



Warfarina

5 mg



Estudio de
Bioequivalencia



Tecnquímicas



MEDICAMENTOS
TOTALMENTE CONFIABLES

Warfarina 5 mg



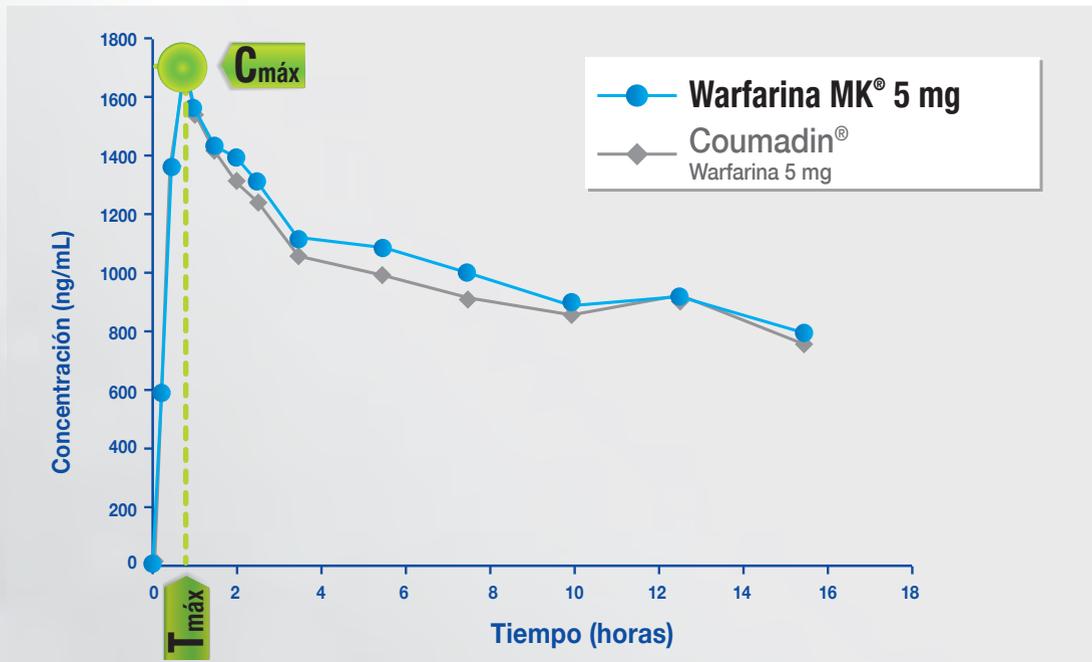
Estudio de Bioequivalencia realizado por el CIDEIM*

Certifica que Warfarina MK[®] es Bioequivalente con el producto Referente.

Promedio de los Parámetros Farmacocinéticos

Producto	AUC _(0-t)	C _{máx}	T _{máx}
Warfarina MK [®] 5 mg	15,885	1,712	0,75
Coumadin [®] 5 mg	15,195	1,721	0,75

Curvas de Biodisponibilidad



Promedio de la concentración de Warfarina ng/mL en el tiempo.

* 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 Biofarmacéuticos en humanos.

Indicación:
Anticoagulante

Presentación:
Warfarina MK[®], caja por 30 tabletas de 5 mg

Estudio de Bioequivalencia entre “Warfarina MK®” tabletas de 5 mg del laboratorio Tecnoquímicas S.A., versus “Coumadin®” tabletas de 5 mg del laboratorio Bristol-Myers Squibb.

RESUMEN

Antecedentes

Se realizó un ensayo *in vivo* para demostrar diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones plasmáticas de Warfarina en el tiempo, obtenidas con la formulación en tabletas de 5 mg del producto “Warfarina MK®”, medicamento genérico o producto de Prueba (T), en comparación con “Coumadin®” producto de Referencia (R). El estudio evaluó el comportamiento de los dos productos con las variables de Concentración Máxima alcanzada ($C_{máx}$), Tiempo para lograrla ($T_{máx}$) y Área Bajo la Curva de Concentración en el tiempo (AUC). Se administraron por vía oral dosis únicas de 10 mg de Warfarina en cada producto a 22 voluntarios sanos, en dos periodos de tratamiento.

Métodos

Los productos en estudio fueron verificados 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 22 voluntarios sanos con edades entre 18 y 35 años, que cumplieron los requisitos de inclusión estandarizados y consintieron su participación voluntaria y por escrito. Los sujetos recibieron aleatoriamente cada producto en dosis únicas de 10 mg, asignados al azar como A o B para secuencia, tratamiento y periodo, con un lapso de 14 días entre los tratamientos. Los productos les fueron administrados en ayunas con 240 mL de agua. Durante 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 Warfarina, por el método analítico de cromatografía líquida HPLC-UV con Metilparabeno como estándar interno, validado en el Laboratorio de Estudios Biofarmacéuticos de CIDEIM. Con los resultados se calcularon y compararon los parámetros farmacocinéticos de Área Bajo la Curva (AUC), Concentración Máxima ($C_{máx}$) y Tiempo para alcanzar la concentración máxima ($T_{máx}$).

Resultados

Los ensayos fisicoquímicos demostraron que no había diferencia 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 concentración de Warfarina en plasma y en los parámetros de AUC, $C_{máx}$ y $T_{máx}$. 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: Ln AUC [104,4%Ref](95,9% - 113,7%) y Ln $C_{máx}$ [100,0%Ref](91,7% - 109,1%); y la diferencia entre los promedios logarítmicos [Ln AUC_A - Ln AUC_B] (0,88 - 1,04) y [Ln $C_{máx A}$ - Ln $C_{máx B}$] (0,92 - 1,09), en el rango de 0,8 a 1,25 para 90% de nivel de confianza y 5% significancia. La $T_{máx}$ en ambas muestras fue 0,75 h.

Conclusiones

Los análisis realizados son concordantes con los requerimientos que demuestran Equivalencia Farmacéutica entre los productos, Biodisponibilidad y Bioequivalencia Promedio (Average Bioequivalence), de lo que puede concluirse la Equivalencia Terapéutica e Intercambiabilidad en la prescripción. Lo anterior se fundamenta en el cumplimiento de requisitos dentro de los límites de aceptación para los parámetros fisicoquímicos que evalúan el contenido, uniformidad de contenido y velocidad de disolución de los productos, y la ausencia de diferencias significativas entre los valores promedio de las variables farmacocinéticas AUC y $C_{máx}$, en el intervalo de confianza de 90%.

Piedad Restrepo Valencia¹
Gloria Ramírez Correa²
Eduar D. Echeverri García³
Milena Pérez Guzmán⁴
Mauricio Pérez Flórez⁵

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

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

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

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

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

PALABRAS CLAVE: Warfarina, Biodisponibilidad, Bioequivalencia.

SUMMARY

Background

This study was designed *in vivo* to demonstrate statistically significant differences between the serum concentrations of Warfarin in time, obtained with the formulation in capsules of 5 mg of “Warfarina MK[®]”, generic drug product Testing (T) compared with “Coumadin[®]”, the Reference product (R). The comparison was based on pharmacokinetic variables: C_{max} , T_{max} and AUC, 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 fourteen days was used. Were administered orally single doses of 10 mg to 22 healthy volunteers between 18 and 35 years in two treatment period.

Methods

The products under study were checked for physicochemical parameters compliance control to determine their quality and Pharmaceutical Equivalence. The experimental design was a randomized, two sequence and cross-over study with a wash-out period. 22 healthy volunteers aged between 18 and 35 years old, who met the inclusion criteria and signed informed consent. The subjects received each product in doses of 10 mg with 240 mL of water, randomly assigned as A or B for sequence, treatment and period with a wash-out period of fourteen days. Each 14 blood samples of 10 mL were extracted and the plasma separation was quantified for Warfarin concentration by HPLC-UV with addition of methylparaben internal standard, validated in Biopharmaceuticals Studies Laboratory (CIDEIM). With the results were calculated and compared the pharmacokinetic parameters: area under the curve (AUC), the peak plasma concentration (C_{max}) was higher and the time to peak plasma concentration (T_{max}).

Results

Physicochemical tests showed no difference between samples of the products, and then were established as the Pharmaceutical Equivalents. The data from biological samples were analyzed statistically for significance tests of differences in plasma concentration of Warfarin and AUC_{0-t} , C_{max} and T_{max} parameters. The results allowed to quantify and verify the criteria for Bioequivalence for ratio of geometric means (%Ref) between 80% and 125% and the difference of the average logarithmic ($\log T - \log R$) in the range of 0,8 to 1,25 for 90% confidence level and 5% sig. Bioequivalence was established in: $\ln AUC$ [104,4%Ref] (95,9% - 113,7%) and $\ln C_{max}$ [100,0%Ref] (91,7% - 109,1%). The Bioequivalence was demonstrated for the difference between logarithmic averages of Test and Reference product ($\log T - \log R$) between 0,80 and 1,25 in intervals limited by: [$\ln (AUC-A) - \ln (AUC-B)$]: (0,88 - 1,04) and [$\ln (C_{max-A}) - \ln (C_{max-B})$]: (0,92 - 1,09). T_{max} in both samples was the same: 0,75 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%.

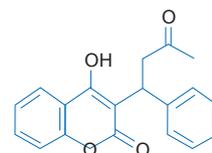
Key words: Warfarin, Bioavailability, Bioequivalence.

INTRODUCCIÓN

Este estudio de Bioequivalencia pretende demostrar diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones plasmáticas de Warfarina en el tiempo, en muestras de sangre obtenidas de sujetos voluntarios sanos, tras la administración del medicamento genérico (producto de Prueba) identificado como Warfarina MK[®] tabletas de 5 mg del laboratorio Tecnoquímicas S.A., en comparación con las del innovador (de Referencia) denominado comercialmente Coumadin[®] tabletas de 5 mg del laboratorio Bristol-Myers Squibb. Se analizaron y compararon los resultados para parámetros de Concentración máxima de Warfarina en plasma (C_{max}), Tiempo para lograrla (T_{max}) y Área Bajo la Curva de concentración en el tiempo (AUC).

Warfarina^{1,2,3,4} es un fármaco de origen sintético indicado como anticoagulante en el manejo de enfermedades tromboembólicas desde 1954. Es un derivado de 4-hidroxycumarina, está identificada con el nombre químico de (RS)-4-hydroxy-3-(3-oxo-1-phenylbutyl)-2H-chromen-2-one [ó 3-(a-acetonilbencil)-4-hidroxycumarina]. Como principio activo, es una mezcla racémica de los

enantiómeros (S) y (R); estos presentan diferencias en su potencia anticoagulante, metabolismo, eliminación e interacciones, pero no hay suficiente evidencia para recomendar un enantiómero u otro; comercialmente se utiliza la mezcla racémica; la masa molecular es 308,33g/mol; la fórmula molecular está dada por $C_{19}H_{15}O_4$. La solubilidad en agua de Warfarina base es 17mg/L (20°C) y de la sal sódica de 400 mg/l; es moderadamente soluble en metanol, etanol e isopropanol. Es de Tipo I de clasificación Biofarmacéutica (BCS) por ser altamente soluble y altamente permeable⁵. El código identificador ATC corresponde a NO3AX16 y su fórmula estructural corresponde a la aquí transcrita.



La Warfarina está indicada en la profilaxis y tratamiento de enfermedades tromboembólicas venosas pulmonares u otras, en complicaciones embólicas que se presentan por la fibrilación auricular o por el reemplazo de válvulas cardíacas; puede hacer parte de terapia adjunta para reducir el riesgo de embolias sistémicas como infartos del miocardio recurrentes y accidentes cerebrovasculares^{6,7,8,9}.

Durante su uso como anticoagulante pueden presentarse fenómenos de sangrado, especialmente en el periodo inicial con dosis altas, sumado a factores de riesgo relacionados con la dosis, edad, duración del tratamiento y presencia de otras enfermedades y tratamientos. Este principio activo se considera de índice terapéutico estrecho por su margen de dosificación promedio entre 5 y 10 mg/día en adultos, los que son suficientes para mantener el índice INR [Razón Normalizada Internacional – INR, de las siglas en inglés: International Normalised Ratio] en el intervalo terapéutico de 2,0 a 3,0. También se han identificado pacientes resistentes al efecto de la Warfarina asociados a variaciones genéticas en las proteínas CYP2C9 y VKORC1, responsables de su metabolismo y farmacodinamia. Para estos pacientes las dosis necesarias de Warfarina (>20mg/día) son mayores que las requeridas por la mayoría de los pacientes para lograr el INR terapéutico.

El mecanismo de acción farmacológica de la Warfarina interfiere con la síntesis y activación de los factores de coagulación II, VII, IX y X y las proteínas C y S, en el hígado. Estos sólo son activos cuando se carboxilan en los grupos amino terminales del glutamato, dando origen a los residuos γ -carboxi glutamato (Gla) capaces de unirse al Ca^{2+} ; así activados se unen a los fosfolípidos sobre el endotelio vascular durante la cascada de formación de coágulos. Los elementos responsables de la carboxilación de los factores de coagulación son: la enzima reductasa del epóxido de vitamina K, (VKORC1), el epóxido de vitamina K (forma reducida de la vitamina K – KH₂-), el dióxido de carbono y el oxígeno molecular. La Warfarina se une e inhibe la enzima reductasa del epóxido de vitamina K por lo cual bloquea la regeneración de la vitamina K (KH₂) a partir del epóxido correspondiente (KO). De esta manera la Warfarina, en dosis terapéutica, impide la carboxilación y síntesis de las proteínas o factores con capacidad biológica coagulante en aproximadamente 30% a 50% de la cantidad disponible.

El anterior mecanismo de acción se refleja en el efecto antitrombótico lento de la Warfarina puesto que este solo es observable al momento del agotamiento de los factores ya activados y disponibles en plasma. Luego, actúa lentamente a pesar de que se observe prolongado el tiempo de protrombina – TP-, debido a la larga semivida de algunos factores (Factor VII: 6 horas, Factor IX: 24 horas, Factor X: 36 horas, Factor II: 50 horas, Proteína C: 8 horas y Proteína S: 30 horas), e influida por la corta semivida de otros (Factor VII). Por lo tanto, el efecto de prolongación del tiempo de protrombina o anticoagulante se puede observar desde el comienzo del tratamiento, pero el efecto antitrombótico y el riesgo hemorrágico no se logra sino después de varios días de iniciado el tratamiento. Se espera que el efecto pico anticoagulante se presente

entre 72 y 96 horas después de iniciado el tratamiento continuo.

Durante el uso terapéutico es posible que se presenten efectos secundarios como: sangrado fácil de las encías al cepillarse los dientes, formación de moretones, coloración rojiza de la orina. Sin embargo, se describen como señales de alarma las siguientes: hemorragia en cualquier sitio del organismo, dolor en el pecho, edema, choque hemorrágico, hipotensión, síncope, vasculitis, estado de coma, mareo, fatiga, cefalea, letargia, alopecia, erupciones, dermatitis, rash, prurito, urticaria, cólicos abdominales, anorexia, diarrea, flatulencia, sangrado gástrico, úlceras en la boca, náuseas, alteraciones del sabor, vómito, hematuria, priapismo, agranulocitosis, anemia, leucopenia, hematoma retroperitoneal, sitios de sangrado no reconocidos u ocultos, ictericia colestática, daño hepático, incremento de transaminasas, dolor articular y muscular, osteoporosis (asociada al uso por largo tiempo), parálisis, parestesia, disnea, calcificación traqueo – bronquial, reacciones anafilácticas, intolerancia al frío, reacciones alérgicas/hipersensibilidad, necrosis de la piel, gangrena, síndrome de los pies azules y púrpura. Este fármaco se absorbe por piel, vía intramuscular, rectal y casi completamente por vía oral con una Biodisponibilidad absoluta promedio de 93% \pm 8¹⁰. Puede administrarse por vía intravenosa, pero no se recomienda la administración por vía intramuscular por el riesgo de formar hematomas. Las presentaciones comerciales de tabletas que difieren en su velocidad de disolución también muestran diferencias en la velocidad y cantidad de Warfarina absorbida. Luego de la administración oral se detectan concentraciones en plasma antes de una hora y las máximas concentraciones pueden presentarse entre 2 y 8 horas. El volumen de distribución es cercano a 0,14 L/kg, se une en el 99% a la albúmina del plasma. La fase de distribución está entre 6 y 12 horas, la cual es afín con el modelo de un compartimento independiente para el enantiómero o el racemato. Se metaboliza casi completamente por vías microsomales hepáticas estereoselectivas [Citocromo P450: 2C9, 2C19, 2C8, 2C18, 1A2, y 3A4] a metabolitos hidroxilados inactivos y, por reductasas, a metabolitos alcoholes.

La semivida efectiva es cercana a 40 horas. En ancianos e insuficiencia hepática se potencia la actividad de la Warfarina. En síntesis, interacciona con otros medicamentos y alimentos y el uso de cualquier otra sustancia o la presencia de cualquier enfermedad interfieren peligrosamente en el tratamiento con Warfarina.

Es difícil ser precisos en la consideración de la dosis de este fármaco, tanto en la de inicio como en la de mantenimiento, si se tienen en cuenta su estrecho rango terapéutico, la amplia variabilidad interpacientes y una larga lista de factores que la pueden influenciar. Actualmente se reconoce que la mayoría de los eventos adversos serios con Warfarina pueden ser mejorados a partir de la dosis inicial, pues es allí donde generalmente se manifiestan. Se suma a lo anterior lo encontrado en diversos estudios sobre las variantes biológicas comunes en los genes VKORC1 y CYP2C9, junto con otros factores no genéticos y su correlación significativa con la dosis adecuada de Warfarina. Los genotipos descritos representan

casi tres veces más la variabilidad (~ 30%) en dosis de Warfarina que los debidos a la edad, peso, sexo y otros factores clínicos combinados (~ 12%). A pesar de todo lo enunciado, la anticoagulación se vigila comúnmente con el índice INR tal que se encuentre entre 2.0 y 3.0; con base en este rango se declara hipo o hipercoagulación y se asocia el efecto a manifestaciones de recurrencia del tromboembolismo o a la presencia de eventos adversos.

El resumen farmacológico aquí presentado hace evidente el cumplimiento del propósito de este estudio relacionado con la comparación de la Biodisponibilidad y Bioequivalencia (BD/BE) entre el producto Referente en el mercado y el producto “Warfarina MK®”. Las características de los productos con Warfarina demandan estudios *in vivo* para demostrar su comportamiento farmacocinético, en cuanto a la velocidad y cantidad que se absorbe con respecto al referente comercial, a pesar de que sea altamente permeable y altamente soluble^{11,12,13}.

Para llevar a cabo este estudio de Bioequivalencia se seleccionaron 22 sujetos adultos sanos de género masculino, quienes consintieron voluntariamente su participación con el fin de que se les valoraran las medidas farmacocinéticas determinantes de la cantidad y la velocidad con que Warfarina alcanza la circulación sanguínea. Los voluntarios recibieron de cada producto asignado al azar dosis únicas de 10 mg por vía oral, en un diseño experimental cruzado de dos tratamientos y dos periodos, separados entre sí por un intervalo de 14 días.

Se determinó la Biodisponibilidad relativa (BD) de los productos mediante la valoración de las concentraciones plasmáticas de Warfarina en un ensayo *in vivo* y se examinó la Bioequivalencia entre Warfarina MK® tabletas de 5 mg y Coumadin® tabletas de 5 mg. Los productos fueron administrados con asignación al azar, previa codificación aleatorizada como A o B. En la ejecución del estudio se incluyeron en total 28 sujetos voluntarios sanos, con capacidad para consentir voluntariamente su participación, de los cuales 3 fueron asignados al estudio piloto para definir criterios de validación del método Bioanalítico, 22 participaron y terminaron el estudio completo de Bioequivalencia y 3 argumentaron razones personales para retirarse del estudio. 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.

Los análisis a las muestras de sangre se realizaron aplicando un método Bioanalítico para cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) con detección UV y arreglo de diodos y Metilparabeno como estándar interno. El método fue validado en el Laboratorio de Estudios Biofarmacéuticos de CIDEIM. Para la validación se prepararon muestras en plasma sanguíneo humano (exento de Warfarina), las que fueron adicionadas con cantidades diferentes de estándar valorado desde soluciones con concentraciones variables. Estas muestras fueron sometidas a procedimientos analíticos para la determinación de los parámetros clásicos de sensibilidad, exactitud, precisión, robustez y linealidad,

así como a la valoración de estabilidad en el tiempo bajo condiciones de almacenamiento definidas, según las guías que prescriben al respecto.

Los parámetros críticos para la Biodisponibilidad comparada fueron los valores promedio de Concentración Máxima (C_{máx}) y Área bajo la curva (AUC) de concentración plasmática en el tiempo, acogiendo para ello las prescripciones técnicas, científicas y regulatorias vigentes^{14,15,16,17}. 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 2008¹⁸; 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, la Resolución del Ministerio de Salud 008430 de 1993 en los Artículos 11, 53, 54, 55, 57 y 61 y la Resolución 2378 de 2008^{19,20,21}.

Los procedimientos y contenidos del Protocolo del estudio fueron aprobados en el Comité Institucional de Ética para Investigación en Humanos (CIEIH) que presta servicios a CIDEIM, como consta en el Certificado con código 0904 de mayo 05 de 2009.

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 en la fase de muestreo clínico en el estudio piloto y de la Clínica de Nuestra Señora del Rosario para el muestreo en el estudio completo. Estas entidades están ubicadas en la ciudad de Cali, Colombia.

MÉTODOS Y MATERIALES

Voluntarios

El ensayo comparativo se realizó en 22 sujetos voluntarios sanos, de género masculino, con edades entre 18 y 35 años. 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 4 meses ni de venta libre en los últimos 10 días anteriores 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 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.

Para el inicio de la fase clínica se contactaron 54 voluntarios de género masculino con el fin de verificar en ellos los requisitos mínimos para ser incluidos en el estudio. De ellos, 28 voluntarios cumplieron con los requisitos médicos y de laboratorio clínico; 3 de estos voluntarios fueron elegidos para el estudio piloto ejecutado con el fin de ajustar los parámetros analíticos en la validación de la técnica y los intervalos de muestreo para la fase clínica del estudio completo.

El proceso de selección descartó a menores de 18 o mayores de 35 años de edad, a quienes padecieran trastornos hemorrágicos, hipertensión arterial, infarto cardíaco, angina de pecho, valvulopatía cardíaca, accidente cerebrovascular, aneurisma, anemia, enfermedades del riñón o del hígado, y cualquier tipo de alergias a medicamentos. Así como a los que padecieran de alteraciones de la glándula tiroidea y/o de enfermedades como: diabetes, estados convulsivos, hipertensión, epilepsia, enfermedad respiratoria. Finalmente, 22 voluntarios participaron en la fase clínica del estudio completo de Biodisponibilidad y Bioequivalencia (BD/BE). Los voluntarios se identificaron únicamente con un código compuesto por letras y números para mantener la confidencialidad de sus datos.

Los datos demográficos muestran los promedios (\pm SD) de: edad de 26,2 años \pm 2,1 [24,1; 28,3], peso 73,8 Kg \pm 3,31 [70,5; 77,1] e Índice de Masa Corporal de 24,3 kg/m² \pm 1,0 [23,3; 25,3]. La Tabla 1 describe los datos demográficos de los voluntarios participantes en el estudio de Bioequivalencia de Productos con Warfarina y la secuencia de tratamiento asignada al azar.

Tabla 1. Descripción demográfica de los voluntarios

Voluntario Número	Edad (años)	Peso* (kg)	IMC (kg/m ²)	Secuencia
1	31	70	22,3	A-B
2	26	63	20,1	B-A
3	22	78	23,3	A-B
4	21	63	23,4	A-B
5	19	72	22	B-A
6	27	64	21,4	A-B
9	25	80	25,2	A-B
10	26	84	27,7	A-B
11	20	65	22	A-B
12	24	70	24,2	B-A
13	35	69	25	B-A
14	20	70	21,4	A-B
15	33	84	26,2	B-A
16	19	75	23,7	B-A
17	34	67	20,9	B-A
19	29	81	28	A-B
20	18	74	22,8	B-A
21	23	85	27,1	B-A
22	28	78	25,5	A-B
23	35	65	25,1	B-A
24	32	90	29,7	B-A
25	22	73	25,9	A-B
p ^a	29	68	22,2	
p	25	66	24,5	
p	27	75	24,8	

^a Participante en el estudio piloto
IMC: Índice de Masa Corporal

Reactivos y Equipos

El sistema cromatográfico, materiales y equipos se identificaron como: Cromatográfico HPLC LaChrom Ultra (LCU) con detector UV con arreglo de diodos; Columna Chromolith® Performance RP-18e 100-4.6 mm, 2 μ m de Merck; 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; Microcentrifuga Eppendorf 5415D; Estándar Secundario de Metilparabeno Sódico No. Lote: 10024747R1-S, pureza: 100%. El estándar valorado de Warfarina fue suministrado por Tecnoquímicas S.A.; Acetonitrilo, grado HPLC; Metanol, grado HPLC; Fosfato de Potasio Monobásico; Agua, grado HPLC; H3PO4 concentrado; Plasma Humano libre de Warfarina. La fase móvil consistió en la mezcla de Buffer Fosfato de Potasio Monobásico pH 3,50 \pm 0,01, y Acetonitrilo (62:38 v/v).

Las soluciones estándar de Warfarina y Metilparabeno se prepararon por diluciones con agua grado HPLC, hasta obtener concentraciones de 45 μ g/mL de Warfarina y de 90 μ g/mL de Metilparabeno. 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.

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 farmacopéicos vigentes (USP/NF y BP) y las especificaciones declaradas por el fabricante de Warfarina MK®, en una muestra de los productos a comparar.

Método Bioanalítico

El Laboratorio de Estudios Biofarmacéuticos, ubicado en las instalaciones de CIDEIM (Carrera 125 No. 19 - 225 Vía a Pance, Cali, Colombia), desarrolló y validó el método analítico para valorar las muestras en plasma sanguíneo.

Las condiciones cromatográficas más adecuadas, obtenidas para la detección, cuantificación y resolución de los principios activos Warfarina y Metilparabeno en cuanto a área y tiempo de retención son: Fase móvil: Buffer Fosfato: ACN (62:38), flujo: 1,2 mL/min, λ : 281 nm, volumen de inyección: 20 μ L, temperatura 25°C, columna Chromolith RP-18e. Las muestras preparadas con estándar analítico valorado en su potencia para Warfarina 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 definidas²².

Se prepararon muestras de plasma obtenido de donantes diferentes a los seleccionados para este estudio, con 8 concentraciones de Warfarina en el rango entre 0,125 a 5,0 µg/mL. Se efectuaron 5 preparaciones independientes de cada concentración y determinaciones individuales por triplicado en cada caso, de acuerdo con las guías que describen los procesos de validación de métodos Bioanalíticos. Los datos de los análisis cromatográficos aplicados a los parámetros requeridos en la Validación se analizaron estadísticamente para la varianza, desviación estándar, líneas de tendencia, factor de correlación y coeficientes de variación. En ello se utilizó el 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	1,2 mL/min
Volumen de inyección	20 µL
Longitud de onda de detección	281 nm
Columna	Columna Chromolith® Performance RP-18e, 100-4,6 mm
Temperatura de la columna	25 °C
Temperatura del automuestreador	25 °C
Modo de cuantificación	Estándar interno
Modo de cualificación	Tiempo de retención
Modo de calibración	Curva de calibración
Unidades de concentración	ng/mL
Tiempo de retención del estándar Interno (Metilparabeno)	1,9 minutos
Tiempo de retención del analito (Warfarina)	6,2 minutos
Tiempo de análisis	8 minutos

Diseño Experimental y Conducción del Estudio

El diseño experimental del estudio de Biodisponibilidad y Bioequivalencia contó con la asignación al azar de los tratamientos o formulaciones a los sujetos voluntarios sanos, previa codificación aleatorizada de los productos como A o B, teniendo en cuenta para su administración: dos tratamientos, dos periodos, dos secuencias, dosis única y cruzado. A cada uno de los 22 voluntarios se

le administraron 10 mg (dos tabletas de 5 mg) de ambas formulaciones, con un intervalo entre los periodos de 14 días. Este diseño garantiza la mínima variabilidad en factores que no se deben a las diferencias entre las formulaciones comparadas, hace evidente la variabilidad causada por las diferencias en las características de los productos y elimina la mayor posibilidad de sesgos y de variabilidad dentro y entre los sujetos.

Los datos para el análisis estadístico, en la determinación de Bioequivalencia, fueron los resultados de las valoraciones de Warfarina en el plasma de catorce muestras extraídas durante 15,5 horas continuas, en cada periodo de muestreo. El tiempo de muestreo previó la desintegración, disolución y absorción del principio activo desde cada producto y permitió la máxima absorción.

De acuerdo con el diseño experimental descrito, todos los datos de los 22 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 Warfarina ($C_{m\acute{a}x}$), 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 datos también se aplicaron otros programas como PK Solutions Pharmacokinetics Noncompartmental Data Analysis, Summit Research Services® y Winnonlin Noncompartmental Analysis Program Version 5.2.1®.

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. Ho: Diferencia entre los promedios logarítmicos de Test y Referencia (LogT - Log R) menor a Log 0,8 versus Ha: Diferencia entre los promedios logarítmicos de Test y Referencia (LogT - Log R) mayor o igual a Log 0,8.

2. Ho: Diferencia entre los promedios logarítmicos de Test y Referencia (LogT - Log R) mayor a Log 1,25 versus Ha: Diferencia entre los promedios logarítmicos de Test y Referencia (LogT - 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 productos

ATRIBUTO	Warfarina MK®	Coumadin®
Fecha de análisis	2009-08-31	2009-09-02
Peso promedio (g)	0,20877	0,2007
Valoración de Warfarina Límites: no menos de 90% ni más de 110% de la cantidad declarada	Método HPLC 5,1 mg/Tableta 102,0% de la cantidad declarada.	Método HPLC 4,78 mg/Tableta 95,6% de la cantidad declarada.
Uniformidad de dosis (%) Límite: Valor de aceptación ≤ de 15%, ensayo con 10 unidades	Método HPLC Promedio: 106,3% S: 2,1 Valor: 10,0%	Método HPLC Promedio: 99,4% S: 0,6 Valor: 1,4%
Prueba de disolución (HPLC). Agua, 900 mL		
Aparato (rpm) Tiempo (min) Tolerancia (Q)	2, 50 30 80%	2, 50 30 80%
Porcentaje de principio activo disuelto (S1):	S1: 103, 101, 96, 96, 102, 95	S1: 93, 95, 95, 95, 95, 95
Límite: Con seis unidades (6), ninguna debe ser menor del 80% de lo declarado		

Del análisis de los resultados y de la comparación de los mismos se deduce que 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 Y CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO	DECISIÓN
LINEALIDAD DEL SISTEMA $r^2 \geq 0,80$	$r^2 = 0,9719$ $p < 0,01$	Aceptado
PRECISIÓN DEL SISTEMA $CV < 15\%$	$CV = 0,57\%$	Aceptado
PRECISIÓN DEL MÉTODO $CV < 15\%$	$CV = 4,45\%$	Aceptado
EXACTITUD DEL MÉTODO ANALÍTICO Desviación <30% respecto de la media.	Promedio de la desviación respecto de la media = 5,07% $P < 0,05$	Aceptado
LINEALIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO $r \geq 0,80$	$r^2 = 0,9979$ $p < 0,01$	Aceptado
ESPECIFICIDAD No presencia de interferencia significativa en las mismas condiciones que para Warfarina	No señales en el tiempo de retención de Warfarina	Corregir el valor del área de cada muestra con la obtenida en la muestra 1.
RECUPERACIÓN	101,10%	
LÍMITE DE DETECCIÓN	0,028 ng/mL	
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	0,032 ng/mL	

Por lo anterior, el método analítico para la valoración de Warfarina 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 SOP10126, CIDEIM.

De igual manera, los diferentes ensayos para determinar la estabilidad del analito en las muestras, tras su sometimiento a diferentes ciclos de congelamiento, descongelamiento y de almacenamiento durante 30, 60 y 90 días comprobaron que las muestras de plasma deben ser descongeladas a temperatura ambiente y analizadas en el menor tiempo posible, y no deben ser sometidas a ciclos de congelamiento y descongelamiento ni almacenarse por largos periodos de tiempo (Prueba de significancia $t > 0,05$).

Evaluación de Biodisponibilidad (BD) y Bioequivalencia (BE)

El día de la prueba los voluntarios ingresaron al servicio de hospitalización; luego de la revisión médica se procedió a la canalización de la vena del brazo no dominante para la toma de las muestras de sangre. A las 6:30 a.m. se extrajo la primera muestra de sangre de 10 mL identificada como Muestra 1 e inmediatamente después a los voluntarios del estudio piloto se les administró una dosis única de 10 mg (dos tabletas de 5 mg) del producto de Referencia (Coumadin®); a los

voluntarios del estudio completo de BE se les administraron dos tabletas de 5 mg del medicamento correspondiente, según la secuencia asignada (A o B). A los voluntarios les fue solicitado que ingirieran el medicamento en forma completa, sin masticarlo, con 240 mL de agua, para disminuir la variabilidad en la Biodisponibilidad por la fragmentación de los mismos.

Después de la primera muestra de sangre y de la administración del medicamento asignado se ejecutó estrictamente el cronograma de toma de muestras. En el estudio piloto se extrajeron de cada voluntario 12 muestras de sangre de 10 mL y en el estudio completo 14 muestras de 10 mL por cada periodo, de la siguiente manera: 0,0; 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 1,50; 2,00; 2,50; 3,50; 5,50; 7,50; 10,00; 12,50; 15,50.

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 rpm por 20 min. El plasma así 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 grados centígrados hasta la valoración química correspondiente.

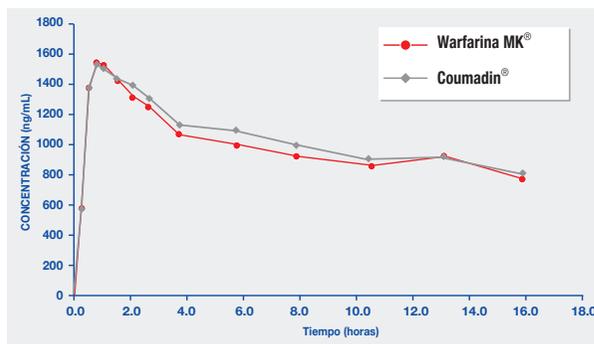
La valoración de la cantidad de Warfarina en cada muestra de plasma se hizo por la ponderación cuantitativa de la señal o área cromatográfica en la muestra, corregida por la señal o ruido detectado en la muestra 1 de ese mismo voluntario (antes de administrarle el medicamento). Los datos promedio de concentración plasmática de Warfarina en el tiempo se muestran en la Tabla 4. En ella se describe $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$ 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 de los productos A y B. 22 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	597,91	589,94	74,74	73,74
0,50	1365,02	1367,16	245,37	244,64
0,75	1532,84	1516,96	362,23	360,51
1,00	1516,28	1482,77	381,14	374,97
1,50	1416,42	1438,30	733,17	730,27
2,00	1313,35	1393,76	682,44	708,01
2,50	1246,83	1314,32	640,04	677,02
3,50	1061,73	1121,71	1154,28	1218,01
5,50	994,05	1090,26	2055,78	2211,97
7,50	919,62	1000,69	1913,67	2090,95
10,00	860,99	896,69	2225,76	2371,73
12,50	913,55	915,06	2218,18	2264,68
15,50	758,87	790,99	2508,63	2559,06
	AUC Total		15,195.43	15,885.57

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.

FIGURA 1. CONCENTRACIÓN PROMEDIO (ng/mL) Producto A, Warfarina MK® y Producto B, Coumadin®



En el cuadro siguiente se describen los datos farmacocinéticos proyectados para los productos A y B.

PRODUCTO	AUC (0 -t) Observada (hr*ng/mL)	$C_{m\acute{a}x}$ (ng/ml)	$T_{m\acute{a}x}$ (hr)	AUMC (0 -t) [ng-hr*hr/mL]
A: Warfarina MK®	15,195.43	1,721.59	0,75	496,936.31
B: Coumadin®	15,885.57	1,712.1	0,75	700,621.13

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 $C_{m\acute{a}x}$ 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 IC90% para cada parámetro y sus resultados se describen como:

$$D_{AUC}: \text{Ln} (AUC-A) - \text{Ln} (AUC-B) [0,88 - 1,04]$$

$$D_{C_{m\acute{a}x}}: \text{Ln} (C_{m\acute{a}x}-A) - \text{Ln} (C_{m\acute{a}x}-B) [0,92 - 1,09]$$

Se observa que las Diferencias de los promedios logarítmicos caen en el rango 0,80 y 1,25 para las variables AUC y $C_{m\acute{a}x}$.

El nivel de confianza (IC90%) para las diferencias entre los promedios logarítmicos de A y B [$\text{Ln} A - \text{Ln} B$], en las variables transformadas de AUC y $C_{m\acute{a}x}$, estableció que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos productos A y B, dado que la diferencia entre los promedios logarítmicos de las variables para Ln AUC y Ln $C_{m\acute{a}x}$ se encuentran contenidos entre 0,80 y 1,25, en el intervalo de confianza del 90%. El análisis para las variables AUC y $C_{m\acute{a}x}$ rechaza ambas hipótesis H_0 (valor $p < 0,001$). { H_0 : Razón entre los promedios geométricos T/R menor a log (0,8); H_0 : Razón entre los promedios geométricos T/R mayor a log (1,25)}. Por lo tanto se aceptan { H_a : Razón entre los promedios geométricos T/R mayor o igual a log (0,8) y H_a : Razón entre los promedios geométricos T/R menor o igual a log (1,25)}. 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 Warfarina en plasma [$T_{m\acute{a}x}$] (valor $p = 0,294$).

DISCUSIÓN

La respuesta entre los individuos a Warfarina tiene alta variabilidad, por lo cual su uso requiere una estrecha vigilancia como prerrequisito para minimizar los riesgos en la salud y la vida de los pacientes. Aun con el monitoreo estricto durante su uso y con la evaluación periódica del índice normalizado internacional (INR), no hay medidas suficientes para mantener el esquema de dosificación entre los límites del estrecho rango terapéutico. Por lo tanto, la precaución que rige durante el uso de medicamentos con Warfarina es la individualización de la dosis de acuerdo con los resultados del control del tiempo de protrombina (PT), con el propósito de alcanzar el intervalo recomendado (INR 2.0 a 3.0). A pesar de lo anterior, bibliográficamente se reportan datos de vigilancia en el tratamientos donde más del 50% de los resultados están por fuera del rango terapéutico y, por lo tanto, las posibilidades de falla del tratamiento y/o de eventos adversos es muy alta. La variabilidad de la respuesta a Warfarina está representada en múltiples factores, los que incluyen los de naturaleza genética para los grupos enzimáticos responsables de su metabolismo y/o eficiencia como los del Citocromo P450, subtipos 2C9 – CYP2C9, y la Reductasa del Epóxido de Vitamina K. Como consecuencia los propósitos y los cuidados alrededor de la calidad de los medicamentos que contienen Warfarina deben ser tenidos permanentemente en cuenta para evitar adicionar mayores factores de variabilidad e incertidumbre en la respuesta terapéutica y deben hacer parte integral de los requisitos a vigilar y cumplir en las terapias antitrombóticas.

El anterior concepto enmarca el alcance de estos estudios *in vivo* para verificar la calidad de los medicamentos de origen genérico en comparación con los comportamientos *in vitro* e *in vivo* del producto de Referencia en el mercado. Es ampliamente aceptado que la mayoría de eventos adversos y la severidad de los mismos están asociados a la terapia de inicio con Warfarina, entre ellos los asociados con eventos hemorrágicos, cardiovasculares, del sistema nervioso central, dermatológicos y hepáticos. Lo anterior constituye un reto para precisar la dosificación adecuada (Myong-Jin Kim, Shiew-Mei Huang, et. al. 2009) por el estrecho margen terapéutico de la Warfarina, la amplia variabilidad interpacientes, los factores clínicos y otros asociados como edad, género y peso, la frecuencia de eventos adversos durante su uso, así como la larga lista de factores que influyen sobre la dosis a administrar.

El propósito y las condiciones de este estudio apoyan la correlación de los resultados sobre la velocidad y cantidad absorbida con respecto a los de ensayos *in vitro*, para valoración de la cantidad de principio activo frente a las pruebas de disolución de los productos, con el fin primordial de respaldar las medidas de control de calidad en procesos y en productos terminados, para asegurar que, desde el

punto de vista farmacéutico, el medicamento contiene la cantidad prevista de principio activo y lo libera en una proporción suficiente para lograr la velocidad y la cantidad absorbida según los resultados del estudio *in vivo*. Los ensayos fisicoquímicos se respaldan en procedimientos normalizados y estandarizados nacional e internacionalmente, con constancia oficial en farmacopeas y guías (USP/NF; BP u otras). Los ensayos farmacocinéticos para las pruebas *in vivo*, por su parte, se enmarcan en guías de Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP) y Buenas Prácticas Clínicas (GCP). Por lo anterior, este estudio verificó componentes críticos y los documentó y registró debidamente como aseguramiento de la calidad de los resultados.

En este estudio se verificó el cumplimiento de las especificaciones técnicas en atributos de calidad de los productos Warfarina MK® y Coumadin®. Las muestras de los productos 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, es posible declarar la Equivalencia Farmacéutica entre ambos.

El monitoreo y seguimiento clínico de los voluntarios participantes del estudio identificó eventos adversos que se registraron en los formatos de seguimiento de casos (CRF). Los eventos presentados se resumen en: mareo (1), somnolencia (2), hipertensión asintomática (1), catarro (4), hipertermia (1), cervicalgia (1) y rinorrea (1). Todos los eventos se autorresolvieron sin ninguna intervención médica.

La correlación entre Áreas Bajo la Curva Acumuladas ($AUC_{Acumulada}$), cómo índice de la cantidad de Warfarina absorbida en el tiempo, valorada para los dos productos en iguales tiempos de muestreo, calculadas con el promedio de la concentración en el tiempo para 22 sujetos, indicó más de 99.9% de concordancia en el comportamiento *in vivo* entre los productos A y B ($R^2 = 0,999$).

De los resultados descritos y 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: Ln AUC [104,4% Ref](95,89% - 113,7%) y Ln $C_{máx}$ [100,2% Ref](91,7% - 109,1%). La expresión aritmética para los valores así calculados resultan en los siguientes datos: Proporción T/R de AUC 15,520.5 ng/mL.h (14,249.9 ng/mL.h - 16,902.5 ng/mL.h). Proporción T/R para $C_{máx}$ 1,675.1 ng/mL (1,535.3 ng/mL - 1,827.9 ng/mL). La prueba estadística para la diferencia entre los promedios logarítmicos del producto Test y de Referencia (LogT - Log R) demostró Bioequivalencia en el rango comprendidos entre 0,80 y 1,25 en intervalos limitados por: [Ln (AUC-A) - Ln (AUC-B)]: (0,88 - 1,04) y [Ln ($C_{máx}A$) - Ln ($C_{máx}B$)]: (0,92 - 1,09).

Los análisis *in vitro* realizados demuestran la Equivalencia Farmacéutica para los productos “Warfarina MK®” 5 mg tabletas del laboratorio Tecnoquímicas S.A. y “Coumadin®” 5 mg tabletas del Laboratorio Bristol-

Myers Squibb y la Biodisponibilidad y la Bioequivalencia Promedio (Average Bioequivalence) entre ellos. Por lo anterior, existen condiciones para establecer 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 (ICHR), la European Agency for Evaluation of Medicinal Products (EMA) de la Unión Europea y la Organización Mundial de la Salud (OMS).

CONCLUSIÓN

Se concluye la no diferencia estadísticamente significativa entre el producto “Warfarina MK[®]” tabletas de 5 mg de Tecnoquímicas S.A. y “Coumadin[®]” tabletas de 5 mg de Bristol – Myers Squibb de Colombia S.A, con base en las características fisicoquímicas *in vitro* e *in vivo* de absorción 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. List of World Health Organization Essential Medicines. Documento electrónico disponible en: [http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_World_Health_Organization_Essential_Medicines#Antithrombotic_medicines]
2. 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. 1467 y ss
3. Medication Guide approved by the U.S. Food and Drug Administration. Rev January 2009. Documento electrónico disponible en: [http://packageinserts.bms.com/pi/pi_coumadin.pdf]
4. Documento electrónico: Date: 07/17/2008 disponible en: [<http://www.drugs.com/coumadin.html?printable=1>]
5. Op. Cit 3 Página 418
6. Department Of Health And Human Services, Fda/Center for Drug Evaluation and Research U.S. Date created: May 30, 2006, updated March 4, 2009. Medication guide Coumadin® Tablets (Warfarin Sodium Tablets, USP) Documento electrónico disponible en: [<http://www.fda.gov/cder/Offices/ODS/MG/Coumadin.pdf>]
7. The Merck Manuals Online Medical Library. Documento electrónico disponible en: [<http://www.merck.com/mm-pe/print/lexicomp/warfarin.html>]. Last full review/revision September 2008.
8. COUMADIN tablets are trademarks of Bristol-Myers Squibb Pharma Company: Medication Guide approved by the U.S. Food and Drug Administration. Rev January 2009. Documento electrónico disponible en: [http://www.packageinserts.bms.com/pi/pi_coumadin.pdf]
9. Garcia D.A., Witt D.M., Hylek E., Wittkowsky A.K., Nutescu E.A., Jacobson A., Moll S., Merli G.J., Crowther M, Earl L, Becker R.C, Oertel L, Jaffer A, Ansell J.E. Delivery of Optimized Anticoagulant Therapy: Consensus Statement from the Anticoagulation Forum. Ann Pharmacother. 2008;42(7):979-988. Copyright, 2009. Documento electrónico disponible en: [http://medgenmed.medscape.com/viewarticle/578389_print]
10. Warfarin. PK/DB Database for Pharmacokinetic Properties. Disponible en: <http://miro.ifsc.usp.br/pkdb/resume.php?mid=MTI2MA==>
11. 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>]
12. Evans AM. In vitro-in vivo correlations in the design and evaluation of oral dosage form World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 63rd International Congress of International Pharmaceutical Federation (FIP) hold in Sydney, Australia 2003 September 5-9.
13. U.S. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. August 2000. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070246.pdf>
14. European Medicines Agency. ICH Q10: Pharmaceutical Quality System. EMEA/CHMP/ICH/214732/2007. 2008 June [<http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/ich/21473207en.pdf>]
15. INVIMA. Ministerio de Protección Social. Resolución Número 1400. Por la cual se establece la Guía de Biodisponibilidad y de Bioequivalencia de Medicamentos que trata el Decreto 677 de 1995. 2001, Agosto 24
16. SHARGEL L., WO-PONG S. And YU B.C. A. Applied Biopharmaceutics And Pharmacokinetics. Fifth Edition. McGraw Hill. United States of America, 2005. ISBN 0-07- 137550-3
17. Du Souich Patrick, Orme Michael and Erill Sergio, eds. The IUPHAR Compendium of Basic Principles For Pharmacological Research in Humans. © International Union of Basic and Clinical Pharmacology. [Documento Electrónico]. Published by IUPHAR. ISBN 0-9533510-6-X.P 55. 2004. Página visitada 21 de Agosto de 2008. [http://www.iuphar.org/clin_hu.html]
18. 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. 48th WMA General Assembly, Somerset West, Republic of South Africa, October 1996. 52nd WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000. 53th WMA General Assembly, Washington 2002 (Note of Clarification on paragraph 29 added). 55th WMA General Assembly, Tokyo 2004 (Note of Clarification on Paragraph 30 added). 59th WMA General Assembly, Seoul, October 2008. [Disponible en FEMEBA: <http://www.femeba.org.ar/index.php?op=4>]

19. Shein-Chung Chow. Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies. CRC Press 1999

20. World Health Organization. WHO Technical Report Series, No. 937. 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

21. 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

22. 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>



**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