



## **Guía Técnica G-BIOF 02**

**Guía para optar a bioexención de estudios de biodisponibilidad comparativa.**

Documento de consulta

**Departamento Agencia Nacional de Medicamentos  
Instituto de Salud Pública de Chile  
Mes y año**

## Contenido

1.	Introducción.....	3
1.1.	Marco legal .....	3
1.2.	Alcances .....	4
1.3.	Consideraciones generales .....	5
2.	Glosario.....	5
3.	Bioexención de acuerdo al sistema de clasificación biofarmacéutico (SCB) .....	7
3.1.	Alta solubilidad.....	7
3.2.	Alta permeabilidad.....	7
3.3.	Rápida y muy rápida cinética de liberación-disolución.....	8
3.4.	Excipientes.....	9
4.	Requisitos para optar a una bioexención por SCB.....	9
4.1.	Situaciones en donde las bioexenciones en base al SCB no son aplicables.....	9
5.	Comparación de perfiles de disolución .....	10
6.	Bioexenciones por proporcionalidad de la potencia .....	11
7.	Requisitos para optar a una bioexención basada en la proporcionalidad de la potencia.....	11
8.	Bioexenciones de los estudios de bioequivalencia para productos farmacéuticos de liberación modificada.....	12
8.1.	Comprimidos y cápsulas con recubrimiento entérico.....	12
8.2.	Comprimidos y cápsulas de liberación prolongada.....	13
	Anexo 1: Solubilidad .....	14
	Anexo 2: Permeabilidad.....	17
	Anexo 3: Presentación de resultados .....	20

## 1. Introducción

La Equivalencia terapéutica es un requisito normativo (DS 3/10) de los productos farmacéuticos de fuentes múltiples, que asegura eficacia y seguridad similar a la del producto de referencia. Este último corresponde, generalmente, al producto innovador del mercado farmacéutico, es decir, aquel para el cual la seguridad y eficacia ha sido demostrada mediante estudios clínicos propios.

De esta manera la aprobación de los estudios de bioequivalencia permite que productos de fuentes múltiples sean considerados medicamentos intercambiables con el producto de referencia, una vez otorgada la condición de equivalencia terapéutica. La necesidad de contar con productos intercambiables (DCI o de marca) se encuentra establecida en la política nacional de medicamentos del año 2004 y busca que el Estado pueda garantizar el acceso y disponibilidad a medicamentos eficaces y seguros a la población Chilena (Res. Ex. N° 515, 2004).

La presente guía recoge las recomendaciones internacionales, sea de normativas, guías, sugerencias y también las derivadas de la experiencia tanto teórica como práctica, para la realización de estudios in vitro que permite, en ciertos casos, eximirse de la realización de estudios in vivo para demostrar equivalencia terapéutica. La construcción de esta versión se orientó al objetivo de poner al día las prácticas y exigencias y se alinea como apoyo para enfrentar los requerimientos que surgen día a día, tanto en la evaluación de estudios por parte de esta agencia como en la ejecución por parte de los interesados

### 1.1. Marco legal

- **Decreto con Fuerza de Ley N° 725/1967 – MINSAL**

Aprueba el Código Sanitario

- **Decreto supremo N° 3/2010 – MINSAL**

Aprueba reglamento del sistema nacional de control de los productos farmacéuticos de uso humano.

- **Decreto Exento N° 27/2012 - MINSAL**

Aprueba norma técnica n° 131 denominada "Norma que define los criterios destinados a establecer la equivalencia terapéutica en productos farmacéuticos en Chile"

- **Decreto Exento N° 448/2012 - MINSAL**

Aprueba Norma Técnica N° 134 que "Establece especificaciones técnicas de isologo que deberá contener los rótulos de los envases de aquellos productos farmacéuticos que hayan demostrado su equivalencia terapéutica ante el ISP"

- **Decreto exento N° 500/2012 - MINSAL**

Aprueba norma técnica N° 136, nominada "Norma que determina los principios activos contenidos en productos farmacéuticos que deben demostrar su equivalencia terapéutica y lista de productos farmacéuticos que sirven de referencia de los mismos"

- **Decreto Exento N°543/12 - MINSAL**

Aprueba norma técnica N° 0139 de Buenas Prácticas de Laboratorio.

- **Resolución N° 201/15 – ISP**

Aprueba guía técnica para la realización de la validación de métodos de ensayo

- **Resolución N° 3383/16 – ISP**

Aprueba directrices generales para la ejecución de ensayos de disolución en medicamentos y otros productos sanitarios de uso humano utilizando aparatos canastillo o paleta.

- Guía Técnica para la Presentación y Evaluación de Modificaciones Post-Registro de Productos Bioequivalentes (Guía MOPRE)
- **Documentos de referencia:** Guías OMS, FDA, EMA, ICH, agencias Nivel IV de la región.

## 1.2. Alcances

Esta guía aplica para el desarrollo de estudios de bioexención para establecer equivalencia terapéutica (EQT), que complementan y clarifican los lineamientos establecidos en la "Norma que define Criterios para establecer Equivalencia Terapéutica a Productos Farmacéuticos en Chile" (DS N° 27/12).

Las bioexenciones mencionadas en la presente guía se encuentran enmarcadas en:

- a) Cambios posteriores al establecimiento de la equivalencia terapéutica cuando se modifique su fórmula, método o sitio de fabricación. (*Ver Guía MOPRE*)
- b) Productos Farmacéuticos sólidos orales de liberación inmediata, que contienen principios activos clase I y III según el SCB.
- c) Formulaciones, de liberación inmediata y modificada, proporcionalmente similares a otro producto cuya EQT haya sido demostrada mediante un estudio in vivo. (*Ver Guía G-BIOF 01*)

En la presente guía se describen los métodos recomendados para determinar la solubilidad y permeabilidad de los principios activos, junto con las características del ensayo cinético de liberación-disolución.

Esta guía aplica a la presentación de solicitudes conforme a los siguientes formularios:

- Formulario F-BIOF 04: Solicitud de autorización de centros biofarmacéuticos para realizar estudios in vitro para optar a una bioexención.
- Formulario F-BIOF 05: Solicitud de Autorización de Protocolo de Estudios In Vitro para optar a Bioexención de Estudio de BE In Vivo para demostrar Equivalencia Terapéutica (EQT)
- Formulario F-BIOF 06: Presentación de Resultados de Estudios de Bioexención por Sistema de Clasificación Biofarmacéutica

- Formulario F-BIOF 07: Presentación de Resultados de Estudios de Bioexención en Base a la Proporcionalidad de la potencia.

### 1.3. Consideraciones generales

Los estudios de bioexención deben ser realizados en centros autorizados/reconocidos por el Instituto de Salud Pública de Chile o en centros autorizados por Agencias de alta vigilancia sanitaria (Numeral 1.15 Norma técnica de Bioequivalencia, Decreto exento 27/12 - Aprueba Norma Técnica Nº 131 Nominada "Norma que define los criterios destinados a establecer la Equivalencia Terapéutica en productos farmacéuticos en Chile").

En el caso de estudios de bioexención por proporcionalidad de la potencia, no es requisito que el centro esté autorizado por el ISP, cuando este estudio forma parte del desarrollo del producto farmacéutico. De acuerdo a lo anterior podrán realizar este tipo de estudios, los laboratorios fabricantes, teniendo en consideración que se debe cumplir con las buenas prácticas (BPX).

En cuanto a la calidad farmacéutica del producto a evaluar, los estudios de bioexención deben ser realizados con un lote de producción que asegure su reproducibilidad en el tiempo, es decir que no existan cambios en la formulación o en su proceso productivo, lo cual puede alterar el desempeño del producto. En el caso de requerir modificaciones, se debe evaluar el impacto de dichos cambios en el desempeño (Guía Técnica para la Presentación y Evaluación de Modificaciones Post-Registro Sanitario (MOPRE)).

Para aquellos casos en donde surjan dudas o dificultades, se sugiere presentar al ISP en una primera instancia el protocolo de ensayos de bioexención, siguiendo las directrices de los formularios correspondientes.

La documentación e información necesaria para respaldar una solicitud de evaluación de estudio in vitro, requiere, de acuerdo a las buenas prácticas de laboratorio y documentación, elaborar un documento con el diseño detallado del estudio a realizar, el cual puede ser presentado al Instituto de Salud Pública en forma previa y voluntaria para obtener la autorización respectiva según formulario **F-BIOF 05**, última versión.

## 2. Glosario

**Alternativas farmacéuticas (OMS):** son aquellos productos que contienen el/los mismo(s) principio(s) activo(s) pero en diferentes formas de dosificación (comprimidos, cápsulas, entre otros), potencia, y/o forma química (ej. Diferentes sales o ésteres). Las alternativas farmacéuticas entregan la misma molécula por la misma vía de administración pero no son equivalentes farmacéuticos. Pueden o no ser equivalentes terapéuticos con el producto comparador.

**Biolote (del inglés biobatch):** Lote del producto formulado con el propósito de realizar una evaluación farmacocinética en un estudio de bioequivalencia/bioexención. Las muestras del producto prueba deben ser obtenidas de un lote escala 1:10 o un lote

industrial de 100,000 unidades, el que sea mayor. Debe cumplir con la norma oficial de Buenas Prácticas de Manufactura.

**Equivalentes farmacéuticos:** Productos farmacéuticos que contienen idénticas cantidades de los mismos principios activos o sus mismas sales o ésteres, presentados en idéntica forma farmacéutica y vía de administración y que cumplen con las mismas o comparables especificaciones de calidad, pero que no necesariamente contienen los mismos excipientes. La equivalencia farmacéutica no implica necesariamente equivalencia terapéutica.

**Equivalentes terapéuticos:** Equivalentes o alternativas farmacéuticas que cumplen con las mismas o comparables especificaciones de calidad y que al ser administrados bajo las mismas condiciones para la misma indicación, sus efectos, con respecto a eficacia y seguridad, son esencialmente los mismos, todo ello determinado por estudios apropiados (estudio comparativo de biodisponibilidad, farmacodinámico, clínico o *in vitro*). Tales productos deben ser fabricados bajo buenas prácticas de manufactura y un control de proceso que permita su reproducibilidad en el tiempo.

**DCI:** Denominación común internacional.

**Excipiente:** Cualquier materia prima destinada a la farmacotecnia de la forma farmacéutica, utilizada en la manufactura de los productos farmacéuticos.

**Estudio cinético de disolución comparativo:** Prueba *in vitro* que, mediante condiciones experimentales científicamente definidas, permite establecer la comparación del perfil cinético de disolución de un principio activo desde una forma farmacéutica sólida respecto de un referente. Se considera discriminativo cuando este ensayo permite evidenciar las diferencias de la liberación del principio activo cuando se modifica la formulación.

**Producto de fuente múltiple:** son productos equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas que pueden o no ser equivalentes terapéuticos. Los productos farmacéuticos de fuentes múltiples que son equivalentes terapéuticos son intercambiables con el producto de referencia.

**Producto de referencia o comparador (R):** Producto determinado por la autoridad sanitaria como tal, respecto del cual se compara otro que requiere evaluación de su equivalencia terapéutica.

**Producto comparador para estudio de bioexención por proporcionalidad de la potencia:** Producto fabricado por el mismo laboratorio productor que el producto en estudio, el cual ha demostrado EQT mediante estudio de biodisponibilidad comparativa in vivo

### 3. Bioexención de acuerdo al sistema de clasificación biofarmacéutico (SCB)

El SCB es un marco científico y técnico, aplicable a forma farmacéutica sólidas orales de liberación inmediata (FFSO-LI) que permite clasificar los principios activos en base a su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal. Cuando lo anterior se combina con la cinética de disolución y la evaluación crítica de los excipientes del producto farmacéutico, el SCB considera los factores principales que gobiernan la velocidad y la cuantía de la absorción (exposición) del fármaco a partir de la forma farmacéutica.

**Tabla: Clasificación del principio activo de acuerdo al SCB**

CLASE	SOLUBILIDAD	PERMEABILIDAD
I	ALTA	ALTA
II	BAJA	ALTA
III	ALTA	BAJA
IV	BAJA	BAJA

#### 3.1. Alta solubilidad

Un principio activo es considerado altamente soluble cuando la mayor potencia registrada en el país sea soluble en 250 mL o menos de medio acuoso en el rango de pH 1,2 – 6,8. Por ejemplo, si un principio activo se encuentra en forma de comprimidos de 500 mg, 850 mg y 1000 mg, en una FFSSO-LI, ese principio activo se considera altamente soluble cuando la mayor potencia (1000 mg) es soluble en 250 mL o menos, en todo el rango de pH 1,2 – 6,8 (*Ver anexo solubilidad*).

#### 3.2. Alta permeabilidad

Un principio activo es considerado altamente permeable cuando la extensión de la absorción en humanos es 85% o más basado en la determinación de balance de masa o en comparación con una dosis intravenosa (biodisponibilidad absoluta). El estudio debe ser realizado utilizando la potencia más alta, justificando el uso de otra potencia. (*Ver anexo permeabilidad*)

Otros métodos aceptados para determinar la alta permeabilidad del principio activo son:

- Perfusión intestinal en humanos

- Perfusión intestinal en animales in situ o in vivo
- Permeabilidad a través del cultivo de monocapas de células epiteliales

Pueden ser aceptados datos bibliográficos obtenidos de publicaciones, siempre que se enmarquen en lo descrito anteriormente y que la publicación completa sea adjuntada a la solicitud.

Son insuficientes los datos obtenidos de forma predictiva (por ejemplo LogP).

### **3.3. Rápida y muy rápida cinética de liberación-disolución**

Un producto farmacéutico será considerado de rápida disolución cuando el 85% de la cantidad etiquetada del principio activo se disuelve en 30 minutos o menos, y será considerado de muy rápida disolución cuando se disuelva en 15 minutos o menos en las siguientes condiciones:

Temperatura:  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  utilizando el aparato 2 (paletas) a 50 rpm o el aparato 1 (canastillo) a 100 rpm y 900 mL o menos de los siguientes medios:

- Solución de pH 1,2 (HCl 0,1 N o fluido gástrico simulado USP sin enzimas)
- Solución buffer acetato pH 4,5
- Solución buffer fosfato pH 6,8 (o fluido intestinal simulado USP sin enzimas)

Son aceptables soluciones buffer alternativas que presenten el mismo valor de pH y capacidad amortiguadora, siempre y cuando se demuestre que éstos no afecten propiedades fisicoquímicas del medio, por ejemplo fuerza iónica, que pudiesen alterar la cinética de liberación-disolución del principio activo desde el producto farmacéutico.

Podrán utilizarse enzimas (por ej. pepsina a pH 1,2 y pancreatina a pH 6,8) cuando se detecte el fenómeno de entrecruzamiento (cross-linking) en aquellos productos farmacéuticos que contengan gelatina (ej. Cápsulas).

No deben utilizarse surfactantes en el medio de disolución.

El uso de velocidades de agitación distintas a las señaladas, deberán ser justificadas.



### 3.4. Excipientes

Aunque el impacto de los excipientes sobre la absorción y solubilidad de principios activos clase I es considerado como poco probable, no puede ser completamente excluido de un análisis. Así es, que para los API clase I, se aconseja que los excipientes que puedan afectar la biodisponibilidad, sean iguales en composición y similares en cantidad, entre el producto en estudio y el producto de referencia, mientras que los demás excipientes deberán encontrarse en cantidades adecuadas para la función prevista.

Si la bioexención se aplica a fármacos clase III, la composición cualitativa de los excipientes debe ser la misma. Esto debido a que los excipientes pueden tener un mayor impacto en la absorción de fármacos de baja permeabilidad. Por otro lado la cantidad de ellos debe ser similar, de este modo se podría excluir los diferentes efectos en los transportadores de membrana.

El titular debe informar la función de los excipientes utilizados y si alguno de ellos podría afectar la biodisponibilidad y/o la biodisponibilidad del principio activo.

Los excipientes que pueden afectar la biodisponibilidad tales como el sorbitol, manitol, lauril sulfato de sodio y otros surfactantes, podrían tener impacto en la motilidad gastrointestinal, interacciones con el principio activo (ej. Formación de complejos), permeabilidad del API o interacción con transportadores de membrana.

## 4. Requisitos para optar a una bioexención por SCB

Fármacos clase I en donde el producto en estudio y el producto de referencia presentan rápida o muy rápida disolución en los tres medios y sus perfiles de disolución sean similares. Las cantidades de los excipientes que pueden afectar la biodisponibilidad deben ser cualitativa y cuantitativamente similares

Fármacos clase III, en donde el producto en estudio y el producto de referencia presentan una muy rápida disolución en los tres medios. Los excipientes deben ser cualitativamente los mismos y cuantitativamente similares.

\* En el caso de no cumplirse lo anterior, deberá demostrar de manera experimental que los excipientes utilizados en la formulación no influyen en la absorción del API (ver anexo permeabilidad)

### 4.1. Situaciones en donde las bioexenciones en base al SCB no son aplicables

- Productos de margen terapéutico estrecho
- Productos diseñados para ser absorbidos en la cavidad oral (p.ej., comprimidos sublinguales)

- Productos farmacéuticos que contengan principios activos clase II y IV de acuerdo al SCB

Solo cuando el balance riesgo/beneficio es aceptable en términos de la salud pública podría demostrarse equivalencia terapéutica mediante bioexenciones.

## 5. Comparación de perfiles de disolución

La evaluación de similitud de perfiles de disolución debe considerar un mínimo de 12 unidades del producto en estudio y 12 unidades del producto de referencia (es recomendado el uso de un solo lote productivo tanto para el producto prueba como para el producto de referencia). Las muestras recolectadas deben ser en un número suficiente de tiempos para caracterizar completamente el perfil de liberación-disolución.

Los tiempos de muestreo recomendando son: 5, 10, 15, 20, 30, 45 y 60 minutos

En general, los datos crudos de los estudios cinéticos podrán adaptarse al ordenamiento que se muestra en las tablas del Anexo 3. Se requiere, además la presentación de los resultados en formato electrónico Excel trabajable.

Cuando se comparen los productos en estudio (E) y de referencia (R), se deberá confrontar los perfiles cinéticos de liberación-disolución usando el factor de similitud ( $f_2$ ). Dos perfiles se consideran similares cuando el valor de  $f_2$  es  $\geq 50$ .

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

El cálculo de  $f_2$  requiere un mínimo de tres puntos temporales (excluyendo el cero) y debe considerar los tiempos hasta cuando ambos productos (E y R) se disuelvan un 85%. (No se deben considerar tiempos posteriores)

Para permitir el uso de la herramienta estadística  $f_2$ , la cual considera el uso de datos promedio, el coeficiente de variación no debe ser más del 20% en los primeros puntos temporales (hasta 10 minutos) y no más del 10% en los demás tiempos de muestreo. En el caso de no cumplir con lo anterior deberá realizar la comparación con otra herramienta estadística apropiada.

Es importante destacar que cuando el principio activo contenido tanto en el producto de referencia como en el producto en estudio, se disuelve en un porcentaje de 85% o más de la cantidad declarada del fármaco a los 15 minutos o menos, no es necesario el cálculo del

f2 y se consideran de por sí similares. De acuerdo a lo anterior se recomienda considerar el tiempo de muestreo 15 minutos como una toma de muestra fija.

## 6. Bioexenciones por proporcionalidad de la potencia

En los casos en donde exista más de una potencia, es posible bajo ciertas condiciones, que las demás potencias puedan demostrar EQT mediante estudios *in vitro* de perfiles de disolución, si las composiciones de las formulaciones entre las distintas potencias son proporcionales.

Para el propósito de esta guía, se definen como formulaciones proporcionales, a aquellas en que:

- a) El principio activo y los excipientes se encuentran exactamente en las mismas proporciones, en las diferentes potencias (ej. Un comprimido de potencia de 50 mg, contiene todos los ingredientes activos e inactivos exactamente en un 50% con respecto a un comprimido de 100 mg de potencia y el doble de un comprimido de 25 mg de potencia).
- b) Para fármacos muy activos farmacológicamente, cuya cantidad en la forma farmacéutica es relativamente baja (hasta 10 mg por unidad de dosificación), el peso total de la forma farmacéutica permanece prácticamente inalterado para todas las potencias (dentro de  $\pm 10\%$  del peso total), los mismos excipientes se emplean para todas las potencias y el cambio en la potencia se obtiene esencialmente modificando la cantidad del principio activo.
- c) Cantidades cuantitativamente similares de excipientes: Se consideran formulaciones proporcionales si al comparar las fórmulas cuali y cuantitativamente cumplen con los criterios establecidos en la Guía Técnica para la Presentación y Evaluación de Modificaciones Post-Registro de Productos Bioequivalentes (Guía MOPRE)

## 7. Requisitos para optar a una bioexención basada en la proporcionalidad de la potencia

Todas las potencias, deben ser elaboradas por el mismo fabricante mediante un proceso de fabricación similar.

La potencia más alta debe haber demostrado equivalencia terapéutica a través de un estudio de bioequivalencia *in vivo*, a la correspondiente potencia del producto de Referencia. Podrá ser aceptado un estudio de BE realizado con una potencia menor si ésta se selecciona por razones de seguridad o si el fármaco es altamente soluble y la farmacocinética es lineal en el rango terapéutico.

Los perfiles cinéticos de liberación-disolución de las otras potencias deben demostrar ser similares (empleando el factor de similitud ( $f_2$ ) u otro) a la potencia que demostró su BE mediante un estudio *in vivo*, en el medio de disolución discriminativo.

De la misma forma que se establecen las bioexenciones que se sustentan en el SCB, la comparación de los perfiles de liberación- disolución puede llevarse a cabo mediante el mismo procedimiento matemático  $f_2$  u otro método adecuado. Un valor de  $f_2$  mayor o igual a 50 (50 – 100) refleja equivalencia entre ambas curvas. (Ver punto 5 de esta guía)

Los perfiles de disolución para ambos productos (estudio y comparador) deben realizarse bajo las mismas condiciones experimentales.

Los antecedentes a presentar corresponden a los señalados en el FORMULARIO F-BIOF 07: "PRESENTACION DE RESULTADOS DE ESTUDIOS DE BIOEXENCION EN BASE A LA PROPORCIONALIDAD DE LA DOSIS" última versión.

## **8. Bioexenciones de los estudios de bioequivalencia para productos farmacéuticos de liberación modificada**

Se entiende por liberación no convencional aquel mecanismo por el cual el principio activo incorporado en una forma farmacéutica se libera en forma retardada (liberación no inmediata, desfasada) o de manera controlada (extendida en el tiempo).

Así como para los productos de liberación convencional, el primer requisito para optar a una bioexención basada en la proporcionalidad de la potencia, es que el producto de una determinada potencia posea una formulación proporcionalmente similar a la del producto que haya demostrado equivalencia terapéutica, a través de un estudio de bioequivalencia *in vivo*.

El segundo requerimiento es que las otras potencias, deban ser elaboradas por el mismo fabricante mediante un proceso de fabricación similar.

### **8.1. Comprimidos y cápsulas con recubrimiento entérico**

El medio de disolución y condiciones del ensayo de disolución, son las recomendadas para el test de disolución del producto, por ejemplo: medio tamponado ácido (pH 1,2) por 2 horas seguido por disolución en medio tampón pH 6,8.

Se debe comparar 12 unidades posológicas del producto en estudio y el producto de referencia, y los perfiles de disolución deben ser similares, mediante el mismo procedimiento matemático  $f_2$  u otro método adecuado (Ver punto 5 de esta guía)

## 8.2. Comprimidos y cápsulas de liberación prolongada

a) Para comprimidos de liberación prolongada, cuando los productos farmacéuticos tienen el mismo mecanismo de liberación del principio activo, el estudio de bioequivalencia debe realizarse en la potencia mayor. Las otras potencias pueden optar a bioexención si muestran perfiles de disolución similares al de la potencia mayor,  $f_2 \geq 50$ , en tres medios tampones diferentes (entre pH 1.2 y 6.8) y en el medio discriminativo.

b) Para comprimidos cuyo mecanismo de liberación del fármaco es a través de presión osmótica, es suficiente la comparación de perfiles de disolución en el medio recomendado para el test de disolución, utilizándose el cálculo del factor de similitud  $f_2$  si corresponde.

c) Para cápsulas con gránulos cuyas diferentes potencias se ajustan solamente por el número de gránulos que contienen el API, se considera suficiente para optar a bioexención por proporcionalidad de la potencia, la realización de un perfil comparativo en el medio de disolución discriminativo.

Para poder comparar perfiles de disolución entre dos productos con fórmulas proporcionales, así como para las bioexenciones basadas en el SCB, se puede utilizar un modelo matemático independiente tal como  $f_2$  (ver punto 5 de esta guía).

Los tiempos de muestreo recomendando son:

- Para productos de liberación prolongada de 12 horas: 1, 2, 4, 6, 8, y 12 horas
- Para productos de liberación prolongada de 24 horas: 1, 2, 4, 6, 16 y 24 horas

## Anexo 1

### **SOLUBILIDAD DE PRINCIPIOS ACTIVOS: CONSIDERACIONES GENERALES Y SU RELACION CON EL SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICO (SCB) APLICADO A BIOEXENCIONES.**

El concepto de solubilidad refleja una propiedad fisicoquímica del principio activo y esta se define como la máxima cantidad de materia prima activa, que se logra solubilizar en un determinado solvente a una determinada temperatura, dicho de otra manera, la solubilidad corresponde a la cantidad máxima de soluto que pasa de fase sólida a solución, para formar una mezcla homogénea a una determinada temperatura, en un medio específico.

Dentro de las metodologías existentes para la medición de la solubilidad de los fármacos, el método tradicional, y que es además considerado el gold estándar, con el que deben validarse las nuevas metodologías (como por ejemplo los métodos potenciométricos u otros aceptados internacionalmente) corresponde a la medición de la solubilidad termodinámica por el método de agitación de matraces saturados propuesto por Higuchi y Connors en el año 1965. Este método parte de la premisa de que para poder cuantificar la solubilidad, la fase sólida (soluto) debe alcanzar un estado de equilibrio con la fase líquida (solvente). Para lograr esta condición de equilibrio, se debe añadir un exceso de muestra sólida con el objetivo de asegurar que coexista el soluto y el solvente en forma simultánea, esto es, asegurar que se ha llegado a saturación.

Es importante señalar que no existe un tiempo único de agitación que permita llegar al plateau de solubilidad (solución saturada) ya que va a depender de las características intrínsecas de la materia prima y en donde tiempos menores de agitación conllevarían a la obtención de concentraciones más bajas que la medida en el plateau de solubilidad.

Una vez que ha transcurrido el tiempo de agitación, se debe realizar una separación de la solución saturada (fase líquida) desde donde se cuantificará la máxima cantidad de fármaco soluble. Esta separación puede realizarse mediante técnicas sencillas como filtración.

De acuerdo al sistema de clasificación biofarmacéutico (SCB), un principio activo se considerará altamente soluble cuando la potencia más alta del medicamento registrada en el país, sea soluble en 250 mL de medio acuoso o menos, dentro de todo el rango de pH fisiológico, pH 1,2 – 6,8 a 37°C

Para poder cuantificar y clasificar la solubilidad de un principio activo de acuerdo al SCB, se debe determinar la solubilidad termodinámica en al menos los medios tamponados pH 1,2; 4,5 y 6,8, y si corresponde, a los  $\text{pH}=\text{pK}_a$  y  $\text{pH}=\text{pK}_a \pm 1$  de la molécula (si es que fuese de interés su medición (pH entre 1,2 – 6,8)).

La solubilidad intrínseca podrá observarse fácilmente graficando las concentraciones obtenidas en cada uno de los medios tamponados (perfil pH-Solubilidad), siendo esta, la concentración más baja encontrada.

De acuerdo a la siguiente ecuación, se podrá clasificar al principio activo como de alta o baja solubilidad conforme al cálculo del número de dosis ( $D_o$ ).

$$D_o = \frac{M_o / 250}{C_s}$$

$D_o$ = Número de dosis

$M_o$ = Dosis máxima (mg)

$C_s$  = Solubilidad intrínseca (mg/mL)

Cuando el número de dosis,  $D_o$ , sea menor o igual a 1 el principio activo se considerará como de alta solubilidad, mientras que cuando el  $D_o$  sea mayor a 1, el principio activo será clasificado como de baja solubilidad.

Teniendo siempre presente la definición establecida anteriormente, "un principio activo se considerará altamente soluble cuando la potencia más alta del medicamento registrada en el país, sea soluble en 250 mL de medio acuoso o menos, dentro de todo el rango de pH fisiológico, pH 1,2 - 6,8 a 37°C", es que la alta solubilidad de un principio activo puede ser demostrada solubilizando al menos 2-3 veces la potencia más alta registrada del principio activo en 250 mL de medio acuoso, agitando la solución/dispersión por el tiempo necesario y evaluar si efectivamente el principio activo es altamente soluble en los medios tamponados pH 1,2; 4,5 y 6,8, y si corresponde, a los  $pH=pK_a$  y  $pH=pK_a \pm 1$  de la molécula (si es que fuese de interés su medición (pH entre 1,2 - 6,8)).

El método de agitación de matraces, al ser una medición de concentración a un pH determinado, concentración que dependerá de la acidez del medio, deberá medirse y registrarse el pH antes y después del ensayo. Las variaciones de pH permitido durante el ensayo, corresponden a  $\pm 0.5$  unidades de pH. Variaciones mayores de pH guardan relación con el rompimiento del equilibrio ácido-base, situación que debe evitarse seleccionando una solución amortiguadora diferente, disminuyendo la cantidad de principio activo agregado u otro que estime conveniente.

Debe considerarse la realización de 3 ensayos por cada pH y cada ensayo debe ser analizado por triplicado.

Para cuantificar la concentración del principio activo en los tampones seleccionados, se debe emplear un ensayo validado que indique la estabilidad y que pueda diferenciar el principio activo de sus posibles productos de degradación.



El estudio de solubilidad es válido solo para una materia prima en particular.

El titular debe caracterizar completamente la materia prima empleada en su fabricación, lo que en algunos casos, además de la caracterización de la morfología y el tamaño de partículas, puede implicar la determinación y cuantificación de polimorfos.

La solubilidad es una de las propiedades más importantes que distingue a un polimorfo de otro, lo que se traduce en que un polimorfo pueda ser tan soluble que termine siendo tóxico, o tan insoluble que no tenga ningún efecto terapéutico.

El polimorfismo se define como la capacidad de un compuesto en estado sólido de coexistir en 2 o más formas de agrupación interna que presentan idéntica composición química.

La técnica más utilizada para poder identificar las diferentes especies polimórficas que podría adoptar el principio activo en su proceso de manufactura o cristalización, corresponde a la difracción de rayos X.

Documento de consulta



## Anexo 2

### MODELOS EXPERIMENTALES PARA DETERMINAR LA PERMEABILIDAD INTESTINAL

Un fármaco es considerado altamente permeable cuando el grado de absorción en humanos es igual o mayor del 85% de la dosis administrada, determinado mediante un estudio de balance de masas o en comparación con una dosis intravenosa de referencia, siempre que se demuestre que el fármaco es estable en el tracto gastrointestinal.

Existen otros métodos alternativos capaces de predecir la extensión de la absorción de un fármaco en humanos. Estos métodos incluyen perfusión en humanos *in vivo*, con animales *in situ*, con modelos de monocapas de células epiteliales *in vitro*. Se clasifica al fármaco que es altamente permeable cuando su permeabilidad es igual o mayor que la de un estándar interno de alta permeabilidad, por ejemplo metoprolol, labetalol o minoxidil.

#### Profármacos

La permeabilidad de los profármacos dependerá generalmente del mecanismo y del sitio (anatómico) de su conversión en el fármaco propiamente tal. Cuando se muestra que la conversión de profármaco en fármaco ocurre predominantemente después de la impregnación de la membrana intestinal, se deberá medir la permeabilidad del profármaco. Cuando esta conversión ocurre antes de la impregnación intestinal, se deberá determinar la permeabilidad del fármaco.

#### 1. Determinación de la permeabilidad en humanos

##### a) Métodos indirectos

Estudio farmacocinético de balance de masas: es un estudio farmacocinético completo que se realiza utilizando el fármaco en estudio radiomarcado. Se realiza en voluntarios sanos con un ayuno de 10 horas previas al estudio, a los que se les administra por vía oral el fármaco y luego se recolectan muestras de sangre, orina y heces con la finalidad de cuantificar el fármaco y sus metabolitos en todas las muestras biológicas obtenidas de cada voluntario. Para que se cumpla el balance de masas, la sumatoria de las cantidades cuantificadas de fármaco en plasma, orina y heces, será igual a la dosis administrada.

Estudio de biodisponibilidad absoluta: en este tipo de estudios se compara la biodisponibilidad de un fármaco administrado por vía oral con los datos de una dosis intravenosa, obteniéndose información útil sobre la distribución y eliminación del fármaco en estudio e indirectamente se determina la permeabilidad oral, la influencia de enzimas y transportadores presistémicos. El fármaco puede estudiarse en plasma sanguíneo o en orina y se debe conocer los metabolitos que se pueden encontrar en la muestra biológica

estudiada. El método analítico debe ser adecuado para cuantificar tanto el fármaco como los metabolitos. La razón entre el área bajo la curva de la dosis oral y la dosis intravenosa, permite el cálculo de la biodisponibilidad absoluta del fármaco administrado por vía oral.

## **b) Método directo**

El estudio directo de la permeabilidad en humanos, se realiza mediante la perfusión de un solo paso sin recirculación de la región del intestino donde se quiere conocer la permeabilidad de un fármaco. La determinación de la permeabilidad se basa en el cálculo de la absorción intestinal como función de la desaparición de un fármaco en el segmento estudiado, por lo que la permeabilidad intestinal reflejará la velocidad de transporte a través de la barrera epitelial del intestino, expresada en centímetros por segundo.

## **2. Determinación de la permeabilidad en modelos in vitro**

### **a) Ensayo de permeabilidad de Membrana Artificial Paralela (PAMPA)**

Es un modelo de permeabilidad no celular que proporciona un valor de la permeabilidad, solo cuando el fármaco presente una absorción transcelular pasiva, debido a que carece de transportadores y poros.

Se utiliza una placa de microvaloración con insertos de naturaleza hidrofóbica como soporte y una membrana de permeación de los compuestos en estudio formada por una mezcla de lecitina y un disolvente orgánico inerte.

### **b) Cultivo celular monocapa Caco-2**

La línea celular Caco-2 fue establecida en 1977 por Fogh y colaboradores a partir de carcinoma de colon humano. Es la única línea celular capaz de diferenciarse morfológica y funcionalmente como células con gran similitud a enterocitos de manera espontánea.

Los cultivos celulares proporcionan una metodología de predicción de la absorción oral de fármacos, utilizando monocapas celulares con un sistema de difusión entre dos compartimentos, que mimetizan el paso del fármaco desde el lumen intestinal al torrente sanguíneo

Este tipo de células presentan uniones estrechas (tight junctions) además de una clara polarización (cara apical y basal). Con esta línea celular es posible investigar si un fármaco es transportado de forma activa o pasiva a través del epitelio intestinal. Esta línea celular contiene además hidrolasas, enzimas de fase III como la glicoproteína-P asemejándose así al lumen intestinal.

Se debe tener en cuenta que los valores de los resultados de los ensayos de permeabilidad obtenidos por un fármaco en un laboratorio, serán distintos a los que se realicen en otro laboratorio, debido a la variabilidad en las condiciones experimentales y en las propias líneas celulares.

### **3. Determinación de la permeabilidad en modelos in situ**

En los modelos in situ, el aporte neural, endocrino, sanguíneo y linfático de la zona en estudio permanece intacto y por tanto, son sensibles a influencias farmacológicas y fisiológicas. Dentro de estos modelos se pueden realizar dos métodos:

#### **a) Método de paso único sin recirculación (single pass):**

En este método el segmento del intestino que se desea estudiar, se perfunde a velocidad controlada con la solución del fármaco. Con esta técnica se puede controlar la concentración del fármaco, el pH, la osmolaridad y la velocidad de entrada del mismo. El cálculo de la permeabilidad se realiza por medida de la desaparición del fármaco del lumen intestinal, en estado estacionario.

#### **b) Método de Doluisio o in situ con recirculación (closed loop):**

En este método la solución del fármaco en estudio se mantiene en el segmento intestinal del cual se toman muestras para observar la desaparición del fármaco.

### **4. Estudios de mecanismos de inhibición**

Con estos estudios se puede evaluar la capacidad de ciertos agentes inhibidores (por ejemplo excipientes, fármacos en asociación) de provocar una menor absorción, y por tanto disminuir la permeabilidad del fármaco. Se comparan los resultados obtenidos entre el fármaco en solución libre y el fármaco inhibidor.



% mayor/m enor										
Promedio										
DS										
%CV										

Nota: Los tiempos de muestreo dependerán de cada producto en estudio.

- Se deberá comunicar el porcentaje de fármaco disuelto en cada intervalo de prueba, especificado para cada unidad posológica individual. Se deberá tabular el porcentaje promedio de fármaco disuelto, el rango (mayor y menor) de disolución y el coeficiente de variación y la desviación estándar relativa.
- También se deberá incluir una representación gráfica de los perfiles de liberación-disolución promedios para el producto en estudio y de referencia en los tres medios.
- Los resultados que respalden la similitud de los perfiles de disolución entre los productos de prueba y de referencia en cada uno de los tres medios, usando el factor de similitud ( $f_2$ ), si corresponde.

Documento de consulta