

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 932 671**

21 Número de solicitud: 202230796

51 Int. Cl.:

**G01N 21/71** (2006.01)

**G01N 33/15** (2006.01)

**G06F 18/00** (2013.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

**07.09.2022**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**23.01.2023**

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

**21.07.2023**

Fecha de concesión:

**04.08.2023**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**11.08.2023**

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
(80.0%)**

**Avenida de Séneca, 2  
28040 Madrid (Madrid) ES y  
INSTITUTO DE SALUD CARLOS III (20.0%)**

72 Inventor/es:

**CÁCERES, Jorge Omar;  
CÁRDENAS ESCUDERO, Jafet;  
NAVARRO VILLOSLADA, Fernando;  
ESCRIBANO PINTOR, Santiago y  
GALÁN MADRUGA, David**

54 Título: **Detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia**

57 Resumen:

Detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia.

Los estudios de bioequivalencia *in vitro* que actualmente requieren algunos fármacos son costosos, necesitan personal especializado y tienen que llevarse a cabo en humanos. La presente invención plantea un método para determinar la bioequivalencia *in vitro* que se basa en el estudio espectroquímico de emisión LIBS de los elementos químicos que componen la formulación de ambos fármacos (genérico y fármaco de referencia) combinado con un procedimiento estadístico. El método permite la determinación de la bioequivalencia entre fármacos con alta precisión, proporcionando resultados de alta sensibilidad y especificidad con conveniente rapidez y sin el requerimiento de instrumentación analítica avanzada.

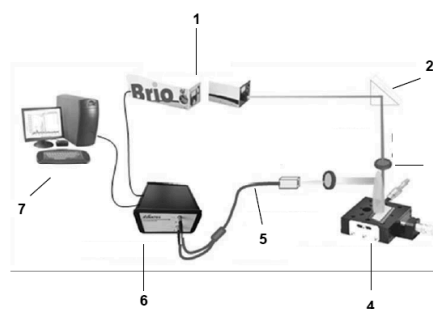


Figura 1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015. Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

ES 2 932 671 B2

## DESCRIPCIÓN

Detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia

5

### SECTOR DE LA TÉCNICA

La invención se refiere a un método rápido para evaluar la bioequivalencia de fármacos. De forma más concreta, se refiere a un método para la determinación cuantitativa de la bioequivalencia *in vitro* de fármacos de formulaciones sólidas orales de liberación inmediata, basado en tratamientos estadísticos y matemáticos a partir de los espectros LIBS de un fármaco de referencia y uno genérico de la misma especialidad farmacéutica. Por tanto, la invención se enmarca en el campo de control de calidad y regulación de registro sanitario de formulaciones orales sólidas.

10  
15

### ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Según la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos, la bioequivalencia se define como "la ausencia de una diferencia significativa en la tasa y el grado en que el ingrediente activo o la fracción activa de los equivalentes farmacéuticos o las alternativas farmacéuticas se hace disponible en el lugar de acción del fármaco cuando se administra a la misma dosis molar en condiciones similares en un estudio adecuadamente diseñado" (USFDA, *Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies Submitted in NDAs or INDs - General Considerations United States Department of Health and Human Services USA, 2014*)

20  
25

Un fármaco genérico puede demostrar su bioequivalencia con respecto a un fármaco de referencia utilizando mecanismos *in vivo* (como los estudios de biodisponibilidad en los que se comprueba el rendimiento farmacocinético del fármaco en los pacientes) o *in vitro* (estudiando la diferencia y la similitud entre los perfiles de disolución del fármaco genérico y el de referencia).

30

En la actualidad, la selección del método para demostrar la bioequivalencia de un medicamento genérico depende estrictamente de la categoría a la que corresponde el principio activo del medicamento genérico en el sistema de clasificación biofarmacéutica

35

(BCS) (A. Dokoumetzidis, P. Macheras, *A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System, International*. Journal of Pharmaceutics 321(1), **2006**, 1-11), propuesto por Gordon Amidon y sus colaboradores en 1995 ( G.L. Amidon, H. Lennernäs, V.P. Shah, J.R. Crison, *A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability*, Pharmaceutical Research 12(3), **1995**, 413-420). Este sistema de clasificación, basado en las características de solubilidad y permeabilidad de los API's (del inglés "active pharmaceutical ingredient") o compuestos activos farmacéuticos, consta de cuatro categorías.

10

Generalmente, los APIs que pertenecen a la categoría I del BCS pueden realizar estudios *in vitro* para demostrar su bioequivalencia. Los APIs pertenecientes a esta categoría I tienen una alta solubilidad y una alta permeabilidad, lo que significa que no es necesario dilucidar su farmacocinética *in vivo* debido a la disponibilidad de esta información a partir de los estudios que soportan el medicamento de referencia. Además, este criterio puede aplicarse en algunos casos de APIs de la categoría III del BCS porque estos APIs tienen una alta solubilidad. Por lo demás, los medicamentos genéricos con principios activos pertenecientes a las categorías II y IV, y algunos de la III, del BCS generalmente deben demostrar su bioequivalencia a través de estudios comparativos de biodisponibilidad (*in vivo*) porque las características de solubilidad y permeabilidad de los APIs de estas categorías requieren un estudio específico para demostrar el rendimiento farmacocinético del genérico, con algunas excepciones relativas a la concentración del fármaco en la fórmula y la dosis.

15

20

25

Así, los APIs que pertenecen a la categoría I, y algunos de la categoría III, pueden solicitar una "biowaiver", esto es una exención a los estudios de bioequivalencia *in vivo*, lo que significa que se puede prescindir de los estudios de biodisponibilidad *in vivo* y/o de bioequivalencia (no se consideran necesarios para la aprobación del producto). En definitiva, no es más que la justificación, apoyada en pruebas científicas, de que la bioequivalencia del medicamento puede ser demostrada por estudios de disolución *in vitro* sin la exigencia de estudios *in vivo*. Sin embargo, a pesar de la gran aceptación con la que las agencias de medicamentos de todo el mundo aplican el BCS para justificar la "biowaiver" de un medicamento genérico, éste podría ser demasiado rígido o estricto e inexacto para este propósito (M. Yazdanian, K. Briggs, C. Jankovsky, A. Hawi, *The "High Solubility" Definition of the Current FDA Guidance on Biopharmaceutical*

35

*Classification System May Be Too Strict for Acidic Drugs*, *Pharmaceutical Research* 21(2), **2004**, 293-299; N. Bou-Chacra, K.J.C. Melo, I.A.C. Morales, E.S. Stippler, F. Kesisoglou, M. Yazdanian, R. Löbenberg, *Evolution of Choice of Solubility and Dissolution Media After Two Decades of Biopharmaceutical Classification System*, *The AAPS Journal* 19(4), **2017**, 989-1001; C.A.S. Bergström, S.B.E. Andersson, J.H. Fagerberg, G. Ragnarsson, A. Lindahl, *Is the full potential of the biopharmaceutics classification system reached?*, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 57, **2014**, 224-231; P. Bransford, J. Cook, M. Gupta, S. Haertter, H. He, R. Ju, J. Kanodia, H. Lennernäs, D. Lindley, J.E. Polli, L. Wenning, Y. Wu, *ICH M9 Guideline in Development on Biopharmaceutics Classification System-Based Biowaivers: An Industrial Perspective from the IQ Consortium*, *Molecular Pharmaceutics* 17(2), **2020**, 361-372).

Es esencial señalar que la FDA ha declarado que los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia no son factibles ni deseables para todos los medicamentos genéricos. Entre 1995 y 1999, la FDA publicó varias directrices basadas en el estudio de Amidon del BCS. En agosto de 2000, el Centro de Evaluación e Investigación de Medicamentos (CDER) de la FDA publicó el documento "Exención de estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia *in vivo* para formas farmacéuticas orales sólidas de liberación inmediata" (C.f.D.E.a.R. (CDER), *Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System Guidance for Industry*, USFDA, USA, **2017**), que especifica de forma concisa los requisitos que debe cumplir un medicamento genérico para demostrar su bioequivalencia *in vitro* sin necesidad de realizar estudios de biodisponibilidad *in vivo*. Los fundamentos teóricos del sistema de clasificación biofarmacéutica son la base de estas exenciones y generalmente conllevan a la demostración de la bioequivalencia de un fármaco genérico mediante ensayos de disolución, es decir, bioequivalencia *in vitro*.

Naturalmente, los estudios de bioequivalencia *in vivo* suponen un enorme coste para la industria farmacéutica. Además de requerir personal especializado e instrumentos sofisticados, tienen que llevarse a cabo en humanos, lo que implica un estudio de una envergadura muy compleja que puede llevar un tiempo significativo para completar la ejecución.

Por otro lado, los estudios de bioequivalencia *in vitro*, que también requieren personal especializado e instrumentos sofisticados, no necesitan realizarse en humanos y pueden llevarse a cabo en un tiempo relativamente rápido en comparación con los

estudios de bioequivalencia *in vivo*. Por lo tanto, esto constituye una opción menos compleja y asequible para las empresas farmacéuticas.

5 Los estudios de bioequivalencia *in vitro* comparan los perfiles de disolución de un medicamento genérico, con respecto a un medicamento de referencia, en diferentes condiciones de pH (normalmente cuatro valores de pH) (C.f.D.E.a.R. (CDER), *Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System Guidance for Industry*, USFDA, USA, **2017**). Este tipo de estudio tiene como objetivo determinar estadísticamente la similitud que existe entre la forma en que el medicamento genérico se comporta (se disuelve) en condiciones *in vitro*.

10 Por todo lo anterior, sería deseable la existencia de métodos *in vitro* para el estudio de la bioequivalencia de APIs pertenecientes a cualquier categoría I a IV.

15 Se puede inferir que la disolución de un fármaco depende estrictamente de su formulación, es decir, de las sustancias que componen el comprimido. En este sentido, un medicamento genérico presentará una similitud más significativa con el perfil de disolución de un medicamento de referencia en la medida en que sus formulaciones sean iguales o similares. En otras palabras, cuanto más se parezca la formulación cualitativa/cuantitativa entre el medicamento genérico y el de referencia, su rendimiento de disolución será similar. Basándose en esta idea, los inventores desarrollaron nuevo enfoque para determinar la bioequivalencia de un medicamento genérico mediante la técnica LIBS y la aplicación de tratamientos estadístico-matemáticos.

25

## **EXPLICACIÓN DE LA INVENCION**

30 La presente invención describe un método para la determinación de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, basado en un estudio espectroquímico de emisión LIBS de los elementos químicos que componen la formulación de ambos fármacos y empleando un procedimiento estadístico que permite establecer de manera cuantitativa la diferencia y la similitud entre los diferentes espectros , proporcionando resultados de alta sensibilidad y especificidad de forma rápida.

35

En particular, se refiere a la aplicación de la técnica LIBS con procedimientos estadísticos para el establecimiento de los factores de diferencia (f1) y similitud (f2) para la cuantificación de la bioequivalencia entre dos formulaciones farmacéuticas sólidas orales de liberación inmediata (tabletas con o sin recubrimiento). Si los valores  
 5 determinados para f1 están comprendidos entre 0 y 15, y f2 tiene valores comprendidos entre 50 y 100, el genérico se considera bioequivalente y tendrán el mismo rendimiento farmacocinético (FDA, 1997; EMEA, 2001), tal y como se aplica en los estudios de bioequivalencia in vitro basados en ensayos de disolución.

10 La espectroscopia de ablación inducida por láser (LIBS) es una técnica que permite obtener espectros elementales de cualquier sustancia pura o de mezclas de ellas; esto implica que los espectros LIBS de los fármacos darán lugar a una huella digital espectroquímica intrínsecamente asociada a la formulación cualitativa-cuantitativa del fármaco. El espectro LIBS estará formado por las emisiones de los distintos átomos que  
 15 conforman las materias primas del fármaco, tanto el principio activo como sus excipientes, por lo que podemos inferir indiscutiblemente que cada fármaco generará un espectro LIBS característico, asociado con su composición química.

Los espectros LIBS pueden utilizarse para estudiar estadísticamente la similitud y la  
 20 diferencia de la formulación (Factor f1 y Factor f2) para la cuantificación de la bioequivalencia de un fármaco genérico con respecto a uno de referencia y así establecer si el fármaco genérico podría ser potencialmente bioequivalente mediante mecanismos estadísticos comparativos de rutina en la determinación de bioequivalencia in vitro (ensayos de disolución). Es necesario resaltar que esta similitud espectroquímica  
 25 puede ser cuantificada mediante algoritmos quimiométricos, lo que constituiría un nuevo parámetro que permitiría establecer la bioequivalencia de un medicamento genérico a través del estudio directo de la formulación y no de forma "indirecta" estableciendo el rendimiento de disolución de dicha formulación.

30 El desarrollo de esta invención constituye el marco para la introducción de un nuevo criterio técnico, estrictamente relacionado con la formulación cualitativa-cuantitativa de los fármacos, para la obtención de la bioequivalencia de los medicamentos genéricos mediante estudios espectroquímicos con LIBS. Esto supone un tremendo y vital avance en la producción de medicamentos genéricos ya que minimiza significativamente el  
 35 tiempo, los recursos (instrumentales y económicos) y la complejidad en la realización de

estudios de bioequivalencia in vitro. Esto se traduce en medicamentos genéricos más seguros, ampliando la gama de genéricos en el mercado y, al reducirse significativamente los recursos de I+D, en medicamentos más económicos.

5 Este novedoso criterio de bioequivalencia puede aplicarse también a los APIs de las categorías II y IV del BCS, evitando la necesidad de realizar obligatoriamente estudios de biodisponibilidad in vivo para los medicamentos genéricos que sus APIs pertenezcan a estas categorías del BCS y, por ende, eliminando el requerimiento del uso de humanos para los ensayos de bioequivalencia in vivo, limitándolos a los estudios relacionados con  
10 la biodisponibilidad in vivo de medicamentos nuevos o en desarrollo.

Inicialmente se debe determinar la masa media de entre 1 y 100 tabletas, tanto del fármaco de referencia como del genérico, que posteriormente se pulverizan con la ayuda de un mortero de porcelana. Luego, el polvo se transfiere a un molino eléctrico para  
15 garantizar la homogeneidad del tamaño de las partículas del fármaco pulverizado. A continuación, el polvo se hace pasar por una malla de 0,2 mm. Por último, se preparan nuevas tabletas a partir del polvo, con una masa igual a la masa media de las tabletas originales. Una vez hecho esto, las nuevas tabletas pueden ser analizados en el equipo LIBS para obtener entre 10 y 100 espectros LIBS del fármaco de referencia y del  
20 fármaco genérico.

El instrumento LIBS, mostrado en la Figura 1, se compone de un láser pulsado (1); en este caso particular se ha utilizado un láser de Nd:YAG, aunque en la práctica podría utilizarse cualquier otro tipo de láser tanto de estado sólido o gaseosos (láser de  
25 nitrógeno, láser de dióxido de carbono láser de exímeros, láser OPO (Optical Parametric Oscillator), etc.) que permita obtener condiciones de energía suficientes para poder producir un plasma. Por este motivo pueden utilizarse láseres tanto en el ultravioleta, visible o infrarrojo.

30 El láser de Nd:YAG utilizado trabaja a una frecuencia de 1 a 20 Hertz a una longitud de onda fija de 1064 nm respectivamente. Esta longitud de onda no es limitante ya que este láser también puede emitir a otras longitudes de onda como 266, 355 ó 532 nm (u otras longitudes de onda producidas por cualquier otro tipo de láser que permita obtener condiciones energéticas suficientes para poder producir un plasma). Dicho láser puede  
35 proporcionar hasta 180 mJ/pulso de energía de salida. La duración del pulso es de 4 ns.

Se han utilizado espejos (2) y lentes (3) adecuados a fin de focalizar el haz del láser sobre la muestra (4). A fin de prevenir la radiación de cuerpo negro generada en los primeros momentos del plasma se utilizó como tiempo óptimo un retraso de 1 μs entre el pulso láser y la obtención del espectro en la evolución del plasma (5). La emisión del plasma es recogida utilizando una fibra óptica (6) acoplada al espectrómetro, que a su vez es activado por el pulso láser (1). El detector es un sensor óptico CCD (Charge-Coupled Device) que proporciona 7296 puntos espectrales en el rango de 180 a 960 nm.

El método de análisis se basa en un análisis de un único pulso láser que produce un proceso de vaporización y posterior formación de un plasma de la superficie de las tabletas, la obtención del espectro de emisión de este plasma en el orden de unos pocos microsegundos y el posterior análisis de la diferencia y similitud espectroquímica mediante la determinación de los factores de diferenciación (f1) y similitud (f2).

Las señales obtenidas por el detector (espectro) son posteriormente analizadas para evaluar la dispersión entre ellos y, en el caso que sea necesario, eliminar los posibles espectros aberrantes, para ello se realiza un estudio del coeficiente de correlación de Pearson y Spearman entre los espectros y el espectro medio. Una vez hecho esto, se procede a la determinación de la similitud y diferencia entre el espectro medio del fármaco genérico con respecto al espectro medio del fármaco de referencia.

Para el establecimiento de la diferencia y similitud entre los espectros medios del fármaco genérico y de referencia se utiliza de la determinación de los factores estadísticos de diferenciación (f1) y similitud (f2) que vienen definidos por:

$$f_1 = \left\{ \frac{\sum_{i=1}^n |R_i - T_i|}{\sum_{i=1}^n R_i} \right\} \times 100$$

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left( 1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right)^{-0.5} \times 100 \right\}$$

donde  $R_i$  se refiere a la intensidad para una longitud de onda dada del espectro del fármaco de referencia y  $T_i$  es la intensidad para la misma longitud de onda del espectro

del fármaco genérico. Por su parte,  $n$  se refiere al número total de longitudes de onda para la que existe una intensidad en el espectro del fármaco o a el número de pares de datos (longitud de onda, intensidad) con que cuentan los espectros, este número es el mismo para ambos fármacos.

5

El factor de similitud ( $f_2$ ) ha sido adoptado por la FDA (1997) y por el Comité de Medicamentos (CPMP) de la Agencia Europea para la Evaluación de Medicamentos (EMA, 2001) para comparar el perfil de disolución. Dos perfiles de disolución se consideran bioequivalentes (que no existe diferencia significativa entre sus perfiles de disolución y por ende de sus rendimientos farmacocinéticos) si el valor del factor  $f_1$  se encuentran entre 0 y 15, y el valor del factor  $f_2$  se encuentran entre 50 y 100 (FDA, 1997; EMA, 2001). Este mismo criterio se aplicaría para la demostración de la bioequivalencia in vitro de fármacos genéricos mediante la técnica LIBS.

10

15

Este nuevo método tiene las siguientes ventajas: a) no requiere el uso de equipo sofisticado como disolutores y cromatógrafos que generalmente se emplean en los estudios de bioequivalencia in vitro, b) el análisis se realiza sobre una pequeña proporción de la muestra, c) el análisis se realiza en unos pocos segundos, d) el análisis se realiza a presión atmosférica y temperatura ambiente, e) proporciona una gran cantidad de datos que hacen apto el análisis matemático, f) podría ser adaptado para ser realizado in-situ utilizando sistemas LIBS portátiles, g) no involucra el uso de humanos ni animales, y h) permite el estudio espectral directo de las formulaciones de los fármacos, de la cual estrictamente depende el desempeño de disolución y farmacocinético de los fármacos.

20

25

### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

En los dibujos adjuntos, con carácter ilustrativo y no limitativo, se muestran las principales características de la invención.

30

**Figura 1.-** Vista esquematizada del dispositivo portátil comprendiendo tanto el equipo láser (1), los espejos (2), lentes (3), posicionador muestra (4), fibra óptica (5), espectrómetro-detector (6), y ordenador personal o Tablet (7).

35

**Figura 2.-** Espectro LIBS típico obtenido de una muestra de fármaco. La figura muestra

las líneas de emisión de los elementos que componen la formulación del fármaco.

## REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

5

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante el siguiente ejemplo, que no pretende ser limitativo del alcance de la misma.

**Ejemplo 1:** Determinación de Bioequivalencia del fármaco genérico Lorazepam 1 mg  
10 Cinfa. Fármaco de referencia Orfidal 1 mg Pfizer (Lorazepam).

Inicialmente, se pesaron 20 tabletas de los fármacos genérico y de referencia para establecer la masa promedio ( $n=20$ ) de la tableta. Las 20 tabletas del genérico y del medicamento de referencia fueron trituradas en un mortero y posteriormente en un  
15 molinillo eléctrico. El polvo obtenido de cada fármaco fue tamizado a través de una malla de 0,5 mm. Luego se prepararon nuevas tabletas con una masa igual a la masa promedio determinada previamente.

El instrumento de análisis LIBS consistió láser Nd:YAG a 1064 nm (Brio, Quantel), con  
20 una potencia de 10 Hz y un ajuste de q-switch de 140  $\mu$ s. La duración del pulso láser, la energía por pulso, el tiempo de retardo, la anchura de la puerta y el tamaño del punto fueron 4 ns, 20 mJ/cm<sup>2</sup>, 2  $\mu$ s, 1 ms y 0,1 mm; respectivamente. La emisión óptica del plasma se analizó entre 200-900 nm con un espectrómetro AvaSpec DUAL de dos canales (Avantes). Las muestras de cada fármaco fueron colocadas en el porta  
25 muestras del instrumento y luego fueron irradiadas con el láser en diferentes posiciones de la superficie de las tabletas. Las mediciones se realizaron en condiciones ambientales. Se obtuvieron 50 espectros para cada uno de los fármacos, cada uno con 7296 puntos de (longitud de onda, intensidad). Los espectros se procesaron con el software AvaSoft versión 8.3.1.0 (2015) (Avantes).

30

Los 50 espectros de cada fármaco fueron depurados para evitar utilizar espectros aberrantes. Esto se hizo mediante una eliminación de espectros basada en la distribución del coeficiente de correlación de Pearson y Spearman.

35

Previamente los 50 espectros de cada fármaco fueron procesados utilizando un programa diseñado por los inventores en Matlab para la corrección de línea base de los

espectros, normalización y generación de un espectro promedio normalizado para cada fármaco.

5 Posteriormente, para cada juego de datos de cada fármaco, se estableció la distribución del coeficiente de correlación de cada uno de los espectros  $n=i$  de cada fármaco con respecto al espectro promedio. Esto conllevó a la eliminación del 15-20% de los espectros cuyos coeficientes de correlación fueron menores de 0.995 con respecto al espectro promedio de cada conjunto de espectros de cada fármaco.

10 Una vez depurados los datos espectrales, se procedió al cálculo de un espectro promedio para cada juego de datos espectrales depurados y se generó una matriz de 7296 filas (longitudes de onda) y dos columnas (intensidad del fármaco genérico e intensidad del fármaco de referencia).

15 Utilizando las fórmulas de los factores  $f_1$  y  $f_2$ , se calcularon los factores, que resultaron en  $f_1=9.7\%$  y  $f_2=88.5\%$ . Dado que  $f_1 \leq 15\%$  y  $f_2 \geq 50\%$ , se concluye que el fármaco genérico Lorazepam 1 mg Cinfa es bioequivalente con respecto al fármaco de referencia Orfidal 1 mg Pfizer.

20 **Ejemplo 2:** Determinación de Bioequivalencia de diversos fármacos genéricos y sus fármacos de referencia correspondientes cuya bioequivalencia ha sido probada previamente demostrada por otros métodos conocidos.

25 Se determina la bioequivalencia de diferentes fármacos genéricos comerciales respecto a su correspondiente fármaco de referencia siguiendo el método descrito en la presente invención. Los resultados obtenidos para los factores de bioequivalencia cumplen en todos los casos la condición  $0 < f_1 < 15\%$  y  $50\% < f_2 < 100\%$  (Tabla 1), lo cual demuestra la validez del método.

30

Tabla 1

Nombre del fármaco		Factores de Bioequivalencia	
Referencia	Genérico	$f_1$	$f_2$

Paracetamol <i>Ferrer (Gelocatil)</i> 650 mg, tabletas con película EFG	Paracetamol <i>Kern</i> <i>Pharma</i> 650 mg, tabletas con película EFG	7,36	97,66
	Paracetamol <i>Normon</i> 650 mg, tabletas con película EFG	5,50	98,95
Simvastatina <i>Lacer</i> 10 mg <b>(Pantok)</b> , tabletas con película EFG	Simvastatina <i>Sandoz</i> , 10 mg, tabletas con película EFG	10,04	88,79
	Simvastatina <i>Kern</i> <i>Pharma</i> 10 mg, tabletas con película EFG	9,87	76,89
Lorazepam <i>Pfizer</i> <b>(Orfidal)</b> 1 mg, tabletas con película EFG	Lorazepam <i>Cinfa</i> 1 mg, tabletas con película EFG	9,68	88,49
	Lorazepam <i>Kern</i> <i>Pharma</i> 1 mg, tabletas con película EFG	9,15	74,78

## REIVINDICACIONES

1. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia que comprende las siguientes etapas:
- 5 (a) Preparar tabletas homogéneas de fármaco genérico y de referencia.
- (b) Irradiar tabletas de cada uno de los fármacos anteriores con un láser focalizado sobre la superficie de la misma obteniendo un plasma de dicha muestra.
- 10 (c) Obtener espectros del plasma de las muestras de comprimido de un fármaco genérico y su fármaco de referencia.
- (d) Determinar las intensidades de emisión para cada una de las longitudes de onda que comprenden el espectro LIBS de las muestras.
- (e) Analizar los espectros estadísticamente calculando el factor de diferenciación  $f_1$  y el factor de similitud  $f_2$  entre el espectro medio del fármaco genérico con respecto al espectro medio del fármaco de referencia, definidos por:
- 15

$$f_1 = \left\{ \frac{\sum_{i=1}^n |R_i - T_i|}{\sum_{i=1}^n R_i} \right\} \times 100$$

$$20 \quad f_2 = 50 \log \left\{ \left( 1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right)^{-0.5} \times 100 \right\}$$

donde  $R_i$  se refiere a la intensidad para una longitud de onda dada del espectro del fármaco de referencia;  $T_i$  es la intensidad para la misma longitud de onda del espectro del fármaco genérico; y  $n$  se refiere al número total de longitudes de onda para la que existe una intensidad en el espectro del fármaco o a el número de pares de datos (longitud de onda, intensidad) con que cuentan los espectros.

25

- (f) Evaluar la bioequivalencia del medicamento genérico, con respecto al fármaco de referencia, en función de los valores obtenidos de  $f_1$  y  $f_2$  y su criterio de evaluación:  $0\% < f_1 < 15\%$  y  $50\% < f_2 < 100\%$ .
- 30

2. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, según reivindicación 1, donde la preparación de tabletas homogéneas de fármaco genérico y fármaco de referencia comprende:
- 5
- Determinar la masa media de entre 1 y 100 tabletas, tanto del fármaco de referencia como del genérico
  - Pulverizar las tabletas
  - Homogeneizar el tamaño del fármaco pulverizado
- 10
- Preparar nuevas tabletas a partir del polvo, con una masa igual a la masa media de las tabletas originales.
3. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, según reivindicación
- 15
- 2, donde las tabletas se pulverizan con un mortero de porcelana, se homogenizan en un molino eléctrico y, posteriormente, se hace pasar el polvo por una malla de 0,2 mm.
4. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un
- 20
- fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, según reivindicación 1, donde se obtienen entre 10 y 100 espectros de cada muestra mediante espectroscopia de ablación inducida por láser (LIBS).
5. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un
- 25
- fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, según reivindicación 4, donde el láser focalizado que irradia las muestras de fármacos es un láser de estado sólido, líquido o gaseoso que emite radiación electromagnética ultravioleta visible o infrarroja y produce un plasma del material ablacionado.
- 30
6. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, según reivindicación 5, donde el láser es un láser de cualquier tipo que trabaja a una frecuencia de 1 Hertz a 100 kHz a una longitud onda adecuada para la formación de un plasma.
- 35
7. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, según

reivindicaciones 4 y 5, donde los espectros LIBS se obtienen en un sistema compoene de un láser pulsado (1), espejos (2), lentes (3), posicionador muestra (4), fibra óptica (5), espectrómetro-detector (6), y ordenador personal o Tablet (7).

5

8. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, según reivindicaciones 4 a 6, donde se emplea un láser de Nd:YAG que trabaja a una frecuencia de 1 a 20 Hertz a una longitud de onda fija de 1064 nm y proporciona una energía de salida de hasta 180 mJ/pulso durante 4 ns, con un tiempo de retraso de  $\mu$ s entre el pulso láser y la obtención del espectro en la evolución del plasma.

10

9. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia según reivindicación 1, caracterizado porque la detección de la radiación producida por los elementos químicos del plasma es un sistema óptico.

15

10. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, según reivindicación 9, donde el detector óptico es un sensor óptico CCD (*Charge-Coupled Device*) que proporciona 7296 puntos espectrales en el rango de 180 a 960 nm.

20

11. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, según reivindicación 1, donde el análisis estadístico de los espectros obtenidos se realiza determinando el coeficiente de correlación de Pearson y Spearman entre los espectros y el espectro medio.

25

12. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, según reivindicación 1, donde las muestras de medicamentos son formulaciones de tabletas sólidas, con o sin recubrimiento, de principios activos que pueden corresponder a cualquier categoría del sistema de clasificación biofarmacéutico.

30

35

- 5 13. Método de detección de la bioequivalencia *in vitro* entre las formulaciones de un fármaco genérico con respecto a un fármaco de referencia, según reivindicación 1, donde las muestras de medicamentos son formulaciones de tabletas sólidas, con o sin recubrimiento, de principios activos que pueden corresponder a cualquier categoría del sistema de clasificación biofarmacéutico sin excepciones relacionadas con la concentración del principio activo en la formulación y/o dosificación.

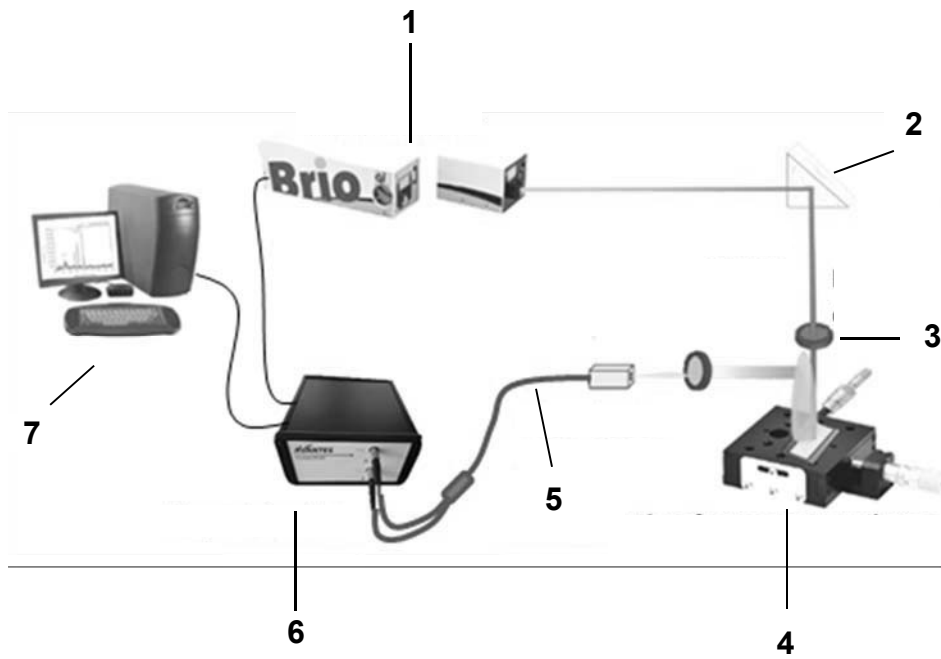


Figura 1

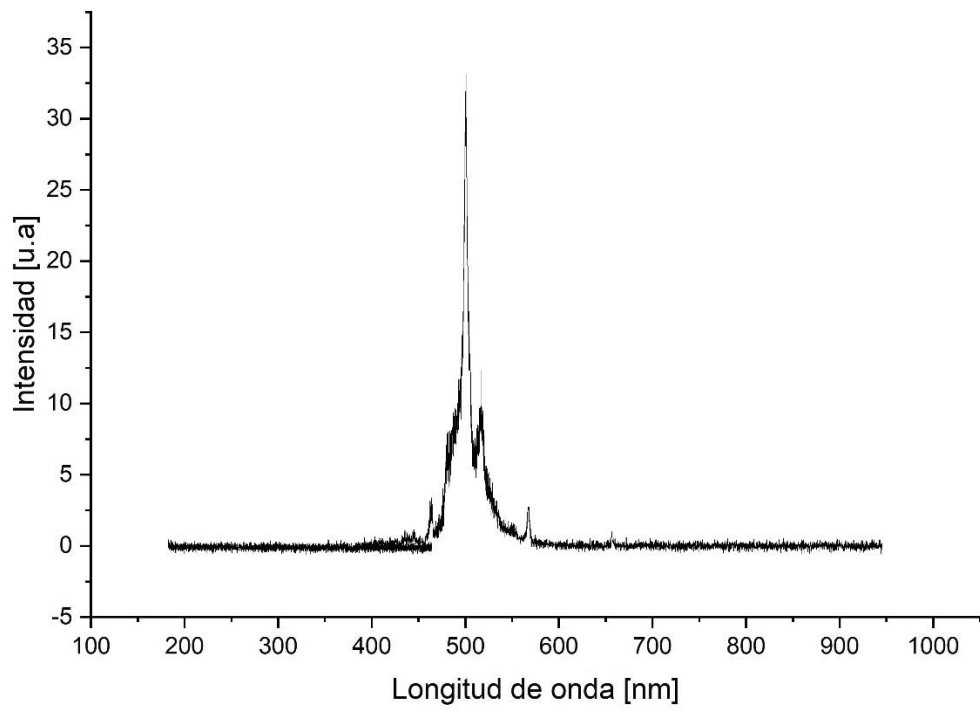


Figura 2