

## Artículo de Revisión

Centro Nacional de Toxicología

### BIOEQUIVALENCIA. INTRODUCCIÓN A LA CORRELACIÓN IN VIVO-IN VITRO. PARTE I.

Dayamí Carrión Recio,<sup>1</sup> Carlos Alberto González Delgado,<sup>2</sup> Lourdes Olivera Ruano<sup>3</sup> y Armando Correa Fernández<sup>3</sup>

#### RESUMEN

El control de calidad sugerido por la farmacopea, para formas de dosificación oral, no asegura en muchos casos la bioequivalencia de todos los lotes que salen al mercado, por lo que se discutieron las causas que provocan esta deficiencia, entre las que se encuentran: la selección inadecuada de las especificaciones y condiciones de disolución y subestimar la influencia de las variables de manufactura críticas en el comportamiento de las formulaciones. Además, se estimuló el establecimiento de las correlaciones *in vivo-in vitro*, como la solución más aceptada internacionalmente para garantizar la calidad lote a lote. Se expusieron también las definiciones de correlación *in vivo-in vitro* y niveles de correlación propuestos. En las conclusiones se enfatizó la importancia que tiene el establecimiento, ajuste y control de las variables críticas y la obtención de una correlación *in vivo-in vitro* para determinar las especificaciones de disolución *in vitro* adecuadas.

*Descriptores DeCS:* VIAS DE ADMINISTRACION DE MEDICAMENTOS; CONTROL DE CALIDAD; EQUIVALENCIA TERAPEUTICA.

La disolución *in vitro* es la prueba físico-química más usada para estimar la liberación del principio activo a partir de la forma dosificada, evaluar la variabilidad interlote en cuanto a características de liberación y en algunos casos, para predecir la biodisponibilidad (BA) y bioequivalencia

(BE) de los productos.<sup>1-3</sup> Por la estrecha relación existente entre la velocidad de disolución de la droga *in vitro* y la absorción *in vivo*, se consideraba al estudio de disolución como el criterio necesario y suficiente para permitir la comercialización de un producto. La digoxina por ejemplo,

---

<sup>1</sup> Licenciada en Ciencias Farmacéuticas

<sup>2</sup> Doctor en Medicina.

<sup>3</sup> Licenciada en Química.

fue introducida en el mercado antes de 1938 y solo se le exigía el cumplimiento de las especificaciones de disolución. La relación entre los parámetros antes mencionados no era fiel en todos los casos y en 1938 se introdujo la regulación del estudio *in vivo* en el acta de los EE.UU. para registrar los fármacos. Esta regulación solo garantizaba la biodisponibilidad de los lotes usados para el registro. El estudio de disolución continuó siendo el instrumento de control de calidad para los lotes posaprobación con lo cual, muchas veces, no se garantizaba la biodisponibilidad. Esto se hizo más evidente cuando en 1972 la Food and Drug Administration (FDA) detecta problemas de biodisponibilidad en diferentes formulaciones genéricas que estaban en el mercado y entre las que se encontraba la digoxina.<sup>4</sup>

Todos estos problemas se deben a que, en ocasiones, por la manera en que están concebidos, los estudios de disolución no dan una información confiable sobre los resultados *in vivo*. Meyer y otros<sup>5</sup> por ejemplo, estudiaron 3 lotes de una formulación de carbamazepina que se retiraron del mercado por presentar fallos clínicos. De los 3 lotes solo uno cumplía con las especificaciones de calidad del punto Q (= X % en Y min), aunque se disolvía más rápidamente que el producto innovador. Todos los lotes resultaron bioinequivalentes entre sí y con el producto de referencia, incluso aquel lote que sí cumplía con las especificaciones de calidad y que fue responsable de la aparición de reacciones adversas. Por otra parte, Tand y otros<sup>6</sup> hicieron un estudio comparativo de 2 formulaciones de teofilina y encontraron grandes diferencias en el estudio *in vitro*. Si no se hubiera comprobado la bioequivalencia de ambas formulaciones en el estudio *in vivo* se hubiese supuesto erróneamente lo contrario, según los

resultados del estudio *in vitro*. Esta situación también se presentó entre 2 lotes de una misma formulación de teofilina.<sup>7</sup> El estudio *in vivo* demostró la bioequivalencia entre los lotes, sin embargo, el estudio *in vitro* hacía pensar lo contrario.

Por lo general, una vez probada la bioequivalencia de 1 ó 2 lotes de una formulación de prueba con la de referencia, se procede al registro. Luego, los lotes fabricados posaprobación solo necesitan cumplir con el punto Q, propuesto por la farmacopea, como control de calidad para salir al mercado. Sin embargo, los ejemplos vistos anteriormente ponen en duda si las especificaciones del punto Q y las condiciones bajo las cuales se obtienen, son las ideales o no para garantizar la biodisponibilidad de las formulaciones. Con respecto a este punto existen serias discrepancias y se considera inapropiado, se plantea que las especificaciones deben ser individuales para cada producto ya sea innovador o genérico,<sup>8</sup> de manera que cada formulación debe presentar las suyas propias, que no tienen que coincidir necesariamente con las que propone la farmacopea. De hecho, como se comentó al inicio del trabajo, muchos productos que cumplen con el control de calidad, no poseen los requisitos de bioequivalencia.<sup>4</sup>

De todo lo planteado anteriormente es necesario hacer énfasis en 2 cuestiones fundamentales:

1. El estudio de disolución *in vitro* no puede sustituir al estudio de bioequivalencia, hasta tanto no sea relacionado con datos *in vivo*.<sup>1,9</sup> Esto quiere decir que es un error dar por sentado la bioequivalencia entre 2 formulaciones, solo por la similitud encontrada en los perfiles de disolución *in vitro* o la bioinequivalencia en caso de perfiles diferentes. La verificación *in*

vivo del procedimiento *in vitro* y sus especificaciones, es el único criterio razonable, terapéuticamente relevante y económicamente justificable para aceptar lotes de producción.<sup>10</sup> Las guías y recomendaciones internacionales<sup>10,11</sup> mencionan explícitamente la necesidad de la verificación *in vivo* de las especificaciones *in vitro*.

2. La comprobación de bioequivalencia realizada a un lote de una formulación, no puede ser adjudicada a todos los lotes que serán manufacturados posteriormente. Es innegable la imposibilidad de realizar un estudio *in vivo* a cada uno de los lotes que se fabrican y es aquí donde la correlación *in vivo-in vitro* desempeña una función determinante en el aseguramiento de la calidad de todos los lotes que saldrán al mercado. Tanto es así que en 1972, después de los sucesos con los glicósidos cardiotónicos,<sup>4</sup> la FDA adopta una filosofía de trabajo que se estaba desarrollando, basada en estudios simultáneos de disolución *in vitro* y biodisponibilidad con el objetivo de obtener correlaciones *in vivo-in vitro*. Escogió para esto, productos que mostraron diferencias en las velocidades de disolución y les realizó el estudio *in vivo*. Afortunadamente, dondequiera que buscó, la FDA pudo establecer correlaciones *in vivo-in vitro*.<sup>4</sup>

Para validar el proceso de manufactura y encontrar las especificaciones de disolución adecuadas, se hace necesario definir las causas que provocan la variabilidad interlote y que atentan contra la reproducibilidad del proceso de producción empleado:<sup>12</sup> 1) No se han identificado las variables de manufactura críticas. 2) No se ha evaluado una correlación *in vivo-in vitro*.

## VARIABLES DE MANUFACTURA CRÍTICAS

Las variables de manufactura críticas incluyen a los materiales y métodos envueltos en el proceso de manufactura, que pueden afectar significativamente la liberación de la droga desde la formulación y, por tanto, su biodisponibilidad. Entre ellos están materias primas, procesos y equipos envueltos en la manufactura.<sup>13,14</sup> Ejemplos de estas variables son: tamaño de partícula del principio activo, área superficial, cristalización, calidad de excipientes, orden de mezclado de ingredientes, desintegrantes, tipo de granulador, cantidad de líquido aglutinante, duración de la granulación, intensidad de la granulación, diámetro, dureza de la tableta/fuerza de compresión, forma de la tableta, revestimiento y escalado, entre otras.<sup>1,2,13,15-17</sup> A menos que estas variables críticas sean identificadas y controladas, no se considera validado el proceso de manufactura del producto, ya que no es de calidad reproducible. Por tanto, el producto no puede ser comercializado aunque cumpla con el control de calidad (punto Q).<sup>12</sup> No hay una regla general o lista de variables de manufactura, todo depende de la materia prima, de la composición del producto y del tipo de proceso usado. Las variables de manufactura tienen que ser establecidas individualmente para cada caso. Cada formulación y cada parámetro del proceso tiene que ser probadas con el objetivo de establecer sus variables específicas.<sup>13</sup>

Una vez justificada la necesidad del establecimiento de la correlación *in vivo-in vitro*, se hace imprescindible definir en qué consiste, cuáles son sus objetivos y qué beneficios nos reporta.

## DEFINICIÓN DE CORRELACIÓN *IN VIVO*-*IN VITRO*

La USP y la FDA proponen cada una su definición de correlación *in vivo-in vitro*.<sup>7,18</sup>

*USP*: El establecimiento de una relación entre una propiedad biológica o un parámetro derivado de una propiedad biológica producida por una forma dosificada, y una característica fisicoquímica de la misma forma dosificada.

*FDA*. Mostrar una relación entre 2 parámetros. Típicamente se obtiene una relación entre la velocidad de disolución *in vitro* y la velocidad de entrada *in vivo*.

A partir de estas definiciones y de la experiencia acumulada por muchos investigadores<sup>19-27</sup> que han trabajado desde principios de la década de 1960 sobre este tema, se ha dividido la manera de obtener correlaciones en 3 niveles,<sup>4,7,11,14,18</sup> en orden descendiente según su capacidad para predecir la curva plasmática completa que resultará de la administración de una forma dosificada dada.<sup>7,11,18</sup> A continuación se definen los 3 niveles propuestos:

*Nivel A*. Relación punto a punto entre la disolución *in vitro* y la velocidad de entrada *in vivo* de la droga a partir de la forma dosificada.

*Nivel B*. Utiliza los principios del análisis de momentos estadísticos. Se compara el tiempo medio de disolución *in vitro* (MDT) con el tiempo medio de residencia (MRT).

*Nivel C*. Esta categoría relaciona un punto de tiempo de disolución y un parámetro farmacocinético como AUC, C<sub>máx</sub> y T<sub>máx</sub>.

## OBJETIVOS DE LA CORRELACIÓN *IN VIVO*-*IN VITRO*

Independientemente del nivel de correlación que se obtenga se persigue, en

primer lugar, obtener una prueba de disolución que sirva como sustituto del estudio de bioequivalencia durante el escalado o cambios en el sitio de manufactura y equipos, y, en segundo lugar, ajustar especificaciones de disolución para cada formulación en particular.

Como se comentó anteriormente, para obtener una correlación, es imprescindible desarrollar y validar un método de disolución que sea lo suficientemente sensible, como para detectar diferencias en las velocidades de disolución entre los lotes, de manera que sirva como sustituto del estudio *in vivo*. Se pueden diseñar estudios con diferentes aparatos, a varios pH, a diferentes velocidades de agitación entre otras variaciones,<sup>7,14,16</sup> incluyendo las que propone la farmacopea. Luego se selecciona entre todas, cuál es la que mejor discrimina entre distintos lotes con diferentes velocidades de disolución, que fueron fabricados teniendo en cuenta las variables críticas encontradas para la formulación en particular. Así, con el método de disolución escogido y los datos obtenidos en los estudios de BD ó BE se obtienen las especificaciones de disolución *in vitro* que no es más que un intervalo de valores de porcentaje disuelto *in vitro*, en el cual pueden moverse los lotes de una formulación y aun así resultar bioequivalentes.<sup>11,13,14,16</sup> De esta forma, todos los lotes cuyos perfiles estén contenidos dentro de ese intervalo son aceptados para su comercialización y los que no, son rechazados.

## RELACIÓN ENTRE VARIABLES CRÍTICAS Y DISOLUCIÓN *IN VITRO*

El ensayo de disolución *in vitro* tiene que ser optimizado para que sea sensible a los cambios en las variables de manufactura críticas, dentro de un intervalo de valores

esperados, durante el proceso de manufactura. Las especificaciones de disolución *in vitro* (intervalo de valores permitidos) deben corresponderse con el intervalo de valores de las variables de manufactura críticas, que puede ser esperado durante el proceso normal de manufactura, usando un procedimiento *in vitro* que ha sido desarrollado y optimizado para detectar diferencias en estas variables de manufactura.<sup>13,14</sup>

## CONCLUSIONES

Las variables críticas del proceso que afectan la liberación de la droga tienen que

ser cuidadosamente evaluadas y controladas. Estas variables tienen que determinarse individualmente para cada producto.

La única vía para producir de manera reproducible un producto que cumpla con las especificaciones de calidad, es ajustando y controlando las variables críticas.

Es necesario el establecimiento de una correlación *in vivo-in vitro*, para obtener especificaciones de velocidad de disolución *in vitro* adecuadas.

La validación *in vivo* de las especificaciones de disolución asegura que las variaciones lote a lote permitidas para el mercado no resultarán en bioequivalencia.<sup>15</sup>

## SUMMARY

---

The quality control suggested by Pharmacopeta for oral dosage forms does not assure in many cases the bioequivalence of products going to the market, therefore, causes of this deficiency such as poor selection of dissolution specifications and conditions, and underestimation of the influence of critical manufacturing variable over the performance of formulations were discussed. *In vivo - in vitro* correlations were encouraged to be set since this is the most acceptable solution worldwide for guaranteeing batch per batch quality. Also, the definitions of *in vivo in vitro* correlations and proposed correlation levels were presents. The importance of setting, adjustment and control of critical variables together with the obtained *in vivo - in vitro* correlation to determine adequate *in - vitro* dissolution specifications were underlined in the conclusions.

*Subject headings:* DRUG ADMINISTRATION ROUTES, QUALITY CONTROL, THERAPEUTIC EQUIVALENCY.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dighe SV. Development of dissolution test for immediate release and modified release oral dosage forms. Report Pre-Conference Bio-International '94. Pre-Conference Satellite Symposium on *in vitro-in vivo correlation*; 1994 June 14; Munich: International Pharmaceutical Federation, 1995:247-55.
2. Grundy JS, Anderson KE, Rogers JA. Studies on dissolution testing of the nifedipine gastrointestinal therapeutic system. I. Description of a two-phase *in vitro* dissolution test. J Control Release 1997;48:1-8.
3. Grundy JS, Anderson KE, Rogers JA. Studies on dissolution testing of the nifedipine gastrointestinal therapeutic system. II. Improved *in vivo/in vitro* correlation using a two-phase dissolution test. J Control Release 1997;48:9-17.
4. Skelly JP, Shiu GF. *In vitro/in vivo* correlations in biopharmaceutics: scientific and regulatory implications. Eur J Drug Metab Pharmacokinet 1993;18(1):121-9.

5. Meyer MC, Straughn AB, Jarvi EJ, Wood GC, Pelsor FR, Shah VP. The bioequivalence of Carbamazepine tablets with a history of clinical failures. *Pharm Res* 1992;9(12):1612-6.
6. Tand L, Stubbs C, Kanfer I. Level A *in vitro/in vivo* correlations: A quality control tool of bioequivalence predictor for extended-release solid oral dosage forms? *Drug Dev Ind Pharm* 1995;21(8):889-904.
7. Cardot JM, Beyssac E. *In vivo/in vitro* correlations: Scientific implications and standardisation. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1993;18(1):113-20.
8. Blume HH, Mc Gilbert IJ, Midha KK. Pre-conference Satellite on *in vivo/in vitro* correlation. *Eur J Pharm Sci* 1995;3:113-24.
9. Walterson JO. *In vitro* validation of dissolution test. Report Pre-Conference Bio-International'94. Pre-Conference Satellite Symposium on *in vitro-in vivo* correlation; 1994 June 14; Munich: International Pharmaceutical Federation, 1995:259-60.
10. Siewert M. *In vivo* validation of *in vitro* dissolution test and specifications: applications for controlled/modified release products. Report Pre-Conference Bio-International'94. Pre-Conference Satellite Symposium on *in vitro-in vivo* correlation; 1994 June 14; Munich: International Pharmaceutical Federation, 1995:293-9.
11. United States Pharmacopeial Convention USP XXIII: United States Pharmacopeia. 23 ed. Easton: Mack Printing; 1994:1924-9.
12. Ohm A. Critical manufacturing variables and *in vitro* dissolution test in view of *in vivo* performance. Report Pre-Conference Bio-International'94. Pre-Conference Satellite Symposium on *in vitro-in vivo* correlation; 1994 June 14; Munich: International Pharmaceutical Federation, 1995:261-79.
13. Shah VP, Skelly JP, Barr WH, Malinowski H, Amidon GL. Scale-up of controlled-release products. Preliminary considerations. *Pharm Technol* 1992;(May):35-40.
14. Skelly JP, Amidon GL, Barr WH, Benet LZ, Carter JE, Robinson JR, et al. *In vitro* and *in vivo* testing and correlation for oral controlled/modified release dosage forms. *J Controll Release* 1990;14:95-106.
15. Skelly JP. Scale-up of immediate-release oral solid dosage forms. *Pharm Technol* 1995;(April):68-74.
16. Skelly JP. Scale-up of oral extended-release dosage forms. *Pharm Technol* 1995;(May); 46-54.
17. Veiga F, Salsa T, Pina ME. Influence of technological variables on the release of theophylline from hydrophilic matrix tablets. *Drug Dev Ind Pharm* 1997;23(6):547-51.
18. Kayali A. Bioequivalency evaluation by comparison of *in vitro* dissolution and *in vivo* absorption using reference equations. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1994;3:271-7.
19. Levy G. Comparison of dissolution and absorption rates of different commercial aspirin tablets. *J Pharm Sci* 1961;50:388.
20. Levy G, Hollister L. Inter and intra-subject variations in drug absorption kinetics. *J Pharm Sci* 1964;53:1446.
21. Gibaldi M, Weintraub H. Quantitative correlation of absorption and *in vivo* dissolution kinetics of Aspirin from several dosage forms. *J Pharm Sci* 1970;64:1723.
22. Jung H, Milán RC, Girard ME, León F, Montoya MA. Bioequivalence study of carbamazepine tablets: *in vitro/in vivo* correlation. *Int J Pharm* 1997;152:37-44.
23. Kumar DS, Pandit JK. Relationship between dissolution rate and bioavailability of sustained-release Ibuprofen capsules. *Drug Dev Ind Pharm* 1997;23(10):987-92.
24. Polli JE. *In vitro-in vivo* relationship of several immediate@ release tablets containing a low permeability drug. *Adv Exp Med Biol* 1997;423:191-8.
25. Rekhi GS, Jambhekar SS. Bioavailability and *in vitro/in vivo* correlation for propranolol hydrochloride extended-release bead products prepared using aqueous polymeric dispersions. *J Pharm Pharmacol* 1996;48(12):1276-84.
26. Liu FY, Sambol NC, Giannini RP, Liu CY. *In vitro-in vivo* relationship of oral extended-release dosage forms. *Pharm Res* 1996;13(10):1501-6.
27. Mojaverian P, Rosen J, Vadino WA, Liebowitz, Radwanski E. *In vivo/in vitro* correlation of four extended release formulations of pseudoephedrine sulfate. *J Pharm Biomed Anal* 1997;15(4):439-45.

Recibido: 28 de diciembre de 1998. Aprobado: 2 de febrero de 1999.

Lic. *Dayamí Carrión Recio*. Centro Nacional de Toxicología. Calle 114 y Ave 31. Apartado 14020, municipio Marianao, Ciudad de La Habana, Cuba.