



**MEDICAMENTOS
TOTALMENTE CONFIABLES**



Zopiclona
7,5 mg



**Estudio de
Bioequivalencia**



Zopiclona

7,5 mg



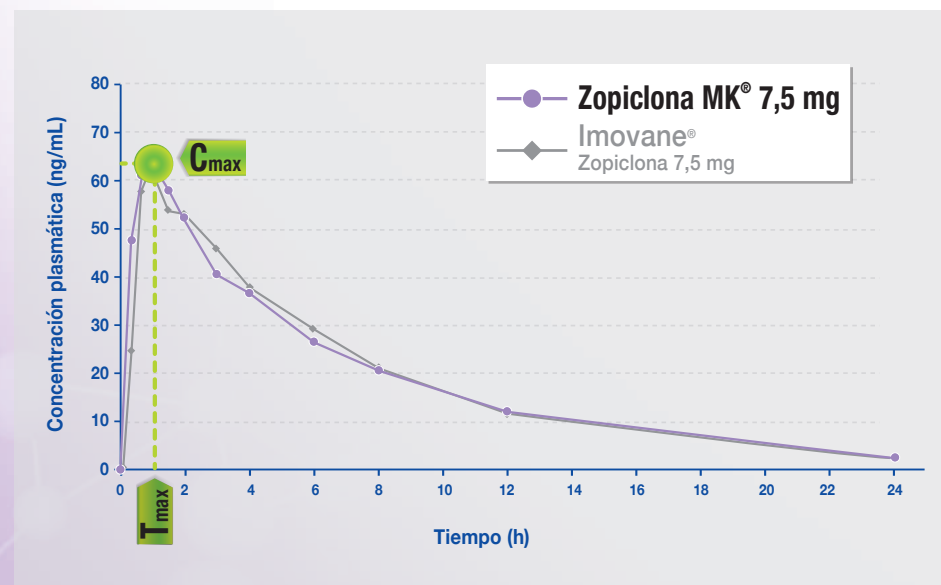
Estudio de **Bioequivalencia** realizado por
la **Universidad de Antioquia**¹

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

Promedio de los Parámetros Farmacocinéticos

Parámetro Farmacocinético	Zopiclona MK [®]	Imovane [®]	Intervalo de Confianza del 90%
C _{máx}	72,815	74,315	89,97 - 104,84
AUC _{0→∞}	560,298	543,549	97,38 - 110,59

Curvas de Biodisponibilidad



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

1. **Universidad de Antioquia.** Institución académica reconocida internacionalmente por sus investigaciones en las áreas de la salud, 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:

Indicada para el manejo de los trastornos en el ritmo del sueño y todas las formas del insomnio. También puede ser usada como sedación en premedicación, antes de intervenciones quirúrgicas o procedimientos de diagnóstico.

Presentación:

Zopiclona MK[®] caja por 10 Tabletas Cubiertas Ranuradas de 7,5 mg



Sistema
Nervioso Central

Zopiclona

7,5 mg



AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a las médicas toxicólogas Lina María Peña y Marie Claire Berrouet; al Msc Andrés Mauricio Cogollo, a la estudiante de maestría Ana Carolina Cáceres Molano y a los estudiantes de pregrado Víctor Hugo Cuervo y Wbeimar León por su colaboración en la etapa clínica del estudio.

Agradecemos también al profesor William Albeiro Álvarez por el análisis estadístico de los datos. Este estudio fue patrocinado por Tecnoquímicas S.A.

Comparación de la biodisponibilidad de dos formulaciones de Zopiclona en voluntarios sanos Colombianos

Adriana Ruiz¹, Fanny Cuesta², Paula Castaño³, Omar Correa⁴, Karina Gómez⁵, María Elena Jaramillo⁵

Universidad de Antioquia, Medellín - Colombia

RESUMEN

La Zopiclona es un agente hipnótico de acción corta utilizado en el tratamiento del insomnio primario. El objetivo de este estudio fue comparar la Biodisponibilidad de dos formulaciones de Zopiclona disponibles en el mercado colombiano: Zopiclona de 7,5 mg comercializada como Zopiclona MK® y Zopicloteg TG® (producto de Prueba) por Tecnoquímicas S.A (Cali, Col.) e Imovane® (producto de Referencia) elaborado por Sanofi-Aventis Farmacéutica Ltda. (Brasil). Con este propósito se realizó un estudio de dosis única aleatorio cruzado, con dos períodos, dos secuencias y un tiempo de lavado entre períodos de una semana. Se recolectaron muestras de sangre desde las 0 a las 24 horas después de la administración del medicamento. Los niveles plasmáticos de Zopiclona se determinaron con un método por HPLC validado bajo los parámetros de la FDA. Los intervalos de confianza del 90% para la proporción de ln AUC_{0-∞} y ln C_{máx} entre el producto de Prueba y el producto de Referencia se construyeron utilizando el criterio 80/125 como límites de Bioequivalencia. El estudio se realizó en 26 voluntarios sanos. Los parámetros farmacocinéticos estimados para Zopiclona tanto con el producto de Prueba como con el de Referencia fueron C_{máx} 72,815 ± 20,54 ng/mL, 74,315 ± 18,04 ng/mL; AUC₀₋₂₄ 467,297 ± 92,21 ng.h/mL, 460,996 ± 115,81 ng.h/mL, y para AUC_{0-∞} 560,298 ± 118,58 ng.h/mL, 543,549 ± 136,97 ng.h/mL, respectivamente. Los intervalos de confianza del 90% para la proporción producto de Prueba/producto de Referencia, de los datos ln-transformados de AUC_{0-∞} y C_{máx} fueron 97,38% - 110,59% y 89,97% - 104,84%, respectivamente.

Conclusión: En este estudio de dosis única se encontró que el producto de Prueba de 7,5 mg de Zopiclona cumple con los criterios de Bioequivalencia con respecto a la velocidad y la extensión de la absorción.

Keywords: Zopiclona, Imovane®, Biodisponibilidad, Bioequivalencia, Farmacocinética, HPLC

AUTORES:		
1. Adriana Ruiz, Departamento de Farmacia, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Profesora Departamento de Farmacia Universidad de Antioquia Teléfono: (57 4) 219 54 78 Fax: (57 4) 219 54 59 A.A.: 1226 Medellín, Colombia e-mail: amaria.ruiz@udea.edu.co	2. Fanny Cuesta, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.	5. Karina Gómez, Departamento de Farmacia, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
	3. Paula Castaño, IPS Universitaria, Clínica León XIII, Medellín, Colombia.	6. María Elena Jaramillo, Departamento de Farmacia, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
	4. Omar Correa, Departamento de Farmacia, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.	

INTRODUCCIÓN

La Zopiclona es un agente hipnótico de acción corta cuya estructura química corresponde a un derivado de la ciclopirrolona, que a pesar de no estar químicamente relacionada con los hipnóticos existentes, presenta un perfil farmacológico similar a las Benzodiacepinas^(1,2) al enlazarse con gran afinidad a los receptores farmacológicos de éstas³. Después de su administración por vía oral⁽⁴⁾ se absorbe rápidamente con una biodisponibilidad aproximada del 80%. Las concentraciones sanguíneas máximas se alcanzan después de 1,5 a 2,0 horas, con un máximo aproximado entre 30 ng/mL y 60 ng/mL, después de la administración de una dosis de 3,75 mg y 7,5 mg, respectivamente. La absorción no se ve modificada por el género, los alimentos y la repetición de la dosis⁽⁵⁾. Se une a las proteínas del plasma entre un 45 a 80% por lo que existe un riesgo de interacciones medicamentosas debido a este factor. Se distribuye amplia y rápidamente hacia los tejidos incluyendo el cerebro. Su volumen de distribución es de 91,8-104,6 litros. Se metaboliza parcialmente en el hígado en dos metabolitos un derivado N-desmetilado, inactivo y otro N-oxidado, activo y es excretada por la orina, saliva y leche materna. Adicionalmente, alrededor del 50% de la dosis administrada es descarboxilada y eliminada por los pulmones. Menos del 7% de la dosis se excreta renalmente sin metabolizarse. Su vida media de eliminación está en un rango entre 3,5 a 6,5 horas. Con la edad la farmacocinética de la Zopiclona se ve alterada debido a las variaciones en el funcionamiento hepático y renal. Debido a que las reacciones adversas están relacionadas con la dosis, los pacientes ancianos deben dosificarse con la dosis mínima efectiva. La Zopiclona debe administrarse con precaución en pacientes con historia de abuso de drogas⁽⁶⁾.

La absorción de un principio activo y por ende su Biodisponibilidad puede ser afectada por los excipientes utilizados en la elaboración de la forma de dosificación, por lo que es probable que un fármaco, en la misma forma de dosificación, producido por diferentes laboratorios farmacéuticos presente diferencias en la magnitud y velocidad de su absorción; por lo que se hace necesario verificar la Biodisponibilidad del principio activo en formulaciones diferentes a las del producto innovador.

Teniendo en cuenta lo anterior, Tecnoquímicas S.A. solicitó al Grupo de Estudios e Investigaciones Biofarmacéuticas la determinación de la Bioequivalencia de su formulación de tabletas de Zopiclona de 7,5 mg comercializada como Zopiclona MK® y Zopicloteg TG®, con respecto al producto innovador Imovane®. Con los resultados de este estudio se tendrán las bases científicas para atribuir la equivalencia terapéutica a dicho producto.

SUJETOS Y METODOS

Productos a evaluar

El producto de Prueba fue ZOPICLONA 7,5 mg tabletas, elaborado y comercializado por Tecnoquímicas S.A (Cali, Colombia) como Zopiclona MK® y Zopicloteg TG®, Lote H2036, proporcionado por el laboratorio fabricante. El producto de Referencia fue IMOVANE® Zopiclona 7,5 mg, lote 323392, elaborado por Sanofi-Aventis Farmacéutica Ltda, adquirido en una farmacia local.

Antes del estudio de Bioequivalencia los productos fueron sometidos a control de calidad. Se evaluaron parámetros de calidad como potencia, disolución y uniformidad de dosis, utilizando las técnicas analíticas proporcionadas por el laboratorio fabricante del producto de Prueba. Estos análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio Especializado de Análisis de la Facultad de Química Farmacéutica, de la Universidad de Antioquia. Se consideró que los productos eran adecuados para llevar a cabo el estudio de Bioequivalencia si el contenido de principio activo del producto de Prueba no difería en más del 5% del contenido de principio activo del producto de Referencia; el porcentaje promedio de principio activo disuelto en 45 minutos no era menor del 80%, y el valor de aceptación para la uniformidad de dosis, realizada sobre 10 tabletas, era menor o igual a 15%.

Sujetos

Se consideraron aptos para participar en el estudio mujeres y hombres sanos con edades comprendidas entre 18 y 30 años, no fumadores y dentro del 15% del peso ideal para la estatura (Metropolitan Life Insurance Company Statistical Bulletin, 1983)⁽⁷⁾. Como criterios de inclusión se tuvieron en cuenta aspectos como: sujetos no fumadores, sin problemas de abuso de drogas, que no presentaran historia de enfermedad aguda o crónica, o evidencia de alteraciones hepáticas, renales o hematológicas; es decir, que los resultados de las pruebas paraclínicas (hemograma completo, alaninoamino transferasa, aspartatoamino transferasa, bilirrubina total, directa e indirecta, creatinina en suero) se encontraran dentro del rango de los valores de referencia establecidos por los estándares internacionales y con resultados negativos para las pruebas de VIH y hepatitis B. Además, en los días de la administración del medicamento, los resultados de prueba de embarazo en las mujeres debía ser negativo y las pruebas de alcohol y drogas de abuso debían ser también negativos en todos los voluntarios.

Los sujetos fueron informados por un investigador acerca de los propósitos y riesgos del estudio y firmaron los consentimientos informados correspondientes. Se solicitó además que se abstuvieran de tomar medicamentos de

REFERENCIAS

1. <http://products.sanofi.ca/en/imovane.pdf>, Hypnotic and Sedative. Canada Inc.l, Quebec H7L 4A8.
2. Assessment of zopiclone. www.who.int/medicines/areas/quality_safety/4.6_ZopicloneCritReview.pdf.
3. Blanchard JC, Boireau A, Garret C, Julou L. (1979) In vitro and in vivo inhibition by zopiclone of benzodiazepine binding to rodent brain receptors. Life Sci., 24: 2417-2420.
4. Fernandez C, Martin C, Gimenez F, Farinotti R. (1995) Clinical pharmacokinetics of zopiclone. Clin Pharmacokin. 29(6):431-41.
5. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency. Zopiclone 7.5mg Tablets (Zopiclone) PL 08215/0049.
6. Bauer U. (2001) Benzodiazepines and benzodiazepine receptor agonists in the treatment of sleep disorders importance and dangers. Evaluation from the clinical medical view. Z Arztl Fortbild Qualitatssich. 95(1):17-21.
7. Metropolitan Life Desirable weights of adults. <http://www.halls.md/ideal-weight/met.htm>.
8. World Medical Association – WMA. Declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. (2013) Fortaleza. Brasil.
9. República de Colombia. Ministerio de la Protección Social. (2008) Resolución N° 2378.
10. República de Colombia. Ministerio de la Protección Social. (1993) Resolución N° 008430
11. Paw B. Misztal G (2000) Rapid and Simple Method for the Determination of Zopiclone in Plasma by HPLC. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies. 23(18): 2873–2882.
12. Nirogi RV, Kandikere VN, Mudigonda K (2006) Quantitation of zopiclone and desmethylzopiclone in human plasma by high-performance liquid chromatography using fluorescence detection. Biomed. Chromatogr. 20: 794–799.
13. FDA. Guidance for Industry. (2013) Bioanalytical Method Validation.
14. FDA. Guidance for Industry E9 Statistical Principles for Clinical Trials (1998) U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration.
15. Caille G, du Souich P, Spenard J, Lacasse Y, Vezina M. (1984) Pharmacokinetic and clinical parameters of zopiclone and trimipramine when administered simultaneously to volunteers. Biopharm Drug Dispos. ;5(2):117-25.
16. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA). MHRA PAR – Zopiclone 7.5mg tablets PL 08215/0049 <http://www.mhra.gov.uk/home/groups/l-unit1/documents/websiteresources/con2023057.pdf>
17. Si Tian - mei, SHU Liang, ZHANG Hong - yan, SUN Li - li . (2006-03) Bioequivalence of zopiclone tablet in Chinese healthy volunteers: The Chinese Journal of Clinical Pharmacology. Published: Sunday, Source: <http://www.shvoong.com/tags/bioequivalence-of-zopiclone/#ixzz3BLTfjPeE>.
18. Zhang Mengcai, Pan Songwei. (2010) Bioequivalence of Zopiclone Tablet in Healthy Volunteers. China Pharmacist.
19. FDA Food and Drug Administration (2001) Guidance for industry statistical approaches to establishing bioequivalence.

Farmacocinética y análisis estadístico

Con los datos obtenidos de cada voluntario, para cada producto, se realizó la curva concentración plasmática versus tiempo y se calcularon los valores de las siguientes variables farmacocinéticas:

La concentración máxima ($C_{\text{máx}}$), y el tiempo para alcanzar dicha concentración ($T_{\text{máx}}$), se obtuvieron de los datos de concentración plasmática obtenidos para cada voluntario. El área bajo la curva de tiempo cero hasta el último tiempo de muestreo, AUC_{0-t} , se calculó por medio del método de los trapecios. El área total bajo la curva, concentración plasmática - tiempo ($AUC_{0-\infty}$), se determinó sumando el AUC_{0-t} a el $AUC_{t-\infty}$. Este último se calculó como el cociente entre la última concentración plasmática cuantificable y la constante de eliminación (k_e).

k_e se calculó por regresión lineal de la parte final de la curva obtenida de graficar logaritmo de concentración –tiempo.

Los parámetros farmacocinéticos $AUC_{0-\infty}$, $C_{\text{máx}}$ y $T_{\text{máx}}$ fueron evaluados por medio de análisis de varianza (ANOVA), para determinar si se presentaban diferencias significativas en los valores de la variable estudiada debidas a la influencia de cada una de las fuentes de variación: intersujetos (secuencia de administración) e intrasujetos (periodo y formulación).

Los datos también fueron analizados con relación a los supuestos del modelo cruzado, dos periodos, dos secuencias, dos formulaciones, para evaluar: el efecto de arrastre (carry over) en las dos formulaciones, el efecto de periodo y de productos, la variabilidad intersujeto, la variabilidad intrasujeto (prueba F ajustada de Pitman–Morgan), normalidad de los residuos intersujetos e intrasujetos (prueba de normalidad de Shapiro – Wilk), Independencia de los residuos {sik} y {eijk}, usando el coeficiente de correlación de Pearson o Spermam, datos fuera de lo normal (outliers) para las variables p-r, p/r y ln p/r, de los datos sin transformar, empleando las cajas esquemáticas del análisis exploratorio de datos; siendo p el producto de Prueba y r el producto de Referencia. La diferencia se consideró estadísticamente significativa cuando el valor p es igual o menor que 0,05.

Para concluir la Bioequivalencia se aplicó el método sugerido por Schuirmann y aceptado por la FDA⁽¹⁴⁾ conocido como el “método de la prueba unilateral doble”, teniendo en cuenta el error estándar del ANOVA calculado para cada parámetro. Con este se construyeron intervalos de confianza del 90% para el cociente entre las medias del producto de Prueba y el producto de Referencia.

Se acepta Bioequivalencia si el intervalo de confianza para la media del producto de Prueba está comprendido

entre el intervalo de confianza del 80% al 125% construido con la media del producto de Referencia.

RESULTADOS

Control de calidad de los productos

Los resultados de contenido de principio activo, disolución y valor de aceptación para la uniformidad de dosis tanto del producto de Prueba como el de Referencia se muestran en la Tabla 1. El producto de Prueba presentó una diferencia del 1% con respecto al producto de Referencia, en relación al contenido de principio activo.

TABLA 1. Resultados de los ensayos de contenido de principio activo (media del porcentaje de principio activo por tableta), disolución (media del porcentaje de ingrediente activo disuelto ± la desviación estándar) y ensayo de uniformidad de dosis (valor de aceptación en porcentaje) de los productos de Prueba y de Referencia.

Parámetro	Contenido de fármaco (%)	Disolución (%)	Uniformidad de dosis (%)
Prueba	98,2	95,2 ± 3,0	6,5
Referencia	99,2	96,8 ± 1,7	4,6

Sujetos

El estudio se realizó en veintiséis (26) sujetos, 10 hombres y 16 mujeres, con edades comprendidas entre 18 y 30 años, con un promedio de 21,9 ± 2,4 años. Sus pesos variaron entre 44,0 y 78,3 kilos, con un promedio de 60,5 ± 8,7 kilos, y la estatura osciló entre 1,49 y 1,81 m, con un promedio de 1,66 ± 0,09 m.

Tolerabilidad

En el primer y segundo periodo ocho voluntarios presentaron sabor metálico tanto con el producto de Prueba como con el de Referencia. En el primer periodo un voluntario presentó vómito leve a las 8:15 a.m., al revisar éstos fluidos no se encontró la tableta administrada, otros cuatro presentaron hipo con el producto de Prueba, mientras que con el producto de Referencia dos presentaron diarrea y dos dolores abdominales. En el segundo periodo dos sujetos presentaron diarrea, dos mareo y dos dolores abdominales con el producto de Prueba y con el producto de Referencia dos presentaron náusea y cuatro cefalea.

Validación del Método bioanalítico

Los cromatogramas de seis blancos mostraron una pequeña interferencia en el tiempo de retención de la Zopiclona por lo que el cromatograma del blanco obtenido para cada voluntario, fue restado de los cromatogramas de las muestras correspondientes. El mismo procedimiento se

realizó con las curvas de calibración. No se encontraron interferencias en el tiempo de retención del clobazam.

Las curvas de calibración de Zopiclona en plasma fueron lineales en un rango entre 5 y 100 ng/mL, con un coeficiente de correlación promedio de 0,9990 para ensayos interdía y 0,9994 para ensayos intradía. El límite de cuantificación fue de 5,0 ng/mL. La recuperación de Zopiclona tuvo un valor promedio de 84,29% que varió entre 70,04% y 98,16%. Los porcentajes de error promedio para una concentración baja (10 ng/mL), media (40 ng/mL) y alta (100ng/mL) fueron de 11,99%, 4,50% y 0,60%, respectivamente para los ensayos de exactitud intradía y de 7,40%, 4,56% y 1,17% para los ensayos interdía. Para los ensayos de precisión intradía estos valores fueron 12,40%, 4,84% y 0,64%, mientras que para los ensayos interdía fueron de 8,83%, 4,06% y 0,69%. Los resultados obtenidos del estudio de estabilidad mostraron que la Zopiclona fue estable a -20°C durante el periodo de análisis (cuatro meses).

Farmacocinética y análisis estadístico

La representación gráfica de los perfiles de concentración plasmática versus tiempo se presentan en la Figura 1. La media, la desviación estándar, $C_{\text{máx}}$ y $T_{\text{máx}}$ y otros parámetros farmacocinéticos aparecen en la Tabla 2.

FIGURA 1. Perfiles de concentración plasmática media de Zopiclona versus tiempo después de la administración oral de una dosis única de 7,5 mg del producto de Prueba y del producto de Referencia a 26 voluntarios sanos.

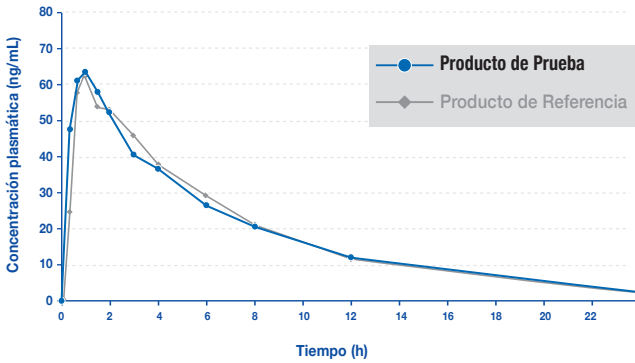


TABLA 2. Parámetros farmacocinéticos (media (desviación estándar)) después de la administración de una dosis oral de Zopiclona 7,5 mg de dos productos a voluntarios colombianos sanos (n=26)

Parámetro	Producto de Prueba	Producto de Referencia
$C_{\text{máx}}$ (ng/mL)	72,815 (20,54)	74,315 (18,04)
$T_{\text{máx}}$ (h)	0,939 (0,39)	1,068 (0,69)
K_e (h ⁻¹)	-0,1270 (0,05)	-0,1318 (0,05)
$t_{1/2}$ (h)	6,377 (2,60)	6,064 (2,29)
AUC_{0-24} (ng.h/mL)	467,297 (92,21)	460,996 (115,81)
$AUC_{0-\infty}$ (ng.h/mL)	560,298 (118,58)	543,549 (136,97)

Ninguno de los efectos examinados con ANAVA para $AUC_{0-\infty}$ y $C_{\text{máx}}$ (tratamiento, periodo, secuencia) fueron estadísticamente significativos. No hubo efecto de arrastre para ninguno de los parámetros, la variación intra sujeto fue similar para ambas formulaciones en cada uno de los parámetros medidos. No se encontró correlación entre los residuos, lo que permite concluir que los residuos inter e intra sujetos son independientes para cada una de las variables. Sin embargo, se observó que el voluntario 44 presentó valores para la formulación de Prueba mayores a los de la formulación de Referencia para el parámetro $C_{\text{máx}}$.

La proporción de ln de la media de $AUC_{0-\infty}$ del producto de Prueba y el producto de Referencia, así como la proporción para ln $C_{\text{máx}}$ y el Intervalo de confianza del 90%, correspondiente a cada parámetro se presentan en la Tabla 3.

TABLA3. Relación de las medias para el producto de Prueba/ producto de Referencia e intervalos de confianza del 90% de los datos transformados a ln para los parámetros $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$.

Parámetro	Relación Prueba/Referencia	IC 90%
$C_{\text{máx}}$ (ng/mL)	0,9932	89,97% - 104,84%
$AUC_{0-\infty}$ (ng/mL) x h	1,0059	97,38% - 110,59%

DISCUSIÓN

Antes de la evaluación de Bioequivalencia, las formulaciones de Prueba y de Referencia fueron analizadas para determinar su equivalencia farmacéutica. Los resultados encontrados demostraron que ambos productos cumplieran con los requerimientos (Tabla 1) y las diferencias encontradas en potencia y disolución fueron pequeñas, indicando la probabilidad de similitud en sus parámetros farmacocinéticos.

No se presentaron reacciones adversas que hicieran necesario el retiro de voluntarios. Todos los efectos adversos registrados en cada periodo se consideraron leves, se observaron con ambas formulaciones y fueron consistentes con los efectos secundarios reportados para la Zopiclona. El efecto adverso que se presentó con más frecuencia en ambos tratamientos fue el sabor metálico como ha sido encontrado en otros estudios⁽¹⁵⁾. Todos los efectos adversos se resolvieron espontáneamente al final de cada periodo del estudio.

En la fase analítica las concentraciones plasmáticas por encima del límite de cuantificación (5 ng/mL) se encontraron desde las 0 hasta las 24 horas después de la administración de los productos. En 10 de los 26 voluntarios se observaron fluctuaciones de las concentraciones plasmáticas después de alcanzada la $C_{\text{máx}}$, sin efecto en el perfil plasmático promedio de cada formulación.

Ambas formulaciones mostraron gran variación en la absorción, ya que en algunos sujetos las concentraciones plasmáticas alcanzaron su valor máximo en el primer tiempo de muestreo, mientras que en otros se alcanzaron a las tres horas después de la administración de la formulación. Estas variaciones se evidenciaron en las desviaciones estándar obtenidas de los valores promedios del tiempo máximo (Tabla 2) y también ha sido encontrada en otros estudios⁽¹⁶⁾.

Los valores para los parámetros farmacocinéticos, $AUC_{0-\infty}$, $C_{\text{máx}}$, $T_{\text{máx}}$ y $t_{1/2}$, obtenidos en este estudio fueron comparados con los encontrados en otras evaluaciones de Bioequivalencia^(16, 17, 18)(Tabla 4) y se encontró semejanza entre los datos obtenidos en todos los estudios con excepción de los valores de $C_{\text{máx}}$, para el producto de Prueba y el producto de Referencia, encontrados por SI Tian-mei y col.⁽¹⁷⁾ en una evaluación realizada en 22 voluntarios, de sexo masculino en China. Estos resultados fueron realmente bajos

(20,26±4,88 ng/mL y 20,22±4,59 ng/mL) y se encuentran por fuera del rango de valores en los demás estudios (62,669±18,27 ng/mL y 77,98±15,06 ng/mL).

El análisis estadístico mostró semejanza con relación al $AUC_{0-\infty}$ y $C_{\text{máx}}$ entre las formulaciones de Prueba y de Referencia, con intervalos de confianza del 90% para la relación de las medias (producto de Prueba/producto de Referencia) que se ajustan a los requerimientos de la FDA para medicamentos genéricos⁽¹⁹⁾.

Los resultados de las determinaciones analíticas en las muestras de plasma de los sujetos, los parámetros farmacocinéticos hallados y los análisis estadísticos realizados, permiten llegar a la conclusión de Bioequivalencia entre los dos preparados de Zopiclona, después de haber sido administrados a 26 voluntarios sanos de acuerdo al diseño experimental aceptado para este tipo de evaluaciones.

TABLA 4. Parámetros farmacocinéticos de Zopiclona (media ± DS) encontrados en diferentes estudios, en voluntarios sanos de diferentes poblaciones después de la administración de tabletas de 7,5 mg.

Parámetro	Población							
	Colombiana ^a n=26		Europea ^b n=26		China 1 ^c n=24		China 2 ^d n=22	
	P ^e	R ^f	P	R	P	R	P	R
$AUC_{0-\infty}$ (ng*h/mL)	467,297± 92,21	460,996± 115,81	460,319± 122,14	468,396± 165,36	---	---	---	---
$C_{\text{máx}}$ (ng/mL)	72,815± 20,54	74,315± 18,04	67,869± 12,05	62,669± 18,27	72,68± 11,59	77,98± 15,06	20,26± 4,88	20,22± 4,59
$T_{\text{máx}}$ (h)	0,939± 0,39	1,068± 0,69	1,229± 0,86	1,794± 0,91	1,45± 0,64	1,33± 0,34	0,89± 0,31	1,03± 0,33
$t_{1/2}$ (h)	6,377± 2,60	6,064± 2,29	6,572± 1,06 ^g	6,731± 1,72 ^g	5,40± 1,72	5,62± 1,95	6,58± 2,10	6,99± 2,65

a. Datos presentados es este estudio; **b.** Referencia⁽¹⁶⁾; **c.** Referencia⁽¹⁸⁾; **d.** Referencia⁽¹⁷⁾; **e.** Producto de Prueba; **f.** Producto de Referencia; **g.** Calculada a partir de los datos para el coeficiente de variación y la media reportados en el estudio.

prescripción, suplementos de dieta y productos naturales, desde 15 días antes de la primera dosificación, hasta finalizar la toma de las muestras. Se prohibió la ingesta de productos que contuvieran alcohol, cafeína y/o xantinas 48 horas antes de la primera administración y durante el tiempo de obtención de las muestras. Los sujetos permanecieron en ayunas mínimo por 12 horas antes de recibir el medicamento.

Diseño del estudio

Tanto el protocolo como el consentimiento informado fueron revisados y aprobados por el comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. El estudio fue realizado de acuerdo a los principios de la declaración de Helsinki⁽⁸⁾, las Buenas Prácticas Clínicas⁽⁹⁾ y la resolución No. 8430 del Ministerio de la Protección Social, República de Colombia⁽¹⁰⁾.

El estudio se llevó a cabo utilizando un diseño aleatorio cruzado, con dosis única, por vía oral, en dos periodos, con dos tratamientos, dos secuencias y un tiempo de lavado de una semana entre periodos. De acuerdo con la designación establecida al azar cada voluntario recibió en el periodo I, el primer tratamiento que consistió de una tableta del producto de Referencia o del producto de Prueba y después de una semana, en el periodo II, recibió como segundo tratamiento una tableta del producto que no recibió en el periodo anterior.

Condiciones de la administración del producto y toma de muestras

Los sujetos fueron confinados en el hospital una hora antes de la administración de la Zopiclona, hasta completar un tiempo de muestreo de 24 horas. Durante la primera hora se tomó una muestra de orina a cada voluntario para verificar la ausencia de drogas ilícitas, alcohol y de embarazo en mujeres. Se monitorearon los signos vitales y se insertó un catéter en la vena antecubital; posteriormente, se suministró a cada sujeto una dosis del producto de Prueba o de Referencia con 240 mL de agua a temperatura ambiente.

Los voluntarios permanecieron en posición semisentada las tres horas siguientes a la administración del medicamento para garantizar un vaciamiento gástrico adecuado; luego permanecieron en reposo o deambularon en áreas reducidas, durante el tiempo de confinamiento. Los signos vitales fueron monitoreados después de la administración del medicamento y se midieron nuevamente a los voluntarios que presentaron reacciones adversas. Durante la hospitalización, los voluntarios estuvieron bajo vigilancia médica constante y durante el periodo de lavado mantuvieron contacto con los investigadores para reportar cualquier reacción adversa.

Los voluntarios recibieron el mismo menú, en el mismo horario, en ambos periodos: 2,5; 5; 8,5; 11; 14 y 24,5 horas después de la dosificación (desayuno, almuerzo, refrigerio, cena, merienda y desayuno al día siguiente).

Las muestras de sangre fueron obtenidas a las 0:00, 0:20, 0:40, 1:00, 1:30, 2:00, 3:00, 4:00, 6:00, 8:00, 12:00 y 24:00 horas, éstas fueron recolectadas en tubos vacutainer heparinizados (BD Franklin Lakes, NU, U.S.A) y luego fueron centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos. El plasma obtenido de cada muestra se dividió en tres crioviales, uno de ellos se congeló a -20°C hasta el momento del análisis. Los otros dos fueron almacenados a -190°C, en nitrógeno líquido, como muestras de retención.

Tolerabilidad

Las posibles reacciones adversas fueron monitoreadas durante los dos periodos del estudio y el periodo de lavado, a través de entrevistas y reportes de los sujetos a los que se les solicitó notificar cualquier síntoma ocurrido después de iniciado el estudio. El personal médico clasificó las reacciones adversas como leves (si no interfieren con las actividades diarias), moderadas (si interfiere con las actividades diarias, pero no obligan a la suspensión del medicamento) o severas (ponen en riesgo al voluntario y requieren intervención médica inmediata).

Determinación de las concentraciones de Zopiclona en plasma

La determinación de Zopiclona en plasma se realizó mediante técnicas de extracción líquido-líquido y posterior análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizando como estándar interno clobazam. Se tomaron como punto de partida los artículos publicados por Paw y Misztal⁽¹¹⁾ y Nirogi, Kandikere y Mudigonda⁽¹²⁾, buscando, con base en las características físico-químicas de la Zopiclona, mejorar la resolución y la sensibilidad del método.

Las muestras individuales fueron sometidas a extracción líquido-líquido con tolueno. Luego de agitación se centrifugaron, el sobrenadante fue evaporado bajo corriente de nitrógeno y se reconstituyó con 200 µl de fase móvil; de estos, 100 µl fueron inyectados a un cromatógrafo líquido equipado con una Columna C18 Eclipse Plus 5 µm, 4,6x150 mm a 30° C. Como fase móvil se utilizó una mezcla buffer fosfato de amonio 20mM pH 4.5: MeOH (47:53). El efluente fue monitoreado con un detector ultravioleta de longitud de onda variable a 305 nm para Zopiclona, y 229 nm para el clobazam.

El procedimiento analítico fue validado de acuerdo a los parámetros establecidos por la FDA para métodos bioanalíticos⁽¹³⁾ Muestras de controles de calidad (10 ng, 40 ng y 80 ng) se incluyeron en el análisis de las muestras de cada voluntario para garantizar la validez de la corrida.