

Biosimilitud *in vitro* de tabletas de ranitidina 300 mg dispensadas en pobladores peruanos

In vitro biosimilarity of ranitidine 300 mg tablets dispensed in peruvian settlers

Q.F. Danitza Iraiz Urquiza Gavidia¹

Q.F. Karen Edith Merari de los Santos Valencia Alayo¹

Dr. Ericson Felix Castillo Saavedra^{1*}

Dra. Carmen Isolina Ayala Jara¹

¹Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Perú.

*Autor para la correspondencia. correo electrónico: ericson_fcs@hotmail.com

RESUMEN

El estudio estuvo orientado a determinar la biosimilitud *in vitro* de las tabletas de ranitidina 300 mg multifuente y referente que se prescriben y dispensan en pobladores peruanos. Se utilizaron 12 tabletas procedentes de dos laboratorios (multifuente y referente), que fueron analizadas en tres medios de disolución con buffer pH 1,2; 4,5 y 6,8; para obtener la cantidad de medicamento disuelto en función del tiempo. Los resultados para los medios de disolución indican que los datos se ajustaron al modelo cinético orden uno, el tratamiento estadístico para el tiempo medio de disolución y eficiencia de disolución mediante t student evidenció que no existe diferencia significativa entre el medicamento multifuente y referente. Los valores del factor de similitud f_2 fueron 83,3; 75,8 y 71,1 para los pH 1,2; 4,5 y 6,8 respectivamente. Se concluye similitud biológica entre el medicamento multifuente y referente, basado en pruebas de disolución *in vitro*.

Palabras clave: biosimilitud, biológico, ranitidina, multifuente, referente.

ABSTRACT

The study was aimed at determining the *in vitro* biosimilarity of ranitidine 300 mg multi-source tablets and reference that are prescribed and dispensed in Peruvian residents. Twelve tablets from two laboratories (multi-source and reference) were used, which were analyzed in three dissolution media with buffer pH 1.2; 4.5 and 6.8; to get the amount of medication dissolved as a function of time. The results for the means of dissolution indicate that the data were adjusted to the order kinetic model, the statistical treatment for the mean time of dissolution and dissolution efficiency by student t showed that there is no significant difference between the multi-source drug and the reference. The values of the similarity factor f_2 were 83,3; 75,8 and 71,1 for the pH 1,2; 4,5 and 6,8 respectively. Biological similarity between the multi-source drug and the reference based on *in vitro* dissolution tests is concluded.

Keywords: similarity, biological, ranitidine, multi-source, referent.

Recibido: 5/9/2018

Aprobado: 11/2/2019

Introducción

La bioequivalencia es la similitud que se presenta entre dos o más medicamentos a la misma dosis y forma farmacéutica para alcanzar concentraciones sanguíneas a nivel de biofase respecto a un tiempo determinado, lograr una misma biodisponibilidad y asegurar eficacia terapéutica.^(1,2)

A nivel mundial, la Organización Mundial de la Salud (OMS), y a nivel local, las autoridades reguladoras en el Perú han establecido que los medicamentos multifuentes, referentes e innovadores deben presentar estudios de bioequivalencia que permitan asegurar en la población criterios de calidad, eficacia y seguridad, y de esta manera garantizar que la población con menos recursos económicos acceda a medicamentos terapéuticamente equivalentes a menor costo.^(3,4)

Los estudios de bioequivalencia o biosimilitud *in vitro* requieren la comparación de los perfiles de disolución de dos o más formulaciones (referencia y multifuente), representando la disolución un factor importante en la cantidad de fármaco absorbido en medicamentos administrados por vía oral.^(5,6)

De la misma forma, los estudios de biosimilitud *in vitro* se ajustan a los criterios de solubilidad y permeabilidad que presenta cada ingrediente farmacéutico activo. Es así, que, desde el punto de vista de los estudios de cinética química, el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica permite clasificar a ranitidina como un medicamento altamente soluble y pobremente permeable, perteneciente a la clase III.^(6,7,8) La United State Pharmacopeia 41 establece que las pruebas de disolución requieren de aparato tipo II, a 75 rpm, en un volumen de 900 mL y modo ultravioleta a 314 nm.⁽⁹⁾

La evaluación de la similitud entre las curvas del porcentaje disuelto en función del tiempo, requiere de dos tipos de modelos: dependiente e independiente. El modelo dependiente que permite determinar el ajuste del orden cinético del proceso de disolución, puede ser a su vez: orden cero, orden uno, raíz cúbica, Higuchi y función Weibull. Por otro lado, el modelo independiente factor de similitud (f_2) permite inferir similitud entre las curvas de fármaco disuelto con valores comprendidos entre 50 a 100. Adicionalmente, se realizan cálculos de la eficiencia de disolución porcentual, así como el tiempo medio de disolución, como parámetros de similitud entre dos formulaciones.⁽¹⁰⁾

La ranitidina es un medicamento perteneciente al grupo de fármacos antiulcerosos que se encuentra en el Listado de Medicamentos Esenciales establecido por la Organización Mundial de la Salud, antagonista de los receptores histaminérgicos (H_2) que inhibe la secreción basal gástrica y la secreción gástrica ácida inducida por histamina, y se utiliza en el tratamiento del reflujo gastroesofágico, gastritis, úlceras pépticas, entre otras.⁽⁸⁾

En Perú, ranitidina es prescrito frecuentemente en los establecimientos de salud, así como en la consulta particular, al análisis farmacoterapéutico es eficaz, seguro y conveniente, por lo que se le considera un medicamento idóneo en el tratamiento de procesos gástricos.

En base a lo mencionado, se pretende determinar la biosimilitud *in vitro* de las tabletas de ranitidina 300 mg multifuente y referente que se prescriben y dispensan en pobladores peruanos, y de esta manera ayudar a la población a que pueda poseer medicamentos intercambiables con eficacia y seguridad a medicamentos innovadores, a un costo más accesible.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio de tipo cuantitativo, prospectivo de corte transversal, con diseño descriptivo. La población estuvo constituida por todas las tabletas de ranitidina de 300 mg que se manufacturaron en dos laboratorios farmacéuticos diferentes. El laboratorio

designado como R se consideró como medicamento de referencia, es decir, aquel medicamento de mayor circulación en el territorio nacional con características muy semejantes al medicamento innovador respecto a eficacia y seguridad. El laboratorio designado como M se consideró como medicamento multifuente, es decir, aquel medicamento que cumple con las exigencias requeridas por la Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID) de Perú, que se encuentra en circulación en el territorio nacional, pero que no se ha demostrado mediante estudios de biodisponibilidad *in vitro* como *in vivo* ser biosimilar al medicamento innovador.

El proceso de recolección de la muestra consistió en adquirir al azar de un listado de establecimientos farmacéuticos 30 unidades de ranitidina 300 mg de cada laboratorio (R y M), considerando como criterios de inclusión, presentar misma fecha de vencimiento y número de lote.

El procedimiento consistió en seleccionar 12 unidades de cada formulación, y luego, preparar los medios buffer a pH 1,2; 4,5 y 6,8.⁽¹¹⁾ Posteriormente, se realizaron las curvas de calibración para cada medio de disolución, considerando la preparación de una disolución madre a partir de un estándar primario de clorhidrato de ranitidina, se tomaron alícuota estímulo creciente y se leyeron a espectrofotometría UV a 314 nm.^(8,9)

El ensayo de disolución consistió en utilizar un equipo denominado disolutor marca GENESYS10UV, semiautomático que regula temperatura y velocidad de agitación, que tiene capacidad para 6 vasos de 1000 mL. Las especificaciones establecidas por la United State Pharmacopeia 41 para ranitidina tabletas son: volumen del medio a utilizar 900 mL, aparato tipo II, velocidad de agitación 50 rpm, temperatura a $37 \pm 0,5$ °C, modo UV a una longitud de onda de 314 nm.⁽⁹⁾

Para la determinación de los tiempos de muestreo, se realizó un piloto con una tableta para cada medio de disolución, y posteriormente con los tiempos establecidos se realizaron las disoluciones con las 12 tabletas para cada medio a evaluar, se extrajeron alícuotas filtradas de 10 mL, se diluyeron con su propio medio de disolución para que puedan ser leídas en el espectrofotómetro considerando la ley de Lambert y Beer.

Las absorbancias obtenidas fueron transformadas a concentraciones para ser evaluadas mediante el modelo dependiente e independiente. El modelo dependiente caracterizó la cinética de disolución del medicamento, mediante orden cero, orden uno, raíz cúbica, Higuchi y función Weibull, para lo cual se utilizó el Criterio de Información de Akaike (AIC).⁽¹²⁾ El modelo independiente se evaluó mediante el factor de similitud (f_2).⁽¹⁰⁾

Respecto al análisis estadístico, los datos fueron evaluados mediante el programa estadístico SPSS V 24 donde se calcularon las medias y la desviación estándar con previa verificación de la normalidad, utilizando la prueba de Shapiro-Wilk. La comparación

de las medias para determinar significancia estadística del tiempo medio de disolución y eficiencia de disolución dependió de la normalidad de los datos, t student como prueba paramétrica y U man de Whitney como prueba no paramétrica.

El cálculo de f_2 consideró la similitud en el porcentaje de disolución entre ambas curvas, tomando valor cuando los perfiles son idénticos y tenderá a cero a medida que se hacen más disímiles. Por tanto, se sugiere que dos perfiles de disolución se consideraron similares si el valor de f_2 se sitúa entre 50 y 100.⁽¹⁰⁾

La evaluación de la biosimilitud *in vitro* consideró que el f_2 debe ser superior a 50 en los medios buffer pH 1,2, 4,5 y 6,8.^(5,7)

Resultados y discusión

En la tabla 1 se pueden observar los porcentajes disueltos de tabletas de ranitidina de 300 mg multifuente y referencia para cada pH de estudio y según los tiempos de muestreo establecidos previamente en un estudio piloto. Los datos obtenidos reflejan que no se disolvió más del 85% en 15 minutos, por lo que no se consideraría un medicamento de disolución muy rápida, y según lo referido por la Organización Mundial de la Salud, la ranitidina siendo un medicamento clase III según el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, no cumpliría con el criterio de bioexención, es decir, la sustitución de una prueba *in vitro* por *in vivo*.^(7,8,11)

Por otro lado, si se está evaluando similitud de los perfiles obtenidos, se podría indicar que, en los tres medios de disolución, el coeficiente de variación porcentual es menor al 20% en los primeros puntos de muestreo, y menor al 10% en los últimos puntos, lo que demostraría la biosimilitud *in vitro* en los tres medios de disolución, según lo establecido por organismos internacionales.⁽¹¹⁾

Tabla 1- Porcentaje disuelto y coeficiente de variación porcentual (CV%) de tabletas de ranitidina 300 mg multifuente (M) y referente (R) para cada medio de disolución

Tiempo (minutos)	pH 1,2				pH 4,5				pH 6,8			
	M	CV%	R	CV%	M	CV%	R	CV%	M	CV%	R	CV%
5	13,8	3,1	16,1	3,1	15,2	2,5	18,1	3,5	10,2	4,5	13,1	2,0
10	19,3	3,4	21,4	1,7	20,2	3,2	23,1	2,7	15,1	2,7	18,0	3,0
15	32,7	2,3	34,3	2,2	34,3	2,1	35,2	2,3	21,3	1,9	29,3	1,9

20	42,1	1,8	42,3	0,8	43,6	1,1	45,1	1,1	37,8	1,3	39,2	1,5
30	62,4	0,9	62,6	0,9	62,4	1,2	64,4	0,7	59,9	1,2	60,0	1,1
45	82,8	0,9	84,4	0,4	84,6	1,1	88,1	0,6	80,6	0,7	80,1	0,7
60	90,1	0,4	93,4	0,4	90,4	0,6	95,1	0,6	85,0	0,3	88,2	0,4

De la misma forma, en la tabla 2 se aprecia que el mejor ajuste de los datos obtenidos sigue un modelo dependiente de orden 1 en el multifuente y raíz cúbica en el referente, y considerando los valores obtenidos en ambos medicamentos, se optó por el modelo orden 1, en el cual el logaritmo natural de las concentraciones es proporcional al tiempo y representaría el modelo que minimiza la probabilidad negativa penalizada por el número de parámetros, es decir la aproximación para el verdadero proceso de generación de datos desconocidos.⁽¹⁰⁾

En este sentido, clorhidrato de ranitidina es una base con un pka de 8,2; por lo que las diferencias en los porcentajes disueltos se explicarían por la ecuación de Henderson Hasselbach y su relación con el grado de ionización del medicamento, para una posterior absorción según el medio a utilizar. Así tenemos, que el medio pH 1,2 está constituido por ácido clorhídrico, a diferencia del pH 4,5 que está compuesto por buffer acetato y el pH 6,8 por buffer fosfato, lo cual permitiría simular las condiciones fisiológicas del recorrido del medicamento tras su administración vía oral. Por otra parte, los excipientes utilizados en cada formulación son diferentes, lo cual generaría variación en los procesos de disgregación.

Respecto al tiempo medio de disolución representado en la tabla 3, se observa que no existe diferencia significativa entre el medicamento referente y multifuente en los tres medios de disolución, y estaría representando las características de liberación que presentan las formulaciones evaluadas, parámetros fundamentales para establecer un nivel de correlación *in vitro - in vivo*.⁽¹²⁾

Tabla 2- Valores promedio (μ) y coeficiente de variación porcentual (CV%) de tabletas de ranitidina 300 mg multifuente y referente para cada medio de disolución según el método Akaike de modelo dependiente

Modelo dependiente	Multifuente						Referente					
	pH 1,2		pH 4,5		pH 6,8		pH 1,2		pH 4,5		pH 6,8	
	μ	CV%	μ	CV%	μ	CV%	μ	CV%	μ	CV%	μ	CV%
Orden 0	40,0	0,9	40,4	1,4	42,8	0,6	37,8	1,7	38,9	1,1	38,8	1,8

Orden 1	- 17,6 *	4,7	- 13,9 *	4,5	- 13,2 *	4,0	- 11,1	4,6	-8,2	3,6	- 18,2	4,7
Raíz cúbica	- 14,4	2,2	- 11,5	2,96	-7,4	4,9	- 16,8 *	3,23	- 11,8 *	4,4	- 18,4 *	4,6
Higuchi	81,7	0,1	82,0	0,2	80,8	0,12	82,1	0,1	82,6	0,1	81,4	0,6
Weibull	-9,9	4,3	-8,4	4,3	-4,4	4,11	-7,1	4,86	-5,1	3,8	-9,1	4,9

Tabla 3- Tiempo medio de disolución (TMD) de tabletas de ranitidina 300 mg multifuente (M) y referente (R) para cada medio de disolución

** p > 0,05; no significativo entre el medicamento multifuente y referente para cada pH

Leyenda:

DE: Desviación estándar

Tableta	pH 1,2 **		pH 4,5 **		pH 6,8 **	
	M	R	M	R	M	R
1	22,6	23,2	22,6	22,4	23,1	23,7
2	23,0	23,3	21,9	22,6	23,4	23,6
3	23,0	23,1	22,7	22,6	23,4	23,6
4	22,9	23,3	22,1	22,8	23,6	23,6
5	23,2	23,4	22,4	22,3	23,3	23,8
6	22,8	23,6	22,5	22,6	23,1	23,5
7	22,5	23,3	22,6	22,2	23,6	23,7
8	22,9	23,3	22,1	23,0	23,5	23,3
9	22,9	23,3	22,5	22,6	23,1	23,6
10	23,2	23,3	22,3	22,6	23,3	23,6
11	22,6	23,3	22,4	22,4	23,4	23,6
12	22,9	23,6	21,9	23,0	23,4	23,3
μ	22,8	23,3	22,3	22,6	23,4	23,6
DE	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,1
CV%	1,0	0,7	1,3	1,1	0,8	0,6

De la misma forma, en la tabla 4 se evidencia la eficiencia de disolución porcentual según medio de disolución, donde se encontró que no existe diferencia significativa para los buffers a pH 1,2; 4,5; y 6,8; e indicaría la disolución global del fármaco, porque en este caso, este parámetro es el encargado de evaluar la cantidad de fármaco en cualquier momento del proceso de disolución, y representaría además un nivel correlación *in vitro* - *in vivo*.^(8,9,12)

Tabla 4- Eficiencia de disolución porcentual (ED%) de tabletas de ranitidina 300 mg multifuente (M) y referente (R) para cada medio de disolución

Tabletas	pH1,2 **		pH4,5 **		pH 6,8 **	
	M	R	M	R	M	R
1	21,1	21,4	21,3	22,2	19,7	19,9
2	21,0	21,3	21,4	22,3	19,4	20,1
3	20,8	21,4	21,0	22,1	19,5	19,9
4	21,0	21,6	21,4	22,2	19,4	20,2
5	20,7	21,3	21,3	22,3	19,3	20,1
6	20,8	21,3	21,3	22,4	19,6	20,1
7	21,0	21,4	21,4	22,3	19,3	20,0
8	20,8	21,4	21,2	22,1	19,5	20,2
9	20,8	21,3	21,0	22,2	19,4	20,1
10	20,9	21,4	21,3	22,3	19,5	20,1
11	20,9	21,5	21,4	22,2	19,5	20,1
12	21,0	21,4	21,3	22,2	19,6	20,1
μ	20,9	21,4	21,3	22,2	19,5	20,1
DE	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
CV%	0,6	0,3	0,6	0,5	0,7	0,5

** p > 0,05; no signifi

cativo entre el medicamento multifuente y referente para cada pH

Finalmente, la tabla 5 refleja la similitud de los perfiles de disolución, encontrando que en los tres medios de disolución se presentan valores mayores a 50, y según lo establecido por la OMS, los datos obtenidos cumplirían además con el criterio de tener más de 4 puntos de muestreo y cumplir con los coeficientes de variación porcentual en los primeros y últimos tiempos.

El factor f_2 representa la transformación logarítmica del recíproco de la raíz cuadrada de la suma de los errores al cuadrado y es una medida de la similitud entre las curvas de disolución obtenidas de los productos de prueba y de referencia.^(13,14,15)

Tabla 5- Factor de similitud (f_2) de tabletas de ranitidina 300 mg referente y multifuente para cada medio de disolución

Medio de disolución	Factor de similitud (f_2)
Buffer pH 1,2	83,2
Buffer pH 4,5	75,8
Buffer pH 6,8	71,0

Conclusiones

Las tabletas de ranitidina 300 mg dispensadas en pobladores peruanos presentan biosimilitud *in vitro* en los perfiles de disolución respecto a los modelos dependientes e independientes. En los modelos dependientes, los parámetros de tiempo medio de disolución y porcentaje de eficiencia de disolución porcentual mostraron diferencias no significativas entre el medicamento multifuente y referente, asumiendo similitud entre los perfiles. En el modelo independiente, el factor de similitud (f_2) arrojó valores mayores a 50 en los tres medios de disolución, y cumplió con lo exigido por la OMS, respecto a los coeficientes de variación porcentual y puntos de muestreo.

Referencias bibliográficas

1. HUAYANAY, L. "Bioequivalencia en medicamentos". *Revista Médica Herediana*. 2012, **23** (4), 221-222. ISSN 1018-130X.
2. KANO, E.; MORI, E.; GRIGOLETO, S.; DOS REIS, C.; ABIB, E.; PEREIRA, R.; TAKAMATSU, M.; IECCO, M.; PORTA, V. "Average bioequivalence of single 500 mg doses of two oral formulations of levofloxacin: a randomized, open-label, two-period crossover study in healthy adult Brazilian volunteers". *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015, **51** (1), 203-211. ISSN 2175-9790
3. KASSAVE, L.; GENETE, G. "Evaluation and comparison of in-vitro dissolution profiles for different brands of amoxicillin capsules". *African Health Sciences*. 2013, **13** (2), 369-375. DOI: 10.4314/ahs.v13i2.25.
4. MINISTERIO DE SALUD DEL PERÚ. "Reglamento para el Registro, Control y Vigilancia Sanitaria de Productos Farmacéuticos y Afines". Decreto Supremo 016-2011-SA. Lima: MINSA; 2011.
5. HERRERA, O.; GRANDE, M. "Equivalencia terapéutica de tabletas de diazepam dispensadas en la ciudad de Ica, Perú". *Revista Médica Herediana*. 2012, **23** (3), 154-159. ISSN 1018-130X.
6. PEREIRA, Z. "Oferta y demanda de estudios de equivalencia terapéutica (*in vitro* e *in vivo*) de medicamentos en Costa Rica". *Tecnología en Marcha*. 2016, **29** (1), 18- 27. ISSN 0379-3982.
7. SMEKHOVA, I.; MOLDAVER, B.; PEROVA, Y. "Equivalence of ranitidine generic tablets

studied using the *in vitro* dissolution test". *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2009, **43** (11), 632-636. ISSN 0091-150X/09/4311-0632.

8. DE FREITAS, A.; SANTOS, I.; LIMA, V.; LEAL, R.; CAETITE, E. "Test of dissolution and comparison of *in vitro* dissolution profiles of coated ranitidine tablets marketed in Bahia, Brazil". *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014, **50** (1), 83-89. ISSN 2175-9790.

9. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA - USP 41 - NF 36. *The United States Pharmacopeial Convention*. 2018, 3, 6138-6140.

10. NAVARRO, G.; CABRAL, P. "Aplicación de métodos modelo-dependiente y modelo-independiente en el desarrollo de una formulación de comprimidos de Captopril". *Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas*. 2009, **38** (1), 19-30. ISSN 0034-7418.

11. WORLD HEALTH ORGANIZATION. "Annex 8: Proposal to waive *in vivo* bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms". *Technical Report Series N° 8*. 2006.

12. MEDINA, J.; HURTADO, M.; CORTÉS, A.; DOMÍNGUEZ, A. "Disolución comparativa de indometacina en cápsulas utilizando los Aparatos 1 y 4 USP". *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*. 2012, 43(3), 72-80. ISSN 1870-0195.

13. JUNG, H.; ANDA, G.; RUBIO, K.; MAYET, L. "Comparación de perfiles de disolución: Impacto de los criterios de diferentes agencias regulatorias en el cálculo de f_2 ". *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*. 2012, **43** (3), 67-71. ISSN 1870-0195.

14. FRETES, S.; VÁSQUEZ, M.; LUGO, G. "Evaluación comparativa entre los perfiles de disolución de comprimidos similares de Lamotrigina de 25mg y el fármaco innovador, comercializados en Paraguay". *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*. 2016, **14** (2), 53-60. ISSN 1812-9528.

15. BRIJESH, D.; AVANI, A.; MADHABHAI, P. Gastroretentive Drug Delivery System of Ranitidine Hydrochloride: Formulation and *in vitro* evaluation. *American Association of Pharmaceutical Scientists*. 2004, 5(2), 77-82. DOI: 10.1208/pt050234