



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**“DISEÑO Y APLICACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA DEMOSTRAR
BIOEQUIVALENCIA ENTRE DOS FORMULACIONES DE SERTRALINA,
EMPLEANDO HPLC/ MASAS- MASAS”**

TESIS DE LICENCIATURA PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A N:

ROSARIO RAMÍREZ RIVERA
CUITLAHUAC ESTRADA SEGUNDO

ASESORES: DR. GABRIEL MARCELÍN JIMÉNEZ
DRA. PATRICIA PARRA CERVANTES

ENERO/2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

NOMBRE: RAMIREZ RIVERA ROSARIO

No. DE CUENTA: 9027684-2

AÑO EN QUE TERMINO LA CARRERA: 1998

ORIENTACIÓN: BIOQUIMICA CLINICA

OBSERVACIONES: MANCOMUNADA CON

NOMBRE: ESTRADA SEGUNDO CUITLAHUAC

No. DE CUENTA: 9365748-6

AÑO EN QUE TERMINO LA CARRERA: 1998

ORIENTACION: BIOQUIMICA CLINICA

TITULO DEL PROYECTO: DISEÑO Y APLICACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA DEMOSTRAR BIOEQUIVALENCIA ENTRE DOS FORMULACIONES DE SERTRALINA, EMPLEANDO HPLC/ MASAS- MASAS

AREA ESPECIFICA DEL PROYECTO: FARMACIA

NOMBRE DEL ASESOR: DR. GABRIEL MARCELIN JIMENEZ
DRA. PATRICIA PARRA CERVANTES

LUGAR DONDE SE DESARROLLA EL TRABAJO EXPERIMENTAL: SERVICIO DE INVESTIGACIÓN DE FARMACOLOGÍA CLINICA DEL HOSPITAL GENERAL DE MEXICO

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos profundamente a nuestros padres y hermanos por encontrarse a nuestro lado en todo momento.

Especialmente a Inés, que se encontrará infinitamente en nuestra memoria, cada frase salida de sus labios tiene un siglo de trascendencia.

A los seres más valiosos que pudo prestarnos Dios, y la razón de nuestra existencia ¡Nuestras hijas! Marianna Elizabeth y Karen Denisse.

Agradecemos a la Dra. Patricia Parra y al Dr. Gabriel Marcelín por su apoyo incondicional.

Un agradecimiento especial al Dr. Raymundo Guerrero Estrada por su gran corazón y enseñanzas, al Dr. Adolfo Fernández y a la Profesora María de Lourdes Vega Navarrete quienes nos brindaron su confianza.

INDICE

Introducción	06
Marco teórico	08
Clasificación de medicamentos	08
Consideraciones farmacocinéticas	09
Estudios de bioequivalencia	11
Factores que afectan la biodisponibilidad de un medicamento	17
Fundamentos de espectrometría de masas	18
Sertralina	20
Planteamiento del problema	23
Objetivos	24
Hipótesis	24
Diseño experimental	25
Población	25
Criterios de inclusión	25
Criterios de exclusión	25
Criterios de eliminación	26
Variables	26
Materiales y equipo fase clínica	26
Método fase clínica.....	27
Material y equipo fase analítica	31
Reactivos	31
Metodología de extracción.....	32
Validación del método analítico	33
Diagrama de flujo	35
Análisis estadístico	36
Resultados	37
Resultados clínicos	37
Resultados analíticos	40
Resultados estadísticos.....	51
Parámetros farmacocinéticos	51
Histogramas de frecuencia	57
Análisis de varianza	62
Determinación de valores extremos... ..	63
Estadística bioequivalente	64
Análisis de resultados	66
Conclusiones	68
Referencias bibliográficas	69

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos.....	22
Tabla 2. Cronograma de toma de muestras.....	30
Tabla 3. Tabla de peso, talla, índice de masa corporal y signos vitales de 24 voluntarios sanos.....	37
Tabla 4. Evaluación de reacciones adversas por Algoritmo modificado de Naranjo.....	38
Tabla 5. Eventos adversos.....	39
Tabla 6. Muestras sanguíneas perdidas.....	39
Tabla 7. Intervalo de cuantificación (rango).....	40
Tabla 8. Puntos control.....	40
Tabla 9. Curvas de calibración para linealidad del sistema.....	41
Tabla 10. Resultados de la linealidad del sistema.....	41
Tabla 11. Curvas de calibración 1 ,2 Y 3, día 1. Linealidad del método.....	42
Tabla 12. Curvas de calibración 1 ,2 Y 3, día 2. Linealidad del método.....	42
Tabla 13. Curvas de calibración 1 ,2 Y 3, día 3. Linealidad del método.....	43
Tabla 14. Curvas de calibración 1 ,2 Y 3, día 4. Linealidad del método.....	43
Tabla 15. Resultados globales de la linealidad del método.....	44
Tabla 16. Resultados del límite de cuantificación.....	45
Tabla 17. Resultados de repetibilidad.....	45
Tabla 18. Resultados de reproducibilidad.....	45
Tabla 19. Resultados de repetibilidad para exactitud.....	46
Tabla 20. Resultados de reproducibilidad para exactitud.....	46
Tabla 21. Resultados de la selectividad del método.....	46
Tabla 22. Resultados de la recuperación absoluta del método.....	46
Tabla 23. Parámetros farmacocinéticos de Sertralina producto de prueba	51
Tabla 24. Parámetros farmacocinéticos de Sertralina producto de referencia	52
Tabla 25. Parámetros farmacocinéticos logarítmicos de Sertralina producto de prueba	53
Tabla 26. Parámetros farmacocinéticos logarítmicos de Sertralina producto de referencia	54
Tabla 27 . Resultados del análisis de varianza para datos sin transformar para c-máx.	62
Tabla 28. Resultados del análisis de varianza para datos transformados log (10) para c-máx.....	62
Tabla 29 . Resultados del análisis de varianza para datos sin transformar para ABC de 0 a t.....	62
Tabla 30. Resultados del análisis de varianza para datos transformados log (10) para ABC de 0 a t.....	62
Tabla 31 . Resultados del análisis de varianza para datos sin transformar para ABC de 0 a infinito.....	63
Tabla 32. Resultados del análisis de varianza para datos transformados log (10) para ABC de 0 a infinito.....	63
Tabla 33. Resultados estadísticos para el área bajo la curva de 0 a t.....	64
Tabla 34. Resultados estadísticos para Cmáx.....	64
Tabla 35. Resultados estadísticos para el área bajo la curva de 0 a infinito.....	64
Tabla 36. Resultados estadísticos para el área bajo la curva de 0 a t para datos transformados log (10).....	65
Tabla 37. Resultados estadísticos para Cmáx para datos transformados log (10).....	65
Tabla 38. Resultados estadísticos para el área bajo la curva de 0 a infinito para datos	

transformados log (10).....	65
-----------------------------	----

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Muestra un gráfico de los parámetros farmacocinéticos de interés para estudios de bioequivalencia.....	10
Figura 2. Muestra un ejemplo de un diseño cruzado 2 X 2.....	15
Figura 3. Estructura química de sertralina.....	20
Figura 4. La figura muestra el gráfico promedio para la linealidad del sistema.....	41
Figura 5. La figura muestra el gráfico promedio para la linealidad del método.....	44
Figura 6. Muestra los gráficos obtenidos en la curva de calibración para el monitoreo del voluntario 10 primera concentración del rango.....	48
Figura 7. Muestra los gráficos obtenidos en la curva de calibración para el monitoreo del voluntario 10 concentración más alta del rango.....	48
Figura 8. Monitoreo del voluntario 10 a la muestra 0, medicamento de prueba.....	49
Figura 9. Monitoreo del voluntario 10 a la muestra 5 medicamento de prueba.....	49
Figura 10. Monitoreo del voluntario 10 a la muestra 0, medicamento de referencia.....	50
Figura 11. Monitoreo del voluntario 10 a la muestra 5 medicamento de referencia.....	50
Figura 12. Gráfica promedio de concentración plasmática y tiempo de los productos de prueba vs. referencia para datos sin transformar.....	55
Figura 13. Gráfica promedio de concentración plasmática y tiempo de los productos de prueba vs. referencia para datos logaritmo transformados.....	56
Figura 14. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para C máx.....	57
Figura 15. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a t.....	58
Figura 16. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a infinito.....	58
Figura 17. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para C máx con datos logaritmo transformados.....	59
Figura 18. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a t con datos logaritmo transformados.....	59
Figura 19. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a infinito con datos logaritmo transformados....	60
Figura 20. Histograma de frecuencia del cociente del producto de prueba y referencia para C máx.....	60
Figura 21. Histograma de frecuencia del cociente del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a t.....	61
Figura 22. Histograma de frecuencia del cociente del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a infinito.....	61

1. INTRODUCCION:

Por siglos la medicina ha evolucionado conforme al desarrollo del ser humano adaptándose a las novedades de diagnóstico como de tratamiento según el desarrollo de la tecnología. Como consecuencia de esta evolución nos hemos acostumbrado a la confianza que nos ofrecen los medicamentos que se expenden en cualquier farmacia sin importarnos su procedencia, su calidad y mucho menos el fabricante. En tiempos muy recientes, debido a la merma en el salario y en muchos casos los precios prohibitivos de los medicamentos, han obligado a las autoridades principalmente de los países en desarrollo a buscar alguna alternativa para proveer a las clases más necesitadas de medicamentos de bajo costo pero sin escatimar la seguridad y la eficacia. Atrás quedó el problema de la distribución de medicamentos, sobre todo en México, que es uno de los países más eficientes en este renglón. Ahora, pues, el problema está basado principalmente en el costo de los medicamentos.

Uno de los principales problemas que había que afrontar era de índole legal y de justicia. En efecto, las compañías que desarrollan alguna novedad medicamentosa, se han asegurado de que su producto sea el único en el mercado a través de obtener patentes nacionales e internacionales que los protegen a lo largo de 15 ó 20 años. Por otro lado, también es justo decir, que merecen el apoyo de las autoridades para la recuperación de sus inversiones en el desarrollo de esa especialidad terapéutica. Sin embargo, una vez que esa patente ha vencido, el uso de esos fármacos se convierte del dominio público y puede ser fabricado y vendido por cualquier empresa farmacéutica.

Del vencimiento de patentes las autoridades de países en vías de desarrollo han planteado la posibilidad y ventajas que sería el ofrecer a la población productos baratos y que cumplan con la premisa de seguridad y calidad semejantes o idénticas al medicamento innovador. Para evitar que estos medicamentos sean ofrecidos a precios muy altos, se ha convenido en eliminar la marca comercial y todos los gastos que implica su publicidad, promoción y comercialización atribuyéndoles el nombre de "genéricos" en otros países y en México como "Genéricos Intercambiables" empleando el nombre genérico que contiene cada uno de esos medicamentos.

Los estudios de intercambiabilidad que exige la autoridad regulatoria para otorgar la autorización de venta de un medicamento como genérico Intercambiable, son estudios científicos basados en la Norma Oficial Mexicana 177-SSA-1999 para México, Guías de la FDA, Normas Europeas y Canadienses para el resto de los países.

Recientemente en México, la Secretaría de Salud dictó la orden a las Instituciones más importantes de Salud Pública (IMSS, ISSSTE, SSA, DIF, etc.) la adquisición de Medicamentos Genéricos Intercambiables disponibles en el mercado del Sector Público.

A través del tiempo, han surgido métodos y equipos cada vez más sensibles y precisos para la determinación y cuantificación de moléculas en fluidos biológicos, como lo es la cromatografía de líquidos de alta resolución, y la espectrometría de masas, que permiten obtener resultados más precisos y confiables; situación que ha permitido ahondar en el diseño y calidad de las formulaciones farmacéuticas existentes en el mercado.

La importancia del presente trabajo se basa en la comparación de una formulación A, de prueba, contra el producto innovador de sertralina cápsulas, Altruline® (1), para demostrar que el primero tiene un comportamiento farmacocinético semejante al innovador y, por lo tanto, es igual de seguro y eficaz. Su importancia también radica en que el estudio se realizará en voluntarios sanos Mexicanos y la información farmacocinética para este tipo de población no se encuentra reportada en la literatura.

2. MARCO TEORICO.

Los medicamentos que usamos de manera cotidiana, no son fármacos solos sino fármacos que se encuentran contenidos dentro de una forma o formulación farmacéutica. La formulación es diseñada de acuerdo a una tecnología sofisticada que requiere de muchos procesos de investigación, ya que de ella depende el éxito o fracaso del tratamiento medicamentoso (2).

CLASIFICACION DE MEDICAMENTOS:

Medicamento:

Toda sustancia o mezcla de sustancias de origen natural o sintético que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presente en forma farmacéutica y se identifique como tal por su actividad farmacológica, características físicas, químicas y biológicas. Cuando un producto contenga nutrimentos, será considerado como medicamento, siempre que se trate de un preparado que contenga de manera individual o asociada: vitaminas, minerales, electrolitos, aminoácidos o ácidos grasos, en concentraciones superiores a las de los alimentos naturales y además se presente en alguna forma farmacéutica definida y la indicación de uso contemple efectos terapéuticos, preventivos o rehabilitatorios (3).

Medicamento Genérico Intercambiable:

Especialidad farmacéutica con el mismo fármaco o sustancia activa y forma farmacéutica, con igual concentración o potencia, que utiliza la misma vía de administración y con especificaciones farmacopeicas iguales o comparables, que después de haber cumplido con las pruebas a que se refiere el reglamento de insumos para la salud ha comprobado que sus perfiles de disolución o su biodisponibilidad u otro parámetros, según sea el caso, son equivalentes a las del medicamento innovador o producto de referencia, y que se encuentra registrado en el Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables, y se identifica con su denominación Genérica (3).

Medicamento innovador:

Aquel medicamento que cuenta con la patente original a nivel mundial (4).

En temas sobre biodisponibilidad y bioequivalencia, probablemente lo más importante es comenzar con conceptos básicos y los factores que pueden afectar la biodisponibilidad de un fármaco (5).

Algunos conceptos importantes son:

Equivalencia química:

La equivalencia química se da cuando dos o mas formulaciones contienen la misma cantidad de principio activo (5).

Equivalencia clínica:

La equivalencia clínica ocurre cuando dos o más formulaciones con un mismo principio activo presentan idénticos efectos *in vivo*, medidos por una respuesta farmacológica o por el control de un síntoma o enfermedad (5).

Bioequivalencia:

A los equivalentes farmacéuticos en los cuales no se observa diferencia significativa en la velocidad y cantidad absorbida del fármaco, cuando son administrados ya sea en dosis única o dosis múltiple bajo condiciones experimentales similares (4).

Biodisponibilidad:

El concepto de biodisponibilidad expresa la fracción de la dosis administrada que accede en forma inalterada a la circulación sistémica y la velocidad en que dicho acceso se produce. La biodisponibilidad de un fármaco no depende solo de la absorción sino de aquellos procesos que disminuyen su exposición sistémica, como el efecto de primer paso y factores biogénéticos (6).

CONSIDERACIONES FARMACOCINÉTICAS:

Para comparar la biodisponibilidad de dos formulaciones es fundamental evaluar tanto la velocidad como la cantidad de fármaco absorbido. Cuando un fármaco se administra por una vía distinta a la intravascular, existen de manera simultánea, procesos de absorción, distribución y eliminación del fármaco, de tal modo que a un inicio se observa un incremento en las concentraciones circulantes, llega a un máximo y posteriormente se observa que la concentración circulante disminuye conforme pasa el tiempo. Actualmente se sugiere que la comparación de los parámetros de velocidad y de cantidad absorbida se realice con base en los parámetros obtenidos directamente de las curvas de concentración contra tiempo; en este sentido, el abordaje que cumple con éstas características es el no-compartimental (2).

Farmacocinética:

Es el estudio de la evolución temporal de concentraciones y cantidades de fármaco y sus metabolitos en fluidos, tejidos y excretas biológicas, así como de la respuesta farmacológica observada y construye modelos matemáticos para interpretar los datos obtenidos (7).

Absorción:

La absorción describe la velocidad a la cual un fármaco abandona el sitio de administración y la medida en que lo hace a través de las barreras biológicas que se encuentran de por medio.

El destino de los fármacos en el cuerpo es su sitio de acción. Para que éste sea alcanzado, en la mayor parte de los casos los fármacos deben entrar a la circulación sanguínea (8).

Distribución:

Una vez que un fármaco se absorbe o pasa por inyección al torrente sanguíneo, puede ser distribuido en los líquidos intersticial y celular (8).

Biotransformación:

La biotransformación puede dar lugar a la formación de sustancias farmacológicamente más activas que el fármaco original, en cuyo caso se habla de activación, mientras que en otros casos se producen metabolitos con poca o ninguna acción, lo que se designa como inactivación (8).

Eliminación:

Por eliminación o excreción se entiende el pasaje de los fármacos desde la circulación hacia el exterior del organismo o a conductos en comunicación con el exterior. Los principales órganos de excreción son el riñón, el pulmón y el tubo digestivo, incluida la excreción biliar (8).

Concentración plasmática máxima (C_{máx}):

La absorción representa un proceso positivo, que aumenta la concentración plasmática del fármaco, en contraposición a mecanismos de metabolismo, excreción y, en algunos casos, de distribución. La concentración plasmática máxima se define como el momento a partir del cual comienza la rama descendente de la curva (6).

Tiempo de vida media:

Es el tiempo que necesita la concentración plasmática o la cantidad del fármaco en el cuerpo para disminuir a la mitad (9).

Area bajo la curva de concentración contra tiempo tras la administración de una dosis:

Se trata del área encerrada entre dicha curva y los ejes de coordenadas de la concentración sérica y del tiempo transcurrido. Se suele indicar como ABC, aunque es habitual utilizar la nomenclatura inglesa AUC. Este parámetro representa la cantidad de fármaco disponible en sangre y que, por tanto, puede ejercer su actividad (6).

Tiempo máximo (t_{máx}):

Es el tiempo en el que se alcanza la concentración máxima (6).

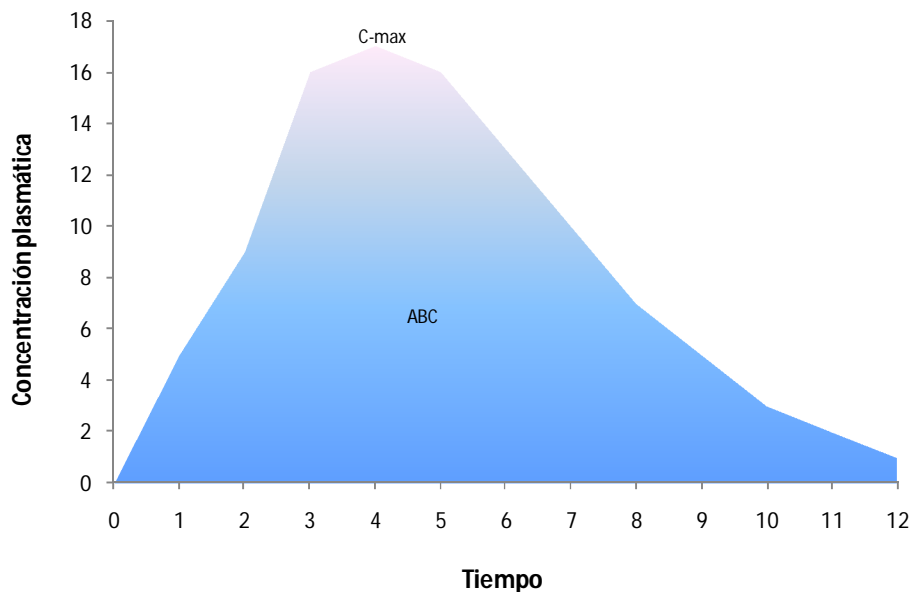


Figura 1. Muestra un gráfico de los parámetros farmacocinéticos de interés para estudios de bioequivalencia.

ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA

La bioequivalencia es un experimento científico diseñado rigurosamente, sometido a evaluación ética, en donde se compara la biodisponibilidad de dos formulaciones farmacéuticas semejantes con la misma cantidad de principio activo y misma forma farmacéutica.

Constituyen la base para la autorización de la comercialización de los fármacos genéricos Intercambiables, que son formulaciones del mismo principio activo con un precio bastante inferior a los medicamentos de marca, siendo esta la principal justificación de su existencia. El precio de los medicamentos genéricos intercambiables es inferior porque los gastos del desarrollo inicial del producto, estudios clínicos para la determinación de la indicación terapéutica, establecimiento de la posología, eficacia y seguridad y el marketing fueron absorbidos por el Laboratorio innovador y ya no tienen que ser realizados por los fabricantes de genéricos intercambiables (10).

Se debe tener en cuenta que los estudios de bioequivalencia no se utilizan solamente para los fármacos genéricos, sino que también son utilizados en muchas ocasiones por los laboratorios innovadores cuando se cambia la formulación. De hecho, el 59 % de las formulaciones de los productos de marca comercializadas son distintas de las formulaciones utilizadas en los principales ensayos clínicos en fase II y III en los que se ha demostrado la eficacia y seguridad del producto, y han demostrado su equivalencia terapéutica en base a un estudio de bioequivalencia en voluntarios sanos (10).

Existen varias opciones experimentales aceptadas para demostrar la bioequivalencia, y van en orden de prioridad, es decir, si se puede realizar la primera opción, es ésta la que se realiza; en caso de no poderse la primera, se recurre a la segunda y así sucesivamente. La primera opción es llevar a cabo un estudio donde se evalúe el curso temporal de las concentraciones plasmáticas, séricas o sanguíneas del fármaco y/o sus metabolitos por un tiempo adecuado. La segunda opción se refiere a la determinación del curso temporal de la excreción urinaria del fármaco y/o sus metabolitos durante un tiempo adecuado. La tercera opción es la evaluación del curso temporal del efecto farmacológico del compuesto en estudio. La cuarta opción sería la evaluación clínica del fármaco; esto implica la conducción de estudios de fase clínica como si se estuviera desarrollando un fármaco nuevo, en los que participarían pacientes que tuvieran la enfermedad a tratar (2).

Criterios y requisitos generales para las pruebas de intercambiabilidad de acuerdo a la NOM 177 SSA1-1998:

Criterios generales.

- Todos los pasos involucrados en los métodos de análisis para realizar las pruebas de intercambiabilidad deben describirse en un Procedimiento normalizado de operación.
- Utilizar como medicamento de referencia el indicado por la Secretaría a través del área competente, el cual debe estar comercialmente disponible y vigente.

- Para aquellos medicamentos que se presentan en más de una concentración, en la misma forma farmacéutica se puede realizar el estudio de bioequivalencia con una de las concentraciones y los resultados pueden ser extrapolables para las otras concentraciones, siempre y cuando exista proporcionalidad en la fórmula cualicuantitativa, se observe una farmacocinética lineal, los procesos de fabricación estén validados y su perfil de disolución sea similar
- El perfil de disolución o el estudio de bioequivalencia del medicamento de prueba se debe realizar con un lote estándar de producción o bien con un lote escalado, que asegure que no se modifica significativamente la reproducibilidad de los perfiles de disolución, cuando lotes subsecuentes del medicamento se elaboren de acuerdo con la NOM-059- SSA1-1993, y que cuente con un certificado de aprobación conforme a la FEUM vigente. Cuando en ésta no aparezca la información, puede recurrirse a farmacopeas de otros países cuyos procedimientos de análisis se realicen conforme a especificaciones de organismos especializados u otra bibliografía científica reconocida internacionalmente.
- En caso de realizarse la prueba de bioequivalencia se deben realizar perfiles de disolución, ambas pruebas deben llevarse a cabo con los mismos lotes del producto de prueba y el de referencia.
- Además de la comparación de los perfiles de disolución o del estudio de bioequivalencia, se deben realizar las pruebas de valoración y uniformidad de dosis expresada como uniformidad de contenido.
- Cuando el medicamento contenga más de un fármaco, se debe evaluar el perfil de disolución o la bioequivalencia para cada uno de ellos.
- Las conclusiones de la prueba de intercambiabilidad son válidas para todos los lotes subsecuentes del medicamento de prueba que se elaboren de acuerdo con la NOM-059-SSA1-1993, que incluyan la validación del proceso de producción. En caso de que el proceso de producción, equipo, calidad de los componentes y criterios de aceptación se modifiquen significativamente, o bien, haya algún cambio significativo en la formulación, es necesario realizar nuevamente la prueba.
- Deben llevarse registros de recepción, uso, destino y balance de los medicamentos de prueba y de referencia.
- Los medicamentos de prueba y de referencia deben tener al menos un año de vigencia antes de su fecha de caducidad al momento de realizar el estudio.
- Los medicamentos de prueba y de referencia deben almacenarse de acuerdo con las indicaciones de la etiqueta, desde su recepción hasta dos años posteriores a la conclusión del estudio, o hasta el vencimiento de la fecha de caducidad, lo que ocurra primero.
- Los medicamentos de prueba y de referencia deben almacenarse en cantidad suficiente para realizar tres veces el estudio.
- Las pruebas de valoración y uniformidad de dosis deben realizarse siguiendo los métodos descritos en la FEUM, en farmacopeas reconocidas internacionalmente o métodos validados.
- Los métodos de análisis para evaluar las pruebas de intercambiabilidad de medicamentos, deben ser adecuados para cumplir con el propósito del estudio y validarse conforme a esta Norma y demás disposiciones aplicables en la materia, así como estar aprobados por el responsable sanitario.

- El porcentaje de valoración del medicamento de prueba debe estar dentro de los límites farmacopeicos y no debe diferir en más del 5% del medicamento de referencia.
- Los medicamentos de referencia y de prueba deben cumplir con los criterios de uniformidad de contenido descritos en el método general de análisis de uniformidad de dosis MGA 0299 de la FEUM.
- Utilizar sustancias de referencia trazables con patrones de referencia de reconocimiento nacional o internacional.
- Registrar todos los acontecimientos ocurridos durante la realización de las pruebas y almacenar toda la información generada durante el estudio, aun cuando pertenezca a alguna corrida analítica rechazada.
- Los registros deben resguardarse para evitar su alteración o deterioro, por lo menos durante tres años o un año después de la fecha de caducidad de cualquiera de los medicamentos, lo que ocurra más tarde.
- Los instrumentos de medición deben estar calibrados (4).

PARTES QUE CONFORMAN UN ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA

FASE CLINICA:

En esta parte se incluye el desarrollo del estudio desde el protocolo clínico hasta la toma de muestras y monitoreo de voluntarios, para ello se requiere de una serie de actividades:

Criterios de Inclusión y exclusión de voluntarios sanos: En este paso, se elige a los voluntarios tomando en cuenta su edad (18 a 55 años), peso (\pm el 10% del ideal), y estado de salud en general que debe ser clínicamente sano. Para determinarlo, se hace una historia clínica del voluntario y se realizan pruebas de laboratorio que incluyen: Biometría hemática, hepatitis B, VDRL, VIH, radiografía de tórax, electrocardiograma, prueba de embarazo (en mujeres de edad fértil), examen general de orina, química sanguínea y transaminasas hepáticas; estas pruebas deben realizarse en laboratorios clínicos y de gabinete autorizados y que cumplan con Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico. Los voluntarios no deben tener antecedentes de drogadicción o abuso de alcohol, café, tabaco o bebidas de cola ni antecedentes de sensibilidad al fármaco. No deben estar tomando medicamentos concomitantemente (4).

Carta de consentimiento informado: Los voluntarios deben firmar una carta de aceptación para participar en el estudio (4).

Los comités de investigación y ética de la institución darán su aprobación al formato de consentimiento informado y a cualquier otra información escrita que vaya a proporcionarse a los sujetos. Los sujetos firmarán de manera libre (2).

Los voluntarios deben ser remunerados en función del riesgo y tiempo empleado para el estudio (4).

Protocolo de acuerdo a la NOM 177 SSA1-1998:

- Las muestras biológicas deben manejarse de acuerdo con lo establecido en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en lo referente a la bioseguridad de las investigaciones (11).

- El protocolo debe incluir todos los datos de identificación del estudio, de los responsables, firmas, domicilio, etc.
- Debe contener la farmacocinética del fármaco, bibliografía que fundamente el protocolo, desarrollo del estudio con programa de toma de muestras, tipo de alimentos y horario de ingesta, valoración de signos vitales, cuidados que deben tenerse durante el estudio de acuerdo al tipo de fármaco.
- También deben incluirse los criterios para retirar voluntarios durante el estudio así como las causas por las que debe cancelarse el estudio en su totalidad.
- Se debe contar con formatos de reporte de caso en donde se reporten los efectos que se presenten en los voluntarios para hacer un análisis posterior de las causas y si son inherentes o no al fármaco.
- El protocolo y las cartas de consentimiento informado deben estar aprobados por el comité de investigación y ética.

Diseño del estudio de acuerdo a la NOM 177 SSA1-1998:

- Diseño cruzado 2 x 2.
- Doble ciego.
- Aleatorizado.
- Periodo de lavado (7 vidas medias).
- Dosis única o dosis múltiple dependiendo del fármaco y formulación.
- La dieta debe ser homogénea y congruente con el estudio.
- El tamaño de muestra no debe ser inferior a 24 sujetos considerando ambas secuencias o debe satisfacer el requerimiento en relación con una diferencia por detectar de un $\pm 20.0\%$ respecto a la media del producto de referencia asociado a un error de tipo I (α) de 0.05 y una potencia mínima de $(1 - \beta)$ de 0.8 para este tipo de diseño.
- Administrar el fármaco con 250 ml de agua; si se va a utilizar un volumen distinto, debe justificarse.
- El muestreo debe realizarse por un periodo que cubra por lo menos el 80% del área bajo la curva de concentración plasmática.
- Se deben obtener cuando menos 11 tiempos: Tiempo cero, 3-4 puntos antes del $C_{m\acute{a}x}$, 3- 5 alrededor de $C_{m\acute{a}x}$ y 4-6 fase de eliminación.
- Se deben registrar y calificar todos los efectos adversos (tipo, magnitud, relación con el medicamento, etc).
- Durante la realización del estudio debe haber vigilancia médica.
- Deben existir Procedimientos normalizados de operación e instrumentación para realizar el estudio.
- Se debe señalar el tipo de datos por analizar, los parámetros farmacocinéticos que se obtendrán y los métodos estadísticos que se emplearán para el análisis de la bioequivalencia (criterios de aceptación de las pruebas o métodos estadísticos).

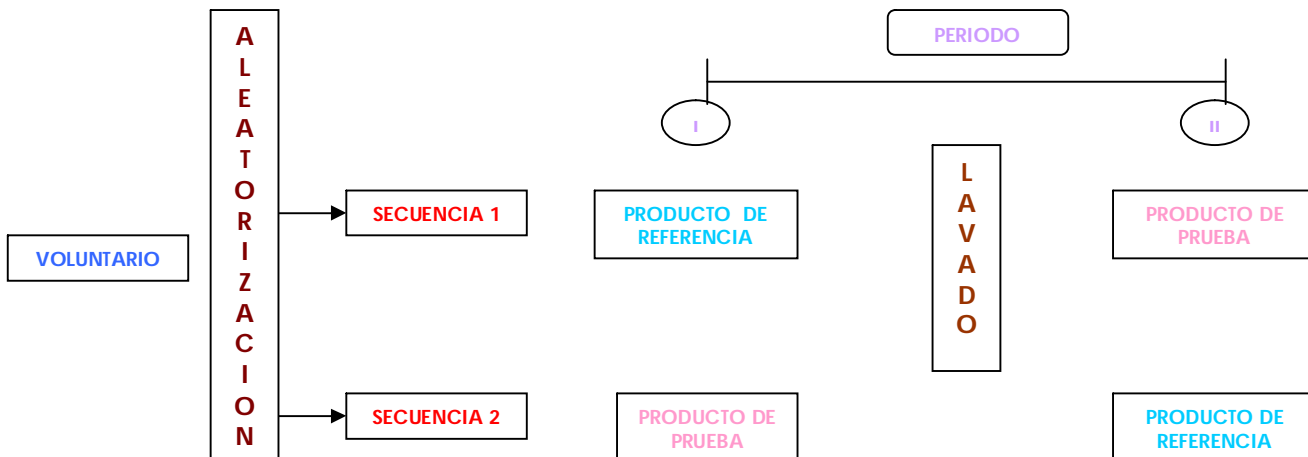


Figura 2. Muestra un ejemplo de un diseño cruzado 2 X 2.

FASE ANALITICA

Manejo de muestras:

- Incluye las pruebas de bioseguridad que deben realizarse a las muestras, la identificación y reporte de las mismas llevando un sistema de control con los datos más importantes como No. de estudio o protocolo, No. de voluntario, No. de fase clínica, código de colores, estado de la muestra, etc. a manera de evitar errores y confusión en el desarrollo del estudio analítico.
- También debe contemplarse la conservación y estabilidad de las muestras de tal manera que se mantengan íntegras para una determinación verídica y adecuada del fármaco a analizar.
- La temperatura de conservación que se maneja generalmente es de -70° C.
- Cuando las muestras deban ser transportadas se debe contar con un PNO que considere el tipo de contenedor, registros de condiciones de transporte (temperatura, humedad y tiempo), y correcta identificación.

Desarrollo y validación del método analítico:

- La validación debe realizarse con el mismo tipo de matriz biológica que las muestras para estudio (4). La validación incluye todos los procedimientos requeridos para demostrar que un método para cuantificar la concentración de un analito (o series de analitos) en una matriz biológica particular es útil para su aplicación (12).
- Se deben establecer primero los criterios de aceptación de los experimentos para validación.
- La validación debe contemplar por lo menos los siguientes puntos: Rango: El rango está definido por las concentraciones esperadas en las muestras (13), Recuperación absoluta: es la medida de la respuesta de un estándar en la matriz biológica en estudio que fue sometido a extracción, expresado como un porcentaje de la respuesta de un estándar puro que no ha sido sometido a un proceso de extracción (12); Linealidad: la linealidad se define como la habilidad para obtener resultados experimentales

directamente proporcionales a la concentración del analito en las muestras (13), Precisión: Se define como la concordancia entre las medidas realizadas a una misma muestra (12); Repetibilidad: se define como la habilidad de repetir la misma metodología con el mismo analista, usando el mismo equipo, los mismos reactivos en un intervalo corto de tiempo, también se conoce como intra-días (13); Rreproducibilidad: habilidad para repetir la misma metodología bajo diferentes condiciones como cambio de analista, reactivos, tiempo, etc., también se conoce como inter-días (13), Exactitud: se define como la concordancia entre el valor medido y el valor verdadero; Estabilidad: demuestra que la concentración del analito en la muestra en el momento del análisis corresponde a la concentración del analito en el tiempo de obtención de la muestra (12); Condiciones de almacenamiento, Ciclos de Congelación-descongelación (4).

Análisis de muestras:

- Realizar un plan de trabajo antes del análisis químico de muestras biológicas donde se indique: el responsable del análisis, las actividades asignadas a cada persona, el orden de análisis de las muestras, los criterios de aceptación, rechazo y reanálisis.
- Realizar el análisis químico del estudio en las mismas condiciones analíticas establecidas en la validación del método analítico.
- Preparar y conservar muestras control en la misma matriz biológica, por lo menos a tres concentraciones: alta, media y baja, dentro del rango y por duplicado, que se distribuirán y analizarán a lo largo de cada corrida analítica.
- Para cada día de análisis se debe procesar la curva de calibración de manera idéntica a lo establecido en la validación.
- Las muestras biológicas provenientes de un sujeto en sus diferentes periodos, deben analizarse bajo la misma curva patrón, en la misma corrida analítica y en el mismo instrumento.
- Verificar el buen funcionamiento del sistema analítico, confirmando antes del análisis de muestras de cada día de trabajo, que los diferentes equipos trabajan correctamente (p. ej. eficiencia de la columna, volumen de entrega de bombas cromatográficas, precisión del inyector); cualquier otra evaluación que asegure la adecuación de todo el sistema analítico para cuantificar confiablemente las muestras biológicas (4).

Análisis estadístico:

La metodología estadística ortodoxa basada en el esquema tradicional de prueba de hipótesis (hipótesis nula e hipótesis alterna) no es apropiada para asegurar la bioequivalencia. Se ha adoptado un esquema diferente para determinar, a partir de los parámetros farmacocinéticos medidos después de la administración de los productos de prueba y de referencia, si las medias poblacionales son similares. Este procedimiento implica el cálculo del intervalo de confianza para el cociente o diferencia de los promedios de las variables farmacocinéticas entre los productos de prueba y de referencia. Los límites del intervalo de confianza para las medias poblacionales, así como el nivel de confianza, se establecen para determinar la bioequivalencia (4).

Pasos a seguir:

- Para cada sujeto, construir una curva de concentración plasmática (ó sérica, ó en sangre total) contra tiempo para cada formulación (A y B). De éstas curvas

determinar gráficamente $C_{m\acute{a}x}$. Determinar ABC por la regla de los trapezoides. Para cada sujeto se tendrán dos valores de ABC: ABC^A y ABC^B y dos valores de $C_{m\acute{a}x}$: $C_{m\acute{a}x}^A$ y $C_{m\acute{a}x}^B$. Transformar éstos valores a logaritmos. (4)

- Para cada sujeto calcular los cocientes $\log(ABC^A)/\log(ABC^B)$ y $\log(C_{m\acute{a}x}^A)/\log(C_{m\acute{a}x}^B)$.
- Realizar prueba de Schuirmann doble unilateral para los datos transformados logarítmicamente. El análisis se debe realizar tanto para los datos de ABC como para los datos de $C_{m\acute{a}x}$.
- Si los intervalos de confianza clásicos están en los límites 0.8-1.25 (80-125%) y el procedimiento de las dos pruebas de "t" de una cola no revela la existencia de diferencias significativas con respecto a estos límites ($p > 0.05$), se declara que las formulaciones A y B son bioequivalentes. Si el análisis estadístico revela que se exceden éstos límites, se declara que las formulaciones son no bioequivalentes.
- En caso de discrepancia entre los resultados obtenidos con los intervalos de confianza de Westlake y el procedimiento de las dos pruebas de "t", prevalecen las conclusiones obtenidas con el procedimiento de las dos pruebas de "t" de una cola (2).

Existen varios programas de cómputo comerciales para llevar a cabo estudios de bioequivalencia. Los programas son compilaciones de procesos matemáticos. Entre los programas más difundidos están el Biopak data analysis system y el WinNonlin profesional. Existe también la posibilidad de realizar un análisis de bioequivalencia muy completo y adecuado con el paquete de análisis clínicos desarrollado por el SAS Institute (2).

FACTORES QUE AFECTAN LA BIODISPONIBILIDAD DE UN MEDICAMENTO:

Disolución:

Las formulaciones sólidas deben tener características de disolución tales que permitan que el principio activo se encuentre disuelto en el sitio de mejor absorción dentro del tubo digestivo. Las características de disolución de una formulación dependen de varios factores, dados tanto por la naturaleza de la materia prima (principio activo como excipientes) como por la tecnología empleada en la elaboración (2).

En relación con las propiedades del principio activo que pueden afectar su disolución y/o biodisponibilidad se pueden mencionar la solubilidad intrínseca, la velocidad de disolución, el polimorfismo, estado cristalino, peso molecular, tamaño del cristal, forma química (ácido, base, sal), pK, coeficiente de partición (7).

Otro factor importante es la tecnología farmacéutica usada al momento de elaborar la formulación; se puede usar la misma materia prima, pero si se varían las condiciones de manufactura, el resultado puede ser muy diferente (7).

El adecuado uso de los excipientes va a determinar la absorción del principio activo presente en una formulación farmacéutica. El escoger bien los excipientes, así como el uso de una tecnología farmacéutica adecuada, va a permitir modular el proceso de absorción. (1). En general para su elección se deben considerar los siguientes puntos: compatibilidad fisicoquímica de la formulación, presencia de agentes humectantes; tipo, espesor y porosidad de recubrimientos, evitar la formación de masas viscosas, evitar la posible adsorción del fármaco a macromoléculas (7).

Factores relacionados con el paciente o voluntario: Variabilidad de pH en el tracto gastrointestinal, velocidad de vaciamiento gástrico, motilidad intestinal, metabolismo presistémico, estados de enfermedad, alimentos, volumen del fluido.

Las técnicas analíticas empleadas en recientes años para la estimación de moléculas en plasma humano incluyen cromatografía de líquidos de alta resolución/ultravioleta (HPLC/UV) y cromatografía de gases. La buena reproducibilidad y linealidad demostrada para éstos métodos fue adecuada para el monitoreo terapéutico de fármacos.

En principio la cromatografía de gases acoplada a detector de captura de electrón o espectrometría de masas, proporcionaron alta sensibilidad (límite de cuantificación por debajo de 0.2 ng/ml); sin embargo, el complejo procedimiento de derivatización empleado hizo de éstos inconvenientes. Recientemente se han empleado métodos más sensibles y rápidos como la cromatografía de líquidos acoplados a espectrometría de masas en tandem (14).

FUNDAMENTOS DE ESPECTROMETRIA DE MASAS

La espectrometría de masas (EM) es básicamente una técnica que permite determinar la masa de una molécula (peso molecular). Además, a menudo, proporciona valiosa información estructural acerca de compuestos desconocidos si se mide la masa de los fragmentos que se producen cuando se rompen moléculas de alta energía. Existen varios tipos disponibles de espectrómetros de masa, pero uno de los más comunes es el instrumento de impacto electrónico y sector magnético (15).

En el espectrómetro de masas llegan electrones de alta energía a la muestra, rompiendo las moléculas. Se mide la masa de los fragmentos, y se usa ésta información para reconstruir la molécula. El proceso es semejante al análisis de un vaso, al que se dispara con un rifle, y después se pesan todos los fragmentos.

Un espectrómetro de masas ioniza las moléculas en un alto vacío, clasifica los iones de acuerdo a sus masas, y registra la abundancia de los iones de cada una de las masas. Un espectro de masas es la gráfica que dibuja el espectrómetro, estando graficadas las masas en el eje de las X y el número relativo de iones de cada una de las masas en el eje de las Y. Se emplean varios métodos para ionizar las muestras, y también hay varios métodos para separar los iones de acuerdo con sus masas. La técnicas más comunes son la ionización por impacto electrónico, para formar los iones, y la deflexión magnética para separarlos.

Ionización por impacto electrónico: Cuando un electrón choca con una molécula neutra, puede ionizarla eliminando otro electrón.

El tipo más común de molécula ionizada es el que carece de un electrón, y por lo tanto, tiene una carga positiva y un electrón no apareado. Por consiguiente, el ion es un radical catión.

Además de ionizar una molécula, el impacto de un electrón energético la puede romper. Este proceso de fragmentación da una mezcla característica de diferentes iones. El cation

radical que corresponde a la masa de la molécula original se llama ion molecular (M^+). Los iones de menores pesos moleculares se llaman fragmentos.

Una vez que la ionización y al fragmentación han formado una mezcla de iones, éstos deben separarse y detectarse. Las moléculas de la muestra se ionizan mediante un haz electrónico que pasa a través de una cámara de vacío. Los iones con carga positiva son atraídos por la placa cargada negativamente, que tiene una rendija angosta para permitir que algunos de los iones pasen a través de ella. El haz de iones entra a un tubo al vacío, con una parte curva colocada entre los polos de un imán grande. Cuando pasa una partícula cargada a través de un campo magnético, sufre una fuerza transversal y se curva su trayectoria. La trayectoria de un ion más pesado se flexiona menos que la de un ion ligero.

El radio exacto de curvatura del trayecto de un ion depende de su relación carga a masa que se simboliza como m/z . En esta expresión, m es la masa del ion en unidades de masa atómica y z es su carga en unidades de carga electrónica. La gran mayoría de los iones tienen una carga de +1, de modo que se puede considerar que sus trayectorias se curvan en una cantidad que depende solo de sus masas.

Al final del tubo del vacío hay otra rendija, seguida de un detector de iones conectado con un amplificador. A un campo magnético dado, sólo el trayecto de los iones de una masa determinada se curvará exactamente la cantidad correcta para que pasen a través de la rendija y entren al detector, el cual produce una señal que es proporcional al número de iones que llegan a él. Variando el campo magnético, el espectrómetro recorre todas las masas iónicas posibles y produce una gráfica del número de iones de cada masa (16).

SERTRALINA (17).

Nombre químico: (1S-cis)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidro-N-metil-1-naftalenamina clorhidrato (18).

Fórmula condensada:
 $C_{17}H_{17}NCl_2 \cdot HCl$

Peso molecular: 342.7 g/mol

Fórmula desarrollada:

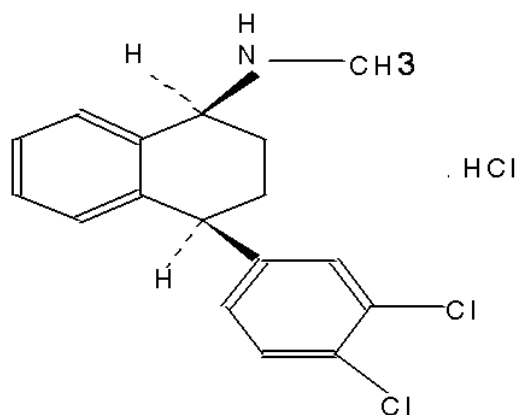


Figura 3. Estructura química de clorhidrato de sertralina.

Descripción:

Es un polvo cristalino blanco (19).

Solubilidad:

Ligeramente soluble en agua y alcohol isopropílico y moderadamente soluble en etanol (19).

Uso terapéutico: El clorhidrato de sertralina es un antidepresor inhibidor de la recaptura de serotonina (19).

Farmacocinética:

Biodisponibilidad sistémica: En humanos, con una dosis oral diaria en un rango de 50 a 200 mg durante 14 días, la concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) de sertralina ocurre entre 4.5 a 8.4 horas. El tiempo de vida media en plasma de sertralina es de alrededor de 26 horas. Basados en éstos parámetros farmacocinéticas, los niveles del estado estable de sertralina se alcanzan aproximadamente después de una semana de dosificación diaria. La farmacocinética lineal fue demostrada en un estudio de dosis única en el cual el $C_{m\acute{a}x}$ y el área bajo la curva de la concentración plasmática contra tiempo de sertralina, fue proporcional en todo el rango de dosificación de 50 a 200 mg. Consistente con la vida

media de eliminación terminal, hay una acumulación aproximadamente de la mitad, comparado a dosis única de sertralina con dosis repetidas en un rango de 50 a 200 mg.

Los efectos de los alimentos en la biodisponibilidad de sertralina tabletas fueron estudiados en voluntarios administrando una dosis única con y sin alimentos. El área bajo la curva se incrementó ligeramente cuando el medicamento fue administrado con alimentos pero $C_{m\acute{a}x}$ fue 25 % más grande, mientras que el $t_{m\acute{a}x}$ disminuyó de 8 horas después de la dosis a 5.5 horas.

La sertralina sufre extenso metabolismo de primer paso. El paso principal del metabolismo es la N-desmetilación. La N-desmetilsertralina tiene una vida media terminal de eliminación de 62 a 104 horas. La N-desmetilsertralina es substancialmente menos activa que la sertralina. Sertralina y N-desmetilsertralina sufren desaminación oxidativa y una subsecuente reducción, hidroxilación y conjugación glucurónica (19).

Farmacodinamia:

El mecanismo de acción de sertralina está ligado a la inhibición neuronal del sistema nervioso central de la recaptura de serotonina (5 HT).

Estudios con dosis clínicamente relevantes en hombres han demostrado que sertralina bloquea la recaptura de serotonina. Estudios en animales también sugieren que sertralina es un potente y selectivo inhibidor de la recaptura de serotonina y sólo débil efecto sobre la recaptura neuronal de norepinefrina y dopamina. Estudios in vitro han demostrado que sertralina tiene afinidad no significativa para los receptores adrenérgicos (alfa 1, alfa 2 y beta), colinérgicos, GABA, dopaminérgicos, histaminérgicos, serotoninérgicos o benzodiazepínicos; el antagonismo a algunos receptores ha sido asociado con varios efectos anticolinérgicos, sedativos y cardiovasculares para otras drogas psicotrópicas. Sertralina no inhibe la monoamino oxidasa (19).

Efectos adversos: En estudios controlados doble ciego con placebo en pacientes con trastorno obsesivo compulsivo y en pacientes con depresión se presentaron los siguientes efectos adversos:

Sistema nervioso autónomo: Aumento de la sudoración, boca seca.

Sistema nervioso central y periférico: somnolencia, temblor, vértigo.

General: Fatiga, malestar.

Desórdenes gastrointestinales: Dolor abdominal, anorexia, constipación, diarrea / heces blandas, dispepsia, náusea.

Reproductivo: Retardo de la eyaculación en varones.

En reportes espontáneos post comercialización del producto se presentaron los siguientes efectos adversos:

Sistema nervioso autónomo: midriasis y priapismo.

General: reacciones alérgicas, anafilactoides, astenia, fatiga, fiebre, bochornos, malestar general, disminución o incremento de peso.

Cardiovascular: dolor torácico, edema periférico, hiopertensión arterial, palpitaciones, edema periorbitario, síncope y taquicardia.

Sistema nervioso central y periférico: coma, convulsiones, cefalea, migraña, trastornos del movimiento, contracciones musculares involuntarias, parestesias e hipoestesias.

También se han reportado signos y síntomas relacionados con el síndrome serotoninérgico; en algunos casos asociado con el uso concomitante de medicamentos serotoninérgicos, éstos síntomas pueden incluir agitación, confusión, diaforesis, diarrea, fiebre, hipertensión arterial, rigidez, taquicardia, glactorrea, ginecomastia, hiperprolactinemia, hipotiroidismo, síndrome de secreción inapropiada de la hormona antidiurética, dolor abdominal, incremento de apetito, constipación, pancreatitis, vómitos, tinnitus, alteración de la función plaquetaria, sangrado anormal, leucopenia, púrpura y trombocitopenia (19).

Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos (19)

SERTRALINA	
C_{máx}	20 ng/ml – 55 ng/ml
t_{máx}	4.5 h – 8.4 h
Vida media	26 h
Metabolismo hepático	N-desmetilación Se original N-desmetilsertralina

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Los trastornos mentales tienen un fuerte impacto sobre la vida de los individuos, la familia y la sociedad en su conjunto. Se calcula que más del 20% de la población mundial padecerá algún trastorno afectivo que requiera tratamiento médico en algún momento de su vida (20). El informe mundial sobre la salud 2001, refiere que la prevalencia puntual de depresión en el mundo en los hombres es del 1.9% y de 3.2% en las mujeres (20). En México se han llevado a cabo algunos estudios epidemiológicos para estimar la prevalencia de trastornos mentales, incluidos los trastornos y episodios depresivos. La encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica, llevada a cabo en 2002 entre población urbana de 18 a 65 años de edad, concluyó que la prevalencia de depresión de adultos en México en el año anterior a la aplicación de la encuesta fue de 4.5% (IC 95%=4.1,4.9), con importantes diferencias entre sexos, grupos de edad y, en el caso de los hombres, lugar de residencia. En el país, el porcentaje de mujeres que refieren una sintomatología compatible con depresión es de 5.8% (IC 95%= 5.2, 6.5). La cifra correspondiente en los hombres es de 2.5% (IC 95%= 2.2, 3.0) (20).

La medicación con antidepresivos ha sido usada para todas las formas de depresión mayor. A pesar de sus contraindicaciones, estos agentes son la primera línea de tratamiento cuando las depresiones son severas y cuando existen síntomas psicóticos y melancólicos (21).

La sertralina es un potente antidepresivo de última generación del grupo de inhibidores de la recaptura de serotonina indicada para el tratamiento de los síntomas de depresión, incluida la acompañada por síntomas de ansiedad; trastorno obsesivo-compulsivo; trastorno del pánico con o sin agorafobia; estrés postraumático y fobia social (22).

Los inhibidores selectivos de la recaptura de la serotonina son tan efectivos como los antidepresivos tricíclicos, pero son mejor tolerados (21).

Durante el año 2005 el sector salud invirtió una cifra de \$125,483,549.83 pesos en la adquisición de sertralina para el tratamiento de enfermedades depresivas en los derechohabientes. En lo que va del año 2006, ha invertido \$50, 511, 136.42 de pesos para la compra del medicamento (23).

El costo del producto innovador es muy elevado (a razón de 3 veces más que el costo del producto como genérico intercambiable) (23), convirtiéndose en prohibitivo para la población de escasos recursos. Surge entonces la necesidad de contar con un medicamento genérico intercambiable de sertralina, cuya calidad, eficacia y seguridad sea comprobada a través de un protocolo de bioequivalencia realizado en voluntarios sanos, cuantificando el principio activo en plasma a través de técnicas especializadas como la espectrometría de masas. Los resultados son tratados estadísticamente para determinar finalmente si los productos pueden ser considerados o no como intercambiables.

Muchos de los datos farmacocinéticos de los principios activos reportados se derivan de estudios realizados en otras poblaciones, por lo que los datos obtenidos de un estudio de bioequivalencia en México arrojan datos útiles sobre éste tipo de población.

4. OBJETIVOS:

1. Diseñar un protocolo de bioequivalencia acorde con la NOM-177-SSA1-1998.
2. Implementar y validar un método analítico altamente sensible y específico para la cuantificación de sertralina en plasma.
3. Determinar los parámetros farmacocinéticos de C_{\max} , ABC 0-t y ABC 0- ∞ para sertralina.
4. Aplicar un modelo estadístico para establecer o descartar bioequivalencia entre dos formulaciones de sertralina.
5. Establecer la biodisponibilidad entre dos formulaciones de sertralina cápsulas de 100 mg.
6. Obtener datos farmacocinéticos de sertralina en población Mexicana a partir de los datos recopilados y calculados durante el estudio.

5. HIPOTESIS

Si la formulación A de sertralina cápsulas de 100 mg es bioequivalente con respecto a la formulación del innovador Altruline® cápsulas (1), entonces pueden ser consideradas intercambiables.

6. DISEÑO EXPERIMENTAL:

TIPO DE ESTUDIO:

- Dosis única
- Dos tratamientos
- Dos periodos
- Dos secuencias
- Cruzado
- Aleatorizado
- Longitudinal
- Prospectivo
- Balanceado
- Con un periodo de lavado de 21 días

6.1. POBLACIÓN:

24 voluntarios sanos

6.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Hombres de edad entre 18 y 45 años.
- No fumadores o que hayan dejado de fumar 72 hrs. Previas al estudio.
- Sin antecedentes de drogadicción o de abuso de alcohol ,café, bebidas de cola, ni estar bajo la administración de medicamentos concomitantes.
- Con índice de masa corporal no menor de 20.0 y no mayor de 29.9.
- Hallazgos normales en la historia clínica.
- Signos vitales normales.
- Electrocardiograma y teleradiografía de tórax normales.
- Resultados de exámenes de laboratorio clínico dentro de los valores normales ó \pm 10% ó a criterio de los médicos responsables de los siguientes estudios: Biometría hemática completa; perfil de función hepática que incluya bilirrubina directa e indirecta, TGO, TGP, proteínas totales, albúmina, globulina, relación albúmina/globulina; química sanguínea que incluya glucosa, urea, creatinina y ácido úrico; exámen general de orina, pruebas para detectar VIH, hepatitis B y hepatitis C, todas ellas negativas.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Historia de hipersensibilidad a la sertralina o compuestos similares.
- Historia o presencia de enfermedad neurológica, renal, hepática, cardíaca, pulmonar, gastrointestinal, endocrina, neuromuscular o hematológica.
- Historia de tos crónica, asma, bronquitis crónica u otra condición broncoespástica.
- Arritmias cardíacas.
- Enfermedades colágeno vasculares.
- Enfermedades dermatológicas.
- Cualquier enfermedad clínicamente significativa durante las cuatro semanas antes de entrar al estudio.

- Antecedentes de uso y abuso de sustancias psicotrópicas o estupefacientes.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

- Presencia de signos y síntomas de hipotensión arterial de moderada a grave.
- Lipotimia, síncope o shock.
- Pérdida de muestras continuas que correspondan a la fase de absorción, eliminación o alrededor a las correspondientes al $C_{máx}$.
- Reacción adversa grave debida al medicamento.
- Indisciplina.
- Trascusión dietética y /o por exceso de líquidos y alimentos.
- Enfermedades concomitantes o tratamientos no permitidos en el protocolo.
- Eventos adversos serios para la vida.
- Si alguno de los sujetos participantes durante el periodo de lavado llega a tomar bebidas alcohólicas o consumir drogas que alteren el estudio 48 hrs. antes de ingresar a la fase 2.
- Por retiro del consentimiento informado por parte del voluntario que así lo desea.

6.3. VARIABLES

- Concentración plasmática máxima ($C_{máx}$).
- Área bajo la curva de concentración plasmática desde la administración hasta el último tiempo de muestreo (ABC_0-t).
- Área bajo la curva de concentración plasmática extrapolada a ∞ ($ABC_0-\infty$).

6.4. MATERIALES Y EQUIPO FASE CLINICA

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Plasma sanguíneo obtenido de los 24 voluntarios

MATERIAL

- Tubos Vacutainer con heparina.
- Jeringa para insulina.
- Jeringas de 10 mL.
- Criotubos de polipropileno con tapón de rosca.
- Pipetas Pasteur

EQUIPO

- Ultra congelador 923 marca Forma Sci
- Centrífuga Jouan BR4i

6.5. MÉTODO FASE CLINICA

- Reclutamiento a través de pláticas a grupos de alumnos de pregrado del hospital y o por presentación espontánea o por referencia del servicio.
- Inclusión en el estudio de 24 voluntarios de acuerdo a los criterios de inclusión.
- Firma de cada voluntario de la carta de consentimiento informado donde se les da a conocer el protocolo clínico, así como las indicaciones correspondientes que deberán cumplir durante todo el tiempo que dure el estudio, quedando por escrito el compromiso de respetar los lineamientos.
- Aleatorización de voluntarios para determinar la secuencia de la formulaciones para cada periodo.
- Dispensación de medicamentos (1 cápsula de cada formulación) en frascos individuales de acuerdo al código de identificación de cada voluntario.
- El material clínico utilizado durante el estudio se maneja bajo las buenas prácticas clínicas (22) y la Unidad Clínica cuenta con un Procedimiento Normalizado de Operación para toma, identidad, procesamiento, manejo, almacenamiento, desecho, recepción y transporte de muestras biológicas.

FASE 1

Día 1:

- Ingreso de los voluntarios a las 7:00 a.m.
- Formación de 4 grupos (A, B, C y D) de 6 integrantes al azar.
- Colocación de catéter intravenoso y toma de muestra 0.
- Toma del medicamento a las 8:00 hrs. iniciando con el grupo A y continuando con el resto de los grupos a intervalos de tres minutos entre cada grupo concluyendo la toma a las 8:09 a.m. (cada voluntario tomará la formulación que le fue asignada en la aleatorización). Se inicia el desayuno inmediatamente a la toma del medicamento. El desayuno es homogéneo para todos los voluntarios no existiendo alguna indicación dietética especial.
- Toma de muestras sanguíneas en los siguientes horarios después de la toma del medicamento: 1,0; 3,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 10,0; 11,0; 12,0. (todas las muestras sanguíneas son centrifugadas a 4°C inmediatamente después de ser extraídas; el plasma es colocado en criotubos previamente identificados con el número de voluntario, número de periodo y número de muestra y son almacenadas en un ultracongelador a -70°C hasta su análisis.
- Toma de signos vitales a las 13:30.
- Comida a las 14:00 horas. La comida es homogénea para todos los voluntarios no existiendo alguna indicación dietética especial.
- Toma de signos vitales a las 19:00 horas.
- Cena a las 20:30 horas. La cena es homogénea para todos los voluntarios no existiendo alguna indicación dietética especial.
- Internamiento de los voluntarios durante la noche.
- Reporte de efectos adversos durante el desarrollo del estudio clínico

Día 2: Toma de muestra de 24 horas, alta temporal y cita para el siguiente día (día 3) para la toma de muestra de 48 horas.

Días 3 a 5:

- Toma de muestras sanguíneas a las 8:00 a.m. Los voluntarios deben presentarse en el horario indicado y respetar los lineamientos establecidos en los criterios de inclusión como no fumar, no ingerir café ni alcohol. En caso de requerir el uso de un medicamento de manera indispensable durante el estudio, deberán notificarlo al médico Investigador Responsable para que evalúe la interacción medicamentosa de los fármacos.

Día 6 a 21:

- Los voluntarios deberán permanecer en las condiciones mencionadas en los criterios de inclusión.

Periodo de lavado: El periodo de lavado se inicia a partir del día 1, siendo de 21 días en total.

FASE 2

Día 22:

- Ingreso de los voluntarios a las 7:00 a.m.
- Colocación de catéter intravenoso y toma de muestra 0.
- Toma del medicamento a las 8:00 hrs. iniciando con el grupo A y continuando con el resto de los grupos a intervalos de tres minutos entre cada grupo concluyendo la toma a las 8:09 a.m. (cada voluntario tomará la formulación contraria a la que tomó en la primera fase clínica). Se inicia el desayuno inmediatamente a la toma del medicamento. El desayuno es homogéneo para todos los voluntarios no existiendo alguna indicación dietética especial.
- Toma de muestras sanguíneas en los siguientes horarios después de la toma del medicamento: 1,0; 3,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 10,0; 11,0; 12,0.
- Toma de signos vitales a las 13:30.
- Comida a las 14:00 horas. La comida es homogénea para todos los voluntarios no existiendo alguna indicación dietética especial.
- Toma de signos vitales a las 19:00 horas.
- Cena a las 20:30 horas. La cena es homogénea para todos los voluntarios no existiendo alguna indicación dietética especial.
- Internamiento de los voluntarios durante la noche.
- Reporte de efectos adversos durante el desarrollo del estudio clínico.

Día 23: Toma de muestra de 24 horas, alta temporal y cita para el siguiente día (día 24) para la toma de muestra de 48 horas.

Días 24 a 26:

- Toma de muestras sanguíneas a las 8:00 a.m. Los voluntarios deben presentarse en el horario indicado y respetar los lineamientos establecidos en los criterios de inclusión como no fumar, no ingerir café ni alcohol. En caso de requerir el uso de un medicamento de manera indispensable durante el estudio, deberán notificarlo al médico Investigador Responsable para que evalúe la interacción medicamentosa de los fármacos.

Día 29:

- Cita para control post estudio.

Tabla 2. Cronograma de toma de muestras

NUMERO DE MUESTRA	TIEMPO EN HORAS	HORA
0	0	En la colocación del catéter
1	1,0	9:00
2	3,0	11:00
3	5,0	13:00
4	6,0	14:00
5	7,0	15:00
6	8,0	16:00
7	10,0	18:00
8	12,0	20:00
9	24,0	8:00
10	48,0	8:00
11	72,0	8:00
12	96,0	8:00

MATERIAL Y EQUIPO FASE ANALÍTICA

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Plasma libre de fármaco obtenido del banco de sangre del Hospital General de México.
- Plasma obtenido de los 24 voluntarios participantes en el estudio.

MATERIAL

- Matraces erlenmeyer
- Vasos de precipitados
- Probetas
- Pipetas Pasteur
- Pipetas volumétricas
- Matrices aforados

EQUIPO

- Balanza analítica Sartorius mod BP221S
- Vórtex Maxi Mix II marca Thermoline
- Parrilla de agitación y calentamiento Cimarec 3 marca Thermolyne
- Ultracongelador 923 marca Forma Sci
- Centrífuga BR4i marca Jouan
- Potenciómetro pH 120 marca Conductronic
- Micropipetas automáticas con puntas para microvolumen marca Microlit

- UPLC Acquity y detector de masas en tandem modelo Quattro Micro Marca Waters, Inc. Software QuanLynx de Waters.
- Fase móvil: Acetato de amonio 5 mM pH 3 / acetonitrilo 20:80 (v/v).
- Columna Xbridge Phenyl 2.5 μm , 3.0*50 mm
- Velocidad de flujo: 500 $\mu\text{L}/\text{min}$
- Volumen de inyección: 10.0 μl
- Temperatura del automuestreador: 18°C.

CONDICIONES DEL ESPECTRÓMETRO DE MASAS

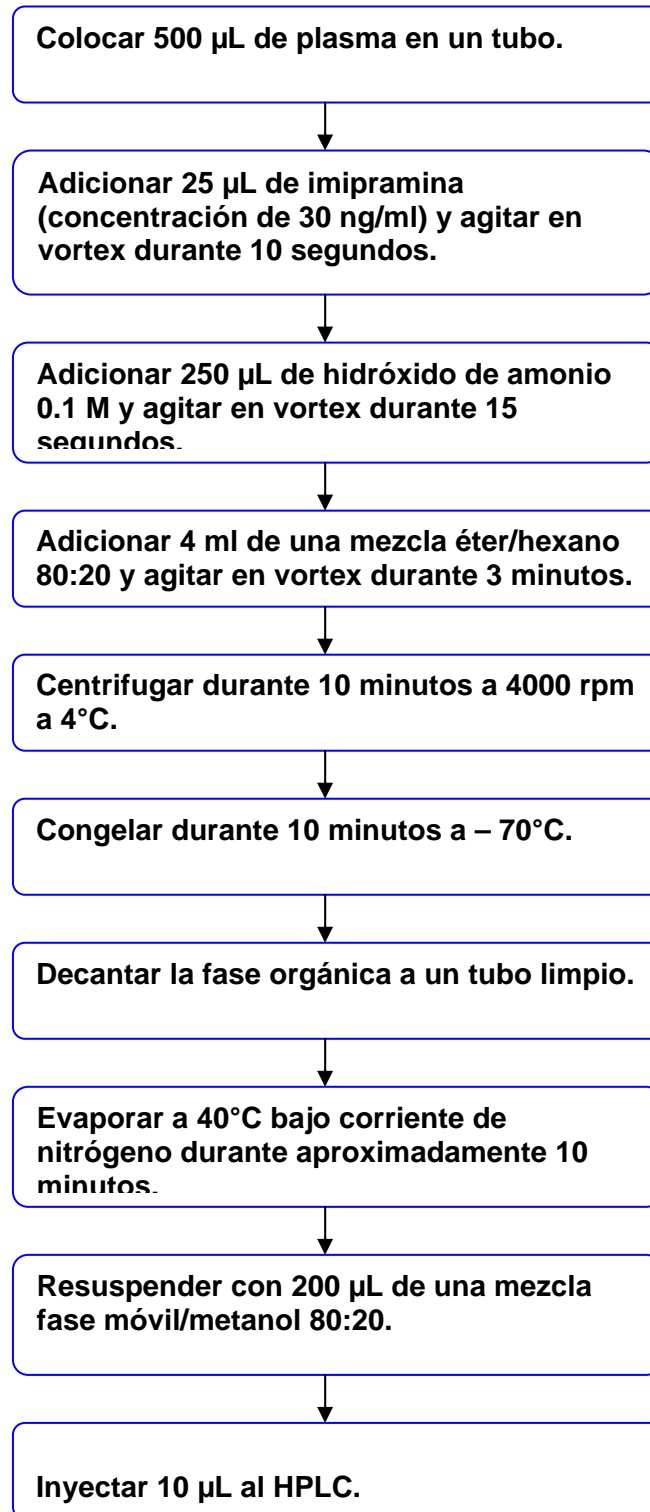
- ESI +
- Sertralina: 306.09 > 158.33 Th
- Imipramina: 281.41 > 85.30 Th
- Temperaturas del Source: 120°C, desolvatación 450°C, flujo de gas del cono: 5 L/h, desolvatación 550 L/h.

REACTIVOS

- Estándar de Sertralina HCl.
- Estándar de Imipramina HCl.

METODOLOGÍA DE EXTRACCION

La metodología es realizada con luz amarilla debido a que la imipramina es fotosensible.



VALIDACIÓN DEL METODO ANALITICO DE ACUERDO A LOS CRITERIOS DE LA NOM 177.:

Intervalo de cuantificación: El intervalo de cuantificación o rango consta de 6 concentraciones diferentes en función de las concentraciones esperadas de sertralina, incluye el límite de cuantificación, puntos intermedios y la concentración máxima esperada. El intervalo es el siguiente:

1 ng/mL
10 ng/mL
20 ng/mL
30 ng/mL
40 ng/mL
50 ng/mL

Recuperación absoluta: Se analizan por quintuplicado tres concentraciones conocidas: baja, media y alta de sertralina en plasma, dentro del rango (3 ng/mL, 25 ng/mL, 35 ng/mL). Se comparan estos resultados con las respuestas de soluciones de sertralina en las mismas concentraciones y en los mismos disolventes. El porcentaje de estas razones no necesariamente es del 100%, pero debe ser reproducible en cada nivel de concentración dentro del rango.

Linealidad: Se realiza por duplicado la curva de calibración en el rango propuesto, sometiendo a las mismas condiciones del método de extracción. Incluir los puntos control a tres niveles de concentración (3 ng/mL, 25 ng/mL, 35 ng/mL).

Repetibilidad: Analizar en un mismo día por sextuplicado tres concentraciones conocidas: baja, media y alta de sertralina en plasma (3 ng/mL, 25 ng/mL, 35 ng/mL). El coeficiente de variación no debe ser mayor que el 15%.

Reproducibilidad intralaboratorio: Analizar por duplicado durante cuatro días tres concentraciones conocidas: baja, media y alta de sertralina en plasma (3 ng/mL, 25 ng/mL, 35 ng/mL). El coeficiente de variación no debe ser mayor que el 15%.

Exactitud: El valor promedio de las determinaciones en cada nivel de concentración de los datos de repetibilidad y reproducibilidad deben estar dentro del $\pm 15\%$ del valor nominal de concentración.

Estabilidad: Determinar las condiciones de temperatura y tiempo en las que sertralina permanezca estable en plasma, durante su manejo, almacenamiento y procesamiento, al evaluar la respuesta de la concentración de sertralina en plasma, en muestras preparadas al menos por duplicado, a tres niveles de concentración dentro del rango (3 ng/mL, 25 ng/mL, 35 ng/mL), considerando lo siguiente:

Condiciones de almacenamiento: Evaluar la estabilidad de sertralina en plasma, bajo las condiciones de almacenamiento en las que se mantendrán las muestras, por un periodo por lo menos equivalente al que transcurre desde la obtención de la muestra hasta su análisis.

Ciclos de congelación-descongelación: Evaluar la estabilidad de sertralina al congelar y descongelar a temperatura ambiente muestras de concentración conocida; esto constituye un ciclo de congelación-descongelación. Se deben evaluar al menos dos ciclos de congelación-descongelación antes de analizar las muestras.

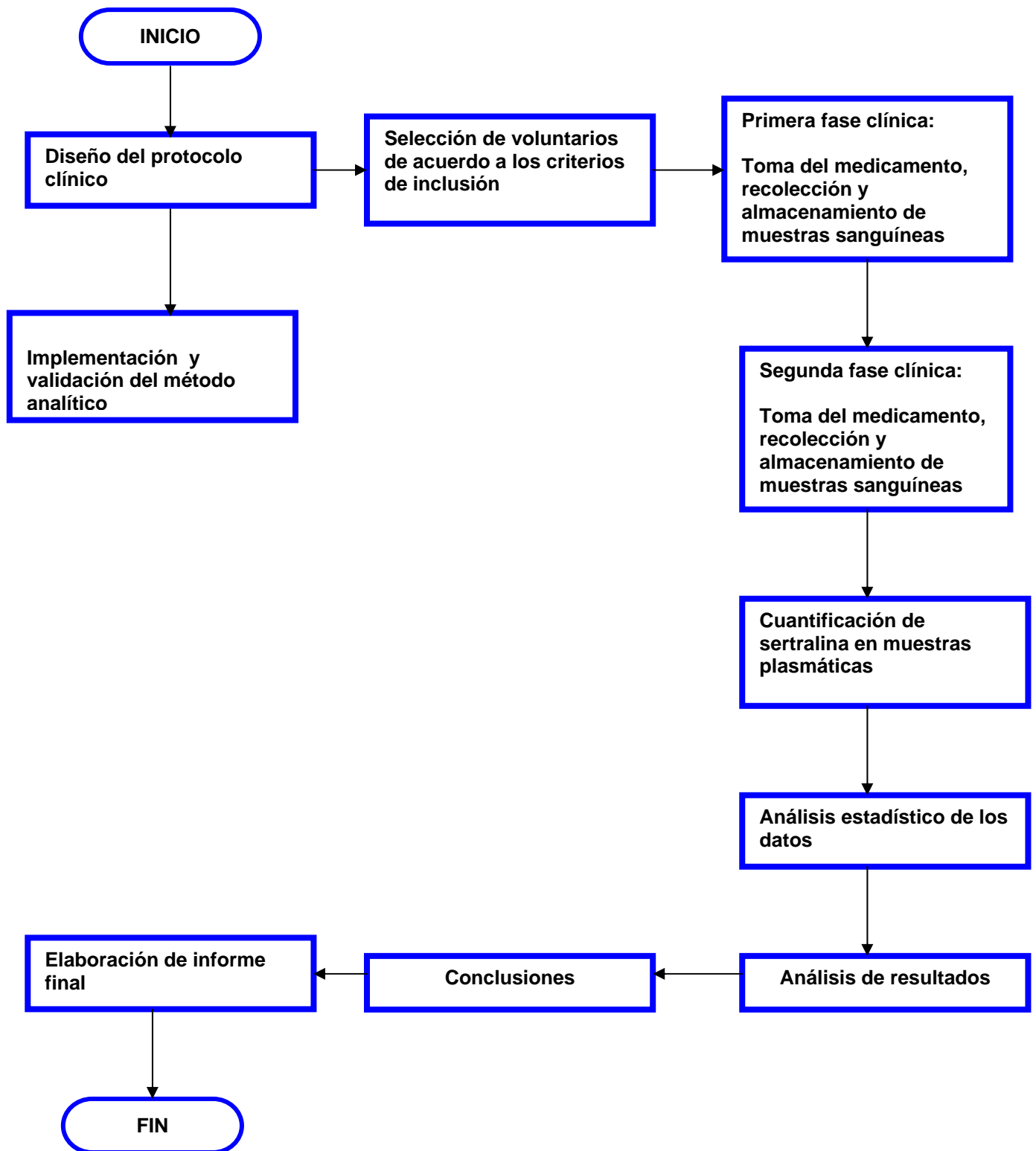
Límite de cuantificación: Analizar por septuplicado la concentración de sertralina más baja del rango de trabajo. Se considera que el punto tiene validez como límite de cuantificación, si su valor promedio cae dentro del 20% del valor nominal con un coeficiente de variación no mayor que 20%.

Límite de detección: Determinar la concentración a la cual la señal del compuesto por analizar en la matriz biológica puede distinguirse de los niveles de ruido o de una muestra libre del compuesto de interés.

Selectividad: Establecer la selectividad del método al analizar muestras blanco de plasma proveniente de por lo menos seis voluntarios. Evaluar el método contra posibles interferencias: Plasma de voluntarios sanos, plasmas bemozados, plasmas lipémicos, heparina, butiliosina, cafeína, clorfenamina, paracetamol y ácido acetilsalicílico. No deben existir interferencias en la cuantificación del compuesto por analizar.

Tolerancia: Evaluar la tolerancia del método analítico a pequeñas, pero deliberadas modificaciones: a partir de una muestra de sertralina en plasma con una concentración de 65 ng/mL, realizar una dilución 1:2 (concentración 32.5 ng/mL) y 1:3 (concentración de 21.5 ng/mL); se realiza la determinación por quintuplicado.

6.6. DIAGRAMA DE FLUJO



6.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se emplea el software Winnonlin módulo STAT, versión 3.1.

Se evalúan efectos de secuencia, sujeto anidado en secuencia, periodo y tratamiento por Análisis de varianza.

Se utiliza la prueba de hipótesis “two one sided” según Schuirman con un nivel de significancia del 0.05.

Hipótesis de prueba:

Para datos sin transformar

$$H_{01}: \mu_T - \mu_R \leq \theta_L \quad \text{vs} \quad H_{a1}: \mu_T - \mu_R > \theta_L$$

$$H_{02}: \mu_T - \mu_R \geq \theta_U \quad \text{vs} \quad H_{a2}: \mu_T - \mu_R < \theta_U$$

Para datos logaritmo transformados:

$$H_{01}: \mu_T / \mu_R \leq \theta_L \quad \text{vs} \quad H_{a1}: \mu_T / \mu_R > \theta_L$$

$$H_{02}: \mu_T / \mu_R \geq \theta_U \quad \text{vs} \quad H_{a2}: \mu_T / \mu_R < \theta_U$$

Donde θ_L es el límite inferior del intervalo para bioequivalencia, θ_U es el límite superior del intervalo para bioequivalencia. Se construirán los intervalos de confianza al 90% para el cociente del producto de prueba vs el producto de referencia.

Se establecerá que el producto de prueba es bioequivalente si el intervalo de confianza construido al 90% está dentro del rango de 80% al 120% del producto de referencia para datos sin transformar; para los datos logaritmo transformados se establecerá bioequivalencia si el intervalo construido está dentro del rango de 80% a 125%.

La potencia estadística para declarar confiables los resultados debe ser mayor o igual a 80.0 %

En el estudio pueden existir sujetos que tienen valores discordantes de uno o más parámetros farmacocinéticos cuando son comparados con otros valores en el estudio. Para la detección de éstos, se utilizará una prueba estadística basada en el valor absoluto del “residual estudentizado”; el valor mostrado debe ser el más extremo de todos los residuales. Para eliminar a un voluntario con éstas características, deberá aplicarse el criterio clínico y estadístico.

7. RESULTADOS

Previo al estudio de bioequivalencia las formulaciones fueron sometidas a un análisis completo para determinar el cumplimiento de especificaciones, y a un estudio de perfil de disolución por el Laboratorio fabricante de la formulación de prueba.

RESULTADOS CLINICOS

El estudio fue realizado con 24 voluntarios sanos. En la siguiente tabla se presentan datos de peso, talla, índice de masa corporal y signos vitales de los voluntarios.

Tabla 3. Tabla de peso, talla, índice de masa corporal y signos vitales de los voluntarios

No. De voluntario	Edad	Peso	Talla	I.M.C.	F.C.	F.R.	T.A.
	Años	Kg	M	Kg/m ²	Min ⁻¹	Min ⁻¹	mm Hg
1	23	63.4	1.78	20.5	73	18	121/74
2	26	63.9	1.72	21.5	67	24	111/73
3	24	60.0	1.71	20.5	66	18	120/70
4	22	78.8	1.76	25.0	83	18	137/78
5	20	63.1	1.70	21.5	59	16	119/69
6	23	79.8	1.69	28.0	70	20	143/83
7	32	69.3	1.62	24.0	60	18	127/82
8	24	72.0	1.78	23.0	57	20	122/78
9	21	75.5	1.75	24.0	89	21	136/76
10	25	86.2	1.78	27.0	81	24	139/78
11	24	68.6	1.71	23.0	69	20	122/78
12	20	75.2	1.78	23.0	67	16	135/65
13	25	65.0	1.70	22.5	77	16	133/83
14	24	66.1	1.73	22.0	82	22	114/72
15	25	69.0	1.68	24.5	96	16	131/83
16	25	60.5	1.59	23.3	83	20	110/70
17	32	64.5	1.66	23.5	73	16	125/74
18	27	67.0	1.69	23.0	85	24	122/86
19	22	60.2	1.67	21.5	85	20	118/77
20	27	84.6	1.77	27.0	95	20	136/87
21	23	89.7	1.80	27.0	80	22	108/73
22	32	85.5	1.77	27.0	59	18	127/79
23	27	79.6	1.79	24.5	85	18	116/63
24	27	60.0	1.70	21.0	89	20	119/78

I.M.C. Índice de masa corporal

F.C. Frecuencia cardiaca

F.R. Frecuencia respiratoria

T.A. Tensión arterial

EVENTOS ADVERSOS: A continuación se muestra la tabla número 4 para la evaluación de reacciones adversas según el Algoritmo modificado de Naranjo y los efectos adversos presentados durante el estudio en la tabla 5:

Tabla 4. Evaluación de reacciones adversas por Algoritmo modificado de Naranjo

Probabilidad	Si	No	No se sabe/No disponible
¿Existe evidencia previa concluyente sobre ésta reacción?	+1	0	0
¿Apareció la reacción adversa después de que se administró el medicamento?	+2	-1	0
¿Ocurrió mejoría de la reacción adversa cuando se suspendió el medicamento o cuando se administró un antagonista específico?	+1	0	0
Reapareció la reacción adversa cuando se administró el medicamento?	+2	-1	0
¿Existen causas alternativas que pudieran causar ésta reacción?	-1	+2	0
¿Ocurrió la reacción después de administrar el placebo?	-1	+1	0
¿Se demostró la presencia del medicamento en los fluidos corporales en concentraciones conocidas como tóxicas?	+1	0	0
¿Ocurrió variación de la gravedad de la reacción cuando varió la dosis del medicamento?	+1	0	0
¿Ha experimentado el paciente una reacción similar en exposiciones previas al medicamento o a medicamentos similares?	+1	0	0
¿Se ha confirmado la reacción adversa mediante algunas acciones objetivas?	+1	0	0
PUNTAJE TOTAL			

CATEGORÍA ORDINAL	CALIFICACIÓN NUMERICA
Probada	+9 a +12
Probable	+5 a +8
Posible	0 a +4
Dudosa	0

Tabla 5. Eventos adversos presentados durante el estudio.

Voluntario	Evento adverso en el periodo I	Evento adverso en el periodo II	CATEGORÍA ORDINAL
10	Cefalea 15:00 a 16:00 h		Posible
11	Náusea 14:00 a 15:00 h	Náusea 16:00 a 18:00 h	Probable
16		Náusea 11:00 a 14:00 h Vómito 15:00 h Diarrea 15:00 h	Posible
17	Náusea 12:52, 14:25, 17:30 y 18:00 h		Posible
18		Mareo 12:30 a 14:00 h Náusea 12:30 a 14:00 h	Posible
20		Náusea 11:09 a 14:00 h	Posible
24		Somnolencia 11:00 a 14:00 h Náusea 13:00 a 14:00 h	Posible

MUESTRAS SANGUÍNEAS PERDIDAS: En la tabla 6 se muestran las muestras sanguíneas que se perdieron durante la recolección.

Tabla 6. Muestras sanguíneas perdidas

Voluntario	Muestras perdidas periodo I	Muestras perdidas periodo II
10	Muestra 9	Ninguna
18	Muestra 11	Ninguna

RESULTADOS ANALITICOS:

VALIDACIÓN DEL METODO ANALITICO:

El método fue validado de acuerdo a los criterios de aceptación establecidos en la NOM 177-SSA1-1998.

Se utilizó la técnica de regresión lineal por mínimos cuadrados ponderados (1/X) para obtener el intercepto y la pendiente, el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación, para evaluar la linealidad del sistema y la linealidad del método. Se utilizó un análisis de varianza, analizando el efecto de día, para evaluar la reproducibilidad.

Para la evaluación de reproducibilidad del método, precisión del sistema, repetibilidad, límite de detección, límite de cuantificación y estabilidad del método se empleó estadística descriptiva.

INTERVALO DE CONCENTRACIONES (RANGO).

Tabla 7. Intervalo de concentraciones (rango)

PUNTO	CONCENTRACION TEÓRICA
CC1	1 ng/ml
CC2	10 ng/ml
CC3	20 ng/ml
CC4	30 ng/ml
CC5	40 ng/ml
CC6	50 ng/ml

PUNTOS CONTROL (BAJO, MEDIO, ALTO).

Tabla 8. Puntos control

PUNTO	CONCENTRACION TEÓRICA	INTERVALO ACEPTABLE
PC1	3 ng/ml	2.55 – 3.45
PC2	25 ng/ml	21.25 – 28.75
PC3	35 ng/ml	29.75 – 40.25

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN.

Los puntos control son aceptados en un intervalo de $\pm 15.0\%$.

- Para linealidad del sistema:
 - Coeficiente de correlación (r): ≥ 0.99
 - Coeficiente de determinación (r^2): ≥ 0.98
 - C.V. de la regresión (factor respuesta): $\leq 5\%$
- Para linealidad del método:
 - Coeficiente de correlación (r): ≥ 0.99
 - Coeficiente de determinación (r^2): ≥ 0.98
 - C.V. de la regresión (factor respuesta): $\leq 5\%$

LINEALIDAD DEL SISTEMA:

Se realizaron curvas de calibración en el rango propuesto para la validación del método, sometiendo a las mismas condiciones del método de extracción, realizándose por duplicado la curva de calibración. Se realizaron dos series de puntos control a tres niveles de concentración, alto, medio y bajo, para cada curva de calibración.

Tabla 9. Curvas de calibración para linealidad del sistema.

AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 1	AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 2	PROMEDIO RAZON DE AREAS	CONC. (ng/ml) CURVA 1	CONC. (ng/ml) CURVA 2	PROMEDIO CONC. (ng/ml)
0.03320783	0.04498115	0.03909449	0.9	1	0.95
0.38052935	0.33499457	0.35776196	11.1	9.4	10.25
0.67051419	0.67765101	0.6740826	19.5	19.2	19.35
1.06034597	1.09569697	1.07802147	30.9	31.2	31.05
1.31633403	1.50294087	1.40963745	38.4	42.9	40.65
1.71755977	1.65242494	1.68499236	50.1	47.2	48.65

Tabla 10. Resultados de la linealidad del sistema

Coefficiente de correlación	r=0.998
Intercepto	-17.972 P= 0.000
Coefficiente de determinación	r²= 0.997
Pendiente	0.971 P=0.000
Intervalo de confianza al 95% para la ordenada al origen	(-25.520 – 10.424)
Intervalo de confianza al 95% para la pendiente	(0.941 – 1.000)
Se obtiene una ecuación de la recta	Respuesta = -17.972 + 0.971 (CONC)

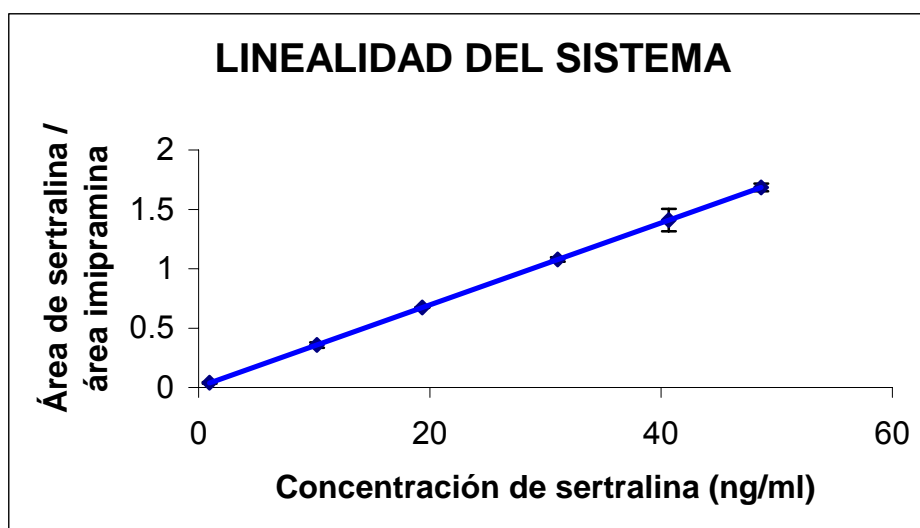


Figura 4. La figura muestra el gráfico promedio para la linealidad del sistema ± el error estándar.

LINEALIDAD DEL METODO:

Se realizaron curvas de calibración de sertralina en el rango definido para la validación. La curva de calibración se realizó por triplicado con sus respectivas series de puntos control para cada curva durante cuatro días consecutivos.

Tabla 11. Curvas de calibración 1 ,2 Y 3, día 1 para linealidad del método.

AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 1	CONC. CURVA 1 (ng/ml)	AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 2	CONC. CURVA 2 (ng/ml)	AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 3	CONC. CURVA 3 (ng/ml)
0.0247602	0.8	0.01691392	1	0.03017567	1.1
0.27004757	11.3	0.25966027	10	0.2576983	9.6
0.51466631	21.7	0.50877533	19.3	0.53022632	19.7
0.70151107	29.7	0.84924945	31.9	0.71308232	26.6
0.95155911	40.4	0.9461019	35.5	1.08977369	40.6
1.10694058	47	1.42930224	53.4	1.43252618	53.4

Tabla 12. Curvas de calibración 1 ,2 Y 3, día 2 para linealidad del método.

AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 1	CONC. CURVA 1 (ng/ml)	AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 2	CONC. CURVA 2 (ng/ml)	AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 3	CONC. CURVA 3 (ng/ml)
0.03397441	1	0.03631012	1	0.03030273	1
0.28451492	10	0.27149155	9.5	0.28164421	10.3
0.59920553	21.3	0.62197279	22.2	0.58813334	21.6
0.82752046	29.6	0.84142197	30.1	0.80479475	29.6
1.08886793	39	1.04747667	37.6	0.9764052	36
1.39899116	50.2	1.41109969	50.7	1.42424323	52.6

Tabla 13. Curvas de calibración 1 ,2 Y 3, día 3 para linealidad del método.

AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 1	CONC. CURVA 1 (ng/ml)	AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 2	CONC. CURVA 2 (ng/ml)	AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 3	CONC. CURVA 3 (ng/ml)
0.03188298	1	0.02584354	1.1	0.03840673	0.9
0.27314528	10.3	0.26603441	10	0.34346482	10.4
0.5450404	20.8	0.49593998	18.6	0.74751643	22.9
0.73046955	28	0.78449625	29.3	0.95090506	29.3
0.99144309	38.1	1.00451918	37.5	1.33003309	41
1.37479031	52.9	1.4600599	54.5	1.50654909	46.5

Tabla 14. Curvas de calibración 1 ,2 Y 3, día 4 para linealidad del método.

AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 1	CONC. CURVA 1 (ng/ml)	AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 2	CONC. CURVA 2 (ng/ml)	AREA SERTRALINA / AREA IMIPRAMINA CURVA 3	CONC. CURVA 3 (ng/ml)
0.02766444	1	0.01648069	1	0.01714331	1
0.28603432	10.4	0.23398596	9.9	0.2583638	10.6
0.53699243	19.6	0.47837447	20	0.46713468	19
0.83814591	30.6	0.73486743	30.5	0.57589072	23.4
0.87447141	31.9	1.26601267	52.3	0.99901951	40.3
1.3556702	49.5	1.19993871	49.6	1.24264857	50.1

Tabla 15. Resultados globales de la linealidad del método.

Promedio área sertralina / área imipramina	0.02748823
	0.27384045
	0.5528315
	0.77936291
	1.04714029
	1.36189666
Promedio concentración sertralina (ng/ml)	0.99166667
	10.1916667
	20.5583333
	29.05
	39.1833333
	50.8666667
Coeficiente de correlación	r= 0.994
Intercepto	0.025 p= 0.979
Coeficiente de determinación	r²= 0.989
Pendiente	0.999 p= 0.000
Intervalo de confianza al 95% para la ordenada al origen	(-1.835 – 1.884)
Intervalo de confianza al 95% para la pendiente	(0.965 – 1.034)
Se obtiene una ecuación de la recta	Respuesta = 0.025 + 0.999 (CONC)

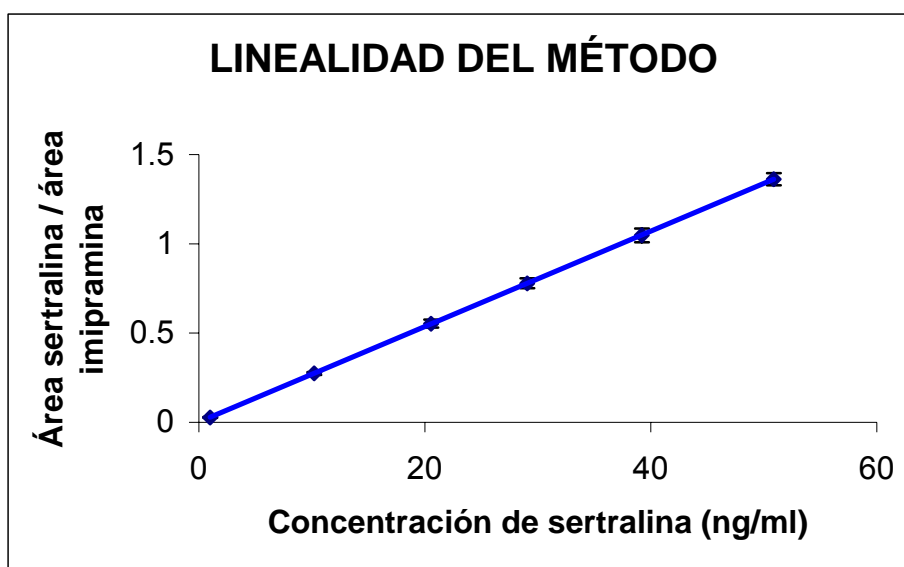


Figura 5. La figura muestra el gráfico promedio para la linealidad del método \pm el error estándar.

LIMITE DE CUANTIFICACION

Se analizó por septuplicado la concentración más baja del rango de trabajo. Se considera que el punto tiene validez como límite de cuantificación, si su valor promedio cae dentro del 20% del valor nominal con un coeficiente de variación no mayor que 20%.

Tabla 16. Resultados del límite de cuantificación

CONCENTRACION SERTRALINA (ng/ml)
1.0
1.0
1.0
0.9
1.1
1.1
1.0
CV 6.80%

LIMITE DE DETECCION

Se determinó la concentración a la cual la señal de sertralina en la matriz biológica pudo distinguirse de los niveles de ruido o de una muestra libre del compuesto de interés. La cantidad mínima detectable es de **0.33 ng/ml** con un CV de 7.70%

PRECISION

Repetibilidad

Se analizaron en un mismo día por sextuplicado tres niveles de concentración, bajo, medio y alto. El coeficiente de variación no debe ser mayor del 15%.

Tabla 17. Resultados de repetibilidad.

Nivel bajo:	93.88% CV 10.86%
Nivel medio:	101.80% CV 3.43%
Nivel alto:	103.48% CV 4.03%

Reproducibilidad

Se analizaron por duplicado durante cuatro días tres niveles de concentración, bajo, medio y alto. El coeficiente de variación no debe ser mayor del 15%.

El método es reproducible entre días con un CV global de 8.30%, con un promedio de recobro de 99.96%.

Tabla 18. Resultados de reproducibilidad.

Punto bajo	CV 8.41%
Punto medio	CV 7.44%
Punto alto	CV 7.61%

EXACTITUD

El valor promedio de las determinaciones en cada nivel de concentración de los datos de repetibilidad y reproducibilidad deben estar dentro del $\pm 15\%$ del valor nominal de concentración.

Tabla 19. Resultados en repetibilidad para exactitud.

Nivel bajo	93.88% CV 10.96%
Nivel medio	101.80% CV 3.43%
Nivel alto	103.48% CV 4.03%

Tabla 20. Resultados en reproducibilidad para exactitud.

Nivel bajo	104.00% CV 8.41%
Nivel medio	96.30% CV 7.44%
Nivel alto	99.57% CV 7.61%

SELECTIVIDAD Y SUSTANCIAS RELACIONADAS

Durante la validación del método se probó con algunas sustancias que pudieran tener interferencia con el analito de interés o con imipramina. No debe existir interferencia con sertralina:

Tabla 21. Resultados de la selectividad del método.

SUSTANCIAS PROBADAS	INTERFERENCIA CON SERTRALINA
PLASMAS DE VOLUNTARIOS SANOS	NEGATIVO
PLASMAS HEMOLIZADOS	NEGATIVO
PLASMAS LIPEMICOS	NEGATIVO
HEPARINA	NEGATIVO
BUTILHIOSINA	NEGATIVO
CAFEINA	NEGATIVO
CLORFENAMINA	NEGATIVO
PARACETAMOL	NEGATIVO
ACIDO ACETILSALICILICO	NEGATIVO

RECUPERACION ABSOLUTA

Se determinó analizando por quintuplicado tres concentraciones conocidas, bajo, medio y alto existentes dentro del rango, en la matriz biológica. Se compararon los resultados con las respuestas de soluciones del mismo compuesto en las mismas concentraciones y en los mismos disolventes.

Tabla 22. Resultados de la recuperación absoluta del método

Nivel bajo	Promedio	103.36% CV 5.78%
Nivel medio	Promedio	93.46% CV 5.90%
Nivel alto	Promedio	98.81% CV 8.13%

ESTABILIDAD

Ciclos de congelación descongelación: Sertralina resultó ser estable al menos a dos ciclos de congelación-descongelación con un recobro final de 94.78% y un coeficiente de variación de 7.91%.

En la mesa (4h): Sertralina en la muestra plasmática es estable a temperatura ambiente hasta 4 horas, con un recobro final de 101.89%, con un coeficiente de variación del 8.07%.

En el automuestreador (3h): Sertralina en la muestra procesada es estable en automuestreador (18°C) al menos por 3 horas, con un recobro final del 101.69%, con un coeficiente de variación de 6.39%.

En la matriz biológica en congelación: Sertralina es estable en congelación en el plasma a -70°C al menos por 53 días, con un recobro final del 101.69%, con un coeficiente de variación de 6.72%.

TOLERANCIA

Se determinó la tolerancia del método analítico a pequeñas, pero deliberadas modificaciones.

Se probó con diferentes diluciones de sertralina. A partir de una muestra con concentración de 65 ng/ml de sertralina en plasma se realizaron diluciones 1:2 (concentración de 32.5 ng/ml) y 1:3 (concentración de 21.5 ng/ml). La determinación se realizó por quintuplicado obteniendo un coeficiente de variación de 6.44%.

MONITOREO ANALITICO

Se realizó el monitoreo analítico de las muestras obtenidas de los 24 voluntarios sanos, para el medicamento de prueba y el de referencia. Las muestras de cada voluntario fueron analizadas en una sola corrida analítica, con curva de calibración y puntos control por cada corrida analítica. Se reanalizaron las muestras cuya concentración estuvo por arriba del rango de las curvas de calibración, así como de las muestras predosis que presentaron concentración durante la cuantificación, con éstos resultados se construyó la base de datos, considerando los valores que estuvieron por arriba del límite de cuantificación. En las siguientes figuras se muestran las gráficas del equipo analítico de la primera y última concentración del rango de la curva de calibración empleada en la corrida analítica del voluntario 10. También se muestran los gráficos correspondientes al tiempo cero y el Cmáx de los productos de prueba (A) y de referencia (B), del voluntario 10.

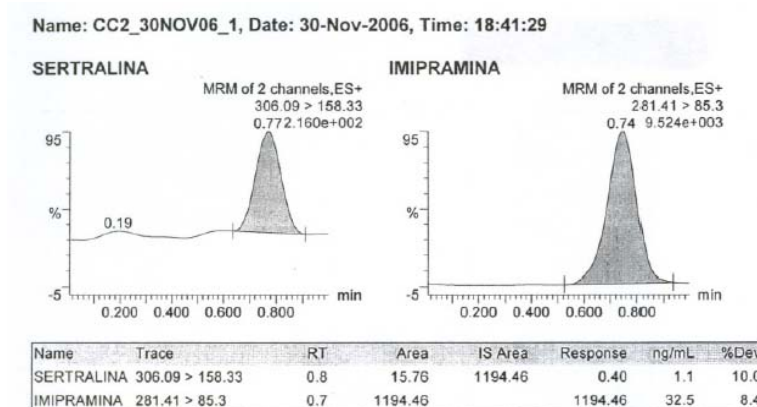


Figura 6. Muestra los picos característicos de sertralina e imipramina (estándar interno) de la curva de calibración de la corrida analítica del voluntario 10 correspondiente a la primera concentración del rango.

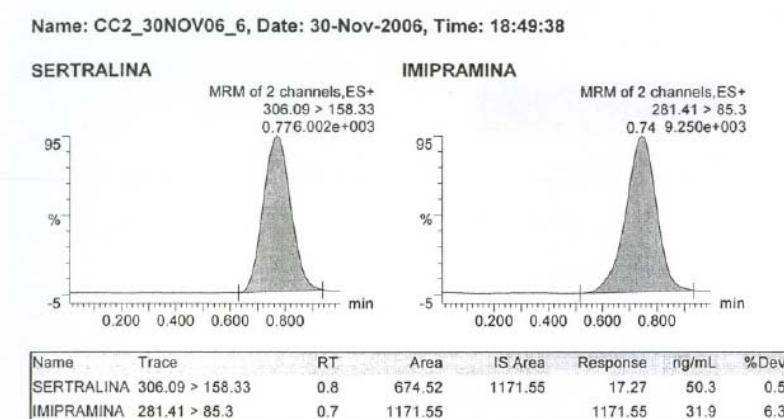
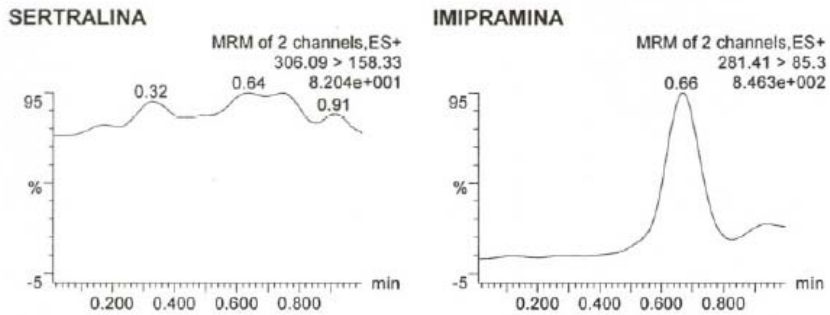


Figura 7. Muestra los picos característicos de sertralina e imipramina (estándar interno) de la curva de calibración de la corrida analítica del voluntario 10 correspondiente a la concentración más alta del rango.

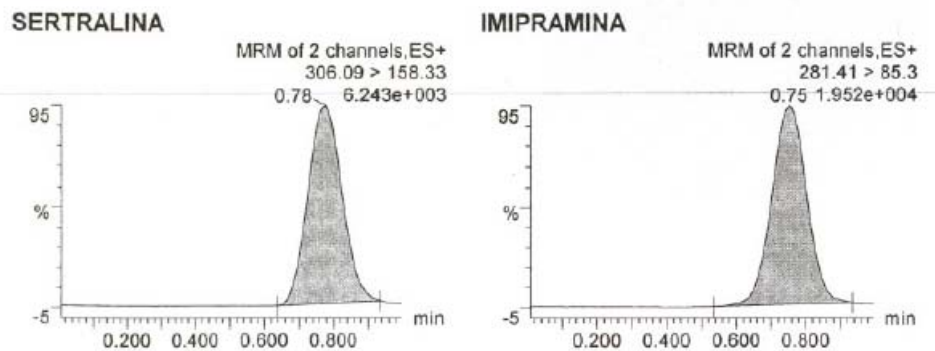
Name: V10_30NOV06_M00A, Date: 30-Nov-2006, Time: 16:02:28



Name	Trace	RT	Area	IS Area	Response	ng/mL	%Dev
SERTRALINA	306.09 > 158.33						
IMIPRAMINA	281.41 > 85.3						

Figura 8. Monitoreo del voluntario 10 a la muestra 0, medicamento de prueba. Sólo se observa el pico correspondiente a imipramina, corroborando que a la muestra cero no se encuentra presente sertralina.

Name: V10_30NOV06_M05A, Date: 30-Nov-2006, Time: 16:12:18



Name	Trace	RT	Area	IS Area	Response	ng/mL	%Dev
SERTRALINA	306.09 > 158.33	0.8	702.80	2240.01	9.41	27.4	
IMIPRAMINA	281.41 > 85.3	0.8	2240.01		2240.01	61.0	103.3

Figura 9. Monitoreo del voluntario 10 a la muestra 5, medicamento de prueba. Es la concentración plasmática máxima encontrada durante todo el monitoreo del voluntario para el medicamento de prueba.

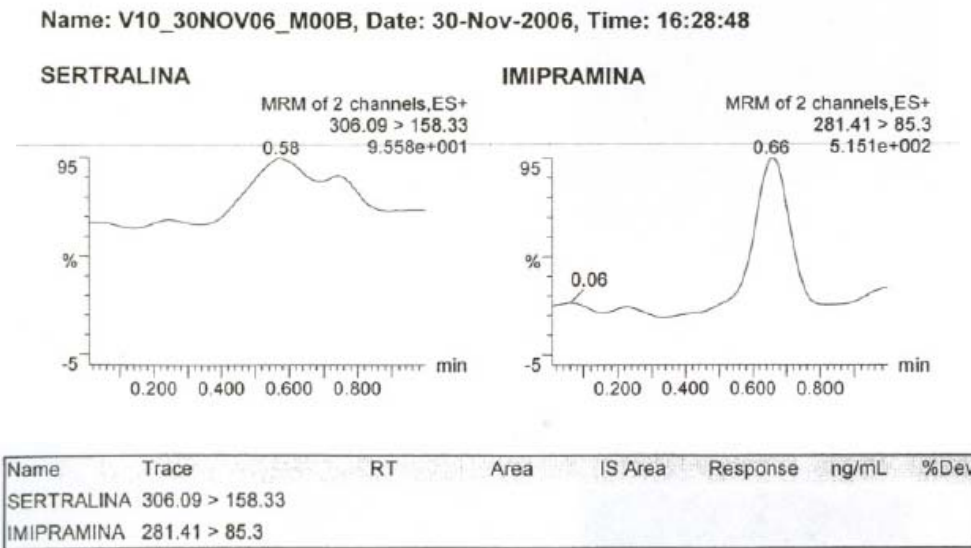


Figura 10. Monitoreo del voluntario 10 a la muestra 0, medicamento de referencia. Sólo se observa el pico correspondiente a imipramina, corroborando que a la muestra cero no se encuentra presente sertralina.

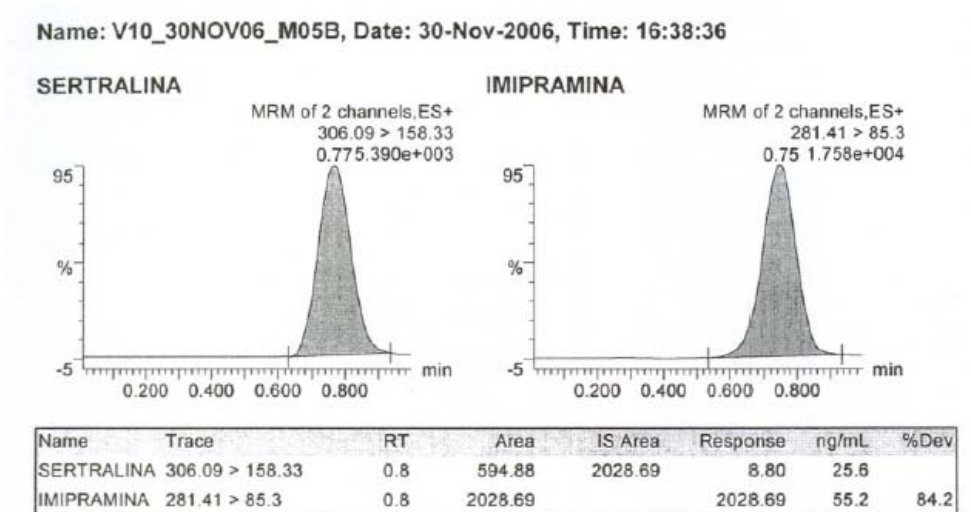


Figura 11. Monitoreo del voluntario 10 a la muestra 5, medicamento de referencia. Es la concentración plasmática máxima encontrada durante todo el monitoreo del voluntario para el medicamento de referencia.

RESULTADOS ESTADISTICOS:

PARÁMETROS FARMACOCINETICOS

Tabla 23. Parámetros farmacocinéticos de Sertralina producto de prueba. Los valores de $C_{m\acute{a}x}$ y $t_{m\acute{a}x}$ fueron tomados directamente de los valores encontrados, el resto de los parámetros fueron calculados con el software Winnonlin módulo STAT, versión 3.1.

Voluntario	$t_{m\acute{a}x}$ h	$C_{m\acute{a}x}$ ng/ml	$T_{1/2}$ h	ABC 0-t ng*h/ml	ABC 0-∞ ng*h/ml	SEC
1	7	34.300	22.409	773.350	867.104	1
2	6	68.800	58.361	3829.700	5766.228	1
3	7	45.200	20.109	919.600	957.314	2
4	7	52.400	37.570	1652.050	1971.838	1
5	7	20.900	21.579	734.500	771.859	2
6	7	47.500	26.816	1172.550	1342.777	2
7	10	50.100	24.578	1368.450	1478.371	1
8	10	37.300	23.457	1179.300	1257.135	1
9	7	37.600	22.358	978.900	1024.059	2
10	7	27.400	20.086	542.400	606.153	1
11	7	50.450	25.948	1181.050	1278.380	1
12	6	60.700	36.496	1479.750	1706.158	2
13	7	40.800	23.544	1440.200	1538.705	2
14	3	46.600	20.634	935.400	1015.774	1
15	3	32.400	17.775	856.100	881.744	2
16	7	43.800	32.985	1232.050	1379.572	2
17	8	40.400	31.432	1585.000	1798.131	2
18	8	38.600	22.961	1052.850	1115.789	1
19	5	44.300	21.189	1286.600	1347.737	2
20	7	34.900	30.918	1092.800	1262.300	1
21	12	38.000	27.331	1375.500	1556.883	2
22	7	27.800	33.272	743.350	853.752	2
23	8	37.100	35.971	972.300	1091.658	1
24	7	29.400	23.967	792.600	847.922	1
Promedio \pm error estándar	7.0 \pm 0.39	41.11\pm 2.20	27.57\pm1.78	1215.68\pm128.21	1404.89\pm202.32	

Tabla 24. Parámetros farmacocinéticos de Sertralina producto de referencia. Los valores de C_{máx} y t_{máx} fueron tomados directamente de los valores encontrados, el resto de los parámetros fueron calculados con el software Winnonlin módulo STAT, versión 3.1.

Voluntario	T MAX h	C MAX ng/ml	T ½ h	ABC 0-t ng*h/ml	ABC 0-∞ ng*h/ml	SEC
1	7	27.800	19.574	680.700	711.763	1
2	6	60.100	75.719	3714.800	6533.189	1
3	8	22.900	16.641	557.950	589.159	2
4	3	37.300	29.803	1292.150	1477.038	1
5	8	27.300	22.864	899.650	965.622	2
6	7	24.300	30.166	657.850	727.482	2
7	6	41.700	24.170	1290.150	1384.300	1
8	3	35.500	20.965	1086.000	1140.444	1
9	7	45.200	21.082	862.400	901.939	2
10	7	25.600	26.902	755.150	825.010	1
11	6	30.400	27.786	1033.200	1141.435	1
12	7	65.400	19.674	1409.700	1500.525	2
13	7	49.300	17.979	1344.950	1402.013	2
14	1	58.900	20.064	780.100	837.993	1
15	3	44.800	17.093	684.900	716.957	2
16	3	79.100	27.634	1247.550	1355.194	2
17	7	42.300	32.602	1779.200	2113.146	2
18	5	70.400	22.885	1351.300	1437.143	1
19	6	49.900	20.537	1080.950	1131.320	2
20	3	33.600	30.712	867.900	978.671	1
21	7	42.000	28.406	1153.650	1276.595	2
22	6	36.050	23.201	943.250	1020.235	2
23	8	35.700	24.402	854.650	925.060	1
24	5	28.300	24.786	791.800	859.740	1
Promedio ± error estándar	6.0±0.40	42.24±3.12	26.07±2.35	1129.99±127.60	1331.33±236.82	

Tabla 25. Parámetros farmacocinéticos logarítmicos de Sertralina producto de prueba calculados con el software Winnonlin módulo STAT, versión 3.1.

Voluntario	Log (T MAX)	Log (C MAX)	Log (T ½)	Log (ABC 0-t)	Log (ABC 0-∞)
1	0.845	1.535	1.350	2.888	2.938
2	0.778	1.838	1.766	3.583	3.761
3	0.845	1.655	1.303	2.964	2.981
4	0.845	1.719	1.575	3.218	3.295
5	0.845	1.320	1.344	2.866	2.888
6	0.845	1.677	1.428	3.069	3.128
7	1.000	1.700	1.391	3.136	3.170
8	1.000	1.572	1.370	3.072	3.099
9	0.845	1.575	1.349	2.991	3.010
10	0.845	1.438	1.303	2.734	2.783
11	0.845	1.703	1.414	3.072	3.107
12	0.778	1.783	1.562	3.170	3.232
13	0.845	1.611	1.372	3.158	3.187
14	0.477	1.668	1.315	2.971	3.007
15	0.447	1.511	1.250	2.933	2.945
16	0.845	1.641	1.518	3.091	3.140
17	0.903	1.606	1.497	3.200	3.255
18	0.903	1.587	1.361	3.022	3.048
19	0.699	1.646	1.326	3.109	3.130
20	0.845	1.543	1.490	3.039	3.101
21	1.079	1.580	1.437	3.138	3.192
22	0.845	1.444	1.522	2.871	2.931
23	0.903	1.569	1.556	2.988	3.038
24	0.845	1.468	1.380	2.899	2.928
Promedio ± error estándar	0.8451±0.027	1.60±0.024	1.42±0.024	3.049±0.034	3.095±0.039

Tabla 26. Parámetros farmacocinéticos logarítmicos de Sertralina producto de referencia calculados con el software Winnonlin módulo STAT, versión 3.1.

Voluntario	Log (T MAX)	Log (C MAX)	Log (T ½)	Log (ABC 0-t)	Log (ABC 0-∞)
1	0.845	1.444	1.292	2.833	2.852
2	0.778	1.779	1.879	3.570	3.815
3	0.903	1.360	1.221	2.747	2.770
4	0.477	1.572	1.474	3.111	3.169
5	0.903	1.436	1.359	2.954	2.985
6	0.845	1.386	1.480	2.818	2.862
7	0.778	1.620	1.383	3.111	3.141
8	0.477	1.550	1.321	3.036	3.057
9	0.845	1.655	1.324	2.936	2.955
10	0.845	1.408	1.430	2.878	2.916
11	0.778	1.483	1.444	3.014	3.057
12	0.845	1.816	1.294	3.149	3.176
13	0.845	1.693	1.255	3.129	3.147
14	0.000	1.770	1.302	2.892	2.923
15	0.477	1.651	1.233	2.836	2.855
16	0.477	1.898	1.441	3.096	3.132
17	0.845	1.626	1.513	3.250	3.325
18	0.699	1.848	1.360	3.131	3.158
19	0.778	1.698	1.313	3.034	3.054
20	0.477	1.526	1.487	2.938	2.991
21	0.845	1.623	1.453	3.062	3.106
22	0.778	1.557	1.36	2.975	3.009
23	0.903	1.553	1.387	2.932	2.966
24	0.699	1.452	1.394	2.899	2.934
Promedio ± error estándar	0.7782±0.04	1.60±0.031	1.39±0.027	3.014±0.035	3.06±0.042

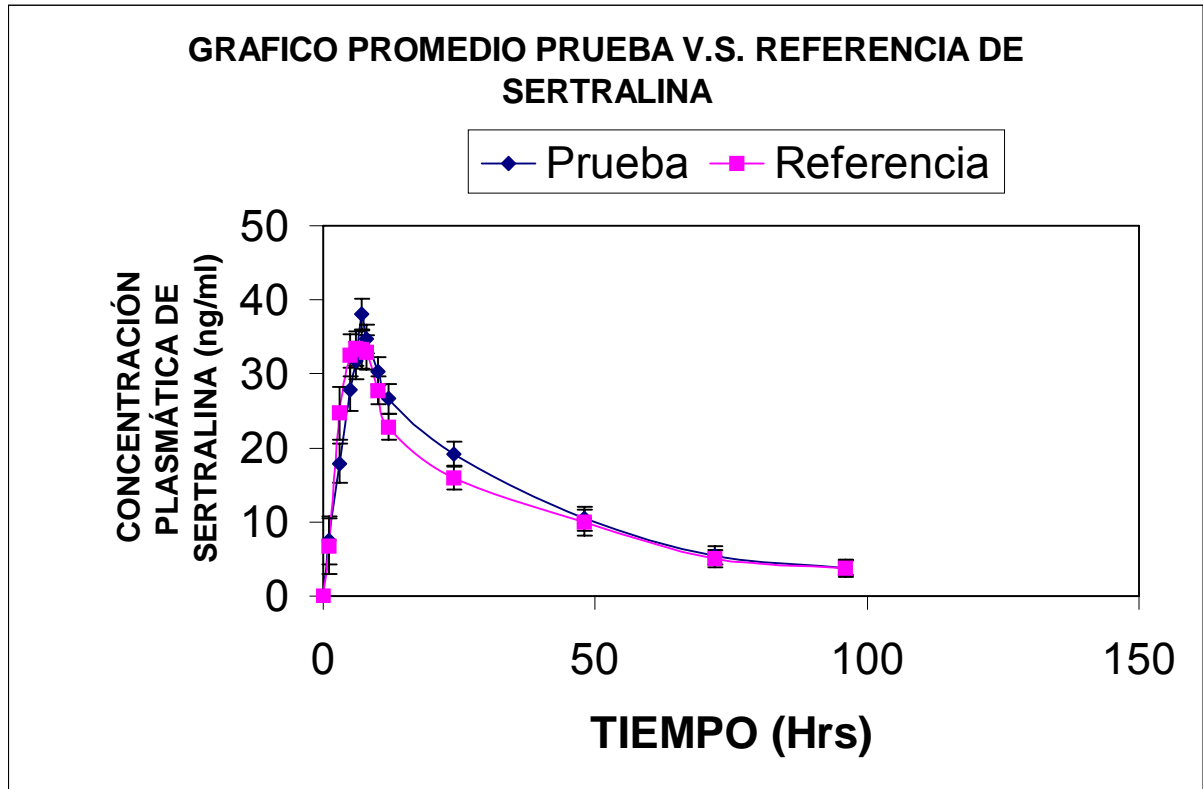


Figura 12. Gráfica promedio de concentración plasmática y tiempo de los productos de prueba vs. referencia \pm el error estándar. Cada punto representa el promedio de los datos obtenidos de todos los voluntarios.

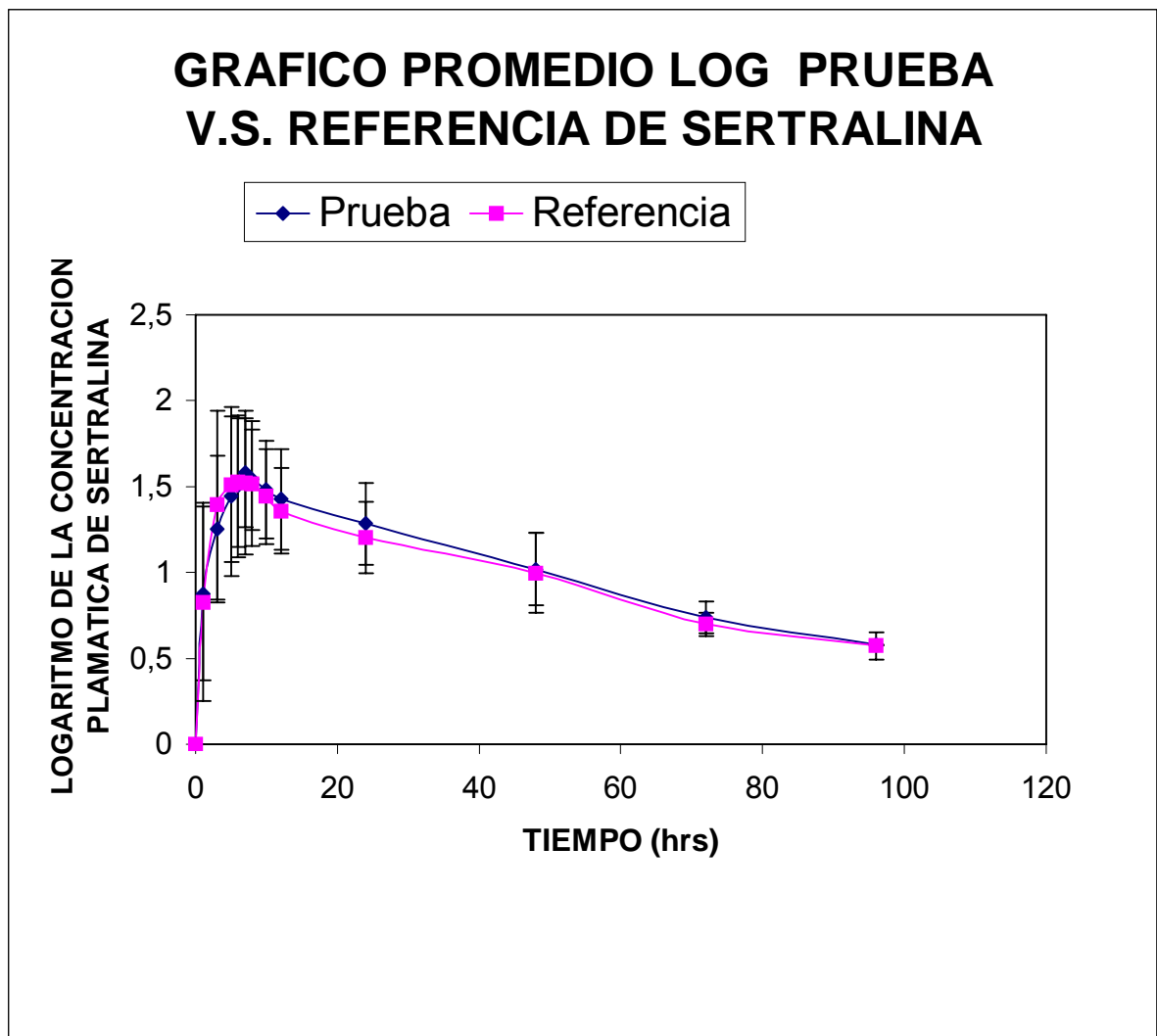


Figura 13. Gráfica promedio de concentración plasmática y tiempo de los productos de prueba vs. referencia para datos logaritmo transformados \pm el error estándar. Cada punto representa el promedio de los datos obtenidos de todos los voluntarios.

HISTOGRAMAS DE FRECUENCIA:

Las figuras 14 a la 16 presentan los histogramas de frecuencia de la diferencia de la concentración plasmática máxima, área bajo la curva de 0 al último tiempo de muestreo y del área bajo la curva de 0 a infinito del producto de prueba menos el producto de referencia. Se construyeron 5 intervalos de clase y se graficó el promedio de cada intervalo y la frecuencia. También se elaboraron histogramas de frecuencia de los mismos parámetros farmacocinéticos realizando la transformación logarítmica en base 10 (figuras 17 a 19)..

Se realizaron histogramas de frecuencia del cociente de la concentración plasmática máxima, área bajo la curva de 0 al último tiempo de muestreo y del área bajo la curva de 0 a infinito del producto de prueba entre el producto de referencia (figuras 20 a 22).

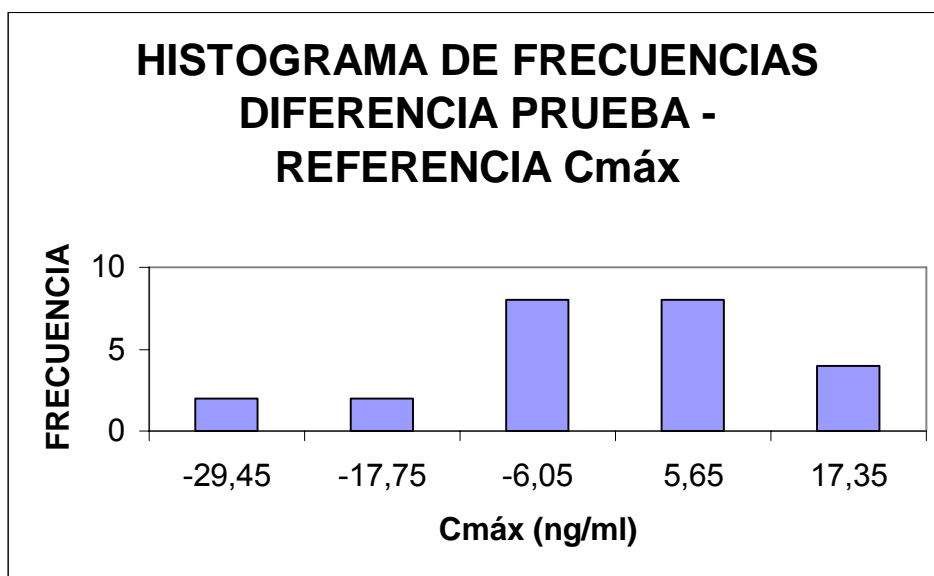


Figura 14. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para Cmáx.

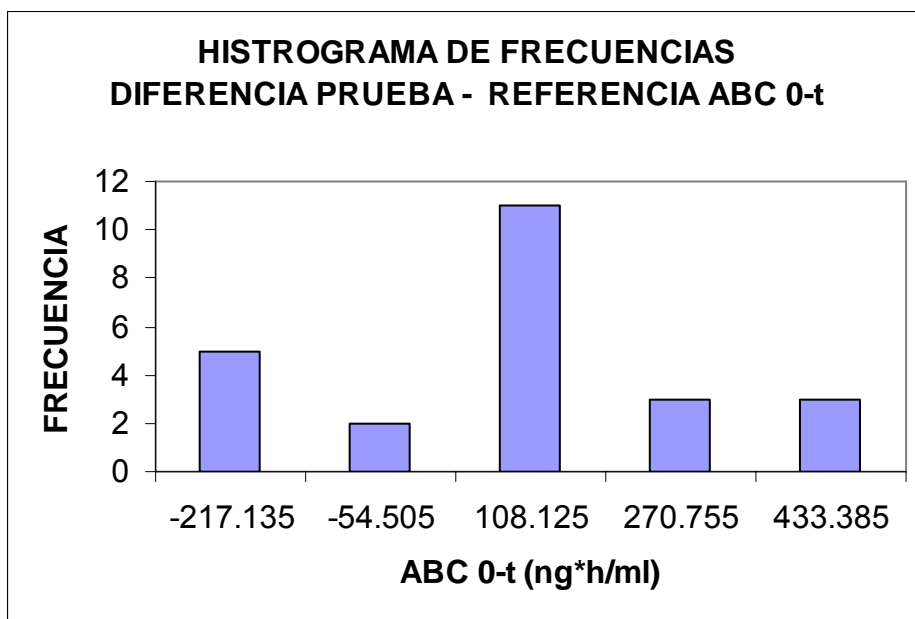


Figura 15. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a t.

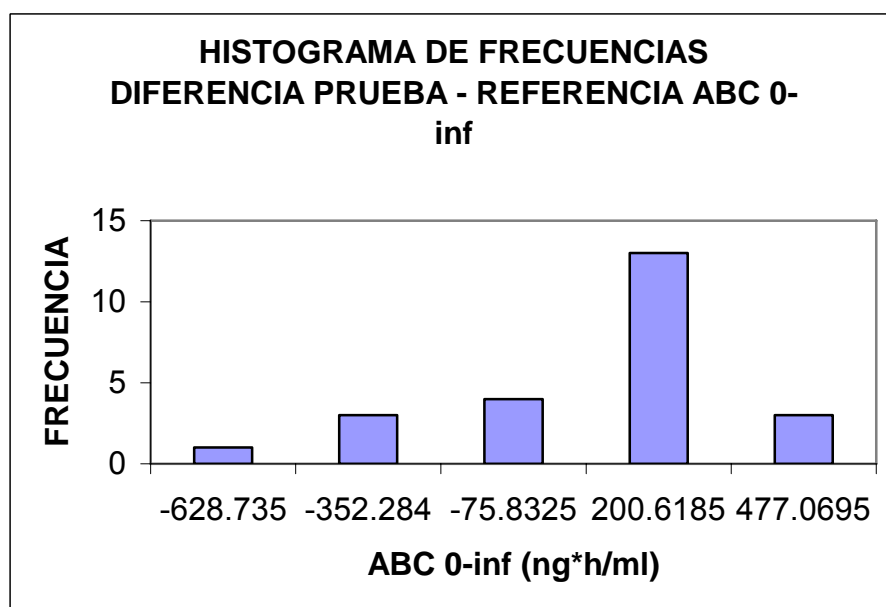


Figura 16. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a infinito.

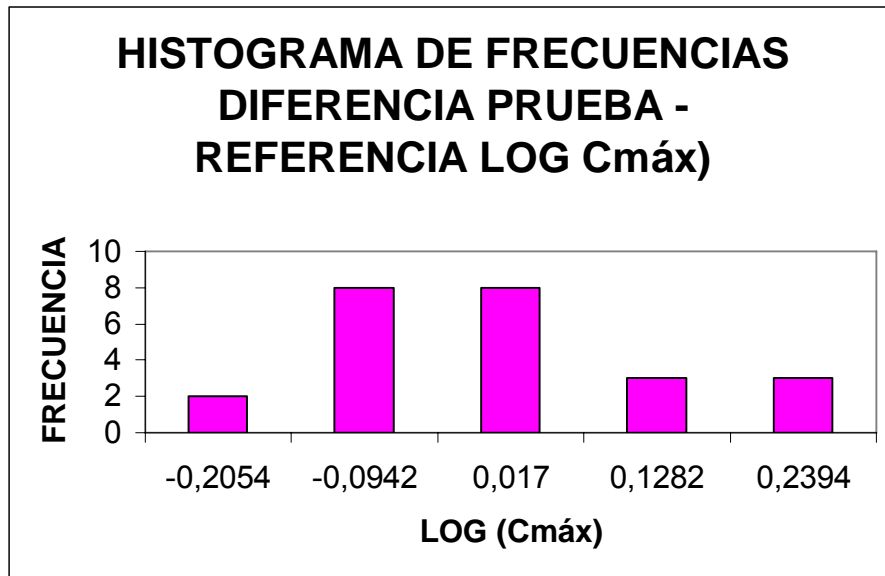


Figura 17. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para C_{máx} con datos logaritmo transformados.

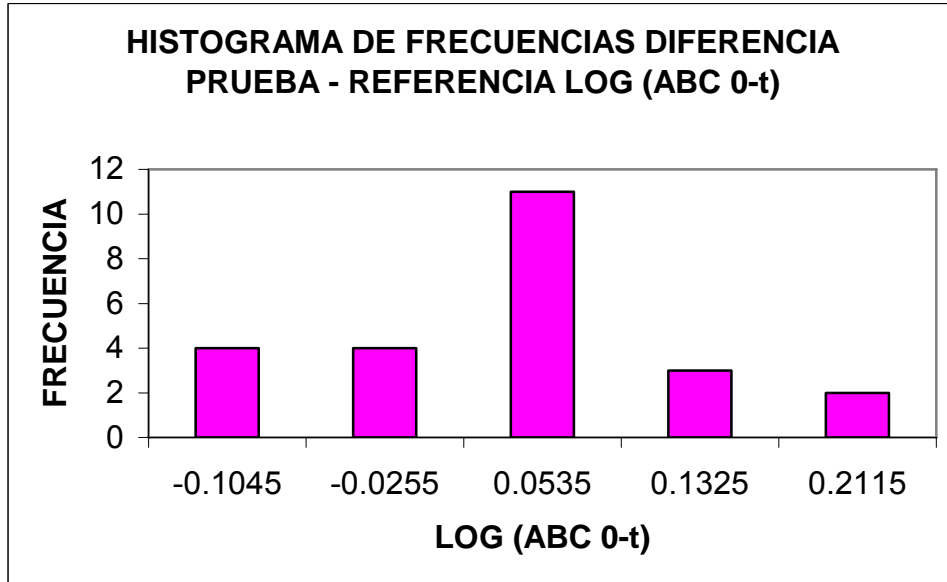


Figura 18. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a t con datos logaritmo transformados.

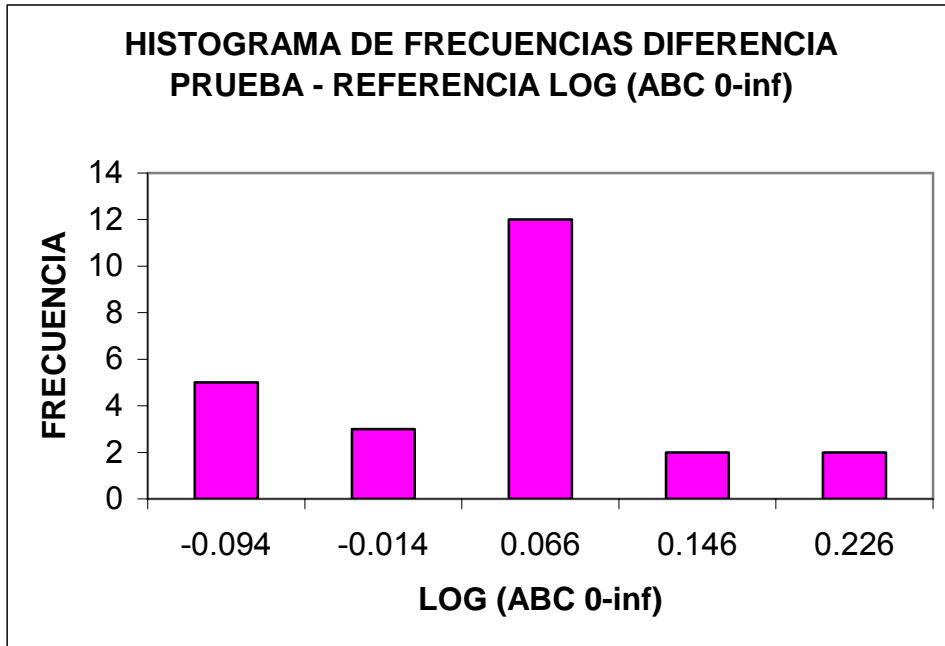


Figura 19. Histograma de frecuencia de la diferencia del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a infinito con datos logaritmo transformados.

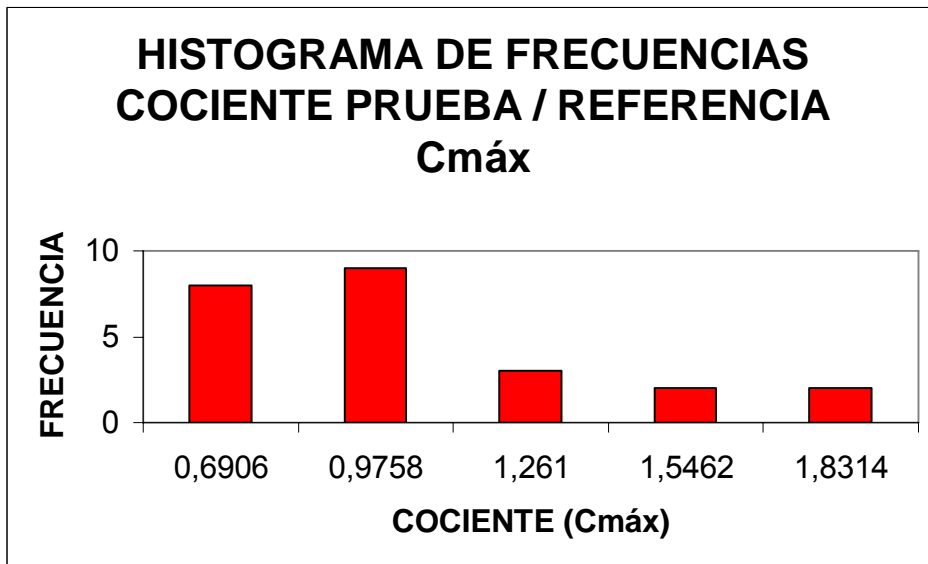


Figura 20. Histograma de frecuencia del cociente del producto de prueba y referencia para C_{máx}.

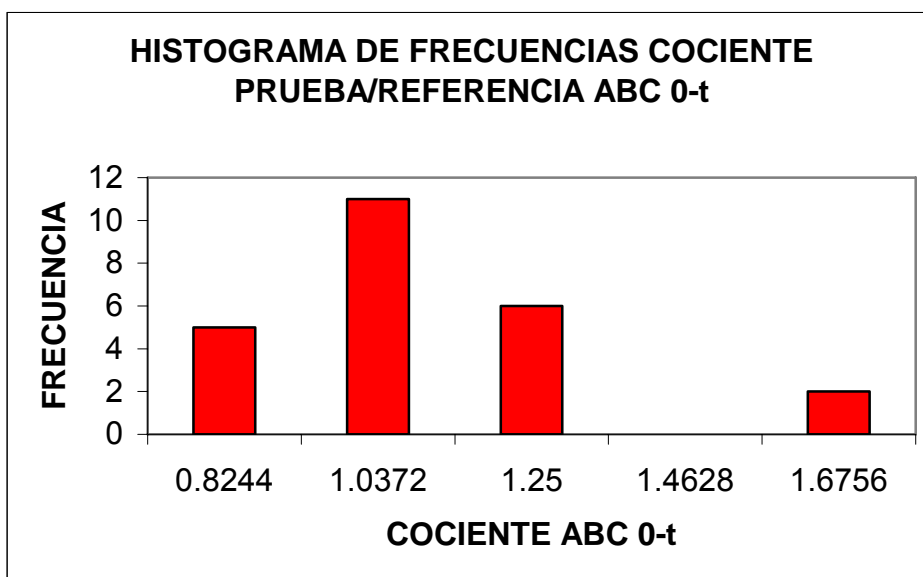


Figura 21. Histograma de frecuencia del cociente del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a t.

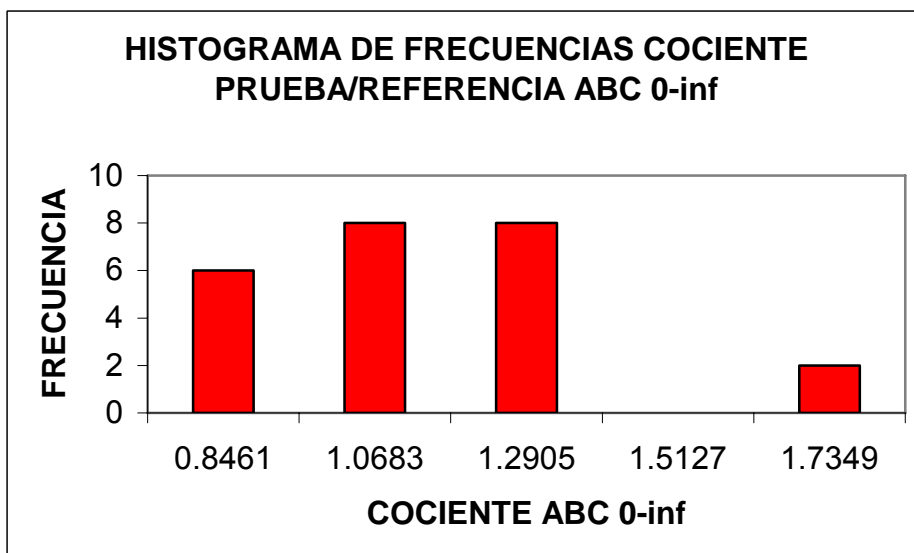


Figura 22. Histograma de frecuencia del cociente del producto de prueba y referencia para área bajo la curva de 0 a infinito.

ANALISIS DE VARIANZA : Se realizó un análisis de varianza con el software Winnonlin módulo STAT, versión 3.1. Se considera que no existe efecto de secuencia, periodo ó formulación si $P > 0.05$.

Para la concentración plasmática máxima :

Tabla 27 . Resultados del análisis de varianza para datos sin transformar.

No se observa efecto de secuencia	p= 0.8921	F= 0.02
No se observa efecto de periodo	p= 0.3205	F=1.03
No se observa efecto de formulación	p= 0.7026	F=0.15

Tabla 28. Resultados del análisis de varianza para datos transformados log (10).

No se observa efecto de secuencia	p=0.9278	F=0.01
No se observa efecto de periodo	p=0.3402	F=0.95
No se observa efecto de formulación	p=0.9840	F=0.0

Para área bajo la curva de 0 al último tiempo de muestreo:

Tabla 29 . Resultados del análisis de varianza para datos sin transformar.

No se observa efecto de secuencia	p= 0.5815	F=0.31
No se observa efecto de periodo	p= 0.7564	F=0.10
Se observa efecto de formulación	p= 0.0475	F=4.41

Tabla 30. Resultados del análisis de varianza para datos transformados log (10).

No se observa efecto de secuencia	p= 0.7977	F=0.07
No se observa efecto de periodo	p=0.5246	F=0.42
No se observa efecto de formulación	p=0.0770	F=3.44

Para área bajo la curva de 0 a infinito:

Tabla 31 . Resultados del análisis de varianza para datos sin transformar.

No se observa efecto de secuencia	p= 0.4601	F=0.57
No se observa efecto de periodo	p= 0.4337	F=0.64
No se observa efecto de formulación	p= 0.2345	F=1.49

Tabla 32. Resultados del análisis de varianza para datos transformados log (10).

No se observa efecto de secuencia	p= 0.6597	F=0.20
No se observa efecto de periodo	p=0.4707	F=0.54
No se observa efecto de formulación	p=0.0624	F=3.86

DETERMINACION DE VALORES EXTREMOS:

Se realizó un análisis de los residuales estudentizados para los parámetros farmacocinéticos de $C_{m\acute{a}x}$, área bajo la curva de 0 – t y área bajo la curva de 0 – infinito; se encontró que ninguno de los valores obtenidos para cada sujeto sobrepasa los 4 residuales estudentizados.

ESTADISTICA BIOEQUIVALENTE PARA DATOS SIN TRANSFORMAR:

Área bajo la curva de cero al último tiempo de muestreo:

Tabla 33. Resultados estadísticos para el área bajo la curva de cero al tiempo t.

METODO	PARAMETRO/HIPOTESIS	TOMA DE DECISION	90% I.C./ VALOR P
Intervalo de confianza clásico	$\mu_T - \mu_R$	IC E (80%, 120%)	(101.38%, 113.79%)
Schuirmann	$H_{01}: \mu_T - \mu_R \leq \theta_L$ $H_{02}: \mu_T - \mu_R \geq \theta_u$	$p1 < 0.05$ $p2 < 0.05$	$p1 = 0.0000$ $p2 = 0.0012$

Concentración plasmática máxima:

Tabla 34. Resultados estadísticos para C máx.

METODO	PARAMETRO/HIPOTESIS	TOMA DE DECISION	90% I.C./ VALOR P
Intervalo de confianza clásico	$\mu_T - \mu_R$	IC E (80%, 120%)	(85.46%, 109.19%)
Schuirmann	$H_{01}: \mu_T - \mu_R \leq \theta_L$ $H_{02}: \mu_T - \mu_R \geq \theta_u$	$p1 < 0.05$ $p2 < 0.05$	$p1 = 0.0100$ $p2 = 0.0017$

Área bajo la curva de cero a infinito:

Tabla 35. Resultados estadísticos para el área bajo la curva de cero a infinito.

METODO	PARAMETRO/HIPOTESIS	TOMA DE DECISION	90% I.C./ VALOR P
Intervalo de confianza clásico	$\mu_T - \mu_R$	IC E (80%, 120%)	(97.76%, 113.29%)
Schuirmann	$H_{01}: \mu_T - \mu_R \leq \theta_L$ $H_{02}: \mu_T - \mu_R \geq \theta_u$	$p1 < 0.05$ $p2 < 0.05$	$p1 = 0.0000$ $p2 = 0.0021$

ESTADISTICA BIOEQUIVALENTE PARA DATOS TRANSFORMADOS LOG (10):

Área bajo la curva de cero al último tiempo de muestreo:

Potencia estadística: 99.66 %

Tabla 36. Conclusión de acuerdo al criterio del área bajo la curva de cero al tiempo t para datos transformados log (10).

METODO	PARAMETRO/HIPOTESIS	TOMA DE DECISION	90% I.C./ VALOR P	CONCLUSION
Intervalo de confianza clásico	$\mu_T - \mu_R$	IC E (80%, 125%)	(100.61%, 117.08%)	Bioequivalente
Schuirmann	$H_{01}: \mu_T - \mu_R \leq \theta_L$ $H_{02}: \mu_T - \mu_R \geq \theta_u$	$p1 < 0.05$ $p2 < 0.05$	$p1 = 0.0000$ $p2 = 0.0021$	Bioequivalente

Concentración plasmática máxima:

Potencia estadística: 88.53 %

Tabla 37. Conclusión de acuerdo al criterio de C máx para datos transformados log (10).

METODO	PARAMETRO/HIPOTESIS	TOMA DE DECISION	90% I.C./ VALOR P	CONCLUSION
Intervalo de confianza clásico	$\mu_T - \mu_R$	IC E (80%, 125%)	(88.95%, 112.12%)	Bioequivalente
Schuirmann	$H_{01}: \mu_T - \mu_R \leq \theta_L$ $H_{02}: \mu_T - \mu_R \geq \theta_u$	$p1 < 0.05$ $p2 < 0.05$	$p1 = 0.0017$ $p2 = 0.0015$	Bioequivalente

Área bajo la curva de cero a infinito:

Potencia estadística: 99.48 %

Tabla 38. Conclusión de acuerdo al criterio del área bajo la curva de cero a infinito para datos transformados log (10).

METODO	PARAMETRO/HIPOTESIS	TOMA DE DECISION	90% I.C./ VALOR P	CONCLUSION
Intervalo de confianza clásico	$\mu_T - \mu_R$	IC E (80%, 125%)	(101.13%, 118.35%)	Bioequivalente
Schuirmann	$H_{01}: \mu_T - \mu_R \leq \theta_L$ $H_{02}: \mu_T - \mu_R \geq \theta_u$	$p1 < 0.05$ $p2 < 0.05$	$p1 = 0.0000$ $p2 = 0.0040$	Bioequivalente

8. ANALISIS DE RESULTADOS

Para su comercialización, los medicamentos requieren de cumplir con los estándares de calidad basados en las buenas prácticas de manufactura; sin embargo, en algunos casos, el cumplimiento de éstos no garantiza el comportamiento similar de los productos en el organismo debido a la influencia de diversos factores, como el origen de las materias primas, las características fisicoquímicas del principio activo, los excipientes empleados en la formulación, el tipo de proceso de fabricación y la estabilidad del producto. Estos factores pueden influir en la absorción del medicamento y provocar diferencias en la biodisponibilidad; debido a esto surgieron dudas acerca de la seguridad y eficacia de los medicamentos genéricos con respecto al medicamento innovador. Para la resolución de esta problemática en nuestro País, nuestra Autoridad Sanitaria decretó la NOM-177-SSA1-1998 que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable.

Durante el desarrollo del proyecto se diseñó un protocolo de biodisponibilidad comparativa para determinar si dos formulaciones de sertralina cápsulas de 100 mg fabricadas por dos laboratorios diferentes son bioequivalentes. Una de las formulaciones se denominó producto innovador, designado por la Comisión Federal para la protección contra riesgos sanitarios (COFEPRIS) como medicamento de referencia; y la otra se denominó producto de prueba.

El diseño del estudio fue de dosis única, dos tratamientos, dos periodos, dos secuencias, cruzado, aleatorizado, longitudinal, prospectivo y balanceado. Para el diseño del protocolo clínico se tomaron en consideración los datos farmacocinéticos del fármaco reportados en la bibliografía y fue presentado al comité de ética del Hospital para su autorización. El número de voluntarios fue de 24 (género masculino) basado en los criterios de la NOM-177-SSA1-1998, encontrándose que el número de voluntarios fue suficiente para la realización del estudio. Los productos se administraron por asignación aleatoria; el día de la prueba, se extrajo a cada uno de los sujetos una muestra de sangre que se marcó como muestra cero, luego cada uno recibió la dosis del producto de prueba y/o la del producto de referencia (según el orden aleatorio asignado), con 240 ml de agua, y a partir de este momento, se les extrajeron 12 muestras de igual volumen que la cero de acuerdo al cronograma de toma de muestras. El período siguiente de tratamiento estuvo separado por 21 días de lavado, con el fin de asegurar la depuración suficiente del fármaco que se administró al principio. Los voluntarios fueron internados durante las 24 horas posteriores a la ingesta del medicamento para resguardar su seguridad debido a los posibles efectos adversos reportados. El diseño cruzado garantizó que cada voluntario fuera su propio testigo contribuyendo a que los resultados fueran atribuibles al fármaco y no a otros factores.

Durante la conducción del estudio clínico se observaron algunos efectos adversos como cefalea, náusea, vómito, mareo, somnolencia y diarrea, siendo la náusea el efecto predominante, éstos efectos se encuentran reportados en la literatura para sertralina y de acuerdo a la evaluación por el algoritmo modificado de Naranjo, la mayoría de éstos fueron clasificados en la categoría de posible (la reacción aparece con una secuencia temporal razonable tras la administración del fármaco; el efecto ya había sido referido previamente o es una respuesta esperada para el fármaco en estudio; existe una posible alternativa etiológica que puede ser responsable de la reacción adversa del medicamento; no es necesaria información sobre la suspensión del fármaco o ésta puede no ser clara).

Las muestras fueron analizadas con un cromatógrafo de líquidos de alta resolución con acople a espectrómetro de masas, y un método previamente validado de acuerdo a los criterios de la NOM-177-SSA1-1998, que demostró su capacidad para cuantificar sertralina en plasma humano de manera lineal, exacta y precisa en un intervalo de concentraciones de 1 a 50 ng/mL. El método de extracción involucró la utilización de un bajo volumen de muestra.

Los parámetros farmacocinéticos para la determinación de bioequivalencia fueron:

- Concentración plasmática máxima.
- Área bajo la curva de cero al último tiempo de muestreo.
- Área bajo la curva de cero a infinito.

El valor de $C_{m\acute{a}x}$ se obtuvo experimentalmente y el área bajo la curva se calculó con el software Winnonlin módulo STAT, versión 3.1.

Los parámetros de tiempo en que se alcanza la concentración máxima ($t_{m\acute{a}x}$) y tiempo de vida media son datos que no se encontraban anteriormente reportados en población Mexicana. Se encontró que para el producto de referencia el $t_{m\acute{a}x}$ fue de 6 horas en promedio y de 7 horas para el producto de prueba, la literatura reporta un valor de 4.5 a 8.4 horas, por lo que los valores obtenidos se encuentran dentro del rango reportado. El tiempo de vida media para la formulación de prueba fue de 27.57 horas y de 26.07 horas en promedio para la formulación de referencia, la bibliografía reporta un valor aproximado de 26 horas para éste parámetro, por lo que los valores obtenidos son muy semejantes.

Se realizaron gráficos promedio de concentración plasmática vs. tiempo de muestreo de los 24 voluntarios encontrando que la fase de absorción para el producto de prueba y el de referencia es semejante durante toda la cinética, mostrando una idea gráfica de la bioequivalencia de las formulaciones.

Se llevó a cabo un análisis de varianza para determinar el efecto de secuencia, periodo y formulación para los parámetros farmacocinéticos de $C_{m\acute{a}x}$, área bajo la curva de cero al tiempo t y área bajo la curva de cero a infinito encontrándose lo siguiente:

- No hubo efecto significativo de secuencia, periodo y formulación, sólo se encontró efecto de secuencia para formulación para área bajo la curva de cero al último tiempo de muestreo, lo que indica que el diseño del experimento fue adecuado, las poblaciones comparadas fueron homogéneas y el tiempo de lavado fue suficiente.

Se construyeron histogramas de frecuencia para cada uno de los parámetros encontrando lo siguiente:

- Diferencia de $C_{m\acute{a}x}$, ABC 0 – t y ABC 0 – infinito, del producto de prueba menos el producto de referencia:
Se observa que el rango de valores incluye al cero lo que pone de manifiesto la semejanza entre el producto de prueba y el de referencia.

- Cociente del producto de prueba entre el producto de referencia de $C_{m\acute{a}x}$, ABC 0 – t y ABC 0 – infinito:
Se observa que en el rango de valores está incluida la unidad, reflejando que no existe diferencia significativa entre ambos productos.

Se construyeron intervalos de confianza al 90% para el cociente del producto de prueba vs. el producto de referencia encontrándose lo siguiente:

- Para datos sin transformar de los parámetros farmacocinéticos de $C_{m\acute{a}x}$, ABC 0 – t y ABC 0 – infinito: Entraron en el rango de 80% al 120% del producto de referencia establecido por la Norma 177.
- Para datos transformados en $\log(10)$ de $C_{m\acute{a}x}$, ABC 0 – t y ABC 0 – infinito: Entraron en el rango de 80% al 125% del producto de referencia establecido por la Norma 177.

Se realizó la determinación de valores extremos a través de un análisis de residuales, se encontró que ninguno de los valores obtenidos para cada sujeto sobrepasa los 4 residuales estudentizados, lo que confirma que no existen datos aberrantes.

El análisis estadístico fue realizado empleando el software Winnonlin módulo STAT, versión 3.1.

9. CONCLUSIONES

De acuerdo a los criterios de aceptación que marca la NOM-177-SSA-1-1998, se encontró que la formulación de prueba de sertralina cápsulas de 100 mg es bioequivalente al producto de referencia (innovador), por lo que ambas formulaciones son intercambiables.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Relación de medicamentos innovadores o productos de referencia COFEPRIS. www.cofepris.gob.mx.
2. Flores F.J., Castañeda G., Medina R. Biodisponibilidad y bioequivalencia en los medicamentos genéricos. México: Editor Roberto Medina Santillán, 2002: 7, 21-23, 32-33.
3. Ley General de Salud. Ley de salud para el Distrito Federal y Disposiciones complementarias. Decimoséptima Edición Actualizada. México: Editorial Porrúa, 2002: 39, 41, 154, 165, 166, 180-187.
4. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas. Publicada en el Diario Oficial de la Federación del 7 de Mayo de 1999.
5. Remington A. R. The Science and Practice of Pharmacy. 20th Edition. USA: Gennaro. Chairman of the Editorial Board and Editor, 2000: 995
6. www.farmaindustria.es/index_secundaria_buscador.htm.
7. Cárdenas R. H. Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de medicamentos. 2ª edición. México: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, 2000: 21.
8. Litter M. Compendio de Farmacología. 4ª edición. Buenos Aires Argentina: El ateneo, 1992: 27-39.
9. Goodman A., Rall T., Nies A., Taylor P. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9a. edición. México: Editorial Médica Panamericana S.A. de C.V., 1996: Vol. I: 5-19.
10. Abad S.F., Martínez S.E., Gálvez M.M.A. Estudios de bioequivalencia: Análisis y aspectos metodológicos. Servicio de farmacología clínica. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. Departamento de farmacología y terapéutica. Facultad de Medicina UAM.
11. Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud. Título segundo Capítulo I.
12. Bressolle F., Bromet-Petit M., Audran M., Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods, Applications to pharmacokinetics. Journal of Chromatography B: 1996; 686:3-10.
13. Braggio S., Barnaby R.J., Grossi P., Cugola M. A strategy for validation of bioanalytical methods. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 1996; 14: 375-388.
14. Chen X, Duan X, Dai X, Zhong D. Development and validation of a liquid chromatographic/tandem mass spectrometric method for the determination of sertraline in human plasma. Rapid Commun Mass Spectrom: 2006 Jul 24; 20(16):2483-2489.

15. McMurry J. Química orgánica. 3° edición. México: Grupo editorial Iberoamérica, S.A. de C.V., 1994: 394-395.
16. Wade L.G. Jr. Química orgánica. 2° edición. México: Prentice-Hall Hispanoamericana, S.A., 1993: 509-513.
17. Catálogo del Cuadro Básico de medicamentos del Sector Salud. Edición diciembre de 2006.
18. The Merck Index. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Twelfth edition. USA: Merck Research Laboratories Division of Merck & co., Inc., 1996: 1455.
19. Physicians' Desk Reference. PDR. 49 edition. USA: Medical economics data production company. 1995: 2109
20. Belló M, Puentes-Rosas E, Medina-Mora ME, Lozano R. Prevalencia y diagnóstico de depresión en población adulta en México. Salud Pública Mex 2005; 47 supl 1:S4-S11.
21. Deepak S. Jain, Mallika Sanyal, Gunta Subbaiah, U.C. Pande and Pranav Shrivastav. Rapid and sensitive method for the determination of sertraline in human plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Journal of chromatography B. 2005 december 27; 829: 69-74.
22. Diccionario de especialidades farmacéuticas. Edición 52. México: PLM Thomson., 2006: 379-382.
23. J. Su Aguilar. Monitor farmacéutico. Estudio de mercado sobre las compras totales de medicamentos realizadas por las instituciones del IMSS e ISSSTE. Anual 2005, 1° y 2° trimestre del año 2006.
24. NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.
25. Guidance for Industry. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. <http://www.fda.gov/cder/guidance.htm>.
26. Almeida S., Portoles A., Terleira A., Filipe A., Cea E., Catarla MC. Comparative bioavailability/bioequivalence of two different sertraline formulations: a randomised, 2-period x 2-sequence, crossover clinical trial in healthy volunteers. Arzneimittelforschung. 2005; 55(4):191-7.
27. Acuerdo por el que se establece que las Instituciones Públicas del Sistema Nacional de Salud, deberán comprar Medicamentos Genéricos Intercambiables. DOF 7 Junio de 2002.

28. Acuerdo por el que se relacionan las especialidades farmacéuticas susceptibles de incorporarse al catálogo de medicamentos Genéricos Intercambiables y se determinan las pruebas que deberán aplicárseles, diario oficial de la federación del 19 de marzo de 1998. www.cofepris.gob.mx.