

Artículo original

Comparación de los perfiles de disolución de cápsulas de cefadroxilo comercializadas en Venezuela.

Comparison of dissolution profiles of cefadroxil capsules marketed in Venezuela.

Colón-Useche Sarín^{1*}, Guillén Ana¹, Peña Jesús², Lobatón Robert¹, León Andrés¹, Calderón Laura¹.

¹Laboratorio de Análisis de Medicamentos, Departamento de Análisis y Control. ²Grupo de Investigación en Toxicología Analítica y Estudios Farmacológicos, Departamento de Toxicología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida C.P. 5101, República Bolivariana de Venezuela.

Recibido febrero 2016 - Aceptado junio 2016

RESUMEN

Las bioexenciones permiten el desarrollo de medicamentos genéricos y consisten en sustituir los estudios de bioequivalencia en humanos por comparaciones de los perfiles de disolución de la formulación en desarrollo y el producto innovador, siempre que el fármaco sea de alta solubilidad, la absorción intestinal sea por difusión pasiva y se trate de formas farmacéuticas sólidas orales de liberación inmediata. El cefadroxilo es un antibiótico cefalosporínico de amplio espectro que se expende en Venezuela en cápsulas con dosis máxima de 500 mg. El objetivo del presente estudio fue establecer si este fármaco podría ser un candidato a una bioexención y evaluar algunos genéricos que se comercializan en el país. De acuerdo a los resultados obtenidos, el cefadroxilo es un fármaco de alta solubilidad pero sustrato de transportadores de absorción y por tanto, las formulaciones sólidas orales podrían optar a una bioexención siempre que el patrocinante haga un análisis de riesgo. Dos de las tres formulaciones estudiadas presentan perfiles de disolución similares a los del producto de referencia.

PALABRAS CLAVE

Bioexención, perfiles de disolución, cefadroxilo.

ABSTRACT

Biowaivers allow generic development the

development of generic products and consist of replacing the bioequivalence studies in humans with the comparison of dissolution profiles of the formulation development and the innovative product. This is possible when the drug is highly soluble, intestinal absorption is by passive diffusion and in oral solid dosage forms immediate release. Cefadroxil is a broad spectrum cephalosporin antibiotic that is sold in Venezuela in capsules with maximum dose of 500 mg. This study aims to establish whether this drug could be a candidate for biowaiver and evaluate some generic versions sold in the country. According to the results, cefadroxil is a drug high solubility but it is carriers substrate and therefore the solid oral formulations may be candidates to a biowaiver provided the sponsor make a risk analysis. Two of the three formulations studied have profiles similar to the reference product dissolution.

KEY WORDS

Biowaiver, dissolution profiles, cefadroxil.

INTRODUCCIÓN

En el contexto regulatorio mundial, actualmente las pruebas *in vitro* han tomado gran importancia ya que permiten la aprobación de medicamentos genéricos sin un estudio de bioequivalencia en humanos, recurriendo a las bioexenciones basadas en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutico

(SCB) [1-4]. En el caso particular de Venezuela, las Normas Venezolanas de Biodisponibilidad y Bioequivalencia de Productos Farmacéuticos, publicada en Gaceta Oficial en el año 2006, establecen las pruebas *in vitro* como herramientas para determinar la biodisponibilidad/bioequivalencia [5].

El SCB agrupa los fármacos según su solubilidad y permeabilidad. Estos parámetros, junto a la velocidad de disolución de la formulación en el lumen intestinal, son los que rigen el proceso de absorción por vía oral [6]. Mediante las bioexenciones se puede demostrar la equivalencia terapéutica de genéricos que contienen fármacos de alta solubilidad formulados como formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata por ensayos *in vitro* de velocidad de disolución, con las repercusiones positivas que supone desde el punto de vista ético y económico el reemplazo de estudios en humanos por estudios *in vitro* [7].

Durante la caracterización biofarmacéutica de un fármaco se evalúa su solubilidad y permeabilidad. Un fármaco es considerado altamente soluble siempre que la mayor dosis administrada en una toma se disuelva en 250 mL o menos de los medios amortiguados a los pH representativos del tracto gastrointestinal; generalmente se evalúan los pH 1,2; 4,5 y 6,8. El fármaco además debe demostrar que es estable en dichas condiciones de pH [4]. La solubilidad se puede determinar como concentración de saturación del fármaco en los medios amortiguados a 37°C y es importante que el método de cuantificación permita detectar los productos de degradación, si los hubiese, ya que es necesario saber si el fármaco es estable a los valores de pH del tracto gastrointestinal. Esta es la razón fundamental por la que los métodos cromatográficos son de elección en los estudios de solubilidad. Por otro lado, los fármacos pueden presentar diferentes formas cristalinas o polimorfos, que en consecuencia tendrán diferentes propiedades físicas y químicas, lo que podría influir en su solubilidad [8] y disolución [9]; y por último afectaría su biodisponibilidad. La prueba de solubilidad realizada a la materia prima con la que se elabora la forma farmacéutica candidata a bioexención permite garantizar que el comportamiento de solubilidad será el mismo en cada lote, siempre que se asegure la calidad de la materia prima empleada [2].

Un fármaco es considerado altamente permeable cuando la fracción absorbida en seres humanos es igual o mayor que 85% de una dosis administrada por vía oral en un estudio de balance de masas o en comparación con una dosis de referencia intravenosa

[1,3,4]. Existen guías regulatorias vigentes más conservadoras en las que el límite se marca en 90% [2]. La permeabilidad puede evaluarse por distintos modelos, entre los que se pueden mencionar los estudios de perfusión intestinal *in vivo* en humanos, los modelos *in situ* o *in vivo* de perfusión intestinal en animales, estudios *in vitro* empleando tejidos intestinales humanos o animales y los modelos *in vitro* de monocapas de cultivo celular. Estos modelos deben ser validados antes de ser empleados en la clasificación de fármacos [4]. Si no se dispone de algún modelo debidamente validado, se puede recurrir a una revisión bibliográfica que permita establecer si la biodisponibilidad del fármaco por vía oral es lo suficientemente alta para que sea considerado altamente permeable [2]. La permeabilidad de un fármaco puede verse afectada por el efecto de excipientes presentes en la formulación, es por ello que de acuerdo a las guías regulatorias se establece que la composición de las formulaciones a comparar sea similar en el caso de fármacos de alta permeabilidad y en aquellos de baja permeabilidad los excipientes deben ser cualitativamente los mismos y cuantitativamente muy similares [1,3,4].

En aquellos fármacos altamente solubles se comparan los perfiles de disolución del medicamento innovador y de una formulación en desarrollo. Si ambas formulaciones poseen el mismo desempeño *in vitro* en todas las condiciones luminales, se presume que se comportarán del mismo modo *in vivo* y por tanto sus biodisponibilidades serán semejantes. Es por ello que las guías regulatorias en materia de bioequivalencia y bioexenciones establecen que se deben estudiar los perfiles de disolución a los pH 1,2; 4,5 y 6,8; y si los perfiles obtenidos con ambas formulaciones son similares, se considera que los productos estudiados son equivalentes terapéuticos y por tanto intercambiables [3]. Para comparar las curvas de disolución de dos productos se utiliza el factor de similitud (f_2); un valor de entre 50 y 100 sugiere que dos perfiles de disolución son similares [1].

Las bioexenciones son una oportunidad de desarrollo de genéricos que posibilitan el acceso universal a los medicamentos y evitan que aquellas formulaciones con denominación común internacional que no han demostrado bioequivalencia, impacten de forma negativa en la salud de la población [10]. Los medicamentos

comercializados en el mercado venezolano con denominación común internacional que pertenecen al grupo de los antibióticos requieren especial atención, ya que concentraciones inadecuadas de un antibiótico por baja biodisponibilidad, puede conllevar a resistencia bacteriana [11], por ello, es de gran importancia que estos medicamentos demuestren su equivalencia terapéutica con el producto de referencia y considerando que las bioexenciones requieren una menor inversión que los estudios en humanos, es primordial establecer los antibióticos que pueden ser candidatos a esta opción para demostrar su equivalencia con el producto de referencia.

El cefadroxilo (Fig. 1) es un antibiótico de amplio espectro que pertenece al grupo de las cefalosporinas semisintéticas de primera generación. Se usa en el tratamiento de infecciones de la piel, vías respiratorias superiores y urinarias causadas por bacterias gram positivas y negativas [12].

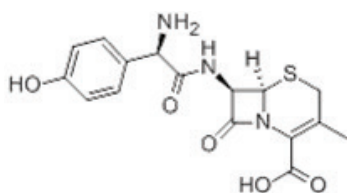


Fig. 1. Estructura química de cefadroxilo. [BOC Science. Cefadroxil - CAS 50370-12-2 URL: <http://www.bocsci.com/description.asp?cas=50370-12-2>] [13].

El cefadroxilo tiene una alta biodisponibilidad oral a pesar de su baja lipofilia. Su biodisponibilidad no se ve afectada por su administración concomitante con los alimentos y más del 90% se recupera en orina durante las 24 horas posteriores a su administración [14]. El cefadroxilo es una molécula anfótera con tres valores de pKa (3,45; 7,43 y 9,48) y puede encontrarse como catión, switerión, anión o di-anión, de acuerdo al pH; el Log P estimado es de -2,45 [15,16]. La Farmacopea de los Estados Unidos 37 (USP37) lo describe como un polvo cristalino blanco a blanquecino poco soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol, en cloroformo y en éter [17]. De acuerdo a lo reportado por el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” (INHRR) en Venezuela el cefadroxilo se comercializa en cápsulas (con una dosis máxima de 500 mg) y en la actualidad están registrados 13 productos como Especialidad Farmacéutica Genérica (EFG) aunque en ninguno de estos productos aparece publicada ninguna salvedad

que permita asumir que han demostrado la condición de bioequivalencia con el producto de referencia [18]. La Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos recomienda la bioexención basada en el SCB como opción para el desarrollo y registro de cápsulas de cefadroxilo [19], que es una opción que podría realizarse actualmente en el país para evaluar la intercambiabilidad de un genérico de dicho fármaco.

En el método de disolución, con fines de control de calidad, descrito en la USP37, el cefadroxilo se cuantifica por espectrofotometría UV a 263 nm [17]. En los estudios de perfiles de disolución se prefiere el uso de métodos de cuantificación más discriminativos que permitan observar no solo la cantidad de fármaco cedido desde la formulación al medio de disolución, sino que permita detectar productos de degradación, es por ello que se prefiere usar con fines de bioexención los métodos cromatográficos [2]. En este sentido, se debe verificar la idoneidad del uso del método de cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) y para ello se puede recurrir a la comparación de rectas de regresión obtenidas por dos métodos analíticos diferentes. En el análisis estadístico por regresión lineal de ambos métodos, la ordenada al origen de cero, el coeficiente de correlación y la pendiente de uno, indican que una muestra conduce a un resultado idéntico con ambos métodos. En la práctica se contrasta una ordenada al origen significativamente diferente de cero y una pendiente de la recta de regresión significativamente diferente de uno. Estos contrastes se realizan determinando los límites de confianza para ambas variables, generalmente al 95% de nivel de significancia [20].

El objetivo del presente estudio es comparar los perfiles de disolución de cefadroxilo del producto de referencia con los perfiles obtenidos en distintas EFG en los medios representativos del tracto gastrointestinal, como estudio preliminar a la bioexención. Se caracteriza según el SCB la solubilidad de dos patrones de cefadroxilo y se evalúa el método CLAR para cuantificar el fármaco disuelto en los perfiles de disolución.

MATERIAL Y MÉTODOS

Reactivos. Se empleó un estándar de cefadroxilo Sigma-Aldrich y dos patrones secundarios donados por dos laboratorios farmacéuticos nacionales (cefadroxilo A y B). Todos los disolventes utilizados

se adquirieron de grado CLAR (Merck® KGaA de Alemania) y el agua ultrapura obtenida de un sistema Milli-Q (Millipore®, Bedford, MA, EE.UU.). Los reactivos empleados fueron de grado analítico.

Formulaciones. Se estudiaron tres formulaciones de cefadroxilo cápsulas registradas ante el INHRR como EFG que fueron denominadas en el presente estudio como Genérico A, B y C; y el producto de referencia (Bidroxyl producido por Bristol-Myers Squibb). Las muestras de cápsulas de las cuatro formulaciones estudiadas contenían cefadroxilo 500 mg y fueron adquiridas en farmacias de la ciudad de Mérida, Venezuela.

Cuantificación de las muestras. Se empleó un cromatógrafo (Waters, EE.UU.) provisto de: bomba cuaternaria (600E), desgasificador en línea (AF), inyector automático (717 Plus) y detector UV-Vis de arreglo de diodos (Waters 2996), todos controlados por el software Empower 2. Se utilizó la columna X-Bridge C₁₈ 250 mm x 4,6 mm x 5 µm y una precolumna C₁₈ 20 mm x 4,6 mm x 5 µm (Waters, EE.UU.) a una temperatura de 35°C.

La fase móvil consistió en una mezcla de solución amortiguadora de fosfato de potasio monobásico anhidro (Riedel de Haen) 0,10 M ajustado a pH 5,0 con hidróxido de sodio 1 N y acetonitrilo (Riedel de Haen) en proporción 96:4. La velocidad de flujo fue de 1,2 mL·min⁻¹ y el volumen de inyección fue de 10 µL. La cuantificación se estableció a una longitud de onda de 230 nm [17].

Linealidad entre el método espectrofotométrico y el método CLAR. Se prepararon soluciones de cefadroxilo en agua con concentración de 2 mg/mL a partir del contenido de las distintas formulaciones estudiadas que fueron leídas en el espectrofotómetro UV-Vis Lambda 11 (Perkin Elmer, Alemania) y en el CLAR. Los datos arrojados en ambas técnicas fueron normalizados con el mayor valor, dividiendo todas las señales obtenidas entre el mismo y posteriormente se estableció la correlación lineal entre ambas señales normalizadas empleando para ello el programa estadístico IBM SPSS Statistics.

Ensayo de solubilidad. Se prepararon soluciones saturadas de cefadroxilo a los pH 1,2; 4,5 y 6,8; empleando como disolvente las soluciones amortiguadoras descritas en la USP37 [17]. La saturación fue confirmada por la verificación visual de sólido sin disolver a lo largo de todo el estudio. El ensayo se realizó en dos fases: la de agitación por ocho horas y la de sedimentación por 24 horas, tras lo cual se tomó muestra del sobrenadante de cada

muestra que fue diluida convenientemente con la solución amortiguadora correspondiente para su posterior cuantificación por CLAR. En la fase de agitación, se empleó agitador orbital Clay Adams (Parssipany, EE.UU.) con movimiento oscilante de 100 movimientos por minuto, que fue colocado dentro de la estufa Heraeusd (Alemania) a una temperatura controlada de 37 ± 0,5°C.

Una vez cuantificada la concentración de saturación se calculó el número de dosis a cada pH de acuerdo a la ecuación:

$$Dn = (Do/250)/Cs$$

En donde Dn es el número de dosis, Do es la dosis máxima y Cs es la concentración de saturación [7].

Permeabilidad intestinal. Se realizó una búsqueda bibliográfica en Pubmed con las palabras claves cefadroxilo, permeabilidad, biodisponibilidad y absorción. El resultado de la búsqueda fue revisado a fin de establecer la clasificación en el SCB en cuanto a permeabilidad.

Perfiles de disolución. Se estudiaron los perfiles de disolución a los pH 1,2; 4,5 y 6,8 de las tres formulaciones EFG y del producto de referencia. De cada formulación se ensayaron 6 unidades. Los medios fueron preparados según lo establecido en la USP37 [17]. Se usó el aparato de disolución 2 o de paletas (Hansson Research SR8PLUS, EE.UU.) a 50 rpm. El volumen de medio fue de 900 mL y la temperatura se mantuvo a 37 ± 0,5°C. Se tomaron 5 ml de muestra a los 5, 10, 15, 20, 30, 45 y 60 minutos. Cada tiempo de muestreo fue programado para que se extrajera automáticamente sin reposición de medio (Hanson Research AutoPlus DissoScan y AutoPlus MultiFill, EE.UU.). Las muestras fueron cuantificadas por CLAR.

Las representaciones gráficas de los perfiles se construyeron con el porcentaje disuelto acumulado de cefadroxilo en función del tiempo para cada formulación. La comparación de las curvas de perfiles de disolución se realizó mediante el cálculo del factor de similitud según la ecuación:

$$f_2 = 50 \cdot \log \{ [1 - 1/n \cdot \sum (Rt - Tt)^2]^{-0,5} \cdot 100 \}$$

donde n es el número de pares de puntos que se comparan, Rt es el porcentaje de fármaco disuelto desde la formulación de referencia a cada tiempo y Tt es el porcentaje de fármaco disuelto desde la formulación genérica a cada tiempo [1].

Análisis estadístico. El análisis de los datos se realizó mediante software estadístico IBM SPSS Statistics Version 19, a partir del siguiente procedimiento: para la comparación de los métodos

espectrofotometría y CLAR en la determinación de la absorbancia, se usó un modelo de regresión lineal simple y la curva de regresión lineal a través de los puntos del diagrama de dispersión. La solubilidad de los patrones de cefadroxilo A y B se compararon en base a intervalos de confianza del 99% para la diferencia de medias con muestras independientes, previa verificación del cumplimiento de los supuestos estadísticos normalidad e igualdad de varianza, en función de los estadísticos Shapiro-Wilk (para muestras pequeñas) y Levene. Para la interpretación estadística, se consideró que si p-valor es menor que 0,01 el resultado obtenido es estadísticamente significativo ($p < 0,01$).

RESULTADOS

Linealidad entre el método espectrofotométrico y el método CLAR. La gráfica de la Fig. 2 muestra la recta de regresión lineal obtenida con las señales normalizadas de los dos métodos analíticos para la misma muestra.

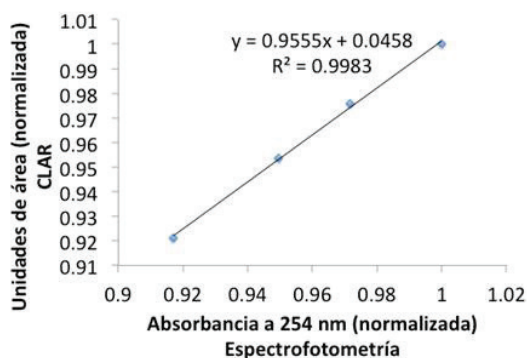


Fig. 2. Recta de regresión de las señales analíticas obtenidas por los dos métodos (CLAR y espectrofotométrico) para las mismas muestras de cefadroxilo.

TABLA 1

Parámetros de regresión lineal en la comparación de los métodos CLAR y espectrofotométrico.

Parámetro	Estimación
ANOVA del modelo de regresión	$p < 0,001$
Pendiente	0,9555
Ordenada	0,0458
Coefficiente de determinación (R^2)	0,9983
Comparación de la ordenada al origen con cero	$p = 0,2300$ (N.S.)
Existencia de pendiente	$p < 0,0010$ (A.S.)

La Fig. 2 indica que la relación entre ambos métodos es lineal casi perfecta, esto es, valores bajos observados a partir del método espectrofotométrico también se observarán mediante el método CLAR y viceversa. La pendiente de la recta de regresión es estadísticamente significativa ($p < 0,001$) o equivalentemente, se rechaza la hipótesis nula de que la pendiente es igual a cero. En consecuencia, por cada unidad de cambio observada a través del método espectrofotométrico se espera que a partir del método CLAR la absorbancia se incremente 0,9555 unidades. Respecto a la ordenada se tiene que para una absorbancia nula con el método espectrofotométrico se espera una absorbancia a partir del método CLAR de 0,0458; sin embargo, esto no resultó significativo ($p = 0,23$).

Solubilidad. La concentración de saturación de cefadroxilo para los dos patrones estudiados a los pH 1,2; 4,5 y 6,8 se muestra en las figuras 3, 4 y 5, respectivamente.

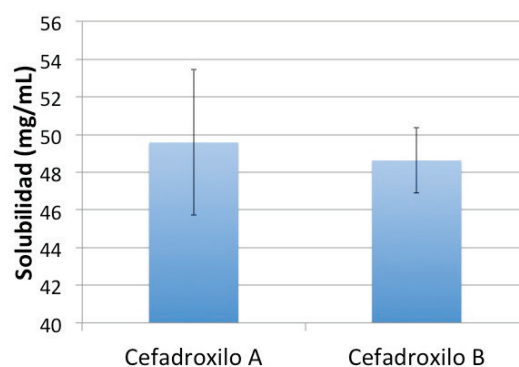


Fig. 3. Comparación de los valores de solubilidad (a saturación) determinados para los dos patrones estudiados a pH 1,2; 37°C (n=8).

La prueba de Levene para la igualdad de varianzas de los datos de solubilidad de ambos patrones de cefadroxilo a pH 1,2, arroja un p-valor de 0,2540 lo que sugiere que las varianzas son homogéneas en ambos grupos, así como también se cumple la prueba de normalidad para ambos productos ($p > 0,01$). Mediante un intervalo de confianza del 99 % para la diferencia de medias con muestras independientes, se encontró que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,5080$) entre los patrones A y B.

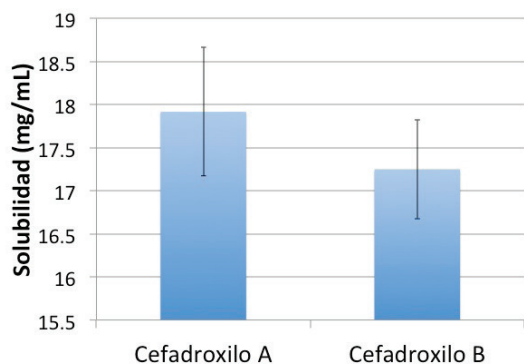


Fig. 4. Comparación de los valores de solubilidad (a saturación) determinados para los dos patrones estudiados a pH 4,5; 37°C (n=8).

Para el pH 4,5 la prueba de Levene de igualdad de varianzas de los datos de solubilidad de los dos patrones de cefadroxilo estudiados, tiene un p-valor de 0,4970 lo que indica igualdad de varianzas. Además, el supuesto de normalidad también se cumple para ambos patrones ($p > 0,01$). Por consiguiente, a través del intervalo de confianza del 99 % para la diferencia de medias con muestras independientes, se tiene que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,085$) entre los patrones A y B respectivamente.

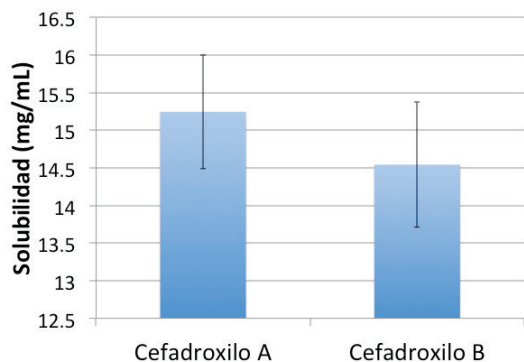


Fig. 5. Comparación de los valores de solubilidad (a saturación) determinados para los dos patrones estudiados a pH 6,8; 37°C (n=8).

Por último, respecto al pH 6,8 se tiene que los supuestos estadísticos, igualdad de varianzas y normalidad se cumplen ($p = 0,867$ y $p > 0,01$). Luego, a partir del intervalo de confianza del 99 % para la diferencia de medias con muestras independientes, se observó que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,098$) entre los patrones A y B, respectivamente.

No existiendo evidencia de diferencia entre los valores de solubilidad de ambos patrones a los pH estudiados, se puede calcular una solubilidad promedio a cada pH que se observa en la figura 6 donde se muestra el perfil de solubilidad en función del pH y en la tabla 2, donde se encuentra la concentración de saturación a cada pH con el número de dosis correspondiente.

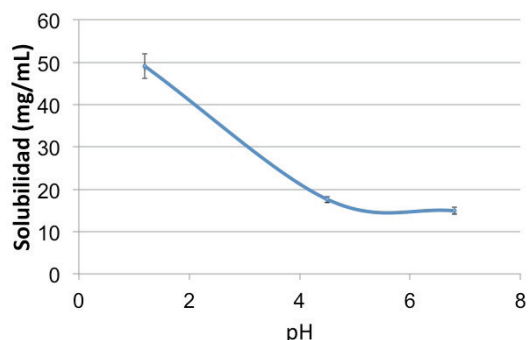


Fig. 6. Perfil de solubilidad en función del pH de cefadroxilo a 37°C.

TABLA 2

Concentración de saturación (C_s) y número de dosis (D_n) a cada pH estudiado.

pH	$C_s \pm DE$ (mg/mL)	D_n
1,2	$49,1044 \pm 2,9438$	0,0407
4,5	$17,5844 \pm 0,7273$	0,1137
6,8	$14,8950 \pm 0,8490$	0,1343

DE: desviación estándar (n=8).

Permeabilidad. El cefadroxilo no se metaboliza y se excreta inalterado por orina [13]. Es un fármaco de poca lipofilia y por tanto poca afinidad por la membrana de los enterocitos. Su valor estimado de LogP es inferior al metoprolol, en consecuencia, se presume que la difusión pasiva será menor que la del fármaco modelo de alta permeabilidad. Se ha reportado que el cefadroxilo al administrarse por vía oral, presenta una cinética lineal de absorción [21,22], lo que podría dar lugar a pensar que el fármaco no es sustrato de ningún transportador, sin embargo, está bien caracterizado que la absorción intestinal de este fármaco está mediada por transportadores de absorción y excreción. El proceso de absorción se realiza por transporte activo usando transportador PepT1 [23], mientras que los transportadores ABCC3 y

ABCC4 son los responsables de la excreción [24].

Posada & Smith (2013) [25] encontraron que al administrar por vía oral cefadroxilo en concentraciones entre 44,5 y 356 nmol/g a ratones, la absorción oral del fármaco depende del transportador PepT1 y concluyeron que dicha absorción es no lineal. Los autores también observaron un tiempo máximo corto, lo que sugiere que la absorción del fármaco ocurre rápidamente en la primera porción del intestino delgado. En un estudio realizado mediante el modelo *in situ* en rata, se obtuvieron valores de permeabilidad para cefadroxilo entre $0,319 \times 10^{-4}$ y $0,285 \times 10^{-4}$ cm/s que fueron superiores a los obtenidos para metoprolol ($0,231 \times 10^{-4}$ y $0,238 \times 10^{-4}$ cm/s). Este estudio se realizó con concentración de ambos fármacos de 100 μ M, que resulta poco representativa de la dosis clínica, pero sugiere que el fármaco presenta una alta permeabilidad en comparación con el fármaco modelo [26]. No se encontraron referencias en las que se estudiara la permeabilidad intestinal en algún modelo usando la dosis clínica.

Perfiles de disolución. En las figuras 7, 8 y 9 se presentan los perfiles de disolución de las formulaciones genéricas (A, B y C) y el producto de referencia a los pH 1,2; 4,5 y 6,8; respectivamente. En la tabla 3 se puede observar el factor de similitud (f_2) de cada formulación contrastado contra el producto de referencia a los pH 4,5 y 6,8.

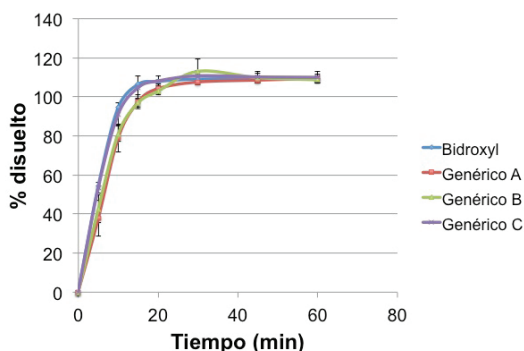


Fig. 7. Perfiles de disolución comparativos de las distintas formulaciones estudiadas en el medio pH 1,2 (n=6).

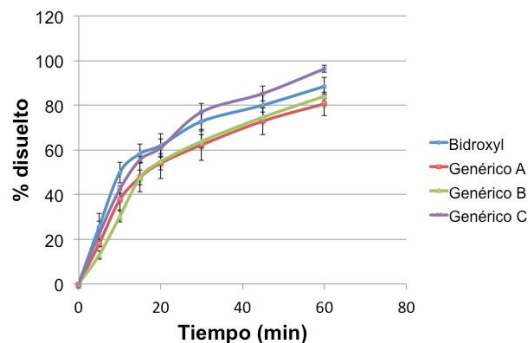


Fig. 8. Perfiles de disolución comparativos de las distintas formulaciones estudiadas en el medio pH 4,5 (n=6).

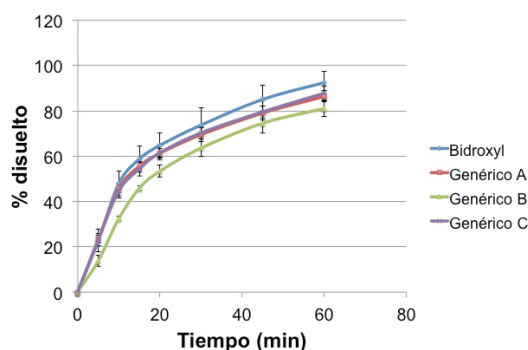


Fig. 9. Perfiles de disolución comparativos de las distintas formulaciones estudiadas en el medio pH 6,8 (n=6).

TABLA 3

Comparación de los perfiles de disolución empleando el cálculo del factor de similitud (f_2) a los pH 4,5 y 6,8.

f_2 (Referencia/Genérico)	pH 4,5	pH 6,8
Bidroxyl/Genérico A	51,4911	68,5770
Bidroxyl/Genérico B	47,8907	46,4879
Bidroxyl/Genérico C	64,2186	69,9742

DISCUSIÓN

En la figura 1 se puede observar la comparación de los métodos espectrofotométrico y CLAR mediante la recta de regresión; la gráfica presenta una tendencia lineal. Los resultados obtenidos en el ANOVA de la regresión lineal indican que existe una

regresión altamente significativa ($p=0,001$) entre las unidades de área y la absorbancia normalizadas. El coeficiente de correlación es mayor a 0,99 lo que denota igualmente una excelente correlación. La pendiente es significativamente distinta de cero ($p<0,05$), lo que denota la existencia de pendiente y la ordenada en el origen no es significativamente distinta de cero ($p > 0,05$); con un intervalo que incluye el cero, por lo que al nivel de confianza de 95% el punto de corte con el eje Y puede considerarse igual a cero (tabla 1) [27]. De acuerdo a todo lo expuesto anteriormente se puede decir que resulta indistinto usar el método espectrofotométrico o el método CLAR para cuantificar la cantidad de fármaco disuelto en el ensayo de disolución de cefadroxilo [20].

En el estudio de solubilidad se obtuvieron concentraciones a saturación a los pH 1,2; 4,5 y 6,8 sin diferencias estadísticamente significativas entre los dos patrones estudiados, por lo que se promedió a cada pH el valor obtenido en ambos patrones (tabla 2). Con esos datos se construyó el perfil solubilidad-pH que se observa en la figura 6 y que muestra la tendencia propia de una molécula anfótera [28]. El cefadroxilo a pH ácido se presenta bajo la forma protonada del grupo amino lo que aumenta su solubilidad al pH estomacal. A pH 4,5 el grupo carboxilo pierde el protón y se forma la estructura switerión y la solubilidad disminuye. A pH 6,8 se mantiene la estructura switerión que coexiste con la estructura en la que el grupo amino pierde el protón y con esto la molécula se convierte en el anión [15]. A este pH la solubilidad disminuye con respecto a los pH 1,2 y 4,5.

El número de dosis representa de forma intuitiva el número de vasos de agua necesarios para solubilizar la mayor dosis de un fármaco administrado por vía oral. Un número de dosis inferior a la unidad en todos los pH representativos del tracto gastrointestinal, significa que la dosis disolverá completamente en 250 mL (un vaso de agua) y por tanto la solubilidad no es un parámetro crítico para determinar la fracción absorbida [29]. El número de dosis en todos los pH estudiados fue menor que 1, por lo que cefadroxilo es un fármaco de alta solubilidad según el criterio del SCB.

El cefadroxilo presenta una cinética lineal de absorción pero a su vez es sustrato de transportadores de absorción y excreción. Se han reportado valores de permeabilidad en un modelo animal que son superiores a los de metoprolol; estos estudios se

realizaron con concentraciones de fármaco muy por debajo de la concentración que se espera tener luego de la administración de una dosis en pacientes y por tanto no se puede predecir si se satura el transportador de absorción. No se puede concluir sobre la clasificación de permeabilidad según el SCB de cefadroxilo con los datos bibliográficos. Esto pone de manifiesto la necesidad de desarrollar y validar un modelo experimental que permita definir dentro del SCB la clasificación de fármacos en cuanto a permeabilidad usando concentraciones similares a las que se tendrán con la dosis clínica. Experimentalmente está demostrado que cefadroxilo es sustrato del transportador de absorción PepT1 y de los transportadores de excreción ABCC3 y ABCC4 y algunos entes regulatorios limitan las bioexenciones a aquellos fármacos que atraviesan la barrera intestinal solo por difusión pasiva, por lo que cefadroxilo no podría ser candidato a bioexención. Una opción para optar a bioexención, aunque el fármaco sea sustrato de transportadores, es garantizar que ningún excipiente usado interfiera con el efecto de dichos transportadores [30]. Al respecto, las cápsulas son formulaciones con gran ventaja, ya que pueden contener casi exclusivamente el principio activo, situación contraria a los comprimidos que requieren una cantidad importante de excipientes para lograr una formulación óptima [31]. Sin embargo, para que un patrocinante pueda optar a bioexención de una forma farmacéutica sólida oral de cefadroxilo se hace necesario que la formulación desarrollada contenga la misma composición cualitativa y cuantitativa de excipientes que el producto de referencia o en su defecto, evaluar por algún modelo de permeabilidad previamente validado la falta de efecto sobre el proceso de absorción de los excipientes usados en el diseño de la formulación.

Todos los perfiles de disolución a pH 1,2 (figura 7) son similares y todas las formulaciones liberan más del 85 % del fármaco antes de los primeros 15 minutos, lo que sugiere que antes de completado el vaciado gástrico, el fármaco se encontrará disponible para su absorción. En las figuras 8 y 9 se muestran los perfiles a pH 4,5 y 6,8; respectivamente y en la tabla 3 los valores de f_2 al comparar las curvas de cada genérico con el producto de referencia. En estos resultados se puede observar que el Genérico A presenta perfiles similares según f_2 aunque muy cercanos al límite a pH 4,5. El Genérico B presenta perfiles no similares a los pH 4,5 y 6,8 por lo que no se puede considerar intercambiable con el producto

de referencia. El Genérico C es el que posee más alto valor de f_2 y por tanto, es el que posee un desempeño más semejante al del producto de referencia y de ser candidato a una bioexención podría considerarse intercambiable siempre que posea una composición cualitativa y cuantitativa de excipientes similar al del producto de referencia o que no posea ningún excipiente dentro de la formulación que pueda afectar el proceso de absorción. En tales circunstancias, se hace necesario que el patrocinante realice además un análisis de riesgo ya que el fármaco es sustrato de transportadores.

Las bioexenciones son un mecanismo adoptado desde hace más de diez años por entes regulatorios a nivel mundial y es recomendado por la Organización Mundial de la Salud para el desarrollo de genéricos [3]. El protocolo a seguir es menos costoso que el requerido por los estudios de biodisponibilidad comparativa en humanos, por lo que resultaría conveniente que sea implementado en Venezuela a fin de garantizar la calidad, seguridad y eficacia de los medicamentos que se expenden en el país como EFG.

CONCLUSIONES

El cefadroxilo es un fármaco altamente soluble según el criterio del SCB pero sustrato de transportadores de absorción y excreción. Las formulaciones sólidas orales de liberación inmediata de cefadroxilo podrían optar a una bioexención, siempre que el patrocinante aporte un análisis de riesgo y demuestre que la formulación no afectará a los transportadores involucrados en el proceso de absorción del fármaco. Dos de las tres formulaciones de cefadroxilo cápsulas 500 mg estudiadas y que son comercializadas en Venezuela como EFG presentan perfiles similares en todas las condiciones luminales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Consejo de Desarrollo Científico Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA) de la Universidad de Los Andes por haber otorgado el financiamiento a través del proyecto FA-426-08-07-C.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] European Medicines Agency. Guidelines on the investigation of bioequivalence. Committee

for medicinal products for human use, Londres: EMEA; 2010.

[2] Instituto de Salud Pública de Chile. Guía técnica BIOF02: Bioexenciones de los estudios de Biodisponibilidad/Bioequivalencia para establecer equivalencia terapéutica de formas farmacéutica sólidas orales. Chile: Departamento de Control Nacional, Subdepartamento de Seguridad, Sección de Biofarmacia; 2007.

[3] World Health Organization. Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability. Revision. Switzerland: Group Lead, Medicines Quality Assurance, Technologies, Standards and Norms, World Health Organization; 2014.

[4] Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Rockville MD, USA: FDA; 2015.

[5] República Bolivariana de Venezuela. Ministerio de Salud. Normas Venezolanas de Biodisponibilidad y Bioequivalencia de Productos Farmacéuticos. Venezuela: Gaceta Oficial N° 38.499 del 14 de agosto de 2006.

[6] Amidon GL, Lennernas H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm.* 1995; 12: 413-420.

[7] Löbenberg R, Amidon GL. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutical classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. Review. *Eur J Pharm Biopharm.* 2000; 50(1): 3-12.

[8] Kachi S, Terada M, Hashimoto H. Effects of amorphous and polymorphs of PF1022A, a new antinematode drug, on *Angiostrongylus costaricensis* in mice. *Jpn J Pharmacol.* 1998; 77(3): 235-245.

[9] Swanepoel E, Liebenberg W, Devarakonda B, de Villiers MM. Quality evaluation of generic drugs by dissolution test: changing the USP dissolution medium to distinguish between active and non-active mebendazole polymorphs. *Pharmazie.* 2003; 58(2): 117-121.

[10] Baena Y, Ponce D'León LF. Importancia y fundamentación del sistema de clasificación biofarmacéutico, como base de la exención de estudios

de biodisponibilidad y bioequivalencia in vivo. Rev Colomb Cienc Quim Farm. 2008; 37(1): 18-32.

[11] Livermore DM. Has the era of untreatable infections arrived?. Review. J Antimicrob Chemother. 2009; 64(1): 29-36.

[12] Buck RE, Price KE. Cefadroxil, a new broad-spectrum cephalosporin. Antimicrob Agents Chemother. 1977; 11(2): 324-330.

[13] BOC Sciences [Página Web] 2005-2016 [acceso: 29 de septiembre de 2015]. Disponible en: <http://www.bocsci.com/description.asp?cas=50370-12-2>

[14] Tanrisever B, Santella PJ. Cefadroxil. A review of its antibacterial, pharmacokinetic and therapeutic properties in comparison with cephalexin and cephadrine. Drugs. 1986; 32(Suppl 3): 1-16.

[15] ChemAxon. Properties Viewer Cefadroxil. [Página Web] 2010 [acceso: 9 de octubre de 2015]. Disponible en: <http://www.chemicalize.org/structure/#!/mol=cefadroxil&source=calculate>

[16] Dash A, Singh S, Tolman J. Pharmaceutics Basic Principles and Application to Pharmacy Practice. USA: Elsevier; 2014. p. 123.

[17] Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 37 NF 32. Formulario nacional compendios de normas oficiales. Edición en español. Estados Unidos de América; 2014.

[18] Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. Especialidades Farmacéuticas Aprobadas [Página Web] 2015 [acceso: 04 de noviembre de 2015]. Disponible en: http://www.inhrr.gob.ve/ef_aprobadas.php

[19] FDA. Draft Guidance on Cefadroxil; Cefadroxil Hemihydrate. [Página Web] 2010 [acceso: 04 de noviembre de 2015]. Disponible en: <http://www.fda.gov/ucm/groups/fdagov-public/@fdagov-drugs-gen/documents/document/ucm227415.pdf>

[20] Miller JN, Miller JC. Estadística y quimiometría para química analítica. 4ta ed. Madrid: Editorial Prentice Hall; 2002. pp. 130-140.

[21] Barbhaiya RH. A pharmacokinetic

comparison of cefadroxil and cephalexin after administration of 250, 500 and 1000 mg solution doses. Biopharm Drug Dispos. 1996; 17(4): 319-330.

[22] La Rosa F, Ripa S, Prenna M, Ghezzi A, Pfeffer M. Pharmacokinetics of cefadroxil after oral administration in humans. Antimicrob Agents Chemother. 1982; 21(2): 320-322.

[23] Posada MM, Smith DE. Relevance of PepT1 in the intestinal permeability and oral absorption of cefadroxil. Pharm Res. 2013; 30(4): 1017-1025.

[24] de Waart DR, van de Wetering K, Kunne C, Duijst S, Paulusma CC, Oude Elferink RP. Oral availability of cefadroxil depends on ABCC3 and ABCC4. Drug Metab Dispos. 2012; 40(3): 515-521.

[25] Posada MM, Smith DE. *In vivo* absorption and disposition of cefadroxil after escalating oral doses in wild-type and PepT1 knockout mice. Pharm Res. 2013; 30(11): 2931-2939.

[26] Tugcu-Demiroz F, Gonzalez-Alvarez I, Gonzalez-Alvarez M, Bermejo M. Validation of phenol red versus gravimetric method for water reabsorption correction and study of gender differences in Doluisio's absorption technique. Eur J Pharm Sci. 2014; 62: 105-110.

[27] Landero R, González M. Estadística con SPSS y metodología de la investigación. México: Trillas; 2012.

[28] Avdeef A. Solubility of sparingly-soluble ionizable drugs. Review. Adv Drug Delv Rev. 2007; 50(7): 568-590.

[29] González Álvarez I, Cabrera Pérez MA, Bermejo Sanz M. Metodologías biofarmacéuticas en el desarrollo de medicamentos. España: Universidad Miguel Hernández; 2015. pp. 64-82.

[30] Goole J, Lindley DJ, Roth W, Carl SM, Amighi K, Kauffman JM, *et al.* The effects of excipients on transporter mediated absorption. International journal of pharmaceutics. Int J Pharm. 2010; 393 (1-2): 17-31.

[31] Vila Jato JL. Tecnología Farmacéutica. España: Síntesis; 1997.