



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
SECCIÓN DE POSGRADO

EVALUACIÓN DE LA BIOEQUIVALENCIA DE DOS  
FORMULACIONES DE SUSPENSIÓN DE  
SULFAMETOXAZOL GENÉRICO EN *Oryctolaulus L.*,  
AÑO 2008

PRESENTADA POR  
ANGEL TITO ALVARADO YARASCA

TESIS PARA OPTAR GRADO DE MAESTRO EN  
CIENCIAS BÁSICAS MÉDICAS CON MENCIÓN EN FARMACOLOGÍA

LIMA – PERÚ

2010



**Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada**

**CC BY-NC-ND**

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede cambiar de ninguna manera ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
ESCUELA DE POST GRADO

**EVALUACIÓN DE LA BIOEQUIVALENCIA DE DOS  
FORMULACIONES DE SUSPENSIÓN DE SULFAMETOXAZOL  
GENÉRICO EN *Oryctolagus cuniculus L*, AÑO 2008**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO EN  
CIENCIAS BÁSICAS MÉDICAS CON MENCIÓN EN FARMACOLOGÍA**

**PRESENTADO POR**

**ANGEL TITO ALVARADO YARASCA  
Bachiller en Farmacia y Bioquímica**

**LIMA – PERÚ**

**2010**

## **ASESORES**

**Benjamín Castañeda Castañeda**

Doctor en Medicina

**Jorge Ruiz Dávila**

Magíster en Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Texas-USA

## **JURADO**

**DR. BENJAMÍN CASTAÑEDA CASTAÑEDA**

Docente de Farmacología

Facultad de Medicina Humana, USMP

**Presidente del Jurado**

**DR. HUMBERTO POMA TORRES**

Docente y Médico Asistente

Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen

ESSALUD

**Miembro del Jurado**

**DR. TEODORO OSCANOVA ESPINOZA**

Docente de Farmacología

Facultad de Medicina Humana, USMP

**Miembro del Jurado**

## **DEDICATORIA**

### **A Laura Vera Román**

Mi amor, a ella mi eterno agradecimiento por compartir los días de mi vida.  
Te amo hoy, mañana y siempre.

### **A Erick y André**

Mis hijos, fruto de mi amor y razón sentida de mi vida.  
Los adoro y amo, que sean felices por siempre.

### **A Nica**

Mi mami, por ella tengo una vida feliz.  
Nunca te olvido. Gracias, por haberme dado tanto.

## **AGRADECIMIENTOS**

A **Benjamín Castañeda Castañeda**

Doctor en Medicina Humana

Agradecido por sus finos aportes a la presente investigación

A **Jorge Ruiz Dávila**

Magíster en Ciencias Farmacéuticas

Agradecido por su aporte en la parte experimental y científica

A **Hugo Villanueva Vílchez**

Profesor de Fisicoquímica

Agradecido por su enseñanza de la química médica

## ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
MATERIAL Y MÉTODO	6
RESULTADOS	12
DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	36
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	45



## RESUMEN

### OBJETIVO

Comparar la bioequivalencia de dos fórmulas farmacéuticas en suspensión de sulfametoxazol/trimetoprima multifuentes en conejos.

### MATERIALES Y MÉTODO

Ensayo experimental de dos períodos, separados por 5 tiempos de vida media, dos tratamientos (T/R), cruzados, al azar, con una dosis única de 100 mg/kg en cada período. En cada secuencia, se emplearon 6 conejos albinos machos homogéneos en edad, peso y clínicamente sanos. Se obtuvieron muestras de sangre de la vena marginal de la oreja del conejo a intervalos apropiados para análisis farmacocinético. Los parámetros farmacocinéticos primarios para determinar la bioequivalencia de las dos formulaciones farmacéuticas de los multifuentes T1 lote 00885297 y T2 lote 001001304, fueron el área bajo la curva de concentración-tiempo ( $ABC_{0-t}$ ) y la concentración plasmática máxima del fármaco ( $C_{max}$ ). Siendo el medicamento de referencia R el Bactrim lote RJ0468.

### RESULTADOS

Se demostró bioequivalencia entre el multifuente T1 y el R (n=12) utilizando la transformación logarítmica y la sumatoria de los trapecios para el  $ABC_{0-t}$  (relación 1,07; IC90% 0,88 a 1,01) y el  $C_{max}$  (relación 1,07; IC90% 0,88 a 1,03). Ambos parámetros se encuentran dentro del rango aceptable de bioequivalencia de 0,80 a 1,25, mientras que el multifuente T2 no presenta bioequivalencia.

### CONCLUSIONES

El multifuente T1, a una dosis de 100 mg/kg de masa corporal de conejo sano, es bioequivalente con el referente.

Palabras clave: Bioequivalencia, medicamento multifuente, medicamento de referencia.



## ABSTRACT

### OBJECTIVE

To compare the bioequivalence of two pharmaceutical formulations in suspension of sulfamethoxazole/trimethoprim multisource in rabbits.

### MATERIALS AND METHODS

Experimental assay of two periods separated by 5 half-lives, two treatments (T/R), crossover, randomized, single dose of 100 mg/kg in each period. In each sequence were used 6 male albino rabbits white, homogeneous age and weight, clinically healthy. Blood samples were obtained from the marginal ear vein of rabbits at appropriate intervals for pharmacokinetic analysis. The primary pharmacokinetic parameters to determine the bioequivalence of two pharmaceutical formulations of the multisource T1, lot 00885297 and T2, lot 001001304, were the area under the concentration-time curve ( $ABC_{0-t}$ ) and maximum plasma drug concentration ( $C_{max}$ ). As the reference medicine R lot RJ0468 was Bactrim.

### RESULTS

Bioequivalence was demonstrated between the multisource T1 and R ( $n = 12$ ) using the logarithmic transformation and the sum of the trapezoids for  $ABC_{0-t}$  (ratio 1,07; 90% CI 0,88 to 1,01) and  $C_{max}$  (ratio 1,07; 90% CI 0,88 to 1,03). Both parameters are within the acceptable range for bioequivalence of 0.80 to 1.25. While the T2 multisource does not presents bioequivalence.

### CONCLUSIONS

The multisource T1 at a dose of 100 mg / kg body mass of healthy rabbit is bioequivalent to the reference.

**Keywords:** Bioequivalence, multisource drug, drug reference.

## I. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud ha estimado que más del 10% de los medicamentos que circulan a nivel mundial son falsificados, y en los países en desarrollo llegan hasta un 25%.<sup>1</sup> Éste problema se agrava por los elevados precios de los medicamentos, como se evidenció en un estudio realizado por el Ministerio de Salud, en el que se reporta que sólo el 45% de los pacientes atendidos en sus centros asistenciales, adquirieron sus medicamentos.<sup>2,3,4</sup> Fonseca refiere en un estudio sobre el precio de los medicamentos genéricos, que en España es un 25 % y, en Estados Unidos de Norteamérica, es un 90 % menos, respecto al innovador<sup>5</sup>; en el Perú llegan hasta un 378 % menos.<sup>6</sup> En el año 2002, se reportó en los Estados Unidos que, alrededor de 47 % de las recetas médicas, fueron de medicamentos genéricos.<sup>7</sup> La demanda por productos de bajo precio está en aumento en el Perú y el mundo. Pero, para que los medicamentos multifuentes se constituyan en una alternativa de accesibilidad y disponibilidad para la población peruana de bajos recursos económicos, deben tener estudios de bioequivalencia que permitan predecir que se comportarán como equivalentes terapéuticos,<sup>8</sup> y ser denominados medicamentos multifuentes intercambiables.<sup>9,10</sup>

Los estudios preliminares sobre la bioequivalencia del sulfametoxazol se han realizado por el método de cromatografía líquida de alta presión. Amini<sup>11</sup> y Athanassiou,<sup>12</sup> cuantificaron al sulfametoxazol en plasma de voluntarios sanos.

Ilupeju lo determinó en orina de humanos.<sup>13</sup> Pereira y Cass determinaron el cotrimoxazol en leche de bovinos.<sup>14</sup> Mientras que Sumano y cols. lo determinaron en el plasma de cerdos criollos.<sup>15</sup> En nuestro país, no se han realizado estudios de bioequivalencia de los medicamentos multifuentes, lo que justifica su estudio, aplicando el método espectrofotométrico de bajo costo y utilizando como modelo experimental a los conejos machos albinos, basados en los requisitos de la Organización Mundial de la Salud,<sup>16,17</sup> con lo cual pretendemos contribuir a implementar los estudios de bioequivalencia en el Perú, para obtener medicamentos multifuentes intercambiables.

Al respecto, los medicamentos multifuentes (T) son todos los equivalentes farmacéuticos diferentes al innovador, y elaborados por diferentes fabricantes.<sup>18,20</sup> Mientras que el medicamento innovador, es el que ha sido autorizado por primera vez en el mundo y comercializado sobre la base de la documentación de seguridad, eficacia y calidad farmacéutica. En tal sentido, el medicamento de referencia (R) es el medicamento innovador, con el cual el medicamento multifuente pretende ser intercambiable, en un estudio de bioequivalencia.<sup>19</sup>

Los estudios de bioequivalencia son los estudios farmacocinéticos realizados en voluntarios sanos, en los cuales se cuantifica al ingrediente farmacéutico activo en una matriz biológica como plasma u orina, en los tiempos preestablecidos para obtener los dos parámetros farmacocinéticos primarios, área bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo ( $ABC_{0-t}$ ) y la concentración plasmática máxima.<sup>20,21,22,23</sup> Por lo tanto, la bioequivalencia es la ausencia de una diferencia significativa en la velocidad y cantidad del fármaco que se encuentra disponible en el sitio de acción, cuando se administran equivalentes

farmacéuticos en la misma dosis molar y en condiciones similares de estudio cinético.<sup>19,23</sup> Los criterios de aceptación de la bioequivalencia para los parámetros  $ABC_{0-t}$ ,  $ABC_{0-\infty}$  y  $C_{max}$  deben basarse en el intervalo de confianza de 90% de estas razones, y debe encontrarse en un rango de 0,80 y 1,25.<sup>20,22,23</sup>

El sulfametoxazol es un derivado de las sulfonamidas,<sup>24,25</sup> el cual en forma farmacéutica oral, se debe administrar dos horas antes de los alimentos y con 250 ml de agua, para permitir una rápida velocidad de disolución y una buena absorción a través de la mucosa intestinal.<sup>26,27,28,29,30</sup> Esto se produce, ya que son fármacos de clase II, de baja solubilidad y de alta permeabilidad intestinal, según el sistema de clasificación biofarmacéutica.<sup>31,32</sup> Con una dosis estándar, se obtiene una biodisponibilidad del 80 a 90%, con una concentración plasmática máxima de 40  $\mu\text{g/mL}$ , un tiempo máximo de 4 horas,<sup>27,28,29</sup> y una  $ABC_{0-30}$  de 516  $\mu\text{g/h. mL}$ .<sup>11</sup> Circula unido a la albúmina plasmática en un 65% a 70%, siendo su volumen de distribución de 0,20 L/kg a 0,36 L/Kg;<sup>25,27</sup> y con un tiempo de vida media de 9 a 10 horas.<sup>26,29</sup> Se biotransforma a nivel hepático, mediante reacción de fase I, que implica la oxidación del anillo heterocíclico; y por reacciones de fase II, como la glucuronización con el ácido glucurónico, la sulfoconjugación con el 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato, y la acetilación con la acetil-coenzima A, para originar al N<sup>4</sup>-acetil-sulfametoxazol.<sup>24</sup> El 25 a 50% del fármaco inalterado, con sus metabolitos se excretan por filtración glomerular en la orina.<sup>26,27</sup>

El objetivo de este estudio fue investigar la equivalencia farmacéutica in vitro y la bioequivalencia de dos fórmulas farmacéuticas en suspensión de sulfametoxazol multifuentes en *Oryctolagus cuniculus* L (conejos) albinos machos, mediante el método espectrofotométrico.

## II. MATERIAL Y MÉTODO

### **Materiales**

Se emplearon como población de estudio a 12 *Oryctolagus cuniculus* L (conejos) albinos machos en su variedad Nueva Zelanda, seis en cada secuencia, homogéneos en edad, peso y clínicamente sanos.<sup>33,34</sup> Muestreados de acuerdo a criterios de inclusión y exclusión.<sup>17,19</sup>

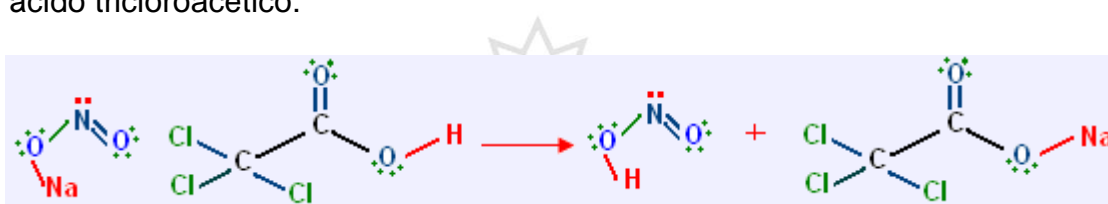
La matriz biológica (con el ingrediente farmacéutico activo, IFA) fue extraída y recolectada en los tiempos preestablecidos de los 12 conejos albinos, siendo procesadas entre el 3 de agosto al 30 de noviembre de 2008, en el Laboratorio de Farmacología del Instituto de Investigación de la Facultad de Medicina Humana- USMP.

Las muestras estudiadas fueron de origen nacional, las cuales consistieron en dos formulaciones de suspensión de sulfametoxazol/ trimetoprima multifuente de 200 mg:40 mg/5 ml, asignado con la letra T1 para el lote 00885297 y T2 para el lote 001001304; y una suspensión de Bactrim, a la misma concentración, como medicamento de referencia y asignado con la letra R para el lote RJ0468, según la convención internacional.<sup>22,23</sup> Estos productos se adquirieron en las Boticas ubicadas en los alrededores del Hospital Nacional Arzobispo Loayza del mercado de Lima. Se usaron reactivos de grado analítico y un estándar primario de sulfametoxazol USP lote SMX06040955, para realizar una curva de calibración.

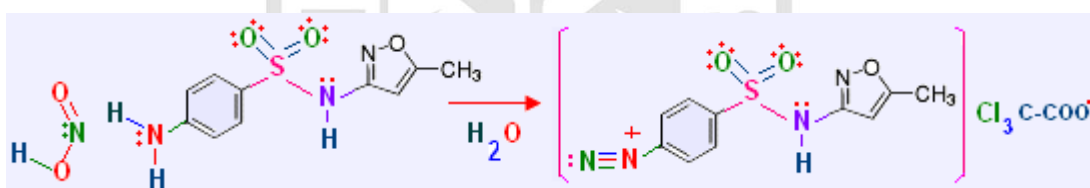
## Método

En la presente investigación, se ha seguido el método experimental espectrofotométrico colorimétrico de diazotación, basado en Bratton-Marshall, modificado por Jorge Ruiz Dávila.<sup>35,36</sup> Este método se fundamenta en tres pasos:

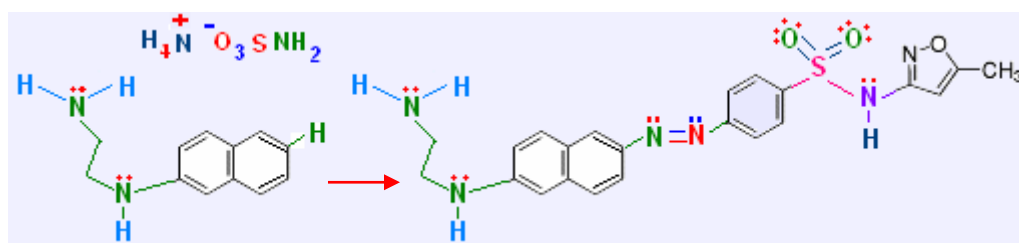
1. Primer paso: formación del ácido nitroso, por reacción del nitrito de sodio y el ácido tricloroacético:



2. Segundo paso: diazotación del grupo amino nuclear (N<sup>4</sup>), para generar al tricloruro acético de diazonio sulfametoxazol:



3. Tercer paso: conjugación con el N-(1-Naftil) etilendiamina, que absorbe una cantidad de luz en forma de radiaciones de longitudes de onda a 545 nm; con ello se mide espectrofotométricamente su concentración.<sup>24,35,36</sup>



Para que se genere la reacción de copulación (conjugación), el sulfamato de amonio neutraliza el exceso de acidez del ácido tricloroacético:



### **Obtención de la curva estándar de calibración**

Se pesó 10 mg de sulfametoxazol estándar USP y se introdujo en una fiola, aforándola a 100 mL con agua destilada, obteniéndose una solución stock de concentración 0,1 mg/mL.

De la solución stock, se tomó 2 y 5 mL y se incorporaron a las fiolas marcadas como A y B; a una tercera fiola de 10 mL, marcada como C, se le adiciona 1 mL de solución stock. A las tres fiolas se les incorporó 8 mL de ácido tricloroacético al 15%, e inmediatamente se aforó con agua destilada.

Se midió 10 mL de cada una de las soluciones anteriores y se colocó en tubos de vidrios de capacidad nominal de 20 mL marcados como A, B y C; luego se adicionaron los siguientes reactivos en el orden secuencial: 1 mL de solución de nitrito de sodio al 0,1%, después de 3 minutos de reposo se agregó 1 mL de sulfamato de amonio al 0,5%, se dejó reposar por 2 minutos.

Después de ese tiempo, se agregó 1 mL de solución de N-(1-naftil) etilendiamina. 2 HCl al 0.1%. Inmediatamente, se procedió a filtrar con papel de filtro 595 (w-1).

A continuación, se realizó las lecturas en el espectrofotómetro UV/Vis 2550 Shimadzu, a una longitud de onda de 545 nm. Para ello, previamente se estandarizó con agua destilada.<sup>35,36</sup>

### **Control de calidad biofarmacéutico: prueba de contenido**

La prueba de contenido del fármaco se realizó preparando un pool de las suspensiones de sulfametoxazol/trimetoprima.

Luego, se midió un volumen equivalente a 200 mg de sulfametoxazol, el mismo que se introdujo en una fiola, y se aforó a 1000 mL con agua destilada, obteniendo la solución stock.

De la solución stock, se tomó 2,5 mL y se llevó a una fiola de 100 mL, inmediatamente, se le incorporó 8 mL de ácido tricloroacético al 15% y se aforó a 100 mL con agua destilada.

Se midió 10 mL de la solución anterior (0,05 mg de sulfametoxazol) y se colocó en un tubo de vidrio de capacidad nominal de 20 mL; luego, se adicionaron los siguientes reactivos en el orden secuencial: 1 mL de solución de nitrito de sodio al 0,1%; después de 3 minutos de reposo, se agregó 1 mL de sulfamato de amonio al 0,5%, dejando reposar por 2 minutos, luego se agregó 1 mL de solución de N-(1-naftil) etilendiamina. 2 HCl al 0,1%. Inmediatamente, se filtró con papel de filtro 595 (w-1). A continuación, se procedió a realizar las lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 545 nm. Para ello previamente se estandarizó con agua destilada.<sup>35,36</sup>

### **Diseño del estudio de la bioequivalencia**

Para evaluar la biodisponibilidad y establecer la bioequivalencia del sulfametoxazol, los animales de experimentación fueron marcados para distribuirlos de acuerdo al diseño de dos períodos:

En el primer período, se administró una secuencia de medicamento multifuente T1 y medicamento de referencia R (T1-R); después de un intervalo de 5 tiempos de vida media se realizó un segundo período.



En el segundo período, se administró una secuencia de medicamento R y T1 (R-T1), dos tratamientos (T/R), cruzados, al azar, con una dosis única en cada período, con 6 conejos albinos en cada secuencia.<sup>19,22,23</sup>

Secuencia	Periodo		
	P1	Intervalo de lavado de 5 tiempos de vida media del SMX.	P2
1 (T1-R)	T1		R
2 (R-T1)	R		T1

Luego de 15 días de intervalo, se realizó un segundo diseño para el medicamento multifuente T2, bajo el mismo período y secuencia.

El día del estudio, se pesó a los conejos y se calculó el volumen de sulfametoxazol a administrar teniendo en cuenta que la dosis es de 100 mg/Kg de peso de animal de experimentación. Los conejos albinos fueron sometidos a ayuno nocturno de 10 horas, previas a la administración de los tratamientos, permitiéndose la ingesta de agua ad libitum.

En horas de la mañana, seis conejos recibieron una dosis única por vía oral del medicamento T1 y los otros seis, el medicamento R; inmediatamente después se les suministró un volumen estandarizado de 40 mL de agua.

Después de dos horas de la administración de las muestras en estudio, se les suministró agua, y 4 horas después de haberse administrado los medicamentos se les proporcionó los alimentos estandarizados en cantidad y calidad para todos los conejos y en ambos períodos del estudio.<sup>19,22,23</sup>

Se extrajo 1 mL de sangre del seno venoso marginal (vena marginal) de la oreja de los conejos a los tiempos preestablecidos de 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 6, 8 y 12 horas de administrado la suspensión de sulfametoxazol.

Las muestras de sangre fueron colocadas en frascos de vidrio, con 15 mL de agua destilada; luego, se adicionó 4 mL de ácido tricloroacético al 15% a cada uno de los frascos identificados correctamente.

Se dejó en reposo por espacio de 3 minutos, posteriormente, se filtró; tomando del filtrado 10 mL para introducirlo en tubos de vidrio de 20 mL, a los cuales se les adicionó, en forma secuencial: 1 mL de solución de nitrito de sodio al 0,1%, después de 3 minutos de reposo, se agregó 1 mL de sulfamato de amonio al 0,5%, dejándolo en reposo por 2 minutos. Después de ese tiempo se agregó 1 mL de solución de N-(1-naftil) etilendiamina. 2 HCl al 0,1%. Inmediatamente se filtró con papel de filtro 595 (w-1).

El plasma tratado se mantuvo en congelación en una refrigeradora-congeladora GT 267 EJF a  $-4^{\circ}$  C hasta su análisis. Las lecturas se realizaron en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 545 nm. Para ello, previamente se estandarizó con agua destilada.

El análisis farmacocinético se desarrolló después de determinar el orden de la cinética de absorción y eliminación; que, en este caso, se ajusta a una cinética de primer orden, y se asumió un modelo farmacocinético monocompartimental. Con los datos obtenidos, se calcularon los parámetros farmacocinéticos de la biodisponibilidad, para establecer la bioequivalencia del multifuente de acuerdo a la directiva para establecer equivalencia terapéutica de medicamentos.

### III. RESULTADOS

Se proporciona un bloque de información de los productos farmacéuticos multifuentes y el de referencia, de acuerdo a la directiva para establecer equivalencia terapéutica de medicamentos, las cuales se exponen en la siguiente tabla.

**Tabla Nº 1 Información de los productos farmacéuticos en estudio**

Bloque de información	Producto farmacéutico		
	Producto multifuente T1	Producto multifuente T2	Producto de referencia R
Denominación común internacional (DCI)	Sulfametoxazol Trimetoprima	Sulfametoxazol Trimetoprima	Sulfametoxazol Trimetoprima
Nombre comercial	Bacterol	Sulfametoxazol Trimetoprima	Bactrim
Fabricante	Farminindustria	Portugal	Roche
País de procedencia	Nacional	Nacional	Nacional
Número de lote	00885297	001001304	RJ0468
Fecha de vencimiento	08-2010	06-2010	06-2010
Concentración	200 mg/40 mg	200 mg/40 mg	200 mg/40 mg
Forma farmacéutica	Suspensión	Suspensión	Suspensión

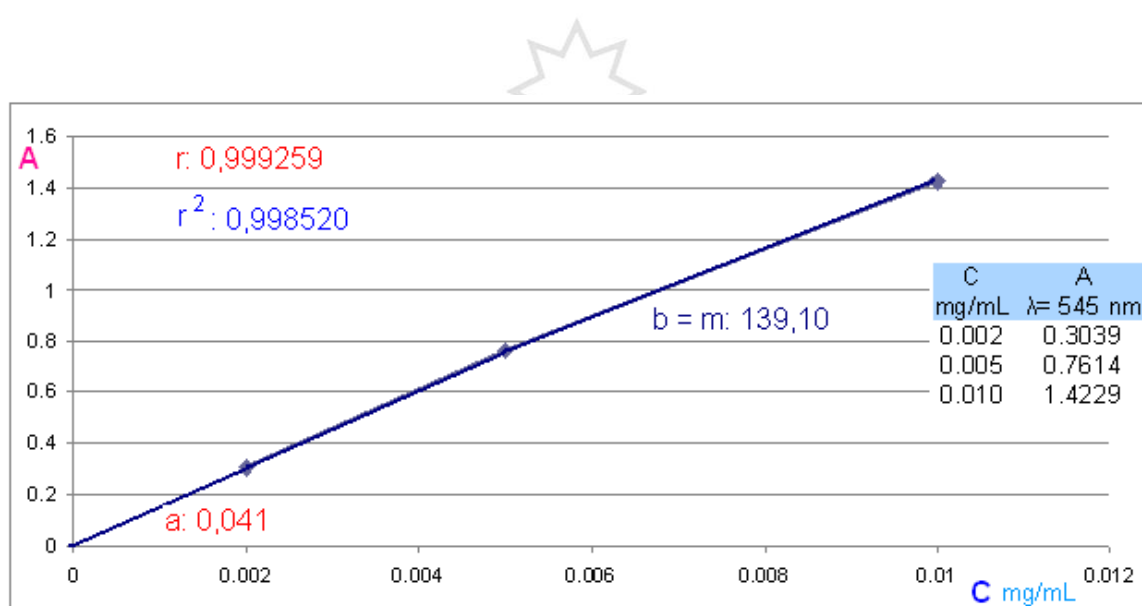
Se realizó tres determinaciones de cada una de las soluciones (A,B,C) que tienen diferentes concentraciones, obteniendo un promedio de absorbancia de 0,8294, que se presenta en la Tabla N° 2.

**Tabla N° 2 Lecturas espectrofotométricas expresadas en absorbancia del sulfametoxazol estándar**

Diluciones de solución stock	Curva de calibración del sulfametoxazol estándar					
	Concentración		Absorbancias (A)			Promedio de Absorbancias $\lambda = 545 \text{ nm}$
	mg/mL	$\mu\text{g/mL}$	A-1 $\lambda = 545 \text{ nm}$	A-2 $\lambda = 545 \text{ nm}$	A-3 $\lambda = 545 \text{ nm}$	
STD: 10mg/100 mL Soluciones:	0,1 mg/mL					
<b>A</b> 2 mL: 100 mL	0,002	20	0,3098	0,3010	0,3010	0,3039
<b>B</b> 5 mL: 100 mL	0,005	50	0,7596	0,7599	0,7648	0,7614
<b>C</b> 1 mL: 10 mL	0,010	100	1,5230	1,5228	1,5229	1,4229
						<b>0,8294</b>

Mediante la regresión lineal, se ha determinado el grado de correlación entre las absorbancias y las concentraciones (mg/mL), demostrándose la existencia de una relación directa proporcional, por lo tanto el método utilizado es confiable, y se presenta en el siguiente gráfico.

**Gráfico 1 Grado de correlación de la curva de calibración**



Mediante el método espectrofotométrico, se realizó la prueba de contenido del multifuente T1 de sulfametoxazol, encontrándose dentro del rango de aceptación propuesto por la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 30), y se presenta en la siguiente tabla.

**Tabla N° 3 Prueba de contenido del multifuente T1 en comparación con el medicamento de referencia**

Suspensión de SMX (n = 12)	Multifuente T1		Referencia	
	Concentración	Porcentaje según USP 30	Concentración	Porcentaje según USP 30
	mg/10 mL)	90-110 %	mg/10 mL)	90-110 %
1	0,048	96	0,054	108
2	0,053	106	0,054	108
3	0,053	106	0,054	108
4	0,054	108	0,054	108
5	0,053	106	0,049	98
6	0,054	108	0,053	106
7	0,053	106	0,053	106
8	0,053	106	0,054	108
9	0,048	96	0,054	108
10	0,053	106	0,052	104
11	0,053	106	0,049	98
12	0,054	108	0,053	106
<b>X</b>	<b>0,052</b>	<b>105</b>	<b>0,053</b>	<b>106</b>
Mediana	0,053	106	0,0535	107
D. E.	0,0021	4,22	0,0019	3,73
MG	0,0524	104,75	0,0527	105,44
Mínimo	0,048	96	0,049	98
Máximo	0,054	108	0,054	108

Leyenda: X: Media; D. E: Desviación estándar; MG: Media geométrica.

Mediante el método espectrofotométrico, se realizó la prueba de contenido del multifuente T2 de sulfametoxazol, encontrándose dentro del rango de aceptación propuesto por la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 30), y se presenta en la siguiente tabla.

**Tabla Nº 4 Prueba de contenido del multifuente T2 en comparación con el medicamento de referencia**

Suspensión de SMX (n = 12)	Multifuente T2		Referencia	
	Concentración	Porcentaje según USP 30	Concentración	Porcentaje según USP 30
	mg/10 mL)	90-110 %	mg/10 mL)	90-110 %
1	0,053	106	0,054	108
2	0,048	96	0,054	108
3	0,052	104	0,054	108
4	0,053	106	0,054	108
5	0,053	106	0,049	98
6	0,053	106	0,053	106
7	0,049	98	0,053	106
8	0,054	108	0,054	108
9	0,049	98	0,054	108
10	0,053	106	0,052	104
11	0,049	98	0,049	98
12	0,054	108	0,053	106
<b>X</b>	<b>0,052</b>	<b>103</b>	<b>0,053</b>	<b>106</b>
Mediana	<b>0,053</b>	106	0,0535	107
D. E.	0,0022	4,46	0,0019	3,73
MG	0,0516	103,24	0,0527	105,44
Mínimo	0,048	96	0,049	98
Máximo	0,054	108	0,054	108

Leyenda: X: Media; D. E: Desviación estándar; MG: Media geométrica.

**Tabla N° 5 Resultados de las concentraciones plasmáticas del multifuente T1 en comparación con el de referencia obtenidos de *Oryctolagus cuniculus* L.**

O. c (n = 12)	Concentración plasmática en µg/mL, según tiempo de muestreo en horas															
	0,25		0,50		1,0		2,0		3,0		6,0		8,0		12,0	
	T-1	R	T-1	R	T-1	R	T-1	R	T-1	R	T-1	R	T-1	R	T-1	R
1	0,46	0,39	0,75	0,96	1,01	1,32	1,09	1,36	0,58	0,65	0,36	0,34	0,16	0,16	0,09	0,03
2	0,39	0,27	0,57	0,74	0,79	1,33	0,86	1,33	0,90	0,61	0,26	0,13	0,13	0,12	0,01	0,01
3	0,29	0,23	0,70	0,71	1,01	1,10	0,97	1,17	0,65	0,90	0,24	0,34	0,08	0,16	0,01	0,05
4	0,59	0,46	0,70	1,05	0,78	0,88	0,90	1,33	0,44	0,62	0,28	0,21	0,08	0,12	0,01	0,08
5	0,23	0,39	0,52	0,58	1,05	0,85	1,08	1,17	0,42	1,02	0,28	0,28	0,12	0,24	0,01	0,03
6	0,12	0,29	0,69	0,58	0,99	1,01	0,97	1,16	0,79	0,64	0,28	0,26	0,18	0,06	0,01	0,00
7	0,27	0,39	0,96	0,96	1,10	1,05	1,01	1,02	0,57	0,59	0,34	0,26	0,16	0,15	0,00	0,02
8	0,24	0,41	0,51	0,68	0,63	1,13	0,74	0,88	0,68	0,44	0,58	0,34	0,18	0,12	0,01	0,02
9	0,29	0,47	0,81	0,78	1,07	0,79	1,10	0,90	0,42	0,59	0,21	0,34	0,13	0,16	0,01	0,03
10	0,25	0,39	0,80	0,68	0,83	1,01	0,85	0,90	0,68	0,86	0,50	0,36	0,14	0,16	0,01	0,01
11	0,27	0,22	0,57	1,05	1,06	0,83	1,14	0,69	0,89	0,58	0,11	0,28	0,09	0,14	0,03	0,03
12	0,46	0,46	0,81	0,96	1,14	1,10	1,01	1,42	0,79	0,86	0,37	0,24	0,08	0,14	0,01	0,02
<b>Media</b>	<b>0,32</b>	<b>0,36</b>	<b>0,70</b>	<b>0,81</b>	<b>0,96</b>	<b>1,03</b>	<b>0,98</b>	<b>1,11</b>	<b>0,65</b>	<b>0,70</b>	<b>0,32</b>	<b>0,28</b>	<b>0,13</b>	<b>0,14</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>



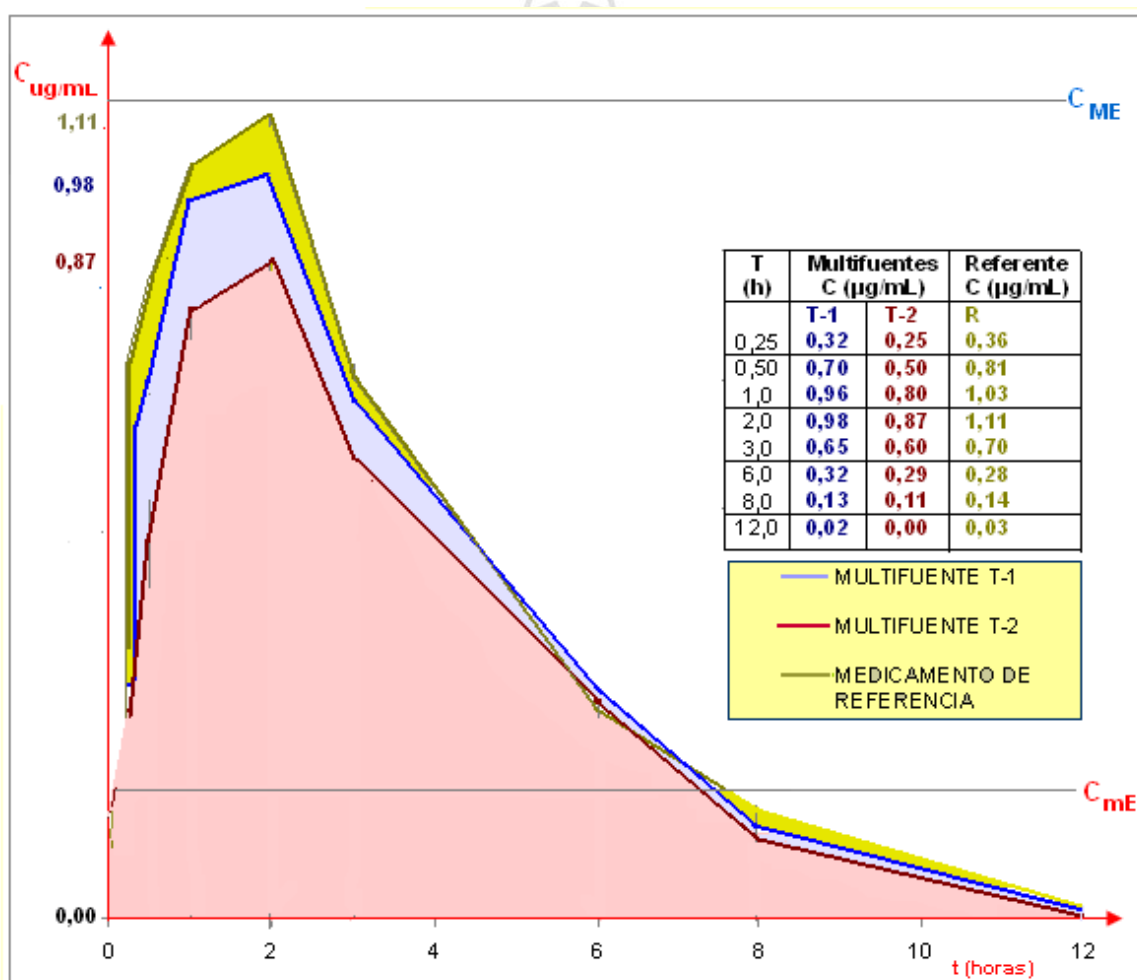
**Tabla N° 6 Resultados de las concentraciones plasmáticas del multifuente T2 en comparación con el de referencia obtenidos de *Oryctolagus cuniculus***

**L.**

O. c (n = 12)	Concentración plasmática en µg/mL, según tiempo de muestreo en horas															
	0,25		0,50		1,0		2,0		3,0		6,0		8,0		12,0	
	T-2	R	T-2	R	T-2	R	T-2	R	T-2	R	T-2	R	T-2	R	T-2	R
1	0,27	0,39	0,52	0,96	0,83	1,32	0,79	1,36	0,57	0,65	0,28	0,34	0,13	0,16	0,00	0,03
2	0,25	0,27	0,40	0,74	0,90	1,33	1,02	1,33	0,57	0,61	0,32	0,13	0,14	0,12	0,00	0,01
3	0,19	0,23	0,19	0,71	0,49	1,10	0,57	1,17	0,46	0,90	0,26	0,34	0,09	0,16	0,00	0,05
4	0,36	0,46	0,59	1,05	0,90	0,88	1,02	1,33	0,68	0,62	0,23	0,21	0,13	0,12	0,00	0,08
5	0,19	0,39	0,57	0,58	0,84	0,85	0,91	1,17	0,68	1,02	0,22	0,28	0,08	0,24	0,01	0,03
6	0,13	0,29	0,56	0,58	1,01	1,01	1,13	1,16	0,68	0,64	0,28	0,26	0,11	0,06	0,01	0,00
7	0,14	0,39	0,23	0,96	0,41	1,05	0,57	1,02	0,57	0,59	0,44	0,26	0,09	0,15	0,00	0,02
8	0,13	0,41	0,48	0,68	0,52	1,13	0,52	0,88	0,57	0,44	0,44	0,34	0,14	0,12	0,01	0,02
9	0,23	0,47	0,57	0,78	0,84	0,79	1,05	0,90	0,50	0,59	0,26	0,34	0,08	0,16	0,01	0,03
10	0,23	0,39	0,47	0,68	0,79	1,01	1,01	0,90	0,56	0,86	0,27	0,36	0,09	0,16	0,01	0,01
11	0,23	0,22	0,80	1,05	1,01	0,83	0,79	0,69	0,68	0,58	0,26	0,28	0,08	0,14	0,00	0,03
12	0,39	0,46	0,62	0,96	1,01	1,10	1,02	1,42	0,68	0,86	0,18	0,24	0,14	0,14	0,00	0,02
<b>Media</b>	<b>0,23</b>	<b>0,36</b>	<b>0,50</b>	<b>0,81</b>	<b>0,80</b>	<b>1,03</b>	<b>0,87</b>	<b>1,11</b>	<b>0,60</b>	<b>0,70</b>	<b>0,29</b>	<b>0,28</b>	<b>0,11</b>	<b>0,14</b>	<b>0,00</b>	<b>0,03</b>

La evolución de la concentración plasmática en función del tiempo, se ha realizado con el promedio de las 12 determinaciones experimentales, de cada uno de los medicamentos en estudio y su referente. Cuyo resultado se expone en el siguiente gráfico.

**Gráfico 2 Perfil de la concentración plasmática en función del tiempo de los dos multifuentes en comparación con el referente**



En la siguiente tabla se exponen los parámetros farmacocinéticos primarios de la biodisponibilidad del multifuente T1, con los cuales se determinaron las relaciones para el análisis de la bioequivalencia.

**Tabla Nº 7 Parámetros farmacocinéticos primarios del multifuente T1**

O. c (n=12)	ABC <sub>0-t</sub> (µg/ mL. h)		ABC <sub>0-∞</sub> (µg/ mL. h)		C <sub>max</sub> (µg/ mL)		T <sub>max</sub> (h)	
	T1	R	T1	R	T1	R	T1	R
1	4,97	5,49	5,34	5,56	1,02	1,38	0,95	1,08
2	4,63	4,62	4,66	4,65	1,17	1,38	1,35	0,88
3	4,22	5,53	4,23	5,70	1,20	1,40	1,06	0,82
4	3,73	4,80	3,75	5,10	1,08	0,94	0,91	1,43
5	4,03	5,63	4,06	5,70	1,09	1,30	1,06	1,32
6	4,82	4,30	4,85	4,30	1,15	1,42	1,35	1,10
7	4,71	4,60	5,28	4,70	1,19	1,15	0,71	1,03
8	4,83	4,21	4,86	4,27	1,00	1,16	1,67	0,73
9	4,06	4,45	4,07	4,52	1,14	1,00	1,11	1,28
10	4,88	5,13	4,91	5,16	1,09	1,30	1,52	1,21
11	4,61	4,13	4,68	4,22	1,21	0,93	1,04	1,10
12	5,03	5,50	5,06	5,54	1,36	1,30	1,07	1,40
Media	<b>4,54</b>	<b>4,87</b>	<b>4,65</b>	<b>4,95</b>	<b>1,14</b>	<b>1,22</b>	<b>1,15</b>	<b>1,12</b>
Mediana	4,67	4,71	4,76	4,9	1,15	1,3	1,065	1,1
D. E.	0,41	0,54	0,49	0,55	0,09	0,17	0,26	0,22
MG	4,52	4,84	4,62	4,92	1,14	1,21	1,12	1,09
Mínimo	3,73	4,13	3,75	4,22	1,0	0,93	0,71	0,73
Máximo	5,03	5,63	5,34	5,70	1,36	1,42	1,67	1,43
IC95% mín	4,31	4,56	4,37	4,64	1,09	1,12	1,00	0,99
IC95% max	4,77	5,17	4,92	5,26	1,19	1,32	1,30	1,24

**Leyenda:**

O. c: *Oryctolagus cuniculus* L.; D. E: Desviación estándar; MG: Media geométrica; IC95%: Intervalo de confianza a nivel de probabilidad 95%.

Para el análisis de la bioequivalencia, se determinaron las relaciones de los dos parámetros farmacocinéticos primarios ( $ABC_{0-tT1}/ABC_{0-tR}$ ;  $C_{maxT1}/C_{maxR}$ ); luego, se aplicó el ln a cada uno de ellos, para controlar la dispersión de las concentraciones plasmáticas. En la siguiente tabla se expone los resultados.

**Tabla Nº 8 Análisis de bioequivalencia: multifuente T1 versus referente R**

O. c n=12	Análisis de bioequivalencia					
	$\frac{ABC_{0-t} T1}{ABC_{0-t} R}$	$\ln\left(\frac{ABC_{0-t} T1}{ABC_{0-t} R}\right)$	$\frac{ABC_{0-\infty} T1}{ABC_{0-\infty} R}$	$\ln\left(\frac{ABC_{0-\infty} T1}{ABC_{0-\infty} R}\right)$	$\frac{C_{max} T1}{C_{max} R}$	$\ln\left(\frac{C_{max} T1}{C_{max} R}\right)$
1	0,91	-0,09	0,96	-0,04	0,74	-0,30
2	1,00	0,00	1,00	0,00	0,85	-0,17
3	0,76	-0,27	0,74	-0,30	0,86	-0,15
4	0,80	-0,25	0,74	-0,30	1,15	0,14
5	0,72	-0,33	0,71	-0,34	0,84	-0,18
6	1,12	1,12	1,13	0,12	0,81	-0,21
7	1,02	1,02	1,12	0,12	1,03	0,03
8	1,15	0,14	1,14	0,13	0,86	-0,15
9	0,91	-0,09	0,90	-0,10	1,14	0,13
10	0,95	-0,05	0,95	-0,05	0,84	0,84
11	1,12	0,11	1,10	0,10	1,30	0,26
12	0,91	-0,09	0,91	-0,09	1,05	0,05
X	<b>0,95</b>	<b>0,10</b>	<b>0,95</b>	<b>-0,06</b>	<b>0,96</b>	<b>0,02</b>
D. E	0,14	0,45	0,15	0,16	0,17	0,30
IC90% min	0,88	-0,11	0,88	-0,14	0,88	-0,12
IC90% máx	1,01	0,32	1,02	0,02	1,03	0,16
Relación	1,07		1,07		1,07	

**Leyenda:**

X: Media aritmética; D. E: Desviación estándar; IC90% min: Intervalo de confianza a nivel de probabilidad 90% mínimo; IC90% máx: Intervalo de confianza a nivel de probabilidad 90% máximo.

En la tabla N° 9 se exponen los parámetros farmacocinéticos primarios de la biodisponibilidad del multifuente T2, con los cuales se determinaron las relaciones para el análisis de la bioequivalencia.

**Tabla N° 9 Parámetros farmacocinéticos primarios del multifuente T2**

O. c (n = 12)	ABC <sub>0-t</sub> (µg/ mL. h)		ABC <sub>0-∞</sub> (µg/ mL. h)		C <sub>max</sub> (µg/mL)		T <sub>max</sub> (h)	
	T2	R	T2	R	T2	R	T2	R
1	3,90	5,49	4,40	5,56	0,91	1,38	0,93	1,08
2	4,24	4,62	4,68	4,65	1,00	1,38	1,17	0,88
3	2,90	5,53	3,23	5,70	0,64	1,40	1,26	0,82
4	4,33	4,80	4,71	5,10	1,04	0,94	1,30	1,43
5	4,00	5,63	4,43	5,70	1,17	1,30	1,13	1,32
6	4,55	4,30	4,57	4,30	1,27	1,42	1,06	1,10
7	3,50	4,60	3,81	4,70	0,67	1,15	1,66	1,03
8	3,78	4,21	3,81	4,27	0,80	1,16	1,71	0,73
9	3,86	4,45	4,30	4,52	1,06	1,00	1,27	1,28
10	3,93	5,13	3,95	5,16	1,05	1,30	1,11	1,21
11	4,14	4,13	4,36	4,22	1,14	0,93	0,87	1,10
12	4,32	5,50	4,70	5,54	1,13	1,30	1,10	1,40
Media	<b>3,95</b>	<b>4,87</b>	<b>4,25</b>	<b>4,95</b>	<b>0,99</b>	<b>1,22</b>	<b>1,21</b>	<b>1,12</b>
Mediana	3,96	4,71	4,38	4,9	1,05	1,3	1,15	1,1
D. E.	0,42	0,54	0,44	0,55	0,19	0,17	0,24	0,22
MG	3,929	4,84	4,221	4,92	0,969	1,21	1,191	1,09
Mínimo	2,9	4,13	3,23	4,22	0,64	0,93	0,87	0,73
Máximo	4,55	5,63	4,71	5,70	1,27	1,42	1,71	1,43
IC95% mín	3,72	4,56	4,00	4,64	0,88	1,12	1,08	0,99
IC95% máx	4,19	5,17	4,49	5,26	1,10	1,32	1,35	1,24

**Leyenda:**

O. c: *Oryctolagus cuniculus* L.; D. E: Desviación estándar; MG: Media geométrica; IC95%: Intervalo de confianza a nivel de probabilidad 95%.

Para el análisis de la bioequivalencia se determinaron las relaciones de los dos parámetros farmacocinéticos primarios ( $ABC_{0-tT1}/ABC_{0-tR}$ ;  $C_{maxT1}/C_{maxR}$ ); luego se aplicó el ln a cada uno de ellos, para controlar la dispersión de las concentraciones plasmáticas. Exponiéndose los resultados en la tabla N° 10.

**Tabla N° 10 Análisis de bioequivalencia: multifuente T2 versus referente R**

O. c n=12	Análisis de bioequivalencia					
	$\frac{ABC_{0-tT2}}{ABC_{0-tR}}$	$\ln\left(\frac{ABC_{0-tT2}}{ABC_{0-tR}}\right)$	$\frac{ABC_{0-\infty T2}}{ABC_{0-\infty R}}$	$\ln\left(\frac{ABC_{0-\infty T2}}{ABC_{0-\infty R}}\right)$	$\frac{C_{maxT2}}{C_{maxR}}$	$\ln\left(\frac{C_{maxT2}}{C_{maxR}}\right)$
1	0,71	-0,34	0,79	-0,23	0,66	-0,42
2	0,92	-0,09	1,00	0,00	0,72	-0,32
3	0,52	-0,65	0,60	-0,57	0,46	-0,78
4	0,90	-0,10	0,92	-0,08	1,11	0,10
5	0,71	-0,34	0,78	-0,25	0,90	-0,11
6	1,06	0,06	1,06	0,06	0,90	-0,11
7	0,76	-0,27	0,81	-0,21	0,58	-0,54
8	0,90	-0,11	0,90	-0,11	0,69	-0,37
9	0,87	-0,14	0,95	-0,05	1,06	0,06
10	0,77	-0,27	0,77	-0,27	0,81	-0,21
11	1,00	-0,00	1,03	0,03	1,23	0,20
12	0,79	-0,24	0,85	-0,16	0,87	-0,14
X	<b>0,83</b>	<b>-0,21</b>	<b>0,87</b>	<b>-0,15</b>	<b>0,83</b>	<b>-0,22</b>
D. E	0,14	0,18	0,13	0,16	0,22	0,27
IC90% min	0,76	-0,29	0,81	-0,23	0,73	-0,35
IC90% máx	0,89	-0,12	0,93	-0,08	1,94	-0,09
Relación	1,23		1,16		1,23	

**Leyenda:**

X: Media aritmética; D. E: Desviación estándar; IC90% min: Intervalo de confianza a nivel de probabilidad 90% mínimo; IC90% máx: Intervalo de confianza a nivel de probabilidad 90% máximo.

Los parámetros farmacocinéticos complementarios se determinaron con las siguientes ecuaciones:  $t_{1/2} = 0,693/K$ ;  $Vd = fX_0/ABC_{0-\infty}$  . K; la K y la Ka, se hallaron mediante la regresión lineal. Los resultados se exponen en la tabla N° 11.

**Tabla N° 11 Parámetros farmacocinéticos complementarios del multifuente T1 en comparación con el de referencia**

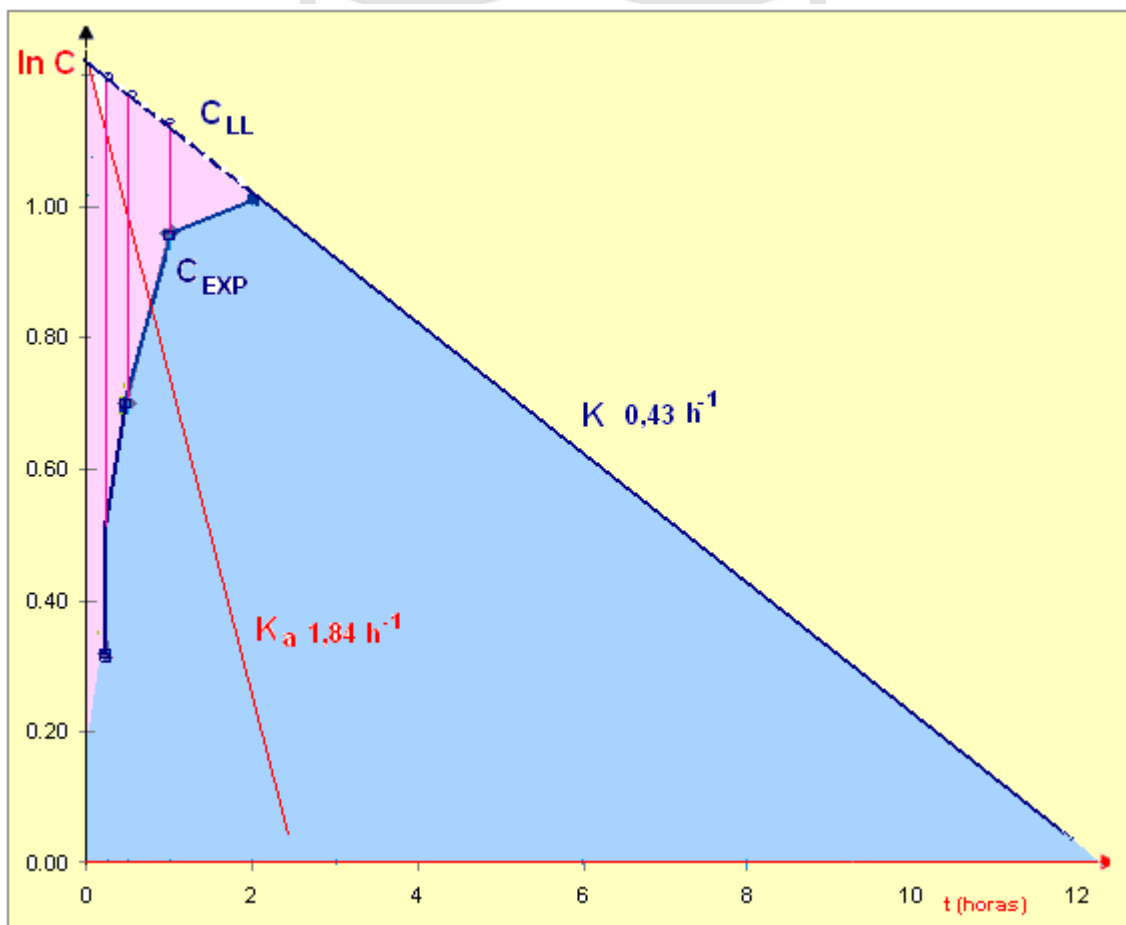
O. c. (n=12)	t <sub>1/2</sub> (h)		K (h <sup>-1</sup> )		Ka (h <sup>-1</sup> )		Vd (L)	
	T1	R	T1	R	T1	R	T1	R
1	2,90	1,86	0,24	0,37	2,85	1,86	186	116
2	1,50	1,59	0,78	0,44	1,10	2,34	108	118
3	1,48	2,17	0,47	0,32	1,67	3,08	122	132
4	1,64	2,51	0,42	0,28	2,28	1,42	151	171
5	1,65	1,85	0,42	0,37	1,80	1,35	141	113
6	1,65	1,02	0,42	0,68	1,20	1,27	118	82
7	2,53	1,95	0,27	0,36	4,12	2,10	166	145
8	1,72	1,97	0,40	0,35	0,85	3,51	122	160
9	1,47	2,03	0,47	0,34	1,54	1,50	125	156
10	1,62	1,73	0,43	0,40	0,96	1,49	115	116
11	1,80	2,26	0,39	0,31	1,96	2,10	133	185
12	1,65	1,70	0,42	0,42	1,76	1,14	113	104
Media	<b>1,80</b>	<b>1,89</b>	<b>0,43</b>	<b>0,39</b>	<b>1,84</b>	<b>1,93</b>	<b>133</b>	<b>133</b>
Mediana	1,65	1,905	0,420	0,365	1,715	1,68	123,5	125
D. E.	0,45	0,37	0,13	0,10	0,92	0,74	23,67	30,44
MG	1,76	1,85	0,41	0,38	1,67	1,82	131,6	129,9
Mínimo	1,47	1,02	0,24	0,28	0,85	1,14	108	82
1º cuartil	1,590	1,7	0,398	0,3	1,175	1,4	117,3	115,3
3º cuartil	1,740	2,065	0,440	0,405	2,040	2,16	143,5	157
Máximo	2,90	2,51	0,78	0,68	4,12	3,51	186	185

Leyenda:

D. E: Desviación estándar; MG: Media geométrica.

La constante de la velocidad de eliminación ( $K$ ), se determinó a partir de la concentración máxima plasmática experimental, mediante la regresión lineal; mientras que la constante de la velocidad de absorción ( $K_a$ ), se calculó, con las concentraciones residuales. Obteniéndose el siguiente gráfico.

**Gráfico 3 Ln de la concentración residual versus tiempo para determinar la constante de la velocidad de absorción ( $K_a$ ) y eliminación ( $K$ ) del multifuente T1**





Los parámetros farmacocinéticos complementarios del multifuente T2, se determinaron con las siguientes ecuaciones:  $t_{1/2} = 0,693/K$ ;  $Vd = fX_0/ABC_{0-\infty} \cdot K$ ; la K y la Ka, se hallaron mediante la regresión lineal.

**Tabla N° 12 Parámetros farmacocinéticos complementarios del multifuente T2 en comparación con el de referencia**

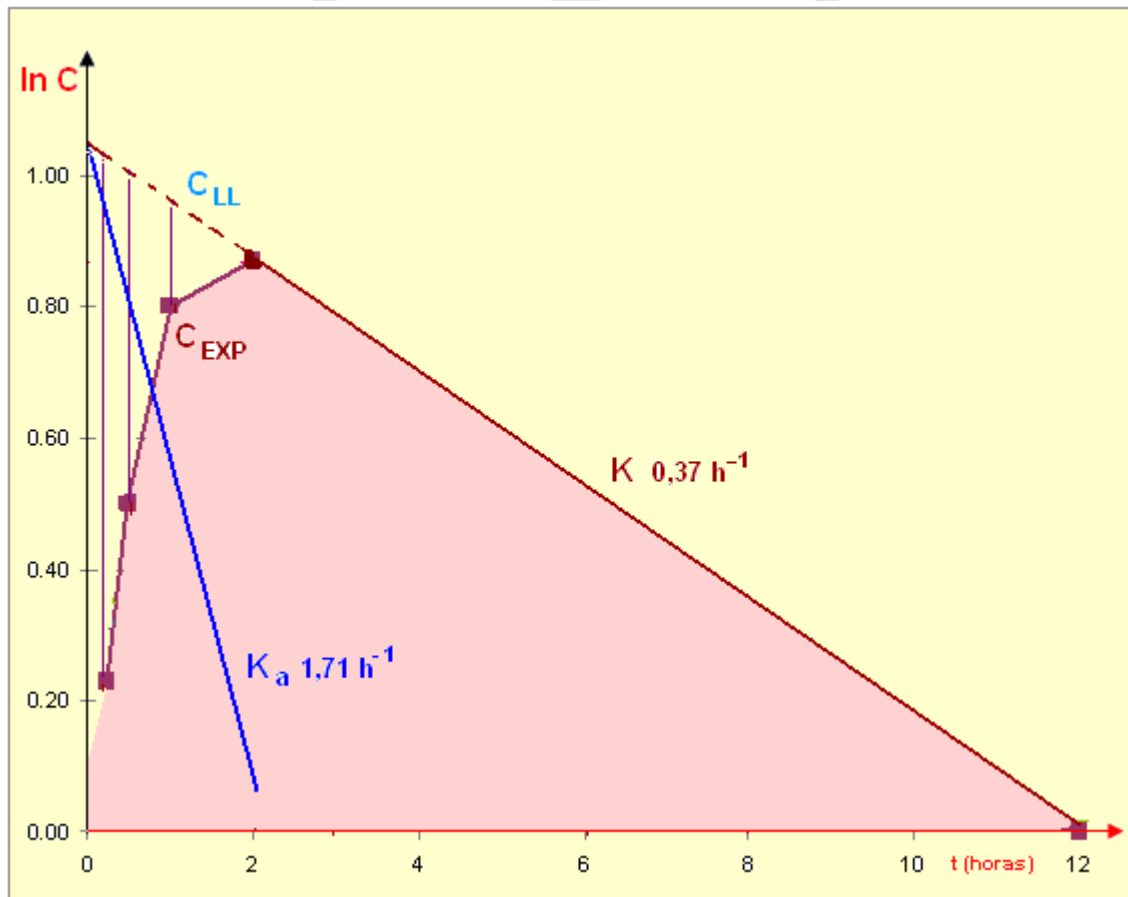
O. c. (n=12)	$t_{1/2}$ (h)		K (h <sup>-1</sup> )		Ka (h <sup>-1</sup> )		Vd (L)	
	T2	R	T2	R	T2	R	T2	R
1	2,60	1,86	0,27	0,37	2,80	1,86	205	116
2	2,26	1,59	0,31	0,44	1,83	2,34	167	118
3	2,44	2,17	0,28	0,32	1,72	3,08	262	132
4	2,02	2,51	0,34	0,28	1,47	1,42	148	171
5	1,61	1,85	0,43	0,37	1,59	1,35	126	113
6	1,54	1,02	0,45	0,68	1,70	1,27	117	82
7	2,48	1,95	0,28	0,36	1,11	2,10	225	145
8	1,52	1,97	0,46	0,35	0,74	3,51	138	160
9	1,63	2,03	0,42	0,34	1,32	1,50	132	156
10	1,61	1,73	0,43	0,40	1,62	1,49	141	116
11	1,96	2,26	0,35	0,31	2,71	2,10	155	185
12	1,95	1,70	0,36	0,42	1,90	1,14	144	104
Media	<b>1,97</b>	<b>1,89</b>	<b>0,37</b>	<b>0,39</b>	<b>1,71</b>	<b>1,93</b>	<b>163</b>	<b>133</b>
Mediana	1,955	1,905	0,355	0,365	1,66	1,68	146	125
D. E.	0,396	0,37	0,071	0,10	0,586	0,74	44,34	30,44
MG	1,933	1,85	0,359	0,38	1,616	1,82	158,6	129,9
Mínimo	1,52	1,02	0,27	0,28	0,74	1,14	117	82
1° cuartil	1,610	1,7	0,303	0,3	1,433	1,4	136,5	115,3
3° cuartil	2,305	2,065	0,430	0,405	1,848	2,16	176,5	157
Máximo	2,60	2,51	0,46	0,68	2,80	3,51	262	185

**Leyenda:**

D. E: Desviación estándar; MG: Media geométrica.

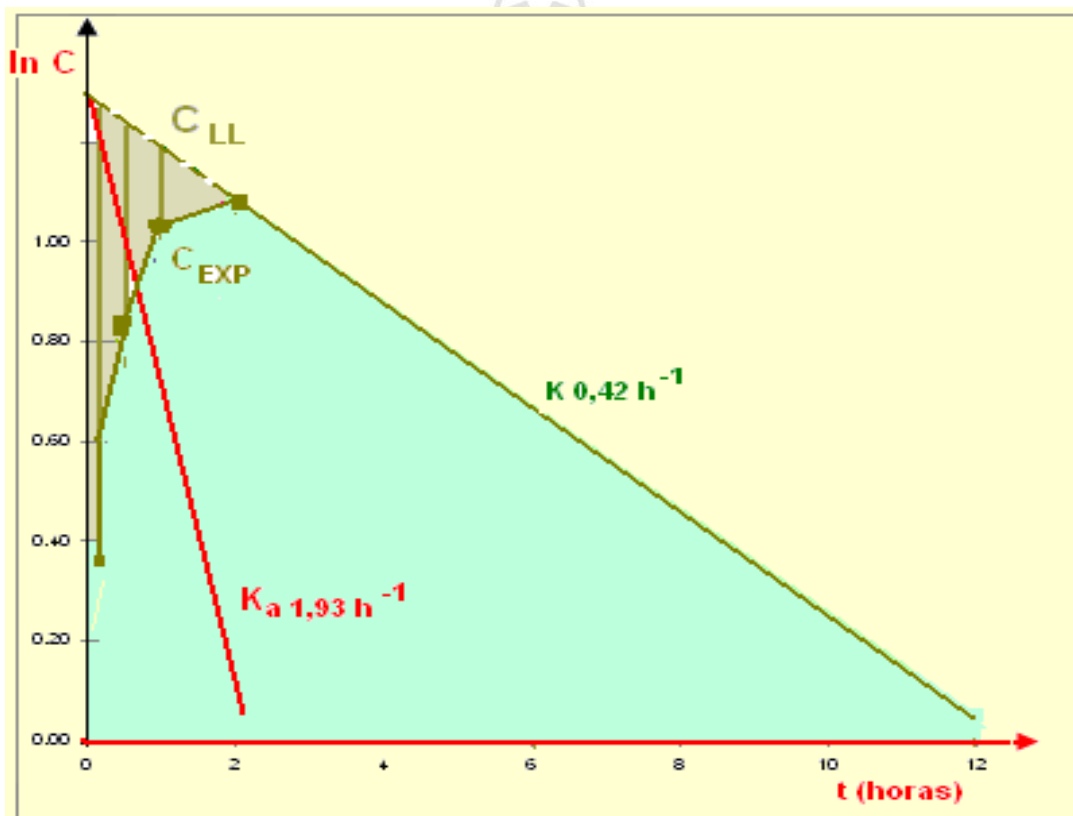
La constante de la velocidad de eliminación ( $K$ ) y la constante de la velocidad de absorción ( $K_a$ ), se calcularon de forma similar, a como se determinó para el multifuente T1. Obteniéndose el gráfico 4.

**Gráfico 4 Ln de la concentración residual versus tiempo para determinar la constante de la velocidad de absorción ( $K_a$ ) y eliminación ( $K$ ) del multifuente T2**



La constante de la velocidad de eliminación ( $K$ ) y la constante de la velocidad de absorción ( $K_a$ ) del medicamento referente, se calcularon de forma similar, a como se determinó para los multifuentes. Obteniéndose el gráfico 5.

**Gráfico 5 Ln de la concentración residual versus tiempo para determinar la constante de la velocidad de absorción ( $K_a$ ) y eliminación ( $K$ ) del medicamento de referencia**



#### IV. DISCUSIÓN

La bioequivalencia es definida por la agencia reguladora norteamericana Food and Drug Administration (FDA) como la ausencia de una diferencia significativa en la cantidad y velocidad de los principios activos de equivalentes farmacéuticos que se encuentran disponibles en el sitio de acción farmacológico, al ser administrados en la misma dosis molar y bajo condiciones similares, en un estudio diseñado de farmacocinética.<sup>19,23</sup> En la actualidad, se exigen estudios de bioequivalencia de los medicamentos multifuentes, ya que se discute sobre su calidad y eficacia terapéutica, pero estos cumplen un bien social al tener precios muy bajos, por lo que este estudio trató de demostrar la bioequivalencia de dos formulaciones de suspensiones de sulfametoxazol multifuentes, cumpliendo y adaptando los requisitos de equivalencia terapéutica que se aplican en los seres humanos, para una población de conejos, como modelos experimentales.

El método espectrofotométrico colorimétrico de diazotación descrito y utilizado para el estudio del control de calidad biofarmacéutico, y para la detección del ingrediente farmacéutico activo en la matriz biológica (plasma), provee una alta sensibilidad, reproducibilidad y confiabilidad, debido a que el coeficiente de correlación ( $r$ ) de la curva de calibración es de 0,999259, lo que indica la existencia de una relación directa proporcional del método (tabla 2 y gráfico 1). El método validado por espectrofotometría con rango ultravioleta y arreglo de

diiodos propuesto por Altesor y cols. (en 1993), para el control de calidad del sulfametoxazol y a la trimetoprima,<sup>36</sup> varía a lo propuesto por nosotros, ya que hemos nitrado y diazotado las muestras antes de su lectura espectrofotométrica. Mientras que el método propuesto por Toral M (en 2002), se basa en la espectrofotometría derivada digital de segundo orden, que detecta al sulfametoxazol a una longitud de onda de 272,8 nm.<sup>38</sup> El método de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) es el más utilizado en la determinación del sulfametoxazol/trimetoprima en plasma y otros fluidos biológicos, pero es de elevado costo,<sup>39,40,41</sup> por lo que proponemos nuestro método para estudios de bioequivalencia, por su precisión, coeficiente de correlación y por su bajo costo.

En la evaluación de la calidad biofarmacéutica de los medicamentos multifuentes, encontramos que el multifuente T1 (n=12) tiene un 105 % y el T2 (n=12) un 103 % de ingrediente farmacéutico activo (IFA); comparados con el medicamento referente R (n=12), que tiene un 106 % de dicho ingrediente (tablas 3 y 4). Al analizar los resultados de esta prueba, se evidencia que los porcentajes encontrados, están dentro del rango del porcentaje de aceptación de la USP 30-NF 25 que es de 90 a 110%<sup>42</sup>; lo que nos demuestra que son equivalentes farmacéuticos, al tener la misma cantidad molar de ingrediente activo, en la misma forma farmacéutica y por haber sido administrados por la misma vía oral, pero no necesariamente se pueden declarar equivalentes terapéuticos.<sup>43,44</sup> Esto es posible ya que en el control de calidad, sólo se cuantifica e identifica al ingrediente farmacéutico activo, pero no se analizan a los excipientes que pueden

influir en la etapa biofarmacéutica, constituyéndose en los factores limitantes del proceso de absorción del fármaco a nivel de la mucosa gástrica e intestinal, y esto se ve reflejado en una baja o alta biodisponibilidad, tal como sucede con el multifuente T2.<sup>21</sup>

Este estudio demostró claramente la bioequivalencia del multifuente T1, lote 00885297, con el Bactrim referente lote RJ0468, realizado en *Oryctolagus cuniculus L* (conejos) albinos machos, evidenciándose semejanza en el perfil de la concentración plasmática a los tiempos preestablecidos (gráfica 2), con una relación de 1,07 y un intervalo de confianza de 90% (IC 90%) de 0,88 a 1,01 para el cociente del parámetro primario, área bajo la curva de concentración plasmática entre el tiempo 0 y la última muestra medida a tiempo  $t_{12}$  ( $ABC_{0-t_{12}}$  T1 4,35-4,74  $\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$ ;  $ABC_{0-t}$  R  $\pm$  20% 3,9-5,84  $\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$ ). Este parámetro estuvo apoyado por la concentración plasmática máxima, donde la relación fue de 1,07 y con IC90% de 0,88 a 1,03 [ $C_{\text{max}}$  T1 1,10-1,19  $\mu\text{g/mL}$ ;  $C_{\text{max}}$  R  $\pm$  20% 0,98-1,46  $\mu\text{g/mL}$ ], las mismas que van disminuyendo en función del tiempo hasta niveles no detectables por el método espectrofotométrico, aproximadamente a 12 horas después de la administración del sulfametoxazol (tabla 7 y 8). Ambos parámetros farmacocinéticos están dentro del valor medio del medicamento referente  $\pm 20\%$  0,8 a 1,20<sup>45,46,47</sup> y dentro de los límites de aceptación de 0,80 a 1,25 para bioequivalencia según lo propuesto por la OMS<sup>20</sup> y la FDA.<sup>19,23</sup> Adicionalmente, se apoyan estos resultados con el logaritmo neperiano de los cocientes del  $ABC_{0-t}$  T1/ $ABC_{0-t}$  R y del  $C_{\text{max}}$  T1/ $C_{\text{max}}$  R, el cual permite controlar la calidad del parámetro farmacocinético y para que la distribución poblacional de los

parámetros derivados de las concentraciones plasmáticas no sean dispersos, con una desviación estándar de 0,45 para el  $\ln ABC_{0-t} T1/ABC_{0-t} R$  y de 0,30 para el  $\ln$  de la  $C_{max} T1/ C_{max} R$  (tabla 8).<sup>48</sup> Al análisis estadístico de las áreas bajo la curva de concentración plasmática entre el tiempo 0 a tiempo  $t_{12}$ , y la concentración plasmática máxima, se determinó la formación de intervalos con un nivel de confianza al 95% los cuales no aportan evidencias de que exista una diferencia significativa (tabla 7).

Para complementar estos estudios, se ha analizado el modelo aditivo tiempo máximo ( $t_{max}$ ), observándose que la concentración plasmática máxima del multifuente T1 se alcanza a 1,15 horas, en tanto que el referente lo hace en 1,12 horas (tabla 7); contrastando este parámetro con lo realizado por Hutt y cols. (en 1988) quienes reportan que el tiempo máximo es de 1,5 horas para el sulfametoxazol, a pesar de haberla realizado en 12 voluntarios sanos, pero difiere en el valor de la concentración plasmática máxima que era de 1,25  $\mu\text{g/mL}$ .<sup>49</sup> Por otro lado, en el año 2006 Amini y Ahmadiani, evaluaron al sulfametoxazol/ trimetoprima a una dosis de 800/160 mg en 12 voluntarios sanos, hallando que el  $ABC_{0-t}$  era de 516  $\mu\text{g/mL.h}$ , la concentración plasmática máxima de 41,3  $\mu\text{g/mL}$  y el tiempo máximo de 2,2 horas<sup>11</sup>; corroborado por la literatura internacional que describe una  $C_{max}$  de 40  $\mu\text{g/mL}$ , y un  $t_{max}$  de 4 horas después de una sola dosis oral de dicho fármaco.<sup>26,27,28</sup> Si bien los parámetros mencionados en el estudio de Amini y en la literatura internacional, parecen sugerir valores mucho más altos a lo reportado por nosotros, es importante hacer notar que corresponden a valores de plasma de humanos, realizados por el método de la cromatografía líquida de

alta presión, y los nuestros corresponden a los valores de plasma de los conejos realizadas por el método espectrofotométrico UV/Vis. Entre los estudios realizados en animales de experimentación, tenemos a los reportados en 1988, por Sumano y cols., quienes utilizaron a los cerdos criollos, encontrando que el  $ABC_{0-t}$  es de  $80 \mu\text{g/mL h}$  y el tiempo máximo de  $3,16$  horas para el sulfametoxazol<sup>15</sup>; mientras que Chakwenya y cols. (en 2002) utilizaron a las alpacas como modelo experimental hallando que el  $ABC_{0-t}$  es de  $9,1 \mu\text{g/mL.h}$  y la concentración plasmática máxima de  $1,9 \mu\text{g/mL}$ .<sup>50</sup> Ambos estudios son diferentes, a lo encontrado por nosotros, esto se debe probablemente al método de análisis y al modelo experimental empleado.

En la tabla 11, se reportan los parámetros farmacocinéticos secundarios, como la constante de la velocidad de eliminación (K), que corresponde a la pendiente de la recta obtenida al transformar las concentraciones experimentales en  $\ln$  (gráficos 3 y 5), éste parámetro nos indica que el multifuente T1 desaparece desde el plasma y del organismo a una velocidad de  $0,43 \text{ h}^{-1}$ , mientras que el referente lo hace a una velocidad de  $0,39 \text{ h}^{-1}$ ; pero como es una expresión abstracta del proceso de eliminación, debemos utilizar el tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ), para saber que en el multifuente T1, la concentración plasmática se reduce a la mitad en  $1,8$  horas y el R a  $1,89$  horas, no siendo significativamente diferentes, lo que reafirma la bioequivalencia del multifuente T1. Los parámetros de la K ( $0,56 \text{ h}^{-1}$ ) y el tiempo de vida media ( $1,8$  horas) del sulfametoxazol, hallados en los cerdos por Sumano,<sup>11</sup> y el tiempo de vida media de  $2$  horas, encontrado por Mengelers y cols. (en 2001) en los cerdos<sup>51</sup>, son muy concordantes a lo que hemos encontrado en nuestro estudio de investigación, a



pesar de haberse utilizado métodos diferentes para la detección del ingrediente farmacéutico activo del plasma.

El multifuente T1 se absorbe desde la mucosa gastrointestinal hacia el torrente sanguíneo, a una velocidad de  $1,84 \text{ h}^{-1}$ , y el referente lo hace a una velocidad de  $1,93 \text{ h}^{-1}$ , dichos parámetros fueron obtenidos mediante la regresión lineal de las concentraciones residuales (gráfico 3). Ambos parámetros siguen una cinética de primer orden, con los cuales se realizó el análisis farmacocinético, y de acuerdo a un modelo monocompartimental.

El perfil de la concentración plasmática en función del tiempo (gráfico 2) muestra diferencias ostensibles del sulfametoxazol multifuente T2 lote 0010013 04, lo que ha sido corroborado al analizar los parámetros farmacocinéticos primarios de la bioequivalencia. Se ha encontrado una relación de 1,23 y un IC 90% de 0,76 ( $3,76 \mu\text{g/mL} \cdot \text{h}$ ) a 0,89 ( $4,15 \mu\text{g/mL} \cdot \text{h}$ ) para el  $\text{ABC}_{0-t12}$ ; y una relación de 1,23 y un IC 90% de 0,73 ( $0,90 \mu\text{g/mL}$ ) a 1,94 ( $1,08 \mu\text{g/mL}$ ) para el  $\text{C}_{\text{max}}$ . Siendo no bioequivalentes a la dosis única de  $100 \text{ mg/kg}$  de masa corporal de conejos albinos homogéneos (tabla 10), ya que el IC 90% del  $\text{ABC}_{0-t12}$  se desvía por defecto y el IC90% del  $\text{C}_{\text{max}}$  se desvía por defecto y exceso, respecto al referente 0,8 a 1,20<sup>45,46,47</sup> y al rango de 0,8 a 1,25 de la OMS<sup>20</sup> y de la FDA.<sup>19,23</sup> Al análisis estadístico del intervalo de confianza al 95% de los dos parámetros primarios de bioequivalencia ( $\text{ABC}_{0-t}$  y  $\text{C}_{\text{max}}$ ) se evidencia una diferencia significativa (tabla 9). En este caso la bioinequivalencia puede estar vinculada a excipientes, al proceso de formulación y/o tecnológico, los cuales influyen en la biodisponibilidad de los fármacos, y por lo tanto en su actividad terapéutica.

Muchos investigadores han validado el método de la cromatografía líquida de alta presión para determinar al sulfametoxazol/trimetoprima, utilizando Pereira y cols. (en 2005) como matriz biológica la leche de los bovinos, pero no estudiaron los parámetros de la biodisponibilidad<sup>10</sup>; mientras que Ahewiyo y cols. (en 2009) validaron dicho método en plasma de voluntarios sanos,<sup>52</sup> existiendo otros estudios con el mismo método.<sup>53,54</sup> Adicionalmente se ha validado un método por cromatografía líquida de alta presión acoplado a espectrofotometría de masa, el mismo que ha sido realizado en plasma de humanos, pero estos aumentan los costos de los estudios de bioequivalencia.<sup>55</sup>

Por lo hallado en la presente investigación, amerita un estudio *in vivo* con voluntarios sanos cumpliendo los criterios de la Organización Mundial de la Salud y la FDA, para corroborar la bioequivalencia del multifuente T1 y la no bioequivalencia del multifuente T2 que estamos reportando, aplicando para ello, el método en estudio, verificando su velocidad de absorción debido a su baja solubilidad y alta permeabilidad intestinal,<sup>56</sup> y a la vez aplicando el método por cromatografía líquida de alta presión, de acuerdo a nuestra realidad tecnológica y con la que contamos en nuestro Laboratorio del Instituto de Investigación de nuestra Facultad de Medicina Humana.

## V. CONCLUSIONES

Este estudio demostró la bioequivalencia farmacocinética del sulfametoxazol multifuente T1, con el medicamento referente, a una dosis única administrado por vía oral a conejos albinos machos sanos. Encontrándose una variación por defecto y exceso de los parámetros primarios para el multifuente T2, por lo que se declara no bioequivalente.

De acuerdo al criterio de aceptación de la Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica, los ingredientes farmacéuticos activos cuantificados de las formulaciones de suspensiones multifuentes T1 y T2 están dentro del rango de 90-110%, por lo que son equivalentes farmacéuticos, pero no necesariamente equivalentes terapéuticos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Centro Nacional de Documentación e Información de Medicamentos. Medicamentos Falsificados: Un problema que va en aumento. Boletín Informativo DIGEMID 2006; 3:1-2.
2. Ministerio de Salud, Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID). Evaluación de la Situación de los Medicamentos en el Perú. Lima: DIGEMID; 1997.
3. Cortéz R. Desarrollo de una estrategia social pura para el Perú. Lima: Centro de Investigación de la Universidad del Pacífico. Banco Interamericano de Desarrollo; 2001.
4. Servicios de Medicina Pro-vida y Proyecto 2000. Evaluación de Sistemas de Suministro de Medicamentos e Insumos Esenciales. Lima: Pro-vida; 1996.
5. Fonseca L. Medicamentos genéricos, bioequivalencia e intercambiabilidad. II Congreso de Ciencias Farmacéuticas de COHIFFA y VIII Congreso Regional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, UANL. Abril. Monterrey; 2006.
6. Acción Internacional para la Salud. Precios de de Medicamentos en el Perú. Lima: AIS; 2004.

7. Shargel L, Kanfer I. Introduction to generic product development. In: Shargel L, Kanfer I. Generic product development. Solid oral dosage forms. New York: Marcel Dekker; 2005.
8. Grupo de trabajo en Bioequivalencia y Biodisponibilidad. Implementación de Estudios de Bioequivalencia en las Américas. Estudio Diagnóstico. Red Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (RPARF). República Dominicana: OPS/OMS; 2005.
9. Acción Internacional para la Salud. Genéricos y Bioequivalencia, Balance y Perspectivas en América Latina. AIS 2004; 11:3-11.
10. Acción Internacional para la Salud. Genéricos e Intercambiabilidad. Lima: AIS; 2001.
11. Amini H, Ahmadiani A. Rapid and simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in human by high-performance liquid chromatography. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2007; 43(3):1146-1150.
12. Athanassiou G, Rekkas D, Choulis N. Bioavailability of sulfamethoxazole-trimethoprim spheroidal granules. International Journal of Pharmaceutics 1992; 85:209-212.
13. Ilupeju T, Oladeinde F, Olaniyi A, Amosu M. Bioequivalence study of three generic formulations of co-trimoxazole tablets in human urine. Afr J Med Sci. 2004; 33:341-5.
14. Pereira A, Cass Q. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in

- bovine milk using an on-line clean-up column. Journal of Chromatography B 2005; 826:139-146.
15. Sumano H, Ocampo L, Abascal G. Farmacocinética de tres mezclas de sulfonamidas con trimetoprim en cerdos, mediante una técnica cualitativa-cuantitativa. Vet Mex. 1998; 29(1):1-13.
  16. OPS/OMS. I Conferencia Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica. Washington DC: OMS; 1997. Informe Final.
  17. OPS/OMS. II Conferencia Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica. Washington DC: OMS; 1999. Informe Final.
  18. OPS/OMS. Criterios científicos para los ensayos de bioequivalencia (*in vivo* e *in vitro*), las Bioexenciones y las estrategias para su implementación. IV Conferencia Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica. República Dominicana. OPS/OMS; 2005.
  19. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas. Directiva para establecer equivalencia terapéutica de medicamentos. Lima: DIGEMID; 2009.
  20. WHO Expert Committee On Specifications for Pharmaceutical Preparations. Multisource (Generic) Pharmaceuticals Products: Guidelines On Registration Requirements to Establish Interchangeability. Who Technical Report Series. Geneva: WHO; 2006. Who Technical Report Series: 937.
  21. Arancibia A. Introducción a la Biofarmacia y la Farmacocinética. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2000.

22. WHO Expert Committee On Specifications for Pharmaceutical Preparations. Proposal to Waive the In Vivo Bioequivalence Requirements for the Model List of Essential Medicines Immediate Release, Solid Oral Dosage Forms. Fortieth Report. Geneva: WHO; 2006. Who Technical Report Series: 937.
23. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (FDA-CDER). Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products-general considerations. Rockville, MD: CDERFDA; 2002. [acceso 18 de enero de 2009]. Disponible en: <http://www.fda.gov/cder/guidance/4964dft.pdf>
24. Avendaño C. Introducción a la Química Farmacéutica. 2 ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España; 2001.
25. Velasco A, San Román L, Serrano J, Martínez R, Cadavid M. Farmacología Fundamental. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2002.
26. Mendoza N. Farmacología médica. México: Editorial Médica Panamericana; 2008.
27. Bruton L, Lazo J, Parker K. Goodman-Gilman Las bases farmacológicas de la Terapéutica. 11 ed. Colombia: McGraw-Hill Interamericana; 2007.
28. Rang H, Dale M, Ritter J. Farmacología. 4 ed. Madrid: Editorial Harcourt; 2000.
29. Lorenzo P, Moreno A, Leza J, Lizasoain I, Moro M. Velásquez Farmacología Básica y Clínica. Madrid: 17 ed. Editorial Médica Panamericana; 2005.

30. Katzung B. Farmacología básica y clínica. México: 9 ed. Manual Moderno; 2005.
31. Manzo R. Implicancias de la clasificación biofarmacéutica de los fármacos en las regulaciones sobre equivalencia farmacéutica y bioequivalencia y en la práctica farmacéutica. Córdoba: Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba; 2006.
32. U. S. Department of Health and Human Services, "FDA Guidance for industry. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System". Rockville: CDER; 2000 [acceso 19 de enero de 2009]. Disponible en: <http://www.fda.gov/cder/guidance/3618fnl.htm>
33. Alfonso M, Almeida G, Quintela A, Simón R. Evaluación de un posible modelo experimental de aterosclerosis carotídea en conejos hipercolesterolémicos. Rev Cubana Invest Biomed. 2001; 20(3):192-197.
34. Salmerón L, García J, Moreno M, Rodríguez M, Jiménez J, Martínez J et al. Un modelo animal para el estudio de la arteriosclerosis experimental. Angiología 1998; 3:133-6
35. Bratton A C, Marshall E K. A new coupling reagent for sulfanilamide determination. J Biol Chem. 1939; 128:537-550.
36. Ruiz J. Farmacocinética, Biodisponibilidad y Bioequivalencia de Medicamentos. Lima: Programa de Salud-IDAT, Universidad Tecnológica del Perú; 2005.
37. Altesor C, Corbi P, Dol I, Knochen M. Application of experimental design to the development of a multicomponent derivative Spectrophotometric



- method: simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim. *Analyst* 1993; 118:1549-1553.
38. Toral M, Lara N, Tapia A, Torres C, Richter P. Estudio espectral y determinación simultánea de sulfametoxazol y trimetoprim por espectrofotometría derivada digital. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química* 2002; 47(3):241-251.
  39. Morales L, Rojas J. Validación de un método cromatográfico para la determinación de sulfametoxazol y trimetoprim en tabletas. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* 1999; 28:13-18.
  40. Vree T, Hekster Y, Baars A, Damsma J, Kleijn V. Determination of trimethoprim and sulfamethoxazole (co-trimoxazole) in body fluids on man by means of high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 2002; 146(1): 103-112.
  41. Amin A, Shahat M, Edeen R, Meshref M. Comparison of Ion-pairing and Reversed Phase Liquid Chromatography in Determination of sulfamethoxazole and trimethoprim. *Analytical Letters* 2008; 41(10): 1878-1894.
  42. USP 30-NF 25. United States Pharmacopoeia. The National Formulary. USP; 2007.
  43. WHO. Revision/Update of the Guidance on the Selection of Comparator Pharmaceutical Products for Equivalence Assessment of Interchangeable Multisource (Generic) Products. Working document. Geneva: WHO; 2005. Working document QAS/05.143/rev1.

44. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Guidance on the selection of comparator pharmaceutical products for equivalence assessment of interchangeable multisource (generic) products. WHO Technical Report. Geneva: WHO; 2002. Thirty-sixth report. WHO Technical Report Series: 902.
45. Domínguez-Gil A. Los medicamentos genéricos y el 20%. Revista Española de Economía en Salud 2009; 6:266-267.
46. Los genéricos, 10 años después. ¿Seguimos hablando del +/- 20%?. Rev. Información Farmacoterapéutica de la Comarca. Infac 2007; 15(8):1-6.
47. Medicamentos genéricos: ¿Menor contenido en principio activo?. Boletín Farmacoterapéutico de la Rioja 2009; 4(1):1-3.
48. Estévez F. Estudio de bioequivalencia: enfoque metodológico y aplicaciones prácticas en la evaluación de medicamentos genéricos. Rev Med Urug. 2000; 16:133-143.
49. Hutt V, Klongmann I, Pabst G, Salama Z, Nieder M, Jaeger H. Studies of the pharmacokinetics and bioavailability of a new trimethoprim/sulfamethoxazole preparation in healthy volunteers. Arzneimittelforschung 1988; 38(9):1347-50.
50. Chakwenya J, Lakritz J, Tyler J, Fales W, James-Kracke M, Smith K, Holle J. Pharmacokinetics and bioavailability of trimethoprim-sulfamethoxazole in alpacas. J. Vet Pharmacol Ther. 2002; 25(5): 321-7.
51. Mengelers M, Van Goh E, Huveneers M, Hougee P, Kuiper H, Pijpers A, Verheijden J, Van Miert A. Pharmacokinetics of sulfamethoxazole in

- combination with trimethoprim after oral single-and multiple-dose administration to healthy pigs. *Vet Res Commun.* 2001; 25(6): 461-81.
52. Shewiyo D, Kaale E, Risha P, Dejaegher B, Smeyers-Verbeke J, Vander Y. Development and validation of a normal-phase high-performance thin layer chromatographic method for the analysis of sulfamethoxazole and trimethoprim in cotrimoxazole tablets. *J Chromatogr A.* 2009; 1216(42): 7102-7107.
53. Flores F, Castañeda G, Menéndez J, Chávez F, Herrera J, Hong E. Pharmacokinetics of sulfamethoxazole and trimethoprim in mexicans: Bioequivalence of two oral formulations (URO-TS D) and bactrim F. *Biopharmaceutics and Drug Disposition* 1990; 11:765-772.
54. Hruska M, Frye R. Determination of trimethoprim un low-volume human plasma by liquid chromatography. *Journal of Chromatography B* 2004;807: 301-305.
55. Mistri H, Jangid A, Pudage A, Shah A, Shrivastav P. Simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in microgram quantities from low plasma volume by liquid chromatography-tanden mass spectrometry. *Microchemical Journal* 2010; 94(2):130-138.
56. Löbenberg R, Amidon G. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2000; 50:3 -12.

## ANEXOS

### Anexo 1 Determinación del Área Bajo la Curva en función del tiempo cero al tiempo t ( $ABC_{0-t}$ 12h) del multifuente T1

T (h)	C (µg/mL)	Multifuente T1	
		$\Delta t$ Diferencias de tiempos	ABC $\frac{C_1 + C_2}{2} \times \Delta t = ABC$
0,25	0,32	0,00–0,25 = 0,25	$(0,00+ 0,32)/2 \times 0,25 = 0,0402$
0,5	0,70	0,25–0,50 = 0,25	$(0,32+ 0,70)/2 \times 0,25 = 0,1275$
1,0	0,96	0,50 – 1,0 = 0,50	$(0,70+ 0,96)/2 \times 0,5 = 0,4134$
2,0	0,98	1,0 – 2,0 = 1,0	$(0,96+ 0,98)/2 \times 1,0 = 0,9653$
3,0	0,65	2,0 – 3,0 = 1,0	$(0,98+ 0,65)/2 \times 1,0 = 0,8125$
6,0	0,32	3,0 – 6,0 = 3,0	$(0,65+ 0,32)/2 \times 3,0 = 1,4495$
8,0	0,13	6,0 – 8,0 = 2,0	$(0,32+ 0,13)/2 \times 2,0 = 0,4443$
12,0	0,02	8,0 – 12,0= 4,0	$(0,13+ 0,02)/2 \times 4,0 = 0,2898$
		$ABC_{0-t12}: \sum \text{área} = 4,54 \text{ µg/mL.h}$ $ABC_{0-\infty} = \sum \text{área} + C^{\infty}/K$ $ABC_{0-\infty} = 4,54 + 0,02/0,43 \text{ h}^{-1}$ $ABC_{0-\infty} = 4,59 \text{ µg/mL.h}$	

**Anexo 2 Determinación del Área Bajo la Curva en función del tiempo cero al tiempo t ( $ABC_{0-t\ 12h}$ ) del multifuente T2**

T (h)	C ( $\mu\text{g/mL}$ )	Multifuente T2	
		$\Delta t$ Diferencias de tiempos	ABC $\frac{C_1 + C_2}{2} \times \Delta t = ABC$
0,25	0,23	0,00–0,25 = 0,25	$(0,00+ 0,23)/2 \times 0,25 = 0,029$
0,5	0,50	0,25–0,50 = 0,25	$(0,23+ 0,50)/2 \times 0,25 = 0,090$
1,0	0,80	0,50 – 1,0 = 0,50	$(0,50+ 0,80)/2 \times 0,5 = 0,32$
2,0	0,87	1,0 – 2,0 = 1,0	$(0,80+ 0,87)/2 \times 1,0 = 0,83$
3,0	0,60	2,0 – 3,0 = 1,0	$(0,87+ 0,60)/2 \times 1,0 = 0,73$
6,0	0,29	3,0 – 6,0 = 3,0	$(0,60+ 0,29)/2 \times 3,0 = 1,33$
8,0	0,11	6,0 – 8,0 = 2,0	$(0,29+ 0,11)/2 \times 2,0 = 0,40$
12,0	0,00	8,0 – 12,0= 4,0	$(0,11+ 0,00)/2 \times 4,0 = 0,22$
			<b><math>ABC_{0-t12} = \sum \text{área} = 3,95 \mu\text{g/mL.h}</math></b>
			<b><math>ABC_{0-\infty} = \sum \text{área} + C^\infty/K</math></b>
			<b><math>ABC_{0-\infty} = 3,95 + 0,11/0,37 \text{ h}^{-1}</math></b>
			<b><math>ABC_{0-\infty} = 4,25 \mu\text{g/mL.h}</math></b>

**Anexo 3 Determinación del Área Bajo la Curva en función del tiempo cero al tiempo t ( $ABC_{0-t}$  12h) del referente R**

T (h)	C ( $\mu\text{g/L}$ )	Medicamento referente R	
		$\Delta t$ Diferencias de tiempos	ABC $\frac{C_1 + C_2}{2} \times \Delta t = \text{ABC}$
0,25	0,36	0,00–0,25 = 0,25	$(0,00+0,36)/2 \times 0,25 = 0,045$
0,5	0,81	0,25–0,50 = 0,25	$(0,36+0,81)/2 \times 0,25 = 0,15$
1,0	1,03	0,50 – 1,0 = 0,50	$(0,81+1,03)/2 \times 0,5 = 0,46$
2,0	1,11	1,0 – 2,0 = 1,0	$(1,03+1,11)/2 \times 1,0 = 1,07$
3,0	0,70	2,0 – 3,0 = 1,0	$(1,11+0,70)/2 \times 1,0 = 0,91$
6,0	0,28	3,0 – 6,0 = 3,0	$(0,70+0,28)/2 \times 3,0 = 1,47$
8,0	0,14	6,0 – 8,0 = 2,0	$(0,28+0,14)/2 \times 2,0 = 0,42$
12,0	0,03	8,0 – 12,0 = 4,0	$(0,14+0,03)/2 \times 4,0 = 0,34$
		$ABC_{0-t12} = \sum \text{área} = 4,87 \mu\text{g/mL.h}$ $ABC_{0-\infty} = \sum \text{área} + C^{\infty}/K$ $ABC_{0-\infty} = 4,87 + 0,03/0,39 \text{ h}^{-1}$ $ABC_{0-\infty} = 4,95 \mu\text{g/mL.h}$	

#### Anexo 4 Intervalo de confianza al 90% (IC90%) del multifuente T-1

Estadística	Parámetros farmacocinéticos					
	ABC <sub>0-t</sub> T1		ABC <sub>0-∞</sub> T1		C <sub>max</sub> T1	
	Valor mínimo	Valor máximo	Valor mínimo	Valor máximo	Valor mínimo	Valor máximo
IC 90% IC90%=ABC <sub>T-1</sub> ±(1,64xDE/√12)	0,88	1,01	0,88	1,02	0,88	1,03
Variabilidad del IC 90%	4,35 µg/mL.h	4,74 µg/mL.h	4,41 µg/mL.h	4,88 µg/mL.h	1,10 µg/mL	1,19 µg/mL
Variabilidad del medicamento referente R ± 20% R-20% = 80% R +20% = 120%	3,90 µg/mL.h	5,84 µg/mL.h	3,96 µg/mL.h	5,94 µg/mL.h	0,98 µg/mL	1,46 µg/mL
Rango del referente en % de aceptación:	0,80	1,20	0,80	1,20	0,80	1,20
Rango de bioequivalencia según FDA y OMS	0,8 -1,25		0,8 -1,25		0,8 -1,25	
Relación Relación= ABC <sub>R</sub> /ABC <sub>T-1</sub>	4,87/4,54 = 1,07		4,95/4,65 = 1,07		1,22/1,14 = 1,07	

## Anexo 5 Intervalo de confianza al 90% (IC90%) del multifuente T2

Estadística	Parámetros farmacocinéticos					
	ABC <sub>0-t</sub> T2		ABC <sub>0-∞</sub> T2		C <sub>max</sub> T2	
	Valor mínimo	Valor máximo	Valor mínimo	Valor máximo	Valor mínimo	Valor máximo
IC 90% IC90%=ABC <sub>T-1</sub> ±(1,64xDE/√12)	0,76	0,89	0,81	0,93	0,73	1,94
Variabilidad del IC 90%	3,76 µg/mL.h	4,15 µg/mL.h	4,04 µg/mL.h	4,45 µg/mL.h	0,90 µg/mL	1,08 µg/mL
Variabilidad del medicamento referente R ± 20% R-20% = 80% R +20% = 120%	3,90 µg/mL.h	5,84 µg/mL.h	3,96 µg/mL.h	5,94 µg/mL.h	0,98 µg/mL	1,46 µg/mL
Rango del referente en % de aceptación:	0,80	1,20	0,80	1,20	0,80	1,20
Rango de bioequivalencia según FDA y OMS	0,8 -1,25		0,8 -1,25		0,8 -1,25	
Relación Relación= ABC <sub>R</sub> /ABC <sub>T-1</sub>	4,87/3,95 = 1,23		4,95/4,25 = 1,16		1,22/0,99 = 1,23	