



Evaluación Comparativa de la Liberación *in vitro* de una Formulación de Metformina 500 mg producida en Cuba contra Glucophage®

Caridad M. GARCÍA PEÑA*¹, Rafael LEÓN ¹,
Gerardo BARÓ ROMÁN ² & Vivian MARTÍNEZ ESPINOSA ¹

¹ Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM).

Ave. 26 # 1605 Esq. Puentes Grandes. Plaza de La Revolución. C. Habana. Cuba.

² Centro de Inmuno Ensayo. Calle 134 y 25. Reparto Cubanacán. Playa. C. Habana. Cuba.

RESUMEN. Se compararon los perfiles de disolución de las tabletas de Metformina 500 mg de producción cubana y de Glucophage® (Laboratorios Bristol-Myers Squibb Co.), para demostrar su similitud. También se realizó la comparación en varios medios de disolución a diferentes pH para evaluar una posible bioexoneración. Para la cuantificación del principio activo se utilizó un método por CLAR previamente validado. La comparación se realizó en base a los factores de diferenciación y similitud, los resultados mostraron que no existen diferencias en los perfiles de liberación para los ensayos de producción nacional y del producto innovador, así como, para los diferentes medios de disolución a los pH utilizados.

SUMMARY. "Comparative Evaluation of the *In Vitro* Release of a Metformin 500 mg Preparation Made in Cuba against Glucophage®". Dissolution's profiles of Metformina 500 mg tablets (CIDEM, Cuba) and Glucophage® (Bristol-Myers Squibb Co. Laboratories) were compared to demonstrate their interchangeability. A comparison was also developed using several dissolution mediums, with different pH values, in order to evaluate a possible bioexoneration. A previously validated HPLC method was used to quantify the active principle and the comparison was carried out on the basis of differentiation and similarity factors. Results showed no difference between the release profiles of both formulations, for the different dissolution mediums assayed.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de nuevas formulaciones genéricas de medicamentos requiere la realización de estudios tanto *in vitro* como *in vivo* que pongan de manifiesto que estos son capaces de aportar la misma cantidad de principio activo que los ya establecidos. La biodisponibilidad de un producto farmacéutico puede variar de un laboratorio a otro e incluso en un mismo laboratorio pueden apreciarse diferencias relevantes entre los distintos lotes de fabricación.

La liberación *in vitro* de un fármaco a partir de la forma farmacéutica que lo contiene depende de las características fisicoquímicas del propio fármaco, de los excipientes empleados y de la tecnología utilizada para su fabricación; aunque éste se realice bajo las mismas condiciones, las curvas de disolución de un mismo fár-

maco dosificado a la misma dosis pero en formulaciones distintas pueden ser muy diferentes^{1,2}. Es por ello que los estudios comparativos de disolución *in vitro* son útiles cuando la disolución es el paso limitante de la absorción y posibles para aquellos fármacos clase II^{3,4}; además permiten establecer especificaciones de disolución, predecir de manera adecuada el perfil *in vivo* a través del modelo encontrado y de las condiciones de prueba (perfil *in vitro*), anticipar un evento, formulaciones nuevas, cambios en el proceso de fabricación y, si está documentada la correlación *in vitro-in vivo*, es posible predecir el comportamiento *in vivo*, por lo que el perfil *in vivo* predicho puede ser empleado como un sustituto de bioequivalencia y por consiguiente una posible bioexoneración⁵⁻⁷.

Según los criterios de la FDA, para establecer

PALABRAS CLAVE: Intercambiabilidad, Metformina, Perfiles de disolución.

KEY WORDS: Dissolution profile, Interchangeability, Metformin.

* Autor a quien debe dirigirse la correspondencia. E-mail: caridadgp@infomed.sld.cu

criterios de correlación de liberación *in vitro* - *in vivo* se determinan los factores de diferenciación (f_1) y de similitud (f_2)^{8,9}.

Las tabletas de Metformina se indican en el tratamiento de pacientes con diabetes mellitus tipo 2, especialmente en los pacientes obesos, en quienes la restricción calórica y la actividad física no son suficientes para controlar los niveles de glucosa. En los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 (dependiente de insulina), puede desempeñar el papel de coadyuvante, mejorando el control metabólico^{10,11}.

Este trabajo tiene como objetivo realizar la comparación de los perfiles de disolución de Metformina 500 mg de producción cubana contra Glucophage® medicamento líder, con el fin de demostrar similitud en la liberación del fármaco para ambas formulaciones, confiabilidad del proceso tecnológico utilizado para su fabricación y para evaluar una posible bioexonación.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el estudio comparativo del perfil de disolución se utilizaron tres lotes de Metformina producción nacional (PN) 8001, 8002 y 8003 y un lote de Glucophage® como producto innovador. La comparación de los perfiles de disolución se realizó con el método de disolución reportado en la monografía para el control de la calidad del producto pH 6,8 (solución de fosfato de potasio monobásico), a diferentes tiempos de extracción (5, 10, 20, 30, 45 y 60 min). De igual forma se realizó la comparación en diferentes medios de disolución bufereados a pH 4,5 (solución amortiguadora-acetato de amonio) y pH 1,2 (solución de ácido clorhídrico 0,1 N), los cuales se prepararon como se describe en la bibliografía¹²; en este caso los tiempos de extracción para establecer la comparación fueron 5, 10, 20 y 30 min.

Para la cuantificación del principio activo se empleó un método por Espectrofotometría que se basa en la separación selectiva de la Metformina en presencia de los excipientes de la formulación y/o sustancia relacionadas. Se mide la absorbancia de las soluciones muestra y de referencia en un Espectrofotómetro UV adecuado a 233 nm, usando medio de disolución como solución blanco. Todos los reactivos empleados fueron de calidad puros para análisis.

Se utilizó un disolutor ERWEKA de 6 plazas con aparato 1 (paleta) y 900 mL de medio de disolución a una temperatura constante de 37 ± 1 °C y 75 rpm de velocidad de agitación^{13,14}.

Los datos de porcentaje de principio activo liberado contra tiempo para los lotes de producción nacional y el medicamento líder fueron evaluados según los criterios de la FDA para la liberación *in vitro* y se determinaron los factores de diferenciación (f_1) y de similitud (f_2), para lo que se establece que dos curvas son iguales si $f_1 < 15$ y cercano a cero y si $f_2 \geq 50$ (límite inferior) y como límite superior f_2 cercanos a 100.

El procesamiento estadístico se llevó a cabo mediante el programa Microcal Origin (Versión 7.0), utilizando para el análisis de las medias un ANOVA de una sola vía con un nivel de significación de 0,05.

RESULTADOS

En las Tablas 1 y 2 se reportan los resultados de las medias de 12 tabletas, desviaciones estándares y coeficientes de variación de los porcentajes de Metformina disuelta, muestreadas a los diferentes intervalos de tiempo en cada caso. Como resultado de la comparación estadística de los perfiles de disolución entre los porcentajes de liberación para los tres lotes de Metformina de producción nacional y de Glucophage® para los diferentes medios de disolución reportado en la monografía para el control de la cali-

Tiempo (min)	Líder			Lote 8001			Lote 8002			Lote 8003		
	Media	DSV	CV	Media	DSV	CV	Media	DSV	CV	Media	DSV	CV
5	41,96	1,46	3,47	38,75	0,98	2,53	40,95	1,21	2,95	39,45	0,86	2,18
10	59,49	2,08	3,49	60,48	1,94	3,21	58,45	1,98	3,39	57,56	1,28	2,22
20	92,73	3,42	3,69	88,20	2,42	2,74	91,65	1,99	2,17	90,98	2,46	2,70
30	102,27	3,28	3,21	99,96	3,52	3,52	100,98	2,45	2,43	100,21	2,49	2,48
45	102,83	2,94	2,86	101,12	2,45	2,42	101,56	2,19	2,16	101,13	1,98	1,96
60	103,14	3,37	3,27	102,11	2,48	2,43	102,45	2,38	2,32	101,97	2,67	2,62

Tabla 1. Resultados de la liberación del principio activo (expresados en %) con respecto al tiempo en el método de disolución reportado en la monografía oficial para el control de la calidad del producto. **DSV:** desviación estándar, **CV:** coeficiente de variación.

Lotes		Tiempo (min)											
		pH- 1,2				pH- 4,5				pH- 6,8			
		5	10	20	30	5	10	20	30	5	10	20	30
líder	Media	38,45	58,74	90,45	100,54	40,25	59,65	91,87	101,57	41,96	59,49	92,73	102,27
	DSV	0,95	1,21	2,45	1,95	1,15	2,15	2,46	2,74	1,46	2,08	3,42	3,28
	CV	2,47	2,06	2,71	1,94	2,86	3,60	2,68	2,69	3,49	3,49	3,69	3,21
8001	Media	36,85	57,86	85,45	96,32	38,45	59,98	87,43	101,12	38,75	60,48	88,20	99,96
	DSV	1,01	2,15	2,64	2,32	0,78	1,89	2,16	2,32	0,98	1,94	2,42	3,52
	CV	2,74	3,71	3,09	2,41	2,03	3,15	2,47	2,29	2,53	3,21	2,74	3,52
8002	Media	37,89	58,87	87,02	96,45	38,97	60,12	88,54	100,28	40,95	58,45	91,65	100,98
	DSV	0,78	2,15	1,98	1,85	0,72	1,56	1,98	2,15	1,21	1,98	1,99	2,45
	CV	2,06	3,65	2,27	1,92	1,85	2,59	2,24	2,14	2,95	3,39	2,17	2,43
8003	Media	36,87	58,46	87,12	97,13	37,99	59,46	87,96	100,14	39,45	57,56	90,98	100,21
	DSV	1,03	2,19	2,75	2,46	1,16	1,45	2,78	2,56	0,86	1,28	2,46	2,49
	CV	2,79	3,75	3,16	2,53	3,05	2,44	3,16	2,56	2,18	2,22	2,70	2,48

Tabla 2. Resultados de la liberación del principio activo (expresados en %) con respecto al tiempo en los diferentes medios de disolución. **DSV:** desviación estándar, **CV:** coeficiente de variación.

	pH- 1,2			pH- 4,5			pH- 6,8		
	8001	8002	8003	8001	8002	8003	8001	8002	8003
f₁	4,14	2,84	3,07	2,16	1,84	2,64	3,04	1,48	2,77
f₂	71,89	76,46	77,63	79,16	83,31	79,48	74,69	91,28	81,83

Tabla 3. Resultados del cálculo de los factores de diferenciación y de similitud en la comparación de los perfiles de liberación del producto líder con los ensayos 8001, 8002 y 8003 de producción nacional en los diferentes medios de disolución. **f₁:** factor de diferenciación, **f₂:** factor de similitud.

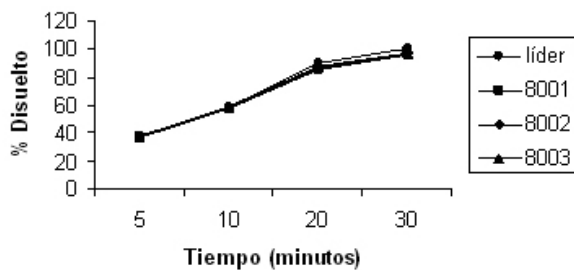


Figura 1. Comparación gráfica de los perfiles de liberación del producto líder con los ensayos de producción nacional en el método de disolución reportado en la monografía oficial para el control de la calidad del producto. pH = 1,2.

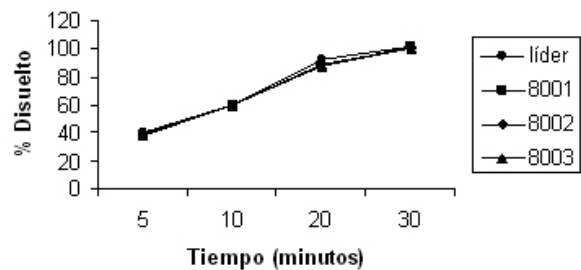


Figura 2. Comparación gráfica de los perfiles de liberación del producto líder con los ensayos de producción nacional en el medio de disolución a pH = 4,5.

dad pH (6,8) y a diferentes pH (4,5 y 1,2), demostró que no existen diferencias significativas para una probabilidad de 0,05 a todos los tiempos de muestreo. En todos los casos en 20 min se disuelve no menos del 70% de principio activo declarado en las formulaciones

En la Tabla 3 se reportan los resultados de los factores de diferenciación (f_1) y similitud (f_2)

en la comparación de los perfiles de liberación del producto líder con los ensayos 8001, 8002 y 8003 de producción nacional en los diferentes medios de disolución. Los valores de f_1 en todos los casos fue menor que 5, cercanos a cero y los de f_2 se encuentran entre 71 y 92 para los medios de disolución a diferentes pH, todos comprendidos dentro del rango de aceptación (50-100) por las regulaciones existentes para la comparación de perfiles de disolución.

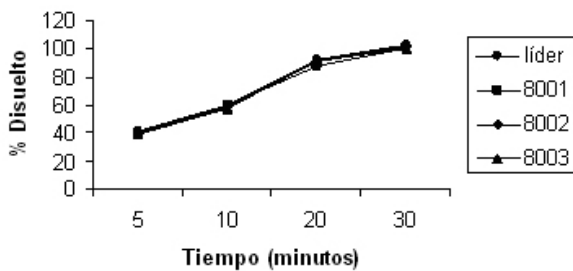


Figura 3. Comparación gráfica de los perfiles de liberación del producto líder con los ensayos de producción nacional en el medio de disolución a pH = 6,8.

En las Figuras 1-3 se muestran los gráficos de los valores medios de porcentaje de Metformina disuelta en función del tiempo para los tres lotes pruebas y del producto de referencia. El porcentaje de principio activo disuelto a los 20 min en todos los lotes estudiados se encuentran entre 85% y 93%, aproximadamente.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en los perfiles de disolución de las formulaciones de Metformina de producción nacional y del producto líder demuestran que existe similitud entre ellas. La disolución de no menos del 70% del principio activo de ambas formulaciones en los primeros 20 min se corresponde con los límites establecidos en la monografía descrita para el control de la calidad del producto; además todos los lotes cumplen con la condición establecida por la FDA que considera como bioequivalentes a nivel de liberación, dos formas farmacéuticas iguales que contengan el mismo fármaco a la misma dosis cuando la disolución demuestra que al menos el 70% del principio activo está solubilizado en 45 min y al menos el 85% en 60 min^{2,7,8}. Los valores de f_1 y f_2 obtenidos confirman que no existen diferencias entre los perfiles de liberación de los ensayos pruebas (producción nacional) y el perfil de liberación del ensayo del producto de referencia (líder), en el método de disolución reportado en la monografía oficial y en los diferentes pH. La rápida disolución del principio activo en el tiempo para ambas formulaciones obedece posiblemente a que la finalidad terapéutica de este medicamento requiere de una rápida disolución (15 min) según lo establecido por las autoridades reguladoras.

CONCLUSIÓN

Existe similitud entre el perfil de liberación de las formulaciones de producción nacional ensayadas y el producto de referencia Glucop-

hage® tanto en el medio de disolución de control de la calidad del producto como en los medios de disolución establecidos a diferentes valores de pH (1,2, 4,5 y 6,8), demostrándose confiabilidad del proceso tecnológico utilizado para su fabricación y una posible bioexoneración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sousa Lobo JM, P. (2001) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **27**: 811-7.
2. Polli, J.E. (1999) *Pharm. Dev. Technol.* **4**: 89-96.
3. Emami, J. (2006) *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **9**: 31-51.
4. FDA & Center for Drugs Evaluation and Research (CDER) (2000) *Guidance for Industry: Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage. Forms based on a Biopharmaceutics Classification System*, Disponible en <<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>>.
5. Williams, R.L. & T.S. Foster (2005) "Disolución, una perspectiva continua". En Farma. Edición especial.
6. FDA & Center for Drugs Evaluation and Research (1997). *Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms*, Disponible en <<http://www.fda.gov/cder/guidance.htm>>.
7. Federation International Pharmaceutique (1995) *FIP Guidelines for dissolution testing of solid oral products*. The Hague. Netherlands.
8. Freitag, G. (2001) *Drug Inform. J.* **35**: 865-74.
9. Mi-Chia, M., B.C. Wang, J.-P. Liu & Y. Tsong (2000) *J. Biopharm. Statist.* **10**: 229-49.
10. Hardman, J. & L. Limbird, edits. (1994) *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Tomo II. Mc Graw-Hill. México. Págs. 466-7.
11. PDR Staff (Editor), Physicians (2003) *Physicians' Desk Reference*, 57 Ed.: 332, 2193, 2905, 3270.
12. United States Pharmacopoeia (2007) *Buffer solutions*. USP **30**. Rockville, Mack Printing.
13. Hanson, W.A. (1991) *Handbook of Dissolution Testing*. 2 ed.: Aster Publishing Corporation. Eugene, Oregon, USA.
14. FDA & Center for Drugs Evaluation and Research (2000) *Guidance for Industry: Analytical Procedures and Methods Validation*. Disponible en <<http://www.fda.gov/cder/guidance.htm>>.