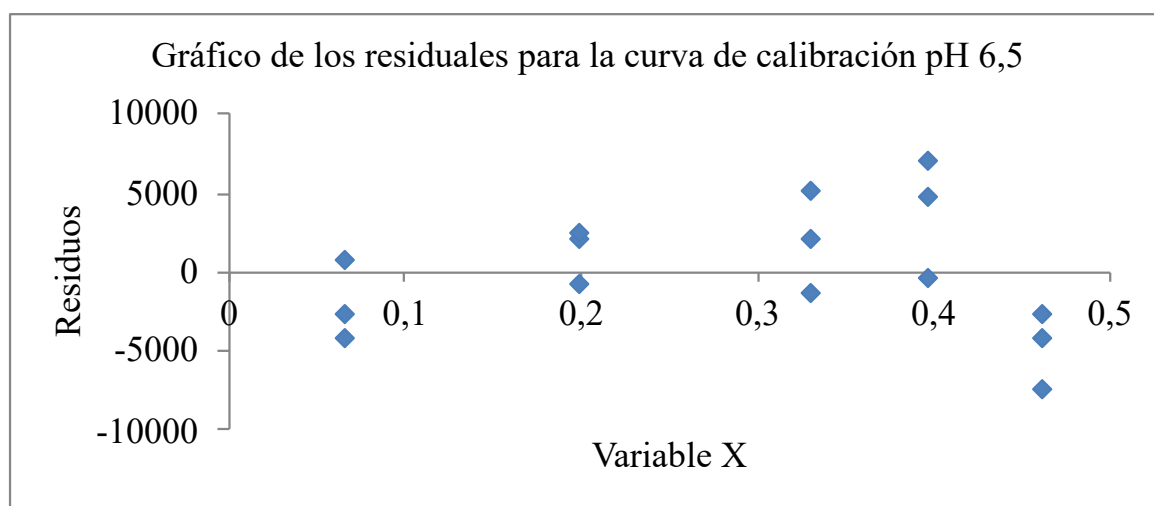
Fuente: Elaboración propia.

Cabe analizar el valor del coeficiente de correlación para la curva anterior, que sirve para interpretar la fuerza entre las variables de concentración y área obtenida. Un valor de R cercano a 1 indica una correlación lineal muy fuerte entre las variables, lo que sugiere que la curva de calibración es altamente lineal y que el método analítico es capaz de medir con precisión y exactitud una amplia gama de concentraciones.

En este caso, un valor de R de 0,999 indica una correlación extremadamente alta y cercana a la perfección entre las concentraciones de los estándares y las señales detectadas de los mismos y el método analítico es altamente confiable para determinar la concentración de analito en muestras desconocidas.

En el siguiente gráfico se analizan los valores de los residuales que se tiene para la curva de calibración anterior.

**Gráfico 6. Evaluación de residuales para la curva de calibración de pH 6,8.**



Fuente: Elaboración propia.

El análisis de residuos constituye una técnica estadística fundamental para evaluar la adecuación de un modelo de regresión. Su propósito principal es investigar si existen

patrones sistemáticos en las discrepancias entre los valores observados y los valores predichos por el modelo, es decir, los residuos. Identificar tales patrones es fundamental, ya que sugiere que el modelo no logra representar completamente la estructura de los datos, señalando la necesidad de realizar ajustes adicionales para mejorar su capacidad predictiva.

En el gráfico anterior, no se aprecia una tendencia clara entre los datos examinados. Por lo tanto, es probable que se encuentren errores aleatorios típicos dentro de los procedimientos analíticos con técnicas como la cromatografía líquida de alta eficiencia.

Realizando un análisis más exhaustivo de los errores que se pueden presentar en los métodos analíticos, se debe considerar la presencia de impurezas o contaminantes en las muestras, esta es una variable significativa que introduce errores determinados en los análisis químicos. Esta presencia puede impactar la precisión del análisis al interferir con los picos cromatográficos y afectar las mediciones de área.

Asimismo, las variaciones en las condiciones instrumentales, como las fluctuaciones en la temperatura, la presión y las condiciones del detector, pueden también introducir errores en las mediciones de cromatografía.

#### **4.2.8 Análisis de la exactitud para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 6,8 de fosfato de potasio monobásico e hidróxido de sodio como solución diluyente.**

Las pruebas de exactitud con muestras enriquecidas son fundamentales en la verificación de métodos analíticos porque proporcionan una evaluación directa de la capacidad del método para recuperar con precisión y exactitud la cantidad conocida de analito en una matriz compleja similar a la muestra real. Estas pruebas ayudan a determinar si el método es capaz de proporcionar resultados confiables y precisos en condiciones que simulan de manera más cercana las situaciones del mundo real.

En la siguiente tabla, se presentan los resultados obtenidos del análisis de exactitud utilizando muestras enriquecidas con estándar, se tiene el resultado de la *concentración teórica*, cuya relación con la *concentración recuperada*, se obtiene el *porcentaje de recuperación*, que es la medida porcentual para determinar si el método tiene una exactitud aceptable.

**Tabla 47. Resumen de resultados para el análisis de exactitud del método en medio de pH 6,8.**

<b>Porcentaje de muestra</b>	<b>Cn muestra</b>	<b>Cn estándar</b>	<b>Cn teórica</b>	<b>Cn recuperada</b>	<b>% recuperado</b>
60%	0,16653	0,032754	0,19929	0,19510	97,9
100%	0,16718	0,163769	0,33095	0,32583	98,5
140%	0,16653	0,294783	0,46132	0,46329	100,4

Fuente: Elaboración propia.

El porcentaje recuperado es una medida crítica en estas pruebas de exactitud. Representa el porcentaje de la cantidad conocida de analito que se recupera correctamente mediante el método analítico. Un porcentaje de recuperación cercano al 100,0 % indica que el método es altamente preciso y confiable, ya que está recuperando la cantidad esperada del analito en la muestra. Como se puede ver en la tabla anterior, los porcentajes de recuperación están dentro del rango esperado y tienen valores cercanos al 100,0 %.

A continuación, se presenta un resumen de los resultados estadísticos del estudio de exactitud, donde se evalúan el coeficiente de correlación, el coeficiente de variación y el sesgo de las muestras enriquecidas.

**Tabla 48. Resultados estadísticos del análisis de exactitud del método en medio de pH 6,8.**

<b>Porcentaje de muestra</b>	<b>% recuperado</b>	<b>Coefficiente de correl.</b>	<b>Coefficiente de variación (%)</b>	<b>Sesgo (%)</b>
60%	97,9	1,02	0,210	1,050
100%	98,5	1,02	0,211	0,482
140%	100,4	1,00	0,189	-1,496
<b>Promedio</b>	<b>98,9</b>	<b>1,0</b>	<b>0,2</b>	<b>0,012</b>

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto al valor del coeficiente de correlación, se tiene un valor de 1,0 lo que se interpreta como una correlación positiva entre las concentraciones preparadas en las muestras y las concentraciones recuperadas por el método.

Por otra parte, el coeficiente de variación es una medida de la dispersión relativa de un conjunto de datos en relación con su media. Se expresa como un porcentaje y es utilizado para examinar la precisión del método. En este caso se obtuvo un valor de coeficiente de variación de 0,2 %; esto indica que las mediciones son consistentes y que el método es preciso.

Idealmente, en un estudio de exactitud de un método analítico, el sesgo debería ser lo más cercano posible a cero. Un sesgo de cero indicaría que no hay ninguna tendencia sistemática en las mediciones realizadas por el método analítico, lo que significa que los resultados obtenidos son completamente imparciales y no están sesgados hacia arriba o hacia abajo en comparación con los valores de referencia o verdaderos.

Sin embargo, en la práctica, es difícil lograr un sesgo exactamente igual a cero debido a diversas fuentes de error y variabilidad en los métodos analíticos. Por lo tanto, en la mayoría de los casos, se considera aceptable un sesgo pequeño y cercano a cero. La magnitud del sesgo aceptable puede variar dependiendo del contexto y de las especificaciones del método

analítico, pero en general, un sesgo inferior a un cierto límite predefinido, por ejemplo,  $\pm 0,5\%$  puede considerarse aceptable en muchos casos.

En este análisis se obtuvo un sesgo positivo de  $0,012\%$  indica que hay una tendencia sistemática a obtener resultados que son ligeramente mayores que los valores verdaderos o esperados. El sesgo positivo significa que, en promedio, las mediciones realizadas por el método analítico tienden a ser mayores que los valores de referencia, pero el porcentaje se encuentra muy cercano a cero, por lo tanto, es un dato muy aceptable.

#### **4.2.9 Análisis de la precisión para la verificación del método analítico, utilizando un buffer de pH 6,8 de fosfato de potasio monobásico e hidróxido de sodio como solución diluyente.**

En la verificación de un método analítico, la precisión se refiere a la capacidad del método para producir resultados consistentes y reproducibles cuando se aplican repetidamente. Se evalúa mediante la determinación de la desviación estándar y el coeficiente de variación o desviación estándar relativa (RSD).

Los valores de concentración de tres muestras, evaluadas por duplicado, se obtienen de la curva de calibración y se analizan los valores estadísticos correspondientes en la tabla siguiente.

**Tabla 49. Resultados de la evaluación de precisión del método en medio de pH 6,8.**

<b>Áreas de muestras al 100 %</b>	<b>Concentración de muestras</b>
755097	0,32505
755636	0,32528
758624	0,32658
758483	0,32652
758472	0,32651
755014	0,32502
<b>Desviación estándar</b>	<b>0,0008</b>

<b>Promedio de áreas</b>	<b>0,32583</b>
<b>Desviación estándar Relat.</b>	<b>0,240 %</b>

Fuente: Elaboración propia.

La desviación estándar es una medida de la dispersión de los datos alrededor de la media. Al analizar este resultado, y teniendo un valor de 0,0008 en una prueba de precisión durante la verificación de un método analítico indica la magnitud de la variabilidad o dispersión de los resultados obtenidos en las mediciones. Específicamente, en este contexto, una desviación estándar de 0,0008 indica que, en promedio, las mediciones realizadas con el método analítico difieren de la media en alrededor de  $\pm 0,0008$  unidades. Al tener un valor tan cercano a cero, se puede afirmar que el método es altamente preciso.

El RSD se utiliza para expresar la precisión relativa de un método analítico, teniendo en cuenta la variabilidad en las mediciones en relación con su magnitud. Cuanto menor sea el RSD, mayor será la precisión relativa del método, ya que indica que la variabilidad en las mediciones es baja en comparación con la media. En algunos campos de investigación como en el análisis clínico o farmacéutico, un RSD del 0,5 % o menos puede considerarse aceptable, en este análisis se obtuvo una Desviación Estándar Relativa de 0,240 %; por lo tanto, el resultado es muy aceptable y se puede concluir que el método es confiable.

#### **4.2.10 Análisis del resultado de los perfiles de disolución aplicados a ambos medicamentos en tres medios de disolución con diferente valor de pH.**

El perfil de disolución es una herramienta utilizada en farmacología para evaluar cómo se disuelve un fármaco de una formulación sólida como una tableta o una cápsula en distintos medios de disolución. Esto es importante porque la tasa y la cantidad de disolución de un fármaco afectan directamente a su absorción y, por lo tanto, a su efectividad clínica. El perfil de disolución proporciona información sobre la velocidad y la cantidad de fármaco que se libera en el tiempo.

Por otra parte, la bioequivalencia in vitro es un concepto utilizado para comparar la disolución y la liberación de un fármaco de dos formulaciones que son equivalente terapéuticas entre sí. Si dos medicamentos se consideran bioequivalentes deberían tener el mismo efecto terapéutico en el organismo. Esto es fundamental en el desarrollo de medicamentos genéricos o en la evaluación de lotes de medicamentos.

La evaluación en tres medios de disolución diferentes permite verificar si la liberación del fármaco es consistente en una variedad de condiciones, lo que es crucial para garantizar su eficacia y seguridad en diferentes entornos gastrointestinales. Estos estudios se realizan utilizando medios de disolución diferentes, debido a que el tracto gastrointestinal tiene diferentes niveles de pH en diferentes regiones, desde ácido en el estómago hasta más alcalino en el intestino delgado. Por lo tanto, para simular las condiciones del tracto gastrointestinal, se utilizan varios medios de disolución con diferentes niveles de pH 1,2; pH 4,5 y pH 6,8.

Además, algunos fármacos pueden disolverse mejor o peor en función del pH del medio. Por ello, evaluar la disolución en múltiples medios de disolución con diferentes niveles de pH proporciona una comprensión más completa de la disolución del fármaco en una variedad de condiciones.

Para determinar bioequivalencia entre dos fármacos que se pueden clasificar como equivalentes terapéuticos, es necesario un análisis estadístico de los resultados del muestreo de ambos fármacos a diferentes tiempos. En este caso se tienen tiempos de muestreo a 5, 10, 15, 20, 30, 40 y 60 minutos, y se realiza el análisis en 12 unidades de ambos productos en los tres medios de disolución con diferente valor de pH.

El análisis estadístico de los resultados se centra en el estudio de los factores F1 y F2, que son parámetros utilizados en estudios de bioequivalencia in vitro para comparar las curvas de disolución de dos formulaciones de un medicamento. Estos parámetros se calculan

utilizando las diferencias entre las áreas cromatográficas de las dos formulaciones y proporcionan una medida cuantitativa de la similitud entre las curvas de disolución.

Por un lado, el valor de F1 indica la similitud en la velocidad de disolución entre las dos formulaciones. Se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$F1 = \frac{\sum |\% \text{ medicam. Referencia} - \% \text{ medicam. Prueba}|}{\sum (\% \text{ medicam. Referencia})} \times 100$$

*Nota: el medicamento de referencia se refiere al medicamento de marca, y el medicamento de prueba se refiere al medicamento genérico.*

En cuanto al valor de aceptación, un valor de F1 cercano a cero indica una alta similitud entre las curvas de disolución y, por lo tanto, sugiere que las formulaciones son bioequivalentes en términos de velocidad de disolución. Un valor de F1 inferior a 15,0 es generalmente aceptado para considerar las formulaciones como bioequivalentes en la mayoría de las regulaciones.

Un valor de F1 mayor a 15,0 en un estudio de bioequivalencia in vitro indica una diferencia significativa en la velocidad de disolución entre las formulaciones de prueba y de referencia. Esto sugiere que las dos formulaciones no son bioequivalentes en términos de velocidad de disolución. Cuando el valor de F1 es mayor a 15,0 significa que la diferencia en porcentajes disueltos de las curvas de disolución de las formulaciones de prueba y de referencia es considerable en comparación con el porcentaje disuelto total de disolución de la formulación de referencia. Esto puede ser indicativo de diferencias en la liberación del fármaco entre las formulaciones o en la velocidad a la que se disuelve el fármaco en el medio de disolución.

Además, un valor de F1 mayor a 15,0 generalmente sugiere que las formulaciones no cumplen con los criterios de bioequivalencia establecidos, lo que puede tener implicaciones importantes en términos de seguridad y eficacia clínica. En tales casos, se requerirían más investigaciones para comprender las razones detrás de las diferencias en la velocidad de disolución y determinar si las formulaciones son clínicamente equivalentes.

Por otra parte, el valor del actor F2 indica la similitud en el perfil de disolución entre las dos formulaciones, y se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$F2 = 50 \times \log \left\{ \left( 1 + \left( \frac{1}{n} \right) \left( \sum_1^n (Rt - Tt)^2 \right) \right)^{-0,5} \times 100 \right\}$$

*Nota:  $R_t$  y  $T_t$  son los porcentajes disueltos en el tiempo  $t$  para las formulaciones de referencia y prueba, respectivamente y  $n$  es la cantidad de tiempos de muestreo.*

En cuanto al valor de aceptación para el factor F2, se considera que un valor de F2 cercano a 100 indica una alta similitud en el perfil de disolución y, por lo tanto, sugiere que las formulaciones son bioequivalentes en términos de perfil de disolución. En general, se considera que un valor de F2 entre 50 y 100 indica una similitud aceptable entre las curvas de disolución.

Un valor de F2 muy bajo o menor a 50,0 en un estudio de bioequivalencia in vitro indica una diferencia significativa en el perfil de disolución entre las formulaciones de prueba y de referencia. Esto sugiere que las dos formulaciones no son bioequivalentes en términos de perfil de disolución.

Cuando el valor de F2 es menor a 50,0 significa que las diferencias acumulativas entre las curvas de disolución de las formulaciones de prueba y de referencia son considerablemente altas en relación con la suma total de las diferencias cuadráticas. Esto indica que hay discrepancias significativas en la forma en que los fármacos se disuelven y se liberan de las formulaciones en diferentes momentos.

En general, un valor de F2 muy bajo sugiere que las formulaciones no cumplen con los criterios de bioequivalencia en términos de perfil de disolución. Esto puede tener implicaciones importantes en términos de seguridad y eficacia clínica, ya que las diferencias en el perfil de disolución pueden afectar la absorción del fármaco y, por lo tanto, su efectividad terapéutica.

En cuanto a los resultados obtenidos en los perfiles de disolución para cápsulas de Gabapentina 300 mg, se obtuvo para el medio de disolución de pH 1,2 los valores resumidos en la siguiente tabla.

El valor del porcentaje promedio de disolución de referencia se refiere al promedio de los 12 resultados para el producto original en cada tiempo de muestreo, por otra parte, el porcentaje promedio del producto de prueba, es el promedio disuelto de las 12 unidades de producto genérico en cada tiempo de muestreo durante el perfil.

**Tabla 50. Resumen de resultados del perfil de disolución utilizando un medio de disolución de pH 1,2.**

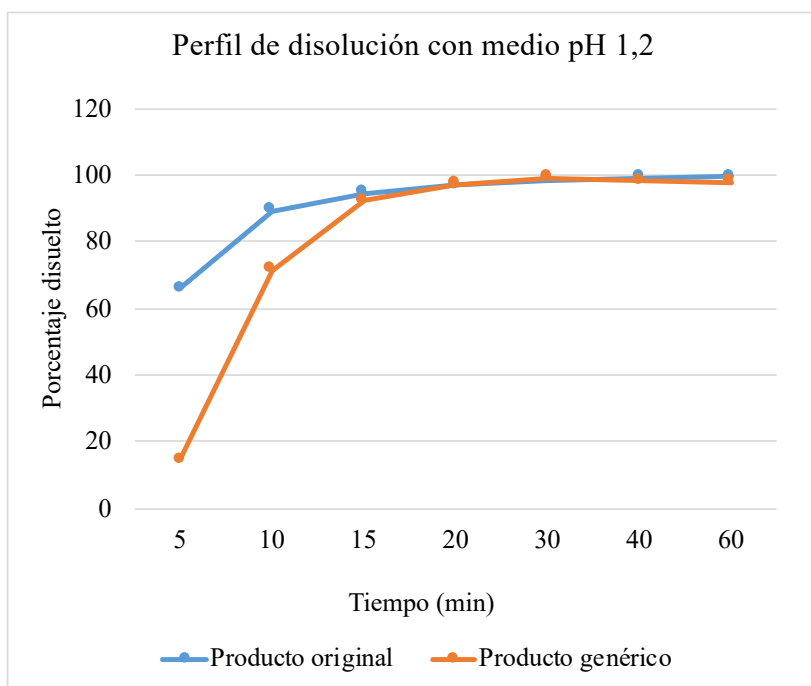
<b>Tiempo (minutos)</b>	<b>% promedio disolución Referencia</b>	<b>% promedio disolución prueba</b>	<b>(Rt-Tt)</b>	<b>(Rt-Tt)<sup>2</sup></b>
5	65,8	14,6	51,250	2626,563
10	89,4	71,4	18,000	324,000
15	94,6	92,4	2,150	4,622
20	96,8	97,1	0,350	0,122
30	98,4	99,2	0,750	0,563
40	99,2	98,3	0,900	0,810
60	99,4	97,9	1,550	2,403

(A)	$\sum(Rt-Tt)^2 =$	2959,08	<b>F2</b>
(n)	n =	7,00	34,32
(B)	$1 + (1/n) * A =$	423,73	<b>F1</b>
(C)	$((B)^{-0,5}) * 100 =$	4,86	11,65

Fuente: Elaboración propia.

Visto gráficamente, los resultados anteriores se representan en el siguiente gráfico.

**Gráfico 7. Porcentajes disueltos en función del tiempo para el perfil de disolución con medio de pH 1,2.**



Fuente: Elaboración propia.

Se puede notar como existe una diferencia importante entre los porcentajes disueltos entre el producto original y el producto genérico en los primeros 5 minutos de disolución, esta diferencia se hace más pequeña (18 %) a los 10 minutos de haber iniciado la disolución, sin embargo, no se consiguen resultados aceptables (muy similares entre sí) si no hasta los 15 minutos y en adelante, hasta finalizar el ensayo.

Aunque se tienen resultados muy similares y el cálculo del factor F1 sea aceptable (11,65) se puede decir que ambos medicamentos en el medio de pH 1,2 tienen velocidades de liberación similares; el valor del factor F2 es muy bajo (34,32), y las diferencias entre las curvas de disolución del producto original y el producto genérico son muy altas. Esto hace que los productos no se puedan considerar bioequivalentes.

Considerando que la monografía del producto utiliza HCl 0,06 N como medio de disolución, se podría esperar que los resultados con el este medio fueran muy cercanos a los obtenidos con el ensayo de disolución, y que el comportamiento de ambos medicamentos fuera aceptable. Sin embargo, las diferentes formulaciones, las cantidades y calidades de los excipientes juegan un papel fundamental en el proceso de liberación y disolución de los fármacos.

Por una parte, en la siguiente tabla se pueden ver los resultados obtenidos para el perfil de disolución hecho con el medio de pH 4,5. El valor del porcentaje promedio de disolución de referencia se refiere al promedio de los 12 resultados para el producto original en cada tiempo de muestreo, por otra parte, el porcentaje promedio del producto de prueba, es el promedio disuelto de las 12 unidades de producto genérico en cada tiempo de muestreo durante el perfil.

**Tabla 51. Resumen de resultados del perfil de disolución utilizando un medio de disolución de pH 4,5.**

<b>Tiempo (minutos)</b>	<b>Promedio disolución Referencia</b>	<b>Promedio disolución prueba</b>	<b>(Rt-Tt)</b>	<b>(Rt-Tt)<sup>2</sup></b>
5	54,0	10,1	43,900	1927,210
10	85,0	49,1	35,900	1288,810
15	92,1	52,1	40,000	1600,000
20	93,9	59,7	34,200	1169,640
30	95,7	59,6	36,100	1303,210
40	96,2	63,2	33,000	1089,000
60	96,4	61,0	35,400	1253,160

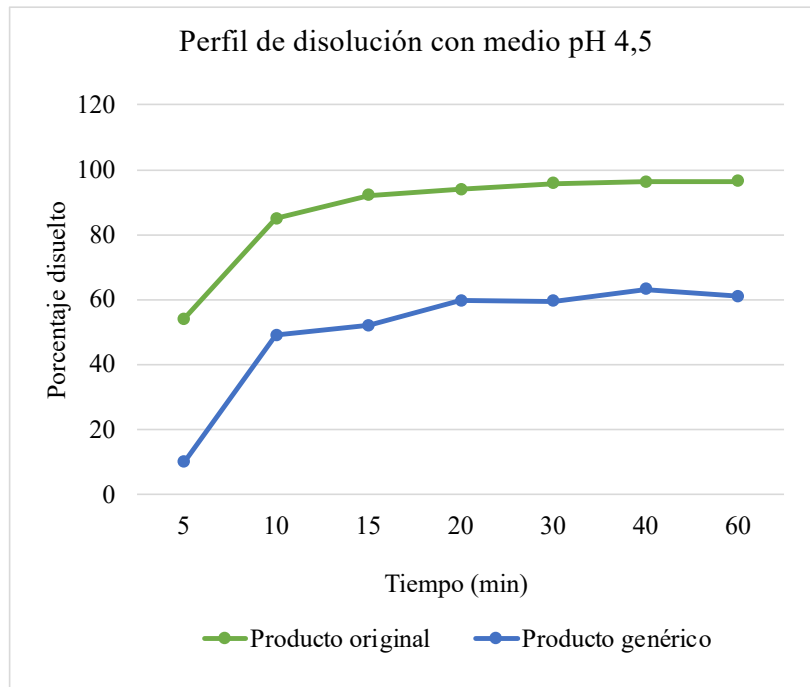
  

(A)	$\sum(Rt-Tt)^2 =$	9631,03	<b>F2</b>
(n)	n =	7,00	21,53
(B)	$1 + (1/n) * A =$	1376,86	<b>F1</b>
(C)	$((B)^{-0,5}) * 100 =$	2,69	42,15

Fuente: Elaboración propia.

El gráfico que representa los promedios de los porcentajes disueltos en función del tiempo, para el perfil de disolución es el siguiente.

**Gráfico 8. Porcentajes disueltos en función del tiempo para el perfil de disolución con medio de pH 4,5.**



Fuente: Elaboración propia.

En este caso, las diferencias entre los porcentajes disueltos entre el producto original y el producto genérico son muy evidentes. El producto original obtuvo porcentajes superiores a 85 % a partir de los 10 minutos de disolución, mientras que el producto genérico no alcanzó porcentajes superiores a 63,2 % durante todo el ensayo. Estas diferencias hacen que el valor del factor F1 sea sumamente elevado (42,15) recalcando lo visto en el gráfico, las velocidades de liberación son muy distintas para ambos medicamentos.

En cuanto al análisis del factor F2, se obtuvo un resultado de 21,53; este valor es muy bajo y se puede interpretar como que existen diferencias muy significativas entre ambos perfiles y, por lo tanto, los medicamentos no se pueden considerar bioequivalentes.

Es evidente que el producto genérico no tiene un comportamiento adecuado con este medio de disolución, y este rendimiento puede deberse a una baja solubilidad del principio activo y los excipientes en este pH. A pesar de tener un comportamiento deficiente en este medio, el producto genérico si demostró tener una potencia aceptable y el resultado del ensayo de disolución en medio ácido fue muy satisfactorio. Sin embargo, para que el medicamento pueda considerarse como bioequivalente a el producto de referencia Neurontin® 300 mg, debe tener perfiles muy similares en todos los medios de disolución.

Analizando los resultados obtenidos a partir del perfil de disolución utilizando un medio con pH de 6,8 se obtiene la siguiente tabla, de manera que el valor del porcentaje promedio de disolución de referencia se refiere al promedio de los 12 resultados para el producto original en cada tiempo de muestreo, por otra parte, el porcentaje promedio del producto de prueba, es el promedio disuelto de las 12 unidades de producto genérico en cada tiempo de muestreo durante el perfil.

**Tabla 52. Resumen de resultados del perfil de disolución utilizando un medio de disolución de pH 6,8.**

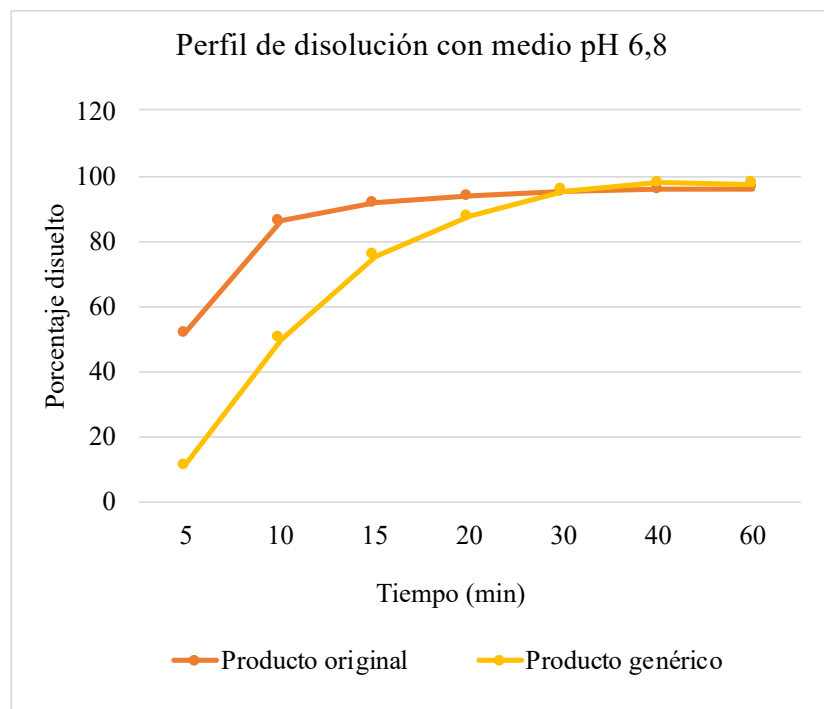
<b>Tiempo (minutos)</b>	<b>Promedio disolución Referencia</b>	<b>Promedio disolución prueba</b>	<b>(Rt-Tt)</b>	<b>(Rt-Tt)<sup>2</sup></b>
5	51,6	11,1	40,500	1640,250
10	86,1	50,0	36,100	1303,210
15	91,5	75,6	15,900	252,810
20	93,6	87,4	6,200	38,440
30	95,0	95,4	0,400	0,160
40	95,6	97,7	2,100	4,410
60	96,0	97,5	1,500	2,250
(A)	$\sum(Rt-Tt)^2 =$		3241,53	<b>F2</b>

(n)	$n =$	7,00	33,34
(B)	$1 + (1/n) * A =$	464,08	F1
(C)	$((B)^{-0,5}) * 100 =$	4,64	16,85

Fuente: Elaboración propia.

Se tiene la siguiente representación gráfica de los resultados anteriores.

**Gráfico 9. Porcentajes disueltos en función del tiempo para el perfil de disolución con medio de pH 6,8.**



Fuente: Elaboración propia.

En este caso, se pueden ver diferencias importantes entre los porcentajes disueltos entre ambos medicamentos en los primeros 20 minutos de disolución. El producto original tiene un comportamiento ideal y los porcentajes encontrados son superiores a 80 % desde los primeros minutos y mantiene una liberación sostenida hasta el final del ensayo. El producto genérico, por otra parte, presenta una liberación más lenta y con diferencias significativas entre los porcentajes disueltos con respecto al producto original.

Este comportamiento hace que se tenga un valor de factor F1 más alto de lo aceptable (16,85) lo que quiere decir, que las velocidades de liberación son considerablemente distintas entre ambos medicamentos. Además, el valor del factor F2 (33,34) refleja una diferencia significativa entre ambas curvas de los perfiles de disolución; por lo tanto, no se cumplen los requisitos para clasificar los medicamentos como bioequivalentes.

Considerando en conjunto los resultados de los tres perfiles de disolución, únicamente el primer perfil tiene un valor de F1 aceptable, los demás perfiles no cumplen con los criterios de aceptación en cuando a los valores de F1 y F2, por lo tanto, el medicamento genérico no es considerado como bioequivalente con el producto original de referencia.

Un estudio similar a esta investigación realizado en Perú en el año 2020, donde se comparan varias marcas de Gabapentina genérica con Neurontin 300 mg ®, tras analizar perfiles a diferentes valores de pH, se encontró que el medicamento multifuente de Gabapentina 300 mg cápsula es aplicable para bioexención. Esto significa que, debido a la similitud en los perfiles de disolución del medicamento multifuente con el medicamento innovador de Gabapentina, se considera que ambos medicamentos son equivalentes en términos de liberación del principio activo en el organismo<sup>87</sup>.

La bioexención se basa en la premisa de que si dos formulaciones de un medicamento muestran perfiles de disolución comparables in vitro, es probable que también tengan una absorción similar in vivo. Por lo tanto, la bioexención permite simplificar el proceso de

aprobación de un medicamento genérico o multifuente al demostrar su equivalencia terapéutica mediante métodos in vitro, evitando la necesidad de realizar costosos estudios clínicos.

En el estudio se indica que hubo una diferencia aproximada del 3.5 % en la disolución entre los medicamentos, donde algunos medicamentos multifuente tuvieron una absorción ligeramente mayor y otros ligeramente menor en comparación con el medicamento innovador. A pesar de esta pequeña variación en la absorción entre los medicamentos, se considera que esta diferencia es esperable y aceptable, ya que se encuentra dentro de los márgenes de variabilidad que se pueden observar incluso entre lotes del mismo medicamento innovador.

## **CAPÍTULO V- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

En este capítulo se resumen las conclusiones que se tienen tras la culminación del proyecto de investigación.

5.1) Se realizó una verificación de la metodología analítica de disolución y cuantificación para las cápsulas de Gabapentina 300 mg según la monografía oficial USP para este medicamento, esto con el objetivo de obtener evidencia de que el método se desempeña de la mejor manera y cumple con los criterios mínimos al utilizar distintos diluentes o medios de disolución en las mismas condiciones metodológicas. Se obtuvieron los siguientes resultados para cada prueba.

**Tabla 53. Resumen de resultados de verificación del método en cada medio de disolución.**

Diluyente	Linealidad (valor de $R^2$ )	Exactitud (% de recuperación promedio)	Precisión (% RSD)
Buffer pH 1,2	0,99992	99,8	0,081
Buffer pH 4,5	0,99992	99,6	0,188
Buffer pH 6,8	0,99995	98,9	0,240

Fuente: Elaboración propia.

5.2) Se realizó la evaluación del control de calidad fisicoquímico de ambas marcas de cápsulas de Gabapentina 300 mg, a través de los ensayos de disolución, valoración y uniformidad de dosificación.

5.3) Se obtuvo resultados conformes para todas las pruebas de control de calidad fisicoquímicas en ambos medicamentos y cumplen con los límites de aceptación según la monografía oficial. Por lo tanto, cumplen con los requisitos para ser utilizados como muestras en el estudio de comparación para determinar bioequivalencia in vitro.

5.4) Se realizaron los perfiles de disolución del medicamento de referencia y del medicamento genérico en tres medios de disolución diferentes, el primer medio con pH de 1,2 hecho con una mezcla de ácido clorhídrico y cloruro de potasio, el segundo de medio con pH de 4,5 que contiene acetato de sodio trihidrato y ácido acético; y el tercer medio con pH de 6,8 que se realizó con fosfato de potasio monobásico e hidróxido de sodio.

5.5) Con los resultados obtenidos del estudio de los perfiles de disolución, se puede observar que el medicamento original tiende a disolver más rápidamente en todos los medios de disolución, y se tiene que, en los primeros 10 minutos, obtuvo porcentajes de disolución superiores al 80%.

Por otra parte, el medicamento genérico tiene una tendencia a liberar el principio activo más lentamente y obtuvo un desempeño no conforme en el medio de disolución de pH 4,5 de manera que no alcanza porcentajes de disolución superiores a 63 % durante toda la corrida. Por lo que los valores de los factores  $f_1$  y  $f_2$  no cumplen con la especificación y se puede concluir que existe una diferencia significativa entre ambos medicamentos en este medio.

5.6) Se determinaron los valores del factor de diferencia  $f_1$  y similitud  $f_2$  entre los perfiles de disolución del medicamento de referencia y el medicamento genérico en estudio mediante los análisis estadísticos y se obtuvieron los siguientes resultados.

**Tabla 54. Resumen de resultados de factores  $f_1$  y  $f_2$  para los perfiles de disolución.**

<b>Perfil de disolución</b>	<b>Valor de <math>f_1</math></b>	<b>Valor de <math>f_2</math></b>
pH 1,2	11,65	34,32
pH 4,5	42,15	21,53
pH 6,8	16,85	33,34

Fuente: Elaboración propia.

5.7) Al analizar los resultados del estudio de bioequivalencia in vitro de Gabapentina cápsulas genéricas que contienen 300 mg contra su producto de referencia a nivel nacional, se encontró que los productos no son bioequivalentes, debido a que los resultados de los factores  $f_1$  y  $f_2$  no cumplen con las especificaciones y se considera que existen diferencias significativas en el desempeño de ambos medicamentos.

A pesar de que las pruebas de control fisicoquímico tuvieran resultados conformes para ambos medicamentos, el desempeño de los perfiles de disolución deja en evidencia de que el comportamiento del medicamento genérico no es estadísticamente similar al medicamento de referencia, por lo tanto, no se pueden considerar como bioequivalentes.

A continuación, se incluyen algunas recomendaciones que surgen tras la finalización del proyecto de investigación.

5.8) Para la Universidad Internacional de las Américas: Para fomentar la línea de investigaciones experimentales en los estudiantes de carreras del área de la salud, es muy necesario tener las mejores condiciones en los laboratorios, incluyendo equipos analíticos como balanzas de precisión, disolutores, cromatógrafos y cristalería.

Se recomienda mejorar estos aspectos e incentivar en los estudiantes desde los primeros cursos de la carrera la importancia de los proyectos de investigación experimental y permitir acceso a equipos analíticos de primer nivel es una manera de conseguirlo.

Además, incentivar en los docentes de la carrera el deseo de investigación, dando tiempo y condiciones para plantear proyectos que se puedan desarrollar en las instalaciones de la universidad y abrir espacios para que los estudiantes se involucren en dichos proyectos como asistentes de investigación.

5.9) Para los estudiantes de la carrera de farmacia: Considerar ideas de tesis experimentales dentro y fuera de las instalaciones de la UIA como una forma de enriquecer el proceso de formación y utilizar los proyectos como herramienta para tener un primer contacto con la industria farmacéutica y explorar las enormes posibilidades que se existen.

5.10) Para la Caja Costarricense del Seguro Social: Recomiendo a la comisión de Fichas Técnicas de Medicamentos y el Comité Central de Farmacoterapia de la CCSS, que se agregue como requisito indispensable la presentación de evidencia de que los medicamentos multifuente son bioequivalentes con su producto original de referencia según las directrices del Ministerio de Salud de Costa Rica. Además, permitir al Laboratorio de Normas y Calidad de Medicamentos utilizar sus instalaciones y personal altamente calificado para verificar este parámetro en medicamentos con un estrecho margen terapéutico y de uso restringido.

5.11) Recomendaciones para el fabricante: Con los resultados obtenidos en el estudio, se puede considerar la opción inicial de repetir el análisis con otro lote del medicamento genérico para confirmar los resultados iniciales y verificar si el problema persiste. Por otra parte, es importante investigar la causa subyacente de la falta de conformidad. Esto podría implicar revisar el proceso de fabricación, la calidad y cantidades de los excipientes, las condiciones de almacenamiento y distribución, la conformidad de los estudios de estabilidad, entre otros.

Además, si el medicamento genérico no es bioequivalente al medicamento de referencia, podría implicar que no se tengan los mismos efectos terapéuticos o que su seguridad y eficacia pueden estar comprometidas. Identificar esta falta de bioequivalencia temprano evita que los pacientes reciban un tratamiento con resultados terapéuticos no deseados.

Los fabricantes de productos genéricos, deben tener en consideración que, a partir de la entrada en vigencia de la lista de medicamentos priorizados de Ministerio de Salud, será un requisito indispensable presentar evidencia de que se cumple con bioequivalencia con respecto al producto original de referencia para poder obtener el Registro Sanitario correspondiente.

## **CAPÍTULO VI- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Ministerio de Salud de Costa Rica. [Internet]. San José: El Ministerio; 2022 [Consultado el 28 de enero del 2023]. Guía técnica para la presentación y evaluación de los estudios de perfiles de disolución comparativos; 1-6. Disponible en: <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/biblioteca-de-archivos-left/documentos-ministerio-de-salud/regulacion-de-la-salud/bioequivalencia/guias-oficiales/1120-guia-tecnica-para-la-presentacion-y-evaluacion-de-los-estudios-de-perfiles-de-disolucion-comparativos-version-r2-24-10-2009/file>
2. Ministerio de Salud de Costa Rica. [Internet]. San José: El Ministerio; 2021 [Consultado el 28 de enero del 2023]. Guía de Validación de Métodos Analíticos; 1-18. Disponible en: <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/biblioteca-de-archivos/tramites/registro-de-productos-de-interes-sanitario/medicamentos-1/documentos-de-interes-3/guias-de-registro-medicamentos/2472-guia-de-validacion-de-metodos-analiticos/file>
3. Navarro A, Arias H, Varela A. Uso de Gabapentina en los Servicios de Neurología y Medicina Interna del Hospital México en el 2007 [Internet]. 2009 [Consultado el 28 de enero de 2023]; 3(2): 7-11 Disponible en: [http://www.revistamedica.ucr.ac.cr/images/Volumen2\\_2009/Uso\\_de\\_gabapentina.pdf](http://www.revistamedica.ucr.ac.cr/images/Volumen2_2009/Uso_de_gabapentina.pdf)
4. Nguyen V, Baca C, Chen J, Rogers S. Epilepsy. En: DiPiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM, editores. Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, 10<sup>a</sup> ed. [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2017. Disponible en: <http://accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?aid=1161501483>
5. Zavaleta A, Salaz C. Bioequivalencia de medicamentos in vivo e in vitro (bioexención). Rev. Diagnóstico. [Internet]. 2016 [Consultado el 29 de enero de 2023]; 55(1):17-27. Disponible en: <http://repebis.upch.edu.pe/articulos/diag/v55n1/a4.pdf>.

6. Jung H, Anda G, Rubio K, Mayet L. Comparación de perfiles de disolución. Impacto de los criterios de diferentes agencias regulatorias en el cálculo de f2. Rev Mex Cienc Farm. [Internet]. 2012 [Consultado el 29 de enero de 2023]; 43(3):67-71. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v43n3/v43n3a7.pdf>
  
7. Poder Ejecutivo. Procuraduría General de la República. [Internet]. San José, Costa Rica: Poder Ejecutivo; 2016 [Consultado el 29 de enero del 2023]. Reglamento para el Registro sanitario de los medicamentos que requieren demostrar equivalencia terapéutica; [26 pantallas aprox]. Disponible en: [http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=55246&nValor3=85943&param2=1&strTipM=TC&lResultado=2&strSim=simp](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=55246&nValor3=85943&param2=1&strTipM=TC&lResultado=2&strSim=simp)
  
8. Alfaro, D. Elaboración de un protocolo general para la realización analítica de los perfiles de disolución en LNCM de la CCSS de agosto a noviembre de 2015. [Tesis de Licenciatura en Farmacia] San José, Costa Rica: Universidad Internacional de las Américas; 2015.
  
9. Campos, L. Verificación de la intercambiabilidad terapéutica *in vitro* en lotes comerciales de tabletas antirretrovirales de zidovudina 300 mg utilizadas por la CCSS en el tratamiento del VIH-1, en comparación con la referencia costarricense Hetero Drugs de la India. [Tesis de Licenciatura en Laboratorista Químico] San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica; 2019.
  
10. Organización Mundial de la Salud. [Internet]. Ginebra, Suiza: OMS [Consultado el 4 de febrero del 2023]. Historia de la OMS; [2 pantallas aprox]. Disponible en: <https://www.who.int/es/about/who-we-are/history>

11. Comité de Expertos de la OMS en especificaciones para las preparaciones farmacéuticas. [Internet]. Ginebra, Suiza: OMS; 1992 [Citado el 4 de febrero del 2023]. OMS, Serie de Informes Técnicos. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41379/WHO\\_TRS\\_823\\_spa.pdf?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41379/WHO_TRS_823_spa.pdf?sequence=1).
12. USP. [Internet]. Rockville, Estados Unidos: USP; 2021 [Consultado el 4 de febrero del 2023]. About USP; [6 pantallas aprox]. Disponible en: <https://www.usp.org/about>.
13. Gómez V, Carreño P, Escobar M, Irarrazabal A, Rubio C, Weinstein C. History, present and projections of the Pharmacopoeia. An Real Acad Farm. [Internet]. 2016 [Consultado el 2 de febrero del 2023]; 83(3):283-296. Disponible en: [https://analesranf.com/wp-content/uploads/2016/82\\_03/8203\\_05.pdf](https://analesranf.com/wp-content/uploads/2016/82_03/8203_05.pdf).
14. USP. [Internet]. Rockville, Estados Unidos: USP; 2021 [Consultado el 4 de febrero del 2023]. Validation of compendial procedures; [6 pantallas aprox]. Disponible en: [https://online.uspnf.com/uspnf/document/1\\_GUID-E2C6F9E8-EA71-4B72-A7BA-76ABD5E72964\\_4\\_en-US?source=Search%20Results&highlight=1225](https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-E2C6F9E8-EA71-4B72-A7BA-76ABD5E72964_4_en-US?source=Search%20Results&highlight=1225).
15. FDA. [Internet]. Estados Unidos: FDA; 2018 [Consultado el 3 de febrero del 2023]. ¿Cuándo y por qué se creó la FDA?; [2 pantallas aprox.]. Disponible en: <https://www.fda.gov/about-fda/respuestas-preguntas-frecuentes-sobre-la-fda/cuando-y-por-que-se-creo-la-fda#:~:text=Aunque%20los%20or%C3%ADgenes%20de%20la,de%20los%20Alimentos%20y%20Medicamentos>).
16. FDA. [Internet]. Estados Unidos: FDA; 2018 [Consultado el 3 de febrero del 2023]. Guía para la industria: pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata. FDA; [28 pantallas aprox.]. 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>

17. Poder Ejecutivo. Procuraduría General de la República. [Internet]. San José, Costa Rica: Poder Ejecutivo; 2009 [Consultado el 3 de febrero del 2023]. Productos farmacéuticos. Reglamento de validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos; [12 pantallas aprox]. Disponible en: [http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?param2=1&nValor1=1&nValor2=80629&nValor3=106188&nValor4=NO&strTipM=TC](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/normas/nrm_texto_completo.aspx?param2=1&nValor1=1&nValor2=80629&nValor3=106188&nValor4=NO&strTipM=TC)
18. Poder Ejecutivo. Procuraduría General de la República. [Internet]. San José, Costa Rica: Poder Ejecutivo; 2001 [Consultado el 3 de febrero del 2023]. Reglamento de validación de métodos analíticos requeridos para el registro sanitario de medicamentos ante el Ministerio de Salud; [11 pantallas aprox]. Disponible en: [http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=47566&nValor3=50471&strTipM=TC](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=47566&nValor3=50471&strTipM=TC)
19. Poder Ejecutivo. Procuraduría General de la República. [Internet]. San José, Costa Rica: Poder Ejecutivo; 2016 [Consultado el 3 de febrero del 2023]. Reglamento para el Registro sanitario de los medicamentos que requieren demostrar equivalencia terapéutica; [26 pantallas aprox]. Disponible en: [http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?nValor1=1&nValor2=55246](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?nValor1=1&nValor2=55246)
20. Carrión D, González C, Olivera L, Correa, A. Bioequivalencia. Introducción a La Correlación in Vivo-In Vitro. Parte I. Rev Cuba Farm [Internet]. 1999 [Consultado el 3 de febrero de 2023]; 33(2):137. Disponible en: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=asn&AN=5724988&lang=es&site=ehost-live&scope=site>
21. Parra S, Cuesta F, Restrepo M, Archbold R, Montoya B, Holguín G, et al. Biodisponibilidad comparativa entre dos formulaciones de gabapentina cápsulas de 300 mg en voluntarios sanos colombianos. Colomb Med [Internet]. 2004 [Consultado el 28 de enero del 2023]; 35(1): 5–11. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=28335102>

22. Ponce D'León L, Jaramillo A. Estudio de bioequivalencia in vitro de cuatro productos de amoxicilina del mercado colombiano. Rev Colomb Cienc Quím Farm [Internet]. 2004[Consultado el 28 de enero del 2023]; 33(1). Disponible en: <https://www.proquest.com/docview/1677406814/fulltextPDF/CAE3B453DA2542C7PQ/1?accountid=28692>
23. Rojas Aránguiz M. Validación de método analítico para test de disolución con objetivo de realizar estudio de bioexención de levofloxacinó comprimidos recubiertos de 500 mg y 750 mg. [Tesis de pregrado en Química Farmacéutica]. Santiago, Chile: Universidad de Chile; 2015.
24. Guevara M, Validación del método analítico por cromatografía líquida de alta resolución para un perfil de disolución de azitromicina tabletas recubiertas de 500mg en un laboratorio farmacéutico nacional, durante septiembre del 2021 a diciembre del 2021. [Tesis de Licenciatura en Farmacia] San José, Costa Rica: Universidad Internacional de las Américas; 2022.
25. Campos, A. Medicamentos genéricos: su importancia económica en los sistemas públicos de salud y la necesidad de estudios in vitro para establecer su bioequivalencia. Pensam Actual [Internet]. 2017 [Consultado el 3 de febrero de 2023];17(28):108. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6053586>
26. Castiglioni E. Evaluación del impacto de resultados S2 en las pruebas de disolución farmacopeica de fármacos multiorigen presentes en la lista de medicamentos priorizados y que deben demostrar equivalencia terapéutica in vitro. [Tesis de maestría académica en Análisis y Control de Calidad de Medicamentos]. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica; 2019.
27. Lifshitz A. Las alternativas farmacéuticas: Medicamentos innovadores, de patente, genéricos, similares y otros. Rev Fac Med Univ Nac Auton Mex [Internet]. 2011

[Citado el 17 de febrero de 2023]; 54(5):46–9. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0026-17422011000500008](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422011000500008)

28. Castro M, Acosta D. Salud pública, patentes de productos farmacéuticos y licencias obligatorias en el Acuerdo sobre los ADPIC: Una mirada desde el Tercer Mundo. *Int Law* [Internet]. 2008 [Citado el 17 de febrero de 2023]; (13):165–214. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=82420293006>
  
29. FDA. [Internet]. Estados Unidos: FDA; 2018 [Consultado el 10 de febrero del 2023]. Generic Drugs. FDA; [2 pantallas aprox.]. Disponible en: <https://www.fda.gov/drugs/buying-using-medicine-safely/generic-drugs>
  
30. Alfonso R, Andia T, Barbosa T, Watanabe J. Definition and classification of generic drugs across the world. *Applied Health Economics and Health Policy*. 2015;13(S1):5–11.
  
31. Rheinstein PH. Therapeutic inequivalence. *Drug Saf* [Internet]. 1990 [cited 2024 Mar 10];5(Supplement 1):114–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2182054/>
  
32. Holmes DR Jr, Becker JA, Granger CB, Limacher MC, Page RL II, Sila C, et al. ACCF/AHA 2011 health policy statement on therapeutic interchange and substitution. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2011;58(12):1287–307. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2011.06.001>
  
33. AESEG - Asociación Española de Medicamentos [Internet]. España; 2022 [Consultado el 11 de febrero del 2023]. Definición de bioequivalencia. Genéricos. <https://www.aeseg.es/es/definiciones-medicamentos-genericos/bioequivalencia>
  
34. Monpart E, Martín M. Estudios de bioequivalencia y especialidades farmacéuticas genéricas. *Offarm* [Internet]. 2002 [Consultado el 11 de febrero de 2023]; 21(1):88–92. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5325534>

35. Huayanay L. Bioequivalencia en medicamentos. Rev Medica Hered [Internet]. 2012 [Consultado el 11 de febrero de 2023]; 23(4):221. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2012000400001](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2012000400001)
36. Casanova M, Castillo F, Reynoso M, Ayala I. Estudio comparativo de perfiles de disolución de tabletas de prednisona 20 mg comercializados en Perú. Mem Inst Investig Cienc Salud [Internet]. 2018 [Consultado el 10 de febrero de 2023]; 16(3):13–21. Disponible en: [http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1812-95282018000300013&lang=es](http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1812-95282018000300013&lang=es)
37. Matiz E, Trujillo M, Pérez A, Baena Y. Evaluación de la intercambiabilidad in vitro de diferentes marcas de tabletas de diclofenaco sódico del mercado colombiano. Biomedica [Internet]. 2018 [citado el 10 de febrero de 2023]; 38(4):486–95. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-41572018000400486&lang=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572018000400486&lang=es)
38. Jung H, Anda G de, Rubio K, Mayet L. Comparación de perfiles de disolución: Impacto de los criterios de diferentes agencias regulatorias en el cálculo de  $f_2$ . Rev Mex Cienc Farm [Internet]. 2012 [Consultado el 10 de febrero de 2023]; 43(3):67–71. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-01952012000300007&lang=es](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300007&lang=es)
39. Poder Ejecutivo. Procuraduría General de la República. [Internet]. San José, Costa Rica: Poder Ejecutivo; 2005 [Consultado el 14 de febrero del 2023]. Reforma al Decreto Ejecutivo N° 33076-S, Medicamentos que Requieren Demostrar Bioequivalencia Terapéutica. ; [5 pantallas aprox]. Disponible en: [http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=62126&nValor3=70784&strTipM=TC](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=62126&nValor3=70784&strTipM=TC)
40. Poder Ejecutivo. Procuraduría General de la República. [Internet]. San José, Costa Rica: Poder Ejecutivo; 2021 [Consultado el 14 de febrero del 2023]. Listado

priorizado de principios activos de riesgo sanitario contenidos en medicamentos multiorigen; [10 pantallas aprox]. Disponible en:  
[http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=93641&nValor3=124400&strTipM=TC](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=93641&nValor3=124400&strTipM=TC)

41. Poder Ejecutivo. Procuraduría General de la República. [Internet]. San José, Costa Rica: Poder Ejecutivo; 2021 [Consultado el 14 de febrero del 2023]. Suspensión de presentación de requisitos de estudios de bioequivalencia in vivo N.º 36068-S; [10 pantallas aprox]. Disponible en:  
[http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=68233&nValor3=81256&strTipM=TC](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=68233&nValor3=81256&strTipM=TC)
  
42. Poder Judicial. Sala Constitucional de Costa Rica. [Internet]. San José, Costa Rica: Poder Judicial; 2010 [Consultado el 15 de febrero del 2023]. Res. N.º 2010-001668. Investigaciones Experimentales en Seres Humano. [20 pantallas aprox]. Disponible en: <https://nexuspj.poder-judicial.go.cr/document/sen-1-0007-471116>
  
43. Poder Ejecutivo. Ministerio de Salud. [Internet]. San José, Costa Rica: Poder Ejecutivo; 2022 [Consultado el 15 de febrero del 2023]. Reforma resolución N.º MS-CTI-003-2021 "Amplía por 2 años la posibilidad de la presentación voluntaria de los estudios de perfiles de disolución y el estudio de bioequivalencia en un cambio post registro o durante la renovación del Registro Sanitario" [6 pantallas aprox]. Disponible en: <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/biblioteca-de-archivos-left/documentos-ministerio-de-salud/ministerio-de-salud/legislacion-sanitaria/leyes-decretos-y-directrices/marco-regulatorio-bioequivalencia/5104-resolucion-cti-003-2022-consejo-tecnico-de-inscripciones-reforma-resolucion-cti-003-2021/file>
  
44. Hernández L, Marín K. Interacciones medicamentosas de los anticonvulsivantes de primera línea con antipsicóticos y/o antidepresivos. Rev Repert Med Cir [Internet]. 2017 [Citado el 16 de febrero de 2023]; 26(2):78–84. Disponible en: <https://doaj.org/article/c8f2ca4aac6a4a9ca77bff1a38399cb1>

45. Meyer J. Pharmacotherapy of psychosis and mania. En: Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 13<sup>a</sup> ed. Estados Unidos: McGraw-Hill Education, 2018 [Citado el 16 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=170290136&bookid=2189>
46. Nguyen V, Baca B, Chen J, Rogers J. Epilepsy. En: DiPiro T, Talbert L, Yee C, Matzke R, Wells G, Posey M, editores. Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, 10<sup>e</sup> [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2017. [Citado el 15 de febrero de 2023] Disponible en: <http://accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?aid=1161501483>
47. Yasae R. Shraavan K; Abdolreza S. Gabapentin. NCBI Bookshelf [Internet]. Gabapentin - Stat Pearls. 2022. [Citado el 16 de febrero de 2023] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493228/>
48. Llover MN, Jiménez MC. Uso de pregabalina y gabapentina en el tratamiento del dolor neuropático. Form Médica Contin Aten Primaria [Internet]. 2020 [Consultado el 28 de enero del 2023]; 27(2): 88–95. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1134207220300037>
49. Udaykumar Rao B, Maqdoom F, Pratima Nikalje A. Determination of gabapentin in bulk drug and in pharmaceutical dosage form by hplc method. J Chil Chem Soc [Internet]. 2009 [cited 2024 Mar 10];54(4):424–7. Available from: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-97072009000400022](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-97072009000400022)
50. García Aponte OF, Vallejo Díaz BM, Mora Huertas CE. La calidad desde el diseño: principios y oportunidades para la industria farmacéutica. Estud Gerenc [Internet]. 2015; 31(134):68–78. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=21233043008>
51. Fernández N, Fernández M, Pérez I, Morón Y, García V, Perdomo I, et al. Diseños de experimentos en tecnología y control de los medicamentos. Rev Mex Cienc Farm

[Internet]. 2008; 39(2):28–40. Disponible en:  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57939206>

52. Baraza S, Castejón V, Guardino S. Higiene industrial. [Internet]. Barcelona: Oberta UOC Publishing SL; 2015 [Citado el 15 de febrero del 2023]. Disponible en:  
[https://books.google.co.cr/books?id=XliiDAAAQBAJ&pg=PT155&dq=Procedimiento+analitico+es&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjOxvbVkJN\\_zAhXITTABHerIBLQ\\_Q6AF6BA%20gJEAI#v=onepage&q=Procedimiento%20analitico%20es&f=false](https://books.google.co.cr/books?id=XliiDAAAQBAJ&pg=PT155&dq=Procedimiento+analitico+es&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjOxvbVkJN_zAhXITTABHerIBLQ_Q6AF6BA%20gJEAI#v=onepage&q=Procedimiento%20analitico%20es&f=false)
  
53. Eurolab España. [Internet]. España: Eurachem; 2016 [Consultado el 15 de febrero del 2023]. Guía Eurachem: la adecuación al uso de los métodos analíticos – Una guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados; 1-66. Disponible en:  
[https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV\\_guide\\_2nd\\_ed\\_ES.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf).
  
54. Sánchez F, Cárdenas A, Mercado J, Domínguez G, Gómez H. Validación de una metodología analítica USP por HPLC para la cuantificación de Warfarina sódica en tabletas. Rev Colomb Cienc Quím Farm [Internet]. 2016 [Consultado el 10 de febrero de 2023]; 45(3):470–83. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-74182016000300007&lang=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74182016000300007&lang=es)
  
55. Mariño L, Albert V, Ferrer M, Modamio P, Lastra F. Elsevier enhanced reader. Farm Hosp [Internet]. 2006 [Citado el 17 de febrero de 2023]; 30(6):374–8. Disponible en:  
<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1130634306740090?token=B44C4F54E009E5D4B5E268DD361E99BEAFF33446833E5ADA645D0ABBDECB2F55A537BFAF794494BACFAD73C6E6FE72F5&originRegion=us-east-1&originCreation=20230219035013>
  
56. Montgomery DC, Peck EA, Vining GG. Introduction to Linear Regression Analysis. 5th ed. Hoboken, NJ: Wiley; 2012.

57. Kutner MH, Nachtsheim CJ, Neter J, Li W. Applied Linear Statistical Models. 5th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2005.
58. Tabachnick BG, Fidell LS. Using Multivariate Statistics. 5th ed. Boston, MA: Pearson Education; 2007.
59. Guidance for Industry: Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics. U.S. Food and Drug Administration. 2015.
60. European Medicines Agency. Guideline on Bioanalytical Method Validation. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). 2011.
61. Mendez AS, Tetrault PA. Method Validation: Principles, Protocols, and Reference. New York, NY: John Wiley & Sons; 2018.
62. Suarez Ospina D, Morales Hernández Y. Principios básicos de la cromatografía líquida de alto rendimiento para la separación y análisis de mezclas [Internet]. Edu.co. [Citado el 17 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7731/1/6131978-2018-1-IQ.pdf>
63. Harris D. Análisis químico cuantitativo. 6ª ed. España: Reverte; 2007.
64. Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SR. Fundamentals of Analytical Chemistry. 9th ed. Belmont, CA: Brooks/Cole; 2014.

65. Ahuja S, Dong MW. Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC. 1st ed. San Diego, CA: Academic Press; 2005.
66. Khaledi MG. High-Performance Liquid Chromatography: Principles and Methods in Biotechnology. 5th ed. New York, NY: Humana Press; 2007.
67. Dolan JW, Snyder LR. Troubleshooting LC Systems: A Comprehensive Approach to Troubleshooting LC Equipment and Separations. 7th ed. New York, NY: John Wiley & Sons; 2011.
68. Codesido S, Rudaz S, Veuthey J-L, Guillarme D, Desmet G, Fekete S. Impact of particle size gradients on the apparent efficiency of chromatographic columns. J Chromatogr A [Internet]. 2019 [cited 2024 Mar 10];1603:208–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31266645/>
69. Sinko PJ. Martin's Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 7th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2010
70. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.). Chapter 2.9.3. Dissolution Test for Solid Dosage Forms. 10th ed. Strasbourg, France: Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM); 2021
71. Shah VP, Tsong Y, Sathe P, Liu JP. In vitro dissolution profile comparison: Statistics and analysis of the similarity factor,  $f_2$ . Pharm Res. 1998;15(6):889-896.
72. Katdare A, Chaubal M. Excipient Development for Pharmaceutical, Biotechnology, and Drug Delivery Systems. 1st ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2006.

73. United States Pharmacopeia (USP). General Chapter <711> Dissolution. USP 44-NF 39. Rockville, MD: US Pharmacopeial Convention; 2021.
74. Wu C, Liu Y, He Z, Sun J. Insight into the development of dissolution media for BCS class II drugs: A review from quality control and prediction of in vivo performance perspectives. *Curr Drug Deliv* [Internet]. 2016 [cited 2024 Mar 10];13(7):1004–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26725724/>
75. Harris DC. *Quantitative Chemical Analysis*. 9th ed. New York, NY: W.H. Freeman and Company; 2015.
76. Christian GD. *Analytical Chemistry*. 7th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; 2004.
77. Haynes WM, editor. *CRC handbook of chemistry and physics* [Internet]. 97th ed. London, England: CRC Press; 2016. Available from: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=WDI18hA006AC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Handbook+of+Chemistry&ots=U1iBXRT-Nq&sig=b5dHuvtliSmQiyM7CCNxVgO44NA#v=onepage&q=Handbook%20of%20Chemistry&f=false>
78. Miller JC, Miller JN. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 6th ed. Harlow, England: Pearson Education Limited; 2010.
79. Brown SD, Hage DS. *Principles and Applications of Modern Liquid Chromatography*. 3rd ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; 2006.

80. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación. 6a ed. México: McGraw-Hill; 2014.
81. Hart C. Doing a literature review: releasing the social science research imagination. Thousand Oaks, CA: SAGE Publications; 2018.
82. I-Series. (n.d.). Shimadzu.com. Retrieved January 21, 2024, from <https://www.shimadzu.com/an/products/liquid-chromatography/hplcuhplc/i-series/index.html>
83. Vision® G2 Elite 8TM [Internet]. Teledynehanson.com. [cited 2023 Oct 22]. Available from: <https://www.teledynehanson.com/dissolution-testing/vision-elite-8>
84. Brambila E, Trazabilidad de las mediciones analíticas. Validación vs. Verificación de los métodos analíticos. Bioquímica [Internet]. 2009;34(1): . Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57613001033>
85. Sánchez R. J. F, Tejeda R. M. E, Koch W, Mora G. J. L, Marroquín S. R, Hernández A. V, Islas P. V, Sánchez G. E. G, León V. A. D. Validación de métodos analíticos no cuantitativos. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas [Internet]. 2010;41(2):15-24. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57914151003>
86. Araujo, L. S., Tapia, W., & Villamarín Ortiz, A. (2020). Verificación del método analítico de espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito para la cuantificación de cadmio en almendra de cacao (Theobroma cacao). La Granja, 31(1), 46–60. <https://doi.org/10.17163/lgr.n31.2020.04>

87. Cruzado, M. Ugaz, C. Comparación de los perfiles de disolución de Gabapentina 300 mg capsula de un producto multifuente vs innovador. [Tesis de Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Lima : Universidad Mayor de San Marcos; 2020.

## **CAPÍTULO VII- ANEXOS**

En este apartado se encuentran las tablas con los valores obtenidos de los porcentajes de disolución encontrados durante el desarrollo de los perfiles de disolución.

**Tablas de los porcentajes obtenidos para el producto original:**

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
5 minutos	1	59,1
	2	63,8
	3	54,8
	4	68,3
	5	78,3
	6	63,6
	7	84,3
	8	75,6
	9	69,5
	10	61,9
	11	54,4
	12	55,7
	Promedio	65,8

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
10 minutos	1	82,2
	2	87,3
	3	78,6
	4	93,2
	5	96,7
	6	93,4
	7	87,4
	8	97,3
	9	93,1
	10	85,0
	11	91,8
	12	87,2
	Promedio	89,4

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
15 minutos	1	93,9
	2	92,9
	3	87,8
	4	95,7
	5	98,0
	6	99,3
	7	92,5
	8	98,0
	9	97,8
	10	92,2
	11	94,9
	12	91,9
	Promedio	94,6

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
20 minutos	1	96,6
	2	95,0
	3	92,6
	4	97,8
	5	98,9
	6	100,8
	7	94,9
	8	98,3
	9	99,2
	10	95,7
	11	96,3
	12	95,0
	Promedio	96,8

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
30 minutos	1	99,1
	2	96,8
	3	96,2

	4	98,8
	5	99,6
	6	101,0
	7	97,0
	8	98,7
	9	100,2
	10	98,4
	11	97,9
	12	97,5
	Promedio	98,4

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
40 minutos	1	100,0
	2	98,5
	3	98,3
	4	99,6
	5	99,8
	6	101,2
	7	97,5
	8	99,1
	9	100,1
	10	98,8
	11	98,3
	12	98,9
	Promedio	99,2

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
60 minutos	1	100,5
	2	98,5
	3	99,3
	4	100,1
	5	100,1
	6	100,1
	7	97,3
	8	96,6

	9	100,8
	10	100,2
	11	98,8
	12	100,4
	Promedio	99,4

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
5 minutos	1	65,0
	2	53,2
	3	54,0
	4	60,9
	5	63,0
	6	47,4
	7	52,9
	8	61,0
	9	47,2
	10	44,7
	11	51,4
	12	47,1
	Promedio	54,0

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
10 minutos	1	95,4
	2	77
	3	83,5
	4	83,4
	5	90,3
	6	72,1
	7	83,8
	8	94,4
	9	91,1
	10	87
	11	76,9
	12	84,8
	Promedio	85,0

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
15 minutos	1	96,9
	2	93,1
	3	90,4
	4	88,7
	5	92,8
	6	86,7
	7	90,1
	8	96,6
	9	96,4
	10	94,4
	11	89,3
	12	89,7
	Promedio	92,1

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
20 minutos	1	97,8
	2	94
	3	93,1
	4	91,3
	5	94,5
	6	90,9
	7	91,3
	8	96,6
	9	96,9
	10	95,7
	11	93
	12	92
	Promedio	93,9

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)

30 minutos	1	97,6
	2	94,6
	3	95,5
	4	93,8
	5	95,7
	6	94,4
	7	93,4
	8	97
	9	98
	10	96,9
	11	96,6
	12	94,6
	Promedio	95,7

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
40 minutos	1	97,8
	2	94,9
	3	96,1
	4	94,5
	5	95,9
	6	95,6
	7	94,5
	8	96,9
	9	98
	10	97,2
	11	97,3
	12	95,4
	Promedio	96,2

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
60 minutos	1	97,5
	2	94,9
	3	97,5
	4	94,9
	5	95,9
	6	96,3
	7	94,9

	8	96,2
	9	97,7
	10	97,3
	11	97,8
	12	96,1
	Promedio	96,4

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
5 minutos	1	57,2
	2	55,8
	3	55,6
	4	61,7
	5	50,6
	6	58,5
	7	64,9
	8	63,6
	9	59,1
	10	43,3
	11	51,6
	12	45
	Promedio	55,6

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
10 minutos	1	84,6
	2	86,5
	3	83,5
	4	91,2
	5	80,5
	6	82,5
	7	89,9
	8	94,3
	9	87,3
	10	74,8
	11	91,5
	12	86,7

	Promedio	86,1
--	----------	------

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
15 minutos	1	94,1
	2	90,3
	3	94,2
	4	93
	5	85,3
	6	87,7
	7	94,8
	8	96,8
	9	90,5
	10	83,5
	11	94,3
	12	93,2
	Promedio	91,5

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
20 minutos	1	94,9
	2	91,3
	3	94,8
	4	94,1
	5	89,7
	6	91,7
	7	97
	8	98,6
	9	92,8
	10	87,4
	11	95,6
	12	94,9
	Promedio	93,6

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
30 minutos	1	95,4

	2	93,9
	3	95,5
	4	95,8
	5	93,6
	6	94,4
	7	96,2
	8	97,8
	9	94,1
	10	92,8
	11	95,7
	12	95,2
	Promedio	95,0

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
40 minutos	1	95,0
	2	93,9
	3	95,6
	4	95,8
	5	94,7
	6	95,1
	7	97,1
	8	98,5
	9	94,3
	10	93,9
	11	96,4
	12	96,3
	Promedio	95,6

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
60 minutos	1	95,3
	2	96,2
	3	96,4
	4	96,4
	5	95,1
	6	95,4
	7	96,3
	8	95,7

	9	97,3
	10	94,8
	11	96,6
	12	96,3
	Promedio	96,0

**Tablas de los porcentajes obtenidos para el producto genérico:**

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
5 minutos	1	10,8
	2	17,9
	3	10,0
	4	8,7
	5	17,0
	6	22,2
	7	23,5
	8	14,7
	9	11,6
	10	9,5
	11	14,4
	12	14,4
	Promedio	14,6

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
10 minutos	1	69,3
	2	68,7
	3	51,1
	4	56,9
	5	88,5
	6	81,5
	7	90,8
	8	85,1
	9	47,0
	10	67,6
	11	62,7

	12	87,2
	Promedio	71,4

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
15 minutos	1	90,4
	2	94,4
	3	83,4
	4	84,3
	5	97,2
	6	98,5
	7	103,3
	8	98,6
	9	78,3
	10	93,9
	11	91,3
	12	95,5
		Promedio

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
20 minutos	1	94,9
	2	100,7
	3	91,4
	4	95,6
	5	98,0
	6	99,5
	7	104,1
	8	98,7
	9	95,7
	10	95,4
	11	96,2
	12	95,3
		Promedio

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)

30 minutos	1	96,8
	2	101,2
	3	98,1
	4	98,5
	5	99,0
	6	101,0
	7	105,5
	8	100,4
	9	101,8
	10	95,5
	11	96,7
	12	95,6
	Promedio	99,2

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
40 minutos	1	95,9
	2	99,4
	3	99,2
	4	96,9
	5	97,0
	6	100,2
	7	103,8
	8	99,4
	9	99,9
	10	96,8
	11	96,4
	12	94,9
	Promedio	98,3

Perfil pH 1,2		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
60 minutos	1	94,7
	2	100,8
	3	98,6
	4	97,0
	5	96,8

	6	99,2
	7	104,3
	8	97,9
	9	99,0
	10	94,8
	11	95,8
	12	95,0
	Promedio	#DIV/0!

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
5 minutos	1	24,2
	2	7,1
	3	8,8
	4	5,7
	5	9,2
	6	4,3
	7	8,4
	8	10,9
	9	18,7
	10	6,3
	11	6,2
	12	11,8
	Promedio	10,1

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
10 minutos	1	88,1
	2	47,9
	3	61,2
	4	28
	5	47,9
	6	27,1
	7	32,3
	8	38,8
	9	63,2
	10	38,8
	11	88,1
	12	28,2

	Promedio	49,1
--	----------	------

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
15 minutos	1	51,3
	2	49,5
	3	64,4
	4	39,5
	5	58,7
	6	40,7
	7	50,7
	8	53,4
	9	60,3
	10	60,5
	11	51,5
	12	44,4
	Promedio	52,1

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
20 minutos	1	48,8
	2	63,7
	3	63,2
	4	61,4
	5	65,3
	6	58,4
	7	59,2
	8	65,1
	9	51,8
	10	56,1
	11	61,7
	12	62
	Promedio	59,7

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
30 minutos	1	49,7
	2	62
	3	63,5

	4	53,1
	5	63,1
	6	56,5
	7	57,8
	8	53,1
	9	65,5
	10	62,8
	11	61,5
	12	66,1
	Promedio	59,6

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
40 minutos	1	62
	2	68,1
	3	63,5
	4	69
	5	61,5
	6	65,6
	7	64
	8	61,7
	9	64,2
	10	59,7
	11	62
	12	57,3
	Promedio	63,2

Perfil pH 4,5		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
60 minutos	1	59,7
	2	68,3
	3	58,5
	4	64,1
	5	50,2
	6	64,2
	7	63,5
	8	60,2
	9	61,3
	10	62,7

	11	64,1
	12	54,9
	Promedio	61,0

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
5 minutos	1	2,2
	2	3,6
	3	1,7
	4	9,4
	5	1,9
	6	1,9
	7	22,9
	8	38,6
	9	18,4
	10	5,3
	11	20,5
	12	6,9
	Promedio	11,1

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
10 minutos	1	15,4
	2	41,4
	3	20,1
	4	52,9
	5	27,2
	6	18
	7	68,6
	8	92,1
	9	89
	10	44,4
	11	80,1
	12	51,3
	Promedio	50,0

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
15 minutos	1	39

	2	69,9
	3	50,4
	4	80,6
	5	67
	6	39,1
	7	96,6
	8	95,7
	9	99,9
	10	83,2
	11	93,4
	12	92,5
	Promedio	75,6

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
20 minutos	1	64,6
	2	86,4
	3	72,4
	4	95,7
	5	88,6
	6	58,6
	7	99,1
	8	95,4
	9	100,1
	10	94,3
	11	93,8
	12	99,4
	Promedio	87,4

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
30 minutos	1	93,4
	2	97
	3	92,7
	4	98,4
	5	93,9
	6	80,7
	7	99,9
	8	95,1

	9	100,1
	10	99,3
	11	93,9
	12	100,7
	Promedio	95,4

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
40 minutos	1	100,9
	2	97,5
	3	98,4
	4	98,7
	5	93,8
	6	94,7
	7	99,8
	8	95,5
	9	99,5
	10	99,1
	11	94,8
	12	100,1
		Promedio

Perfil pH 6,8		
Tiempo	Muestra	Resultado (%)
60 minutos	1	101,6
	2	96,8
	3	98
	4	97,7
	5	93
	6	98,7
	7	99,4
	8	94,6
	9	99,8
	10	98,3
	11	92,3
	12	100,2
		Promedio