



Metformina / Glibenclamida

500 mg/5 mg



**Estudio de
Bioequivalencia**



Tecnoquímicas



MEDICAMENTOS
TOTALMENTE CONFIABLES

Metformina / Glibenclamida

500 mg/2,5 mg - 500 mg/5 mg



Estudio de Bioequivalencia realizado por el CIDEIM*

► Certifica que Metformina/Glibenclamida MK® 500 mg/5 mg es Bioequivalente con el producto Referente.

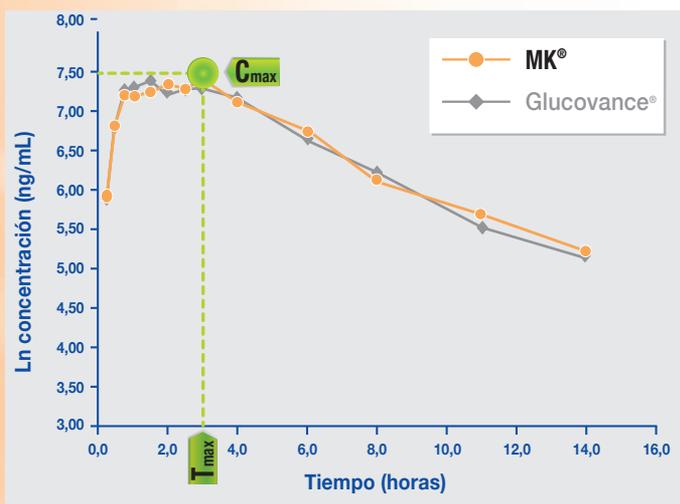
Promedio de los Parámetros Farmacocinéticos Metformina

Producto	C _{máx}	T _{máx}	AUC (0-t)
MK®	1613,99	3,00	10619,07
Glucovance®	1615,81	1,50	10516,68

Promedio de los Parámetros Farmacocinéticos Glibenclamida

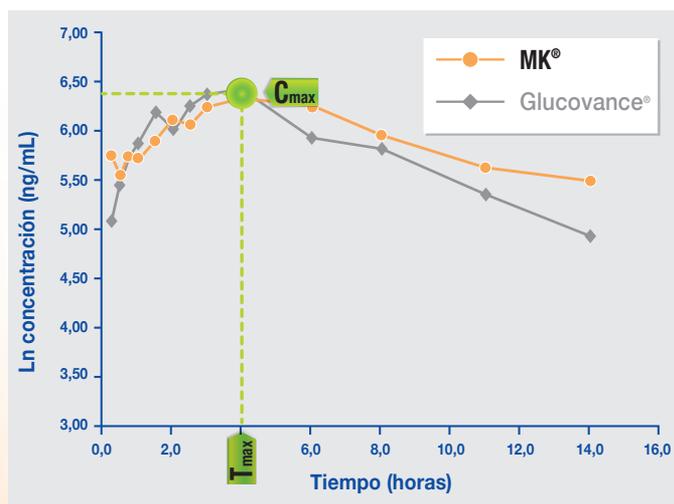
Producto	C _{máx}	T _{máx}	AUC (0-t)
MK®	568,10	4,00	5393,50
Glucovance®	614,46	4,00	4833,28

Curvas de Biodisponibilidad Metformina



Concentración plasmática (ng/mL) vs. Tiempo después de la administración oral.

Curvas de Biodisponibilidad Glibenclamida



Concentración plasmática (ng/mL) vs. Tiempo después de la administración oral.

* CIDEIM (Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas): Institución autorizada por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) en Colombia para el desarrollo y ejecución de estudios clínicos y Biofarmacéuticos en humanos.

Estudio de Bioequivalencia entre Metformina 500 mg + Glibenclamida 5 mg MK[®] tabletas de Tecnoquímicas S.A. vs Glucovance[®] Metformina 500 mg + Glibenclamida 5 mg tabletas del laboratorio Merck S.A.

RESUMEN

Antecedentes

Se realizó un ensayo *in vivo* para demostrar diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones plasmáticas de Metformina y Glibenclamida en el tiempo, obtenidas con la formulación en tabletas del producto Metformina 500 mg + Glibenclamida 5 mg MK[®] tabletas de Tecnoquímicas S.A., medicamento genérico o producto de Prueba (T), en comparación con Glucovance[®] Metformina 500 mg + Glibenclamida 5 mg tabletas de Merck S.A., producto de Referencia (R). El estudio evaluó el comportamiento de los dos productos con las variables de Concentración máxima alcanzada ($C_{m\acute{a}x}$), tiempo para lograrla ($T_{m\acute{a}x}$) y área bajo la curva de concentración en el tiempo (AUC), para los principios activos que los componen. Se administraron por vía oral dosis únicas de 1000 mg de Metformina + 10 mg de Glibenclamida (Glyburide) en cada producto a 19 voluntarios sanos, en dos periodos de tratamiento.

Métodos

Los productos en estudio fueron comprobados para el cumplimiento de los parámetros fisicoquímicos de control de calidad para determinar su Equivalencia Farmacéutica. En el ensayo de Bioequivalencia se aplicó el diseño experimental para un estudio cruzado, en 19 voluntarios sanos con edades entre 18 y 33 años, que cumplieron los requisitos de inclusión y consintieron su participación voluntaria y por escrito. Los sujetos recibieron aleatoriamente cada producto en dosis únicas de 2 tabletas (Metformina 1000 mg + Glibenclamida 10 mg), asignados al azar como A o B para secuencia, tratamiento y periodo, con un lapso de 7 días entre los tratamientos. Los productos les fueron administrados en ayunas con 240 mL de solución de dextrosa al 20%. Durante las primeras dos horas, cada 15 minutos se les suministraron 60 mL de esta misma solución. En cada periodo se extrajeron 14 muestras de sangre de 10 mL, que se sometieron a procedimientos de separación del plasma y cuantificación de la concentración de Metformina/Glibenclamida, por el método analítico de cromatografía líquida HPLC-UV con adición estándar, validado en el Laboratorio de Estudios Biofarmacéuticos de CIDEIM. Con los resultados se calcularon y compararon los parámetros farmacocinéticos de cada componente activo para: Área Bajo la Curva (AUC), Concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y Tiempo para alcanzar la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$).

Resultados

Los ensayos fisicoquímicos demostraron que no hubo diferencias entre las muestras de los productos, por lo que se estableció su Equivalencia Farmacéutica. Los datos de las muestras biológicas fueron analizados estadísticamente para pruebas de significancia de las diferencias en la concentración de Metformina/Glibenclamida en plasma y en los parámetros de AUC, $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{m\acute{a}x}$. Los resultados permitieron cuantificar y verificar los criterios de Bioequivalencia dada la inclusión en el rango entre 80% y 125% de la razón entre los promedios geométricos T/R [%Ref], con 90% de nivel de confianza: Metformina: \ln AUC (102,23%Ref) [85,63% - 122,04%] y \ln $C_{m\acute{a}x}$ (101,64%Ref) [87,54% - 118,0%]. Glibenclamida: \ln AUC (111,0%Ref) [92,95% - 132,55%] y \ln $C_{m\acute{a}x}$ (92,98%Ref) [81,61% - 105,93%]. Y para la diferencia de los promedios logarítmicos: Metformina: [\ln (AUC-A) - \ln (AUC-B)]: (0,83 - 1,17) y [\ln ($C_{m\acute{a}x}$ -A) - \ln ($C_{m\acute{a}x}$ -B)]: (0,85 - 1,14), tal como se presentan en el aparte de resultados de este estudio. Glibenclamida: [\ln (AUC-A) - \ln (AUC-B)]: (0,76 - 1,07) y [\ln ($C_{m\acute{a}x}$ -A) - \ln ($C_{m\acute{a}x}$ -B)]: (0,95 - 1,23). $T_{m\acute{a}x}$ para Metformina en el producto A fue 1,5 horas y en B de 3,0 horas. Para Glibenclamida en ambos productos fue de 4 horas.

Conclusiones:

Los análisis realizados son concordantes con los requerimientos que demuestran la Equivalencia Farmacéutica entre los productos y la Biodisponibilidad y Bioequivalencia Promedio (Average Bioequivalence) para los componentes activos en los productos comparados por la ausencia de diferencias significativas entre los valores promedio de las variables farmacocinéticas AUC y $C_{m\acute{a}x}$, en el intervalo de confianza de 90%.

PALABRAS CLAVE: Metformina/Glibenclamida, Biodisponibilidad, Bioequivalencia.

Piedad Restrepo Valencia¹
Milena Pérez Guzmán²
Eduar D. Echeverri García³
Gloria Ramírez Correa⁴
Mauricio Pérez Flórez⁵

¹ Q.F., MSc. Directora del Estudio Investigadora Asociada CIDEIM piedadrestrepo11@une.net.co

² Q.F. Asistente de Investigación CIDEIM milena_perez@cideim.org.co

³ MD. Coordinador Clínico Unidad de Estudios Biofarmacéuticos CIDEIM eecheverri@cideim.org.co

⁴ Q.F. Asistente de Investigación CIDEIM gloriarshirley_ramirez@cideim.org.co

⁵ Estadístico Unidad de Epidemiología y Bioestadística CIDEIM mauricioperez@cideim.org.co

SUMMARY

Background

This *in vivo* study was designed to statistically demonstrate differences between the serum concentrations of Metformin and Glibenclamide (Glyburide) in time, comparing 500 mg / 5 mg Tablet formulation of "Metformin / Glibenclamide MK®" generic drug test product (T) and "Glucovance®", reference product (R). The comparison was based on pharmacokinetic variables: C_{max} , T_{max} , and AUC, for each drug, after single dose administration under fasting conditions in healthy subjects. Therefore, the design of a randomized, two sequence and cross-over study with a wash-out period of seven days was used. Single doses of 1000 mg of Metformin and 10 mg of Glibenclamide were orally administered to 19 healthy volunteers between 18 and 33 years old, in two treatment periods.

Methods

The products under study were checked for quality control compliance with physicochemical parameters to determine their Pharmaceutical Equivalence. The experimental design was a randomized, two sequence and cross-over study with a wash-out period of seven days. 19 healthy volunteers, between 18 and 33 years old, who met the inclusion criteria and signed a written consent, participated. The subjects received each product in doses of 1000 mg Metformin and 10 mg Glyburide, with 240 mL of 20% of glucose in water, randomly assigned as A or B, for sequence, treatment and period. Each period, 14 blood samples of 10 mL were extracted and subject to plasma separation and Metformin/Glibenclamide concentration was quantified by liquid chromatography HPLC-UV, with standard addition, validated in the Biopharmaceutical Studies Laboratory from CIDEIM. With the results, pharmacokinetic parameters such as area under the curve (AUC), maximum plasma concentration (C_{max}) and time to maximum plasma concentration (T_{max}) were calculated and compared for each active pharmaceutical ingredient.

Results

Physicochemical tests proved no difference between the product samples so Pharmaceutical Equivalence can be established. Biological samples results were statistically analyzed for significance tests between the difference in plasma Metformin / Glibenclamide concentrations and in AUC, C_{max} , T_{max} parameters. Results allowed to quantify and check Bioequivalence criteria because the geometric means T/R ratio [%Ref] were in the 80% - 125% range, with a 90% confidence level and the average logarithmic difference between 0,8 and 1,25 with 90 % confidence level, and 5% significance Bioequivalence was established in: Metformin: \ln AUC (102,23%Ref) [85,63% - 122,04%] y $\ln C_{max}$ (101,64%Ref) [87,54% - 118,0%]. Glibenclamide: \ln AUC (111,0 %Ref) [92,95% - 132,55%] y $\ln C_{max}$ (92,98%Ref) [81,61% - 105,93%]. The Bioequivalence was demonstrated for the difference between logarithmic mean of Test and Reference product ($\log T - \log R$) between 0.80 and 1.25 in intervals limited by Metformin: [$\ln (AUC-A) - \ln (AUC-B)$]: (0,83 - 1,17) y [$\ln (C_{max}-A) - \ln (C_{max}-B)$]: (0,85 - 1,14). Glibenclamide: [$\ln (AUC-A) - \ln (AUC-B)$]: (0,76 - 1,07) y [$\ln (C_{max}-A) - \ln (C_{max}-B)$]: (0,95 - 1,23). Metformin T_{max} for A drug was 1,5 h and B drug was 3,0 h. T_{max} in Glibenclamide T_{max} in both samples was the same: 4,0 h.

Conclusions

The results of the study allowed to establish Pharmaceutical Equivalence and Bioequivalence of the products compared and their therapeutic equivalence and interchangeability, by the properties within the limits of acceptance for the physicochemical parameters and dissolution rate and the absence of significant differences between the mean values from pharmacokinetic variables AUC and C_{max} , in the confidence interval of 90%.

Key words: Metformin, Glibenclamide, bioavailability, bioequivalence.

INTRODUCCIÓN

El propósito fue realizar un estudio de Bioequivalencia entre los productos con Metformina 500 mg + Glibenclamida 5 mg, ejecutado según el contrato interinstitucional entre CIDEIM - Tecnológicas S.A y la Universidad ICESI (2009-03-13) y lo planeado de acuerdo con el protocolo aprobado por el Comité Institucional de Ética para Investigación en Humanos (CIEIH) [2009-08-03, Acta 0906, actualizada a 2010-03-16]^a. La comparación entre los productos hace referencia a los parámetros farmacocinéticos de concentración de cada principio activo y la cantidad absorbida durante el periodo de observación. La aplicabilidad de los resultados en las propiedades farmacodinámicas y clínicas requieren consolidar los objetivos de prescripción y la ampliación de los criterios de interacción entre la enfermedad y el tratamiento con este tipo de medicamentos, incluyendo los relacionados con farmacogenética y farmacogenómica como otros condicionantes de eficacia, actualmente en amplia discusión. Los principios activos que componen los productos en ensayo se diferencian, desde el punto de vista biofarmacéutico, en el mecanismo de acción y en la potencia farmacológica para disminuir los niveles sanguíneos de glicemia. La Metformina es altamente soluble en agua pero de baja permeabilidad

y tiene un amplio margen terapéutico, mientras que la Glibenclamida es más potente y de baja solubilidad y baja permeabilidad. La asociación de Metformina y Glibenclamida (Código ATC: A10BD02 Metformina y Sulfonamida - Combinaciones de Fármacos que bajan la Glucosa sanguínea)¹ está aprobada en Colombia según las normas farmacológicas y el código correspondiente a: 8.2.3.0.N20². Ambas sustancias han sido ampliamente registradas y utilizadas como antihiperlipemiantes orales en América y Europa desde la década de los 50 (en Estados Unidos en 1995 se aprobó la Metformina sola o en combinación con sulfonilureas)³. Amplia bibliografía describe las propiedades farmacológicas, dosis, vía de administración y margen terapéutico para ambas sustancias. Los productos combinados de Metformina + Glibenclamida presentan acción sinérgica en el control de la glicemia y por ello están indicados en asociación para el manejo terapéutico de pacientes con diabetes tipo 2, para quienes los cambios en la dieta y calidad de vida no logran disminuir los niveles plasmáticos de glucosa a los rangos deseados.

a El presente estudio se acoge a las normas técnicas, administrativas y de ética para realizar investigación biomédica en Colombia, Resolución 8430 de 1993 y Resolución 2378 de 2008. Así también, a los principios éticos estipulados en la Declaración de Helsinki, última revisión de octubre de 2008

La Metformina tiene una denominación química: N,N-dimetil-imido-dicarbonimidico-diamida, es un polvo cristalino blanco, de fórmula y peso molecular: $C_4H_{11}N_5$, 129,16 g/mol, fácilmente soluble en agua y prácticamente insoluble en éter y cloroformo. El pKa de la Metformina es 12,4. El pH de la solución acuosa al 1% es 6,68^{4,5}. La solubilidad en agua es alta en el rango de pH 1,0 a 6,8 a 37°C. La permeabilidad en el tracto gastrointestinal es baja, por lo cual la clasificación biofarmacéutica (BCS) es Tipo 3. Coeficiente de partición Octanol/Agua como log $P_{o/w}$: -2,640⁶. La Metformina disminuye la producción de glucosa en el hígado y aumenta la acción de la insulina en el músculo y tejido adiposo. Estas acciones son mediadas por la proteincinasa activada por AMP (AMP cinasa). En consecuencia se disminuye la producción de glucosa hepática, la absorción intestinal de glucosa y mejora la sensibilidad periférica a la captación y utilización de glucosa.

Está contraindicada en pacientes con enfermedad renal, shock o colapso cardiovascular, infarto agudo de miocardio, insuficiencia cardíaca, septicemia, hipersensibilidad a Metformina, acidosis metabólica crónica o aguda (incluye cetoacidosis diabética que debe ser tratada con insulina). Debe discontinuarse en pacientes que van a someterse a estudios radiológicos con medios de contraste yodados puesto que puede precipitar una disfunción renal y no pueden realizarse procedimientos quirúrgicos durante su uso. Está contraindicada en mayores de 80 años, a menos que la función renal muestre indicadores de función renal óptima. Debe evitarse el consumo simultáneo de alcohol. No puede administrarse ningún medio de contraste diagnóstico simultáneamente.

La Glibenclamida^{7,8,9} es un hipoglicemiante del grupo químico de las sulfonilureas. Su nombre químico es: 5-cloro-N-[2-[4-ciclohexilcarbamoilsulfamoil) fenil]etil]-2-metoxibenzamida. Es un polvo blanco cristalino, con la fórmula molecular: $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$. Peso molecular: 494,01g/mol. La solubilidad de la Glibenclamida es baja (4mg/L) y la permeabilidad es baja con una clasificación biofarmacéutica (BCS) tipo 2. Coeficiente de partición Octanol/Agua como log $P_{o/w}$: 4,79010. El código identificador ATC corresponde a A10BB01. Las sulfonilúreas han sido aprobadas como hipoglicemiantes desde los años 40 y utilizadas en la clínica desde una década más tarde. La Glibenclamida estimula el páncreas para la liberación de insulina, por lo que depende del funcionamiento de las células β en los islotes pancreáticos. También disminuye la depuración de la insulina en el hígado, estimula la liberación de somatostatina y disminuye levemente la secreción de glucagón. Para su acción se une a los receptores SUR1 bloqueando los conductos de potasio sensibles a ATP, disminuye la conductancia a este catión y facilita la entrada de calcio a la célula, durante la despolarización responsable de la secreción de insulina y otros. Está contraindicada en diabetes Tipo I,

embarazo, lactancia, hipersensibilidad al medicamento y en cetoacidosis diabética con o sin coma. Debe administrarse cuidadosamente en personas con insuficiencia hepática o renal. No debe administrarse a pacientes con historia de alergia a sulfonamidas u otro medicamento colorante o preservante.

Algunas normas que regulan la valoración de la disponibilidad fisiológica o perfil de concentración sanguínea en productos combinados o asociaciones, aceptan como indicador para Biodisponibilidad y Bioequivalencia la valoración de uno de los 2 fármacos¹¹. Otras prescriben que las condiciones de Bioequivalencia deben ser analizadas con cada principio activo por separado en cuanto a las concentraciones en sangre y el tiempo para alcanzarlas¹². Este estudio de Bioequivalencia se basó en el marco legal en Colombia para la aprobación de Bioequivalencia de productos genéricos frente a la referencia en el mercado, que incluyen la producción con Buenas Prácticas de Manufactura. Entre las Normas se citan las siguientes: Política Farmacéutica Nacional, 2003; Decreto 709 de 1992, Ley 100 de 1993 y Decreto 677 de 1995¹³.

De la revisión de las propiedades farmacológicas que aparecen descritas en el protocolo del estudio se extraen las siguientes: Metformina se absorbe principalmente en el intestino delgado. La Biodisponibilidad oral es de 52± 1% (40% - 55%). No se une significativamente a proteínas del plasma. La excreción urinaria sin modificaciones es de 99,9 ± 0,5% (79% - 100%). La depuración es de 7,62 ± 0,30 mL/min. kg (6,3 - 10,1 mL/min. Kg). El volumen de distribución es cercano a 1,12± 0,08 l/kg (0,9 - 3,94 l/kg). La semivida ($t_{1/2}$) se encuentra en 1,74 ± 0,20 horas (1,5 - 4,5 horas). El tiempo promedio para alcanzar la concentración máxima después de una dosis oral de 500 mg es de 1,9 ± 0,04 horas (1,5 - 3,5 horas). La concentración máxima es de 1,6 ± 0,2 µg/mL (1,0 a 3,1 µg/mL, para dosis únicas de 0,5 a 1500 mg).

Glibenclamida: Los alimentos disminuyen su absorción; algunos estudios recomiendan ingerirla media hora antes de las comidas, otros con el primer alimento. Se espera que la Biodisponibilidad sea superior al 50% (64% - 90%). En el plasma puede unirse al 99,8% (90% a 99%) a la albúmina. El volumen de distribución es cercano a 0,20 ± 0,11 l/Kg. La semivida ($t_{1/2}$) se encuentra en 4,0±1,0 horas (6,0 - 10,0 horas) pero se presenta una fase terminal de 15 horas que refleja redistribución a los tejidos. La depuración es de 1,3 ± 0,5 mL/min. Kg. Después de 5,0 mg por vía oral se espera $C_{m\acute{a}x}$ de 104 ng/mL en 2 a 4 horas. Se metaboliza en el hígado a 4-transhidroxiderivados y 3-cishidroxiderivados con actividad insignificante; ambos metabolitos se eliminan en bilis y orina.

El fundamento del presente estudio comparativo fue la valoración de Metformina y Glibenclamida en las muestras de plasma de los voluntarios. En el proceso analítico les fue adicionada a las muestras de plasma una cantidad exacta de 0,05 µg de sustancia estándar de

Metformina y de Glibenclamida, valoradas en su potencia, con el fin de garantizar la capacidad de respuesta, el grado de linealidad, la exactitud, la precisión y la sensibilidad del sistema y del método analítico, en el rango de concentración en las condiciones establecidas durante la validación del mismo^b. De esta manera, todas las muestras quedaron afectadas en la misma cantidad de estándar adicionado. El anterior procedimiento fue indispensable para analizar las muestras de los voluntarios por el método bioanalítico validado en presencia de bajas concentraciones, que hacían necesario enriquecer la muestra para certificar la sensibilidad de la prueba en cuanto a límites de detección y cuantificación de cada analito dentro del rango y de los parámetros estadísticos validados para selectividad, linealidad, precisión y exactitud. Ello también explica la presentación de resultados positivos para Metformina y Glibenclamida en las muestras obtenidas antes de la ingestión de cada producto (muestra -1)^{14,15}.

El ensayo *in vivo* se realizó en 19 voluntarios adultos sanos, incluidos tras firmar el Consentimiento Informado y según los criterios previstos en el protocolo, con exámenes médicos y pruebas de laboratorio para descartar antecedentes en el voluntario, y/o en familiares de primer grado de consanguinidad de: disfunción tiroidea, renal, hepática, de glicemia y hematológicas. Se comprobó el peso en el rango recomendado para el género, edad y talla (peso $\pm 15\%$ del peso ideal, en el rango recomendado - índice de Masa Corporal entre 20 y 29 kg/m²). Se indagó por alergia conocida a la Metformina y/o Glibenclamida, a componentes del medicamento o a otro tipo de medicamentos, trastornos metabólicos, infarto cardíaco o enfermedad cardiovascular, aneurisma o anemia.

A cada voluntario se le administró una dosis única por vía oral de 1000 mg de Metformina y 10 mg de Glibenclamida de cada producto asignado al azar, en dos periodos separados entre sí por un intervalo de siete días, y se le extrajeron 14 muestras de plasma en un lapso de 14 horas.

Se realizó revisión médica a 79 sujetos voluntarios sanos, con capacidad para consentir voluntariamente su participación, de los cuales 3 fueron incluidos en el estudio piloto para definir criterios de validación del método bioanalítico y 24 se seleccionaron para el estudio completo. El diseño experimental aplicado redujo la variabilidad dentro y entre los sujetos, porque se administraron ambas formulaciones a cada uno de los voluntarios en diferentes periodos.

^b Expert Working Group (Quality) of the International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) and Food and Drug Administration: Guidance for Industry Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology. This guidance represents the Agency's current thinking on the validation of analytical procedures (1996)

El Protocolo y los Procedimientos Operativos Estandarizados se acogieron en todo momento a la versión vigente de la Declaración de Helsinki, última revisión de octubre de 2008¹⁶; las Guías actualizadas de la Organización Mundial de la Salud que se compendian en "International Ethical Guidelines for Biomedical Research Involving Human Subjects issued by the Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS)" y, en Colombia, a la Resolución del Ministerio de Salud 008430 de 1993 en los Artículos 11, 53, 54, 55, 57 y 61 y a la Resolución 2378 de 2008^{17,18,19}.

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas, CIDEIM, con la cooperación de la Clínica Sebastián de Belalcázar y la Fundación Valle del Lili para la fase de muestreo clínico. Estas entidades están ubicadas en la ciudad de Cali, Colombia.

MÉTODOS Y MATERIALES

Voluntarios

Los voluntarios fueron convocados a través de comunicación telefónica y escrita, dando prioridad a los voluntarios de estudios de investigación similares con el fin de asegurar la comprensión de los procedimientos a realizar y de las restricciones para su participación, además de no mostrar antecedentes de abuso de drogas ni alcohol, que no hubiesen ingerido medicamentos de prescripción en los últimos cuatro meses ni de venta libre en los 10 días previos a la fase clínica del estudio y que aceptaran tener restricción de ejercicio de alto rendimiento y de consumo de alcohol en los últimos 10 días previos a la prueba. En la selección de sujetos se aplicó el procedimiento estandarizado sobre selección de voluntarios para Estudios de Biodisponibilidad y Bioequivalencia de CIDEIM (SOP10016).

El médico coordinador de la fase clínica del estudio entrevistó individualmente a cada sujeto y lo instruyó sobre el propósito del estudio y el contenido del Consentimiento Informado (CI) para asegurar la participación voluntaria en el mismo. A todos los sujetos les fue entregada una copia del consentimiento firmado y firmado por ellos y los investigadores.

En la convocatoria inicial se tamizaron 107 jóvenes y se verificaron en ellos los requisitos mínimos para ser incluidos en el estudio. De ellos, 79 fueron revisados por el médico. Tres voluntarios con edades de 19, 21 y 23 años fueron elegidos para el estudio piloto, veinticuatro (24) voluntarios con edades entre 18 y 33 años fueron asignados aleatoriamente a los periodos de muestreo para el estudio completo. De ellos 5 desistieron voluntariamente de participar. 19 voluntarios participaron finalmente en el estudio completo.

Fueron excluidos del estudio, de manera específica, quienes tuvieran menos de 18 o más de 35 años de edad, sufrieran reacciones alérgicas a medicamentos u otros; padecieran de alteraciones de la glándula tiroidea o del

sistema cardiovascular y sanguíneo y/o de enfermedades como diabetes, estados convulsivos, hipertensión, epilepsia, enfermedad renal, enfermedad hepática, enfermedad respiratoria. Los que hubieran consumido algún medicamento de venta libre en los últimos 10 días (como aspirina, ibuprofeno, vitaminas, productos naturales y productos homeopáticos, entre otros), a quienes les hubieran prescrito tratamiento médico con medicamentos en los últimos cuatro meses, los que fueran incapaces de dejar de ingerir bebidas alcohólicas durante 10 días, de fumar durante 2 días o de realizar ejercicio de alto rendimiento durante 10 días. Los resultados de la aplicación del formato de inclusión se anexaron al informe final del estudio.

Los datos demográficos muestran los promedios (\pm SD) de: edad de 24,9 años \pm 5,0 [22,5, 27,3 28,3], peso 73,8 kg \pm 9,3 [67,7, 76,7], talla 1,7m \pm 0,05 unidades [1,68 - 1,74] e Índice de Masa Corporal de 24,6 kg/m² \pm 3,1 [26,1 - 23,1].

En la Tabla 1 se describen los datos demográficos de los voluntarios participantes en el estudio de productos con Metformina/Glibenclamida y la secuencia de tratamiento asignada al azar.

TABLA 1. Descripción Demográfica de los Voluntarios

Voluntario Número	Código	Edad (años)	Peso* (kg)	Talla (m)	IMC ^a (kg/m ²)
1	HAGP-1	32	82,0	1,70	28,4
2	JEPR-2	29	76,0	1,70	26,3
3	AJRL-3	19	60,0	1,68	21,3
4	RRG-4	32	84,0	1,73	28,1
5	SJRQ-5				
6	ROG-6	25	63,0	1,70	21,8
7	JJA-7	23	70,0	1,75	22,9
8	GDVL-8	23	77,0	1,66	27,9
9	JLB-9	30	81,0	1,78	25,6
10	AMC-10	22	75,0	1,83	22,4
11	OEBB-11	29	65,0	1,68	23,0
12	JDOR-12	22	57,0	1,68	20,2
13	LFGA-13				
14	WH-14				
15	SCR-15				
16	LHJ-16	33	80,0	1,74	26,4
17	EAPT-17	20	70,0	1,73	23,4
18	APA-18	25	59,0	1,70	20,4
19	VASC-19	24	84,0	1,77	26,8
20	GCR-20				

21	MAMS-21	29	81,0	1,66	29,4
22	JESL-22	19	80,0	1,68	28,3
23	RIV-23	18	60,0	1,59	23,7
24	SAVP-24	19	68,0	1,82	20,5
P ^b	JSVP -1	23	72,0	1,66	26,1
P	AFVC-2	21	68,0	1,78	21,5
P	JDCC-3	19	66,0	1,77	21,1

b. Participante en el estudio piloto

a. IMC: Índice de Masa Corporal

Resaltados, los códigos de los voluntarios que desistieron.

* Observación; para la consideración de “peso normal” se complementó la información del IMC con el criterio sobre límites de normalidad para el rango comprendido entre \pm 15% del límite superior e inferior del peso ideal, para la talla y género.

Reactivos y equipos

Los equipos críticos y materiales aplicados al desarrollo y validación del método fueron: Balanza Analítica marca Ohaus serie Adventurer; Balanza Electrónica Adventurer SL AS3101. Agitador Vortex marca Fisher Scientific; Agitador Magnético Multistation marca IKA; Purificador de Agua marca Simplicity Millipore; pH metro WTW Inolab 740; Cabina Extractora de Gases y Humos C4 Control de Contaminación Ltda.; Congelador -80°C marca Revco; Microcentrífuga Eppendorf 5415D; Estándares Secundarios de Glibenclamida, Lote MPN-05905200623-S, potencia 99,7%; Estándar Secundario de Metformina, Lote 1022639R1-S, potencia 99,4%; Acetonitrilo, Metanol grado HPLC, Dodecil sulfato de sodio, Fosfato de sodio dibásico; Agua grado HPLC; Plasma Humano libre de Glibenclamida y/o Metformina. Las muestras de plasma se conservaron a -80°C en viales de polipropileno de 2 mL y descongelaron a temperatura ambiente para su valoración. Antes de aplicar las muestras a los ensayos fueron verificadas las especificaciones de los sistemas y equipos de acuerdo con registros que demostraran el comportamiento satisfactorio de cada uno.

Los datos individuales de áreas y concentración de Metformina y Glibenclamida fueron corregidos por el valor del área inicial o señal cromatográfica basal (muestra 1) obtenida en el voluntario correspondiente y por la potencia del estándar adicionado. En ningún caso se sustrajo el valor del estándar adicionado porque se arriesgaba afectar el rango de concentración en el cual el método demostró ser lineal, exacto y reproducible.

PROTOCOLO DEL ESTUDIO

Productos y Equivalencia Farmacéutica

El laboratorio especializado de análisis de la Universidad de Antioquia en Medellín verificó el cumplimiento de los parámetros farmacopeicos vigentes (USP) y las especificaciones declaradas por el ▶

fabricante de Metformina y Glibenclamida MK[®], en una muestra de los productos a comparar.

Método bioanalítico

En el laboratorio de estudios biofarmacéuticos, ubicado en las instalaciones de CIDEIM (Carrera 125 No 19 - 225 Vía a Pance, Cali, Colombia), se desarrolló y validó el método analítico para valorar las muestras en plasma sanguíneo.

El método constó de: adición estándar, técnica de cromatografía líquida de alta eficiencia con detector UV y arreglo de diodos, precipitación de proteínas con acetonitrilo, columnas para fase reversa; la fase móvil consistió de una mezcla de Buffer fosfato de potasio PH 7,5 y acetonitrilo en proporción 80:20 %v/v.

Estas condiciones demostraron validez estadística para exactitud, precisión, reproducibilidad y límite de cuantificación. En ello se aplicaron criterios físicos y químicos identificados en la bibliografía consultada para determinar y cuantificar estas moléculas en plasma sanguíneo^{20,21,22,23}. Las condiciones cromatográficas se definieron para: flujo de 1,0 mL/min, temperatura de columna de 40°C, con lecturas en Longitud de onda de 226 nm y volumen de inyección de 10 µL. El sistema analítico fue un HPLC Lachrom Ultra LCU HITACHI con Columna: Chromolith Performance RP-18e 100-4,6 mm, 2 µm, con detector UV y arreglo de diodos.

Se prepararon muestras en plasma sanguíneo a partir de estándares analíticos valorados de Metformina y Glibenclamida. Este plasma humano es obtenido de un banco de reserva adquirido de donantes adultos sanos, convocados e incluidos en un proceso diferente a los realizados para este estudio. De esta manera se prepararon muestras de ocho concentraciones de Metformina en concentraciones diferentes de: 0,25, 0,50; 0,75; 1,0; 1,25; 1,50; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 20,0 y 30,0 µg/mL. Para Glibenclamida, en concentraciones de 0,25; 0,50; 0,75; 1,0, 1,25; 1,50; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 8,0; 10,0; 20,0 y 30,0 µg/mL.

De cada concentración se prepararon 5 muestras independientes y se hicieron determinaciones por triplicado de cada una.

Las muestras preparadas con estándar analítico valorado en su potencia para Metformina y Glibenclamida se sometieron a ensayos de representación estadística para la valoración de los parámetros clásicos de sensibilidad, exactitud, precisión, robustez y linealidad, así como a la valoración de estabilidad de las muestras en el tiempo bajo condiciones de almacenamiento definidas, según las guías que se prescriben al respecto²⁴. Los criterios estadísticos se aplicaron para desviación estándar, líneas de tendencia, factor de correlación y coeficientes de variación; estos fueron calculados con la aplicación del Programa Estadístico: Statgraphics[®] Plus for Windows 4.1 Professional Version. Copyright 1994 -1999 by Statistical Graphics Corp.

En resumen, los parámetros instrumentales estandarizados fueron:

PARÁMETROS	CONDICIÓN
Modo de elución	Isocrático
Flujo de fase móvil	1,0 mL/min
Volumen de Inyección	10 µL
Longitud de onda de detección	226 nm
Columna	Columna Chromolith [®] Performance RP-18e, 100 - 4,6 mm
Temperatura de la columna	40 °C
Temperatura del automuestreador	10 °C
Modo de cuantificación	Estándar Interno
Modo de cualificación	Tiempo de retención
Modo de calibración	Curva de calibración
Unidades de concentración	µg/mL
Tiempo de Retención del estándar Interno (Metilparabeno)	2,0 minutos
Tiempo de Retención del analito (Metformina/Glibenclamida)	7,5 minutos
Tiempo de análisis	12 minutos

Diseño experimental y conducción del estudio

El diseño experimental se basó en la administración cruzada de los dos medicamentos a cada voluntario en dos periodos diferentes, en el orden de la asignación aleatoria a sujetos voluntarios sanos, de los productos codificados como A o B, teniendo en cuenta para su administración: dos tratamientos, dos periodos, dos secuencias, dosis única y cruzado. Se administraron dos tabletas de 500/5 mg de Metformina / Glibenclamida de ambas formulaciones, con un intervalo entre los periodos de siete días. Este diseño disminuye la variabilidad en factores que no se deben a las diferencias entre las formulaciones comparadas. Los datos para el análisis en la determinación de Bioequivalencia fueron los resultados de las valoraciones de Metformina y Glibenclamida en el plasma de 14 muestras extraídas durante 14 horas continuas, en cada periodo de muestreo. El tiempo de muestreo previó la desintegración, disolución y absorción del principio activo desde cada producto y posibilitó la máxima absorción.

De acuerdo con el diseño experimental descrito, todos los datos de los 19 sujetos se incluyeron en el análisis estadístico, con un nivel de significancia de 5% y un intervalo de confianza de 90% alrededor de la razón entre los promedios geométricos T/R, dentro de los límites de Bioequivalencia de 80-125% para los datos con transformación logarítmica. Los análisis

estadísticos se basaron en las diferencias de los promedios logarítmicos ($\log T - \log R$), calculados de datos directos y transformados logarítmicamente en el rango de 0,80 a 1,25, aplicados a los parámetros de Área bajo la curva (AUC) y Concentración Máxima alcanzada o concentración pico de Metformina y Glibenclamida ($C_{m\acute{a}x}$), para cada producto.

Análisis estadístico

Los parámetros críticos para comparar los productos en términos de concentración (ng/mL) en el tiempo (h): AUC, $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{m\acute{a}x}$, fueron analizados por la Unidad de Epidemiología y Bioestadística de CIDEIM, donde se emplearon diferentes pruebas estadísticas aplicando el programa SPSS® Version 7.5 para Windows, Chicago Inc. 1996. En el análisis de los 8 datos también se aplicaron otros programas como PK Solutions Pharmacokinetics Noncompartmental Data Analysis, Summit Research Services® y Winnonlin Noncompartmental Analysis Program Version 5.3®.

Los valores antilogarítmicos de los límites de confianza constituyeron el intervalo de 90% para la razón de las medias geométricas entre los productos A y B, con aceptación de un intervalo de confianza de mínimo 80% y no más de 125%, mediante la aplicación de dos Test de Hipótesis Unilaterales, definidas como:

1. H_0 : Diferencia entre los promedios logarítmicos de Test y Referencia ($\log T - \log R$) menor a $\log 0,8$ versus H_a : Diferencia entre los promedios logarítmicos de Test y Referencia ($\log T - \log R$) mayor o igual a $\log 0,8$.

2. H_0 : Diferencia entre los promedios logarítmicos de Test y Referencia ($\log T - \log R$) mayor a $\log 1,25$ versus H_a : Diferencia entre los promedios logarítmicos de Test y Referencia ($\log T - \log R$) menor o igual a $\log 1,25$.

Las pruebas se aplicaron para rechazar las hipótesis nulas con el fin de establecer la Bioequivalencia entre los productos A y B.

RESULTADOS

Ensayo de Disolución y Equivalencia Farmacéutica

En la Tabla 2 se resumen los criterios o atributos valorados en cada muestra de producto, tal como constan en los informes del Laboratorio Especializado de Análisis de la Universidad de Antioquia, Medellín.

Tabla 2. Resultados de la Evaluación Fisicoquímica de las muestras de los productos.

ATRIBUTO	Metformina/ Glibenclamida MK® Tabletas 500mg/5	Glucovance® (Metformina/ Glibenclamida) Tabletas 500mg/5
Fecha de análisis	09-09-23	09-09-27
Peso promedio (g)	0,66358	0,62041
Valoración de Metformina Método HPLC Límites: no menos de 90% ni más de 110%	Metformina clorhidrato 501,0 mg 100,2% de la cantidad declarada	Metformina clorhidrato 512,0 mg 102,4% de la cantidad declarada
Valoración de Glibenclamida MK® Método HPLC Límites: no menos de 90% ni más de 110%	Glibenclamida 5,34 mg 106,7% de la cantidad declarada.	Glibenclamida 5,8 mg 101,5% de la cantidad declarada.
Uniformidad de dosis (%) Límite: Valor de aceptación \leq de 15%	Metformina clorhidrato Promedio: 100,1% S: 1,0 Valor: 2,5% Glibenclamida Promedio: 108,0% S: 3,2 Valor: 14,2%	Metformina clorhidrato Promedio: 102,2% S: 0,8 Valor: 2,6% Glibenclamida Promedio: 102,2% S: 1,2 Valor: 3,6%
Prueba de Disolución (HPLC) S1: % principio activo disuelto Límite: En seis unidades (6) ninguna unidad debe ser menor del 85% de la cantidad declarada del principio activo		
Metformina clorhidrato Medio: Buffer Fosfato de potasio 0,05 M pH: 6,8; 1000 mL a 37°C Aparato: 2,50 rpm Tiempo: 30 min Tolerancia: (Q) 85%	S1: 100,102,101,94,100,96	S1: 92,95,95,99,99,99
Glibenclamida Medio: Ácido bórico 0,05 M y Cloruro de Potasio 0,05 M; 500 mL a 37°C Aparato: 2,75 rpm Tiempo: 30 min Tolerancia(Q): 85%	S1: 103,104,104,101,103,98	S1: 98,96,98,97,99,97

Las muestras de los productos cumplieron las especificaciones definidas para los ensayos físicos, químicos, pruebas de disolución y demás análisis realizados. Por lo tanto, al comparar los resultados y el cumplimiento de las especificaciones de calidad se declara la Equivalencia Farmacéutica entre ambos productos.

Validación del método de análisis de las muestras de plasma

Los procedimientos para el desarrollo y la validación del método con el cual se valoraron las muestras de plasma de los voluntarios, permitieron la verificación y el análisis de significancia para el cumplimiento de los parámetros indicados en la consideración de validación satisfactoria.

Los resultados de la validación estadística del Método Bioanalítico se describen en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la Validación del Método Bioanalítico.

Ensayo	Criterio de Aceptación	Resultado	Decisión
Linealidad-Sistema	$R^2 \geq 0.80$	Metformina R2 = 0,9989 Glibenclamida R2 = 0,9975 p < 0,01	Aceptado
Precisión-Sistema	CV < 15%	Metformina CV = 0,68 % Glibenclamida CV = 0,78 %	Aceptado
Precisión-Método	CV < 15%	Metformina: CV = 1,81 % Glibenclamida: CV = 2,77 %	Aceptado
Exactitud-Método	Desviación <30% respecto de la media	Promedio de la desviación respecto de la media Metformina: 13,86% Glibenclamida: 1,03% p<0,05	Aceptado
Linealidad-Método	$R^2 \geq 0.80$	Metformina: r2: 0,9989 Glibenclamida: r2: 0,9968 p < 0,01	Aceptado
Especificidad	No presencia de interferencia significativa en las mismas condiciones que para Metformina y Glibenclamida	No señales en el tiempo de retención de Metformina Glibenclamida	Realizar corrección al valor del área de cada muestra con respecto a las señales medidas en la muestra, antes de administrar el medicamento a cada voluntario.
Recuperación		Metformina: 101,10% Glibenclamida: 113,4%	
Límite: Detección		Metformina: 0,06 µg/mL Glibenclamida: 0,24 µg/mL	
Límite:		Metformina:	
Cuantificación		0,13 µg/mL Glibenclamida: 0,42 µg/mL	

Se realizaron los ensayos de estabilidad de los analitos en las muestras de plasma para: congelamiento, descongelamiento, tiempo en el sistema analítico y en etapa preparativa para el análisis. A los resultados se aplicaron las pruebas estadísticas para diferencias significativas (t, p<0,05) con respecto a muestras frescas o recién preparadas. Estas pruebas se identifican como: Short Term: descongelamiento durante cuatro horas, con respecto de las muestras frescas. Long Term: muestras almacenadas a -80°C durante 48 horas, 96 horas, 11 días, 30 días, 60 días y 90 días. Post-Preparativa: muestras mantenidas en el automuestreador durante 24 horas a 10°C. Descongelamiento: muestras sometidas a tres ciclos de congelamiento y descongelamiento. Soluciones stock en muestras

después de permanecer 24 horas a temperatura ambiente y una semana a 4°C en nevera.

De los resultados obtenidos se concluyó que las muestras en plasma de Metformina y Glibenclamida deben ser descongeladas a temperatura ambiente y analizadas antes de un mes de su conservación a -80 °C. Las muestras no deben ser sometidas a ciclos de congelamiento y descongelamiento.

Por lo anterior, el método analítico para la valoración de Metformina y Glibenclamida en plasma humano cumplió con los parámetros que validan los resultados analizados en este informe. Su validez fue demostrada con base en los criterios de linealidad, especificidad, precisión y exactitud, bajo las condiciones analíticas declaradas en el Procedimiento Operativo Estandarizado, identificado como SOP10128-01, CIDEIM.

Evaluación de Biodisponibilidad (BD) y Bioequivalencia (BE)^c

Los voluntarios aceptaron por escrito participar en el estudio, recibir las dosis de los medicamentos con Metformina y Glibenclamida y donar sangre de la siguiente manera: para el estudio piloto 130 mL de sangre (10 mL para pruebas de laboratorio clínico durante los exámenes médicos de inclusión y 120 mL de 12 muestras de 10 mL) y 290 mL para el estudio completo de BE (10 mL para pruebas de laboratorio clínico durante los exámenes médicos de inclusión y 140 mL en 14 muestras de 10 mL, en dos oportunidades diferentes). En el estudio piloto los voluntarios estuvieron hospitalizados en la Clínica Sebastián de Belalcázar, y en el estudio completo estuvieron hospitalizados en la Clínica de la Fundación Valle del Lili. Ambas entidades están ubicadas en la ciudad de Cali y fueron contratadas por CIDEIM para este fin.

A tres voluntarios elegidos para el estudio piloto, luego de un periodo de ayuno de aproximadamente 10 horas, se les extrajo la primera muestra de sangre a través de un catéter antecubital e inmediatamente después se les suministraron 4 tabletas de Glucovance®, de 500 mg/5 mg de Metformina+Glibenclamida (Total 2000 mg de Metformina + 20 mg de Glibenclamida), con un volumen de 240 mL de solución al 20% de glucosa en agua (DAD 20%).

Durante las siguientes dos horas le fueron suministrados 60 mL de la solución azucarada cada 15 minutos. En un cronograma estandarizado se extrajeron en forma consecutiva once muestras más de sangre de la siguiente manera: las primeras seis muestras cada media hora y, a partir de la sexta, una cada hora durante cuatro horas; la última muestra se extrajo después de 14 horas de la administración del producto.

^c El presente estudio se acoge a las normas técnicas, administrativas y de ética para realizar investigación biomédica en Colombia, Resolución 8430 de 1993 y Resolución 2378 de 2008. Así también, a los principios éticos estipulados en la Declaración de Helsinki, última revisión de octubre de 2008

Durante el estudio piloto los voluntarios manifestaron síntomas de náuseas, palpitaciones, mareos y ansiedad, que motivaron la realización de glucometrías, las cuales evidenciaron bajos niveles de glucemia. Se procedió a administrar dosis adicionales de DAD 20% vía oral, practicando glucometrías a intervalos cortos de tiempo, encontrándose que persistían valores bajos aunque sin síntomas. El médico responsable de la fase clínica del estudio tomó la determinación de hospitalizar preventivamente a los voluntarios para monitorizarlos. Durante la hospitalización permanecieron asintomáticos, pero con glicemias subnormales. Se dio manejo médico con suero dextrosado y dieta hipercalórica. Luego de 18 horas de observación se encontraron glucemias consecutivas en valores normales y se procedió a dar de alta a los voluntarios. El Comité de Ética de Investigación en Humanos consideró la situación de eventos adversos serios presentados durante el estudio piloto, reanalizó los riesgos posibles en los voluntarios a participar en el Estudio Completo de Bioequivalencia y solicitó requerimientos modificatorios en el contenido del Protocolo y el Consentimiento Informado. Estos requerimientos se relacionaron con la inclusión de párrafos con explicaciones precisas sobre los riesgos de hipoglucemia y las posibles consecuencias para el voluntario incluyendo el riesgo poco probable de morir y la instrucción sobre la posibilidad de permanecer hospitalizado hasta que se considerara seguro autorizar el retiro de la clínica.

Los resultados analíticos de las muestras de plasma del estudio piloto permitieron verificar el método analítico en cuanto a sensibilidad y especificidad. Así también, el estudio farmacocinético de los mismos indicaron la necesidad de ajustar el Protocolo en lo referente a los tiempos de muestreo u horarios para la toma de muestras en el ensayo clínico de Bioequivalencia, tal que se obtuvieran datos para evaluar la absorción en 15 y 45 minutos. Con base en los eventos adversos de hipoglucemias severas presentados por los tres voluntarios y por la sensibilidad del método analítico, se replanteó la dosis a ser suministrada a los participantes del estudio completo de Bioequivalencia, de modo que se disminuyó a 1000 mg de Metformina y 10 mg de Glibenclamida (dos tabletas de cada producto).

Para el estudio completo de BE, el médico coordinador de la fase clínica procedió a la revisión de cada voluntario, confirmó el ayuno por al menos 10 horas y les recordó las recomendaciones de reposo durante dos horas después de la administración del medicamento, así como la metodología para la toma de las muestras de sangre. Todos los voluntarios fueron alojados en un salón amplio, iluminado, dotado con sillas reclinables y equipo de video, ubicado al lado del área de descanso y servicios para alimentación, higiene y aseo. Cada día de muestreo se cumplieron adecuadamente las condiciones de administración de medicamentos, la

toma de muestras de sangre y el programa de alimentación de tres comidas completas (desayuno, almuerzo y cena), y dos refrigerios (en la mañana y en la tarde). Los voluntarios consumieron agua a voluntad durante su hospitalización, a excepción de una hora antes y dos después de la administración del medicamento.

Después de la primera muestra de sangre y de la administración del medicamento asignado se ejecutó estrictamente el cronograma para la toma de 14 muestras de sangre de 10 mL en los intervalos de horas así descritos: 0,0; 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 1,50; 2,00; 2,50; 3,00; 4,00; 6,00; 8,00; 11,00 y 14,00.

Las muestras de sangre fueron transferidas a tubos heparinizados identificados con número de sujeto, muestra, fecha, código del producto administrado y periodo. Posteriormente, se llevó a cabo la separación del plasma por centrifugación a 10000 r.p.m por 20 min. El plasma obtenido se distribuyó en viales de propileno de 2 mL previamente rotulados de la misma manera que los tubos heparinizados y se conservaron a -70 °C, hasta su traslado al Laboratorio de Estudios Biofarmacéuticos de CIDEIM, donde se almacenaron a temperaturas de -80°C hasta la valoración química correspondiente.

Las muestras de plasma fueron analizadas para su contenido en Metformina y Glibenclamida. Para ello se aplicaron los métodos y procedimientos desarrollados y validados adicionando a cada muestra 100 µL de una solución de 0,5 µg/mL del estándar de cada analito, de acuerdo con el procedimiento identificado en el Sistema de Calidad de CIDEIM como: Determinación de Metformina/Glibenclamida en Plasma Humano por Cromatografía Líquida, empleando el Método de Adición Estándar. Código: E-002-04-2010 SOP10127.

Cada dato de área cromatográfica para valorar la concentración de Metformina y Glibenclamida fue corregido al restarle el valor del área basal o señal cromatográfica inicial (muestra 1) obtenido del voluntario correspondiente y por la potencia del mismo. En ningún caso se sustrajo el valor del estándar adicionado para no afectar el rango de concentración en el cual el método demostró ser lineal, exacto y reproducible.

Los cálculos aplicados para la cuantificación se basaron en la siguiente función:

$$\text{Conc} * \text{Metformina/Glibenclamida (ug /mL)} = \frac{\text{Área Muestra}}{\text{Área Estándar}} \times \text{Conc Estándar}$$

*Conc: Concentración del estándar analítico.

En síntesis, el Método Analítico se fundamentó en la valoración de Metformina y Glibenclamida en plasma humano por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia -HPLC- con detector ultravioleta y arreglo de diodos y la precipitación de proteínas con acetónitrilo. Las condiciones cromatográficas para Metformina y

Glibenclamida fueron: Fase móvil: mezcla de Buffer Fosfato de Potasio pH 7,5 y Acetonitrilo en proporción 80:20 v/v, flujo: 1,0 mL/min, longitud de onda de detección (λ) 226 nm, volumen de inyección: 10 μ L, temperatura de la columna 40°C, temperatura del automuestreador 10°C, columna Chromolith® Performance RP-18e 100-4.6 mm, y en su preparación se adicionó estándar analítico de Metformina y Glibenclamida valorado en su potencia. Modo de cuantificación: Estándar externo. Modo de cualificación: tiempo de retención. Modo de calibración: curva de calibración. Tiempo de retención de Metformina: 7,5 minutos. Tiempo de retención de Glibenclamida: 2 minutos. Estas condiciones demostraron validez estadística para exactitud, precisión, reproducibilidad y límite de cuantificación.

Los datos promedio de concentración plasmática de Metformina y Glibenclamida en el tiempo se muestran en las Tablas 4 y 5 respectivamente. En ellas se describen $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$ y AUC_{0-t} . El Área Bajo la Curva fue calculada por el método de los trapecios y con base en ello se valoraron áreas parciales y bajo el primer momento de la curva (AUMC).

TABLA 4. Concentración y Áreas Bajo la Curva. Metformina. Productos A y B. 19 Voluntarios.

TIEMPO (h)	PRODUCTO A Concentración Promedio (ng/mL)	PRODUCTO B Concentración Promedio (ng/mL)	PRODUCTO A AUC [(ng/mL)h]	PRODUCTO B AUC [(ng/mL)h]
0,00	0,00	0,00		
0,25	356,08	370,30	44,51	46,29
0,50	945,67	910,83	162,72	160,14
0,75	1442,20	1373,56	298,48	285,55
1,00	1514,12	1382,23	369,54	344,47
0,50	1615,81	1430,98	782,48	703,30
2,00	1425,27	1582,86	760,27	753,46
2,50	1484,36	1477,66	727,41	765,13
3,00	1521,53	1613,99	751,47	772,91
4,00	1335,41	1278,31	1428,47	1446,15
6,00	782,18	854,16	2117,59	2132,46
8,00	511,89	473,24	1294,07	1327,40
11,00	250,06	299,15	1142,92	1158,58
14,00	174,43	183,00	636,74	723,22
AUC _{TOTAL}			10516,68	10619,07

Los anteriores resultados están representados de manera gráfica y comparada en la Figura 1 y demuestran el comportamiento similar de ambos productos en cuanto a perfiles plasmáticos.

TABLA 5. Concentración y Áreas Bajo la Curva. Glibenclamida. Productos A y B. 19 Voluntarios.

TIEMPO (h)	PRODUCTO A Concentración Promedio (ng/mL)	PRODUCTO B Concentración Promedio (ng/mL)	PRODUCTO A AUC [(ng/mL)h]	PRODUCTO B AUC [(ng/mL)h]
0,00	0,00	0,00		
0,25	160,36	317,96	20,05	39,74
0,50	234,45	259,72	49,35	72,21
0,75	301,23	315,90	66,96	71,95
1,00	359,67	310,41	82,61	78,29
0,50	487,87	369,34	211,88	169,94
2,00	408,57	454,57	224,11	205,98
2,50	515,15	436,30	230,93	222,72
3,00	590,50	516,86	276,41	238,29
4,00	614,46	568,10	602,48	542,48
6,00	378,75	517,93	993,20	1086,03
8,00	341,29	380,24	720,04	898,17
11,00	212,59	278,53	830,82	988,16
14,00	137,04	241,17	524,44	779,55
AUC _{TOTAL}			4833,28	5393,50

Los anteriores resultados fueron transformados al logaritmo y su representación gráfica, para Metformina y Glibenclamida en los productos A y B, se presenta en las Figuras 1 y 2, respectivamente. Esto demuestra el comportamiento farmacocinético similar de ambos productos para su contenido en el fármaco respectivo.

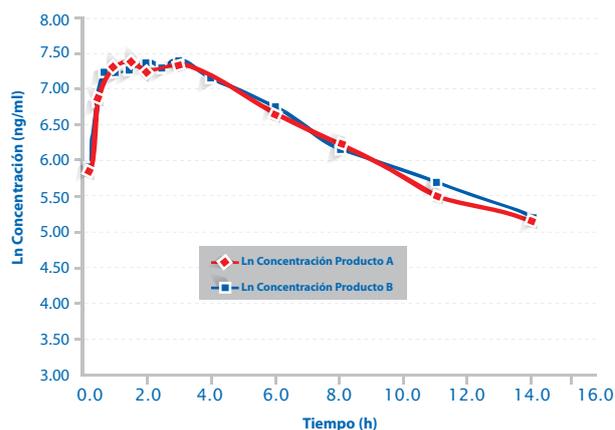


FIGURA 1. Ln concentración promedio (ng/mL) Metformina Producto A y B, 19 voluntarios

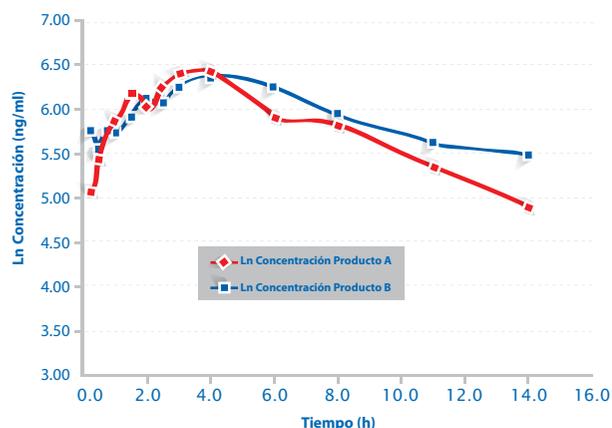


FIGURA 2. Ln concentración promedio (n/mL) Glibenclamida Producto A y B, 19 voluntarios

El cuadro siguiente describe los datos farmacocinéticos proyectados para los productos A y B con respecto a Metformina y Glibenclamida en plasma.

METFORMINA	AUC _(0-t) Observada (hr*ng/mL)	C _{máx} (ng/mL)	T _{máx} (h)	AUMC _(0-t) [ng-h*h/mL]
A	10516,68	1615,81	1,50	48446,19
B	10619,07	1613,99	3,00	50146,93
GLIBENCLAMIDA	AUC _(0-t) Observada (hr*ng/mL)	C _{máx} (ng/mL)	T _{máx} (h)	AUMC _(0-t) [ng-h*h/mL]
A	4833,28	614,46	4,00	27928,42
B	5393,50	568,10	4,00	34152,47

La distribución normal de los datos obtenidos para los parámetros de interés fue analizada mediante las pruebas de Shapiro-Wilk. Las variables transformadas de ln de AUC y ln de C_{máx} demostraron normalidad con un nivel de significancia de 0,05. Para la diferencia de medias [D] se aplicaron ensayos de muestras pareadas, puesto que fueron observaciones sobre un mismo individuo. Con ello se valoraron los intervalos de confianza (IC90%).

La prueba de Wilcoxon Signed Ranks aplicada a la variable independiente tiempo no demostró diferencias estadísticamente significativas entre los dos productos en estudio para el Tiempo de máxima concentración de Metformina (valor p: 0,481),

Glibenclamida en plasma [T_{máx}] (valor p: 0,2276).

DISCUSIÓN

Este estudio de Bioequivalencia se diseñó para comprobar la calidad y verificar el comportamiento *in vivo* de dos productos orales indicados para el manejo de la diabetes. Esta es una condición médica de alto riesgo tiene consecuencias cardiovasculares que comprometen la esperanza y la calidad de vida de las personas que la padecen. Entre las complicaciones microvasculares de la enfermedad, asociadas estrechamente con la hiperglucemia, están la ceguera y la falla renal. El United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) y otros demostraron la disminución del riesgo cardiovascular por el tratamiento con Metformina en pacientes con diabetes tipo 2. De manera especial quedó establecido que el control intensivo de glucosa disminuye las complicaciones microvasculares. Sin embargo, el Estudio ACCORD (Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes), además de demostrar la disminución benéfica de daños microvasculares, también pareció asociar el efecto hipoglucemiante en exceso con el riesgo de muerte en terapias combinadas con tiazolidinas, sulfonilureas, Metformina e insulina²⁵.

Verificar y demostrar la calidad *in vitro* de productos es un hecho rutinario en el sector de manufactura farmacéutica legalmente acreditado, especialmente para aquellos con los que se intervienen entidades patológicas de graves consecuencias como la diabetes y que conllevan riesgos asociados al uso de medicamentos por los eventos adversos serios que pueden ocasionar.

Entre los medicamentos de reconocida efectividad, valorados y vigilados para el manejo de diabetes tipo 2, se cuenta con las tabletas orales de Metformina. Su seguridad se representa en el uso de altas dosis efectivas (usualmente 2 g, máximo 3 g al día), pero con cualidades farmacéuticas que le confieren características especiales durante el proceso de manufactura. En este sentido, la Metformina como materia prima presenta propiedades físicas que delimitan el método de fabricación en cuanto a técnicas de compresión, tipo de cristal, grado de cristalización o forma amorfa, y la consideración sobre el efecto en la fluidez del polvo o granulado, adherencia, resistencia mecánica y estabilidad de las tabletas²⁶. Estas circunstancias son factores críticos de control en los procesos de manufactura de los productos ya que marcan sus propiedades de estabilidad en el anaquel y de disolución en el tracto gastrointestinal, de las que dependen directamente las posibilidades de absorción o Biodisponibilidad en cantidades efectivas para el uso antihiperglucemiante.

Durante el proceso de formulación y manufactura de tabletas que contienen Metformina son estrictamente controlados los tipos y proporciones de aglutinantes, desintegrantes, lubricantes, porcentajes de humedad en las mezclas, tamaño de mallas de tamizado,

método de secado y de compresión y las interacciones entre el fármaco y los excipientes, entre otros. La valoración de la calidad *in vitro* del producto está determinada por el cumplimiento de estándares indicadores de calidad en los parámetros de peso, dureza, desintegración, friabilidad, uniformidad de dosis y perfil de disolución de las tabletas. Luego, en la comparación de productos con Metformina está el reconocimiento explícito de las diferencias básicas en el origen de los materiales y los procesos de manufactura aplicados, porque inciden forzosamente en las cualidades de disolución y Biodisponibilidad *in vivo*, por lo que es evidente la necesidad de demostrar Equivalencia Farmacéutica entre los productos genéricos que contienen Metformina y los productos aprobados como referencia²⁷.

La comparación entre los resultados obtenidos con los indicadores diseñados con productos de composición y presentación similar, esto es Equivalentes Farmacéuticos, permite declarar diferencias estadísticamente significativas o no en su comportamiento biológico desde la absorción, durante la distribución y en la excreción del organismo [propiedades farmacocinéticas]. En caso de demostrar ausencia de diferencias significativas entre productos comparados en ensayos con diseños experimentales adecuados se declarará la Bioequivalencia e Intercambiabilidad entre los productos²⁸.

En formulaciones combinadas con productos constituidos por principios activos cada uno con especificidades en sus propiedades fisicoquímicas y farmacológicas se potencializan condiciones y variables para la comparación y el análisis de la Biodisponibilidad y la Bioequivalencia, con base en criterios farmacocinéticos. Este es el caso de los productos hipoglucemiantes combinados objeto del presente estudio, donde la Metformina es una especialidad para el diseño farmacéutico, aunque su potencia farmacológica no contenga mayores riesgos, pero la Glibenclamida se comporta como un fármaco potente desde el punto de vista farmacodinámico²⁹, con expectativas de resultados hipoglucemiantes graves en comparación con Metformina.

En este caso tal vez las observaciones farmacocinéticas en pacientes no reflejarán necesariamente los resultados farmacodinámicos, a no ser que se logre discernir las causas y propiedades que originan las diferencias específicas encontradas. Por lo tanto, para ambos principios activos, las condiciones fisiológicas y/o patológicas previas al tratamiento contribuyen a las observaciones y resultados del mismo, pero muchas veces son difíciles de prever por las características individuales responsables de los efectos que se obtengan, como la hipoglucemia por ejemplo, que dependen de la propia homeóstasis, difícilmente generalizable por los

múltiples factores que en ella intervienen.

El postulado aquí enunciado fundamenta el propósito del estudio de Bioequivalencia entre productos con Metformina 500 mg + Glibenclamida 5 mg, ejecutado según el contrato interinstitucional entre CIDEIM-Tecnoquímicas S.A. y la Universidad ICESI.

En este estudio se verificó el cumplimiento de las especificaciones técnicas de las muestras de los productos en atributos de calidad de los productos Metformina/Glibenclamida MK[®] 500 mg/5 mg tabletas y Glucovance[®] 500 mg/5 mg tabletas. Las muestras cumplieron las especificaciones definidas para los ensayos físicos, químicos y pruebas de disolución realizadas; por lo tanto, al comprobar la similitud de los resultados de valoración de contenido de principio activo, uniformidad de contenido y porcentaje de disolución, Tabla 2, es posible declarar la Equivalencia Farmacéutica entre ambos.

El monitoreo y seguimiento clínico de los voluntarios participantes del estudio de Bioequivalencia identificó eventos adversos que se registraron en los formatos de seguimiento de casos (CRF) para los dos periodos. Los eventos presentados se resumen en: tremor (6), mareo (8), diarrea (1), frío (2), parestesia (1), cefalea (3), palpitaciones (4), diaforesis (2), borborigmos (1). Todos los eventos se resolvieron sin ninguna intervención médica.

De los resultados descritos, Tablas 4 y 5, y en los análisis referidos sobre Biodisponibilidad Comparada para declarar Bioequivalencia, se deduce que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre A y B ($p < 0,05$). Por lo tanto, se verificó la Bioequivalencia dada la inclusión en el rango entre 80% y 125% de la razón entre los promedios geométricos T/R [%Ref], con 90% de nivel de confianza.

Los análisis estadísticos referidos sobre Biodisponibilidad Comparada concluyen que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las muestras de los productos en ensayo. Por lo tanto, se verificó la Bioequivalencia dada la inclusión en el rango entre 80% y 125% de la razón entre los promedios geométricos T/R [%Ref], con 90% de nivel de confianza, así:

METFORMINA: ln AUC (102,23%Ref) [85,63% - 122,04%) y ln C_{\max} (101,64%Ref) [87,54% - 118,0%]. La expresión aritmética para los valores promedios así calculados resultan en los siguientes datos para el intervalo de confianza de 90%: AUC_{METFORMINA} 10.751,20 h*ng/mL (9.005,43 h*ng/mL - 12.834,55 h*ng/mL). C_{\max} -METFORMINA 1.642,31 ng/mL (1.414,48 ng/mL - 1.906,66 ng/mL).

GLIBENCLAMIDA: ln AUC (111,0%Ref) [92,95%

- 132,55%) y $\ln C_{\text{máx}}$ (92,98%Ref) [81,61% - 105,93%]. La expresión aritmética para los valores promedios así calculados resultan en los siguientes datos para el intervalo de confianza de 90%: $AUC_{\text{GLIBENCLAMIDA}}$ 5.364,94 hr*ng/mL (4.492,53 hr*ng/mL - 6.406,51 hr*ng/mL). $C_{\text{máx-GLIBENCLAMIDA}}$ 571,32 ng/mL (501,46 ng/mL - 650,89 ng/mL).

La prueba estadística para la diferencia entre los promedios logarítmicos del producto Test y de Referencia ($\log T - \log R$) demostró Bioequivalencia en el rango comprendidos entre 0,80 y 1,25 para: Metformina: [$\ln (AUC-A) - \ln (AUC-B)$]: (0,83 - 1,17) y [$\ln (C_{\text{máx-A}}) - \ln (C_{\text{máx-B}})$]: (0,85 - 1,14). Glibenclamida: [$\ln (AUC-A) - \ln (AUC-B)$]: (0,76 - 1,07) y [$\ln (C_{\text{máx-A}}) - \ln (C_{\text{máx-B}})$]: (0,95 - 1,23).

Los resultados de los análisis *in vitro* realizados demuestran la Equivalencia Farmacéutica para los productos Metformina/Glibenclamida MK[®] 500/5 mg tabletas del Laboratorio Tecnoquímicas S.A., y Glucovance[®] 500 mg/5 mg tabletas Merck S.A. De igual manera, el estudio *in vivo* para evaluar la Biodisponibilidad y la Bioequivalencia Promedio (Average Bioequivalence) entre ellos, no encontró diferencias estadísticamente significativas. Por lo anterior, existen condiciones para fundar la intercambiabilidad entre los productos estudiados. Lo anterior coincide con diversos criterios armonizados por autoridades sanitarias, científicos y técnicos, expuestos en las páginas y textos de dominio público como Food and Drug Administration de los Estados Unidos y Canadá, y están de acuerdo con lo expuesto por la Conferencia Internacional de Armonización (ICH), la European Medicines Agency (EMA), de la Union Europea y la Organización Mundial de la Salud (OMS).

El cumplimiento de los anteriores requisitos, el rechazo de las hipótesis nulas que planteaban diferencia significativas entre los productos y la aceptación de las hipótesis alternativas para la razón entre los promedios geométricos T/R con respecto al producto de referencia [%Ref], para las variables críticas AUC y $C_{\text{máx}}$ en el rango entre 80% y 125%, admiten la consideración de sustitución e intercambiabilidad entre ellos, durante la dispensación en el uso terapéutico.

El ordenamiento de voluntarios y productos, realizado por la Unidad de Epidemiología y Bioestadística de CIDEIM, asignó aleatoriamente códigos a los productos en estudio y en ello se identifica como A al Producto "Glucovance[®]" y como producto B o Producto en Ensayo de Bioequivalencia a Metformina/Glibenclamida MK[®].

CONCLUSION

Se concluye la no diferencia estadísticamente significativa entre el producto Metformina / Glibenclamida MK[®] tabletas de 500 mg/5 mg de Tecnoquímicas S.A. y Glucovance[®] tabletas de 500 mg/5 mg de Merck S.A, con base en las características fisicoquímicas *in vitro* y los ensayos de absorción *in vivo* en voluntarios sanos. Por lo tanto, este estudio demostró el cumplimiento de los criterios para Equivalencia Farmacéutica, Bioequivalencia e Intercambiabilidad entre los productos comparados.



REFERENCIAS

1. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, Norwegian Institute of Public Health. Oslo, 2009 February 26. Disponible en: <http://www.whocc.no/atcddd/>
2. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, Ministerio de Protección Social, Colombia. Manual de Normas Farmacológicas. Bogotá, 2006. Disponible en: http://www.invima.gov.co/Invima//consultas/docs_normas_farmacologicas/normasfarmacologicas%202006.pdf
3. Brunton, Laurence L., Lazo, John S., Parker, Keith L. Goodman & Gilman, Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Undécima Edición. McGraw.Hill. España, 2006. ISBN 0-07-142280-3. Pág. 1634 y ss
4. GLUCOPHAGE (metformin hydrochloride tablets). Revised 2000 October. Disponible en: http://129.128.185.122/drugbank2/drugs/DB00331/fda_labels/989
5. U.S. National Library of Medicine. metformin hydrochloride Disponible en: <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?id=3899>
6. U.S. National Library of Medicine ChemIDplus Lite Metformin [USAN:INN:BAN]. <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/ProxyServlet?objectHandle=DBMaint&actionHandle=default&nextPage>
7. Glyburide and Metformin (Glyburide / Metformin Hydrochloride) – Description. Disponible en: <http://www.druglib.com/druginfo/glyburide-and-metformin/description/>
8. U.S. National Library of Medicine. 2006 June Glyburide Disponible en: <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?id=7826>
9. Drug Bank. Showing drug card for Glibenclamide. Disponible en: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01016>
10. U.S. National Library of Medicine. ChemIDplus Lite Glyburide [USAN]. Disponible en: http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/ProxyServlet?objectHandle=Search&actionHandle=getAll3DMViewFiles&nextPage=jsp%2Fcommon%2FChemFull.jsp%3FcalledFrom%3Dlite&chemid=010238218&formatType=_3D
11. Health Canada. Conduct and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies: Part A: Oral dosage formulations used for systemic effects (1992); Part B: Oral modified release formulations (1996); Report C: Report on bioavailability of oral dosage formulations, not in modified release form, or drugs used for systemic effects, having complicated or variable pharmacokinetics. 1992; 1992-1996.
12. U.S. Code of Federal Regulations. Title 21, Volume 5 Revised. Combination drug products. Access [CITE: 21CFR320.25]. 2008 April 1; 191-193, g). Disponible en: http://edocket.access.gpo.gov/cfr_2008/aprqr/21cfr320.25.htm
13. Latorre, M.C. Política Farmacéutica Nacional. Medicamentos Genéricos/Calidad. Organización Panamericana de la Salud. Medicamentos Genéricos. 2005 agosto. Disponible en: <http://www.paho.org>
14. U.S. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for the industry. Bioanalytical Method Validation. 2001 May. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070107.pdf>
15. Skoog DA. Principios de Análisis Instrumental. 6ª ed. Cengage Learning Editores, 2008: 376. [Fecha de acceso 07 de octubre de 2009]. <http://books.google.com.co/books?id=7FOyZbb7q8UC&pg=PA376&dq=adicion+estandar>
16. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June 1964, and amended by the: 29th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 1975. 35th WMA General Assembly, Venice, Italy, October 1983. 41st WMA General Assembly, Hong Kong, September 1989... 59th WMA General Assembly, Seoul, October 2008. [Disponible en FEMEBA: <http://www.femeba.org.ar/index.php?op=4>

17. Shein-Chung Chow. Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies. CRC Press 1999
18. World Health Organization. WHO Technical Report Series 937. Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Annex 9 Additional guidance for organizations performing in vivo bioequivalence studies. 2006 http://apps.who.int/prequal/info_general/documents/TRS937/WHO_TRS_937__annex9_eng.pdf
19. Health Canada pursuant to Part C, Division 1 or 8 of the Food and Drug Regulations. Draft Comprehensive Summary - Bioequivalence (CS-BE) (Module 1.4.2). (version: 2004-05-06). Documento Electrónico. http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/alt_formats/hpfb-dgpsa/pdf/prodpharma/csbe_sgbe-eng.pdf
20. Mistri H.N., Jangid A.G. and Shrivastav P. S. Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method for Simultaneous Determination of Antidiabetic Drugs Metformin and Glyburide in Human Plasma. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2007 (45)97–106. Documento disponible en: www.sciencedirect.com
21. Ranetti M. C., Ionescu M, Hinescu L, et al. Validation of a HPLC Method for The Simultaneous Analysis of Metformin and Gliclazide in Human Plasma. Farmacia 2009 (57) 6. Documento disponible en: <http://www.revistafarmacia.ro/20096/issue62009art07.pdf>
22. Kumasaka K, Kojima T, Honda H and Doi K. Screening and Quantitative Analysis for Sulfonylurea-Type Oral Antidiabetic Agents in Adulterated Health Food Using Thin-Layer Chromatography and High-Performance Liquid Chromatography Journal of Health Science. 2005 (51) 4:453-460 Documento disponible en: http://www.jstage.jst.go.jp/article/jhs/51/4/453/_pdf
23. B. L. Kolte. B. B. Raut. A. A. Deo. M. A. Bagoool. D. B. Shinde, "Metformin and Glibenclamide: Simultaneous determination by HPLC". En: Jack Cazes. Encyclopedia of Chromatography, Second edition, Volumen Two. 2005 June. Disponible en: <http://books.google.com.co/books?id=9L2WRWXBauwC&dq=isbn:0824727878&ei=kKX0S8P0BIXcyQSn3oGXCg>
24. U.S. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for the industry. Bioanalytical Method Validation. 2001 May. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070107.pdf>
25. Dluhy R.G., and McMahon G.T. Intensive Glycemic Control in the ACCORD and ADVANCE Trials N Engl J Med 358; 24. 2008 June 12. Documento electrónico disponible en: www.nejm.org on January 30, 2009
26. Block L.C., Schemling L.O., Couto A.G, Mourão S.C., Bresolin, T.M.B. Pharmaceutical equivalence of metformin tablets with various binders. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., 2008; 29 (1): 29-35. ISSN 1808-4532. Documento electrónico disponible en: http://200.145.71.150/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/431/414
27. Block, L.C., Schmeling, L.O., Couto, A.G., Silva, M.A.S., Tagliari, M.P., Bresolin, T.M.B., and Mourão, S.C. Effect of binders on 500mg metformin hydrochloride tablets produced by wet granulation. Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2009; 30(2):17-24. ISSN 1808-4532. Documento electrónico disponible en: http://200.145.71.150/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/614/800
28. U.S. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products. General Considerations. 2003 March. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070124.pdf>
29. National Institutes of Health, Health & Human Services. U.S. National Library of Medicine. Daily Med Current Medication Information. DIABETA (glyburide) tablet [Sanofi-Aventis U.S. LLC]. Revised: 2009 March. Documento electrónico disponible en: <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?id=9445>



MEDICAMENTOS
TOTALMENTE CONFIABLES



Metabolismo

Metformina / Glibenclamida

500 mg/2,5 mg - 500 mg/5 mg



Tecnóquímicas



**MEDICAMENTOS
TOTALMENTE CONFIABLES**

Material de uso exclusivo para la Fuerza de Promoción y Ventas MK, no va dirigido al consumidor.
Para mayor información línea gratuita **01 8000 52 33 39** o visite nuestra página web
www.tecnoquimicas.com



Tecnóquimicas