
■ Capítulo 5

**El principio de Transitividad.
Métodos para comparar
perfiles de disolución**



Acorde a lo establecido en el Capítulo 1, el “Principio de Transitividad” entre medicamentos es la consecuencia (aunque no necesariamente deseable) de ensayar la bioequivalencia entre diversos productos respecto a un único producto de referencia, ya que si todos los productos ensayados demuestran su BE respecto a la referencia, se permite su comercialización y su consecuente intercambio, a pesar de que dichos intercambios no siempre serán entre una marca dada y la referencia, sino que pueden involucrar productos que no han probado ser BE entre sí. Esquemáticamente, esto significa que si B y C son BE con A, los tres podrán ser intercambiados indistintamente (A por B, A por C o B por C), a pesar de que B y C pueden no ser BE (Anderson & Hauck, 1996; Benet & Goyan, 1995; Midha et al., 1998).

En la primera parte de este capítulo (sección 5.1) se provee evidencia acerca de la falta de aplicabilidad general del principio de transitividad para definir la intercambiabilidad entre equivalentes farmacéuticos, sobre la base de una comparación exhaustiva de perfiles de disolución *in vitro* de distintos productos del mercado farmacéutico argentino. En esta primera sección, el análisis comparativo se hace mediante el cálculo del factor de similitud f_2 , por ser el método aceptado por las agencias regulatorias de la mayor parte del mundo.

La hipótesis fundamental en la cual se basó dicho análisis es que, al menos para drogas pertenecientes a la clase II del BCS (Amidon et al., 1995), para las cuales la velocidad de disolución en el medio biológico es el factor limitante de la velocidad final del proceso de absorción, hay una elevada probabilidad de que si no se demuestra similitud entre los perfiles de liberación *in vitro* de dos productos no se encuentre luego BE *in vivo*. Esto está de acuerdo con muchos estudios recientes que promueven la extensión del concepto de bioexención a drogas de las clases II y III del BCS.

En la segunda parte de este capítulo (sección 5.2) se analizan los diversos métodos existentes para la comparación de perfiles de disolución. Estos métodos pueden clasificarse en tres categorías:

- **Métodos independientes del modelo:** son aquellos que permiten comparar perfiles de disolución sin necesidad de ajustar los datos a un modelo preestablecido que los represente. Incluyen los métodos matemáticos de cálculo de índices de diferencia/similitud, como los factores f_1 y f_2 (Moore & Flanner, 1996) o los índices ξ_i de Rescigno (Rescigno, 1992), y la comparación de parámetros obtenidos a partir de los perfiles, como el área bajo la curva (ABC) y/o la eficiencia de disolución (ED).

- **Métodos estadísticos basados en ANAVA:** son aquellos que tratan al porcentaje disuelto como variable aleatoria y la someten a un análisis de varianza, tomando a

la formulación como única variable de clase (monofactorial) y comparando tiempo a tiempo, o considerando a la formulación y el tiempo (bifactorial) en forma simultánea, bajo la hipótesis nula de similitud. Sin embargo, su aplicación no es estrictamente correcta ya que se viola la hipótesis de independencia debido a la correlación entre el % Disuelto y el tiempo (O'Hara et al., 1998).

- **Métodos dependientes del modelo:** son aquellos que incluyen diferentes formas estadísticas de comparación de perfiles, con el denominador común de precisar, todas ellas, una etapa previa de modelado de los datos, de manera de ajustarlos a ecuaciones que describan su evolución temporal. El criterio de selección del modelo y la interpretación de sus parámetros son desventajas de estos métodos. Luego de ajustados, los datos pueden compararse de diversas maneras, tales como la prueba T^2 de Hotelling (Saranadasa, 2001) o mediante "regiones de similitud" (Sathe et al., 1996).

La clasificación anterior no pretende ser exhaustiva y es posible encontrar en la literatura otras propuestas aplicables a la comparación de perfiles de disolución (Adams et al., 2001; Bartoszyński et al., 2001; Berry & Likar, 2007; Crowder, 1996; Chow & Ki, 1997; Mauger et al., 1986). Sin embargo, se eligieron los métodos anteriormente descriptos por ser los más aplicados y discutidos en la bibliografía del tema.

Luego de presentarlos y explicarlos, en la sección 5.2 cada uno de estos métodos de cálculo se aplica a la comparación de perfiles de disolución, mientras que en la discusión correspondiente se analizan sus aplicaciones, ventajas y limitaciones. De esa manera, se intentó responder a lo planteado en la tercera y cuarta hipótesis:

El principio de transitividad, inevitablemente asociado a la prueba de bioequivalencia (BE) "Test (múltiples productos) vs. Referencia (un mismo producto)" no tiene validez, y por lo tanto no debería asumirse como cierto;

De los distintos métodos posibles para comparar perfiles de disolución, el factor de similitud f_2 ofrece la mejor performance cuando se trata de comparar diferentes productos de un mismo principio activo (distintas marcas), si bien por sus limitaciones es conveniente que se complemente con otro método.

Ensayos realizados

5.1 Análisis del principio de transitividad mediante perfiles de disolución *in vitro*

Descripción y objetivos

En esta sección se analizan comparativamente los perfiles de disolución de todos los productos farmacéuticos (marcas) disponibles en el mercado argentino conteniendo los principios activos Ranitidina, Furosemida, Ibuprofeno y Cefalexina. Para cada caso, los perfiles de disolución de todos los pares posibles de equivalentes farmacéuticos fueron comparados mediante el cálculo del factor de similitud f_2 (FDA/CDER, 1997). Dicho factor es proporcional al logaritmo de la inversa de la raíz cuadrada de la suma del error cuadrático, y es una medida de la similitud en el porcentaje de disolución entre dos curvas dadas:

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + (1/n) \sum_{t=t_1}^{t_n} (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

■ Ecuación 5-1

Donde R_t y T_t representan el % Disuelto al tiempo t para los productos Referencia (R) y Test (T), respectivamente. Dos productos se consideraron similares si sus perfiles de disolución resultaron similares, y dos perfiles de disolución se consideran similares cuando el valor del factor f_2 calculado entre ellos es mayor o igual a 50.

Si bien la falta de similitud *in vitro* (falta de similitud entre los perfiles de disolución de dos productos) no necesariamente refleja una diferencia *in vivo* (falta de bioequivalencia) se puede afirmar que al menos para cierta clase de drogas (las pertenecientes a la clase II del BCS: muy permeables, poco solubles) una diferencia significativa encontrada entre los perfiles de disolución va a significar en una biodisponibilidad diferente, ya que la disolución es la etapa limitante de la velocidad en el proceso de absorción.

Por lo tanto, el objetivo de este ensayo fue, en primer lugar, detectar si se producían desviaciones al principio de transitividad entre medicamentos conteniendo los principios activos seleccionados y, en segundo, lugar proponer soluciones a dicha situación en función del análisis de los resultados obtenidos.

Materiales y métodos

● Equipos y materiales

Todos los medicamentos ensayados (Ranitidina 300 mg, Furosemida 40 mg, Ibuprofeno 400 y 600 mg y Cefalexina 500 mg comprimidos) fueron adquiridos en farmacias locales. Las sustancias de referencia fueron encargadas al Instituto Nacional de Medicamentos (INAME, República Argentina). Los demás reactivos utilizados fueron grado analítico: fosfato de potasio monobásico, ácido clorhídrico e hidróxido de sodio.

En todos los casos se determinó el perfil de disolución de seis comprimidos de cada producto ensayado y la cantidad disuelta se determinó mediante espectrofotometría UV-Visible (*ver descripción de ambos equipos –disolutor y espectrofotómetro– en el Anexo I*).

● Ensayos de disolución

Se obtuvieron los perfiles de disolución de todas las marcas disponibles en el mercado farmacéutico argentino correspondientes a los siguientes productos: Ranitidina comprimidos 300 mg (21 marcas), Furosemida comprimidos 40 mg (11 marcas), Ibuprofeno comprimidos 400 mg (33 marcas), Ibuprofeno comprimidos 600 mg (12 marcas) y Cefalexina comprimidos 500 mg (17 marcas).

Todos los test de disolución se llevaron a cabo de acuerdo a las condiciones establecidas por la USP 31 (USP 31/NF 24, 2008). Antes de cada ensayo, el medio de disolución fue filtrado y desgasificado a través de una membrana de nylon de 0,45 μm de diámetro de poro. En todos los casos, la temperatura del baño se fijó en 37 ± 0.5 °C. A cada tiempo de muestreo, se tomaron 10 ml de cada vaso y se repusieron con 10 ml de medio fresco mantenido en las mismas condiciones. Las muestras así obtenidas se centrifugaron inmediatamente a 3500 rpm, se diluyeron adecuadamente y se leyeron espectrofotométricamente.

Todos los ensayos se realizaron sobre seis comprimidos de manera simultánea y para el análisis posterior se utilizaron los valores medios obtenidos para cada tiempo. La Tabla 5-1 resume las condiciones de los ensayos realizados para cada producto (para las dos dosis ensayadas de comprimidos de Ibuprofeno, 400 y 600 mg, se emplearon las mismas condiciones experimentales).

Tabla 5-1. Condiciones utilizadas para el ensayo de disolución de cada uno de los productos analizados de acuerdo con la USP 31 (USP 31/NF 24, 2008). Todos los ensayos se realizaron sobre seis comprimidos de manera simultánea a 37 ± 0.5 °C

	Medio de Disolución - Volumen	Aparato - Velocidad de agitación	Tiempos de muestreo	Cuantificación (λ , nm)
Ranitidina	Agua - 900 ml	2 (paleta) - 50 rpm	5, 15, 30, 45, 60 & 90 min	314 nm
Furosemida	Buffer fosfato pH 5,8 - 900 ml	2 (paleta) - 50 rpm	5, 15, 30, 45, 60 & 90 min	271 nm
Ibuprofeno	Bufferfosfato pH 7,2 - 900 ml	2 (paleta) - 50 rpm	5, 15, 30, 60 & 90 min	222 nm
Cefalexina	Agua - 900 ml	1 (canastillo, malla40) - 100 rpm	5, 15, 30, 45 & 60 min	262 nm

Para cada uno de los cuatro métodos espectrofotométricos empleados para la determinación del porcentaje disuelto se realizó un esquema abreviado de validación: se evaluó linealidad, precisión y especificidad para cada combinación medio/longitud de onda.

● **Análisis de los datos**

Acorde a lo establecido al inicio del presente capítulo, los perfiles de disolución se compararon en base al factor de similitud f_2 (FDA/CDER, 1997), y se consideraron similares todos aquellos pares para los que $f_2 \geq 50$. Los factores f_2 fueron calculados con todos los puntos de los perfiles de disolución hasta que en cada comparación el producto considerado “referencia” superaba el 85% disuelto, luego de lo cual se tomó un tiempo más como último punto. Por lo tanto, las matrices resultantes no fueron simétricas, ya que dependiendo de qué producto actuara como referencia, en cada par considerado (y se consideraron *todos* los pares posibles), fue distinto el número de puntos tomados para el cálculo del f_2 . O dicho de otra manera, para un par de productos dados se puede obtener distinto valor de f_2 cuando uno u otro es considerado referencia.

En el análisis de los resultados se consideraron dos tipos posibles de desviaciones al principio de transitividad: desviaciones de tipo I, correspondientes a dos productos B y C que, habiendo probado su similitud *in vitro* con el producto de referencia A (innovador o líder del mercado), no fueron similares entre ellos (f_{2BA} y $f_{2CA} \geq 50$, pero $f_{2CB} < 50$); y desviaciones de tipo II, correspondientes a la situación en la cual un producto dado C no es equivalente al producto de referencia A ($f_{2CA} < 50$) pero es, sin embargo, similar a otro producto B el cual sí resultó similar a la referencia A ($f_{2CB} \geq 50$ y $f_{2BA} \geq 50$).

De estas dos posibles situaciones, la desviación tipo I representa el mayor riesgo, ya que puede llevar a la sustitución del producto B por el producto –no similar– C (o viceversa) sobre la base de que ambos demostraron su bioequivalencia respecto al producto A. Sin embargo, B y C no son similares en términos de sus perfiles de disolución y, como ya se dijo, para ciertas drogas esto puede reflejar diferencias en su biodisponibilidad. La desviación tipo II sólo significa que dos productos que podrían ser intercambiables no se consideran para una potencial sustitución por no haber cumplido uno de ellos con la prueba de BE respecto al producto de referencia.

Por lo tanto, la desviación tipo I implica cierto grado de riesgo para la salud del paciente (un producto puede no ser tan efectivo o seguro como otro), mientras que la desviación tipo II sólo tiene implicancias económicas.

Resultados y discusión

La Tabla 5-2 muestra los resultados de las linealidades evaluadas para cada uno de los métodos espectrofotométricos empleados para la cuantificación de los porcentajes de droga disueltos. La especificidad se determinó para cada producto en particular, relacionando la absorbancia a dos longitudes de onda (λ) de la solución de referencia respecto a la solución muestra. Los datos no se muestran porque hay tantos resultados como marcas analizadas para cada producto, pero en todos los casos el método resultó ser específico para el producto analizado.

Otra verificación indirecta de la especificidad se realizó durante el ensayo de identificación: en cada caso, para cada marca se graficó la primera derivada del espectro de absorción y se superpuso dicha curva con la correspondiente de la solución de referencia. La superposición de los ceros entre ambas curvas se utilizó como criterio de identificación, además de corroborar la falta de interferencia por parte de los excipientes de la formulación.

■ **Tabla 5-2.** Resultado del ensayo de linealidad de cada uno de los métodos espectrofotométricos empleados para la cuantificación de los porcentajes de droga disueltos

	Rango ($\mu\text{g/ml}$)	Ordenada (a) [IC 95%]	Pendiente	R^2	Suma de residuales
<i>Ranitidina</i>	4,00 - 20,00	0,0032 [-0,0145 - 0,0498]	0,0440	0,9997	8,327.10 ⁻¹⁷
<i>Furosemida</i>	4,00 - 15,00	-0,0020 [-0,0231 - 0,0271]	0,0577	0,9994	2,770.10 ⁻¹⁶
<i>Ibuprofeno</i>	5,00 - 15,00	-0,0032 [-0,0266 - 0,0202]	0,0451	0,9990	-2,775.10 ⁻¹⁷
<i>Cefalexina</i>	8,00 - 34,00	0,0031 [-0,0179 - 0,0242]	0,0453	0,9997	2,220.10 ⁻¹⁶

La precisión del método y del sistema se evaluó como coeficiente de variación a tres niveles de concentración: el menor, medio y mayor de la curva de calibración. En todos los casos, la precisión del sistema resultó menor al 1% y la del método menor al 2%.

Las figuras que se presentan a continuación muestran los perfiles de disolución de los productos ensayados. Cada gráfico consta de dos partes: los gráficos más pequeños presentan los perfiles de disolución de todos los productos ensayados para cada droga;

mientras que los gráficos más grandes muestran ejemplos de desviaciones al principio de transitividad. En dichos ejemplos se muestran: el perfil de disolución del producto R (denotado por un asterisco), el perfil de un producto involucrado en una desviación de tipo I (denotado con el superíndice †) y los perfiles de los demás productos involucrados en la desviación con él (similares a R pero no al producto †).

En el caso de Ibuprofeno 600 mg (Figura 5-5), como no se observó ninguna desviación de tipo I, el gráfico muestra la única desviación de tipo II que se encontró. Por ejemplo, la Figura 5-1 muestra el perfil de disolución del producto de Ibuprofeno 400 mg denominado AB ($AB-Ibu4^{\dagger}$), junto al del producto de referencia ($A-Ibu4^*$) y los de todos los productos involucrados en desviaciones de tipo I con $AB-Ibu4^{\dagger}$ ($E-Ibu4$, $F-Ibu4$, $O-Ibu4$, $T-Ibu4$, $Y-Ibu4$, $AC-Ibu4$ y $AF-Ibu4$).

Cabe destacar que en todos los ejemplos presentados los perfiles involucrados en las desviaciones son, circunstancialmente, de productos que se disuelven bien en el medio considerado (más del 85% disuelto en los primeros 30 minutos). Esto es una consecuencia del hecho de que, en todos los casos, el producto de referencia se disolvió bien. Sin embargo, si para una droga dada el producto de referencia se hubiera disuelto en menor medida las desviaciones al principio de transitividad habrían involucrado productos con perfiles cercanos, es decir, de disolución más lenta. Esto es lógico ya que si recordamos las definiciones anteriores de desviaciones tipo I y II ambas implican que al menos uno de los dos productos genéricos involucrados en la desviación sea similar al producto de referencia.

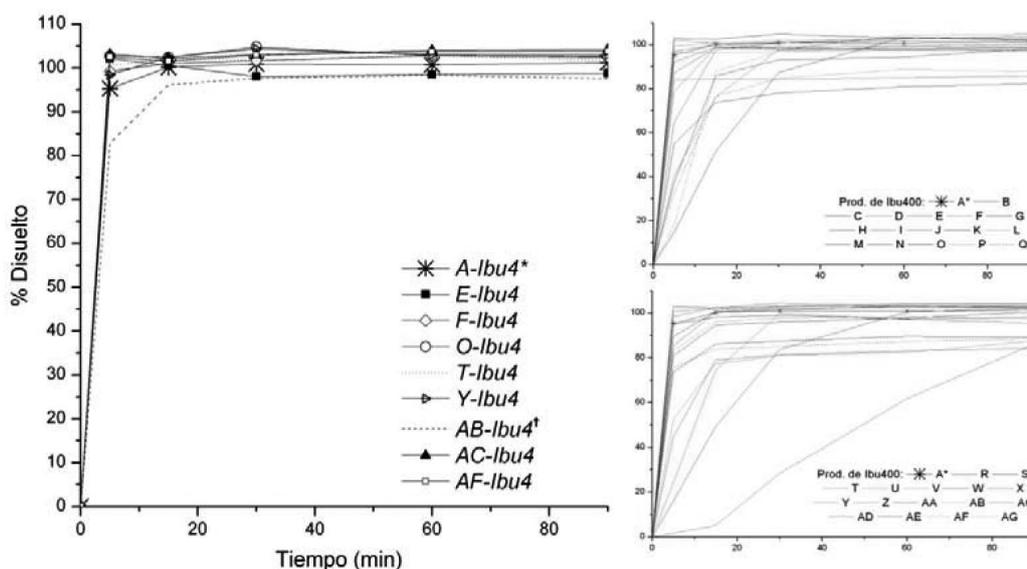


Figura 5-1. Perfiles de disolución de productos de Ibuprofeno 400 mg. A la derecha se muestran todos los productos ensayados y a la izquierda, más grande, un ejemplo de desviación del principio de transitividad. El asterisco denota al producto de referencia y el superíndice (†) al producto elegido, involucrado en una desviación de tipo I con todos los demás productos mostrados

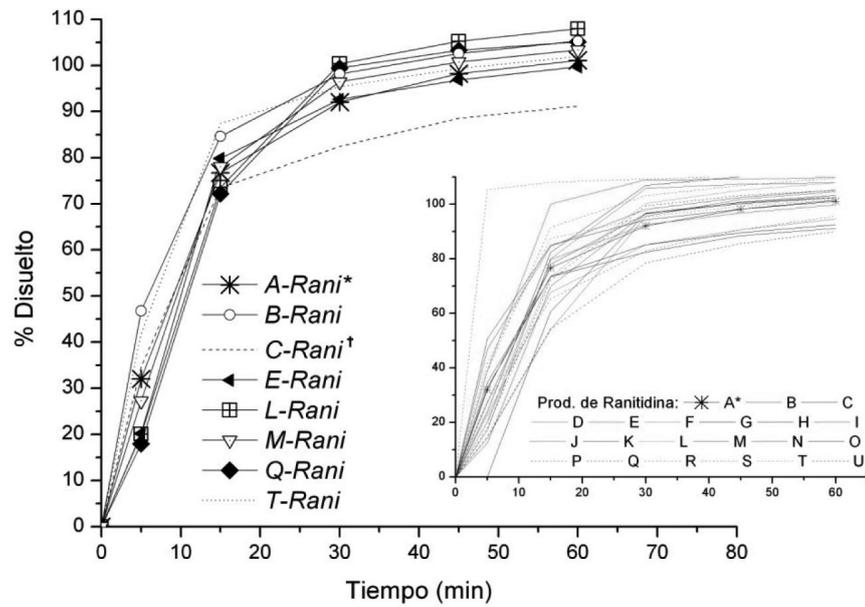


Figura 5-2. Perfiles de disolución de productos de Ranitidina 300 mg. A la derecha se muestran todos los productos ensayados y a la izquierda, más grande, un ejemplo de desviación del principio de transitividad. El asterisco denota al producto de referencia y el superíndice (†) al producto elegido, involucrado en una desviación de tipo I con todos los demás productos mostrados

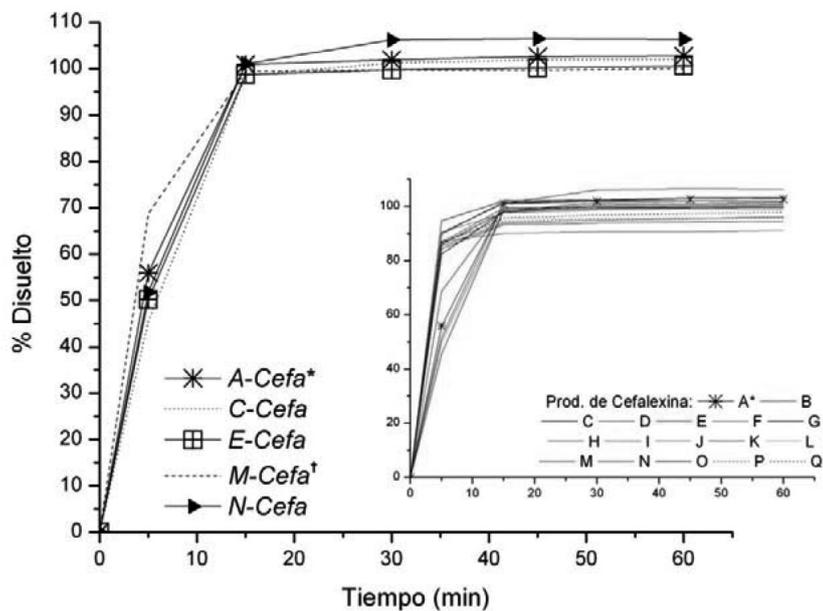


Figura 5-3. Perfiles de disolución de productos de Cefalexina 500 mg. A la derecha se muestran todos los productos ensayados y a la izquierda, más grande, un ejemplo de desviación del principio de transitividad. El asterisco denota al producto de referencia y el superíndice (†) al producto elegido, involucrado en una desviación de tipo I con todos los demás productos mostrados

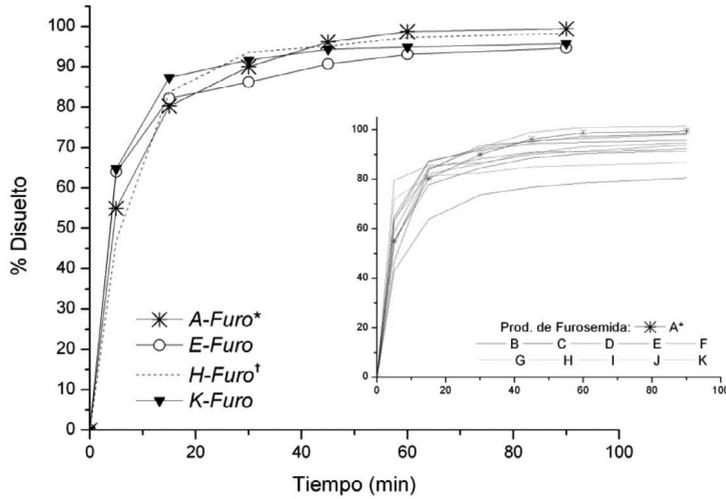


Figura 5-4. Perfiles de disolución de productos de Furosemida 40 mg. A la derecha se muestran todos los productos ensayados y a la izquierda, más grande, un ejemplo de desviación del principio de transitividad. El asterisco denota al producto de referencia y el superíndice (†) al producto elegido, involucrado en una desviación de tipo I con todos los demás productos mostrados

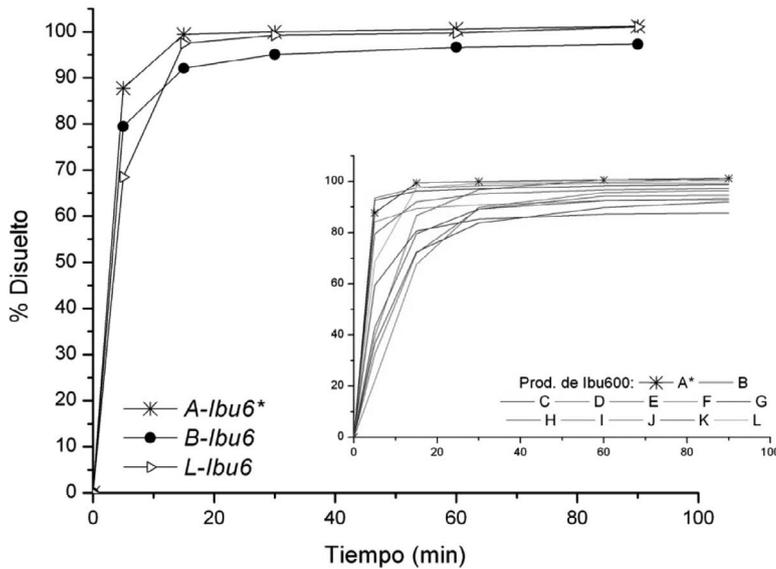


Figura 5-5. Perfiles de disolución de productos de Ibuprofeno 600 mg. A la derecha se muestran todos los productos ensayados y a la izquierda, más grande, un ejemplo de desviación del principio de transitividad. El asterisco denota al producto de referencia. Como para este producto no se encontraron desviaciones de tipo I, en el gráfico se presenta la única desviación de tipo II que se observó (el producto B es similar a A, mientras que L es similar a B pero no a A)

A continuación, las tablas desde la 5-3 hasta la 5-7 presentan los valores de los f_2 calculados para todos los pares de productos posibles. Como las tablas son de doble entrada, cada par de productos A-B se encuentra dos veces: la fila de A con la columna de B y luego la fila de B con la columna de A. El producto en la fila se consideró como referencia. De esta manera, se puede modificar ligeramente el valor del f_2 calculado

para un par dado, ya que para su cálculo se tomó solamente un punto más luego de que la referencia se disolvió el 85%, lo que puede modificarse según A o B sean considerados referencia. De todas maneras, en las tablas puede verse que en la mayoría de los casos esto no sucede y los resultados son simétricos. Esta forma de elegir la referencia es solamente para el cálculo del f_2 , ya que para la determinación posterior de las desviaciones se computaron los valores de dichos factores de similitud respecto a un único producto de referencia preestablecido.

La primera fila de cada tabla (indicada con el texto en negrita) corresponde al producto de referencia establecido por la autoridad sanitaria nacional (ANMAT). En el caso de productos para los cuales dicha autoridad no ha definido referencia se consideró como tal al producto líder del mercado. Las celdas blancas con borde negro denotan las desviaciones del principio de transitividad de tipo I, mientras que las celdas sombreadas de gris las de tipo II. Si bien sólo se ha considerado un producto de referencia (definido por ANMAT o el líder del mercado), si se consideraran otros productos como referencia surgirían más desviaciones al principio de transitividad.

Tabla 5-3. Comparación de los factores f_2 calculados para todos los pares posibles de productos de ibuprofeno 600 mg comprimidos. Las celdas con fondo gris denotan las desviaciones de tipo II al principio de transitividad

	<i>A-Ibu6*</i>	<i>B-Ibu6</i>	<i>C-Ibu6</i>	<i>D-Ibu6</i>	<i>E-Ibu6</i>	<i>F-Ibu6</i>	<i>G-Ibu6</i>	<i>H-Ibu6</i>	<i>I-Ibu6</i>	<i>J-Ibu6</i>	<i>K-Ibu6</i>	<i>L-Ibu6</i>
<i>A-Ibu6*</i>	100	57,6	23,0	71,0	26,9	54,4	70,3	26,8	22,0	18,5	33,5	47,5
<i>B-Ibu6</i>	57,6	100	27,6	52,3	31,6	69,3	54,4	32,2	26,3	22,1	41,9	56,2
<i>C-Ibu6</i>	27,9	32,8	100	26,8	48,6	32,0	27,4	64,5	69,9	54,4	47,7	34,6
<i>D-Ibu6</i>	71,0	52,3	21,6	100	24,8	53,7	91,0	25,0	20,6	17,3	31,6	41,9
<i>E-Ibu6</i>	26,9	31,6	47,5	24,8	100	29,1	25,2	59,9	49,2	40,6	43,1	37,2
<i>F-Ibu6</i>	54,4	69,3	26,5	53,7	29,1	100	56,7	30,4	25,0	21,0	40,4	47,3
<i>G-Ibu6</i>	70,3	54,4	22,2	91,0	25,2	56,7	100	25,6	21,1	17,7	32,5	42,6
<i>H-Ibu6</i>	29,7	35,2	62,3	28,0	58,0	33,5	28,6	100	59,1	45,8	52,3	38,6
<i>I-Ibu6</i>	25,0	29,4	68,5	23,7	51,0	28,1	24,2	59,1	100	62,0	41,5	32,0
<i>J-Ibu6</i>	21,6	25,2	52,7	20,4	43,3	24,1	20,8	45,8	62,0	100	34,5	27,5
<i>K-Ibu6</i>	35,2	43,5	45,6	33,8	43,1	43,1	34,8	52,3	41,5	34,5	100	43,6
<i>L-Ibu6</i>	47,5	56,2	30,0	41,9	37,2	47,3	42,6	36,0	29,1	24,5	43,1	100

*Producto de referencia, Ibupirac 600 mg, Lab. Pfizer

Tabla 5-4. Comparación de los factores f_2 calculados para todos los pares posibles de productos de ibuprofeno 400 mg comprimidos (primera parte). Las celdas blancas con borde negro marcan las desviaciones de tipo I del principio de transitividad y las celdas con fondo gris las desviaciones de tipo II. Las celdas negras con texto en blanco denotan los casos donde al menos un producto (de un par involucrado en una desviación de tipo I) presentó un valor de f_2 menor a 55, calculado respecto al producto de referencia. Notar que en 15 de los 27 errores tipo I que se observan en la tabla el valor de f_2 entre los productos B y C (es decir, los que fueron similares a la referencia A pero no entre ellos) es mayor a 45

A- Ibnd*	B- Ibnd	C- Ibnd	D- Ibnd	E- Ibnd	F- Ibnd	G- Ibnd	H- Ibnd	I- Ibnd	J- Ibnd	K- Ibnd	L- Ibnd	M- Ibnd	N- Ibnd	O- Ibnd	P- Ibnd	Q- Ibnd	R- Ibnd	S- Ibnd	T- Ibnd	U- Ibnd	V- Ibnd	W- Ibnd	X- Ibnd	Y- Ibnd	Z- Ibnd	AA- Ibnd	AB- Ibnd	AC- Ibnd	AD- Ibnd	AE- Ibnd	AF- Ibnd	AG- Ibnd	
100	77,3	22,9	23,0	67,8	79,5	25,5	92,6	41,4	50,4	13,0	73,6	65,0	37,5	64,4	17,1	20,0	61,3	86,1	73,3	18,0	25,9	38,7	12,8	75,1	2,8	51,3	55,3	65,3	23,7	72,8	67,3	38,9	
B-Ibnd	77,3	100	24,3	24,3	61,2	65,3	72,6	45,2	55,0	13,8	75,3	75,7	39,8	55,6	18,1	21,3	64,9	63,4	61,9	19,0	27,7	42,2	13,7	62,2	3,5	57,4	62,3	56,7	25,3	76,8	57,9	41,4	
C-Ibnd	22,9	24,3	100	59,8	20,7	21,5	22,3	28,1	29,8	31,0	23,0	26,2	37,5	20,1	46,8	55,6	26,5	23,2	21,0	48,4	45,7	33,6	30,1	21,5	10,0	29,5	28,3	20,1	52,4	24,9	20,4	32,4	
D-Ibnd	26,1	27,2	56,5	100	23,8	24,7	38,4	25,5	29,9	32,4	36,5	26,2	29,0	39,3	23,4	44,4	48,2	29,5	26,3	24,1	35,3	41,1	35,3	24,7	12,0	32,3	23,2	43,3	28,0	23,6	34,0		
E-Ibnd	67,8	61,2	20,7	20,8	100	77,0	72,6	39,5	43,1	11,7	68,1	52,8	33,1	68,9	15,4	18,2	49,7	67,4	78,6	16,2	23,9	35,5	11,6	67,4	2,4	44,5	47,0	74,5	21,7	55,9	75,5	35,3	
F-Ibnd	79,5	65,3	21,5	21,6	77,0	100	87,2	39,1	45,8	12,1	68,3	56,7	34,8	76,0	16,1	18,8	54,5	73,0	92,4	16,9	24,3	36,1	12,0	84,1	2,4	46,5	49,6	78,7	22,2	62,2	82,1	35,6	
G-Ibnd	28,5	30,7	41,3	36,9	27,5	26,9	100	27,6	42,1	33,3	30,2	31,8	34,9	25,6	32,1	47,4	29,9	29,9	26,6	35,7	72,2	45,9	30,8	26,5	17,1	34,6	33,8	25,4	62,7	29,2	25,7	46,9	
H-Ibnd	92,6	72,6	22,3	22,4	72,6	87,2	100	40,9	48,4	12,7	74,4	61,3	36,3	67,8	16,7	19,6	58,0	83,5	78,9	17,5	25,4	37,9	12,5	77,6	2,7	49,4	53,0	69,4	23,1	67,5	71,8	37,3	
I-Ibnd	40,9	45,2	32,5	30,9	41,0	38,6	42,1	100	43,8	22,1	45,4	45,3	39,1	36,6	25,1	31,7	40,2	44,3	38,2	27,0	41,8	62,6	22,4	37,5	11,9	47,2	47,2	36,3	37,5	40,4	36,8	68,5	
J-Ibnd	50,4	55,0	29,8	29,4	43,1	45,8	48,4	45,0	100	16,6	48,9	64,6	54,4	41,9	22,4	25,6	66,8	50,9	44,4	23,1	32,6	48,9	16,4	46,0	4,5	72,3	74,0	41,9	30,1	59,0	42,5	45,8	
K-Ibnd	16,1	16,9	33,6	36,5	14,8	15,2	15,8	20,1	19,7	100	16,4	17,9	23,0	14,3	36,1	38,3	18,0	16,4	14,9	42,2	29,8	22,8	77,5	15,1	18,1	20,0	19,2	14,3	31,9	17,2	14,5	22,5	
L-Ibnd	73,6	75,3	23,0	23,2	68,1	68,3	26,6	45,2	48,9	13,3	100	62,3	36,7	58,0	17,0	20,4	55,9	85,0	64,7	18,0	26,8	40,6	13,3	62,0	3,4	52,1	55,2	59,9	24,2	63,4	61,4	40,3	
M-Ibnd	65,0	75,7	26,2	26,1	52,8	56,7	28,8	46,0	64,6	14,8	62,3	100	44,1	50,1	19,6	22,8	76,8	66,5	54,3	20,4	29,5	45,1	14,7	55,9	3,8	66,1	75,1	50,5	27,0	80,0	51,4	45,5	
N-Ibnd	37,5	39,8	37,5	36,2	33,1	34,8	35,0	36,3	39,0	19,8	36,7	44,1	100	32,6	27,8	31,0	45,8	37,7	34,0	28,5	37,4	47,1	19,4	35,1	5,7	50,1	48,4	32,4	35,6	41,9	32,8	43,4	
O-Ibnd	64,4	55,6	20,1	20,2	68,9	76,0	22,3	67,8	35,8	11,2	58,0	50,1	32,6	100	15,0	17,5	49,5	60,4	80,6	15,8	22,6	33,1	11,1	78,2	1,7	42,1	44,7	91,8	20,7	54,8	90,6	32,7	
P-Ibnd	17,1	18,1	46,8	41,8	15,4	16,1	16,7	20,5	22,4	33,1	17,0	19,6	27,8	15,0	100	44,4	20,0	17,3	15,7	52,9	32,1	24,2	31,4	16,2	10,1	21,8	21,1	15,0	36,4	18,8	15,2	23,4	
Q-Ibnd	24,8	26,4	54,8	45,4	23,4	23,5	47,4	24,2	31,7	30,2	39,0	25,5	34,4	22,3	45,3	100	27,1	25,6	23,1	51,3	51,3	36,2	39,1	23,3	17,5	30,4	29,6	22,2	59,5	26,1	22,4	35,5	
R-Ibnd	61,3	64,9	26,5	26,4	49,7	54,5	28,1	58,0	42,4	66,8	14,9	55,9	45,8	49,5	20,0	22,8	100	60,2	52,5	20,8	28,9	42,9	14,6	55,5	3,6	61,8	68,8	49,2	26,7	78,1	50,1	41,1	
S-Ibnd	86,1	83,4	23,2	23,4	67,4	73,0	26,3	85,5	43,7	50,9	13,3	85,0	37,7	60,4	17,3	20,4	60,2	100	68,0	18,2	26,6	40,2	13,2	67,2	3,2	53,1	57,0	61,8	24,2	70,5	63,5	39,6	
T-Ibnd	73,3	61,9	21,0	21,0	78,6	92,4	23,4	78,9	38,0	11,7	64,7	54,3	34,0	80,6	15,7	18,3	52,5	68,0	100	16,4	23,7	35,1	11,6	82,6	2,2	44,9	47,8	85,5	21,7	59,3	88,2	34,6	
U-Ibnd	21,1	22,1	51,3	52,5	19,3	19,9	34,4	20,6	24,8	26,2	42,2	21,2	23,6	18,9	55,8	50,5	23,8	21,4	19,5	100	36,6	28,9	40,3	20,0	13,4	26,0	25,2	18,8	40,2	22,6	19,0	28,0	
V-Ibnd	29,6	31,8	46,3	40,4	28,3	27,9	72,2	28,6	41,8	35,3	31,3	31,0	33,2	37,9	26,4	34,9	51,3	31,5	30,8	27,5	38,5	100	47,5	16,4	36,4	35,4	26,3	70,3	30,6	26,6	47,6		
W-Ibnd	38,7	42,2	33,6	33,9	35,5	36,1	42,4	37,9	59,8	48,9	20,1	40,6	45,1	47,1	33,1	30,7	42,9	40,2	35,1	26,0	42,9	100	20,1	35,3	7,3	54,4	50,3	33,5	37,7	41,5	34,0	81,3	
X-Ibnd	18,4	19,2	35,4	37,8	17,2	17,5	30,8	18,1	22,4	21,9	79,6	18,8	20,2	25,0	16,6	36,9	39,1	20,2	18,7	17,2	42,3	31,8	25,0	100	15,0	19,3	19,8	19,1	14,2	32,4	17,0	14,4	22,7
Y-Ibnd	75,1	62,2	21,5	21,6	67,4	84,1	23,6	77,6	37,5	46,0	12,0	62,0	55,9	78,2	16,2	18,7	55,5	67,2	82,6	16,9	24,0	35,3	11,9	100	2,1	45,8	49,0	76,0	22,0	62,6	78,2	34,6	
Z-Ibnd	7,6	8,3	14,5	14,2	7,3	7,1	17,1	7,4	11,9	9,2	20,2	8,2	8,7	10,2	6,5	14,3	17,5	8,1	6,9	15,7	16,4	12,3	21,4	6,8	100	9,7	9,3	6,5	16,9	7,9	6,6	12,7	
AA-Ibnd	51,3	57,4	29,5	29,5	44,5	46,5	32,9	49,4	51,6	72,3	16,9	52,1	66,1	50,1	42,1	21,8	25,8	61,8	53,1	44,9	22,9	33,8	54,4	16,7	45,8	5,0	100	84,9	42,4	30,7	58,1	51,4	
AB-Ibnd	55,3	62,3	28,3	28,3	47,0	49,6	31,3	53,0	49,2	74,0	16,2	55,2	75,1	48,4	44,7	21,1	24,7	68,8	57,0	47,8	22,1	32,1	50,3	16,0	49,0	4,6	84,9	100	44,9	29,3	64,2	47,9	
AC-Ibnd	65,3	56,7	20,1	20,2	74,5	78,7	22,5	69,4	36,4	41,9	11,2	59,9	50,5	32,4	91,8	15,0	17,5	49,2	61,8	85,5	15,8	22,8	33,5	11,1	76,0	1,8	42,4	44,9	100	20,8	54,8	97,4	33,1
AD-Ibnd	27,5	29,5	48,8	40,9	26,2	25,9	62,7	26,6	37,5	33,1	32,9	28,6	30,8	36,3	24,6	37,6	59,5	29,5	28,5	41,4	70,3	42,5	33,3	25,6	16,9	33,7	32,9	24,4	100	23,0	19,2	36,7	
AE-Ibnd	72,8	76,8	24,9	24,9	55,9	62,2	27,1	67,5	42,6	59,0	14,0	63,4	80,0	41,9	54,8	18,8	21,6	78,1	70,5	59,3	19,6	27,7	41,5	13,9	62,6	3,3	58,1	64,2	54,8	25,4	100	55,9	40,2
AF-Ibnd	67,3	57,9	20,4	20,5	75,5	82,1	22,8	71,8	36,9	42,5	11,4	51,4	51,4	32,8	90,6	15,2	17,8	50,1	63,5	88,2	16,0	23,1	34,0	11,3	78,2	2,0	43,1	45,7	97,4	21,0	55,9	100	33,6
AG-Ibnd	39,1	42,8	35,1	34,0	37,3	36,6	45,1	38,0	67,3	45,8	22,5	42,0	44,5	43,0	34,2	26,1	33,1	40,8	41,4	35,8	28,0	45,2	81,2	22,7	35,7	10,3	50,6	47,9	34,3	40,0	40,1	34,7	100

*Producto de referencia, Ibuprinc 400 mg, Lab. Pfizer

Tabla 5-5. Comparación de los factores f_2 calculados para todos los pares posibles de productos de Ranitidina 300 mg comprimidos. Las celdas blancas con borde negro marcan las desviaciones de tipo I del principio de transitividad y las celdas con fondo gris las desviaciones de tipo II. Las celdas negras con texto en blanco denotan los casos donde al menos un producto (de un par involucrado en una desviación de tipo I) presentó un valor de f_2 menor a 55, calculado respecto al producto de referencia. Notar que en 12 de los 27 errores tipo I que se ven en la tabla el valor de f_2 entre los productos B y C (es decir, los que fueron similares a la referencia A pero no entre ellos) es mayor a 45

	A-Rani*	B-Rani	C-Rani	D-Rani	E-Rani	F-Rani	G-Rani	H-Rani	I-Rani	J-Rani	K-Rani	L-Rani	M-Rani	N-Rani	O-Rani	P-Rani	Q-Rani	R-Rani	S-Rani	T-Rani	U-Rani
A-Rani*	100	51,7	57,1	41,8	60,2	54,1	37,2	49,3	39,9	47,4	48,3	54,1	71,7	48,4	61,8	53,4	53,0	19,2	48,2	56,2	38,6
B-Rani	50,0	100	44,0	29,4	39,9	36,6	25,9	73,9	46,3	37,4	42,3	38,8	46,1	33,3	44,6	37,2	37,0	21,6	58,4	70,8	27,8
C-Rani	57,1	43,6	100	38,6	49,3	58,1	34,3	45,1	33,3	37,6	37,5	42,2	49,3	41,6	84,3	62,6	42,6	18,3	38,9	46,9	42,7
D-Rani	41,8	32,6	38,6	100	43,4	47,6	55,0	31,0	28,3	42,2	39,1	48,8	43,2	54,5	40,2	45,7	51,2	13,6	32,1	33,2	46,2
E-Rani	60,2	42,5	49,3	43,4	100	55,0	42,5	40,4	38,2	53,2	50,0	59,0	66,6	57,9	53,0	49,8	60,3	16,8	43,9	46,7	39,9
F-Rani	54,1	38,3	58,1	47,6	55,0	100	42,6	37,9	31,3	41,3	39,3	47,8	51,1	51,3	61,6	75,1	49,7	15,7	36,3	40,8	52,5
G-Rani	37,2	29,0	34,3	55,0	42,5	42,6	100	27,5	27,1	42,3	37,6	45,4	39,6	55,4	35,9	39,4	48,2	11,7	29,9	30,3	42,4
H-Rani	46,2	73,9	43,7	28,0	37,3	35,3	24,4	100	42,8	34,2	38,2	35,8	42,4	31,1	43,5	36,4	34,4	22,6	51,4	63,2	27,1
I-Rani	38,2	46,3	33,0	25,3	36,5	30,0	24,2	42,8	100	38,2	43,5	35,5	39,5	30,8	34,0	29,2	33,9	20,7	60,8	48,0	23,0
J-Rani	46,2	37,4	38,1	39,5	55,1	42,2	39,9	34,2	38,2	100	68,5	63,8	54,6	53,9	40,7	38,6	61,1	13,6	42,3	39,8	33,1
K-Rani	49,2	42,3	39,3	36,7	52,9	40,9	35,4	38,2	43,5	68,5	100	58,3	57,9	47,1	42,0	38,2	54,3	15,4	49,2	44,9	31,2
L-Rani	54,1	41,8	42,2	48,8	59,0	47,8	45,4	38,4	38,5	66,2	59,6	100	63,9	64,1	45,0	44,8	85,4	16,7	44,1	43,5	37,5
M-Rani	71,7	49,1	49,3	43,2	66,6	51,1	39,6	45,4	41,7	55,5	55,9	63,9	100	53,5	53,0	48,7	61,4	18,5	49,9	52,9	37,4
N-Rani	48,4	36,4	41,6	54,5	57,9	51,3	55,4	34,2	33,4	54,9	48,0	64,1	53,5	100	44,2	46,5	71,9	14,7	37,7	38,3	42,2
O-Rani	61,8	44,5	84,3	40,2	53,0	61,6	35,9	45,3	34,3	39,8	39,5	45,0	53,0	44,2	100	64,5	45,4	18,2	40,2	48,1	43,1
P-Rani	53,4	38,9	62,6	45,7	49,8	75,1	39,4	38,9	30,7	38,6	37,5	44,8	48,7	46,5	64,5	100	46,0	16,3	35,7	40,9	52,0
Q-Rani	53,0	40,1	42,6	51,2	60,3	49,7	48,2	37,3	36,7	62,6	55,2	85,4	61,4	71,9	45,4	46,0	100	16,1	41,9	42,0	39,2
R-Rani	16,3	21,6	15,9	10,5	13,9	13,0	8,7	22,6	20,7	13,6	15,4	13,7	15,6	11,7	15,7	13,6	13,1	100	20,1	20,2	9,9
S-Rani	47,0	58,4	39,7	29,1	42,5	35,4	27,0	51,4	60,8	42,3	49,2	41,0	47,9	34,9	41,0	34,7	39,0	20,1	100	63,1	26,7
T-Rani	53,2	70,8	46,5	30,2	43,8	38,6	27,2	63,2	48,0	39,8	44,9	41,0	50,0	35,2	47,5	38,7	39,1	20,2	63,1	100	28,8
U-Rani	38,6	29,6	42,7	46,2	39,9	52,5	42,4	29,5	24,5	33,1	31,1	37,5	37,4	42,2	43,1	52,0	39,2	12,5	28,0	31,0	100

*Producto de referencia, Zantac 300 mg, Lab. GlaxoSmithKline

Tabla 5-6. Comparación de los factores f_2 calculados para todos los pares posibles de productos de Cefalexina 500 mg comprimidos. Las celdas blancas con borde negro marcan las desviaciones de tipo I del principio de transitividad y las celdas con fondo gris las desviaciones de tipo II. Notar que en dos de los tres errores tipo I que se ven en la tabla el valor de f_2 entre los productos B y C (es decir, los que fueron similares a la referencia A pero no entre ellos) es mayor a 45

	A-Cefa*	B-Cefa	C-Cefa	D-Cefa	E-Cefa	F-Cefa	G-Cefa	H-Cefa	I-Cefa	J-Cefa	K-Cefa	L-Cefa	M-Cefa	N-Cefa	O-Cefa	P-Cefa	Q-Cefa
A-Cefa*	100	37,7	60,1	34,8	70,5	34,8	37,8	32,5	37,3	37,3	40,5	35,5	55,9	72,3	35,1	36,2	37,1
B-Cefa	37,7	100	31,9	74,8	34,7	64,3	65,3	51,5	93,2	64,1	68,0	55,7	49,3	34,3	55,7	81,7	78,4
C-Cefa	60,1	31,9	100	29,8	75,9	29,3	31,5	27,3	31,5	31,1	33,5	29,6	43,5	65,4	29,3	30,6	31,1
D-Cefa	34,8	74,8	29,8	100	32,4	59,0	56,6	48,7	72,4	56,1	56,9	50,7	44,2	31,7	50,9	70,2	65,6
E-Cefa	70,5	34,7	75,9	32,4	100	31,7	34,2	29,4	34,2	33,7	36,5	32,0	48,4	69,0	31,7	33,2	33,8
F-Cefa	34,8	64,3	29,3	59,0	31,7	100	76,8	68,1	68,4	79,0	66,3	73,0	44,9	32,1	74,3	74,7	76,8
G-Cefa	37,8	65,3	31,5	56,6	34,2	76,8	100	62,3	69,1	93,2	80,7	73,6	49,8	34,8	73,4	71,7	78,2
H-Cefa	32,5	51,5	27,3	48,7	29,4	68,1	62,3	100	53,7	64,4	55,5	75,8	40,9	30,2	77,8	56,7	58,0
I-Cefa	37,3	93,2	31,5	72,4	34,2	68,4	69,1	53,7	100	67,7	70,3	58,3	48,8	34,0	58,4	90,2	86,1
J-Cefa	37,3	64,1	31,1	56,1	33,7	79,0	93,2	64,4	67,7	100	77,2	77,5	49,0	34,3	76,7	70,8	76,7
K-Cefa	40,5	68,0	33,5	56,9	36,5	66,3	80,7	55,5	70,3	77,2	100	64,3	54,7	36,9	63,6	69,3	75,0
L-Cefa	35,5	55,7	29,6	50,7	32,0	73,0	73,6	75,8	58,3	77,5	64,3	100	45,4	32,8	98,0	61,2	64,1
M-Cefa	55,9	49,3	43,5	44,2	48,4	44,9	49,8	40,9	48,8	49,0	54,7	45,4	100	48,8	45,0	47,2	48,7
N-Cefa	72,3	34,3	65,4	31,7	69,0	32,1	34,8	30,2	34,0	34,3	36,9	32,8	48,8	100	32,5	33,1	33,9
O-Cefa	35,1	55,7	29,3	50,9	31,7	74,3	73,4	77,8	58,4	76,7	63,6	98,0	45,0	32,5	100	61,5	64,2
P-Cefa	36,2	81,7	30,6	70,2	33,2	74,7	71,7	56,7	90,2	70,8	69,3	61,2	47,2	33,1	61,5	100	91,7
Q-Cefa	37,1	78,4	31,1	65,6	33,8	76,8	78,2	58,0	86,1	76,7	75,0	64,1	48,7	33,9	64,2	91,7	100

*Producto de referencia, Cefalexina Argentina 500 mg, Lab. Nova Argentina

Tabla 5-7. Comparación de los factores f_2 calculados para todos los pares posibles de productos de Furosemida 40 mg comprimidos. Las celdas blancas con borde negro marcan las desviaciones de tipo I del principio de transitividad y las celdas con fondo gris las desviaciones de tipo II. Notar que en los dos errores tipo I que se ven en la tabla el valor de f_2 entre los productos B y C (es decir, los que fueron similares a la referencia A pero no entre ellos) es mayor a 45

	A-Furo*	B-Furo	C-Furo	D-Furo	E-Furo	F-Furo	G-Furo	H-Furo	I-Furo	J-Furo	K-Furo
A-Furo*	100	71,9	41,0	77,0	61,6	48,4	72,1	62,9	60,4	41,6	57,4
B-Furo	71,9	100	38,0	69,8	71,6	53,3	64,7	56,1	71,0	45,8	67,6
C-Furo	38,2	39,9	100	35,5	39,1	39,2	45,6	37,9	35,1	33,2	35,2
D-Furo	77,0	69,8	38,1	100	57,5	45,8	60,8	69,3	62,7	40,7	58,7
E-Furo	61,6	71,6	37,5	57,5	100	64,3	61,4	48,4	66,7	51,7	67,5
F-Furo	48,4	53,3	34,6	45,8	64,3	100	50,0	40,0	53,6	62,5	55,8
G-Furo	65,3	67,0	45,4	56,5	64,0	52,5	100	55,9	54,8	44,4	54,1
H-Furo	62,9	56,1	39,1	69,3	48,4	40,0	55,1	100	51,3	35,7	48,8
I-Furo	60,4	71,0	34,1	62,7	66,7	53,6	53,9	51,3	100	49,4	90,2
J-Furo	41,6	45,8	29,4	40,7	51,7	62,5	41,4	35,7	49,4	100	51,9
K-Furo	57,4	67,6	33,5	58,7	67,5	55,8	52,4	48,8	90,2	51,9	100

*Producto de referencia, Lasix 40 mg, Lab. Sanofi-Aventis

Como se observa en las tablas anteriores, se encontraron numerosas desviaciones al principio de transitividad (59 de tipo I y 35 de tipo II). Para el análisis de los resultados se empleó una matriz de $n_i \times n_i$ representando las entradas de la tabla correspondiente al producto i , siendo n_i el número de marcas disponibles en el mercado para dicho producto. Para cada tabla, el porcentaje de desviaciones al principio de transitividad puede calcularse según la siguiente expresión:

$$\% \text{ Total de desviaciones} = \frac{\sum_i \text{Número de desviaciones}}{\sum_i \left[\frac{n_i^2 - n_i}{2} - (n_i - 1) \right]} \times 100$$

■ Ecuación 5-2

En dicha ecuación, $(n_i^2 - n_i)/2$ es el número de elementos debajo de la diagonal (en general, si el elemento x_{kj} se marca como una excepción, también lo será x_{jk} ; y carecen de interés aquellos casos en los que $j = k$, es decir, los pares de la diagonal). Del denominador de la Ecuación 5-2 también se restan los $(n_i - 1)$ elementos debajo de la diagonal que corresponden a la comparación entre un producto dado y la referencia, ya que no tiene sentido hablar de principio de transitividad cuando la referencia es uno de los productos comparados. Por lo tanto, el % calculado de desviaciones de tipo I es 6,5% y el de tipo II es 3,9% (sobre el total de comparaciones posibles).

Si se observan muchas excepciones al principio de transitividad *in vitro*, mediante comparaciones de perfiles de disolución, es altamente probable que surjan desviaciones en los estudios de bioequivalencia *in vivo*, al menos para aquellas drogas en las cuales la disolución es la etapa limitante de la velocidad del proceso de absorción (clase II del BCS, por ejemplo Ibuprofeno, y algunas de clase IV). También resulta interesante notar que aproximadamente el 75% de las desviaciones de tipo I encontradas (44 de 59) incluyeron al menos un producto cuyo valor de f_2 respecto al producto de referencia (denotado en las tablas mediante celdas negras con texto en blanco) estaba por debajo

de 55 (es decir, cerca del valor límite 50), mientras que en el 53% de las desviaciones de tipo I los productos B y C (es decir, los dos que son similares a la referencia A pero no entre sí) presentaron –entre ellos– un valor de f_2 mayor a 45.

Por lo tanto, aumentar el valor límite de la especificación a 55 evitaría el 75% de las desviaciones observadas (con un costo adicional para los productores, ya que aumenta la exigencia de similitud), mientras que disminuir el valor límite a, por ejemplo, 45 evitaría el 53% de las desviaciones. Esta última flexibilización de la especificación debería ser cuidadosamente analizada ya que podría tener consecuencias en la seguridad de los pacientes. Este punto se analizará con más detalle en la sección 5.2.

Por otro lado, también es interesante destacar que muchas de estas desviaciones se han encontrado en drogas que se han propuesto como candidatas para bioexenciones (o a las que ya se ha eximido de estudios *in vivo*), tales como Ibuprofeno (Potthast et al., 2005; Yazdanian et al., 2004) y Ranitidina (Kortejarvi et al., 2005).

5.2 Análisis de los métodos utilizados para comparar perfiles de disolución

Descripción y objetivos

En la sección anterior, y con el objetivo de evaluar la transitividad entre distintos productos, se han comparado perfiles de disolución empleando el factor de similitud f_2 . Se hizo así ya que actualmente éste es el método de comparación sugerido por la mayoría de las autoridades sanitarias (ANMAT, 2009; FDA/CDER, 2000). Sin embargo, se puede encontrar en la literatura una gran variedad de métodos para realizar dichas comparaciones, y no existe acuerdo acerca de cuál es el más conveniente para todos los casos (O'Hara et al., 1998; Polli et al., 1996).

Por lo tanto, el objetivo de este ensayo fue, utilizando los perfiles de disolución obtenidos en la sección 2.2 para comprimidos de OxCBZ, comparar la performance de distintos métodos para comparar dichos perfiles, tanto para determinar si producen resultados coincidentes, como para analizar los alcances de su aplicación (además de la relación beneficios/limitaciones). Por otro lado, también se evaluó la relación entre los resultados anteriores con el desempeño *in vivo*, ya que la autoridad sanitaria declara que dichos comprimidos son bioequivalentes al producto de referencia (ANMAT, 2011).

Posteriormente, y empleando los datos de CBZ de la sección 2.1, se ensayaron los mismos métodos de comparación de perfiles que para OxCBZ. Como en el caso de CBZ se cuenta con los datos *in vivo* y se intentó correlacionar cualitativamente los resultados *in vitro*/*in vivo*.

Materiales y métodos

Los ensayos de disolución (equipos, condiciones, medios de disolución) son los descritos en las secciones 2.1 y 2.2 para comprimidos de Carbamazepina y Oxcarbazepina, respectivamente. Para la comparación de perfiles se emplearon únicamente los datos correspondientes al medio de disolución Lauril Sulfato de Sodio (LSNa) 1%, por ser el único donde todos los productos (de ambas drogas) lograban su completa disolución.

Análisis de los datos

Los perfiles de disolución obtenidos en LSNa 1% para los productos de OxCBZ y CBZ se analizaron de la siguiente manera:

● Métodos independientes del modelo

Se calculó el factor de similitud f_2 y el de diferencia f_1 (Moore & Flanner, 1996) para todos los pares posibles de productos considerados. La Ecuación 5-1 describe cómo se calcula el factor f_2 , mientras que el f_1 se presenta en la Ecuación 5-3 (R_t y T_t son los porcentajes disueltos promedio al tiempo t).

$$f_1 = \left\{ \frac{\sum_{t=t_1}^{t_n} (R_t - T_t)}{\sum_{t=t_1}^{t_n} R_t} \right\} \times 100$$

■ Ecuación 5-3

El cálculo del factor f_2 se llevó a cabo de la manera recomendada por la FDA (FDA/CDER, 1997), es decir, tomando los promedios disueltos a cada tiempo, y también de la forma propuesta por Costa (Costa, 2001), que consiste en calcular el f_2 para todos los pares posibles considerando de manera individual cada comprimido de los dos productos que se desea comparar. De esta manera, si se ensayaron 6 comprimidos de cada marca, se tendrán 36 valores de f_2 , de los que se calcula luego el promedio y la desviación estándar. Los perfiles se consideraron similares si el valor del f_2 entre ellos fue mayor o igual a 50, y el f_1 menor a 15 (FDA/CDER, 1997).

También se calcularon los índices ξ_i de Rescigno, los que fueron inicialmente desarrollados y aplicados para la comparación de perfiles plasmáticos concentración vs. tiempo (Rescigno, 1992). La expresión general de estos índices para la comparación de perfiles de disolución puede escribirse de la siguiente manera:

$$\xi_i = \left(\frac{\int_0^T |R_t - T_t|^i dt}{\int_0^T |R_t + T_t|^i dt} \right)^{1/i}$$

■ Ecuación 5-4

En donde R_t y T_t son los porcentajes disueltos promedio, a cada tiempo, de los productos Referencia y Test, respectivamente, y T es el último tiempo muestreado. Se calcularon dos índices (de primer y segundo orden, es decir, $i = 1, 2$) mediante el método de los trapecios.

El valor de estos índices se encuentra siempre entre 0 y 1, y es independiente de qué producto se considere R o T . Valores cercanos a cero indican mayor similitud entre los perfiles, mientras que $\xi_i = 1$ indica que uno de los dos perfiles es igual a cero para todos los tiempos. Una de las principales desventajas de estos índices es el hecho de que no existe una recomendación acerca de cuán cercano a cero debe ser el valor para considerar "similares" a las curvas que se están comparando (O'Hara et al., 1998).

Por último, se obtuvieron los valores de ABC, calculada por el método de los trapecios, y de la ED, calculada según la Ecuación 5-5:

$$ED = \frac{\int_{t_1}^{t_2} \%D(t) dt}{\%D_{\max} \times (t_2 - t_1)} \times 100 = \frac{ABC_{0-T}}{\%D_{\max} \times T} \times 100$$

■ Ecuación 5-5

Donde % D(t) es el porcentaje disuelto al tiempo t, % Dmax es el máximo disuelto, correspondiente al último tiempo T, y ABC_{0-T} es el área bajo la curva desde cero a T. Una vez obtenidos los valores de ABC y ED para cada comprimido individual de dos formulaciones dadas, se compararon estadísticamente mediante un ANAVA y se calculó el intervalo de confianza del 90% para el cociente de medias (IC 90%).

● Métodos estadísticos basados en ANAVA

Para todos los pares posibles de productos se realizó un ANAVA (bifactorial), considerando al % Disuelto como variable aleatoria y a la Formulación y el Tiempo como variables de clase (factores). Debido a la existencia de replicados (comprimidos individuales), también fue posible evaluar el efecto de la interacción Formulación*Tiempo.

También se presentan los resultados de los ANAVA monofactoriales (único factor: Formulación). Como en este caso las comparaciones se hacen tiempo a tiempo, se presentan los resultados de aquellos que resultaron diferentes.

● Métodos dependientes del modelo

Como se mencionó al inicio del capítulo, esta clasificación engloba diferentes formas estadísticas de comparación multivariada que requieren una etapa previa de ajuste de los datos a ecuaciones o modelos que los representen.

Los métodos matemáticos no-lineales que se probaron para el ajuste de datos fueron los siguientes:

■ **Tabla 5-8.** Modelos matemáticos, con sus respectivas ecuaciones, empleados para el ajuste de los datos % Disuelto vs. tiempo

Modelo	Ecuación
Primer Orden	$\%D(t) = \%D_{\max} \cdot [1 - \exp(-k \cdot t)]$
Gompertz	$\%D(t) = \%D_{\max} \cdot \exp\{-a \cdot \exp[-b \cdot \log(t)]\}$
Logístico	$\%D(t) = \%D_{\max} \cdot \left\{ \frac{\exp[a + b \cdot \log(t)]}{1 + \exp[a + b \cdot \log(t)]} \right\}$
Weibull	$\%D(t) = \%D_{\max} \cdot \{1 - \exp[-a \cdot (t)^b]\}$

Aunque se han postulado otros modelos matemáticos para ajustar los datos de % Disuelto vs. tiempo (Bery & Likar, 2001; Costa & Souza Lobo, 2001), los cuatro descriptos en la Tabla 5-8 son los más utilizados por su mejor ajuste a datos provenientes de formas sólidas de liberación inmediata (Costa & Souza Lobo, 2001), a pesar de no haber sido diseñados para eso.¹ Para elegir el método a utilizar en los cálculos posteriores de similitud se realizaron los siguientes pasos:

1. Se ajustaron los datos promedio ($n = 6$ para OxCBZ, $n = 12$ para CBZ) obtenidos para cada producto en LSNa 1% con dos software estadísticos: *Systat v.12 e Infostat v.2011e*.

El primer programa ofrece diferentes maneras de estimar los parámetros, pero en todos los casos se realizó mediante algoritmos de minimización de cuadrados basados en híbridos del método de Gauss-Newton (este programa es capaz de calcular las derivadas exactas) (*Systat® 12 Statistics I_II_III_IV, 2007*); el segundo programa aborda el problema de regresión no lineal en dos fases. La primera consiste en buscar una solución aproximada mediante un método downhill simplex que no requiere la evaluación de derivadas parciales (se minimiza la posibilidad de errores numéricos). Esta fase termina con una solución o cuando se alcanza el número máximo de iteraciones preestablecidas (500 no modificable por el usuario). La segunda fase implementa el método de Levenberg-Marquardt partiendo de la solución anterior. Este método requiere el cálculo de la matriz hessiana necesaria para el cálculo de la matriz de covarianzas de las estimaciones. Esta fase termina cuando la diferencia de la suma de cuadrados entre dos iteraciones sucesivas es menor o igual a $1E^{-10}$ o cuando se alcanza el número máximo de iteraciones especificadas por el usuario (*Infostat, Manual del usuario, 2011*).

Los valores iniciales de los parámetros fueron obtenidos mediante ajustes preliminares y a todos los puntos se les asignó el mismo peso.

2. Se verificó en todos los casos que ambos programas arrojaran resultados coincidentes.

Se registraron los valores de los parámetros obtenidos para cada producto con cada ecuación, como así también los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada ajuste y del Akaike's Information Criteria (AIC). El AIC es ampliamente utilizado como criterio de selección del modelo que mejor ajusta a determinado grupo de datos, sobre todo cuando los modelos considerados no contienen el mismo número de parámetros, como en este caso. En el caso especial de estimación por cuadrados mínimos con errores normalmente distribuidos, este índice puede expresarse como $AIC = n \cdot \text{Log}(\sigma^2) + 2 \cdot P$, donde P es el número de parámetros del modelo y $\sigma^2 = \sum \varepsilon_i^2 / n$ (ε_i son los residuales estimados del modelo ajustado). Dado una serie de modelos, el que mejor ajuste será el que tenga el menor valor de AIC. Este índice no sólo premia el mejor ajuste, sino que penaliza el aumento del número de parámetros, intentando evitar así el sobreajuste que se produce al aumentar el número de parámetros de un modelo (Burnham & Anderson, 2004).

3. En función de los resultados obtenidos, junto con la inspección visual de las curvas ajustadas, se seleccionaron los métodos Logístico y Weibull por su mejor desempeño.

4. Para decidir entre ellos se realizó el test estadístico de *Lack of fit* (falta de ajuste, Box et al., 2005) a los datos de todos los productos ajustados según ambos modelos, de manera de determinar estadísticamente si el ajuste era aceptable en todos los casos

¹ La ecuación de Weibull, por ejemplo, fue originalmente derivada para descubrir distribuciones de tamaños de partículas.

(dicho de otra manera, si el modelo era aplicable a todos los pares de datos % D vs. t). El resultado de este ensayo decidió el uso de la ecuación de Weibull para el ajuste posterior de las curvas.

5. Por último, se procedió a ajustar los datos de disolución obtenidos para cada comprimido de los distintos productos, tanto de CBZ como de OxCBZ, con el método seleccionado, y se registraron los parámetros calculados. Una vez que se computaron los valores de los parámetros a (de escala) y b (de forma) de la ecuación de Weibull, para cada comprimido de cada producto analizado, los mismos se compararon estadísticamente mediante dos ensayos:

A. Estadístico T^2 de Hotelling: esta distribución fue desarrollada por Harold Hotelling como una generalización de la distribución t de Student, para su aplicación al análisis multivariado. Es decir, para evaluar diferencias de medias (multivariadas) entre distintas poblaciones, de la misma manera que se aplicaría el test t si fueran univariadas (Hotelling, 1931). El estadístico T^2 se calcula según la siguiente expresión:

$$T^2 = (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)' \cdot \left\{ S_p \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) \right\}^{-1} \cdot (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)$$

■ Ecuación 5-6

En primer lugar se calculan las diferencias entre los vectores medios de la muestra (en nuestro caso, diferencias en los parámetros ln-transformados a y b). Luego se calcula la matriz de varianza-covarianza (S_p) y se multiplica por la suma de las inversas del tamaño de muestra ($1/n_1 + 1/n_2$). La matriz resultante se invierte y se multiplica por las diferencias de las medias calculadas primero.

Para muestras grandes, el estadístico seguirá una distribución chi-cuadrada con p grados de libertad (donde p es el número de variables medidas). Sin embargo, esta aproximación no tiene en cuenta la variación debida a la estima de la matriz de varianza-covarianza. Por lo tanto, se la transforma en un estadístico F mediante la siguiente expresión:

$$F = \frac{n_1 + n_2 - p - 1}{p(n_1 + n_2 - 2)} \cdot T^2 \approx F_{(p; n_1 + n_2 - p - 1)}$$

■ Ecuación 5-7

Se rechaza la hipótesis nula ($H_0 : \mu_1 = \mu_2$) al nivel α si el valor de F calculado es mayor que el valor crítico de tabla (es decir, si $F > F_{(p; n_1 + n_2 - p - 1)}$).

B. Comparación por regiones de similitud: este método, propuesto por Sathe y col., implica definir, en función de resultados obtenidos para la referencia, las regiones de similitud para los parámetros del modelo utilizado para ajustar los datos. Se consideran tres regiones: $\pm\sigma$, $\pm 2\sigma$ y $\pm 3\sigma$. Dichas regiones tienen forma de rectángulo, ya que en una dirección se grafican los desvíos del parámetro a y en la otra los de b (del producto de referencia). Luego, para cada par que se desea comparar, se calculan las diferencias de sus parámetros a y b (ln-transformados) y los intervalos del 90% confianza de di-

chas diferencias, y se verifica si las mismas se encuentran dentro o fuera de las regiones de similitud previamente definidas (Sathe et al., 1996).

Un ejemplo esquemático de este procedimiento se presenta en la Figura 5-6.

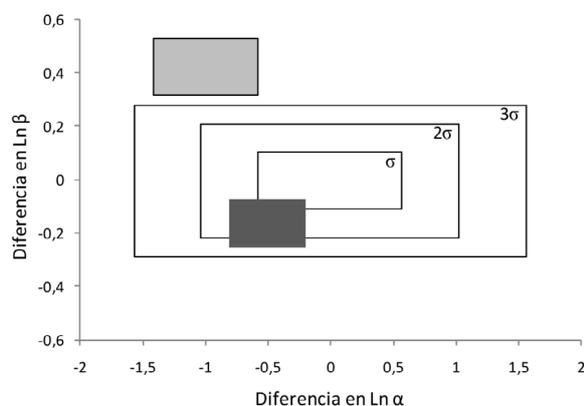


Figura 5-6. Los rectángulos blancos representan las regiones de similitud definidas en función de la variabilidad en los parámetros a y b de la ecuación de Weibull del producto de referencia. Los rectángulos grises representan las regiones del 90% de confianza de la diferencia en los parámetros a y b entre dos productos dados, no similares (gris claro) o similares (gris oscuro)

Resultados y discusión

Comprimidos de OxCBZ

En la sección 2.2 se presentaron los resultados obtenidos para los perfiles de disolución en diferentes medios de cuatro productos de OxCBZ: tres correspondientes a comprimidos por 600 mg (productos J*, K y L, el asterisco indica la referencia) y el cuarto de 300 mg (producto M, de igual origen –marca comercial– al producto L).

Como el único medio de disolución en el que se logró la disolución completa de todos los productos ensayados fue LSNa 1%, se lo eligió para realizar el análisis comparativo de los perfiles. La Figura 5-7 muestra los perfiles superpuestos para los cuatro productos analizados.

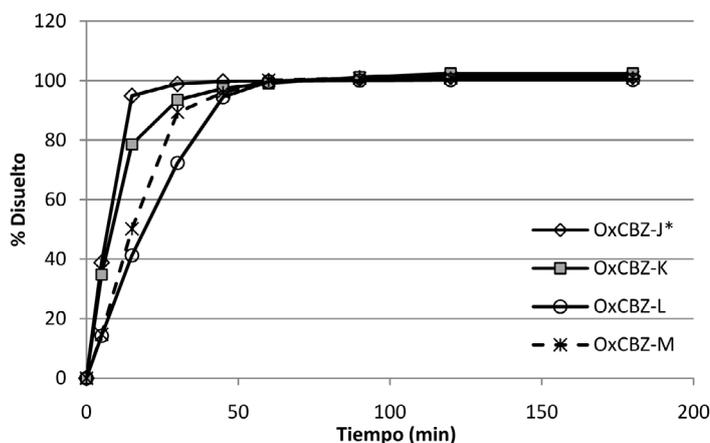


Figura 5-7. Perfiles de disolución en LSNa 1% de cuatro productos de OxCBZ (J*, K y L de 600 mg, producto M de 300 mg). Con un asterisco se indica al producto de referencia

En la Tabla 5-9 se resumen los resultados del ajuste de los cuatro métodos propuestos a los datos de % Disuelto vs. tiempo de los cuatro productos de OxCBZ estudiados.

Tabla 5-9. Resultados del ajuste de los datos promedio de % Disuelto vs. tiempo de los cuatro productos analizados de OxCBZ a los cuatro modelos matemáticos propuestos. R^2 : coeficiente de determinación; AIC: Akaike's Information Criterion; k, a, b: parámetros de las ecuaciones. El asterisco denota al producto de referencia

Producto	Primer Orden	Gompertz	Logistic	Weibull
OxCBZ-J*	$k = 0,1223$	$a = 31,88$ $b = 5,030$	$a = -4,616$ $b = 5,952$	$a = 0,0382$ $b = 1,556$
	$R^2 = 0,9985$	$R^2 = 0,99997$	$R^2 = 0,99996$	$R^2 = 0,99992$
	$AIC = 30,10$	$AIC = 5,25$	$AIC = 4,82$	$AIC = 13,10$
OxCBZ-K	$k = 0,0875$	$a = 11,19$ $b = 3,271$	$a = -3,580$ $b = 4,041$	$a = 0,0775$ $b = 1,051$
	$R^2 = 0,9994$	$R^2 = 0,99997$	$R^2 = 0,99993$	$R^2 = 0,9994$
	$AIC = 21,87$	$AIC = 23,44$	$AIC = 19,03$	$AIC = 24,66$
OxCBZ-L	$k = 0,0440$	$a = 22,98$ $b = 4,656$	$a = -6,208$ $b = 5,042$	$a = 0,0132$ $b = 1,371$
	$R^2 = 0,9971$	$R^2 = 0,9955$	$R^2 = 0,9980$	$R^2 = 0,9995$
	$AIC = 34,93$	$AIC = 41,67$	$AIC = 36,41$	$AIC = 24,00$
OxCBZ-M	$k = 0,0551$	$a = 39,78$ $b = 3,699$	$a = -6,276$ $b = 5,492$	$a = 0,0127$ $b = 1,498$
	$R^2 = 0,9968$	$R^2 = 0,9971$	$R^2 = 0,9990$	$R^2 = 0,9998$
	$AIC = 36,14$	$AIC = 40,98$	$AIC = 32,03$	$AIC = 17,51$

Como se ve en la tabla anterior, en mayor o menor medida, todos los modelos ajustaron a las curvas de disolución. El coeficiente R^2 fue superior a 0,995 en todos los casos, no se observaron tendencias sistemáticas en las gráficas de residuales y los AIC fueron comparables en todos los casos.

El método de ajuste a la ecuación de Primer Orden fue el primero en descartarse, ya que analizando producto por producto este método logra los menores valores de R^2 , y los AIC resultantes son generalmente mayores a los de los demás métodos, cuando deberían ser considerablemente menores por tener un parámetro menos (única ecuación de un parámetro, k).

Luego se descarta la ecuación de Gompertz, ya que si bien parece ajustar muy bien a los dos primeros productos, en el caso de OxCBZ-L y M no se logró un ajuste adecuado ($AIC \gg$). El motivo fue haber forzado la ecuación a tener solamente dos parámetros: en su forma original, el % Dmax también es un parámetro a determinar (y no igual a 100). Cuando se realiza el ajuste con la ecuación tri-paramétrica, los software utilizados aproximan % Dmax a un valor cercano a 110 para lograr la convergencia (para los productos L y M).

De los datos presentados en la Tabla 5-9 no surgen elementos de decisión entre las ecuaciones de los métodos Logístico y Weibull, ya que mientras la primera parece ajustar mejor a los productos J* y K, la segunda hace lo correspondiente con L y M. Es por ello que se sometieron a un análisis de falta de ajuste (Box et al., 2005). Los resultados se muestran en la Tabla 5-10.

Mediante este ensayo se prueban simultáneamente dos hipótesis nulas: la de no correlación (o pendiente igual a cero), la cual se debe rechazar para afirmar la correlación entre los datos de tiempo y % Disuelto; y la de ajuste al modelo elegido, que se debe aceptar para poder afirmar que el modelo elegido ha sido correcto. Por lo tanto, para el ítem “correlación” de la Tabla 5-10 se desea un valor de $F > F_{\text{crítico}}$, mientras que para “falta de ajuste” se busca un $F < F_{\text{crítico}}$. Como puede verse en la Tabla 5-10, estas relaciones se cumplen en todos los casos excepto en dos (marcados en negrita), donde se observa que el modelo Logístico no ajusta bien a los productos L y M. Es por ello que para los cálculos subsiguientes se elige el modelo de Weibull.

Tabla 5-10. Resultados del análisis de Falta de Ajuste realizado a los datos individuales de % Disuelto vs. tiempo de los cuatro productos de OxCBZ según los dos modelos preseleccionados (Logístico y Weibull). Se presentan los valores de los cocientes F obtenidos en cada caso, tanto para la correlación como para la falta de ajuste, y los valores críticos de los mismos

	F [Logístico]	F [Weibull]	F crítico 95%
OxCBZ-J*			
Correlación	322,11	717,74	4,08
Falta de Ajuste	0,17	0,31	2,34
OxCBZ-K			
Correlación	1012,28	1146,16	4,08
Falta de Ajuste	0,86	1,87	2,34
OxCBZ-L			
Correlación	1360,02	2882,31	4,08
Falta de Ajuste	4,58	2,12	2,34
OxCBZ-M			
Correlación	1977,54	3903,61	4,08
Falta de Ajuste	4,10	1,38	2,34

Los datos de los comprimidos individuales de cada uno de los cuatro productos estudiados se ajustaron entonces a la ecuación de Weibull, de manera de obtener, para cada producto, un valor medio ($n = 6$) de los parámetros a y b. Con esos valores ln-transformados se realizó el test T^2 de Hotelling y se determinó su coincidencia con la región de similitud preestablecida (como se explicó en *Análisis de los datos- Métodos dependientes del modelo*).

Se presentan a continuación los resultados y conclusiones de todos los métodos aplicados, agrupados por pareja de productos considerada. Si bien entre cuatro productos (J*, K, L y M) existen seis parejas diferentes posibles, sólo se presentan cuatro tablas, ya que para los pares J* vs. L y K vs. L se obtuvieron resultados coherentes (de no similitud) entre todos los métodos aplicados.

En el caso de los métodos matemáticos de comparación, se presenta el valor obtenido para cada índice calculado (el f_2 promedio es el único que tiene asociado un valor de desviación estándar) y la conclusión de similitud o no de acuerdo a las especificaciones. Cuando no se puede concluir (como en los casos de resultados dependientes de qué producto se considere la referencia), o en el caso de no existir especificaciones para un determinado parámetro (como sucede con los ξ_1 de Rescigno), se coloca “ND”, es decir, no determinado.

En el caso de la comparación de ED y ABC se presenta el valor del cociente entre los dos productos considerados para cada uno de éstos parámetros, el IC 90% para dicho cociente y el p-valor. Como en este ensayo la hipótesis nula es de similitud (H_0 : no existen diferencias significativas entre los parámetros de los dos productos), los perfiles se consideran similares si p-valor > 0,01.

Se muestran luego los resultados de los métodos estadísticos basados en ANAVA. Al igual que en el caso anterior, las hipótesis nulas son de similitud para el factor considerado. Aparecen, por último, los métodos dependientes del modelo en los que se presenta la diferencia de los parámetros ln-transformados de la ecuación de Weibull (a y b) entre los productos, con su correspondiente IC 90%. De acuerdo al método de la “región de similitud”, los perfiles se considerarían similares si dichos IC 90% estuvieran incluidos simultáneamente dentro de una región previamente definida en función de la varianza del producto de referencia.

En nuestro caso, dicha región tomaría los siguientes valores:

- considerando $\pm \sigma$: [-0,520; +0,520] para a y [-0,107; +0,107] para b
- considerando $\pm 2\sigma$: [-1,040; +1,040] para a y [-0,214; +0,214] para b
- considerando $\pm 3\sigma$: [-1,560; +1,560] para a y [-0,321; +0,321] para b

También se muestra el valor del estadístico de Hotelling (el valor presentado es el F calculado según la Ecuación 5-7), seguido del correspondiente valor de $F_{\text{crítico}95\%}$. Como en todos los casos, la hipótesis nula de similitud se rechaza si $F > F_{\text{crítico}95\%}$ (equivalente a p-valor < 0,05).

Tabla 5-11. Resumen de los resultados obtenidos para cada uno de los métodos de comparación de perfiles aplicados al par de productos OxCBZ-J* y K. ND: no determinado

Comparación entre los productos J* y K de comprimidos de OxCBZ				
<i>Métodos independientes del modelo</i>				
	<i>K (T) vs. J* (Ref)</i>		<i>J* (T) vs. K (Ref)</i>	Conclusión
<i>f₂ clásico</i>	49,18		51,68	ND
<i>f₂ promedio</i>	47,76 ± 10,01		50,00 ± 9,40	ND
<i>f₁ clásico</i>	11,82		10,53	similares
<i>Rescigno ξ_1</i>	0,0113			ND
<i>Rescigno ξ_2</i>	0,1503			ND
	cociente	p-valor	IC 90% del cociente	
ED	0,9719	0,0201	95,55 - 98,86	similares
ABC	0,9772	0,2110	94,63 - 100,92	similares
<i>Métodos estadísticos basados en ANAVA</i>				
	p-valor Bifactorial		p-valor Monofactorial	
<i>Formulación</i>	< 0,01		< 0,01*	no similares
<i>Tiempo</i>	< 0,01			no similares
<i>FxT</i>	< 0,01		* Tiempos que diferían: 15, 30 y 45 minutos	no similares
<i>Métodos dependientes del modelo</i>				
		diferencia	IC 90% de la diferencia	
<i>Parámetros Weibull</i>	a	-0,935	-1,553 ; -0,317	no similares
	b	0,466	0,284 ; 0,649	
	F	F_{crítico 95%}	p-valor	
<i>T² de Hotelling</i>	25,47	4,06	< 0,001	no similares

Tabla 5-12. Resumen de los resultados obtenidos para cada uno de los métodos de comparación de perfiles aplicados al par de productos OxCBZ-J* y M. ND: no determinado

Comparación entre los productos J* y M de comprimidos de OxCBZ				
<i>Métodos independientes del modelo</i>				
	<i>M (T) vs. J* (Ref)</i>		<i>J* (T) vs. M (Ref)</i>	Conclusión
<i>f₂ clásico</i>	27,50		30,56	<i>no similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	28,23 ± 5,95		31,14 ± 4,83	<i>no similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	32,38		30,95	<i>no similares</i>
<i>Rescigno ξ_1</i>	0,0266			ND
<i>Rescigno ξ_2</i>	0,2304			ND
	cociente	p-valor	IC 90% del cociente	
<i>ED</i>	0,9554	0,0061	93,64 - 97,47	<i>no similares</i>
<i>ABC</i>	0,9479	0,0144	92,03 - 97,63	<i>similares</i>
<i>Métodos estadísticos basados en ANAVA</i>				
	p-valor Bifactorial		p-valor Monofactorial	
<i>Formulación</i>	< 0,01		< 0,01*	<i>no similares</i>
<i>Tiempo</i>	< 0,01			<i>no similares</i>
<i>ExT</i>	< 0,01		* Tiempos que diferían: 5, 15 y 30 minutos	<i>no similares</i>
<i>Métodos dependientes del modelo</i>				
		diferencia	IC 90% de la diferencia	
<i>Parámetros</i>	a	-0,890	-1,613 ; -0,167	<i>no similares</i>
<i>Weibull</i>	b	-0,113	-0,282 ; 0,055	
	F	F_{crítico 95%}	p-valor	
<i>T² de Hotelling</i>	35,07	4,06	< 0,001	<i>no similares</i>

Tabla 5-13. Resumen de los resultados obtenidos para cada uno de los métodos de comparación de perfiles aplicados al par de productos OxCBZ-K y M. ND: no determinado

Comparación entre los productos K y M de comprimidos de OxCBZ				
<i>Métodos independientes del modelo</i>				
	<i>M(T) vs. K (Ref)</i>		<i>K (T) vs. M(Ref)</i>	Conclusión
<i>f₂ clásico</i>	39,82		39,82	<i>no similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	39,53 ± 3,61		39,92 ± 3,21	<i>no similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	19,02		16,05	<i>no similares</i>
<i>Rescigno ξ_1</i>	0,0153			ND
<i>Rescigno ξ_2</i>	0,1748			ND
	cociente	p-valor	IC 90% del cociente	
<i>ED</i>	0,9830	0,0351	97,10-99,50	<i>similares</i>
<i>ABC</i>	0,9699	0,1879	93,12 - 101,03	<i>similares</i>
<i>Métodos estadísticos basados en ANAVA</i>				
	p-valor Bifactorial		p-valor Monofactorial.	
<i>Formulación</i>	< 0,01		< 0,01*	<i>no similares</i>
<i>Tiempo</i>	< 0,01			<i>no similares</i>
<i>ExT</i>	< 0,01		* Tiempos que diferían: 5 y 15 minutos	<i>no similares</i>
<i>Métodos dependientes del modelo</i>				
		diferencia	IC 90% de la diferencia	
<i>Parámetros</i>	a	-1,825	-2,335 ; -1,315	<i>no similares</i>
<i>Weibull</i>	b	0,353	0,168 ; 0,538	
	F	F_{crítico 95%}	p-valor	
<i>T² de Hotelling</i>	82,10	4,06	< 0,001	<i>no similares</i>

Tabla 5-14. Resumen de los resultados obtenidos para cada uno de los métodos de comparación de perfiles aplicados al par de productos OxCBZ-L y M. ND: no determinado

Comparación entre los productos L y M de comprimidos de OxCBZ				
<i>Métodos independientes del modelo</i>				
	<i>M (T) vs. L (Ref)</i>		<i>L (T) vs. M(Ref)</i>	Conclusión
<i>f₂ clásico</i>	53,04		50,65	<i>similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	52,69 ± 7,74		50,92 ± 8,20	<i>similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	8,82		11,18	<i>similares</i>
<i>Rescigno ξ_1</i>	0,0148			ND
<i>Rescigno ξ_2</i>	0,1722			ND
	cociente	p-valor	IC 90% del cociente	
<i>ED</i>	0,9778	0,0432	96,17 - 99,41	<i>similares</i>
<i>ABC</i>	0,9709	0,1058	94,21 - 100,07	<i>similares</i>
<i>Métodos estadísticos basados en ANAVA</i>				
	p-valor Bifactorial		p-valor Monofactorial.	
<i>Formulación</i>	< 0,01		< 0,01*	<i>no similares</i>
<i>Tiempo</i>	< 0,01		* Tiempos que diferían: 15 y 30 minutos	<i>no similares</i>
<i>FxT</i>	< 0,01			<i>no similares</i>
<i>Métodos dependientes del modelo</i>				
		diferencia	IC 90% de la diferencia	
<i>Parámetros</i>	a	0,012	-0,706 ; 0,729	
<i>Weibull</i>	b	-0,081	-0,238 ; 0,077	<i>similares</i>
	F	F_{crítico 95%}	p-valor	
<i>T² de Hotelling</i>	17,46	4,06	< 0,001	<i>no similares</i>

La primera impresión que se obtiene de los resultados presentados en las tablas anteriores es su falta de concordancia. Para un par de productos dado, se puede concluir similitud o no según el método aplicado. Resulta entonces natural cuestionarse cuál de los métodos es el mejor.

Los métodos dependientes del modelo aplicados tienen como virtudes el considerar las varianzas y covarianzas de los datos, como así también ser flexibles en cuanto a los esquemas de muestreo, ya que los productos que se van a comparar pueden haber sido muestreados siguiendo diferentes esquemas. Sin embargo, estas ventajas no parecen ser suficientes para compensar las desventajas. En primer lugar, lo engorroso del cálculo: la elección del modelo, el ajuste de cada comprimido individual a la ecuación elegida (estos dos pasos se realizan fácilmente con el software adecuado, sin embargo insumen tiempo) y el cálculo de la estadística requerida –ya sea la T^2 de Hotelling o los IC 90% para los parámetros–, que no se puede realizar automáticamente con los software estadísticos más comúnmente utilizados, sino que debe ser realizado manualmente.

En segundo lugar, al requerir el ajuste de los datos a alguna ecuación descriptiva, estos métodos fallan cuando lo que se desea comparar son productos de distintos orígenes, ya que difícilmente todos ajusten al mismo modelo. En la Tabla 5-9 se ve que el modelo de Weibull ajustaba mejor a los productos L y M que a los J* y K, los cuales hubieran sido mejor estimados por el modelo Logístico.

En la Tabla 5-14 se observa que los únicos productos que resultan similares por este método son L y M, y sólo si se toma la región de similitud correspondiente a $\pm 3\sigma$ de la referencia. Si además tenemos en cuenta que en este caso el producto de referencia fue el que obtuvo la mayor dispersión en sus parámetros (es decir, si hubiéramos cons-

truido la región de similitud en base a la varianza de cualquier otro de los productos analizados la misma hubiera sido menor), se puede ver que se trata de un método muy discriminante. Los parámetros medios que se comparan (a y b en este caso) provienen de ajustar individualmente cada comprimido al modelo, y generalmente la dispersión es grande entre diferentes comprimidos, lo que lleva a una gran variabilidad en las estimas de dichos parámetros y produce, finalmente, intervalos de confianza demasiado grandes para los cocientes.

Es interesante la evaluación de los parámetros por separado que permite este método. Por ejemplo, así como para los productos K y M los dos parámetros de la ecuación son muy diferentes, para el par J*-M el parámetro b entra dentro de la zona de similitud, mientras que para J*-K sucede lo mismo con a. Es decir, se trata de un método capaz de detectar diferencias/similitudes de forma (parámetro b) y escala (parámetro a) entre perfiles.

Sathe y colaboradores desarrollaron este método y lo aplicaron a tres lotes de un mismo producto: uno de referencia, otro “con modificaciones menores” y un tercero “con modificaciones mayores” (Sathe et al., 1996). Los mismos autores declaran que el método está principalmente destinado a su aplicación en el análisis de los cambios que se pueden generar en el perfil de disolución de un producto por el escalado y las modificaciones posteriores a la aprobación del mismo (*scale-up and post approval changes*). El método de Sathe tiene desventajas adicionales: es incierto con qué criterio definir la “región de similitud” (¿1, 2 ó 3 desviaciones estándar de la referencia?), dicha región es difícil de interpretar y alienta la producción de lotes de referencia más variables, lo que aumenta las probabilidades de concluir erróneamente similitud.

El mismo inconveniente de la gran dispersión que provoca el ajuste de los comprimidos individuales a una ecuación se traduce en un valor elevado del estadístico T^2 . En el caso del par de productos L y M los mismos no cumplen con dicho test, incluso cuando la variabilidad asociada a ambos fue lo que en disolución se considera aceptable: menor al 20% en el primer tiempo y al 10% en todos los tiempo siguientes. Otra desventaja de utilizar la prueba de Hotelling es que se trata de un ensayo de hipótesis, es decir, se acepta o se rechaza la similitud entre los grupos de datos que están siendo comparados. Y en el análisis de perfiles de disolución resulta más interesante determinar si la diferencia se encuentra dentro de límites que se consideran aceptables, que determinar si son o no diferentes.

Por su parte, los métodos estadísticos basados en ANAVA demostraron no ser aceptables para su uso en el análisis de los perfiles; además de no cumplirse la hipótesis fundamental de independencia de las observaciones –como se comentó antes en este capítulo–, el tratamiento de los datos no resulta apropiado. Cuando se realiza el análisis bifactorial, el hecho de considerar al tiempo como factor y el gran número de grados de libertad (GL) a causa de los replicados (comprimidos individuales) provocan una gran disminución del error y del F_{critico} (que disminuye si aumentan los GL del error), dos hechos que combinados resultan en una elevada exigencia para la aprobación de la similitud entre dos perfiles. Por el contrario, si sólo se considera el factor “formulación” y se realizan las comparaciones punto a punto (a cada tiempo) el método resulta ineficiente ya que el error de tipo I es mucho mayor al valor nominal del 5% (una consecuencia conocida del hecho de realizar múltiples comparaciones), además de resultar tedioso y de interpretación ambigua (O’Hara et al., 1998).

Se llega así a los métodos independientes del modelo. Los índices de Rescigno comparten con los de Moore y Flanner la misma facilidad de cálculo, más la ventaja adicional de no depender de qué perfil de los dos a comparar se defina como referencia. Sin embargo, presentan también desventajas adicionales. A pesar de que O'Hara y colaboradores consideran a los índices ξ_1 y ξ_2 como análogos a los f_1 y f_2 , (O'Hara et al., 1998), no creemos que sea así, ya que a diferencia de los f ambos ξ_i denotan falta de similitud, es decir, cuánto más próximos a cero, más similares los perfiles que se comparan. Ninguno de ellos crece con el aumento de similitud, y eso, sumado al hecho de que el valor absoluto entre ξ_1 y ξ_2 no difiere demasiado, les resta potencial informativo respecto a los índices f . Y dentro de éstos, el f_2 tiene la ventaja respecto al f_1 de crecer con el aumento de similitud, tomando valores entre 0 y 100.

En nuestro caso, los índices ξ_i arrojaron resultados difíciles de interpretar. El par de productos J*-K (Tabla 5-11) obtuvo menores valores para ambos índices respecto al par L-M (Tabla 5-14), cuando por todos los demás métodos de comparación aplicados se concluye que J* con K no son tan similares entre sí como L con M. Si a lo dicho hasta aquí se le agrega que no existe una especificación para decidir cuán cercanos a cero deben ser los ξ_i para concluir similitud, pareciera no justificarse su elección como método de comparación de perfiles.

Más adelante, cuando se presentan los resultados obtenidos para comprimidos de CBZ 200 mg, se discute el desempeño de los parámetros ABC y ED para la comparación de perfiles de disolución. Por el momento, sólo notemos que sobre la base de los resultados de las tablas anteriores la comparación de estos parámetros arrojó resultados, si no coincidentes con el f_2 , algo más permisivos.

El factor de similitud f_2 ha sido ampliamente discutido en la literatura, posiblemente a causa de ser el método recomendado por la mayoría de los entes regulatorios de medicamentos. Se han descrito como desventajas los siguientes puntos:

- a. no toma en cuenta el espaciado entre los tiempos de muestreo (Costa & Souza Lobo, 2001);
- b. requiere el mismo esquema de muestreo para los perfiles a comparar (Sathe et al., 1996);
- c. no resulta aplicable a sistemas de liberación modificada (Chow & Ki, 1997);
- d. no tiene en cuenta la variación entre las unidades ensayadas (Berry & Likar, 2007);
- e. depende de los puntos que se usen para su cálculo (O'Hara et al., 1998; Polli et al., 1997);
- f. su valor puede modificarse según qué perfil del par que está siendo comparado se considere Test y cuál Referencia (O'Hara et al., 1998);
- g. la especificación ($f_2 \geq 50$ es similar) pareciera ser arbitraria (O'Hara et al., 1998; Polli et al., 1997);
- h. al igual que los demás índices matemáticos, es un método no estadístico y por lo tanto no permite la estimación de los errores de tipo I (probabilidad de concluir diferencia cuando los perfiles en realidad son similares) ni de tipo II (concluir similitud cuando son diferentes) (O'Hara et al., 1998).

A continuación, se detallan posibles formas que, en nuestra opinión, pueden solucionar o atenuar los inconvenientes señalados:

- a. este punto se tratará con mayor detenimiento más adelante, cuando se presenten los resultados de CBZ. Que no se considere el espaciado entre puntos es una desventaja del método, pero creemos que esto se puede atenuar calculando de manera simultánea otro parámetro, como ABC o ED, que contemple el esquema de muestreo total;
- b. no representa una gran desventaja que sea necesario muestrear a iguales tiempos a las formulaciones T y R. Durante la mayoría de los ensayos de comparación de perfiles el objetivo (es decir, la comparación propiamente dicha) se fija de antemano, de manera que muestrear siguiendo el mismo esquema para todos los productos no implicaría ninguna dificultad;
- c. el presente trabajo de tesis solo trata con productos de liberación inmediata. La aplicación del f_2 a sistemas de liberación modificada posiblemente requiera de mayor investigación en el tema, ya que aún no ha sido propuesto para dicho uso;
- d. este aspecto es abordado por Shah y colaboradores, quienes describen cómo el f_2 calculado en base a una muestra representa un estimador sesgado del valor verdadero del f_2 entre las dos poblaciones a comparar, y debido a su distribución estadística compleja calculan sus IC 90% y sus desvíos mediante la técnica de *bootstrap* o remuestreo.² Los autores concluyen que el f_2 normalmente calculado es una estimación correcta (y conservadora por el sesgo) del valor verdadero de dicho parámetro. Es decir, el valor verdadero del f_2 entre dos muestras será mayor al calculado según la Ecuación 5-1 debido al sesgo (Shah et al., 1998).
- e. es una desventaja cierta que el valor del f_2 dependa de los puntos que se usen para su cálculo, y por ello fue necesario uniformar el criterio para elegirlos. Acorde a las guías oficiales, se debe tomar solamente un punto más luego de que la Referencia se haya disuelto un 85% (FDA/CDER, 2000);
- f. cuando los perfiles a comparar no alcanzan el 85% al mismo tiempo, es decir, cuando el f_2 entre ellos se modificaría según cuál se considere Referencia, creemos conveniente calcular e informar ambos valores. Esta situación sólo sería conflictiva si dichos valores quedaran uno por debajo y otro por encima de 50. En ese caso, se requerirían cálculos posteriores para decidir, por ejemplo, aplicar otro método de comparación;
- g. la especificación ($f_2 \geq 50$ es similar) corresponde a una diferencia del 10% entre los perfiles analizados (10 unidades medidas en el eje vertical de % Disuelto) en cada uno de los puntos tomados para calcular el f_2 . Si bien en un comienzo pudo parecer arbitraria, hoy en día se cuenta con años de experiencia para avalar dicho límite (este punto se tratará con más detalle a continuación);
- h. como en el caso del ítem a., no poder conocer los errores de tipo I y tipo II es una desventaja del método pero, nuevamente, si se acompaña el valor del f_2 con el análisis comparativo de las ABC o ED esta falencia se puede atenuar de alguna manera, ya que cuando éstos parámetros se comparan estadísticamente sí se pueden estimar dichos errores.

Respecto al ítem g., se trata de un aspecto sobre el que los autores no parecen ponerse de acuerdo: hay quienes lo consideran un límite muy permisivo (Adams et al., 2002; Chow & Ki, 1997) y quienes lo consideran demasiado exigente (Polli et al., 1997). Los resultados presentados hasta aquí parecerían inclinarse más por la segunda

² Mediante *bootstrap* lo que se hace es tomar muestras, al azar y con reposición, del conjunto de datos que se tiene (típicamente, 100, 200, 500 y hasta 1000 muestras) y calcular para cada una el valor del parámetro de interés. Luego, se construye el IC 90% para dicho parámetro en función de los percentiles 5 y 95%.

opción, ya que los tres productos de OxCBZ 600 mg ensayados (J*, K y L) declaran ser BE por la autoridad nacional y sin embargo sólo J* y K resultaron similares de acuerdo al criterio f_2 , y en la situación límite descrita más arriba. Sin embargo, esto se basa en una premisa no demostrada (¿son realmente bioequivalentes los productos J*, K y L?). Los resultados que se presentan a continuación para los productos de CBZ 200 mg intentan esclarecer un poco más este punto.

Por último, no debemos olvidar por qué comparamos perfiles. En todos los casos incluidos aquí, siempre se trata de productos de diversos orígenes, potenciales equivalentes terapéuticos, a los que se quiere poder declarar equivalentes farmacéuticos. Es por ello que, en estas situaciones, la similitud *in vitro* sólo interesa por su calidad como herramienta predictiva u orientativa de los procesos *in vivo*. Con este objetivo en mente, los métodos de comparación deberían ser tales que produzcan, al menos, resultados coherentes con los estudios de BE, es decir, los que hoy en día se solicitan para garantizar la similitud *in vivo* de los medicamentos.

En el caso de los productos de OxCBZ estudiados, los productos J*, K y L son considerados BE por la autoridad sanitaria nacional (ANMAT, 2011). El producto M no se incluye ya que tiene otra dosis. Sin embargo, ninguno de los métodos aplicados para la comparación de los resultados *in vitro* arrojó un resultado que fuera coherente con esa BE.

A continuación, se presenta un análisis similar al descrito hasta aquí pero aplicado a los productos de CBZ 200 mg cuyos perfiles de disolución se desarrollaron en la sección 2.1. El objetivo de repetir los cálculos para CBZ fue brindar mayor sustento a las conclusiones de esta sección mediante su comparación/correlación con resultados *in vivo*.

Comprimidos de CBZ

En la sección 2.1 se expusieron los resultados obtenidos para los perfiles de disolución de cinco productos de CBZ 200 mg, cuatro de los cuales fueron posteriormente ensayados *in vivo* mediante un estudio de biodisponibilidad relativa en voluntarios sanos (Capítulo 4).

A continuación, se presentan los perfiles de disolución superpuestos de dichos productos, denominados CBZ-A*, B, C, D y E (Figura 5-8).

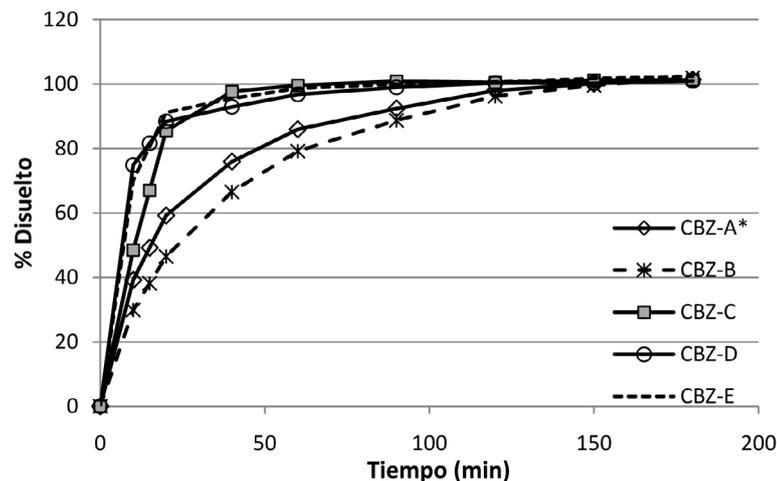


Figura 5-8. Perfiles de disolución en LSNa 1% de cinco productos conteniendo CBZ 200 mg. Con un asterisco se indica el producto de referencia

Tabla 5-15. Resultados obtenidos para los parámetros (k, a, b) luego del ajuste de los datos promedio de % Disuelto vs. tiempo de los cinco productos de CBZ 200 mg a los cuatro modelos matemáticos propuestos. El p-valor informado para cada caso es el resultado del ensayo de Falta de Ajuste realizado con los datos individuales de cada producto para cada modelo. Se ve que ninguno de los modelos propuestos ajusta a todos los productos (el producto CBZ-B no ajusta a ninguna ecuación)

Producto	Primer Orden	Gompertz	Logistic	Weibull
CBZ-A*	$k = 0,0416$	$a = 13,98$ $b = 2,587$	$a = -3,734$ $b = 3,178$	$a = 0,0837$ $b = 0,7764$
	$p\text{-valor} < 0,01$	$p\text{-valor} < 0,01$	$p\text{-valor} < 0,01$	$p\text{-valor} > 0,05$
CBZ-B	$k = 0,0291$	$a = 18,36$ $b = 2,533$	$a = -4,365$ $b = 3,293$	$a = 0,0451$ $b = 0,8740$
	$p\text{-valor} < 0,01$	$p\text{-valor} < 0,01$	$p\text{-valor} < 0,01$	$p\text{-valor} < 0,01$
CBZ-C	$k = 0,0774$	$a = 87,22$ $b = 4,739$	$a = -5,866$ $b = 5,740$	$a = 0,0215$ $b = 1,4782$
	$p\text{-valor} < 0,01$	$p\text{-valor} < 0,05$	$p\text{-valor} > 0,05$	$p\text{-valor} > 0,05$
CBZ-D	$k = 0,1221$	$a = 5,164$ $b = 2,838$	$a = -1,999$ $b = 3,048$	$a = 0,4122$ $b = 0,5284$
	$p\text{-valor} < 0,01$	$p\text{-valor} < 0,05$	$p\text{-valor} > 0,05$	$p\text{-valor} > 0,05$
CBZ-E	$k = 0,1162$	$a = 18,61$ $b = 3,927$	$a = -3,488$ $b = 4,308$	$a = 0,1777$ $b = 0,8350$
	$p\text{-valor} > 0,05$	$p\text{-valor} > 0,05$	$p\text{-valor} > 0,05$	$p\text{-valor} > 0,05$

Como puede verse en la tabla anterior, no fue posible ajustar los datos de todos los productos a un único modelo, por lo que en este caso no se realizaron las comparaciones por métodos dependientes del modelo. Esta decisión también se fundamenta en los resultados encontrados para OxCBZ: estos métodos son tan discriminantes que las diferencias encontradas en productos de distintos orígenes, aunque biofarmacéuticamente irrelevantes, son suficientes para concluir falta de semejanza estadística.

A continuación, se presentan los resultados de la comparación de los perfiles por los métodos independientes del modelo (Tabla 5-16). Los métodos estadísticos basados en ANAVA tampoco se aplicaron en este caso por las razones ya discutidas anteriormente.

Tabla 5-16. Resultados obtenidos para la comparación de perfiles de disolución, mediante métodos independientes del modelo, de los cinco productos de CBZ 200 mg analizados. La letra que aparece entre paréntesis al lado del valor informado de f_2 clásico indica el producto tomado como referencia para el cálculo de los índices f . ED: eficiencia de disolución. ABC: área bajo la curva

Comparación de perfiles de disolución entre comprimidos de CBZ 200 mg			
CBZ-A* vs. CBZ-B			Conclusión
f_2 clásico	52,40 (A)	54,27 (B)	similares
f_2 promedio	52,44 ± 11,59	53,97 ± 11,41	similares
f_1 clásico	11,86	10,72	similares
	Cociente (p-valor)	IC 90% del cociente	
ED	0,9419 (0,0031)	91,54 – 96,92	no similares
ABC	0,9478 (0,0043)	92,27 – 97,37	no similares

CBZ-A* vs. CBZ-C				
<i>f₂ clásico</i>	37,98 (A)		34,47 (C)	<i>no similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	38,46 ± 7,73		35,07 ± 7,79	<i>no similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	22,52		24,76	<i>no similares</i>
ED	1,1081 (< 0,001)		108,22 - 113,46	<i>no similares</i>
ABC	1,1074 (< 0,001)		108,01 - 113,55	<i>no similares</i>
CBZ-A* vs. CBZ-D				
<i>f₂ clásico</i>	32,32 (A)		27,50 (D)	<i>no similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	32,55 ± 5,48		27,84 ± 5,20	<i>no similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	28,04		31,82	<i>no similares</i>
ED	1,1258 (< 0,001)		106,04 - 119,52	<i>no similares</i>
ABC	1,1162 (< 0,001)		106,28 - 117,23	<i>no similares</i>
CBZ-A* vs. CBZ-E				
<i>f₂ clásico</i>	32,15 (A)		27,57 (E)	<i>no similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	32,74 ± 7,34		28,30 ± 7,05	<i>no similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	29,14		32,14	<i>no similares</i>
ED	1,1107 (< 0,001)		107,58 - 114,67	<i>no similares</i>
ABC	1,1227 (< 0,001)		107,73 - 116,99	<i>no similares</i>
CBZ-B vs. CBZ-C				
<i>f₂ clásico</i>	31,09 (B)		25,59 (C)	<i>no similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	31,23 ± 3,83		25,80 ± 3,80	<i>no similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	30,86		38,31	<i>no similares</i>
ED	1,1765 (< 0,001)		115,76 - 119,57	<i>no similares</i>
ABC	1,1684 (< 0,001)		114,14 - 119,60	<i>no similares</i>
CBZ-B vs. CBZ-D				
<i>f₂ clásico</i>	27,26 (B)		20,76 (D)	<i>no similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	27,35 ± 3,00		20,91 ± 2,81	<i>no similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	35,59		44,10	<i>no similares</i>
ED	1,1744 (< 0,001)		115,02 - 119,92	<i>no similares</i>
ABC	1,1656 (< 0,001)		113,80 - 119,38	<i>no similares</i>
CBZ-B vs. CBZ-E				
<i>f₂ clásico</i>	27,00 (B)		20,69 (E)	<i>no similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	27,25 ± 4,43		20,99 ± 4,08	<i>no similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	36,62		44,36	<i>no similares</i>
ED	1,1792 (< 0,001)		115,97 - 119,90	<i>no similares</i>
ABC	1,1844 (< 0,001)		114,62 - 122,40	<i>no similares</i>
CBZ-C vs. CBZ-D				
<i>f₂ clásico</i>	40,58 (C)		40,58 (D)	<i>no similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	39,85 ± 4,82		39,85 ± 4,82	<i>no similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	14,44		13,08	<i>similares</i>
ED	1,0064 (0,4824)		98,83 - 102,49	<i>similares</i>
ABC	1,0045 (0,8525)		98,63 - 102,30	<i>similares</i>
CBZ-C vs. CBZ-E				
<i>f₂ clásico</i>	44,28 (C)		44,28 (E)	<i>no similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	43,28 ± 8,24		43,28 ± 8,24	<i>no similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	12,71		11,47	<i>similares</i>
ED	1,0023 (0,7444)		98,98 - 101,49	<i>similares</i>
ABC	1,0138 (0,3928)		98,59 - 104,24	<i>similares</i>
CBZ-D vs. CBZ-E				
<i>f₂ clásico</i>	72,07 (D)		72,07 (E)	<i>similares</i>
<i>f₂ promedio</i>	63,30 ± 11,11		63,30 ± 11,11	<i>similares</i>
<i>f₁ clásico</i>	3,98		3,96	<i>similares</i>
ED	0,9941 (0,7640)		97,47 - 101,39	<i>similares</i>
ABC	0,9747 (0,6136)		93,42 - 101,70	<i>similares</i>

Analizando la tabla anterior se observa que así como el par de productos D-E es el único que resulta similar según todos los métodos de comparación empleados, los pares A*-C, A*-D, A*-E, B-C, B-D y B-E resultan no similares en todos los casos.

Para tres de los pares restantes los resultados no siempre son coincidentes. En el caso de A*-B (los dos perfiles que se encuentran por debajo del resto en la Figura 5-7) se observa que sus perfiles resultan similares de acuerdo a los factores f_1 y f_2 , pero no cuando se comparan sus ABC ni sus ED (p-valor < 0,005). Lo contrario sucede con los pares de productos C-E y C-D, si bien no resultan similares según el criterio f_2 (sí según el f_1), sí lo son sus ABC y ED.

Es interesante lo anterior, ya que ejemplifica claramente la naturaleza de ambos tipos de comparaciones. El factor f_2 da cuenta de las diferencias en el porcentaje disuelto al medir distancias verticales, sin tener en cuenta cuán separadas se encuentran en el tiempo (es decir, no considera el espaciado entre puntos). Eso genera que sea muy sensible a las diferencias que se producen en los primeros tiempos, las que tal vez no modifiquen demasiado el área ni la forma final del perfil. Si se observa la Figura 5-7 se ve que el perfil del producto C no es muy diferente a los de D y E, excepto en los dos primeros tiempos muestreados, donde se mantiene siempre por debajo. Esto tiene un gran impacto en el factor de similitud f_2 , sobre todo porque como dichos productos son de rápida disolución llegan al 85% en el segundo punto de tiempo, y entonces el f_2 sólo se calcula con los tres primeros puntos. Sin embargo, el área definida por la curva (y por lo tanto, la ED también) no difiere significativamente entre los tres productos.

Si se observan ahora los resultados *in vivo* obtenidos en voluntarios sanos para los productos A*, B, C y D (Capítulo 4), se tiene que:

- el producto B es equivalente a A* en términos de velocidad (parámetro C_{max}/ABC_{0-t} bioequivalente) pero no en cantidad (ABC_{0-t} , ABC_{0-inf} y C_{max} no BE);
- C y D son equivalentes en cantidad (ABC_{0-t} y C_{max} BE) y casi en velocidad (el intervalo del 90% de confianza para el parámetro C_{max}/ABC_{0-t} es 78,2-122,9%).

Estos resultados son perfectamente coherentes con nuestro análisis anterior: el resultado arrojado por el factor f_2 se relaciona con la velocidad *in vivo* mientras que ABC y ED dan cuenta de la cantidad disponible.

El problema se plantea cuando se debe responder a la pregunta acerca de si los perfiles (A con B, C con D y C con E) son similares o no. Si, al igual que en el caso de OxCBZ, tenemos en cuenta que el objetivo de este tipo de comparaciones es, de alguna manera, la predicción de los desempeños que se observarían *in vivo*, la respuesta debería ser negativa, ya que la misma definición de bioequivalencia implica similitud en velocidad y cantidad de manera simultánea.

De la discusión de resultados de OxCBZ había quedado pendiente el tema del valor límite de la especificación para el factor f_2 . De acuerdo al análisis anterior, nuestros resultados *in vivo* apoyarían el valor actual de la especificación, es decir, $f_2 \geq 50$ para concluir similitud, al menos en términos de velocidad. Por lo tanto, creemos que la especificación $f_2 \geq 50$ es correcta o tal vez algo permisiva para el establecimiento de similitud entre perfiles, sobre todo cuando se desea establecer como estudio preliminar o predictivo del desempeño *in vivo* de dichos productos.

Cabe destacar que los autores que consideraron muy estricta la exigencia de $f_2 \geq 50$ para perfiles similares (Polli et al., 1997) se basaron en resultados obtenidos con comprimidos de Metoprolol tartrato (formulaciones con valores de f_2 hasta 17,7 resultaban bioequivalentes), a pesar de tratarse de un principio activo de clase I del BCS (Yu et al., 2004), es decir, para el que la disolución no es la etapa limitante de la absorción. Por el contrario, en nuestro caso CBZ pertenece a la clase II del BCS, por lo que la disolución es la etapa limitante de la absorción y resulta, por tanto, una droga más adecuada para sacar conclusiones que relacionen los resultados *in vitro/in vivo*.

Por otro lado, la comparación con los resultados *in vivo* apoya lo que ya se había discutido para OxCBZ: que los métodos estadísticos y los dependientes del modelo son demasiado discriminantes y exigentes para este tipo de comparaciones.

Discusión y conclusiones parciales

A pesar de que el principio de transitividad se asume como cierto durante los ensayos de bioequivalencia, los resultados obtenidos en la sección 5.1 se encuentran de acuerdo a los de Benet & Goyan, Anderson & Hauck y Midha y colaboradores (Anderson & Hauck, 1996; Benet & Goyan, 1995; Midha et al., 1998) con respecto a la falta de fundamento de dicha presunción: el principio de transitividad no se cumple de manera general y, por lo tanto, representa un riesgo a la hora de determinar el intercambio de un producto por otro. La única similitud que estaría asegurado por los estudios de BE sería entre el de un producto dado y el líder contra el cual demostró ser BE.

Las posibles desviaciones al principio de transitividad se deben considerar especialmente en el caso de:

- principios activos altamente permeables, para los que la disolución representa la etapa limitante de la velocidad de absorción;
- principios activos de estrecho margen terapéutico (FEMTs), para los que pequeñas diferencias en su biodisponibilidad pueden producir grandes diferencias terapéuticas.

Una alternativa sería recomendar a las industrias farmacéuticas la demostración de BE no solo respecto al producto de referencia sino también a todos los demás productos existentes en el mercado. Dicha información estaría disponible tanto para los profesionales médicos como farmacéuticos y se convertiría en un sustento seguro para sustituciones e intercambios racionales. Esta recomendación, si bien implicaría una gran inversión de parte del sector, resultaría en un beneficio importante para los pacientes en general, quienes podrían contar con una mayor oferta de potenciales intercambios, todos igualmente seguros.

Sin embargo, y como se establece en las conclusiones (Capítulo 7), creemos que el problema radica en la sobreexigencia que se ha impuesto a la prueba de BE, al pretender que sea garantía de la intercambiabilidad entre productos. Si se abandona esa idea y simplemente se considera a la BE como metodología experimental para garantizar la equivalente calidad biofarmacéutica de los medicamentos, no solo se evitan los problemas derivados de la transitividad sino también los potenciales riesgos asociados a los intercambios.

En la segunda parte de este capítulo se analizaron diversos métodos de comparación de perfiles de disolución y a partir de la discusión de los resultados obtenidos se llegó a dos conclusiones principales:

- el factor de similitud f_2 es el método con la mejor relación entre ventajas e inconvenientes a la hora de comparar perfiles de disolución, principalmente si se trata de productos de diversos orígenes para los que se quiere predecir su desempeño *in vivo*;
- resulta conveniente acompañar el valor informado del f_2 con alguna otra medida como ABC y/o ED, de manera de lograr un resultado más robusto tanto por si el valor de f_2 fuera muy cercano a la especificación como si fuera < 50 por diferencias en los primeros tiempos (idea de *velocidad* de absorción).

En cuanto a los métodos dependientes del modelo ensayado, nuestros resultados y conclusiones estuvieron de acuerdo, entre otros, con los de Adams y colaboradores, quienes concluyeron, luego de analizar distintos modelos no lineales para describir perfiles de disolución, que dichos métodos resultaron ser “más informativos y discriminantes” que el factor de similitud f_2 (Adams et al., 2002). Estos métodos serían de elección si lo que se desea es un análisis detallado de los perfiles, evaluando por ejemplo el cambio producido por alguna modificación en la fórmula, en el proceso de producción, cambio de maquinaria, de escala, etc. Sin embargo, resultan demasiado exigentes y engorrosos para el uso aquí propuesto.

Respecto de los métodos estadísticos basados en ANAVA, nuestras conclusiones apoyan lo encontrado por Polli y colaboradores (Polli et al., 1996 y 1997), quienes concluyeron que dichos ensayos identifican diferencias estadísticas y no farmacéuticas entre perfiles de disolución. Es decir, la equivalencia estadística sería que los perfiles no difieran al 95% de confianza, mientras que la equivalencia farmacéutica significa que las curvas de disolución se encuentren dentro de determinadas especificaciones. Por lo tanto, resultan sobre-discriminantes y no serían aplicables a la comparación de perfiles de disolución.

Por esto, creemos que el factor de similitud f_2 resulta idóneo para juzgar la equivalencia de la disolución entre dos productos, y que la medida de otros parámetros como ABC y ED brinda una información valiosa para complementar el resultado de la comparación, generando junto con el f_2 un resultado robusto y confiable. Estudios previos (Anderson et al., 1998; Polli et al., 1997) ya habían encontrado que la comparación de perfiles mediante el uso de la ED y ABC no sólo genera resultados comparables a otros métodos sino que es la metodología de elección cuando se desea una comparación cuantitativa de los perfiles.

Los resultados obtenidos para el principio activo Fenitoína (PHT), aunque no se discutieron en este capítulo, respaldan lo anterior: los dos productos analizados *in vivo* (productos F y G, ver Capítulo 3) resultaron ser bioequivalentes (aun de acuerdo a la metodología de bioequivalencia individual aplicada), mientras que sus perfiles de disolución solo son similares en sus ABC ($p > 0,05$), con un valor de $f_2 = 37$. De acuerdo a lo expuesto hasta aquí, si ABC da cuenta de la cantidad mientras que el f_2 se relaciona más con la velocidad, la BE entre F y G (es decir, su similar *cantidad* y *velocidad* de absorción *in vivo*) podría deberse, probablemente, a la elevada disolución encontrada para ambos productos en medio acuoso. Si bien PHT pertenece a la clase II del BCS igual que CBZ y OxCBZ (Lindenberg et al., 2005), las cápsulas analizadas presentaron una rápida disolución en agua ($> 85\%$ en 30 minutos).