

CALIFICACIÓN DE LA EQUIVALENCIA FARMACÉUTICA *in vitro* POR LA METODOLOGÍA HPLC DE CUATRO MEDICAMENTOS CONTENIENDO PARACETAMOL, CLORFENAMINA MALEATO Y FENILEFRINA CLORHIDRATO EN TABLETAS

Jhonnell Samaniego Joaquin^a, Gladys Arias Arroyo^a

RESUMEN

Se calificó la equivalencia farmacéutica *in vitro* de cuatro medicamentos conteniendo paracetamol, clorfenamina maleato y fenilefrina clorhidrato en tabletas utilizando la Cromatografía Líquida de Alta Resolución en fase reversa (HPLC-RP), se determinó los perfiles de disolución del producto de referencia y de los 4 productos en estudio, además se establecieron y compararon las diferencias de los perfiles de disolución del producto de referencia y los productos en estudio. El diseño de la metodología empleada fue analítico, experimental y comparativo. Se evaluaron cuatro formulaciones comercializadas en Lima y el medicamento de referencia mediante el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se cuantificaron los perfiles de disolución y fueron comparados a través de un método estadístico modelo independiente, factor de diferencia (f_1) y de similitud (f_2), los cuales revelaron que las curvas de disolución son distintas entre los productos del laboratorio de referencia y los laboratorios analizados, ya que f_1 y f_2 estuvieron fuera de los rangos establecidos en dos de las cuatro formulaciones evaluadas. Los resultados obtenidos demostraron que dos de los cuatro productos analizados con este método no serían equivalentes farmacéuticos.

Palabras clave: Equivalencia farmacéutica *in vitro*, cromatografía líquida de alta resolución, perfiles de disolución, factor de diferencia (f_1), factor de similitud (f_2).

RATING PHARMACEUTICAL EQUIVALENCE *in vitro* BY HPLC METHODOLOGY FOUR DRUGS CONTAINING ACETAMINOPHEN, CHLORPHENIRAMINE MALEATE AND PHENYLEPHRINE HYDROCHLORIDE TABLETS

ABSTRACT

Pharmaceutical equivalence *in vitro* four medicines containing paracetamol, maleate chlorpheniramine and phenylephrine hydrochloride tablets using Chromatography Liquid High Resolution reversed phase (HPLC-RP) is called, the dissolution profiles of the reference product and were determined 4 products in the study also were established and compared the

^a Facultad Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Jr. Puno 1002. Jardín Botánico.
Lima. Perú. jhonnell28@hotmail.com

differences in the dissolution profiles of the reference product and the products under study. The design methodology was analytical, experimental and comparative. Four formulations marketed in Lima and the reference product was evaluated by the method of high performance liquid chromatography (HPLC). The dissolution profiles were measured and were compared using a statistical method independent model difference factor (f_1) and similarity (f_2), which revealed that the dissolution curves are different between products reference laboratory and laboratories analyzed, since f_1 and f_2 were outside the ranges established in two of the four formulations tested. The results showed that two of the four products tested by this method would not be pharmaceutical equivalents.

Key words: *in vitro* pharmaceutical equivalence, high-resolution liquid chromatography, dissolution profiles difference factor (f_1), similarity factor (f_2).

INTRODUCCIÓN

Los estudios de bioequivalencia *in vivo* han constituido el tipo de evidencia de primera elección para demostrar la intercambiabilidad de la mayoría de los medicamentos. Sin embargo, entidades internacionales como la FDA (Food and Drug Administration) y la EMA (European Medicines Agency) han abierto la puerta a la posibilidad de demostrar la equivalencia *in vitro* para ciertos medicamentos, mediante ensayos de disolución y pruebas que garantizan su eficacia y seguridad; y así evitar la realización de ensayos *in vivo* en humanos y disminuir los costos de desarrollo de los medicamentos. Para ello utilizamos las comparaciones de los perfiles de disolución del medicamento en estudio.¹

Los medicamentos genéricos son todos aquellos diferentes al innovador. Equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas que pueden o no ser equivalentes terapéuticos. Aquellos que hayan demostrado equivalencia *in vivo* o *in vitro*, se consideran terapéuticamente equivalentes al producto de referencia y pueden ser declarados intercambiables. Son equivalentes farmacéuticos aquellos medicamentos que contienen la misma cantidad molar de ingrediente farmacéutico activo, en la misma forma farmacéutica, están destinados a ser administrados por la misma vía y cumplen con estándares de calidad idénticos o comparables.¹

Los estudios *in vitro* están constituidos por estudios comparativos de perfiles de disolución, en donde se determina la cantidad o porcentaje del principio activo disuelta en función del tiempo bajo condiciones controladas y validadas. El propósito de este tipo de estudio es comparar las características de liberación del principio activo contenido en una forma farmacéutica sólida oral de liberación inmediata.²

Las pruebas para realizar los perfiles de disolución deberán realizarse tomando como referencia la metodología establecida en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) en un Aparato I a 100 rpm o un Aparato II a 50 rpm usando 900 mL de los siguientes medios de disolución: (1) 0,1 N de HCl o Fluido Gástrico Simulado USP sin enzimas; (2) un tampón de pH 4,5 y (3) un tampón de pH 6,8 o Fluido Intestinal Simulado USP sin enzimas. Para cápsulas y comprimidos recubiertos de gelatina, se puede usar Fluidos Gástrico o Intestinal

Simulado USP (con enzimas). Se deberá evaluar un mínimo de 12 unidades posológicas de un producto medicamentoso para respaldar una solicitud de bioexención. Se deberá recolectar las muestras en un número suficiente de intervalos para caracterizar el perfil de disolución del producto medicamentoso. Cuando se comparan los productos de prueba y referencia, se deberá comparar los perfiles de disolución usando un factor de similitud (f_2). El factor de similitud es una transformación logarítmica de la raíz cuadrada recíproca de la suma del error cuadrado y es una medición de la similitud en el porcentaje (%) de disolución entre las dos curvas.³

La cuantificación simultánea de las muestras obtenidas de la combinación de paracetamol, clorfenamina maleato y fenilefrina clorhidrato como medicamento antigripal en tabletas, se determinó por el método analítico HPLC ya que es más específico y sensible.⁴

El objetivo general del presente trabajo fue calificar la equivalencia farmacéutica *in vitro* de cuatro medicamentos conteniendo paracetamol, clorfenamina maleato y fenilefrina clorhidrato en tabletas utilizando la Cromatografía Líquida de Alta Resolución en fase reversa (HPLC-RP).

Los objetivos específicos fueron la determinación de los perfiles de disolución del producto de referencia y de los 4 productos en estudio, además comparar las diferencias de los perfiles de disolución del producto de referencia y los productos en estudio.

PARTE EXPERIMENTAL

Reactivos

Ácido clorhídrico (Merck), fosfato monobásico de potasio (Merck), acetonitrilo (grado HPLC, J.T. Baker), ácido fosfórico al 85% (calidad R.A. J.T. Baker), agua (HPLC).

Material de referencia

Clorfeniramina maleato (estándar primario USP), Paracetamol (estándar primario USP) y Fenilefrina clorhidrato (estándar primario USP),

Equipos

- Sistema HPLC Agilent Technologies 1260, equipado con bomba 1260-G1311B, auto muestreador 1260 ALS-G1329B, horno para columna 1260 TCC-G1316A y detector de arreglo de diodos 1260 DAD-G4212B. Para la adquisición y procesamiento de los cromatogramas, se empleó el programa Open lab.
- Equipo de disolución Sotax AT7 Smart
- Balanza analítica Mettler Toledo XPE205

Sistema cromatográfico

Se empleó como fase móvil una solución fosfato monobásico de potasio, se ajustó a pH 3,5 con ácido fosfórico al 85%. Se empleó una columna L11 relleno de grupos fenilo de sílice de 150 x 4,6 mm 5 μ m (Agilent). Se trabajó a un flujo de 0,5 mL/min hasta el minuto 7,0 y luego

se aumentó el flujo a 1,0 mL/min hasta el minuto 22,0 de forma constante hasta el minuto 35,0 y luego se disminuye el flujo a 0,5 mL/min hasta el minuto 40,0. También cuenta con una elución en gradiente de acetonitrilo a los 22,0 minutos en un 20% hasta el minuto 35,0 y luego continuo con fase móvil. Se empleó detección UV a 205 nm para Clorfeniramina maleato, 202 nm para Fenilefrina clorhidrato, 298 nm para Paracetamol; temperatura de la columna 30°C; volumen de inyección: 20µL.

Método

Se utilizó el método de cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (HPLC-RP) en fase reversa para determinar la equivalencia *in vitro* de la combinación de paracetamol, clorfenamina maleato y fenilefrina clorhidrato tabletas.⁴

Tipo y diseño de investigación

Estudio analítico experimental y comparativo, empleándose cuatro formulaciones de la combinación de paracetamol, clorfenamina maleato y fenilefrina clorhidrato tabletas comercializados en la ciudad de Lima, en establecimientos farmacéuticos los cuales serán comparados con el original de laboratorio multinacional (medicamento de referencia).

Unidad de análisis

Se procedió a validar un método de ensayo por HPLC para determinar la equivalencia *in vitro* de la combinación de paracetamol, clorfenamina maleato y fenilefrina clorhidrato tabletas.

Tamaño de muestra

Cinco en total: cuatro formulaciones comercializadas en Lima y el medicamento de referencia. Para calificar la equivalencia farmacéutica *in vitro* se comparó simultáneamente cada uno de los medicamentos en estudio con el producto de referencia.

Selección de muestra

Se procedió a obtener las muestras de las cuatro formulaciones, adquiriéndolas en cuatro cadenas de boticas y farmacias de mayor influencia en el mercado farmacéutico que son comercializadas en la ciudad de Lima.

Técnica de recolección de datos

Los perfiles de disolución fueron cuantificadas a través de la técnica de cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (HPLC-RP). Estos perfiles se compararon a través de un método estadístico modelo independiente, factor de diferencia (f1) y de similitud (f2).³

Determinación de los perfiles de disolución:

- **Preparación de la solución estándar**

Se pesaron 46,5 mg de Fenilefrina clorhidrato y 18,5 mg de Clorfeniramina maleato, se transfirieron a un matraz volumétrico de 250 mL. Se añadieron 100 mL fase móvil y se sónico por 5 minutos y se enrasó con fase móvil. (Fiola A). Se pesaron 55,0 mg de paracetamol y se transfirieron a un matraz volumétrico de 100 mL. Se añadieron 50 mL

de fase móvil y se sónico por 5 minutos. Se transfirió 3 mL de la Fiola A y se enrasó con fase móvil. Se homogeneizó y filtró por membrana de 0,45µm PVDF Millipore. Concentración aproximada de 0,0056 mg/mL de fenilefrina clorhidrato, 0,0022 mg/mL de clorfeniramina maleato y 0,55 mg/mL de paracetamol.

- Preparación de las muestras

Se evaluaron doce tabletas de cada formulación por lote y en todos los procesos, de igual concentración nominal de 5 mg de fenilefrina clorhidrato, 5 mg de clorfeniramina maleato y 500 mg de paracetamol para todas las muestras. El volumen de medio de disolución a emplear fue de 900 mL al que se le agrego las formulaciones en estudio y se muestrearon de manera manual y con 5 tiempos de muestreo recomendados por la FDA establecidos a los 15, 30, 45, 60 y 75 minutos. Los perfiles de disolución se realizaron usando aparato 2 USP a 50 rpm empleando equipo de disolución ZOTAX. Los medios de disolución fueron soluciones amortiguadoras USP (11) para simular los fluidos fisiológicos del sistema gastrointestinal: pH 1,2 (fluido gástrico simulado sin enzimas), pH 4,5 (solución buffer acetato), y pH 6,8 (solución buffer fosfato) a una temperatura de $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Todas las muestras se filtraron a través de membranas de 0,45 µm PVDF Millipore. Concentración aproximada de 0,0056 mg/mL de fenilefrina clorhidrato, 0,0056 mg/mL de clorfeniramina maleato y 0,55 mg/mL de paracetamol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a. Comparación de los perfiles de disolución para las cuatro formulaciones en estudio y el producto de referencia en medio de disolución a pH 1,2

Tabla 1. Porcentaje promedio liberado de fenilefrina clorhidrato en medio de disolución pH 1,2; resultado f1 y f2.

REFERENCIA	84,85%	93,67%	94,54%	95,45%	96,51%
PRODUCTO A	75,51%	82,39%	87,51%	88,86%	90,60%
f1 = 8,63			f2 = 53,96		
PRODUCTO B	46,74%	51,91%	53,44%	54,87%	56,99%
f1 = 43,24			f2 = 19,77		
PRODUCTO C	42,72%	49,96%	51,44%	52,66%	53,64%
f1 = 46,15			f2 = 18,36		
PRODUCTO D	76,21%	80,50%	82,36%	89,64%	92,22%
f1 = 9,48			f2 = 51,06		

Factor de diferencia (f1) = Rango de aceptación (0-15)

Factor de similitud (f2) = Rango de aceptación (50-100)

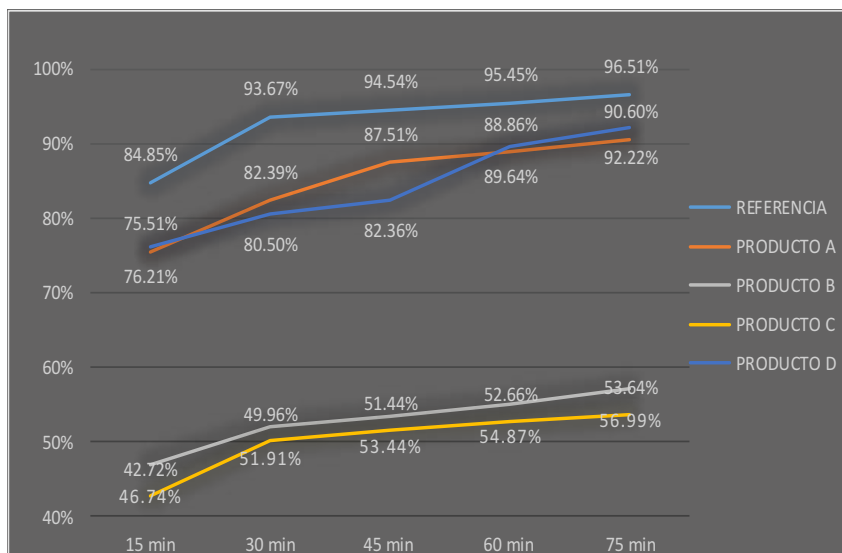


Figura 1. Comparación de los perfiles de disolución de fenilefrina clorhidrato en medio a pH 1,2.

Tabla 2. Porcentaje promedio liberado de clorfenamina maleato en medio de disolución pH 1,2; resultado f1 y f2.

	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min
REFERENCIA	86,40%	95,47%	96,61%	97,62%	99,29%
PRODUCTO A	76,91%	84,05%	88,64%	91,13%	92,54%
f1 = 8,86			f2 = 53,08		
PRODUCTO B	48,63%	52,29%	55,63%	57,80%	60,27%
f1 = 42,23			f2 = 19,78		
PRODUCTO C	44,63%	51,95%	53,80%	55,07%	56,07%
f1 = 44,99			f2 = 18,43		
PRODUCTO D	77,46%	81,83%	84,06%	90,90%	95,24%
f1 = 9,66			f2 = 50,22		

Factor de diferencia (f1) = Rango de aceptación (0-15)

Factor de similitud (f2) = Rango de aceptación (50-100)

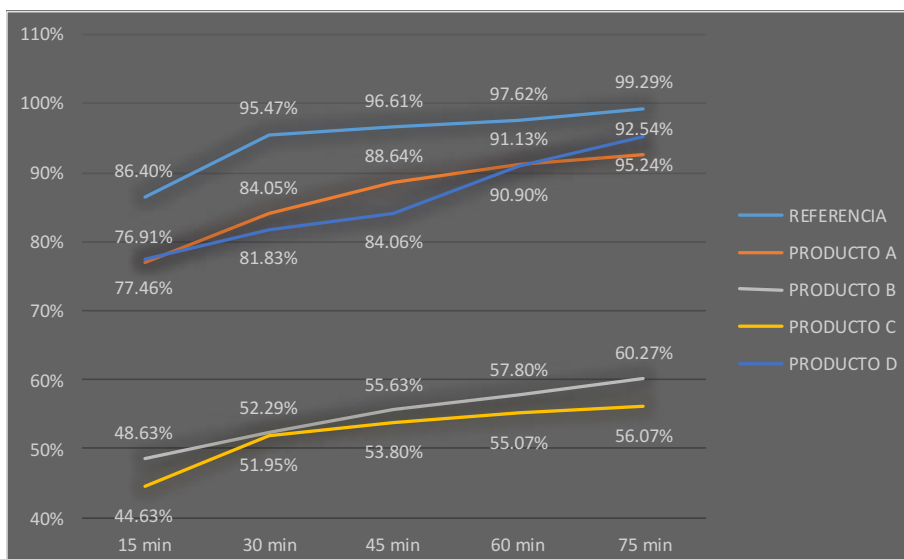


Figura 2. Comparación de los perfiles de disolución de clorfenamina maleato en medio a pH 1,2.

Tabla 3. Porcentaje promedio liberado de paracetamol en medio de disolución pH 1,2; resultado f1 y f2.

	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min
REFERENCIA	86,01%	95,89%	98,44%	99,58%	101,11%
PRODUCTO A	74,59%	85,68%	89,03%	92,16%	95,27%
f1 = 9,21			f2 = 51,96		
PRODUCTO B	46,03%	51,23%	53,92%	55,89%	58,59%
f1 = 44,77			f2 = 18,27		
PRODUCTO C	42,68%	49,21%	51,44%	53,20%	54,61%
f1 = 47,79			f2 = 16,86		
PRODUCTO D	75,26%	83,71%	86,97%	92,11%	95,24%
f1 = 9,93			f2 = 50,20		

Factor de diferencia (f1) = Rango de aceptación (0-15)
 Factor de similitud (f2) = Rango de aceptación (50-100)

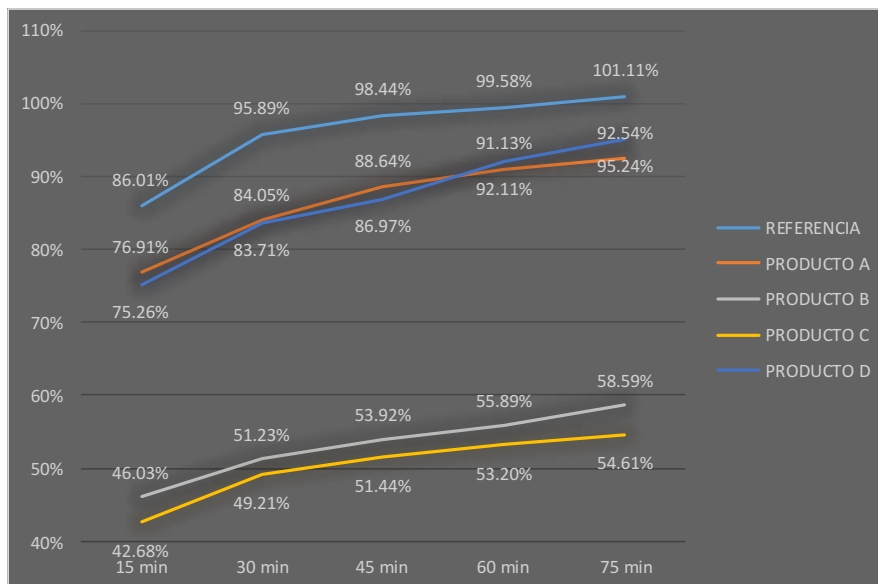


Figura 3. Comparación de los perfiles de disolución de paracetamol en medio a pH 1,2.

b. Comparación de los perfiles de disolución para las cuatro formulaciones en estudio y el producto de referencia en medio de disolución a pH 4,5.

Tabla 4. Porcentaje promedio liberado de fenilefrina clorhidrato en medio pH 4,5; resultado f1 y f2.

	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min
REFERENCIA	82,82%	92,99%	93,52%	93,98%	94,52%
PRODUCTO A	76,37%	87,23%	88,43%	89,42%	91,82%
f1 = 5,36			f2 = 64,32		
PRODUCTO B	47,30%	49,00%	50,08%	51,51%	52,96%
f1 = 45,21			f2 = 19,09		
PRODUCTO C	42,44%	48,58%	49,81%	51,32%	52,29%
f1 = 46,61			f2 = 18,47		
PRODUCTO D	78,05%	87,47%	88,50%	90,08%	91,27%
f1 = 4,91			f2 = 66,51		

Factor de diferencia (f1) = Rango de aceptación (0-15)
 Factor de similitud (f2) = Rango de aceptación (50-100)

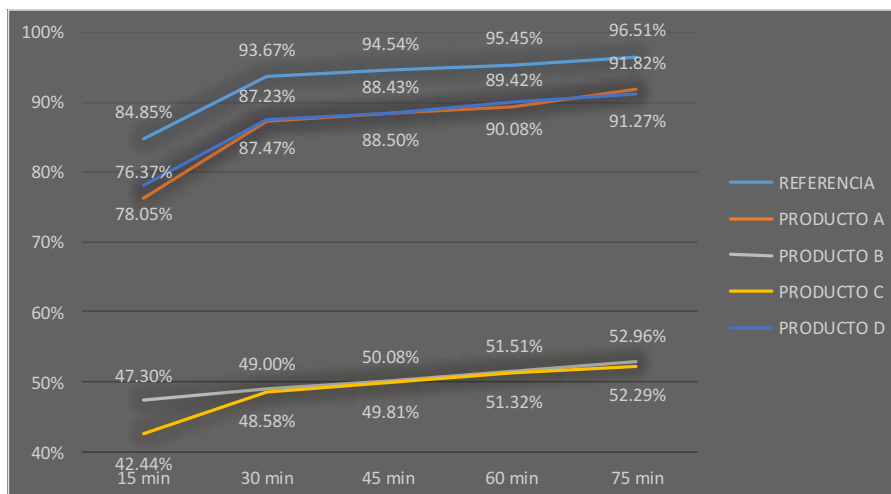


Figura 4. Comparación de los perfiles de disolución de fenilefrina clorhidrato en medio pH 4,5.

Tabla 5. Porcentaje promedio liberado de clorfenamina maleato en medio pH 4,5; resultado f1 y f2.

	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min
REFERENCIA	80,71%	91,40%	92,42%	93,22%	93,86%
PRODUCTO A	74,30%	85,35%	86,94%	87,20%	90,35%
f1 = 6,08			f2 = 62,29		
PRODUCTO B	45,07%	47,40%	48,80%	50,11%	51,19%
f1 = 46,29			f2 = 18,87		
PRODUCTO C	40,19%	46,57%	48,38%	49,76%	50,88%
f1 = 47,79			f2 = 18,22		
PRODUCTO D	76,92%	86,50%	87,53%	88,94%	90,77%
f1 = 4,64			f2 = 68,01		

Factor de diferencia (f1) = Rango de aceptación (0-15)

Factor de similitud (f2) = Rango de aceptación (50-100)

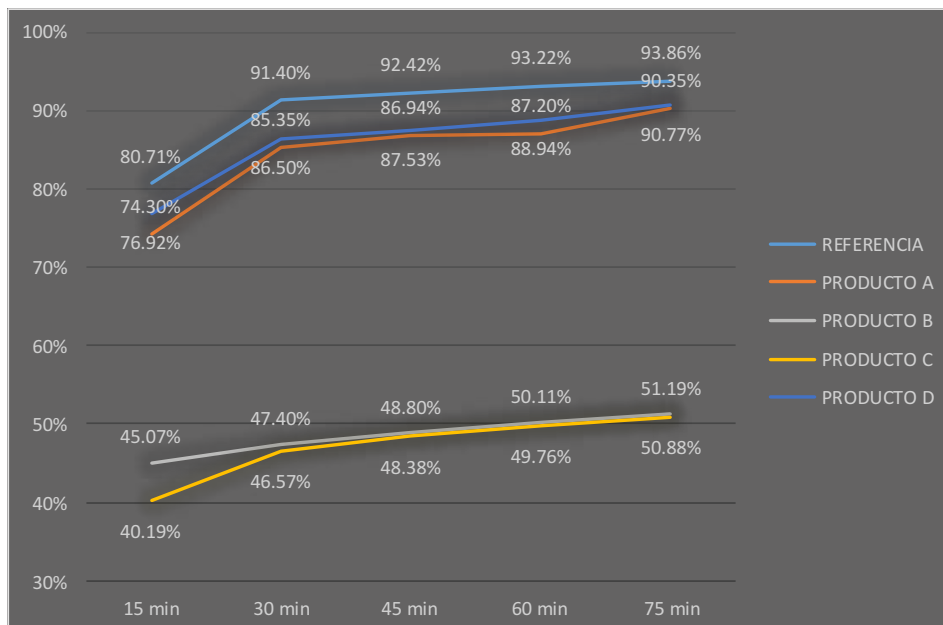


Figura 5. Comparación de los perfiles de disolución de paracetamol en medio a pH 1,2.

Tabla 6. Porcentaje promedio liberado de paracetamol en medio pH 4,5; resultado f1 y f2.

	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min
REFERENCIA	84,68%	92,93%	95,38%	97,76%	100,26%
PRODUCTO A	78,66%	88,11%	92,80%	95,08%	97,07%
f1 = 4,09			f2 = 68,81		
PRODUCTO B	56,76%	61,02%	64,85%	67,07%	69,90%
f1 = 32,15			f2 = 25,91		
PRODUCTO C	53,47%	56,97%	58,93%	61,45%	64,28%
f1 = 37,35			f2 = 22,64		
PRODUCTO D	80,23%	89,40%	91,06%	92,81%	95,07%
f1 = 4,76			f2 = 66,70		

Factor de diferencia (f1) = Rango de aceptación (0-15)
 Factor de similitud (f2) = Rango de aceptación (50-100)

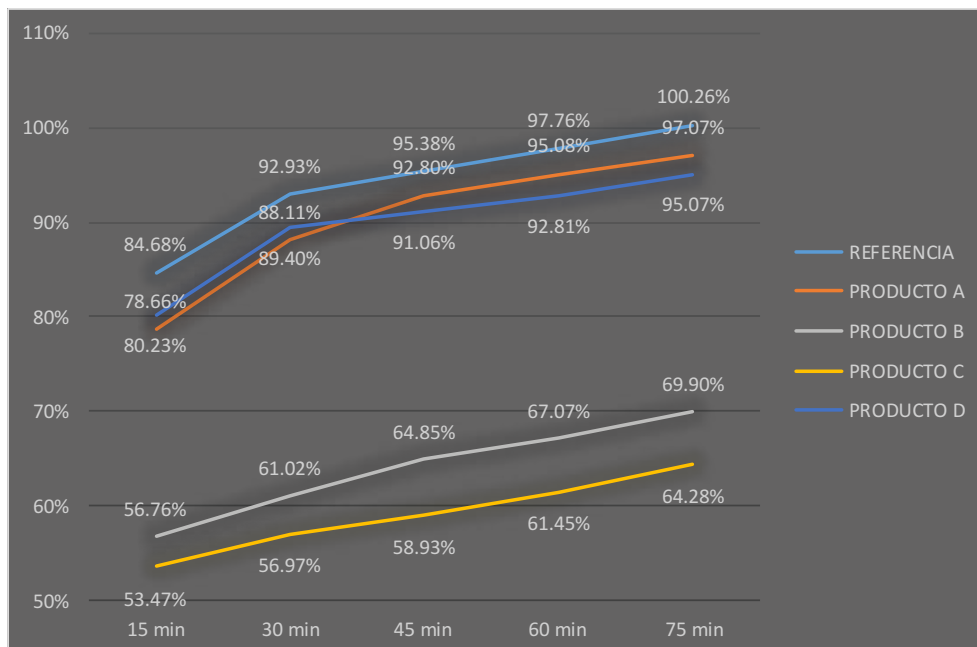


Figura 6. Comparación de los perfiles de disolución de paracetamol en medio pH 4,5.

c. Comparación de los perfiles de disolución para las cuatro formulaciones en estudio y el producto de referencia en medio de disolución a pH 6,8.

Tabla 7. Porcentaje promedio liberado de fenilefrina clorhidrato en medio pH 6,8; resultado f1 y f2.

	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min
REFERENCIA	82,82%	92,99%	93,52%	93,98%	94,52%
PRODUCTO A	82,46%	87,31%	88,44%	89,99%	91,99%
f1 = 3,85			f2 = 69,18		
PRODUCTO B	75,46%	76,25%	77,16%	78,26%	79,21%
f1 = 15,61			f2 = 41,56		
PRODUCTO C	73,11%	74,75%	75,98%	77,40%	78,37%
f1 = 17,08			f2 = 39,83		
PRODUCTO D	83,05%	84,63%	85,67%	87,08%	92,69%
f1 = 5,50			f2 = 60,65		

Factor de diferencia (f1) = Rango de aceptación (0-15)
 Factor de similitud (f2) = Rango de aceptación (50-100)

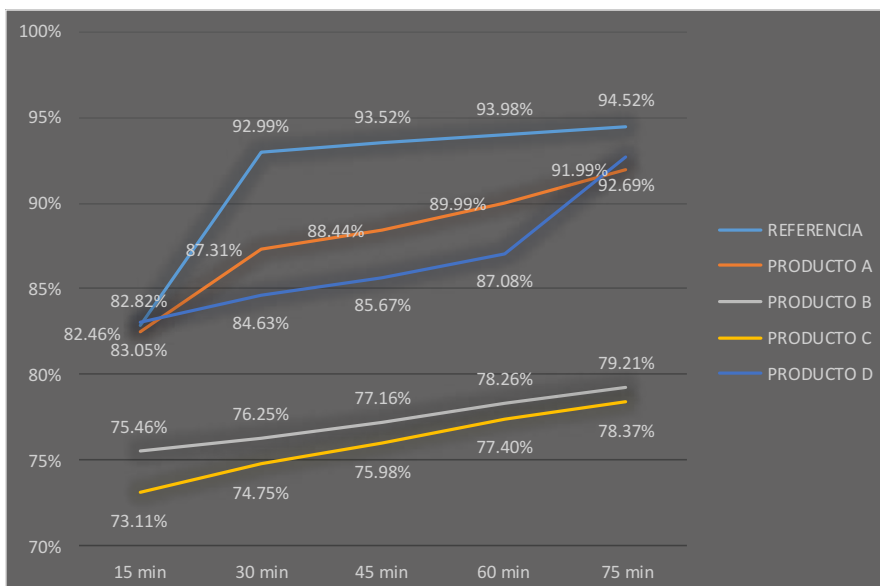


Figura 7. Comparación de los perfiles de disolución de fenilefrina clorhidrato en medio pH 6,8.

Tabla 8. Porcentaje promedio liberado de clorfenamina maleato en medio pH 6,8; resultado f_1 y f_2 .

	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min
REFERENCIA	82,82%	92,99%	93,52%	93,98%	94,52%
PRODUCTO A	82,46%	87,31%	88,44%	89,99%	91,99%
$f_1 = 3,85$			$f_2 = 69,18$		
PRODUCTO B	75,46%	76,25%	77,16%	78,26%	79,21%
$f_1 = 15,61$			$f_2 = 41,56$		
PRODUCTO C	73,11%	74,75%	75,98%	77,40%	78,37%
$f_1 = 17,08$			$f_2 = 39,83$		
PRODUCTO D	83,05%	84,63%	85,67%	87,08%	92,69%
$f_1 = 5,50$			$f_2 = 60,65$		

Factor de diferencia (f_1) = Rango de aceptación (0-15)

Factor de similitud (f_2) = Rango de aceptación (50-100)

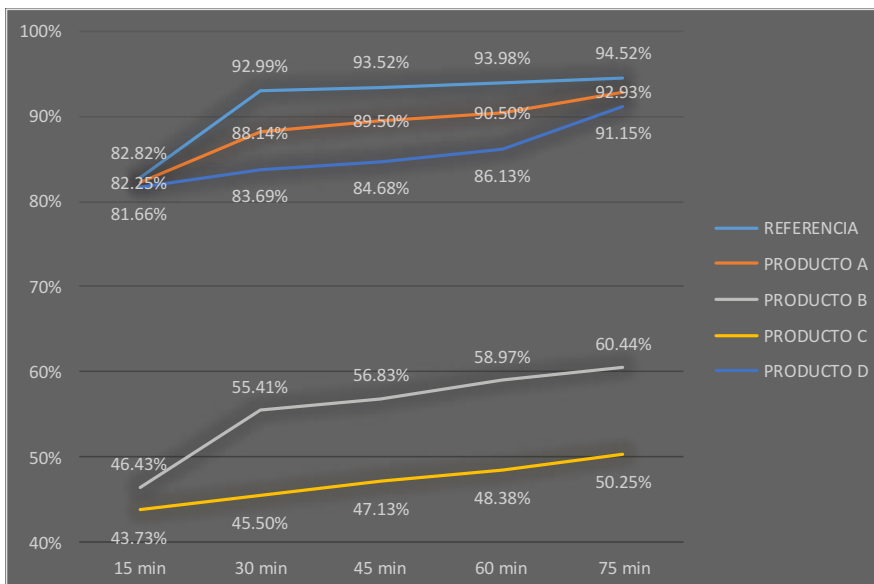


Figura 8. Comparación de los perfiles de disolución de clorfenamina maleato en medio pH 6,8.

Tabla 9. Porcentaje promedio liberado de paracetamol en medio pH 6,8; resultado f1 y f2.

	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min
REFERENCIA	84,23%	95,52%	96,99%	98,21%	100,35%
PRODUCTO A	81,31%	88,91%	90,48%	93,10%	95,32%
f1 = 5,50			f2 = 63,01		
PRODUCTO B	73,77%	79,90%	82,19%	83,42%	83,92%
f1 = 15,17			f2 = 41,78		
PRODUCTO C	77,69%	78,84%	79,86%	80,79%	81,66%
f1 = 16,09			f2 = 39,86		
PRODUCTO D	82,95%	84,76%	85,97%	87,32%	94,29%
f1 = 8,42			f2 = 52,45		

Factor de diferencia (f1) = Rango de aceptación (0-15)
 Factor de similitud (f2) = Rango de aceptación (50-100)

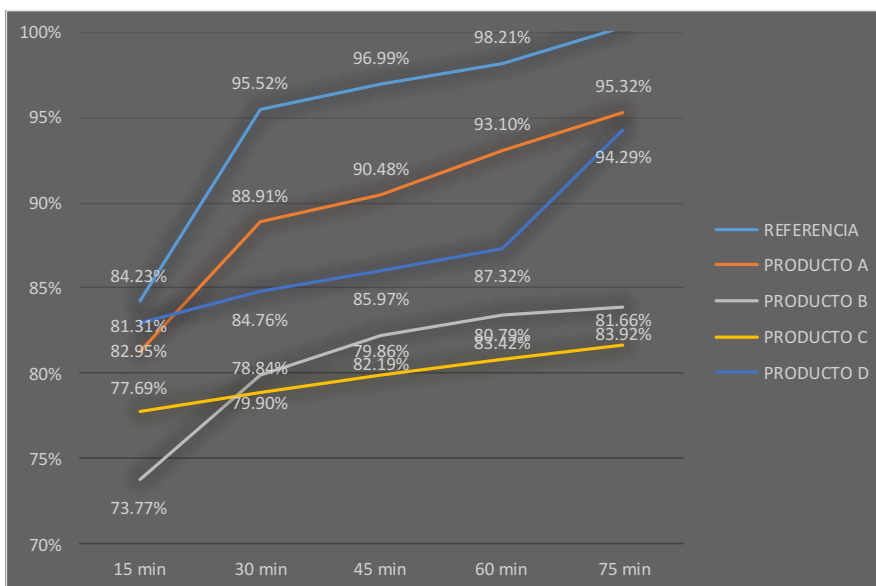


Figura 9. Comparación de los perfiles de disolución de paracetamol en medio pH 6,8.

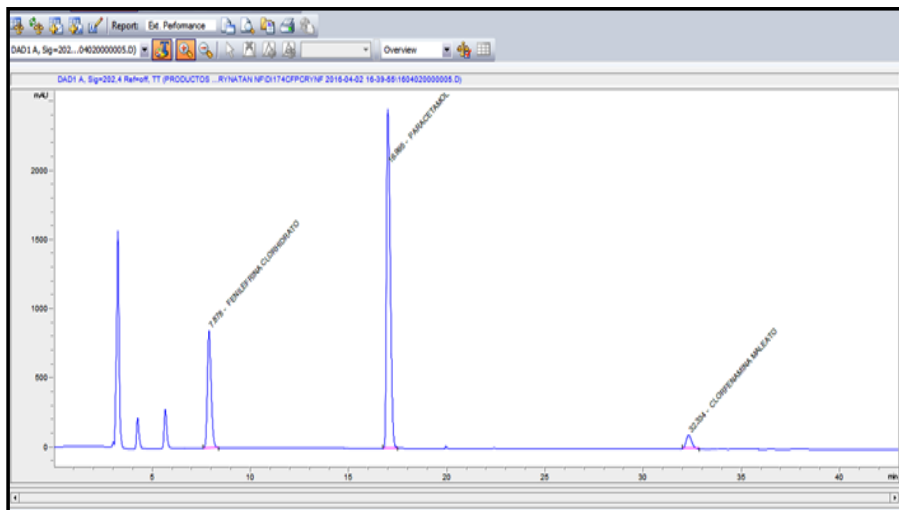


Figura 10. Cromatograma para cuantificar fenilefrina clorhidrato, paracetamol y clorfeniramina maleato

DISCUSIÓN

En el desarrollo de los perfiles de disolución según las tablas 1, 2 y 3, las formulaciones B y C, evidenciaron una baja disolución en medio de disolución a pH 1,2 en comparación con las formulaciones A y D también evaluadas las cuales sí resultaron ser similares al compararlas con el producto de referencia, según los datos obtenidos como el factor de similitud (f_2) y factor de diferencia (f_1).³

En las tablas 4, 5 y 6, las formulaciones A y D, lograron una mejor disolución en medio de disolución a pH 4,5 obteniendo factores de similitud (f_2) y factores de diferencia (f_1) aceptables, en comparación a las formulaciones B y C que no alcanzaron el mínimo requerido para ambos factores; determinando según este modelo que no son similares al producto de referencia.³

Las determinaciones de los perfiles de disolución de las formulaciones en estudio C y D en medio de disolución a pH 6,8, según tablas 7, 8 y 9, no lograron establecer su similitud con respecto al producto de referencia según la evaluación de los factores de similitud (f_2) y factores de diferencia (f_1); con respecto a las formulaciones A y D sí se obtuvieron valores aceptables, lográndose determinar su similitud según el análisis de los factores antes mencionados.³

Se observaron diferencias con respecto a la liberación de los principios activos entre el producto de referencia que liberó más del 80% a los 15 minutos en los tres diferentes medios a pH 1,2, 4,5 y 6,8 y las formulaciones en estudio que no tuvieron el mismo comportamiento logrando liberar en promedio más del 80% solo a los 30 minutos. Esta variación puede deberse a los diferentes excipientes empleados en la formulación de las diversas tabletas y el producto de referencia.⁸

CONCLUSIONES

Se utilizó una técnica analítica por Cromatografía Líquida de Alta Resolución en fase reversa (HPLC-RP) para lograr determinar la equivalencia *in vitro* de la combinación de paracetamol, clorfenamina maleato y fenilefrina clorhidrato en tabletas; ya que presenta mayores ventajas por ser el principal método de separación de especies químicas estrechamente relacionadas.

Se logró desarrollar los perfiles de disolución de los de las cuatro formulaciones y el producto de referencia, los cuales fueron evaluados de acuerdo a un método modelo independiente f_1 y f_2 . Estos revelaron que dos formulaciones, B y C, no son equivalentes *in vitro*, ya que tienen un comportamiento diferente durante el desarrollo de los perfiles de disolución.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas. Directiva Sanitaria que regula los estudios de Equivalencia Terapéutica para demostrar la intercambiabilidad de medicamentos. Lima, 2014
2. Medina A. Bioexenciones y estudios de bioequivalencia *in vitro*. [en línea] Revista electrónica del Centro de la Ciencia y la Investigación Farmacéutica. Colombia. 2009,5: 9-15. [accesado Febrero del 2009]. Disponible en: <http://www.clinicaces.com/userfiles//Magazine-CECIF-No%20-5-Feb-Mar-2009.pdf>
3. U.S. Food And Drug Administration. Exención de los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia *in vivo* para formas posológicas orales sólidas de liberación inmediata en base a un sistema de clasificación de biofarmacéuticas. Guía para la Industria. Rockville: Food and Drug Administration; 2000.
4. Samaniego J, Arias G. Desarrollo y validación de una metodología analítica por HPLC para la cuantificación simultánea de fenilefrina clorhidrato, paracetamol, salicilamida, cafeína y clorfenamina maleato en tabletas. Rev Soc Quim Perú. 2016; 82.(2):196-207
5. Farmacopea de los Estados Unidos de América. USP 38 NF 33. Maryland: The United States Pharmacopeia Convention; 2015.
6. Herrera O, Grande M. Equivalencia terapéutica de tabletas de diazepam dispensadas en la ciudad de Ica, Perú. Rev Med Hered. 2012; 23(3):154-159.
7. Villalba O, Ortiz J, Grande M, Isasi J, Yantas D, Fiestas V. Estudio de Bioequivalencia de Ibuprofeno 400 mg. Tabletas. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2007; 24 (4):356-362.
8. European Medicines Agency (EMA). Committee for medicinal products for human use. Guideline on the Investigation of Bioequivalence. London: European Medicines Agency; 2010.