

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA  
Y BIOQUÍMICA**



**Intercambiabilidad terapéutica entre Atomoxetina  
genérica y el medicamento innovador Strattera ®.**

**Lima - 2012**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. YOZELY SOTO VILCHEZ**

**AYACUCHO - PERÚ  
2012**

*A mis padres, Emidgio y Hermelinda por la fe y confianza que siempre me han brindado, segura estoy que se sienten muy orgullosos de este logro, pero quiero que sepan, que esto no es más que el fruto de su maravillosa enseñanza.*

*A mis hermanos: Kleiber, Yomar y Piter, que me apoyaron incondicionalmente durante mis años de formación y fueron parte de mi inspiración.*

## **AGRADECIMIENTO**

Un agradecimiento especial a mi Alma Mater la Universidad Nacional de "San Cristóbal de Huamanga" forjador de excelentes profesionales al servicio de la sociedad y del país.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y en especial al "Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos" a sus docentes por sus enseñanzas y orientaciones durante mi formación profesional.

Un reconocimiento especial al Mg. Hugo Roberto LUNA MOLERO, al Mg. Marco ARONÉS JARA, Mg. José DIEZ MACAVILCA y al Q.F. Carlos REYES ALFARO, por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad, fundamentales para la concreción de esta tesis.

A mi asesor Q.F. Juan Clímaco PANIAGUA SEGOVIA y a todas las personas que brindaron su apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación, cuyos esfuerzos se materializan en este informe.

## ÍNDICE

<b>DEDICATORIA</b>	<i>ii</i>
<b>AGRADECIMIENTO</b>	<i>iii</i>
<b>RESUMEN</b>	v
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. MARCO TEÓRICO</b>	
2.1 Antecedentes	4
2.2 Generalidades	6
2.3 Estudios de Equivalencia Terapéutica	9
2.4 Estudios <i>in vitro</i>	10
2.5 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB)	13
2.6 Perfiles de disolución y Equivalencia terapéutica <i>in vitro</i>	17
2.7 Simpaticomiméticos de acción central: Atomoxetina	21
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
3.1 Lugar de ejecución	26
3.2 Definición de población y muestra	26
3.3 Diseño metodológico	27
3.4 Análisis de datos	29
<b>IV. RESULTADOS</b>	32
<b>V. DISCUSIÓN</b>	40
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	45
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	46
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	47
<b>IX. ANEXOS</b>	52

**Intercambiabilidad terapéutica entre Atomoxetina genérica y el medicamento innovador Strattera ® Lima – 2012.**

**AUTORA : Bach. Yozely, SOTO VILCHEZ.**

**ASESOR : Q.F. Juan Clímaco, PANIAGUA SEGOVIA.**

**RESUMEN**

Mediante la presente investigación, ejecutada en el área de Investigación y desarrollo de Laboratorios Farminindustria S.A. Lima, se realizó un estudio de equivalencia terapéutica "in vitro", planteando como objetivo el estudio de la intercambiabilidad terapéutica entre la atomoxetina genérica y el medicamento innovador Strattera ®; establecer su perfil de disolución determinando los porcentajes de disolución en diferentes tiempos de muestreo en tres medios de disolución a diferentes pH's y establecer la equivalencia terapéutica entre la atomoxetina genérica y el medicamento innovador Strattera ®, mediante el cálculo del factor de similitud ( $f_2$ ). La cuantificación del analito se realizó empleando el cromatógrafo líquido de alta performance y la metodología empleada fue la de la comparación de los perfiles de disolución de cada uno de los medicamentos y cálculo del factor de similitud ( $f_2$ ), siguiendo la recomendación y cumplimiento de los parámetros establecidos de organismos internacionales como la OMS (Organización Mundial de la Salud) y la FDA (Food and Drug Administration). Se obtuvo como resultado del procedimiento, análisis e interpretación de los datos obtenidos un valor de  $f_2$  (factor de similitud) mayor a 50 en los tres medios de disolución: pH 1.2 ( $f_2= 92$ ) pH 4.5 ( $f_2= 92$ ) y pH 6.8 ( $f_2= 91$ ), concluyendo que, mediante la investigación realizada, los perfiles de disolución fueron establecidos a partir de los porcentajes de disolución, de las dos formulaciones respecto del tiempo, en cada uno de los tres medios de disolución y al obtener valores de factor de similitud mayorés a 50 en los tres medios de disolución, se determina la intercambiabilidad terapéutica entre la atomoxetina genérica y el medicamento innovador Strattera ®.

**Palabras Clave:** Atomoxetina, medicamento de referencia, medicamento genérico, factor de similitud e intercambiabilidad terapéutica.

## I. INTRODUCCIÓN

Los medicamentos juegan un papel importante tanto en la salud de las personas como en la economía de los países, estos dos aspectos pueden ser causa de conflicto debido a que las leyes y reglamentos para su autorización y control son con frecuencia inconsistentes e incompletos lo que incide en el alcance de los objetivos contenidos en las políticas de salud. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha trabajado en el establecimiento y promoción de estándares internacionales para evaluar la calidad de medicamentos, constituyendo comités de expertos entre los cuales está el Grupo de Trabajo en Bioequivalencia (GT/BE), que han desarrollado las guías de consulta sobre bioequivalencia, las cuáles se actualizan constantemente acorde a los avances de la ciencia farmacéutica e industria tecnológica (Placencia, 2010).

La Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) desde 1998 al 2007, ha actualizado sus guías estableciendo el estudio de bioequivalencia como el patrón de oro para establecer la intercambiabilidad terapéutica entre medicamentos (FDA, 2002).

En el Perú, La Ley General de Salud N° 26842 del año 1997 al 2009, no permitía establecer las garantías de calidad en los medicamentos, los requisitos solicitados para el registro sanitario eran declaraciones escritas. En la modificatoria de Ley N° 29316 aprobada en diciembre del 2009, se establecen

condiciones y requisitos que deben cumplir los estudios de equivalencia para demostrar equivalencia terapéutica y por tanto la intercambiabilidad de medicamentos multifuentes, en concordancia con las recomendaciones internacionales vigentes. En Julio del 2011 de acuerdo al Decreto Supremo N° 016-2011/SA, se aprueba el reglamento para el registro, control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios, el cual señala que para la Inscripción en el Registro Sanitario de especialidades farmacéuticas y posterior comercialización es necesario presentar como requisito entre otros "un estudio de *equivalencia terapéutica* para demostrar la intercambiabilidad, según lo establecido en la directiva sanitaria correspondiente".

De acuerdo a la OMS, los "medicamentos genéricos" son elaborados por industrias que basan su que hacer en la elaboración de formas farmacéuticas en base a moléculas de principios activos desarrollados por la industria de investigación, después de que ha vencido la patente. Sin embargo, para que estos productos sean considerados intercambiables con el producto de referencia deben demostrar que son equivalentes terapéuticos. Internacionalmente se reconocen diferentes métodos para establecer la Equivalencia terapéutica entre productos farmacéuticos: Estudios farmacodinámicos, estudios clínicos, estudios de biodisponibilidad comparativa (bioequivalencia) y estudios de liberación – disolución *in vitro*, siendo los dos últimos los más ampliamente utilizados (FDA, 1992. FDA, 2000. FDA, 2003).

Nuestro papel como Químicos Farmacéuticos especialistas en el medicamento; nos impone el reto de realizar este estudio; para fortalecer nuestras competencias y la capacidad de intercambiar un medicamento genérico con el innovador. Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

**OBJETIVO GENERAL:**

- Evaluar la intercambiabilidad terapéutica entre la atomoxetina genérica y el medicamento innovador Strattera ®.

**OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Establecer el perfil de disolución para la atomoxetina genérica y el medicamento innovador Strattera ®, determinando los porcentajes de disolución en los diferentes tiempos de muestreo.
- Establecer la equivalencia terapéutica entre la atomoxetina genérica y el medicamento innovador Strattera ®, mediante el cálculo del factor de similitud ( $f_2$ ).

## II. MARCO TEORICO

### 2.1 ANTECEDENTES:

El informe 937 de la Organización Mundial de la Salud (OMS), recomienda de forma general, para los 192 Estados Miembros, tender a la demostración de equivalencia terapéutica y declaración de Intercambiabilidad de todos los productos multifuentes y establecer los criterios básicos para la realización de los estudios (*in vivo* e *in vitro*) para asegurar la intercambiabilidad de los productos multifuentes sin comprometer la seguridad, calidad y eficacia de los productos farmacéuticos. Asimismo se adoptaron los criterios para la exención de los estudios *in vivo* con base en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB) (OPS, 2008).

En el Perú, La Ley General de Salud N° 26842 del año 1997 al 2009, no permitía establecer las garantías de calidad en los medicamentos, los requisitos solicitados para el registro sanitario eran declaraciones escritas, solamente. En la modificatoria de Ley N° 29316 aprobada en diciembre del 2009, se establecen condiciones y requisitos que deben cumplir los estudios de equivalencia para demostrar equivalencia terapéutica y por tanto la intercambiabilidad de medicamentos multifuentes, en concordancia con las recomendaciones internacionales vigentes (Placencia, 2010).

Es así, que la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID) en el año 2003, elabora la directiva para establecer equivalencia terapéutica de medicamentos, en la cual, en base a normas internacionales, señala los lineamientos a seguir para establecer una equivalencia terapéutica y determinar la intercambiabilidad de medicamentos (DIGEMID, 2009). Sin embargo, hasta la actualidad permanece sólo en calidad de proyecto.

En julio del 2011 de acuerdo al Decreto Supremo N° 016-2011/SA, se aprueba el reglamento para el registro, control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios, el cual señala que para la inscripción en el registro sanitario de especialidades farmacéuticas y posterior comercialización es necesario presentar como requisito entre otros “un estudio de equivalencia terapéutica para demostrar la intercambiabilidad, según lo establecido en la directiva sanitaria correspondiente” (El Peruano, 2011).

Tal es así, que se ve la necesidad de iniciar con los estudios que nos permitan determinar la calidad, seguridad y eficacia de los medicamentos que se expenden en nuestro país.

El Instituto Nacional de Salud a la fecha ha realizado estudios de equivalencia terapéutica para determinar intercambiabilidad terapéutica de ciertos medicamentos como la Amoxicilina de 500mg tabletas, ibuprofeno 400mg tabletas y diazepam 10mg tabletas. Obteniendo como resultados de intercambiabilidad terapéutica para los medicamentos de amoxicilina e ibuprofeno con su respectivo innovador y no intercambiable el medicamento de diazepam (Isasi, 2012).

En el año 2010, Aliaga y Pozo realizaron una investigación con el título de Estudio de equivalencia terapéutica *in vitro* de ciclosporina en cápsulas de gelatina blanda empleadas en el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, como tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, con el

siguiente objetivo general de determinar la equivalencia *in vitro* de dos formulaciones que contienen el principio activo de ciclosporina; donde cuyo resultado y conclusión fueron que, las formulaciones del producto de referencia y producto en estudio evaluadas no son equivalentes *in vitro*, ya que tienen un comportamiento diferente durante el desarrollo de los perfiles de disolución, mostrando los factores de similitud ( $f_2$ ) en los tres medios de disolución menores al valor de 50.

## **2.2 GENERALIDADES:**

### **2.2.1 Nomenclatura de los fármacos y definiciones generales:**

#### **Medicamento original, innovador o de patente:**

Medicamento que contiene un principio activo nuevo y con el que se ha realizado una investigación y desarrollo completo, desde su síntesis química hasta su utilización clínica. Es el primero, y a veces el único, que aporta datos propios de seguridad y eficacia terapéutica del principio activo, administrado en una especialidad farmacéutica concreta, a una dosis determinada y con indicaciones específicas (Peretta, 2005).

#### **Medicamento líder:**

Producto farmacéutico, original o genérico, que posee el mayor índice de venta en una región determinada. Medicamento que al ser registrado ante la DIGEMID, ha demostrado calidad, seguridad y eficacia, y es el más utilizado en el país (DIGEMID, 2009).

#### **Producto de referencia o comparador:**

Medicamento con el cual el producto multifuente pretende ser intercambiable (DIGEMID, 2009).

#### **Producto multifuente:**

Son todos aquellos medicamentos diferentes al innovador. Son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas que pueden o no ser equivalentes

terapéuticos. Los medicamentos multifuentes, que hayan demostrado equivalencia in vivo o in vitro, se consideran terapéuticamente equivalentes al producto de referencia y pueden ser declarados intercambiables (OMS, 2004).

**Medicamento genérico:**

Medicamento con igual composición cualicuantitativa y forma farmacéutica que un medicamento "original" cuya patente ha vencido, y su perfil de eficacia y seguridad está establecido por su uso clínico continuado. Debe demostrar equivalencia terapéutica con la especialidad de referencia mediante estudios de bioequivalencia. Su precio debe ser menos que el del original (Peretta, 2005).

Un medicamento genérico, representa un producto de composición definida, que contiene similar cantidad o concentración del principio activo, y es bioequivalente con el producto originalmente desarrollado y aprobado. Un concepto del medicamento genérico conlleva a la idea de intercambiabilidad con un medicamento original de referencia (Cotillo, 2004).

**Medicamento intercambiable:**

Producto farmacéutico que posee exactamente la misma actividad química, física, biológica y farmacológica que el medicamento original y que por lo tanto, proporciona un mismo efecto. Reemplaza al medicamento original sin afectar sus niveles de concentración y sin causar nuevos efectos adversos. A diferencia del producto original, su costo es menor por no haber elaborado extensos estudios científicos para su descubrimiento (OMS, 2004).

**Equivalencia terapéutica**

Dos medicamentos son terapéuticamente equivalentes si ellos son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas y después de la administración en la misma dosis molar, sus efectos, con respecto a eficacia y seguridad, serán esencialmente los mismos cuando sean administrados a pacientes por la misma

vía de administración bajo las condiciones especificadas en el inserto (OMS, 2004).

### **Equivalentes farmacéuticos**

Productos farmacéuticos que contienen la misma cantidad molar de IFA (ingrediente farmacéutico activo), en la misma forma farmacéutica, están destinados a ser administrados por la misma vía y cumplen con estándares de calidad idénticos o comparables (OMS, 2004).

### **Alternativas farmacéuticas:**

Son productos que contienen la misma cantidad molar de la misma entidad farmacéutica activa, pero difiere en la forma farmacéutica (por ejemplo tabletas vs. cápsulas), y/o forma química, (por ejemplo, diferentes sales o ésteres). Las alternativas farmacéuticas entregan la misma entidad activa por la misma vía de administración, pero no son equivalentes farmacéuticos. Los mismos pueden ser o no terapéuticamente equivalentes con el producto de referencia (Gennaro, 2003).

### **Bioequivalencia:**

Dos productos farmacéuticos son bioequivalentes si son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas y sus biodisponibilidades después de su administración en la misma dosis molar son semejantes en tal grado, que pueda esperarse que sus efectos serán esencialmente los mismos (Hernández, 2010).

### **Biodisponibilidad:**

Velocidad y cantidad con la cual el IFA (ingrediente farmacéutico activo) es absorbido desde la forma farmacéutica y se encuentra disponible en forma inalterada en la circulación general. Se asume, en consecuencia, que en un mismo individuo, una concentración plasmática esencialmente similar en el curso

del tiempo, resultará en una concentración esencialmente similar en el sitio de acción (OMS, 2004).

#### **Perfil de Disolución:**

Curva que caracteriza el proceso de disolución cuando se representa gráficamente al tiempo contra la cantidad o concentración del medicamento disuelto. Existen diversas maneras de caracterizar este proceso, incluyendo la determinación de la cinética de los procesos involucrados en la disolución del medicamento presente (Genaro, 2003; Bruneton, 2012).

#### **2.3 ESTUDIOS DE EQUIVALENCIA TERAPÉUTICA:**

Según la directiva para establecer equivalencia terapéutica de medicamentos de la Dirección General de Medicamento Insumos y Drogas (DIGEMID), estos estudios permiten determinar la equivalencia terapéutica entre el producto multifuente y el de referencia, empleando metodología *in vivo* o *in vitro*.

Internacionalmente se reconocen diferentes métodos para establecer la Equivalencia Terapéutica entre productos farmacéuticos:

- Estudios farmacodinámicos.
- Estudios farmacocinéticos.
- Estudios clínicos comparativos.
- Estudios de biodisponibilidad comparativa (estudios de bioequivalencia)
- Estudios de liberación – disolución *in vitro*.

Siendo actualmente los estudios de bioequivalencia y los estudios *in vitro* para optar a bioexenciones de estudios *in vivo*, los más ampliamente utilizados (FDA, 2000; FDA, 2003).

El empleo de estudios *in vitro*, se sustenta en el hecho de que después de la administración de un medicamento por vía oral, desde una forma farmacéutica sólida, la absorción del principio activo depende de los procesos de liberación,

de disolución y de la permeabilidad a través de la barrera gastrointestinal (Bermejo, 2007).

#### **2.4 ESTUDIOS *IN VITRO*:**

En determinadas circunstancias, se puede documentar la bioequivalencia y la biodisponibilidad de calidad del producto utilizando enfoques *in vitro*. Para productos farmacéuticos altamente solubles, altamente permeables, de disolución rápida, administrados oralmente, la documentación de bioequivalencia utilizando un enfoque *in vitro* (estudios de disolución) es apropiada en base al sistema de clasificación biofarmacéutica (FDA, 2003).

Las autoridades reguladoras deberían exceptuar el requisito para la presentación de las pruebas obtenidas *in vivo* que demuestren la biodisponibilidad del producto farmacéutico si éste cumple uno de los siguientes criterios:

- Medicamentos sólidos orales de liberación inmediata y de disolución rápida (> 85% liberados en 30min) que contengan ingredientes farmacéuticos activos que pertenecen a la Clase I del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB), siempre que no contengan excipientes que afecten la absorción del fármaco.
- Medicamentos sólidos orales de liberación inmediata y disolución muy rápida (> 85% liberados en 15min) que contengan ingredientes farmacéuticos activos que pertenecen a la clase III del SCB, siempre que contengan los mismos excipientes en cantidades muy similares.
- Medicamentos sólidos orales de liberación inmediata que contengan ingredientes farmacéuticos activos de Clase II del SCB (ácidos débiles) siempre que el ingrediente farmacéutico activo tenga un ratio dosis:solubilidad de 250mL o menos a pH 6.8 y el producto multifuente se disuelve rápidamente (85% o más a pH 6.8 en 30min o menos) y si el perfil de disolución es similar al producto de referencia a pH 1.2, 4.5 y 6.8.

- Nuevas dosificaciones de medicamentos con ingrediente farmacéuticos activo destinados a ser absorbidos para su distribución sistémica, siempre que sean elaborados por el mismo laboratorios fabricante, en las mismas instalaciones de manufactura, con los mismos procedimientos y además cumplan con las siguientes condiciones:
  - o Tener farmacocinética lineal en el rango de dosis terapéutica.
  - o Tener similar composición cualitativa de las diferentes dosificaciones.
  - o Tener similar proporción entre ingrediente farmacéutico activo y excipientes para las diferentes dosificaciones, o en el caso de contenidos muy bajos de ingrediente farmacéutico activo, la proporción entre los excipientes sea la misma.
  - o Haber realizado un estudio para establecer equivalencia terapéutica para al menos una de las dosificaciones del producto (usualmente la dosificación mayor, a menos que se haya elegido la dosificación menor por razones de seguridad, en este caso se debe asegurar que con las dosis mayores no hay problemas de solubilidad).
  
- Medicamentos aprobados como equivalentes terapéuticos que presentes alguna de las siguientes modificaciones:
  - o Cambios menores en su formulación tales como, colorantes, saborizantes y preservantes.
  - o Cambios menores en el método de fabricación, siempre que sean elaborados por el mismo laboratorio fabricante, en las mismas instalaciones de manufactura y haya demostrado su equivalencia terapéutica antes de la modificación, por métodos *in vivo* o *in vitro* y las dos versiones cumplan los requisitos de estudios de disolución.
  - o Cambios significativos en los excipientes (tipo y/o cantidad) de medicamentos que hayan demostrado equivalencia terapéutica por

medio de estudios comparativos de cinética de disolución, siempre que no altere la disolución rápida del producto y las dos versiones exhiban similares perfiles de disolución.

- Medicamentos que han demostrado una correlación cuantitativa *in vivo-in vitro*, y el perfil de disolución del producto nuevo es equivalente al del producto ya aprobado, en las mismas condiciones operativas utilizadas para establecer dicha correlación (DIGEMID, 2009).

Una bioexención basada en el SCB considera:

- La solubilidad y la permeabilidad del ingrediente farmacéutico activo.
- La similaridad del perfil de disolución del medicamento multifuente y del producto de referencia en un medio de pH 1.2, 4.5 y 6.8.
- Los excipientes empleados en la formulación.

Los excipientes incluidos en la composición de las formas farmacéuticas de liberación inmediata no deberán afectar la motilidad gastrointestinal u otros procesos que involucren la absorción del ingrediente farmacéutico activo, y no deberán interactuar con el ingrediente farmacéutico activo de manera que no altere la farmacocinética del mismo (DIGEMID, 2009).

Para que los resultados de un estudio de disolución *in vitro* sean considerados como criterio de equivalencia, se deben comparar los perfiles de disolución del producto multifuente respecto del producto de referencia, en idénticas condiciones experimentales y determinar su nivel de similitud a través del cálculo del factor de similitud ( $f_2$ ) (DIGEMID, 2009).

Este método se ha validado científicamente y ha sido adoptado internacionalmente por las agencias reguladoras en Europa y en Estados Unidos – El Human Medicines Evaluation Unit (MEU de la EMEA, European Medicines Agency) y el Center of Drug Evaluation and Research (CDER de la FDA, Food

and Drug Administration) como un criterio para asegurar la similitud entre dos perfiles de disolución *in vitro* (Graffner, 2006).

## **2.5 SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA (SCB):**

El Sistema de clasificación biofarmacéutica es un marco científico para clasificar a las sustancias medicamentosas (principio activo) basándose en su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal. Cuando se combina con la disolución del producto farmacéutico, el SCB toma en cuenta tres factores principales que rigen la tasa y el grado de la absorción de los medicamentos de liberación inmediata las formas farmacéuticas orales sólidas: la disolución, la solubilidad y la permeabilidad intestinal (FDA, 1997; FDA, 2000).

Según en SCB, los principios activos se clasifican de la siguiente manera:

- Clase I: Solubilidad alta – Permeabilidad alta
- Clase II: Solubilidad baja – Permeabilidad alta
- Clase III: Solubilidad alta – Permeabilidad baja
- Clase IV: Solubilidad baja – Permeabilidad baja

Además, las formas farmacéuticas orales sólidas de liberación inmediata se clasifican por su disolución rápida o lenta.

Las diferencias *in vivo* observadas de la tasa y el grado de la absorción de una fármaco a partir de dos productos orales sólidos farmacéuticamente equivalentes pueden deberse a diferencias de la disolución del medicamento *in vivo*. Sin embargo, cuando la disolución *in vivo* de una forma farmacéutica oral sólida de liberación inmediata es rápida con relación al vaciamiento gástrico y el medicamento tiene permeabilidad alta, la tasa y el grado de la absorción de medicamentos tiene poca probabilidad de depender de la disolución del medicamento y/o tiempo de tránsito gastrointestinal. En tales circunstancias, la demostración de la Biodisponibilidad *in vivo* o la bioequivalencia quizá no sea necesaria para los productos farmacéuticos que contienen sustancias

medicamentosas de Clase I, siempre que los ingredientes inactivos (excipientes) usados en la forma farmacéutica no afecten significativamente la absorción de los principios activos. El enfoque del SCB puede usarse para justificar las bioexenciones a los ensayos de biodisponibilidad para las sustancias medicamentosas altamente solubles y altamente permeables (Clase I) en formas farmacéuticas orales sólidas de liberación inmediata que presentan disolución *in vitro* rápida usando los métodos de ensayo recomendados por la United States Pharmacopeia (USP) (ANMAT, 2009).

### **2.5.1 Solubilidad:**

El establecimiento de la clase a la que pertenece un principio activo en relación con su solubilidad (de acuerdo al SCB) considera la mayor concentración posológica del producto de liberación inmediata objeto de una solicitud de bioexención. Es decir, una sustancia se considera altamente soluble cuando la dosis mayor de concentración es soluble en 250 mL de medio acuoso en un rango de pH de 1-7.5. El volumen estimado de 250 mL se deriva de los protocolos típicos de los estudios de bioequivalencia que prescriben la administración de un producto farmacéutico a voluntarios humanos en ayunas con un vaso (aproximadamente 8 onzas) de agua (WHO, 2006).

### **2.5.2 Permeabilidad:**

La clasificación de los principios activos en base a las características de permeabilidad se basa indirectamente en la medida de absorción (fracción de la dosis absorbida, no en la biodisponibilidad sistémica) de un principio activo en el hombre y directamente en mediciones de la velocidad de transferencia de masa a través de la membrana intestinal humana. Como alternativa, se pueden utilizar sistemas no humanos capaces de predecir la medida de la absorción del fármaco en el hombre (p. ej, métodos de cultivo de células epiteliales *in vitro*). Ante la ausencia de evidencia que sugiera la inestabilidad en el sistema

gastrointestinal, se considera que el principio activo es altamente permeable cuando se establece que la fracción absorbida de la dosis administrada en seres humanos es del 90% o más, basándose en una determinación de balance de masa o en la comparación con una dosis de referencia intravenosa (FDA, 2000). Los siguientes métodos pueden usarse para determinar la permeabilidad de una sustancia medicamentosa desde el tracto gastrointestinal:

- a) Estudios de perfusión intestinal *in vivo* en humanos;
- b) Estudios de perfusión intestinal *in vivo* o *in situ* usando los modelos animales apropiados;
- c) Estudios de permeabilidad *in vitro* usando tejidos intestinales extirpados de humanos o de animales; o
- d) Estudios de permeabilidad *in vitro* a través de una monocapa de un cultivo de células epiteliales.

### **2.5.3 Disolución:**

Se define como disolución al proceso mediante el cual una sustancia sólida entra en un solvente para dar como resultado una solución, o simplemente es el proceso en el cual una sustancia sólida se disuelve en un medio. La prueba de disolución es una prueba fisicoquímica que evalúa la cantidad de droga evaluada en un medio específico, bajo condiciones estandarizadas durante un periodo de tiempo determinado. La prueba de disolución se desarrolló inicialmente como una herramienta de control de calidad para garantizar la calidad del producto farmacéutico y la uniformidad entre las partidas (USP 35 – NF 30, 2012).

Existen tres categorías en las especificaciones de las pruebas de disolución para medicamentos de liberación inmediata:

Las especificaciones de un solo punto, como una prueba de rutina para el control de la calidad, utilizada para medicamentos altamente solubles y de rápida disolución. Las especificaciones de dos puntos, como una prueba de rutina para

el control de calidad de cierto tipo de productos como los de liberación prolongada o medicamentos poco solubles en agua. La comparación de perfiles de disolución, para productos aceptados bajo cambios SUPAC (cambios en la escala del tamaño de lotes de un mismo producto farmacéutico), para hacer exenciones y relaciones de los requerimientos de bioequivalencia (*in vivo* / *in vitro*) y para establecer las condiciones óptimas de disolución *in vitro*, de un producto (FDA, 1997).

Las variables más importantes a considerar para establecer las condiciones de disolución son: la selección del aparato de disolución, del volumen y medio de disolución y de la velocidad de agitación; la temperatura (37°C), la duración de la prueba, los perfiles de disolución, las especificaciones y límites de aceptación y la selección y validación del método analítico. Los aparatos para probar la disolución utilizados en esta evaluación deberán conformarse a los requisitos de la USP (Pharmacopeial United States). La selección del aparato para probar la disolución (Aparato I o II) durante el desarrollo del fármaco deberá basarse en una comparación de la disolución *in vitro* y los datos farmacocinéticos *in vivo* disponibles para el producto. El Aparato I (método de cesta) se prefiere por lo general para cápsulas y productos que tienden a flotar y el Aparato II (método de paleta) se prefiere por lo general para los comprimidos. Para algunas formas posológicas comprimidas, la disolución *in vitro* (pero no *in vivo*) puede ser lenta debido a la manera en la cual el producto desintegrado se asienta en el fondo de un matraz de disolución. En tales situaciones, se podrá preferir el Aparato I antes que el Aparato II (USP 35 / NF 30, 2012).

La adecuación del aparato de análisis puede llevarse a cabo con estándares de desempeño, como calibradores, al menos dos veces al año y después de cualquier cambio significativo o movimiento en el equipo. Sin embargo, un cambio de canastas por paletas o viceversa puede necesitar recalibración. El

equipo y la metodología de disolución deben incluir las instrucciones de operación relacionadas con el producto, como la extracción del aire del medio de disolución y el uso de hélice de alambre para cápsulas. La validación para procesos automatizados comparado con los procedimientos manuales deben ser bien documentados. Deben mantenerse condiciones suaves de agitación durante el análisis de disolución para evitar la emanación máxima de polvo y detectar productos con pobre desempeño *in vivo*. Utilizando el método de canasta, la velocidad de agitación común es de 50–100 rpm, y con el método de paletas es de 50-75 rpm. El tiempo del ensayo generalmente varía entre 30 y 60 minutos. Los tiempos de disolución y especificaciones usualmente son establecidas con base en una evaluación de perfiles de disolución. Las especificaciones típicas para la cantidad de principio activo disuelto, expresado como un porcentaje del contenido etiquetado (Q) están en los rangos de 70 a 80% disuelto (USP 35 /NF 30, 2012).

Si hace falta modificar las condiciones de prueba para reflejar mejor la disolución rápida *in vivo* (p.ej., el uso de una velocidad giratoria distinta), se puede justificar tales modificaciones comparando la disolución *in vitro* con los datos de absorción *in vivo* (p.ej., un estudio de bioequivalencia relativa usando una solución acuosa simple como producto de referencia). Se deberá recolectar las muestras en un número suficiente de intervalos para caracterizar el perfil de disolución del producto medicamentoso (p.ej., 10, 15, 20 y 30 minutos) (USP 35 /NF 30, 2012).

## **2.6 PERFILES DE DISOLUCIÓN Y EQUIVALENCIA TERAPÉUTICA *IN VITRO*:**

Los perfiles de disolución de cada producto, permiten evaluar las propiedades de las formulaciones, comparar las formulaciones de referencia con otras formulaciones de estudio, y cuando exista una correlación adecuada entre los parámetros de disolución *in vitro* y la biodisponibilidad, predecir el comportamiento *in vivo* (WHO, 2006; USP 35-NF 30, 2012).

Para la determinación de las características de disolución y la similitud de los perfiles de disolución del producto medicamentoso, las pruebas de disolución deberán realizarse en un Aparato I a 100 rpm o un Aparato II a 75 rpm usando 900 ml de los siguientes medios de disolución: 0,1 N de HCl o Fluido Gástrico Simulado USP sin enzimas; un tampón de pH 4,5 y un tampón de pH 6,8 o Fluido Intestinal Simulado USP sin enzimas (WHO, 2006; USP 35-NF 30, 2012). Para cápsulas y comprimidos recubiertos de gelatina, se puede usar Fluidos Gástrico o Intestinal Simulado USP (con enzimas). La comparación de Perfiles de disolución deben utilizarse en un mínimo de 12 unidades posológicas por lote de formulación ensayados, empleándose valores medios de los perfiles para su comparación. Estos valores medios sólo se pueden utilizar si el coeficiente de variación en los primeros tiempos (hasta los 15 minutos) es inferior al 20% y no superior al 10% en el resto de los tiempos de muestreo (Aguilar, 2008, WHO, 2006; FDA, 2000).

Los perfiles de disolución son considerados iguales en virtud a la totalidad de los perfiles y la similitud de cada punto muestreado en el tiempo de disolución. La comparación de los perfiles de disolución puede llevarse a cabo utilizando un modelo independiente o modelos dependientes. La FDA, considera emplear el cálculo del factor de similitud para determinar la equivalencia terapéutica *in vitro* mediante los perfiles de disolución (WHO, 2006).

#### **Modelo de acercamiento independiente a través del factor de similitud.**

Un modelo de acercamiento independiente utiliza el factor de diferencia ( $f_1$ ) y el factor de similitud ( $f_2$ ) para comparar los perfiles de disolución. El factor de diferencia ( $f_1$ ) calcula el porcentaje de diferencia entre dos curvas:

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

Donde n es el número de puntos en el tiempo,  $R_t$  son los valores de disolución del lote de referencia al tiempo t y  $T_t$  son los valores de disolución del lote analizado al tiempo t.

Cuando se comparan los productos de prueba y referencia, se deberá comparar los perfiles de disolución usando un factor de similitud ( $f_2$ ). El factor de similitud es una transformación logarítmica de la raíz cuadrada recíproca de la suma del error cuadrado y es una medición de la similitud en el porcentaje (%) de disolución entre las dos curvas. El cálculo del factor de similitud ( $f_2$ ) se deduce a partir de la función de Weibull y es un indicador de la diferencia promedio entre el perfil de referencia y el de prueba (diferencia de los cuadrados medios) (Milán, 2007). El análisis de Weibull es la técnica mayormente elegida para estimar una probabilidad, basada en métodos asumidos o medidos. La distribución Weibull es útil por su habilidad para simular un amplio rango de distribuciones como la normal, exponencial, etc. En las pruebas de disolución la cinética que se siguen, Weibull define el tiempo del proceso, y representa el tiempo necesario para disolverse el 63.2% del fármaco en la forma de dosificación (Milán, 2007).

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[ 1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

Los dos perfiles se consideran similares cuando el valor de  $f_2$  es mayor o igual a 50. Para permitir el uso de datos medios, el coeficiente de variación no deberá ser más del 20% en los puntos temporales más tempranos (p.ej; 10 minutos), y no deberá ser más del 10% en los otros puntos temporales.

Debe notarse que cuando los productos tanto de prueba como de referencia disuelven el 85% o más de la cantidad marcada del fármaco en 15 minutos usando los tres medios de disolución recomendados, no hace falta la comparación de perfiles con una prueba de  $f_2$  (FDA, 2000).

Para la validación de las condiciones de disolución se debe preparar uno o más lotes con diferente velocidad de disolución (uno con mayor y otro con menor velocidad que el lote usado en el estudio de biodisponibilidad y bioequivalencia), medida con el método de disolución seleccionado. Cuando la velocidad de disolución es independiente de las condiciones de prueba, ésta queda definida por una única curva, que se somete a un proceso de convolución para obtener una curva simulada *in vivo*. Si la curva resulta superponible con la curva plasmática obtenida en el estudio *in vivo*, entonces hay una correlación punto a punto que es lo que se define como nivel A de correlación.

Para productos de liberación inmediata se han obtenido muy pocas correlaciones, ya que en muchos casos la disolución no es el paso limitante de la velocidad de absorción.

A continuación se presenta un procedimiento específico para determinar los factores de diferencia y similitud entre dos productos:

- Determinar los perfiles de disolución de dos productos (12 unidades de cada uno), uno de referencia y otro de prueba.
- Utilizar los valores promedio de disolución de ambas curvas en el mismo intervalo de tiempo, calcular el factor de diferencia ( $f_1$ ) y el factor de similitud ( $f_2$ ) utilizando las ecuaciones.
- Para que las curvas se consideren similares los valores de  $f_1$  deben estar cercanos a 0 y los valores de  $f_2$  deben estar cercanos a 100. Generalmente, valores de  $f_1$  debajo de 15 (0-15) y valores de  $f_2$  mayores o iguales a 50 (50-100) aseguran la similitud o equivalencia de las dos curvas y así, el funcionamiento del producto analizado y el de referencia, presentando una intercambiabilidad terapéutica.

El método del modelo independiente es el más adecuado para comparar dos curvas cuando hay disponibles tres o cuatro tiempos de disolución. Como

sugerencia más allá de los acercamientos generales, también deben ser consideradas las siguientes recomendaciones:

- Las medidas de los lotes analizados y referencia se deben de tomar exactamente bajo las mismas condiciones. Los puntos en los tiempos de disolución para ambos perfiles deben ser los mismos (ej. 15, 30, 45, 60 minutos). El lote utilizado como referencia debe ser de reciente fabricación.
- Solamente se considera una medición después de la disolución del 85% para ambos productos.
- Para aceptar los datos promedios de concentración, el coeficiente porcentual de variación en los tiempos tempranos (ej, 15 minutos) no deben ser mayores al 20% y los otros puntos no deben ser mayores del 10% (Aguilar, 2008).

## **2.7 SIMPATICOMIMÉTICOS DE ACCIÓN CENTRAL: ATOMOXETINA**

También denominados adrenérgicos, porque reproducen total o parcialmente los efectos provocados al estimular las fibras postganglionares simpáticas o la médula SR. Estos fármacos pertenecen al grupo de la feniletilamina: poseen un grupo formado por un anillo benceno y una porción alifática lateral de etilamina. La estructura básica permite hacer sustituciones en el anillo fenólico, en los carbonos alfa o beta, y en el grupo amino terminal (Greydanus y Col., 2005).

### **2.7.1. Atomoxetina:**

La atomoxetina fue introducida en enero de 2003 y ha sido aprobada por la FDA para el tratamiento del Trastorno del déficit de atención e hiperactividad (TDAH) en niños a partir de los 6 años, adolescentes y adultos (18-20) (Greydanus y Col., 2005).

Originalmente se conocía como tomoxetina, pero se modificó para evitar la posible confusión con tamoxifeno y dar lugar a error al dispensar el fármaco.

La atomoxetina es un medicamento indicado para el trastorno del déficit de atención e hiperactividad (TDAH), actúa como un simpaticomimético de acción central por bloqueo selectivo (mínima afinidad por receptores de serotonina y dopamina) y potente de los transportadores presinápticos de la noradrenalina (NA), esto incrementa la cantidad de NA en el espacio sináptico (Salazar y Col., 2009).

### 2.7.2. Estructura Química:

La atomoxetina hidrocloreto es el isómero RX de la molécula, obtenido por difracción de rayos X. La solubilidad es de 27.8mg/mL en el agua. El color es blanco y el estado es sólido.

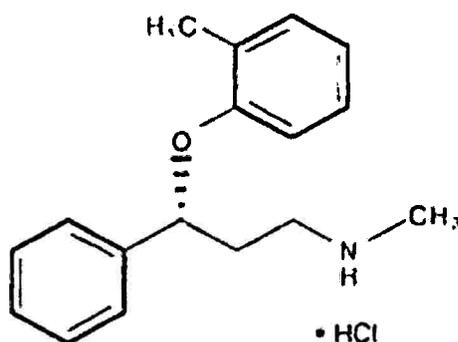


GRÁFICO N° 01: Estructura química de la atomoxetina clorhidrato (Salazar y Col., 2009)

### 2.7.3. Farmacocinética:

*Absorción y distribución:* La atomoxetina se absorbe rápidamente tras la administración oral, alcanzando la concentración plasmática (C<sub>máx</sub>) en aproximadamente 1-2 horas tras la ingesta. Posee una biodisponibilidad de 63% en metabolizadores normales y del 94% en metabolizadores lentos, los que genéticamente tienen menor actividad del citocromo P-450 CYP2D6. La absorción apenas es afectada por la ingesta de comida. Se une en un 98% a proteínas plasmáticas (Salazar y Col., 2009).

*Metabolismo y eliminación:* Utiliza la vía metabólica de oxidación a través del citocromo P-450 CYP2D6 hepático, sin ejercer efecto inductor o inhibidor de esta vía metabólica. Tiene 2 metabolitos oxidativos principales: la N-desmetilatomoxetina con escasa actividad farmacológica y la 4-hidroxiatomoxetina. Éste último es equipotente a la atomoxetina en cuanto a su efecto inhibidor del transportador de noradrenalina, pero circula en el plasma a concentraciones mucho más bajas. El aclaramiento en adultos es de 0.35L/h/Kg en metabolizadores normales. Tiene una semivida de 5 horas, que se alarga a 24 horas en los metabolizadores lentos o en los sujetos expuestos a la ingesta de otros fármacos que compiten inhibiendo el citocromo P-450 CYP2D6, como fluoxetina, paroxetina o quinidina, entre otros. Se elimina por glucuronización en orina (más del 80%) y en heces (17%) (Salazar y Col., 2009).

#### **2.7.4. Mecanismo de acción**

La atomoxetina es un potente inhibidor selectivo del transportador presináptico de la noradrenalina. La mayoría de los cuerpos celulares de las neuronas noradrenérgicas del cerebro se hallan localizados en el tronco cerebral llamado *locus coeruleus*. Aquí se encuentra la sede principal de las vías noradrenérgicas importantes que median en la conducta y otras funciones como la cognición, el estado de ánimo, las emociones y los movimientos. Se ha constatado la disfunción del *locus coeruleus* como la base subyacente a los trastornos en los que el estado de ánimo y la cognición se interrelacionan, como la depresión, la ansiedad, los trastornos de la atención y el procesamiento de la información. El incremento de noradrenérgico debería potenciar estas funciones. Se cree que el efecto terapéutico de atomoxetina en el trastorno por déficit de atención e hiperactividad está relacionado con su efecto inhibidor selectivo del transportador presináptico de noradrenalina (Salazar y Col., 2009).

### **2.7.5. Clasificación de atomoxetina de acuerdo al SCB y selección del medicamento innovador**

El clorhidrato de atomoxetina, de acuerdo a los estudios realizados por la FDA, pertenece a la clase I del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, presentando las propiedades de alta solubilidad y alta permeabilidad, la cual permite realizar estudios de bioexención y de esta manera determinar la intercambiabilidad mediante los estudios de equivalencia terapéutica "in vitro" (FDA, 2010).

El medicamento innovador (referencia) seleccionado fue Strattera® 40mg cápsulas de la Compañía Eli Lilly S.A. de C.V. (COFEPRIS, 2012; FDA Book 2012), la selección se realizó, de acuerdo a la normativa planteada por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2004).

### **2.7.6. Formulación cualitativa de atomoxetina genérica y strattera® 40 mg cápsulas**

#### **Strattera® 40mg cápsulas**

De acuerdo a la reglamentación perteneciente a las políticas de salud en el Perú, es preciso mostrar la fórmula cuali-cuantitativa de todo medicamento que se comercialice dentro del país y cuente con su respectivo Registro Sanitario.

Principio activo : Atomoxetina clorhidrato

Excipientes : Dimeticona

Almidón pregelatinizado

Cápsulas de gelatina : Almidón pregelatinizado

Lauril sulfato de sodio

Colorante FD&C N°2 azul

Óxido de hierro amarillo sintético

Dióxido de titanio

Tinta negra comestible (óxido de hierro negro).

(DIGEMID, 2012).

### **Atomoxetina 40mg cápsulas**

Principio activo : Atomoxetina clorhidrato

Excipientes : Almidón pregelatinizado

Dióxido silicio coloidal

Magnesio estearato

Cápsulas de gelatina : Almidón pregelatinizado

Lauril sulfato de sodio

Colorante FD&C N°1 blanco

Dióxido de titanio

(FARMINDUSTRIA .S.A., 2012).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el área de Investigación y Desarrollo Analítico de Laboratorio Farminustria S.A. y en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF), de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de mayo a octubre del 2012.

#### 3.2 DEFINICIÓN DE LA POBLACIÓN Y MUESTRA

**Población:** Medicamento genérico de atomoxetina 40 mg cápsulas y el medicamento innovador (referencia) Strattera ® 40 mg cápsulas, expendida en las farmacias y boticas de Lima – Perú, seleccionadas al azar.

#### **Muestra**

- 100 cápsulas de atomoxetina 40 mg de dos diferentes lotes (11000630 – 11000640) con fechas vencimiento en febrero del 2014, fabricado por Laboratorios Farminustria S.A.
- 50 cápsulas de Strattera ® 40 mg fabricado por Compañía Eli Lilly S.A, tomados al azar, recolectadas durante el mes de julio del 2012 en el departamento de Lima. Lote: A688269A. con fecha de vencimiento en marzo del 2014.

## **Estándar**

Estándar secundario : Atomoxetina clorhidrato.

El estándar fue proveído por Laboratorios Farminustria S.A., área de Investigación y Desarrollo.

### **3.3 DISEÑO METODOLÓGICO**

#### **3.3.1 Pruebas de disolución**

Se realizó de acuerdo al método de la USP 35/NF30, además de la metodología de Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) para la cuantificación del analito (principio activo), de acuerdo a la técnica analítica propia de Farminustria S.A, debidamente validado (FARMINDUSTRIA S.A, 2012).

Para cada prueba de disolución se utilizaron 12 cápsulas de cada lote de cada uno de los medicamentos (genérico y de referencia), en cada uno de los tres medios de disolución buffer pH 1.2, 4.5 y 6.8.

**Determinación de la variación del peso de la cápsula:** Se realizó para garantizar la concentración de la dosis, donde cada unidad de un lote debe tener un contenido de principio activo dentro de un rango estrecho de 100% +/- 5%, de acuerdo a la Farmacopea Británica (BP, 2012).

El término se define como el grado de uniformidad en la cantidad de la sustancia activa entre las unidades de dosificación (Anexo Nº 03).

**Verificación del Disolutor:** Se verificó las variables involucradas en el equipo de disolución:

- Inspección visual del equipo: limpieza, detección de grietas, roturas, etc.
- Geometría del equipo.
- Nivel del baño.
- Verificación del centrado de los vasos.
- Verificación de la altura de las paletas o canastillas.
- Verificación de la temperatura del medio de disolución en todos los vasos.

**Desarrollo de la prueba de disolución:** La prueba de disolución se desarrolló en el equipo disolutor, marca Sotax, modelo SR7 plus, integrado con siete vasos disolutores; con las siguientes condiciones operativas:

- Aparato : II (USP)
- Medio de disolución : Buffer pH 1.2, 4.5 y 6.8 respectivamente.
- Velocidad : 75rpm
- Tiempo : 10, 15, 20, 30 y 45 minutos.
- Volumen del medio : 900mL.
- Temperatura : 37°C +/- 0.5°C

Se realizó tres tipos de pruebas de disolución, considerando los tres medios de disolución que indica la reglamentación, preparados tal cual indica la monografía oficial (USP 35/NF 30) (Anexo N° 05).

- Buffer pH 1.2
- Buffer pH 4.5
- Buffer pH 6.8

**3.3.2 Preparación de muestras:** Se procedió de la siguiente manera:

- Solución estándar: Se preparó una solución de atomoxetina a una concentración de 0.040mg/mL, utilizando como diluyente el respectivo medio de disolución.
- Solución muestra: Se tomaron alícuotas de 10 mL aproximadamente en los tiempos indicados en el desarrollo de las pruebas de disolución (10, 15, 20, 30 y 45 minutos). Se filtró todas las soluciones de trabajo por membrana nylon 0.45um de poro.

**3.3.3 Sistema cromatográfico:** El análisis físico – químico de la atomoxetina, se llevó a cabo mediante el método de Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) con el siguiente detalle: Marca Agilent Technologies, modelo 1200 con

detector VWD (UV –Visible)-DAD (Arreglo de diodos), Series Quaternary LC System. Cumpliendo con el siguiente sistema cromatográfico:

- Columna : Lichrospher RP-Select B 125mm x 4mm (5um)
  - Flujo : 1.5mL/min
  - Longitud de onda : 215nm
  - Volumen de inyección : 5uL
  - Temperatura : 30°C
  - Fase móvil : Solución par iónico pH 3.1: Acetonitrilo (60:40)
- Solución par iónico pH 3.1: Se disolvió 4.9 g de octanosulfonato sódico y 6.9g de fosfato de potasio monobásico en 900 mL de agua, se ajustó a pH 3.1 +/- 0.05 con ácido fosfórico diluido y diluir a 1000 mL con agua.

Una vez obtenidas las muestras de trabajo, se procedió a colocarlas en el equipo HPLC (cromatógrafo líquido de alta performance), programándolo a las condiciones del sistema cromatográfico presentado. De esta manera se recogieron datos en valores de áreas para cada una de las muestras, a partir de ello se procedió con el cálculo del porcentaje de disolución.

### 3.4 ANÁLISIS DE DATOS

#### 3.4.1 Cálculo del porcentaje de disolución

Luego del análisis y recolección de los datos, se procedió a calcular el % disuelto de atomoxetina en cada punto de disolución, y en forma general se aplica la siguiente ecuación matemática:

$$\% \text{ Disolución} = \frac{Amp}{Ast} \times \frac{PSt}{100} \times \frac{5}{100} \times \frac{900}{40} \times \frac{255.3}{291.8} \times PotSt \times 100$$

Donde:

Amp : Área de la atomoxetina clorhidrato en la solución muestra.

Ast : Promedio de áreas de atomoxetina clorhidrato en la solución estándar de referencia.

Pst : Peso del estándar de referencia de atomoxetina clorhidrato en mg.

Pot st : Potencia del estándar de referencia expresado en mg de atomoxetina clorhidrato / mg de droga tal cual.

255.3 : Peso molecular de atomoxetina

291.8 : Peso molecular de atomoxetina clorhidrato.

### 3.4.2 Elaboración de los perfiles de disolución

Mediante la determinación de los distintos porcentajes de disolución de atomoxetina disuelto durante la prueba de disolución tomada a los tiempos estipulados, se pudo elaborar una curva de porcentaje de disolución vs tiempo para cada medicamento (perfil de disolución). Al final del estudio se obtuvo un total de seis curvas para el medicamento genérico y tres curvas para el medicamento innovador, los cuales muestran el comportamiento de liberación del principio activo en cada uno de los tres medios de disolución.

### 3.4.3 Cálculo del Factor de Similitud $f_2$

Al analizar los productos de prueba y referencia, se comparó los perfiles de disolución usando un factor de similitud ( $f_2$ ). El factor de similitud es una transformación logarítmica de la raíz cuadrada recíproca de la suma del error cuadrado y es una medición de la similitud en el porcentaje (%) de disolución entre las dos curvas.

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[ 1 + (1/n) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{0.5} \times 100 \right\}$$

Donde:

n = número de tiempos de muestreo

Rt = promedio del porcentaje disuelto del fármaco referencia.

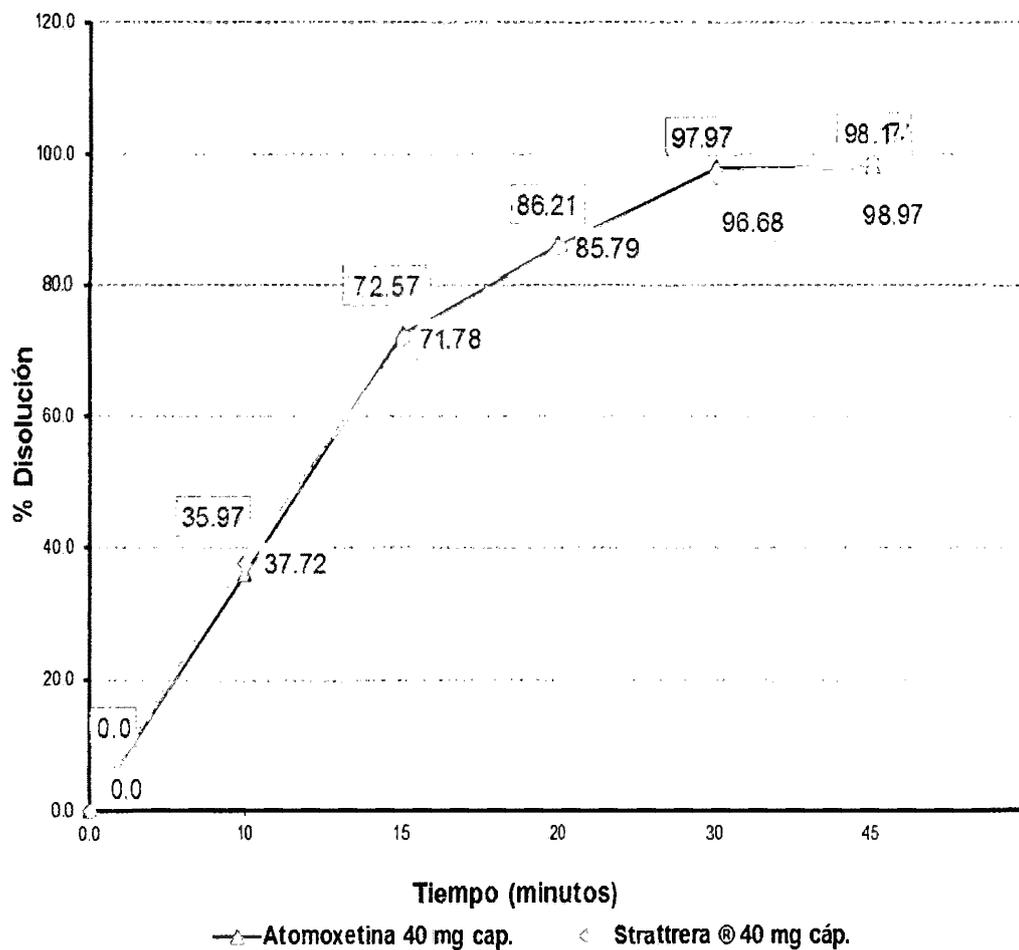
Tt = promedio del porcentaje disuelto del fármaco a ensayar.

**Principio:** Los dos perfiles se consideran similares cuando el valor de  $f_2$  es mayor o igual a 50. Se debe obtener una media de dos lotes diferentes, y

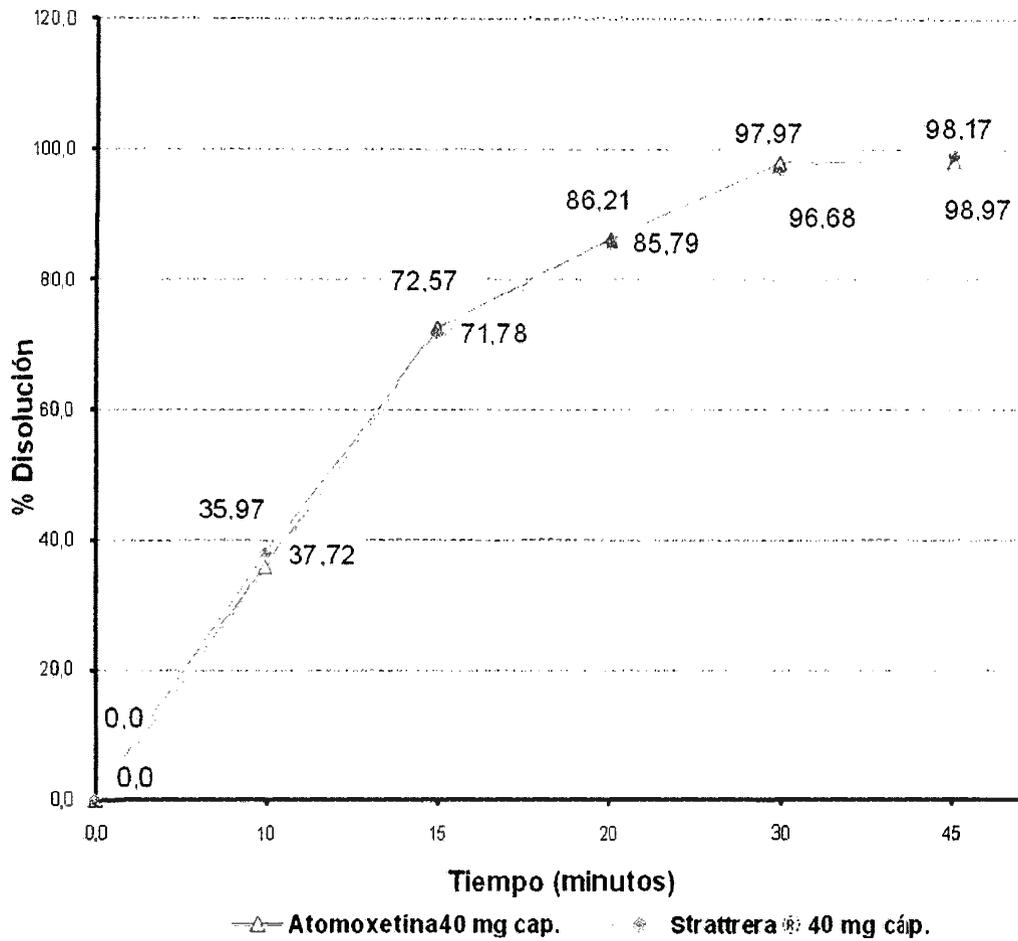
alcanzar un valor de  $f_2$  mayor o igual a 50 para concluir que el producto a ensayar es equivalente al producto en referencia y por tanto se establece la intercambiabilidad terapéutica. Cuando los productos tanto de prueba como de referencia disuelven el 85% o más de la cantidad marcada del fármaco en menos de 15 minutos usando los tres medios de disolución recomendados, no hace falta la comparación de perfiles con una prueba de  $f_2$  (FDA, 2000; WHO, 2006).

El cálculo del factor de similitud ( $f_2$ ) se deduce a partir de la función de Weibull y es un indicador de la diferencia promedio entre el perfil de referencia y el de prueba (diferencia de los cuadrados medios) (Milán, 2007).

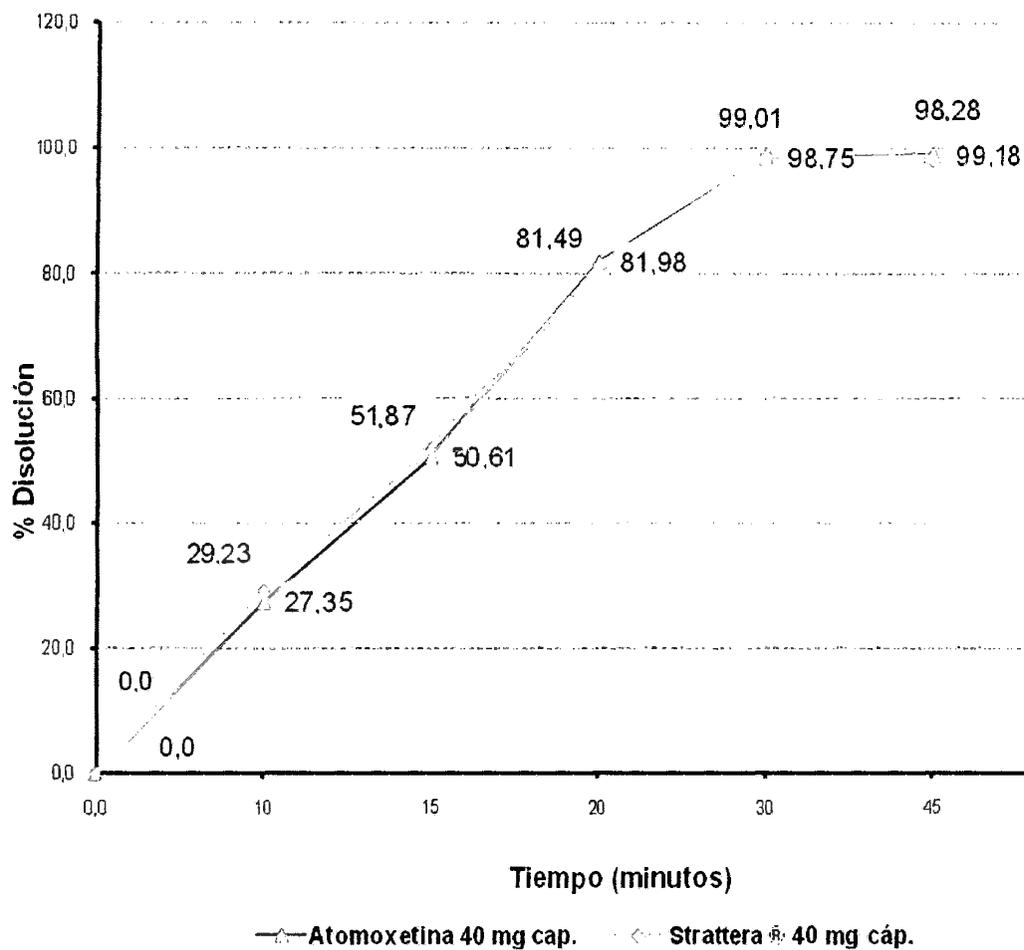
#### **IV. RESULTADOS**



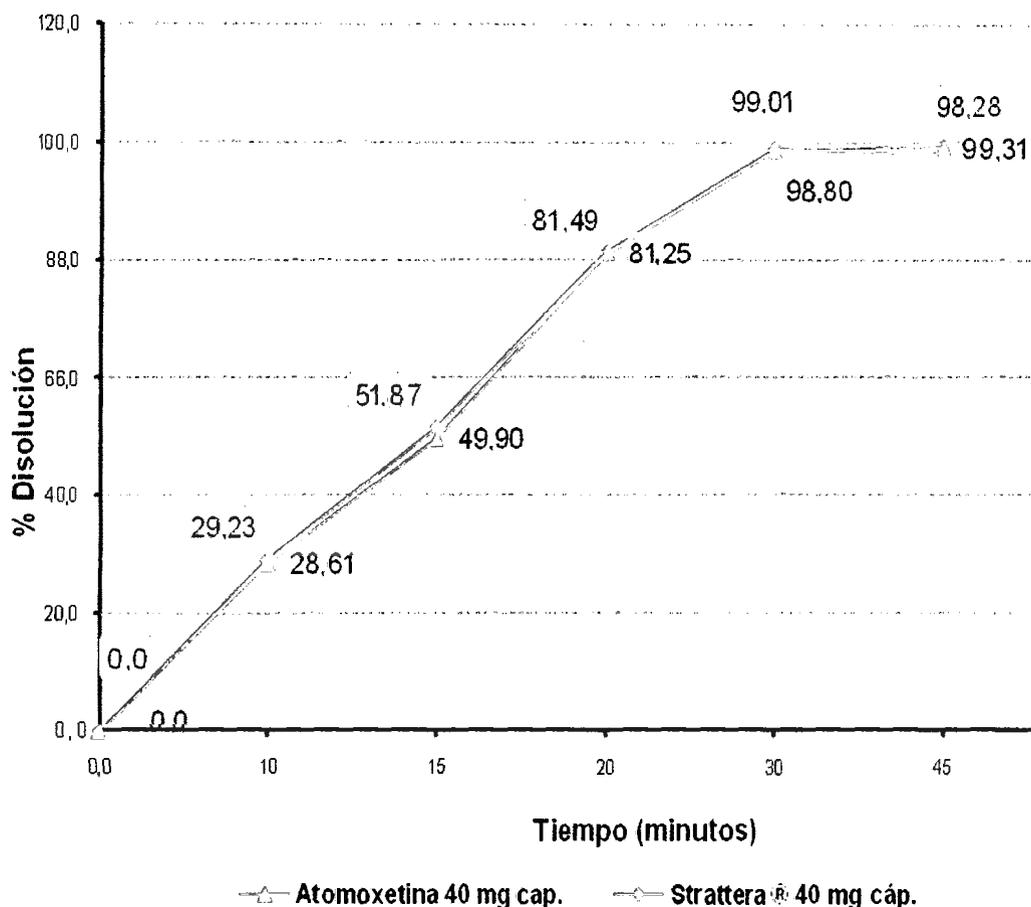
**GRAFICO N° 01: Variación del porcentaje de disolución, en función del tiempo, de atomoxetina 40 mg cápsulas genérica Lote 1 vs Strattera® 40 mg cápsulas en medio de disolución a pH 1.2. Lima – 2012.**



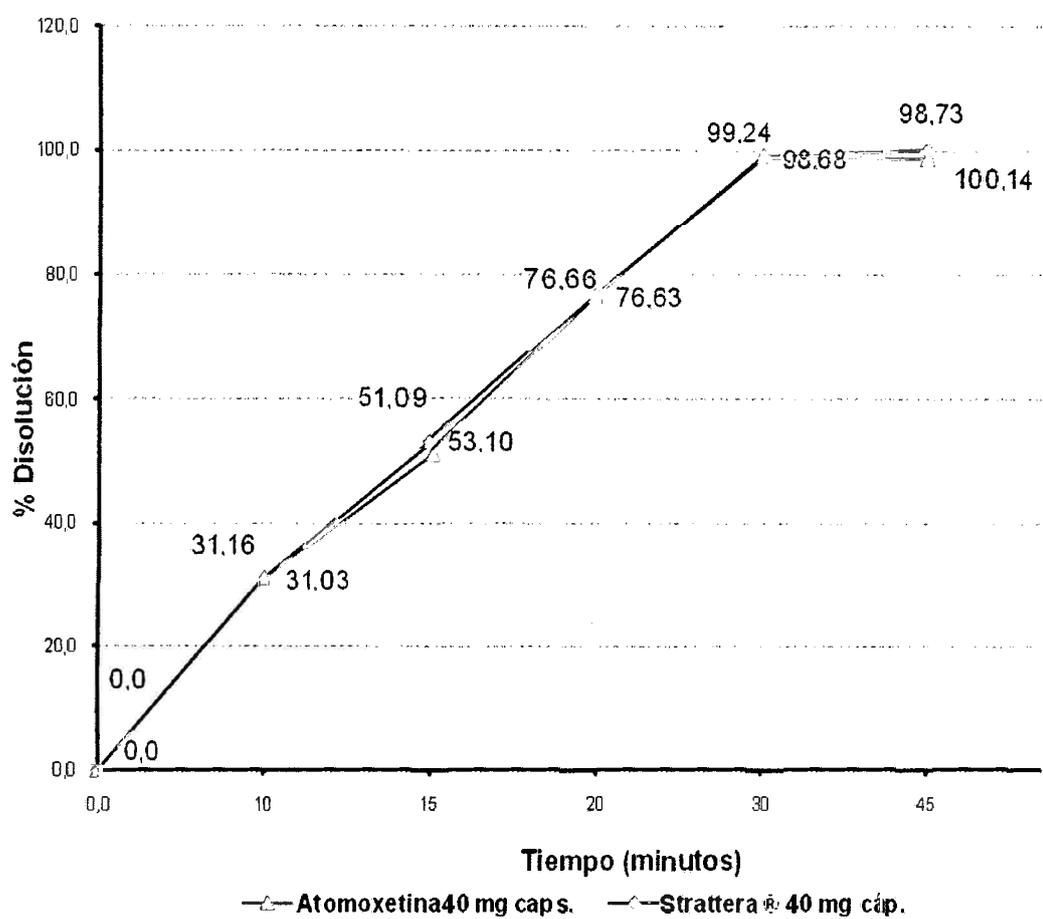
**GRAFICO N° 02: Variación del porcentaje de disolución, en función del tiempo, de atomoxetina 40 mg cápsula genérica Lote 2 vs Strattera ® 40 mg cápsula en medio de disolución a pH 1.2. Lima – 2012.**



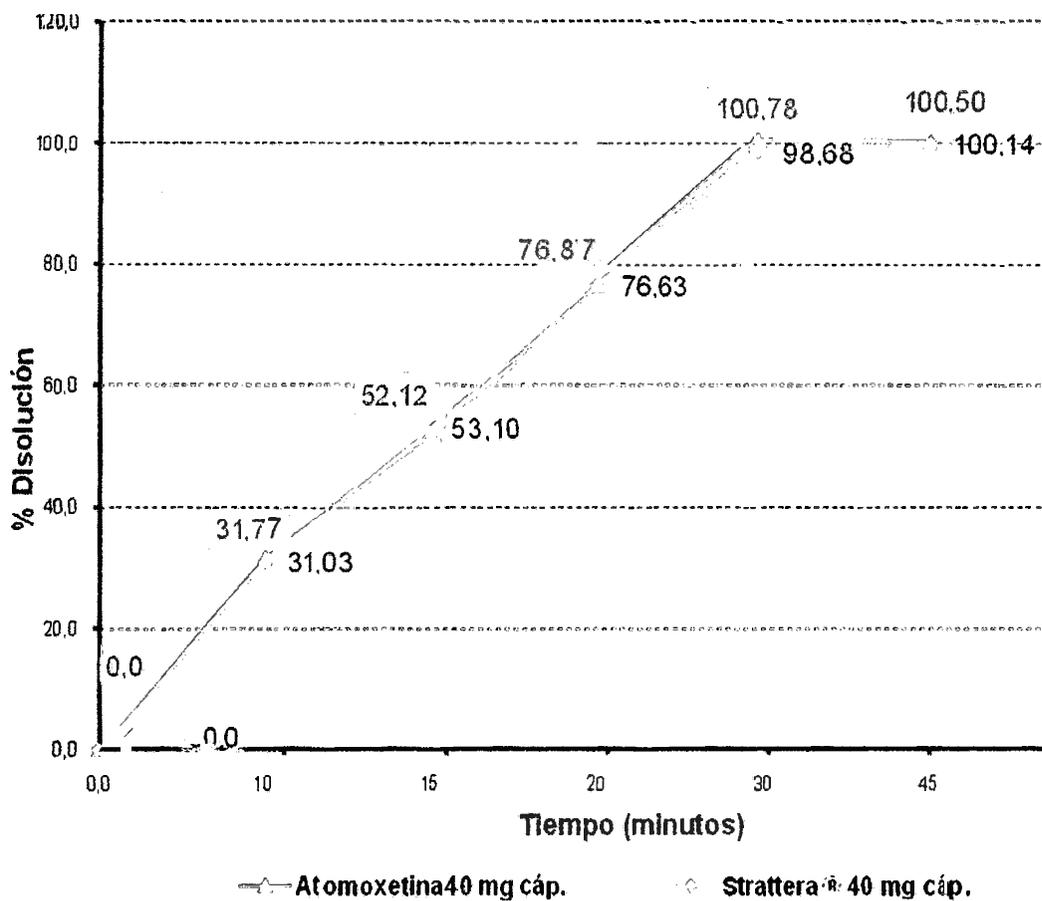
**GRAFICO N° 03: Variación del porcentaje de disolución, en función del tiempo, de atomoxetina 40 mg cápsula genérica Lote 1 vs Strattera® 40 mg cápsula en medio de disolución a pH 4.5. Lima-2012.**



**GRAFICO N° 04: Variación del porcentaje de disolución, en función del tiempo, de atomoxetina 40 mg cápsula genérica Lote 2 vs Strattera® 40 mg cápsula en medio de disolución a pH 4.5. Lima – 2012.**



**GRAFICO Nº 05: Variación del porcentaje de disolución, en función del tiempo, de atomoxetina 40 mg cápsula genérica Lote 1 vs Strattera® 40 mg cápsula en medio de disolución a pH 6.8. Lima – 2012.**



**GRAFICO N° 06: Variación del porcentaje de disolución, en función del tiempo, de atomoxetina 40 mg cápsula genérica Lote 2 vs Strattera® 40 mg cápsula en medio de disolución a pH 6.8. Lima – 2012.**

**CUADRO N° 01: Obtención del valor del factor de similitud ( $f_2$ ) para los 2 lotes de Atomoxetina 40mg cápsulas y Strattera® 40mg cápsulas en los diferentes medios de disolución. Lima –2012.**

<b>Nombre del producto multifuente</b>	Atomoxetina 40mg cápsulas		<b>Lote</b>	11000630-11000640	<b>Fecha de vencimiento:</b>	oct-14
<b>Nombre del producto de referencia</b>	Strattera® 40mg cápsulas		<b>Lote</b>	A688269A	<b>Fecha de vencimiento:</b>	oct-14
<b>Producto multifuente</b>	<b>Producto de Referencia</b>	<b>Medio</b>	<b>Factor de similitud (<math>f_2</math>)</b>	<b>Promedio de <math>f_2</math></b>	<b>Conclusión por lote</b>	
LOTE 1	LOTE PR	pH 1.2	91.805	92	Existe intercambilidad	
LOTE 2			92.298			
LOTE 1	LOTE PR	pH 4.5	91.209	92	Existe intercambilidad	
LOTE 2			91.998			
LOTE 1	LOTE PR	pH 6.8	91.070	91	Existe intercambilidad	
LOTE 2			91.369			

## V. DISCUSIÓN

La presente investigación se basó en evaluar la intercambiabilidad terapéutica entre la atomoxetina 40 mg cápsulas genérica y el medicamento innovador Strattera 40 mg cápsulas. Para realizar el análisis de los resultados obtenidos es necesario identificar aspectos críticos que intervienen en el proceso de disolución y posterior absorción del medicamento para alcanzar las concentraciones óptimas en el torrente sanguíneo y posteriormente ejercer su actividad farmacológica:

La primera prueba realizada es la de la comparación de los excipientes presentes en la fórmula cuali-cuantitativa de ambas formulaciones, tanto como el medicamento de prueba y el de referencia (Anexo N° 01), y como vimos consta de diferentes excipientes, cada una de ellas cumpliendo su respectiva función en cada formulación, sin embargo aparentemente ello no intervino desfavorablemente en el proceso de liberación del principio activo en el medio de disolución.

Otra prueba realizada en ambas formulaciones fue la determinación de la variación de peso, en la que los resultados obtenidos muestran que en promedio las cápsulas del producto en prueba (Atomoxetina 40mg cápsulas genérica) tiene un peso similar que las del producto de referencia (Strattera ® 40mg cápsulas) como se observa en el Anexo N° 02, debido a ello los porcentajes o

concentración de activo disuelto obtenidos, tampoco muestran diferencias significativas. Durante el desarrollo de las pruebas de los perfiles de disolución, se observó que ambas formulaciones de atomoxetina (producto de referencia y de prueba) cumplen las especificaciones establecidas por la FDA y la OMS, clasificando al medicamento como medicamentos sólidos orales de liberación inmediata y de disolución rápida, puesto que más del 85% se libera en 30 minutos aproximadamente, que contengan ingrediente farmacéutico activo que pertenecen a la Clase I (FDA, 2000).

Al realizar el estudio de la cinética de disolución de todos los perfiles de disolución, se determinó que éstos siguen una cinética de disolución de primer orden, tal como se indica en el Anexo N° 16 y 17, mediante el cual se determina que el transcurso de la reacción depende de la concentración del principio activo, y es determinado por una línea recta de pendiente negativa con un coeficiente de correlación lineal cercano al valor de uno (Doménech y Col., 2008).

En las pruebas de disolución realizadas y al elaborar los perfiles de disolución podemos visualizar gráficamente, que tanto el medicamento de referencia y el medicamento de prueba, aparentemente presentan una mejor cinética de liberación en medio de disolución con pH 1.2 (gráfico N° 01 y 02), logrando liberar más del 85% del ingrediente farmacéutico activo en 20 minutos, lo que indica que el medicamento podría presentar una mayor velocidad de disolución a nivel del estómago. Esto se corrobora con la literatura que indica que la atomoxetina se absorbe inmediatamente tras la ingesta oral, presentando una absorción oral no afectada por la comida, rápida y completa (Salazar y Col., 2009).

Al determinar la constante de disolución del medicamento en prueba y el medicamento innovador, a partir de los perfiles de disolución, tanto del

medicamento de referencia (Strattera ® 40 mg cápsulas) y el medicamento en prueba (atomoxetina 40 mg genérica), podemos observar que la constante de disolución para cada uno, respectivamente, es de  $0.16 \text{ min}^{-1}$  y  $0.15 \text{ min}^{-1}$ , lo que indica que 0.16% y 0.15% de principio activo (atomoxetina) se disuelve en un minuto desde la formulación de atomoxetina 40 mg cápsula genérica y Strattera ® 40 mg cápsula, respectivamente. (Ver Anexo N°15)

Se observa, en los perfiles de disolución a pH 4.5 y 6.8, tanto de la atomoxetina genérica y el medicamento innovador Strattera ® (gráfico N° 03, 04, 05 y 06), una característica en común, que al cabo de los 20 minutos del proceso de disolución, donde no alcanza el 85%, se incrementa la liberación del principio activo en 10 minutos, es decir hasta los 30 minutos, donde recién se logra aproximadamente el 100% del principio activo disuelto. Es decir, la liberación se ve retrasada si se comparan con los tiempos de liberación del principio activo en el medio de disolución a pH 1.2, lo que indica que aparentemente existe una reacción que provoca el ligero retraso en la liberación. Por otro lado, al determinar la constante de disolución de atomoxetina en los dos medios de disolución a pH 4.5 y 6.8, se observa que presentan valores entre  $0.19 \text{ min}^{-1}$  a  $0.22 \text{ min}^{-1}$  (Anexo N°15), mostrando a diferencia del pH 1.2 mayores valores de constantes de disolución, lo cual indica que 0.19% a 0.22 % de principio activo se disuelve en un minuto a partir de la formulación de atomoxetina, tanto genérica como el innovador. Esto podría ser indicativo que el proceso de liberación del principio activo en estos medios de disolución a pH 4.5 y 6.8 si sufren cambios, de acuerdo al pH del medio de disolución, corroborando el retraso observado gráficamente. Sin embargo, esto no afectaría la tasa de absorción, ya que se alcanzan concentraciones máximas de atomoxetina en el plasma ( $C_{\text{máx}}$ ) aproximadamente de 1 a 2 horas después de la administración (Salazar y Col., 2009; ANMAT, 2012). Entonces, se determina que la

atomoxetina no sufre cambios en la liberación a lo largo del tracto gastrointestinal, es decir que la liberación del principio activo se realiza independientemente del pH.

Los alimentos pueden cambiar la biodisponibilidad de un medicamento y pueden influir en la bioequivalencia entre los productos de ensayo y el de referencia, esto mediante diversos medios, incluyendo: Retraso en el vaciamiento gástrico, estímulo del flujo biliar, cambio de pH gastrointestinal, aumento del flujo sanguíneo esplénico, cambio del metabolismo luminal de una sustancia medicamentosa, interactuar físicamente o químicamente con una forma farmacéutica o una sustancia medicamentosa (OPS, 2005). Sin embargo, los efectos importantes de los alimentos sobre la Biodisponibilidad son menos probables que ocurran con muchos productos de liberación inmediata que se disuelven rápidamente, que contienen sustancias medicamentosas altamente solubles y altamente permeables (Clase I del SCB) porque la absorción de las sustancias medicamentosas en la Clase I es generalmente independiente del pH y del sitio y por lo tanto insensible a las diferencias en la disolución como se ha podido observar con la atomoxetina.

En tal sentido el modelo estadístico utilizado para la interpretación de los resultados "Modelo de acercamiento independiente, el cual usa el cálculo del factor de similitud ( $f_2$ )", muestra como resultado de la comparación de los perfiles de disolución de la atomoxetina 40mg cápsula genérica y el medicamento innovador Strattera ® 40mg cápsula en cada uno de los tres distintos medios de análisis que es mayor a 50; con el siguiente detalle: Medio con pH 1.2:  $f_2 = 92 > 50$ , medio con pH 4.5:  $f_2 = 92 > 50$  y medio con pH 6.8:  $f_2 = 91 > 50$ . Se concluye demostrando que la atomoxetina 40mg cápsulas (medicamento genérico y/o multifuente) es equivalente terapéutico al medicamento innovador Strattera ® 40mg cápsulas. Por tanto se establece la intercambilidad terapéutica

entre estos dos medicamentos, asegurando que el medicamento multifuente cumplirá su función terapéutica de manera similar que el medicamento innovador.

Puesto que Aliaga y Pozo (2010) determinaron mediante su trabajo de investigación que la ciclosporina de prueba no era posible de ser intercambiada con su respectivo innovador mediante estudios de equivalencia terapéutica *in vitro*, otros investigadores determinaron que su intercambiabilidad si es posible mediante estudios de bioequivalencia, es entonces que en algunos principios activos con problemas de seguridad, estrecho margen terapéutico e indicaciones clínicas sería un error dar por sentado la intercambiabilidad terapéutica entre dos formulaciones, solo por la similitud encontrada en los perfiles de disolución *in vitro* o la bioinequivalencia en caso de perfiles diferentes. Razón por la cual la correlación *in vivo/ in vitro* desempeña una función determinante en el aseguramiento de la calidad de todos los lotes que saldrán al mercado. Por tal razón, se sabe que el uso de atomoxetina se da con indicación apropiada por ensayos clínicos controlados en niños, adolescentes y/o adultos y deberá establecerse en un marco terapéutico adecuado a cada paciente en particular, ya que este tratamiento no está indicado a todos los pacientes que cursan con este síndrome (ANMAT, 2012). Por tal razón una de las consideraciones generales de una bioexención basada en el Sistema de clasificación biofarmacéutica debe evaluar los riesgos de una decisión de bioexención incorrecta en término de margen terapéutico e indicaciones clínicas para cada ingrediente farmacéutico (DIGEMID, 2009), si bien es cierto que la atomoxetina tiene un comportamiento similar al medicamento innovador comprobado mediante estudios "*in vitro*", se hace necesario corroborar estos resultados mediante estudios de bioequivalencia "*in vivo*" por ser un medicamento de alta vigilancia terapéutica (ANMAT, 2012).

## VI. CONCLUSIONES

1. Mediante la investigación realizada se determina la intercambiabilidad terapéutica entre la atomoxetina genérica y el medicamento innovador Strattera ®
2. Los perfiles de disolución fueron establecidos a partir de los porcentajes de disolución, de las dos formulaciones respecto del tiempo, en cada uno de los tres medios de disolución.
3. Se establece la equivalencia terapéutica de la atomoxetina genérica y el medicamento innovador Strattera ® mediante el cálculo del factor de similitud ( $f_2$ ), mostrando valores mayores a 50 en los tres medios de disolución: pH 1.2 ( $f_2 = 92$ ) pH 4.5 ( $f_2 = 92$ ) y pH 6.8 ( $f_2 = 91$ ), con lo cual podemos predecir la intercambiabilidad terapéutica.

## VII. RECOMENDACIONES

1. El presente trabajo proporciona una línea base para evaluar la calidad de dos formulaciones con un mismo principio activo, bajo una misma forma farmacéutica y debe ser usada como una guía para el mejoramiento continuo de las formulaciones disponibles en el mercado.
2. Cuidar minuciosamente las condiciones a las cuales se realiza la disolución y la cuantificación del analito, para que en todos los casos estas sean las mismas y se puedan evitar desviaciones y sesgos en el estudio.
3. Se debe verificar las condiciones analíticas de los equipos instrumentales a emplear, a fin de evitar errores sistemáticos en el estudio.
4. Realizar estudios de equivalencia terapéutica *in vitro* de manera complementaria a los estudios de bioequivalencia, de manera que se pueda evaluar la calidad, demostrar la intercambiabilidad y garantizar la seguridad y eficacia de los productos.
5. La autoridad reguladora (DIGEMID) debe solicitar, antes de emitir un registro sanitario, estudios de bioequivalencia y equivalencia terapéutica *in vitro*, además de estudios de correlación *in vivo-in vitro* para medicamentos con estrecho margen terapéutico.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Aguilar, A.** 2008. Biofarmacia y Farmacocinética. Ejercicios y problemas resueltos. Editorial El Sevier. España.
2. **Aliaga, V., Pozo A.** 2010. Estudio de equivalencia terapéutica *in vitro* de ciclosporina en cápsula de gelatina blanda empleadas en el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins (HNERM). Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.
3. **Angeles, H.** 2008. Excipientes en formulación magistral. Seminario Taller en la Universidad de Sevilla. España. Consulta realizada en 15 de octubre del 2012. Disponible en:  
<[http://personal.us.es/mjlucero/sitio/master/recursos/fm/excipientes\\_formulacion\\_magistral.pdf](http://personal.us.es/mjlucero/sitio/master/recursos/fm/excipientes_formulacion_magistral.pdf)>
4. **ANMAT, 2009.** (Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y tecnología médica). Criterios de Bioexención de estudios de bioequivalencia para medicamentos sólidos orales de liberación inmediata. Argentina.
5. **ANMAT, 2012.** (Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y tecnología médica). Disposición N° 1385, aprobación de nuevos prospectos para la Especialidad medicinal Recit/Atomoxetina clorhidrato cápsulas. Buenos Aires. Argentina. Consulta realizada el 25 de octubre del 2012. Disponible en:  
< [http://www.anmat.gov.ar/boletin\\_anmat/marzo\\_2012/Dispo\\_1385-12.pdf](http://www.anmat.gov.ar/boletin_anmat/marzo_2012/Dispo_1385-12.pdf)>
6. **Bermejo, M.** 2007. Destino de los medicamentos en el organismo. Curso de Formulaciones Farmacéuticas. Instituto Nacional de Salud Pública. Chile.
7. **British Pharmacopoeia, 2012.**
8. **Bruneton, L.** 2012. Las bases Farmacológicas de la terapéutica, Goodman y Gillman, 12ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana – México.

9. **COFEPRIS**, 2012. (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios). Relación de medicamentos de referencia. Gobierno Federal en Salud. México.
10. **Cotillo, Z.** 2004. Atención Farmacéutica. Bases Farmacológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
11. **DIGEMID**, 2009. Proyecto Reglamento y Directiva para establecer equivalencia terapéutica de Medicamentos. Perú.
12. **DIGEMID**, 2012. Consulta de Registros Sanitarios de Medicamentos. Consulta realizada en: 28 de junio del 2012. Disponible en:  
<<http://www.digemid.minsa.gob.pe/listado.ASP>>
13. **Doménech, B., Martínez, L., Plá D.** 2008. Biofarmacia y farmacocinética. Biofarmacia. Volumen II. Editorial Síntesis. España.
14. **EMA**, 2003. Agencia Europea del Medicamento. Excipients in the label and package leaflet of medicinal products for human use. Guidelines Medicinal products for human use safety, environment and information, Volume 3. Consulta realizada en: 29 de octubre de 2012. Disponible en:  
<[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003412.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003412.pdf)>.
15. **El Peruano**, 2011. Diario Oficial de la República del Perú. Sección: Normas Legales, Asunto: Aprueban Reglamento para el Registro, control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios. Decreto Supremo N° 016-2011 SA. Lima.
16. **FARMINDUSTRIA S.A.**, 2012. Fuente de registros de formulaciones y estabilidades de productos nuevos. Lima.
17. **FDA**, 1992. Guideline of Federal Regulations 21CFR320.1 US. Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Drugs for Human Use Bioavailability and Bioequivalence Requirements.

18. **FDA**, 1997. Guidance for Industry: Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms, US Center for Drug Evaluation and Research, USA.
19. **FDA**, 2000. Guidance for industry: Waiver of in vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for immediate Release Solid Oral Dosage Forms based on Biopharmaceutics Classification System. Us Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, USA.
20. **FDA**, 2003. Guidance for industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products – General considerations. US Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research.
21. **FDA**, 2005. Food and Drug Administration Orange Book. Final Labeling 21782/Supp 011 11.9.10. Highlights of prescribing information. Atomoxetina. Consulta: 30 de junio del 2012. Disponible en:  
<<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/ob/docs/tempai.cfm>>
22. **FDA**, 2012. Sistema de base de datos on line. Consulta: 25 de junio del 2012. Disponible en: <<http://69.20.123.154/services/bcs/results.cfm>>
23. **FDA**, 2002. Food and Drug Administration, Center for Drug Research: Bioavailability and Bioequivalence studies for Orally administered Drug Products – General Considerations. Rockville: CDERFDA.
24. **Gennaro, A.** 2003. Remington Farmacia Tomo 2. 20ª Edición. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires – Argentina.
25. **Graffner, C.** 2006. Regulatory aspects of Drugs dissolution from a European perspective. Eur. J. Pharm Sci.
26. **Greydanus, D., Patel, D., Pratt H.** 2005. Clínicas Pediátricas de Norteamérica. Salud en el ámbito educativo. Volumen 52. Número 1. Editorial El Sevier. España.
27. **Hernández, H.** 2010. Tratado de Medicina Farmacéutica. Editorial Panamericana. México.

28. **Isasi, R. 2012.** Equivalencia Terapéutica. Ponencia presentada en la Escuela de Estudios Farmacéuticos ESEF del Perú. Lima.
29. **Lilly Laboratorios, 2008.** Ficha técnica. Boletín de Evaluación Farmacoterapéutica de nuevos medicamentos.
30. **MINSA, 2012.** Ministerio de Salud del Perú. Decreto Supremo N° 016-2011/SA. Julio del 2011. Consulta: 15 de Mayo del 2012. Disponible en:  
<<ftp://ftp2.minsa.gob.pe/normaslegales/2011/DS016-2011-MINSA.pdf>>
31. **Milán, S. 2007.** Cinéticas de Disolución. Ponencia presentada en el III Encuentro de Estudios de Bioequivalencia y Biodisponibilidad en Río de Janeiro. Brasil. Consulta en: 13 de octubre de 2012. Disponible en:  
<<https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:fhbl5eYjdOcJ:anguiano.8m.com/Rosy/S107/Cinetica%2520de%2520disolucion.pdf>>
32. **OMS, 2004.** WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations (serie de reportes técnicos de la OMS 937 "Informe 40").
33. **OPS, 2005.** Organización Panamericana de la Salud. Criterios científicos para los ensayos de Bioequivalencia (*in vivo* e *in vitro*), las bioexenciones y las estrategias para su implementación. IV Conferencia Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica. República Dominicana.
34. **OPS, 2008.** Organización Panamericana de la Salud. Marco para la ejecución de los requisitos de equivalencia para los productos farmacéuticos. Red PARF. Grupo de Trabajo en Bioequivalencia.
35. **Peretta, M. 2005.** Reingeniería Farmacéutica. Principios y protocolos de atención al paciente. Ed. Médica Panamericana. Bogotá.
36. **Placencia, M. 2010.** La Bioequivalencia como requisito de calidad de los medicamentos genéricos/multifuentes: estudio comparativo en países latinoamericanos. Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.

- 37. Salazar, M., Peralta C., Pastor F.** 2009. Tratado de Psicofarmacología: Bases y aplicación clínica. 2da. Edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid. España.
- 38. United States Pharmacopeia 35– National Formulary 30,** 2012. EE.UU.
- 39. WHO** 2006. World Health Organization. Who Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Fortieth Report. Geneva.

## **IX. ANEXOS**

**ANEXO N° 01: Determinación de las funciones de los excipientes presentes en la fórmula cuali-cuantitativa de la Atomoxetina 40mg genérico y Strattera ® 40mg cápsulas.**

<b>EXCIPIENTE</b>	<b>FUNCIÓN</b>	<b>CARACTERÍSTICAS</b>
Almidón pregelatinizado	Diluyente	Actúa como vehículo que contiene todos los ingredientes de la forma farmacéutica.
Dimeticona	Adherencia y Oclusividad	Son polímeros sintéticos que tienen características de hidrofobia, adherencia, inocuidad y estabilidad.
Lauril sulfato de sodio	Tensioactivo	Agente surfactante, tiene características de actuar como detergente, dispersante y humectante.
Óxido de hierro	Colorante	Son insolubles en agua, muy estables frente a la luz, reducen la permeabilidad de las películas de recubrimiento frente al vapor de agua y al oxígeno.
Dióxido de titanio	Colorante - Opacificante	
Magnesio estearato	Lubricante - Glidante	Sus propiedades hidrófobas retardan la desintegración y posterior disolución de la forma farmacéutica.
Dióxido de silicio coloidal	Lubricante	

(Angeles, 2008; EMEA, 2003).

**ANEXO N° 02: Resultados de la verificación del equipo disolutor:**

N°	FECHA DE VERIFICACIÓN	16/07/2012	30/07/2012	13/08/2012
		24/07/2012	10/08/2012	24/08/2012
1	Inspección visual general del equipo: limpieza, detección de grietas, roturas, etc.	Conforme	Conforme	Conforme
2	Geometría del equipo	Conforme	Conforme	Conforme
3	Nivel del baño	A 10cm de la altura total	A 10cm de la altura total	A 10cm de la altura total
4	Verifica centrado de vasos	Conforme	Conforme	Conforme
5	Verificación de la altura de las paletas o canastillas	A 2cm del fondo del vaso	A 2cm del fondo del vaso	A 2cm del fondo del vaso
6	Verificación de la temperatura del medio de disolución en todos los vasos.	37°C	37°C	37°C

**ANEXO N° 03: Resultados de la determinación de la variación de peso.**

**(Unidad de medida: miligramos)**

Cápsula	MediopH 1.2		MediopH4.5		MediopH6.8	
	Medicamento Referencia	Medicamento prueba	Medicamento Referencia	Medicamento prueba	Medicamento Referencia	Medicamento prueba
1	252.34	251.8	248.76	248.78	252.33	251.83
2	234.34	233.8	249.86	249.88	234.33	233.83
3	251.23	250.69	250.53	250.55	251.22	250.72
4	250.24	249.7	251.75	251.77	250.23	249.73
5	249.78	249.24	254.12	254.14	249.77	249.27
6	245.76	245.22	252.87	252.89	245.75	245.25
7	253.76	253.22	249.84	249.86	253.75	253.25
8	253.34	252.8	248.43	248.45	253.33	252.83
9	249.98	249.44	254.37	254.39	249.97	249.47
10	251.67	251.13	245.87	245.89	251.66	251.16
11	254.64	254.1	255.56	255.58	254.63	254.13
12	248.56	248.02	251.34	251.36	248.55	248.05
Prom.	249.6367	249.0967	251.1083	251.1283	249.6267	249.1267
DS	2.162	2.167	1.118	1.118	2.162	2.166

**ANEXO N° 04: Clasificación de la Atomoxetina 40mg cápsulas de acuerdo al Sistema de Clasificación Biofarmacéutica. (FDA 2012)**

Biopharmaceutics Classification System

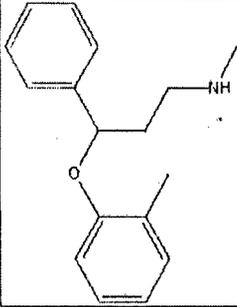
Page 1 of 2



**Biopharmaceutics Classification System (BCS) Results**

SEARCH AGAIN >>

Records found: 1

Compound: Atomoxetine hydrochloride							
							
CAS:				83015-26-3			
Category:				Central Nervous System Agents			
Subcategory:				CNS (other)			
Formula:				C17 H21 N O			
Molecular Weight:				255.3600061			
Lowest Solubility (mg/ml):				?			
Human Permeability (x 10 <sup>4</sup> cm/s):				N/A			
cLogP:		N/A		N/A			
logP:		3.8399991417		HIGH Permeability			
Country List:							
	Minimum Dose (mg)	Maximum Dose (mg)	Do (min)	Do (max)	Solubility	BCS Class (cLogP)	BCS Class (logP)
US	10	60	0.03999	0.15999	HIGH	Class I	Class I

**ANEXO N° 05: Preparación de los medios de disolución de acuerdo a la monografía oficial USP 35 / NF 30.**

**Medio de disolución pH 1.2**

- o Preparación de solución de ácido clorhídrico 0.2N: A partir de una solución de ácido clorhídrico concentrado (HCl), de densidad 1.19 al 37% p/v.
- o Preparación de una solución de cloruro de potasio de 0.2M: Disolver 14.91g de cloruro de potasio en agua y diluir con agua hasta 1000mL.
- o Obtención de solución de ácido clorhídrico pH 1.2: Colocar 50mL de la solución de cloruro de potasio 0.2M en un matraz volumétrico de 200mL, agregar 85mL de la solución de HCl 0.2N y completar a volumen con agua. Medir el pH de la solución resultante.

**Medio de disolución pH 4.5**

- o Preparación de la solución de ácido acético glacial (2N): Agregar 116mL de ácido acético glacial a una cantidad suficiente de agua para obtener 1000mL después de enfriar a temperatura ambiente.
- o Preparación de la solución buffer acetato (1L): Pesar 2.99g de acetato de sodio y colocar en un matraz volumétrico de 1000mL, agregar 14mL de solución de ácido acético 2N recientemente preparada, agregar agua y llevar a volumen.

**Medio de disolución pH 6.8**

- o Preparación de solución de fosfato monobásico de potasio (0.2M): Disolver 27.22g de fosfato monobásico de potasio en agua y diluir con agua hasta 1000mL.  
  
Preparación de la solución buffer fosfato (200mL): Colocar 50mL de una solución de fosfato monobásico de potasio en un matraz volumétrico de 200mL, agregar aproximadamente 22.4mL de una solución de hidróxido de sodio 0.2M, finalmente agregar agua a volumen (200mL), medir el pH de la solución.

**ANEXO N° 06: Porcentaje de disolución de Atomoxetina 40mg cápsula genérica del lote 1 en los diferentes tiempos de muestreo en un medio de disolución de pH 1.2. Lima – 2012.**

<b>ATOMOXETINA 40mg cápsulas      LOTE: 11000630</b>					
<b>N°MUESTRAS</b>	<b>TIEMPOS DE MUESTREO (min.)</b>				
	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>
<b>D1 %</b>	37,50	72,06	91,92	96,81	100,29
<b>D2 %</b>	37,72	72,29	84,77	96,63	96,53
<b>D3 %</b>	34,79	72,57	87,88	97,47	99,03
<b>D4 %</b>	36,53	71,82	92,44	97,05	97,11
<b>D5 %</b>	35,99	72,08	84,91	98,20	97,48
<b>D6 %</b>	37,23	72,57	82,24	98,11	97,28
<b>D7 %</b>	37,83	73,50	85,44	96,85	98,72
<b>D8 %</b>	36,10	72,53	87,35	97,27	99,54
<b>D9 %</b>	37,72	72,30	84,70	97,56	99,54
<b>D10 %</b>	36,43	71,84	78,48	98,24	99,54
<b>D11 %</b>	37,20	72,43	84,24	96,61	99,54
<b>D12 %</b>	36,64	72,27	85,40	97,09	99,54
<b>% PROMEDIO</b>	<b>36,80</b>	<b>72,35</b>	<b>85,81</b>	<b>97,32</b>	<b>98,68</b>
<b>%CV</b>	<b>0,91</b>	<b>0,48</b>	<b>3,64</b>	<b>0,58</b>	<b>1,04</b>
<b>RSD</b>	<b>2,46</b>	<b>0,61</b>	<b>4,45</b>	<b>0,61</b>	<b>1,26</b>

**ANEXO N° 07: Porcentaje de disolución de Atomoxetina 40mg cápsulas genérica del lote 2 en los diferentes tiempos de muestreo en un medio de disolución de pH 1.2. Lima – 2012.**

<b>ATOMOXETINA 40 mg cápsulas      LOTE: 11000640</b>					
<b>N°MUESTRAS</b>	<b>TIEMPOS DE MUESTREO (min.)</b>				
	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>
<b>D1 %</b>	35,06	72,30	89,54	99,18	99,58
<b>D2%</b>	35,28	72,53	85,01	98,99	96,30
<b>D3%</b>	35,27	72,81	88,59	98,17	95,99
<b>D4%</b>	35,55	72,06	89,10	99,41	97,81
<b>D5%</b>	35,74	72,32	85,15	98,67	98,18
<b>D6%</b>	36,50	72,33	81,76	98,35	98,44
<b>D7%</b>	35,40	72,53	86,63	97,32	98,48
<b>D8%</b>	36,59	72,29	86,15	97,04	98,39
<b>D9%</b>	36,98	72,78	86,37	96,85	99,12
<b>D10%</b>	36,19	72,33	85,88	97,06	98,40
<b>D11 %</b>	36,95	74,60	85,44	97,56	98,89
<b>D12 %</b>	36,15	72,03	84,92	97,09	98,43
<b>% PROMEDIO</b>	<b>35,97</b>	<b>72,57</b>	<b>86,21</b>	<b>97,97</b>	<b>98,17</b>
<b>%CV</b>	<b>0,68</b>	<b>0,68</b>	<b>2,13</b>	<b>0,93</b>	<b>1,05</b>
<b>RSD</b>	<b>1,89</b>	<b>0,94</b>	<b>2,47</b>	<b>0,95</b>	<b>1,07</b>

**ANEXO N° 08: Porcentaje de disolución de Strattera ® 40mg cápsulas en los diferentes tiempos de muestreo en un medio de disolución de pH 1.2. Lima–2012.**

<b>STRATTERA ® 40mg cap. LOTE: A688269A</b>					
<b>N°MUESTRAS</b>	<b>TIEMPOS DE MUESTREO (min.)</b>				
	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>
<b>D1 %</b>	37,74	72,09	89,36	96,89	99,63
<b>D2%</b>	35,05	71,85	86,74	96,45	98,91
<b>D3%</b>	35,28	71,86	87,23	96,66	99,85
<b>D4%</b>	36,53	71,44	88,17	96,22	100,10
<b>D5%</b>	35,99	72,09	87,70	97,16	98,44
<b>D6%</b>	36,99	72,15	87,94	96,92	100,07
<b>D7%</b>	40,12	72,30	84,88	96,22	98,07
<b>D8%</b>	38,47	72,30	86,78	96,64	97,52
<b>D9%</b>	38,95	71,83	84,14	96,92	98,94
<b>D10%</b>	39,43	71,38	77,97	97,60	98,69
<b>D11 %</b>	38,68	70,76	83,70	95,98	98,48
<b>D12%</b>	39,43	71,32	84,85	96,45	98,95
<b>%PROMEDIO</b>	37,72	71,78	85,79	96,68	98,97
<b>%CV</b>	1,72	0,47	3,02	0,45	0,81
<b>RSD</b>	4,56	0,65	3,53	0,47	0,82

**ANEXO N° 09: Porcentaje de disolución de Atomoxetina 40mg cápsulas genérica del lote 1 en los diferentes tiempos de muestreo en un medio de disolución de pH 4.5. Lima –2012.**

<b>ATOMOXETINA 40 mg cápsulas      LOTE: 11000630</b>					
<b>N°MUESTRAS</b>	<b>TIEMPOS DE MUESTREO (min.)</b>				
	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>
<b>D1 %</b>	26,86	51,63	82,25	98,86	99,29
<b>D2 %</b>	27,06	50,47	81,54	98,31	99,73
<b>D3 %</b>	28,12	50,90	82,09	98,91	99,93
<b>D4 %</b>	27,71	50,53	81,92	98,52	99,06
<b>D5 %</b>	27,81	50,29	82,40	99,33	99,51
<b>D6 %</b>	28,04	50,98	81,40	98,51	97,84
<b>D7 %</b>	26,33	47,80	81,04	96,40	98,16
<b>D8 %</b>	26,81	50,83	80,72	98,86	98,71
<b>D9 %</b>	27,17	49,98	82,82	99,53	100,28
<b>D10 %</b>	27,10	51,65	82,69	99,05	99,53
<b>D11 %</b>	27,36	50,77	82,44	99,37	99,00
<b>D12 %</b>	27,84	51,50	82,48	99,37	99,09
<b>%PROMEDIO</b>	27,35	50,61	81,98	98,75	99,18
<b>%CV</b>	0,56	1,03	0,67	0,84	0,70
<b>RSD</b>	2,03	2,03	0,82	0,85	0,71

**ANEXO N° 10: Porcentaje de disolución de Atomoxetina 40mg cápsulas genérica del lote 2 en los diferentes tiempos de muestreo en un medio de disolución de pH 4.5. Lima – 2012.**

<b>ATOMOXETINA 40 mg cápsulas      LOTE: 11000640</b>					
<b>N°MUESTRAS</b>	<b>TIEMPOS DE MUESTREO (min.)</b>				
	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>
<b>D1 %</b>	29,28	50,43	81,06	99,56	98,83
<b>D2 %</b>	29,48	50,95	81,78	98,78	99,96
<b>D3 %</b>	29,09	48,26	81,85	99,38	99,47
<b>D4 %</b>	30,13	50,29	81,45	98,52	97,90
<b>D5 %</b>	30,23	49,33	80,51	98,86	99,74
<b>D6 %</b>	30,46	50,02	81,17	98,75	99,93
<b>D7 %</b>	27,35	50,28	80,71	96,34	100,44
<b>D8 %</b>	27,35	48,52	81,10	99,28	98,65
<b>D9 %</b>	27,95	50,07	80,59	99,48	98,37
<b>D10 %</b>	27,64	48,87	81,41	98,76	99,01
<b>D11 %</b>	26,93	50,62	80,92	99,08	99,65
<b>D12 %</b>	27,40	51,12	82,40	98,84	99,73
<b>% PROMEDIO</b>	<b>28,61</b>	<b>49,90</b>	<b>81,25</b>	<b>98,80</b>	<b>99,31</b>
<b>%CV</b>	<b>1,30</b>	<b>0,94</b>	<b>0,56</b>	<b>0,84</b>	<b>0,75</b>
<b>RSD</b>	<b>4,55</b>	<b>1,88</b>	<b>0,69</b>	<b>0,85</b>	<b>0,76</b>

**ANEXO N° 11: Porcentaje de disolución de Strattera ® 40mg cápsulas en los diferentes tiempos de muestreo en un medio de disolución de pH 4.5.**

**Lima – 2012.**

<b>STRATTERA 40mg cap. LOTE: A688269A</b>					
<b>N°MUESTRAS</b>	<b>TIEMPOS DE MUESTREO (min.)</b>				
	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>
<b>D1 %</b>	27,89	48,98	82,76	98,99	98,56
<b>D2 %</b>	28,83	52,43	81,55	99,00	98,39
<b>D3 %</b>	28,70	52,73	80,92	98,93	98,60
<b>D4 %</b>	29,26	53,00	81,42	98,93	98,03
<b>D5 %</b>	29,41	53,02	82,07	99,11	98,39
<b>D6 %</b>	29,84	53,49	81,82	99,04	98,16
<b>D7 %</b>	28,96	50,74	80,81	98,56	97,34
<b>D8 %</b>	29,35	51,52	80,95	98,69	97,80
<b>D9 %</b>	29,40	51,45	81,20	99,10	98,13
<b>D10 %</b>	29,57	51,58	81,00	99,11	98,04
<b>D11 %</b>	29,64	51,73	81,81	99,13	99,04
<b>D12 %</b>	29,89	51,83	81,54	99,57	98,91
<b>% PROMEDIO</b>	<b>29,23</b>	<b>51,87</b>	<b>81,49</b>	<b>99,01</b>	<b>98,28</b>
<b>%CV</b>	<b>0,56</b>	<b>1,22</b>	<b>0,57</b>	<b>0,25</b>	<b>0,47</b>
<b>RSD</b>	<b>1,92</b>	<b>2,34</b>	<b>0,70</b>	<b>0,25</b>	<b>0,48</b>

**ANEXO N° 12: Porcentaje de disolución de Atomoxetina 40mg cápsulas genérica del lote 1 en los diferentes tiempos de muestreo en un medio de disolución de pH 6.8. Lima – 2012.**

<b>ATOMOXETINA 40 mg cápsulas</b>		<b>LOTE: 11000630</b>				
<b>N°MUESTRAS</b>	<b>TIEMPOS DE MUESTREO (min.)</b>					
	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	
<b>D1 %</b>	34,20	54,35	76,18	98,36	99,44	
<b>D2 %</b>	31,98	52,33	78,24	101,03	100,16	
<b>D3 %</b>	32,20	52,39	78,79	101,57	99,98	
<b>D4 %</b>	32,66	51,90	78,43	101,67	100,29	
<b>D5 %</b>	30,38	52,84	78,83	101,50	100,47	
<b>D6 %</b>	32,44	51,93	78,67	101,37	100,65	
<b>D7 %</b>	31,30	48,09	73,49	96,29	96,57	
<b>D8 %</b>	29,29	48,25	74,60	96,91	97,11	
<b>D9 %</b>	29,79	48,39	74,43	97,41	97,76	
<b>D10 %</b>	30,47	48,93	74,57	97,48	97,48	
<b>D11 %</b>	29,97	49,45	74,56	97,34	97,17	
<b>D12 %</b>	29,24	50,12	74,88	96,95	97,72	
<b>% PROMEDIO</b>	31,16	50,75	76,31	98,99	98,73	
<b>%CV</b>	1,55	2,12	2,11	2,21	1,55	
<b>RSD</b>	4,98	4,19	2,76	2,23	1,57	

**ANEXO Nº 13: Porcentaje de disolución de Atomoxetina 40mg cápsulas genérica del lote 2 en los diferentes tiempos de muestreo en un medio de disolución de pH 6.8. Lima – 2012.**

<b>ATOMOXETINA 40 mg cápsulas</b>		<b>LOTE: 11000630</b>			
<b>NºMUESTRAS</b>	<b>TIEMPOS DE MUESTREO (min.)</b>				
	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>
<b>D1 %</b>	33,20	53,86	78,64	100,06	100,88
<b>D2 %</b>	32,73	53,57	77,50	100,55	100,40
<b>D3 %</b>	32,45	52,64	78,54	100,59	99,74
<b>D4 %</b>	32,41	52,89	78,92	101,92	99,33
<b>D5 %</b>	31,13	53,34	79,08	101,26	99,51
<b>D6 %</b>	32,19	54,42	78,92	100,40	101,13
<b>D7 %</b>	32,53	49,98	76,38	100,08	100,36
<b>D8 %</b>	30,44	50,14	77,53	100,71	100,93
<b>D9 %</b>	30,96	50,29	77,36	101,24	101,60
<b>D10 %</b>	31,66	50,85	77,50	101,31	101,31
<b>D11 %</b>	31,15	51,39	77,49	101,16	100,99
<b>D12 %</b>	30,39	52,09	77,83	100,76	101,56
<b>%PROMEDIO</b>	31,77	52,12	77,97	100,84	100,65
<b>%CV</b>	0,94	1,56	0,83	0,55	0,78
<b>RSD</b>	2,96	2,99	1,07	0,55	0,77

**ANEXO N° 14: Porcentaje de disolución de Strattera ® 40mg cápsulas en los diferentes tiempos de muestreo en un medio de disolución de pH 6.8.**

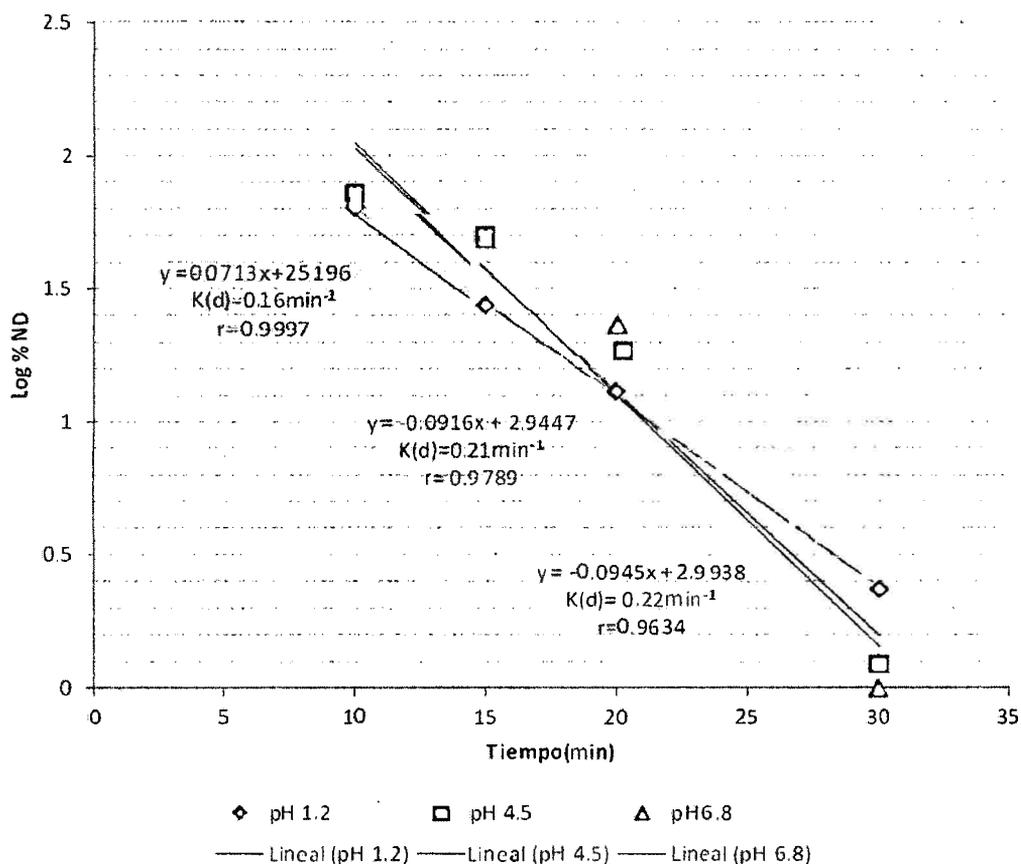
**Lima – 2012.**

<b>STRATTERA 40mg cap. LOTE: A688269A</b>					
<b>N°MUESTRAS</b>	<b>TIEMPOS DE MUESTREO (min.)</b>				
	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>
<b>D1 %</b>	30,93	52,53	74,04	91,43	99,41
<b>D2%</b>	31,48	53,15	74,09	97,91	99,31
<b>D3%</b>	29,35	54,43	74,78	98,29	99,17
<b>D4 %</b>	31,75	54,05	75,57	98,07	99,25
<b>D5%</b>	29,98	54,56	76,07	97,99	100,47
<b>D6%</b>	29,42	54,53	75,32	98,64	100,44
<b>D7%</b>	32,34	50,48	77,28	100,47	99,44
<b>D8%</b>	32,59	51,88	77,64	99,73	100,54
<b>D9%</b>	32,37	51,99	78,76	100,19	100,97
<b>D10 %</b>	30,91	52,92	78,49	99,92	100,60
<b>D11 %</b>	30,61	53,38	78,75	100,86	100,89
<b>D12 %</b>	30,63	53,35	78,71	100,71	101,22
<b>% PROMEDIO</b>	<b>31,03</b>	<b>53,10</b>	<b>76,63</b>	<b>98,68</b>	<b>100,14</b>
<b>%CV</b>	<b>1,11</b>	<b>1,24</b>	<b>1,86</b>	<b>2,54</b>	<b>0,76</b>
<b>RSD</b>	<b>3,57</b>	<b>2,34</b>	<b>2,42</b>	<b>2,58</b>	<b>0,76</b>

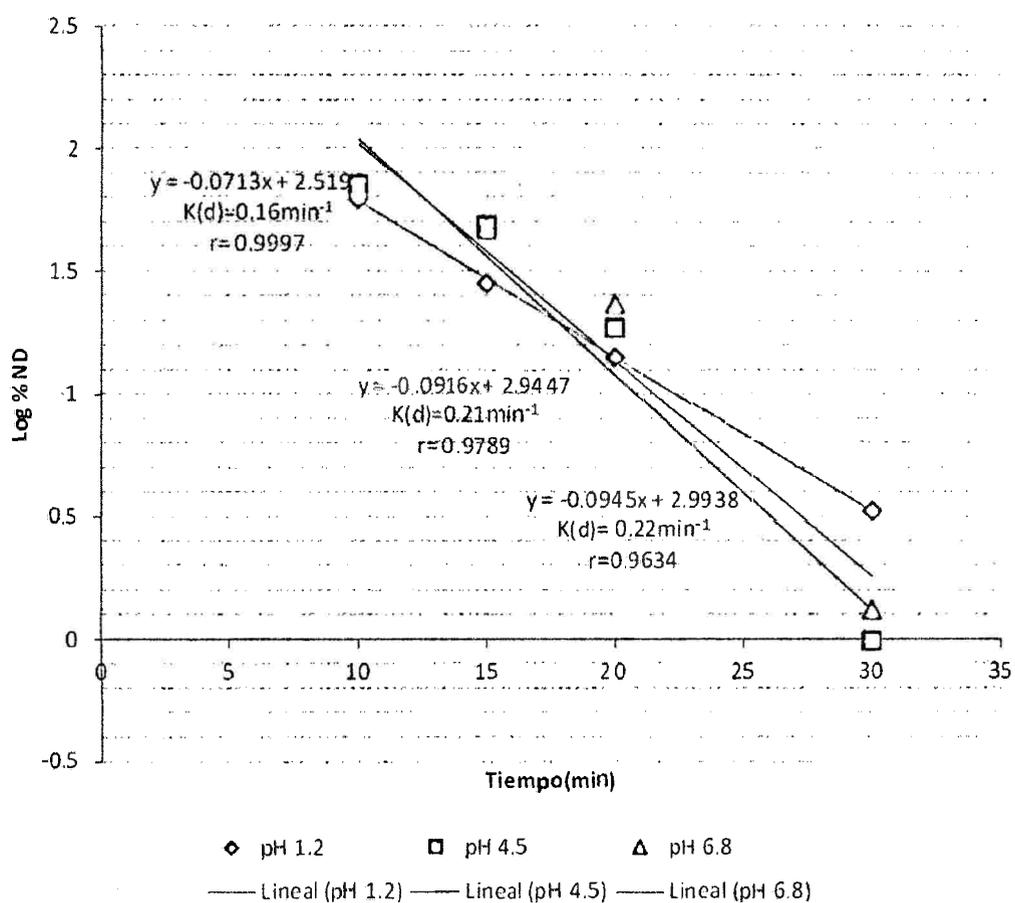
**ANEXO N° 15: Constante de disolución de los perfiles de disolución en cada uno de los tres medios de disolución a diferentes pH's. Ayacucho – 2012.**

<b>Medio de Disolución</b>	<b>Constante de disolución K(d)</b>	
	<b>atomoxetina (genérica)</b>	<b>Strattera® (innovador)</b>
<b>pH 1.2</b>	0.16 min <sup>-1</sup>	0.15 min <sup>-1</sup>
<b>pH 4.5</b>	0.21 min <sup>-1</sup>	0.22 min <sup>-1</sup>
<b>pH 6.8</b>	0.22 min <sup>-1</sup>	0.19 min <sup>-1</sup>

**ANEXO N° 16: Variación del porcentaje no disuelto de atomoxetina 40 mg genérica en función del tiempo, en cada uno del tres medios de disolución a pH's distintos. Ayacucho – 2012.**



**ANEXO N° 17: Variación del porcentaje no disuelto de Strattera 40 mg genérica en función del tiempo, en cada uno del tres medios de disolución a pH's distintos. Ayacucho–2012.**



**ANEXO N° 17: Equipo disolutor marca: Sotax modelo: SR7 Plus.**



**ANEXO N° 18: Muestras obtenidas luego de realizar las pruebas de disolución.**



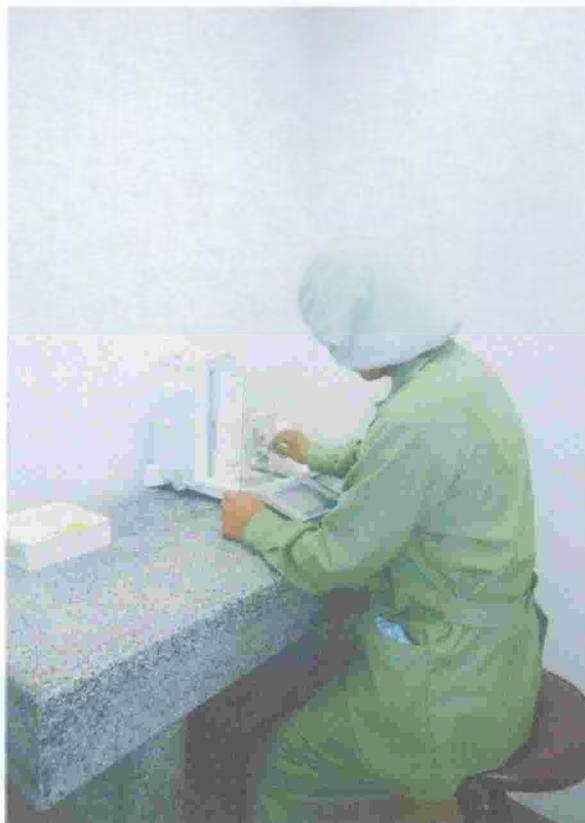
**ANEXO N° 19: Cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC).**



**ANEXO N° 20: Balanza analítica marca: Mettler Toledo.**



**ANEXO N° 21: Pesado de estándares en la balanza analítica.**



**ANEXO N° 22: Toma de muestras de luego del proceso de disolución.**



**ANEXO N° 23: Programación del Cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC).**

