

Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”  
Laboratorio de Farmacología Clínica

---

Terapia antirretroviral en pacientes  
VIH/sida cubanos:  
Estudios de bioequivalencia de genéricos  
nacionales

---

Tesis presentada en opción al grado científico  
de Doctor en Ciencias de la Salud



Autor: Lic. Alicia Tarinas Reyes.

---

Tutor: Prof. Rolando Tápanes Peraza, DrC.  
Asesor: Prof. Jorge Pérez Ávila, MSc.

---

La Habana, 2012

*A mi padre, que tanto anheló  
haber vivido este momento,  
y no pudo ser.....*

*A mi madre, que si lo logró.....*

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a todas las personas que han contribuido de alguna manera a la realización de este trabajo y sin las cuales hubiera sido imposible la culminación del mismo:

- A mi esposo, por impulsarme a culminar este trabajo, por ayudarme cada día, por apoyarme en todo y darme esa felicidad que nos hace capaces de lograr lo que nos proponemos.
- A todos aquellos compañeros del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”, especialmente de la subdirección de Atención Médica, que han contribuido a mi formación profesional y que me han impulsado para que termine este trabajo y me desarrolle profesionalmente.
- En particular al Dr. Rolando Tápanes, por todo lo que ha contribuido en mi formación profesional, por su insistencia y ayuda en la realización y culminación de este importante proyecto de mi vida, así como por los buenos consejos que me ha dado siempre.
- A mis compañeros del Laboratorio de Farmacología Clínica, que han participado en la obtención de los resultados.

- Al Dr. Jorge Pérez, por apoyarme en todos mis proyectos e impulsarme a seguir adelante.
- A Lucy por estar siempre presente, prestando oído a mis preocupaciones, por aplacar las pequeñas tempestades del laboratorio y por brindar siempre su ojo clínico en la revisión de todos mis trabajos.
- A la Dra. Maria Eugenia Toledo por ayudarme en momentos tan oportunos y brindarme sus sabios consejos.
- A Lázaro por tener una solución para todos los problemas.
- A Alicia y Pedruco por garantizar la retaguardia en los momentos de apuro y darme una mano siempre que la necesité.
- A mi hija Melissa y mi hijo Esteban, por ser el eje de mi vida y hacerme la persona más feliz del mundo.

## LISTADO DE ABREVIATURAS

- **3TC:** Lamivudina
- **AAG:** Glucoproteína ácida\_1
- **ABC:** Abacavir
- **ABma:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo aditivo (en valores absoluto “horas”)
- **ABmm:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo multiplicativo (en valores relativos)
- **ADN:** Ácido desoxirribonucleico
- **ANOVA:** Análisis de la Varianza
- **ARN:** Ácido ribonucleico
- **ARV:** Antirretrovirales
- **ATV:** Atazanavir
- **AUC:** Área bajo la Curva en el tiempo, por sus siglas en inglés
- **AUC<sub>0-t</sub>:** Área bajo la Curva en el tiempo medido
- **AUC<sub>0-∞</sub>:** Área bajo la Curva infinita
- **AZT:** Zidovudina
- **BE:** Bioequivalencia
- **CV:** Coeficiente de Variación
- **CDER:** Centro de investigación y evaluación de medicamentos, por sus siglas en inglés

- **Cmax:** Concentración máxima alcanzada por los medicamentos en sangre
- **d4T:** Estavudina
- **ddC:** Zalcitabina
- **ddI:** Didanosina
- **DE:** Desviación estándar
- **DLV:** Delavirdina
- **DRV:** Darunavir
- **EFS:** Extracción en Fase Sólida
- **EFV:** Efavirenz
- **ENF:** Enfuvirtida
- **ER:** Error relativo porcentual.
- **EUA:** Estados Unidos de América
- **EVR:** Etravirina
- **FDA:** Federación de drogas y alimentos, por sus siglas en inglés
- **Flu:** Fluctuación
- **FPV:** Fosamprenavir
- **FTC:** Emtricitabina
- **HPLC:** Cromatografía Líquida de Alta Resolución, por sus siglas en inglés
- **IC 90%:** Intervalo de Confianza a nivel de probabilidad del 90%
- **ICH:** Conferencia Internacional de Armonización, por sus siglas en inglés

- **IF:** Inhibidores de la fusión
- **II:** Inhibidores de la integrasa
- **IDV:** Indinavir
- **IP:** Inhibidores de Proteasas
- **IPK:** Instituto “Pedro Kouri”
- **IRT:** Inhibidores de la Reverso Transcriptasa
- **IRTN:** Inhibidores de la Reverso Transcriptasa nucleósidos
- **IRTNN:** Inhibidores de la Reverso Transcriptasa no nucleósidos
- **LC:** Límite de cuantificación
- **LD:** Límite de detección
- **MG:** Media geométrica
- **m<sub>P</sub>:** Media poblacional para el producto de prueba
- **m<sub>R</sub>:** Media poblacional para el producto de referencia
- **MVC:** Maraviroc
- **NFV:** Nelfinavir
- **NVP:** Nevirapina
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés)
- **P:** Medicamento de prueba
- **P<sub>P</sub>:** Producto de prueba
- **P<sub>R</sub>:** Producto de referencia
- **QC:** Controles de calidad, por sus siglas en inglés
- **R:** Medicamento de Referencia

- **r**: Coeficiente de correlación
- **r<sup>2</sup>**: Coeficiente de determinación
- **RAL**: Raltegravir
- **RTV**: Ritonavir
- **Saq**: Saquinavir
- **sida**: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
- **TARVAE**: Terapia antirretroviral de alta eficacia
- **TDF**: Tenofovir
- **TEA**: Trietilamina
- **TGO**: Transaminasa Oxalacética
- **TGP**: Transaminasa Glutamato Pirúvica
- **T<sub>max</sub>**: Tiempo para alcanzar la concentración máxima
- **TPV**: Tipranavir
- **t<sub>R</sub>**: Tiempo de retención
- **tr**: t de regresión
- **VIH**: Virus de Inmunodeficiencia Humano

## **SINTESIS**

En el presente trabajo se realizó la revalidación de 5 métodos analíticos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC; por sus siglas en inglés) para la determinación en plasma de los antirretrovirales (ARV): estavudina (d4T), lamivudina (3TC), zidovudina (AZT), indinavir (IDV) y nevirapina (NVP). Se exponen resultados de algunas variables farmacocinéticas de estos ARV genéricos estudiados: Área Bajo la Curva (AUC; por sus siglas en inglés), Concentración Máxima (C<sub>max</sub>), y tiempo para alcanzar la C<sub>max</sub> (T<sub>max</sub>). También se reportan detalladamente los estudios de bioequivalencia realizados, obteniéndose que las 5 formulaciones analizadas son bioequivalentes con sus productos innovadores o líderes internacionales.

Con la culminación de los estudios de bioequivalencia de los ARV genéricos nacionales d4T, 3TC, AZT, IDV y NVP, el país cuenta con una evidencia científica de la intercambiabilidad entre las formas terminadas de estos genéricos nacionales con sus respectivos productos innovadores a una dosis oral única de 40, 150, 300, 800 y 200mg respectivamente. Se evidencia además la calidad y eficacia de estos 5 genéricos cubanos.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>4</b>
I.1 Antecedentes.....	4
I.2 Problema científico.....	9
I.3 Hipótesis.....	10
I.4 Objetivos.....	10
I.5 Novedad científica.....	10
I.6 Aporte teórico.....	11
I.7 Aporte práctico y social.....	11
<b>CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>13</b>
II.1 Introducción.....	13
II.1.1 Genéricos: balance y perspectivas de la Industria farmacéutica de países en desarrollo.....	13
II.2 Terapia antirretroviral: Clasificación por grupo de medicamentos, principales combinaciones usadas.....	15
II.2.1 Caracterización de la terapia ARV en pacientes VIH/sida cubanos.....	22
II.3 Validación de los métodos analíticos.....	27
II.3.1 Linealidad.....	29
II.3.2 Exactitud.....	31
II.3.3 Precisión (repetibilidad, reproducibilidad o precisión intermedia).....	31

II.3.4 Rango .....	32
II.3.5 Especificidad .....	33
II.3.6 Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC) .....	33
II.3.7 Otros parámetros.....	35
II.4 Estudios de bioequivalencia .....	37
II.4.1 Farmacocinética: Conceptos y parámetros. Características farmacocinéticas de los antirretrovirales .....	37
II.4.2 Análisis y aspectos metodológicos de los estudios de bioequivalencia .....	40
<b>CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>46</b>
III.1 Validación de métodos analíticos para la determinación de AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP por HPLC .....	46
III.1.1 Reactivos y equipos .....	46
III.1.2 Condiciones cromatográficas .....	47
III.1.3 Preparación de soluciones estándares.....	48
III.1.4 Procedimiento de preparación de muestras .....	49
III.1.5 Procedimiento de revalidación.....	50
III.2 Determinación de las variables farmacocinéticas necesarias para los estudios de bioequivalencia.....	55
III.2.1 Confección de protocolos y aspectos éticos.....	55
III.2.2 Metodología para la determinación de las variables farmacocinéticas.....	56
III.3 Estudio de bioequivalencia.....	59

<b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS.....</b>	<b>61</b>
IV.1 Validación de métodos analíticos para la determinación de AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP por HPLC .....	61
IV.2 Variables farmacocinéticas.....	63
IV.3 Estudios de bioequivalencia.....	66
<b>CAPÍTULO V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>71</b>
V.1. Revalidación de métodos analíticos para la determinación de AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP por HPLC.....	71
V.2 Variables farmacocinéticas .....	75
V.3 Estudios de bioequivalencia .....	79
<b>CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>87</b>
<b>CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>88</b>
<b>CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....</b>	<b>89</b>
<b>ANEXOS</b>	

## **CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN**

### **I.1 Antecedentes**

El establecimiento de una terapéutica farmacológica exige la selección adecuada de medicamentos y la programación de pautas posológicas que garanticen la máxima efectividad con un mínimo riesgo de aparición de efectos adversos. Actualmente en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) el tratamiento se basa en combinaciones de al menos tres fármacos antirretrovirales (ARV). Por otro lado, la baja biodisponibilidad de algunos ARV, la aparición de resistencias o de interacciones con otros fármacos, pueden originar importantes variaciones interindividuales (Ventura-Cardá JM y cols, 2004; Iribarren JA y cols, 2005).

La aparición en la práctica médica de nuevos agentes ARV cada año ha permitido avances sin precedentes en el tratamiento del VIH. Las drogas ARV actúan sobre diferentes pasos esenciales en el ciclo viral. Hasta la fecha las más utilizadas son aquellas drogas que actúan sobre la enzima reverso transcriptasa y sobre la proteasa formando entre estos 2 grupos esquemas terapéuticos que los combinan, lo que se denomina Terapia antirretroviral de Alta Eficacia (TARVAE). La estrategia de la

terapia combinada es inhibir la replicación viral, optimizar la exposición a la droga y simplificar la dosis.

Un problema que el médico enfrenta a diario es la sustitución de medicamentos originales o innovadores por medicamentos similares o genéricos. La población en general y los pacientes en particular requieren de productos de calidad, seguros y eficaces con independencia de su fabricante y precio.

Hasta diciembre de 1999 había aproximadamente 100 pacientes VIH/sida cubanos que recibían terapia antirretroviral de manera libre, ya sea a través de donaciones al país, por médicos que la traían de donación cuando venían de viajes o misiones, por gestiones personales del propio paciente o por familiares de los mismos. Solo podía garantizarse de cierta manera el tratamiento para embarazadas y niños. Por esta diversidad de fuentes y la inestabilidad en la disponibilidad de los mismos estos esquemas terapéuticos no siempre eran los más adecuados ni eran recibidos con la regularidad requerida, lo que provocó la incidencia de enfermedades oportunistas y el aumento de la mortalidad y letalidad por sida.

Sobre la base de esto se realizó un estudio de identificación de la terapia ARV en 52 de estos pacientes cuyos datos del tratamiento estaban bien descritos y centralizados en Historias Clínicas en el Hospital del Instituto "Pedro Kourí" (IPK) (Tarinas A y cols, 2001). Se recopiló información sobre las características demográficas, tipos de terapia, porcentaje de uso de

cada ARV, consumo promedio de tabletas, combinaciones más usadas, interacciones medicamentosas, incidencia de efectos adversos y cambios en la terapia así como causas de los mismos. Como resultado de este estudio se vió que aunque ya estaba implantada la TARVAE a nivel internacional y existía un gran número de ARV desarrollados todavía no se estaba en condiciones de extenderla de forma estable a todos aquellos pacientes cubanos que la necesitaran.

Por aquellos años se constituyó un grupo integrado por Rusia, China, India, Cuba y Brasil donde se trataba de respetar el derecho de patentes pero hasta donde fuera posible y no hubiera peligro inminente de muerte ante una epidemia, por lo que se promulgó un decreto reconocido internacionalmente que decía "...que ante una epidemia, los países afectados podían producir los medicamentos bajo patente, siempre que se justificara adecuadamente..."

Paralelo a esto, se creó una Comisión del Polo Científico conformada por la dirección y especialistas de los principales centros, entre los que estaban: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), Universidad de la Habana, Instituto "Pedro Kourí" (IPK), Centro de Química Farmacéutica (CQF), Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC) y la Industria Farmacéutica, para ver la disponibilidad tecnológica y que se podía acometer con lo que se contaba. Surgieron dos variantes: la primera sintetizar los ARV de lo cual ya se tenían ciertos resultados con el AZT y algún inhibidor de proteasa (IP); y la segunda, escoger los ARV que eran

más factible de reproducir a partir de la obtención de la materia prima y que estaban en ese momento en la línea terapéutica mundial, siendo esta la variante escogida en cuanto a costo y dificultad. Prevalció el criterio de los expertos en la producción de inhibidores de la Reverso Transcriptasa (IRT) e IP. Esto se apoyaba en el hecho que en Cuba aproximadamente el 85% de las necesidades de medicamentos del país se satisfacían mediante la producción nacional, pues existía un programa de sustitución de importaciones como vía para disminuir gradualmente y de forma continua los niveles de importación.

Desde entonces se han celebrado varias reuniones internacionales con representantes de los países antes mencionados, intercambiando información, experiencia y apoyándose mutuamente en la producción de estos ARV genéricos. Esta producción está certificada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y es revisada periódicamente por el Fondo Mundial de lucha contra la Malaria, la Tuberculosis y el Sida que además ofreció certificar la producción de genéricos en Cuba (Pérez J, WHO 2004).

Por todo lo anterior, el gobierno cubano se propuso adquirir las materias primas en el mercado internacional para la elaboración de las formas terminadas de los ARV genéricos en el país. La producción de genéricos conllevaría a una disminución del costo del tratamiento y la subsiguiente disponibilidad para su administración a todos los pacientes que lo necesiten, mejorando así los índices de salud de esta enfermedad.

Cuando se pretende introducir en el mercado un genérico, no es necesario, generalmente, realizar estudios fármaco-toxicológicos, sin embargo internacionalmente se ha optado por evaluar la intercambiabilidad de un producto innovador con su genérico mediante estudios de bioequivalencia para demostrar la analogía entre la formulación genérica y la innovadora. Los estudios de bioequivalencia son el requisito técnico que condiciona la evaluación de la seguridad y eficacia clínica de los genéricos, demostrando su equivalencia terapéutica con el fármaco innovador, y garantizando así su intercambiabilidad. (Palma D y col, 2007).

Los medicamentos genéricos contienen los mismos ingredientes activos y las mismas concentraciones que sus correspondientes fármacos innovadores y son autorizados sólo si su calidad, seguridad y eficacia han sido adecuadamente demostradas de acuerdo con los estándares internacionales reconocidos (AEMPS, 2006).

Estudios farmacocinéticos y de bioequivalencia se han realizados en otras latitudes para demostrar la intercambiabilidad de ARV genéricos y por cambios realizados en las formulaciones con el objetivo de optimizar el tratamiento y favorecer la adherencia al mismo. Tal es el caso de estudios con zidovudina (AZT) en Brasil (Dos Reis Serra y cols, 2008); con indinavir (IDV) en China (Sheng-Tu JZ y cols, 2006), Brasil (Gonçalves TM y cols, 2007) y Estados Unidos (Yeh KC y cols, 1998); con nevirapina (NVP) en Brasil (Laurito TL y cols, 2002) e Italia (Regazzi M y cols, 2003); con lamivudina (3TC) en Estados Unidos (Johnson MA y cols, 1999; Heald AE

y cols, 1996) y con estavudina (d4T) en la India (Monif T y cols, 2007) y Brasil (Raices RSL y cols, 2003). Además de estudios de este tipo con combinaciones de estos ARV entre los que están los realizados con 3TC/AZT en Brasil (De Souza J y cols, 2009) y Nigeria (Joshi A y cols, 2010); con d4T/3TC /NVP en Uganda (Byakika-Tusiirne J y cols, 2008; Byakika-Kibwika P y cols, 2008), en Malawi (Hosseinipour MC y cols, 2007) y la India (Monif T y cols, 2007); con 3TC/AZT/NVP en Canadá (Marier JF, y cols, 2007); con 3TC/d4T en la India (Chachad SS y cols, 2009; Monif T y cols, 2007 y 2009).

## **I.2 Problema científico:**

La esencia del problema esta dada por la necesidad de demostrar la intercambiabilidad de los ARV líderes internacionales con los genéricos nacionales, lo cual permitiría el registro de los mismos y la generalización de la TARVAE a todos aquellos pacientes VIH/sida que lo necesiten. Revalidar métodos analíticos por HPLC para la cuantificación de los ARV (AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP) en plasma permitirá determinar algunas variables farmacocinéticas necesarias para realizar los estudios de bioequivalencia, herramienta fundamental en la demostración de calidad y seguridad de los antirretrovirales genéricos nacionales.

### **I.3 Hipótesis:**

Los ARV genéricos cubanos zidovudina, lamivudina, estavudina, indinavir y nevirapina son bioequivalentes con sus líderes internacionales por lo que resultan intercambiables y por tanto pueden ser administrados en los pacientes viviendo con VIH/sida que lo requieran.

### **I.4 Objetivos:**

*Objetivo general:*

Demostrar la bioequivalencia de los genéricos nacionales AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP respecto a sus líderes internacionales.

*Objetivos específicos:*

- Revalidar y estandarizar 5 métodos analíticos por HPLC para la determinación de los ARV (AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP) en plasma.
- Evaluar los parámetros farmacocinéticos AUC ( $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{\infty}$ ),  $C_{max}$ ,  $T_{max}$  y la fluctuación (Flu) de las formas terminadas nacionales de AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP y la de sus respectivos productos innovadores en plasma.
- Demostrar la intercambiabilidad de los ARV genéricos nacionales y sus productos innovadores.

### **I.5 Novedad científica:**

La revalidación y estandarización de 5 nuevos métodos analíticos por HPLC para la cuantificación de los antirretrovirales AZT, 3TC, d4T, IDV y

NVP en plasma de pacientes VIH/sida, permitió evaluar el comportamiento de las variables farmacocinéticas AUC ( $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{0-\infty}$ ),  $C_{m\acute{a}x}$  y  $T_{max}$  de los mismos. Se demostró por primera vez en el país la bioequivalencia de estos ARV genéricos cubanos con sus respectivos productos líderes internacionales, en pacientes-voluntarios VIH/sida.

### **I.6 Aporte teórico:**

- Se brinda información detallada de la revalidación y reproducibilidad de 5 métodos analíticos que resultan modificados para la determinación por HPLC de los ARV (AZT, d4T, 3TC, IDV y NVP) en plasma.
- Se establecen algunas variables farmacocinéticas y la bioequivalencia de los ARV genéricos nacionales con los líderes internacionales.

### **I.7 Aporte práctico y social:**

La utilización de los métodos analíticos permitió establecer el perfil farmacocinético completo de dos de estos ARV (AZT y d4T), ayudando en la evaluación y seguimiento del proceso de generalización de la TARVAE con genéricos cubanos.

Los resultados de los estudios de bioequivalencia posibilitaron la evaluación de la calidad y eficacia de los genéricos cubanos con materia prima importada, significando una disminución de los costos del

tratamiento. Ello permitió además la utilización de estos resultados en el registro y comercialización de estos genéricos.

Se capacitó a los profesionales del laboratorio de Farmacología Clínica del IPK en la realización de estudios de farmacocinética y bioequivalencia y establecer así la proyección del laboratorio de Farmacología Clínica para el monitoreo de estos ARV en pacientes bajo tratamiento; contribuyendo así al mejoramiento de la adherencia.

El demostrar que estos ARV son biosimilares con sus líderes internacionales, permitió la aplicación y generalización de la TARVAE a la población cubana.

## **CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **II.1 Introducción.**

#### **II.1.1 Genéricos: balance y perspectivas de la Industria farmacéutica de países en desarrollo.**

Los medicamentos genéricos son especialidades farmacéuticas compuestas por principios activos de eficacia y seguridad bien conocida que mantienen interés sanitario e industrial cuando se extinguen los derechos de protección de patente. Consecuentemente pueden ser fabricados y comercializados por otros laboratorios distintos a los que lo desarrollaron originalmente, a un precio menor, siempre que se cumplan además otros requisitos legales, siendo esta la principal justificación de su existencia. Su precio es inferior porque la inversión económica realizada por el laboratorio farmacéutico para su desarrollo y comercialización es menor que en el caso de los medicamentos innovadores, ya que no es necesario demostrar la eficacia y la relación beneficio/riesgo del producto, ni descubrir las indicaciones para las que se va a utilizar ni la pauta más adecuada. En la mayoría de los casos basta con demostrar que las concentraciones

plasmáticas alcanzadas son similares a las que se alcanzan con el producto innovador.

Se considera un producto innovador aquel que se ha autorizado y comercializado en base a un expediente completo que incluye datos químicos, biológicos, farmacéuticos, farmacológicos, toxicológicos y clínicos, tanto de eficacia como de seguridad (FDA, 2001).

Es imprescindible que la producción de genéricos sea de interés mundial, para así facilitar el acceso a los mismos y además de lo ya expuesto con anterioridad se están tomando varias medidas y realizando actividades para lograr este objetivo. Los Institutos Nacionales de Salud (NIH, el equivalente al Ministerio de Sanidad) de los Estados Unidos de América (EUA) han anunciado que cederán la propiedad intelectual de todos sus tratamientos contra el VIH al recientemente constituido Medicines Patent Pool (Grupo de Patentes Médicas). El objetivo es facilitar el acceso a los tratamientos, ya que alrededor de un tercio de las personas que los necesitan, los reciben, y en gran parte es por el precio. Una terapia de primera línea puede costar en los países desarrollados entre 8000 y 10000 euros al año, pero con la producción de genéricos se puede disminuir a 300 euros. El impacto real de esta medida no se tiene, ya que hasta ahora la mayoría de los medicamentos no son propiedad del NIH, sino de laboratorios, pero es un paso que indica el camino a seguir. Los NIH son la primera institución dedicada a la investigación que se une a este grupo de patentes de medicinas para el VIH lanzado por UNITAID, un sistema de

financiación sanitaria sufragado mediante una tasa impuesta a los billetes de avión fundado por Brasil, Reino Unido, Chile, Francia y Noruega en el 2006.

Un responsable de UNITAID declaró que varias compañías farmacéuticas, incluidas Merck, Tibotec y Gilead, estaban en conversaciones avanzadas para unirse al fondo común. Esto demuestra que existe un respaldo político serio del Fondo de patentes para ayudar a los países en desarrollo y el hecho de que los NIH hayan anunciado su decisión de revisar todo su archivo de antirretrovirales con la intención de introducir otras patentes en el fondo es muy prometedor (Fondo Común de Patentes de Medicamentos, 2010).

## **II.2 Terapia antirretroviral: Clasificación por grupo de medicamentos, principales combinaciones usadas.**

El Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (**sida**) aparece por primera vez en la primavera de 1981 en la Ciudad de los Ángeles (EUA), cuando el doctor M. Gotlieb describe los 5 primeros casos en jóvenes homosexuales masculinos. Luego en 1983 Luc Montagnier y su equipo, aíslan un virus relacionado con la enfermedad y en 1984 el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es identificado como la causa del sida (Fausto Rangel MS, 2000).

Desde entonces y hasta la fecha, se ha producido una enorme expansión pandémica de la enfermedad que ha afectado aproximadamente a 68 millones de personas infectadas con el virus, de las cuales han fallecido aproximadamente 27 millones. Solamente en el 2010 se infectaron 2,7 millones de personas. Actualmente África subsahariana encabeza la lista (24,1 millones), le siguen Asia (5,1 millones) y América Latina (2 millones) (UNAIDS, 2010).

El VIH y en particular la historia de la pandemia VIH/sida se puede dividir en dos etapas. La primera etapa comprendería, desde su descripción inicial y el descubrimiento del agente causal en la década de los '80, en la cual la enfermedad tenía una evolución natural y los médicos solo podían tratar las complicaciones, es decir las enfermedades oportunistas; y una segunda etapa, con el surgimiento del primer ARV, el AZT en 1987 y la aparición de las terapias combinadas en el año 1996 (Fausto Rangel MS, 2000).

Las drogas ARV actúan sobre diferentes pasos necesarios para la replicación viral; hasta la fecha, las más extendidas son aquellas drogas que actúan sobre la enzima reverso transcriptasa y las que actúan sobre la enzima proteasa; aunque ya existen fármacos capaces de inhibir otros sitios tales como los inhibidores de la fusión y los inhibidores de la enzima integrasa (Bartlett JG y col, 2005-2006).

Los inhibidores de la Reverso Transcriptasa (IRT), que son la primera clase de agentes ARV que se desarrollaron, alteran la función de dicha enzima

que es la que utiliza el VIH para cambiar su mensaje genético a una forma que pueda ser fácilmente insertada dentro del núcleo de la célula infectada. Siendo la encargada de hacer una copia en ADN (Ácido dioxiribonucleico) del ARN (Ácido ribonucleico) viral de manera que este pueda insertarse en el ADN celular mediante la acción de las integrasas y así producir proteínas del VIH necesarias para la autorreproducción viral. La inhibición puede ser competitiva (el ARV imita los sustratos naturales para la síntesis del ADN) y por terminación de cadena (impide que se añadan nuevos nucleótidos a la cadena de ADN).

Los inhibidores de la reverso transcriptasa nucleósidos (IRTN) necesitan ser fosforilados para luego interactuar con un sustrato en el sitio de unión a la enzima y cuando es incorporado entonces termina la elongación de la cadena de ADN. Dentro de este grupo de medicamentos están: Zidovudina (Retrovir®, AZT), Didanosina (Videx®, ddi), Zalcitabina (Hivid®, ddC), Lamivudina (Epivir®, 3TC), Estavudina (Zerit®, d4T), Abacavir (Ziagen®, ABC), Tenofovir (Viread®, TDF), Emtricitabina (Emtriva®, FTC).

Paralelo a la aparición de los IP fueron desarrollados los inhibidores de la reverso transcriptasa no nucleósidos (IRTNN) constituidos por Nevirapina (Viramune®, NVP), Delavirdina (Rescriptor®, DLV), Efavirenz (Sustiva®, EFV) y Etravirina (Intelence®, EVR) que también se sumaron al arsenal terapéutico y aumentaron el número de combinaciones posibles contra el sida (Fausto Rangel MS, 2000). Estos no necesitan ninguna conversión metabólica y bloquean directamente la acción de la reverso transcriptasa

por una interacción específica con el sitio de unión “sin sustrato” de la reverso transcriptasa del VIH-1.

Los IP aparecieron en 1996 y son una clase de fármacos con una potente actividad antiviral. La proteasa del VIH es requerida para el clivaje del polipéptido *gag-pol* en sus partes funcionales y la inhibición de este clivaje trae como consecuencia una disminución en la producción de viriones maduros. O sea estos medicamentos se parecen a los trozos de la cadena de proteínas que la proteasa corta normalmente. Al adherirse a la proteasa, los IP previenen que la proteasa corte las cadenas largas de proteínas y enzimas en trozos más cortos que el virus necesita para reproducirse en nuevas copias de sí mismo. Aunque las cadenas largas no hayan sido cortadas en los trocitos correctos, las nuevas copias del VIH aún se construyen y continúan empujando a través de la membrana de la célula infectada. Pero estas nuevas copias del VIH son “defectuosas” (ya que no han sido formadas completamente, por lo tanto no pueden continuar infectando otras células) (De Clercq E, 1996; Markowitz M, 1997). A este grupo pertenecen: Saquinavir (Invirase® caps duras, Fortovase® caps blandas), Indinavir (Crixivan®, IDV), Ritonavir (Norvir®, RTV), Nelfinavir (Viracept®, NFV), Atazanavir (Reyataz®, ATV), Tipranavir (Aptivus®, TPV), Darunavir (Prezista®, DRV), Fosamprenavir (Lexiva®, FPV).

Cuando aparecen los IP y existe un mayor conocimiento en la patogenia del VIH, la comunidad científica se llenó de un optimismo sin precedentes,

al aparecer esquemas terapéuticos que combinaban 3 fármacos, uno de ellos un IP, conocidos como TARVAE, los cuales no solo eran capaces de aumentar el número de Linfocitos T CD4+ sino que además, disminuían la carga viral a niveles indetectables y la incidencia de enfermedades oportunistas con un impacto notable en la mortalidad por sida y un aumento en la sobrevida de los enfermos y en la calidad de vida de estos (Gullick RM y cols, 1997; Palella FJ Jr. y cols, 1998; Gatell JM, 2000; Mocrofot A y cols, 1998; Wittinghoff E y cols, 1999).

Para que se inicie la infección por el VIH se ha de producir la unión y fusión del virus con los linfocitos T CD4+ y producirse la invasión del genoma viral. La célula huésped tiene dos tipos de receptores con los que puede interactuar el virus, concretamente los CD4+ y las quimiocinas. El virus VIH-1 tiene una glicoproteína en la envoltura que está formada por 2 subunidades, la gp120 que es una proteína de superficie y la gp41 que es una proteína transmembrana. La entrada del virus en la célula se realiza en tres etapas: a) unión del VIH-1 al receptor CD4+; b) interacción con el receptor de la quimiocina; y c) fusión de las membranas viral y celular. El primer paso se lleva a cabo por la acción de la gp120 que permite la unión de la membrana de la cápside del VIH con la membrana celular por interacción con el receptor CD4+ de la membrana de los linfocitos T y macrófagos. A partir de este momento se produce un cambio en la conformación que hace posible la unión a unos correceptores de la quimiocina, siendo las moléculas CCR5 y CXCR4 las principales que se

han podido identificar. El inhibidor de los correceptores CCR-5 Maraviroc (Celsentri®, MVC), tiene como blanco terapéutico un correceptor humano en la superficie de la célula que ayuda al virus a adherirse a la célula. Es el primer agente anti-VIH que tiene como blanco la célula huésped (InfoRed SIDA, 2009). Aún cuando el Maraviroc ha tenido muy buen resultado en los estudios clínicos, este inhibidor sólo es eficaz contra un subtipo específico de VIH que utiliza el correceptor CCR5 para adherirse a las células huésped (Ray N, 2009; Soriano V y cols, 2009). Después de la unión a los receptores, la proteína gp41 presenta otro cambio de conformación. Esta proteína presenta dos regiones, la HR1 y la HR2, que se asocian entre sí para que el virus se pueda unir a la membrana y con ello provocar la fusión y la entrada del material viral. Enfuvirtida (Fuzéon®, ENF, T-20) (inhibidor de la fusión) actúa de forma competitiva con la región HR1 impidiendo su unión con la región HR2 y no permite que se produzca el cambio conformacional de la gp41 necesario para que se produzca el proceso de la fusión entre las membranas del virus y de la célula, bloqueándose, por tanto, la infección de la célula. Este proceso no precisa de una activación intracelular (Espona M y cols, 2005; Mc Kinnell JA y col, 2009).

Los inhibidores de la integrasa son otra nueva clase de antirretrovirales que bloquea la actividad de la integrasa, la enzima del VIH responsable de insertar de forma permanente el ADN viral en el código genético de una

célula. Bloquear la integración impide que los virus se repliquen y detiene la propagación de la infección de VIH a otras células del cuerpo (Koelsch KK y col, 2009). Durante el paso inicial de la integración del ADN, la integrasa se adhiere a los extremos del ADN viral y forma el complejo de preintegración. Los inhibidores de transferencia de cadenas se adhieren a la integrasa después de concluido este paso; estos conforman la opción de tratamiento más evolucionada (Dubois EA y col, 2009). No se conoce una versión humana de la integrasa del VIH, por lo que se espera que estos inhibidores produzcan menos efectos secundarios y una baja toxicidad. A este grupo pertenece el Raltegravir (Isentress®, RAL).

Grandes adelantos han sido logrados en el tratamiento de la infección por el VIH. La mortalidad ha sido reducida al menos en un 5% y los pacientes recientemente infectados pueden tener una expectativa de vida bastante similar a un sujeto no infectado, asumiendo los casos que tengan buena tolerancia y adherencia al tratamiento ARV. Sin embargo, el tratamiento contra el VIH es todavía complejo, y ofrece un campo muy cambiante de posibilidades y perspectivas por lo que debe estar limitado a centros especializados para el mismo (Fausto Rangel MS, 2000; García de Olalla P y cols, 2002; Pérez J y cols, 2004).

### **II.2.1 Caracterización de la terapia ARV en pacientes VIH/sida cubanos.**

En Cuba desde 1986 hasta el 2011, se habían detectado 15824 seropositivos al VIH (80.8% sexo masculino y 19.2% sexo femenino), de los cuales han desarrollado sida 6817 pacientes y han fallecido 2655 pacientes (2455 a causa del sida y 200 por otras causas) (PNPC ITS/VIH/SIDA, 2011).

Desde el año 2001 se decidió por el gobierno de Cuba y las autoridades del Ministerio de Salud Pública (MINSAP), comenzar la producción de medicamentos ARV genéricos y su distribución a todos los necesitados del país. Por decisión del MINSAP, se le dió la responsabilidad al IPK de organizar, controlar y dirigir un Protocolo para estudios clínico-terapéuticos y de bioequivalencia de los genéricos y de esta forma valorar los resultados de la terapia antirretroviral.

El cronograma de avances en el tratamiento con ARV en Cuba fue el siguiente:

- 1987: Monoterapia con AZT importada (por gestión del paciente o donación) para casos sida.
- 1996: El gobierno cubano adquiere AZT, 3TC y saquinavir para pacientes seropositivas embarazadas y para niños con un costo de 14 000 USD al año por paciente. Se produce AZT en pequeña escala y es recomendada la TARVAE como tratamiento de elección.

- Principios del 2001: Son producidos nacionalmente el AZT, d4T, 3TC, e indinavir y se amplían las indicaciones de tratamiento.
- Abril 2001: Se establece el Protocolo Nacional para el tratamiento con genéricos nacionales comenzando a generalizarse el uso de la TARVAE.
- 2003: Se lleva a cabo con un 100% de cobertura la TARVAE; se van produciendo a gran escala nevirapina.

Hasta septiembre del 2003 se habían tratado 1292 casos, los cuales recibieron, inicialmente, los siguientes esquemas: AZT-3TC-IDV (306), d4T-3TC-IDV (417), d4T-ddI-IDV (53), AZT-ddI-IDV (92) y otros esquemas (424).

Con el aumento en la incidencia de tuberculosis en algunos casos, se cambiaron los esquemas a 2 IRTN + 1 IRTNN como opción de segunda línea (AZT-3TC-NVP y d4T-3TC-NVP). En otros pacientes una posibilidad de tratamiento de segunda línea incluye otros IP diferentes al IDV.

En cuanto a los fallecidos por sida en el país en el año 2000 se alcanzó el mayor valor con 141 defunciones. Esta cifra disminuyó a 116 en el 2001 tras 8 meses de terapia. En el año 2002 fue de 88 casos y 67 en el cierre del 2003, a pesar de existir cada vez un mayor número de casos seropositivos y enfermos por sida.

A partir del año 2001 se realizó un estudio clínico-terapéutico, que duró 18 meses, se tomaron 100 casos a los cuales se les hizo un seguimiento de las reacciones adversas, estado inmunológico y virológico. Los 3 esquemas

terapéuticos utilizados fueron: AZT- 3TC- IDV (54%), d4T- 3TC- IDV (29%) y d4T- ddI- IDV (17%).

En los estudios de Greenspan S y col, 2002; Akshaya SB y cols, 2012 y Patton LL, 2000 los ARV más utilizados fueron el 3TC, d4T, AZT y NFV. Y en el estudio de Larrea R y col, 2007 las combinaciones más utilizadas fueron: d4T- 3TC- EFV, d4T- 3TC- NVP, AZT- ddI- LPV/RTV y AZT- 3TC- EFV.

En cuanto al conteo de linfocitos T CD4+, al inicio de la terapia, el 73% de los casos tenían <200 células y en el 96% las cifras eran de <350 células; mientras que luego de la terapia solo un 11% de los casos tenían una cifra de <200 células y 34% con <350 células, por lo cual disminuyeron el riesgo de desarrollar una enfermedad oportunista al mejorar sus niveles de linfocitos T CD4+. Después de terminar la terapia, un 89% tenía los niveles de linfocitos T CD4+ por encima de 200 células, lo cual habla de la eficiencia del mismo.

Respecto a este parámetro en otros estudios clínicos realizados (Miller V y cols, 2000; Lederman MM y col, 2000) al inicio de la terapia, aproximadamente el 16,7% tenían <200 células y en el 83,3% de los casos las cifras eran de <350 células; mientras que al cabo de 6 meses de tratamiento no había casos con <200 células y el 16,7% tenían <350 células, el resto tenía >400 células.

Respecto al comportamiento de la carga viral, al inicio de la terapia un 99% de los casos presentaba una cifra mayor de 10 000 copias y un 75% con valores de 55 000 copias o más; al culminar los 18 meses de tratamiento un 82% de los casos tenían menos de 10 000 copias (52% con niveles no detectables) y solo un 12% con cifras por encima de 55 000 copias.

Relacionado con este parámetro, en otros estudios clínicos realizados (Miller V y cols, 2000; Lederman MM y col, 2000), al inicio de la terapia un 16,7% de los casos presentaba una cifra mayor de 10 000 copias y un 83,3% con valores superior a 55 000 copias; al culminar los 6 meses de tratamiento el 100 % tenía menos de 10 000 copias (33,3% con menos de 1000 copias) y no había casos con más de 55 000 copias.

Las principales reacciones adversas y alteraciones de los marcadores bioquímicos y hematológicos de laboratorio encontradas en los casos fueron: Hipertrigliceridemia (37%), náuseas (3%), hipercolesterolemia (23%), conteo de Addis patológico y poli neuropatías o parestesias (23% y 21% respectivamente); siguiendo en orden decreciente la lipodistrofia y elevación de las aminotransferasas (17%), vómitos (16%), paroniquia y la hipercalcemia (15%), dolor lumbar de tipo cólico y neutropenia (14%), anemia e hiperbilirrubinemia (13%), filtrado glomerular alterado (12%), elevación de los azoados (11%), acidez (10%) y con menos de un 10% hasta un total de otras 14 alteraciones entre las que están el sabor metálico, dolor epigástrico, hipocalcemia, cefalea, hiperglicemia.

Algunos autores (Greenspan S y col, 2002; Akshaya SB y cols, 2012; Patton LL, 2000; Miller V y cols, 2000; Lederman MM y col, 2000; Larrea R y col, 2007) coinciden en plantear que con la implantación de la TARVAE realmente ha disminuido la incidencia de infecciones oportunistas pero ha traído consigo la ocurrencia de efectos adversos asociados a esta terapia: manifestaciones gastrointestinales y neuropsiquiátricas, lipodistrofia, afectaciones hematológicas, hepatotoxicidades, entre otras.

Se debe añadir que no todos los fallecidos contaron con los tratamientos, por diferentes causas, siendo menor los porcentajes de los fallecidos en el total de los casos tratados. También se calculó el efecto que el tratamiento ARV podría tener sobre la reducción de las muertes, es decir su efecto protector (reducción de la mortalidad atribuible al tratamiento), la cual fue de 92,29% para los casos bajo tratamiento y de 79.20% para la mortalidad general.

Por último, la tasa de letalidad de los casos sida en el país mostró una disminución después de la instauración de la terapia (mayo/2001). La letalidad disminuyó de una tasa de 24,3 x 100 casos sida en el 2000 a 14,12 x 100 casos sida tras 6 meses de tratamiento, y a 8,66 x 100 en el año 2002. El año 2003 cerró con una tasa de letalidad de 5,27 x 100 casos sida (Pérez D y cols, 2004; Pérez J, WHO, 2004; Pérez J y cols 2004; WHO, 2005).

A los genéricos cubanos, hasta el momento en que fueron utilizados en el estudio clínico terapéutico, no se les habían realizado los estudios de

bioequivalencia. La utilización de los mismos vino como resultado de una decisión política del país y con el visto bueno para su utilización por la Industria Farmacéutica la cual les realizó todas las pruebas que esta estipula para estos medicamentos. Una vez producidos estos ARV se realizaron protocolos clínicos con chequeo a 299 pacientes bajo tratamiento con estos genéricos, en las 14 provincias del país. La finalidad de los protocolos era medir efecto a partir de determinaciones de carga viral (CV), linfocitos T CD4+ y estadía de los pacientes en los hospitales. Aunque los estudios de bioequivalencia se realizaron simultáneamente al estudio clínico terapéutico, al ser los primeros de mayor duración y ante el avance de la epidemia se hizo necesaria la administración de los ARV genéricos nacionales a los pacientes, antes de la culminación de los estudios de bioequivalencia y sobre la base de los resultados obtenidos en el estudio clínico.

### **II.3 Validación de los métodos analíticos**

Por el término validación se entiende el proceso establecido para la obtención de pruebas convenientemente documentadas y demostrativas de que una técnica analítica es lo suficientemente fiable para producir el resultado previsto dentro de intervalos (USP 31, 2008; ICH Q2 (R1), 2005). Los conceptos y términos que se discutiran son de aplicación general, pero estarán dirigidos principalmente hacia los métodos analíticos de tipo químico e instrumental de uso común en los laboratorios.

Es necesario señalar que los métodos descritos en monografías de farmacopeas u otros textos oficiales se consideran validados aunque debe aclararse que ellos se refieren solamente a métodos generales y a materias primas. El objetivo principal de la validación analítica es el de asegurar que un procedimiento analítico seleccionado dará resultados reproducibles y confiables que sean adecuados para el propósito previsto, ésta puede ser prospectiva, retrospectiva o una revalidación (Jenke DR, 1996). La validación es la fase final (liberación del método) en el desarrollo de un método analítico (Mookherjea S, 1997) y se realiza en diferentes fases: protocolo de validación, realización de la validación, evaluación de los resultados analíticos, informes técnicos y certificado de validación.

La fiabilidad de los métodos analíticos se prueba mediante la determinación de los parámetros de validación, los cuales se seleccionan de acuerdo a la categoría del método que se estudia (CPFEUM, 1991; AEFI, 2001; ICH Q2 (R1), 2005; CECMED, 2007). Estos parámetros de validación son: Precisión (repetibilidad, reproducibilidad o precisión intermedia), Exactitud, Linealidad, Rango o Intervalo, Límite de detección, Límite de cuantificación, Especificidad, Tolerancia o fortaleza y Robustez.

Los métodos analíticos empleados para la determinación cuantitativa de los fármacos y de sus metabolitos en muestras biológicas juegan un papel significativo en la evaluación e interpretación de los datos farmacocinéticos. El éxito de cualquier estudio biofarmacéutico *in vivo*, que

incluya el análisis de los datos, depende de la sensibilidad y de la especificidad del método analítico utilizado (Shah VP y cols, 1992).

### **II.3.1 Linealidad:**

Se entiende por linealidad, la capacidad de un método analítico de obtener la proporcionalidad lineal que se espera en estos casos a la concentración de analito en la muestra, dentro de un intervalo determinado (ICH Q2 (R1), 2005). Este parámetro de validación es el que más se ha discutido históricamente, su concepto ha evolucionado y en la literatura más reciente hay una mayor armonización. En muchos casos se considera la linealidad como criterio inicial de validación. Dentro de este término se incluye la proporcionalidad entre concentración de analito y respuesta, así como el intervalo o “rango” de concentraciones de analito para los cuales el método es satisfactorio. También se relaciona con la sensibilidad de calibrado o cociente diferencial entre la señal medida y la concentración de analito (Wahlich JC, 1990; Swartz ME, 1998).

Las fases de este ensayo son las siguientes:

- Cerciorarse de que el intervalo lineal dinámico del instrumento sea más amplio que el intervalo de concentraciones a estudiar.
- Preparación de una serie de patrones de analito de concentraciones crecientes. Así por ejemplo, si se supone que la concentración del analito puede variar ampliamente (ensayos de impurezas o

productos de descomposición, etc), los patrones deberán abarcar todo el intervalo de concentraciones previsto.

- Cada análisis se efectuará como mínimo por duplicado. En procedimientos cromatográficos se recomienda efectuar las inyecciones por triplicado, a no ser que se utilice un procedimiento con patrón interno.
- Se determina la curva de calibración que relaciona respuesta (área, altura, absorbancia, etc), con concentración o cantidad de analito. Se calcula la recta de regresión por el método de ajuste de los mínimos cuadrados.
- Tratamiento estadístico de los datos anteriores (ICH Q2 (R1), 2005; Weed DH, 2000), a fin de evaluar la linealidad y la proporcionalidad. Es conveniente efectuar una interpretación estadística de la regresión a través del Coeficiente de correlación ( $r$ ), Coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el Test de regresión (García CM y cols, 2010).

Los valores aceptables de los parámetros de linealidad son los siguientes (Weed DH, 2000; FAO, 2005; CPFEUM, 2008):

- Expresión de la recta de regresión:  $y = bx + a$ .
- Coeficiente de correlación  $r \geq 0,990$ .
- Coeficiente de determinación  $r^2 \geq 0,980$ .
- Test de regresión: (t de student)  $t_{calculada} > t_{regresión}$  con  $\alpha=0,05$  y  $n-2$  grados de libertad.

### **II.3.2 Exactitud:**

Indica la capacidad del método analítico para brindar resultados lo más próximos posibles al valor verdadero (Calpena AC y cols, 1991; CPFEUM, 1991; AEFI, 2001). La falta de exactitud puede ser por defecto o por exceso (Mookherjea S, 1997). Las desviaciones por exceso suelen producirse cuando existen interferencias analíticas del método y la selectividad no es la adecuada. Las desviaciones por defecto suelen darse en métodos analíticos muy laboriosos con varias fases: extracciones, purificaciones, etc, que se traducen inevitablemente, en una disminución de la recuperación. La exactitud se expresa matemáticamente en forma de Error Relativo Porcentual (ER%) que debe estar entre -10 y 10%. La determinación de la exactitud se puede llevar a cabo según:

- Análisis repetido de una muestra de concentración única conocida.
- Análisis repetido de varias muestras de concentraciones diferentes conocidas.
- Método de adición de patrón.
- Comparación con otro método analítico ya validado.

### **II.3.3 Precisión (repetibilidad, reproducibilidad o precisión intermedia):**

Es el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos analíticos efectuados sobre una muestra homogénea, o expresado

de otra forma, la distribución de los valores analíticos alrededor de su media (AEFI, 2001).

La precisión puede expresarse a dos niveles:

Repetibilidad: Es la medida de precisión de un método efectuado en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos y en el curso de la misma serie de análisis efectuados, generalmente en un corto intervalo de tiempo. Se lleva a cabo sobre la base de un número suficiente de determinaciones de una mezcla homogénea del producto. El número de repeticiones debe ser igual o superior a 5 y la concentración del analito en la muestra problema suele ser la concentración media del rango de trabajo. La repetibilidad describe la variabilidad mínima del proceso analítico.

Reproducibilidad o precisión intermedia: Es la medida de precisión de los resultados de un método analítico efectuado sobre la misma muestra, pero en condiciones diferentes (diferentes analistas, equipos, días, etc.).

La precisión se expresa matemáticamente en forma de Coeficiente de Variación (CV%) que debe ser <15%.

#### **II.3.4 Rango.**

El “rango” es el intervalo de concentración entre el nivel superior e inferior, incluyendo éstos, en que se cumplen los requisitos de precisión, exactitud y linealidad del método. Para su determinación se preparan muestras

adicionando la sustancia a placebos, en los extremos superior e inferior del intervalo o rango que se desea establecer, así como dentro del mismo. Se analizan las muestras de manera repetida en cada uno de los niveles y se calcula la precisión, exactitud y linealidad a lo largo del intervalo. Una vez realizado todo este conjunto de ensayos, deben cumplirse los criterios de exactitud y precisión en cada uno de los niveles del intervalo, así como la linealidad a lo largo de éste (Shah VP y cols, 1992).

### **II.3.5 Especificidad:**

Los términos selectividad y especificidad se consideran similares y se definen como la capacidad de un método analítico para medir exacta y específicamente el analito, sin interferencia de impurezas, productos de degradación, compuestos relacionados o excipientes que puedan estar presentes en la matriz de la muestra (ICH Q2 (R1), 2005; Swartz ME y col, 1998; Weed DH, 2000). La selectividad es un criterio complejo, difícil de validar y las pautas generales para su determinación exigen una interpretación cautelosa por parte del técnico que deba adaptarlos a un método analítico particular.

### **II.3.6 Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC):**

Según USP 31, el límite de detección es la menor concentración de analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, en condiciones experimentales establecidas. Un resultado

"positivo" no es suficiente para que el analista considere detectado un analito. Se precisa además, conocer el límite de detección en las condiciones del método; de lo contrario se puede incurrir en un falso positivo.

El límite de cuantificación o determinación es, según USP 31, la menor concentración o cantidad de analito de una muestra que puede ser determinada con aceptable precisión y exactitud bajo las condiciones experimentales establecidas (USP 31, 2008). El límite de cuantificación es un término cuantitativo mientras que el límite de detección es cualitativo, numéricamente el primero es mayor y representa la menor cantidad de analito que se puede analizar con un CV aceptable.

Concentraciones menores pueden detectarse pero no cuantificarse. La determinación de los límites de detección y cuantificación es laboriosa por lo que sólo se efectúa cuando el nivel inferior del rango del método analítico se acerca a los límites de detección o cuantificación, como es el caso de impurezas y productos de degradación (Weed DH, 2000).

Existen diferentes formas para determinar los límites de detección y cuantificación (Currie L, 1994; Swartz M. E. 1998): Relación señal-ruido, estudio de la menor cantidad detectable, estimación del límite de detección mediante el valor de la ordenada en el origen expresada en unidades de concentración y análisis repetido del blanco de la muestra.

### **II.3.7 Otros parámetros.**

La tolerancia generalmente se expresa como la carencia de influencia en los resultados por cambios en las condiciones de operación. Es una medida de la reproducibilidad de los resultados analíticos bajo las condiciones normales de operación de laboratorio a laboratorio y de analista a analista. Para su determinación, se realizan los análisis de muestras tomadas de un mismo lote homogéneo, en diferentes laboratorios, por diferentes analistas, en diferentes días, etc, las cuales pueden diferir pero se mantienen dentro de los parámetros específicos del método (Swartz ME y col, 1998 y Weed DH, 2000).

El estudio de robustez investiga la influencia de pequeños cambios en las condiciones analíticas sobre la fiabilidad del método analítico, localizando los factores que originan fluctuaciones menores y los que necesitan una atención especial por cuanto originan variaciones significativas (Swartz ME y col, 1998; Weed DH, 2000). Esto se realiza cuando se precisa un estudio completo de reproducibilidad, como es el caso de un estudio interlaboratorios, por lo que el laboratorio que ha desarrollado el método analítico debe efectuar previamente el estudio de robustez. Para su estudio, se introducen deliberadamente variaciones razonables en las condiciones experimentales y se observa su influencia. No se estudia cada variable 1 a 1, sino que se introducen varios cambios a la vez; de forma tal

que se puedan investigar los efectos de cada uno de ellos (Quattrocchi OA y cols, 1992).

Aunque existen numerosas regulaciones y suficiente bibliografía sobre el tema de validación, como hemos visto en la descripción de los diferentes parámetros, no existen criterios únicos para la determinación de éstos, ni para su evaluación, por lo que consideramos que en la definición de la estrategia de validación debe primar el criterio del analista, una vez que éste haya valorado el propósito y las aplicaciones del método, el procedimiento y las técnicas analíticas utilizadas, la naturaleza del analito, su concentración y la matriz que lo contenga. De este modo, al llevar a cabo la validación del método en una forma consistente con sus características quedará garantizada la calidad del mismo.

Los métodos analíticos empleados para la determinación cuantitativa de principios activos y sus metabolitos en muestras biológicas juegan un papel importante en la evaluación e interpretación de los resultados farmacocinéticos, de biodisponibilidad y bioequivalencia. Son esenciales para tener una correcta caracterización de los métodos analíticos que nos dan resultados confiables y correctamente interpretados

## **II.4 Estudios de bioequivalencia**

### **II.4.1 Farmacocinética: Conceptos y parámetros. Características farmacocinéticas de los antirretrovirales**

La farmacocinética describe los aspectos cuantitativos de la disposición del fármaco después de su administración.

El destino farmacocinético de una dosis de medicamento, determinado mediante la medición repetida de su concentración sanguínea después de una sola administración, proporciona información útil para desarrollar un concepto o “modelo” de la manera en que el cuerpo procesa dicho fármaco (Katzung BG, 1994; Benet LZ, 2010). Las concentraciones alcanzadas dependen de la cantidad de droga administrada, el grado y velocidad de su absorción, distribución, unión o depósito en los tejidos, biotransformación y excreción. Es por ello que se plantea que los cuatro componentes básicos de la farmacocinética son: **A**bsorción, **D**istribución, **M**etabolismo (Biotransformación) y **E**xcreción (**ADME**).

Luego de la administración oral de un medicamento, mientras predomina la absorción, la curva de concentración del fármaco asciende progresivamente, pero llega un momento que el coeficiente de absorción se equipara al coeficiente de desaparición del mismo en sangre (por distribución o eliminación), este punto es conocido como **concentración máxima (C<sub>max</sub>)**. El tiempo que cada fármaco necesita para alcanzar su C<sub>max</sub> se conoce como **T<sub>max</sub>**. El Área Bajo la Curva (ABC ó AUC, más conocida por sus siglas en inglés) es un parámetro farmacocinético que

indica la exposición al fármaco durante todas las dosis del mismo. En la mayoría de las enfermedades infecciosas el AUC es el indicador más importante de respuesta a un fármaco (Fig.1) (Abad F y cols, 2001).

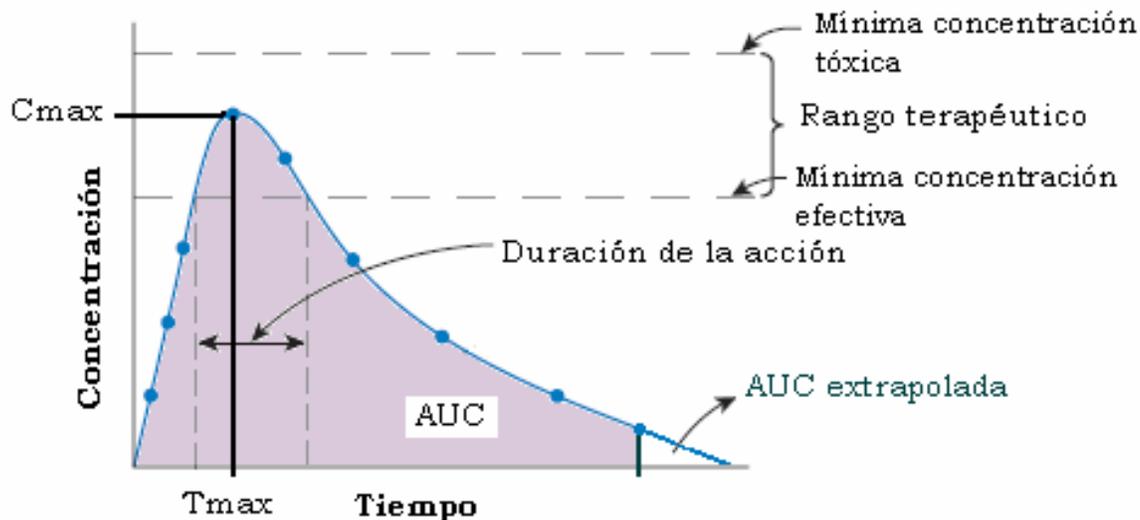


Figura 1. Biodisponibilidad después de una administración oral.

Los parámetros farmacocinéticos más utilizados son la  $C_{máx}$ , la  $C_{min}$  y el AUC. De formas diferentes cada una de ellas indica el grado de exposición al fármaco, ya sea en un momento particular ( $C_{máx}$ ,  $C_{min}$ ) o bien a lo largo de un período completo (AUC) (Hoetelmans R, 1999). También pueden determinarse la  $T_{max}$  y la Fluctuación, este último término es propuesto en la Guía de Malasia para los estudios de bioequivalencia, las cuales fueron adaptadas del “The European Agency for the Evaluation of Medical Products”, London 1998 (EMEA, 2001).

El factor más importante que determina la intensidad de la respuesta farmacológica es la concentración del fármaco en los sitios receptores de los tejidos blancos. Sería conveniente vigilar esta concentración para

ajustar la dosis o interpretar el fracaso de un tratamiento. Aunque en la práctica clínica no siempre es posible hacer determinaciones titulares directas. Por tanto, cuando se están llevando a cabo estudios farmacocinéticos, suelen determinarse las concentraciones en sangre.

Los parámetros farmacocinéticos se calculan a partir de la curva de las concentraciones del fármaco activo medidas en las muestras que se extraen después de la administración del mismo.

De manera general los ARV son bien absorbidos después de su administración oral con valores de biodisponibilidad entre 60-70% para AZT, de 82% para 3TC, de 80% para d4T, y de 90% para NVP (Beach JW, 1998; Martínez J, 2003). El volumen de distribución se encuentra por encima de 0,6L/Kg para AZT, 3TC, NVP e IDV, solo para d4T es inferior con un valor de 0,5L/Kg lo que indica que el d4T difunde del plasma hacia los líquidos intersticiales pero no penetra en las células, por lo que la concentración hística es baja y la plasmática es alta; el resto se liga más a estructuras celulares por lo que la concentración en tejidos será alta y en el plasma baja (Beach JW, 1998; Groning E, 2002; Zha W y cols, 2012). El aclaramiento total ( $Cl_t$ ), aclaramiento renal ( $Cl_r$ ) y el tiempo de vida media ( $t^{1/2}$ ) que son las 3 variables que nos caracterizan la eliminación del fármaco del organismo tanto en volumen como en velocidad están dadas por los valores de 18,6mL/min, 400mL/min y 1,1h respectivamente para AZT; 400mL/min, 260mL/min y 2-4h respectivamente para 3TC; 594mL/min, 240mL/min y 1,6h respectivamente para d4T; 26,6mL/min,

1,8h de  $Cl_t$  y  $t_{1/2}$  para IDV y 0,4mL/min y 40h de  $Cl_r$  y  $t_{1/2}$  para NVP (Beach JW, 1998; Martínez J, 2003; Zha W y cols, 2012). La mayoría de los ARV se unen de manera muy significativa a las proteínas del plasma. Teniendo en cuenta que el fármaco libre, es el único activo, los factores que alteren su unión a proteínas pueden influir en su actividad. La proteína plasmática que interviene con más frecuencia en el transporte de fármacos es la albúmina, seguida de la glucoproteína ácida\_1 (AAG). Los valores de unión a proteínas plasmática son de un 35% para AZT, de 36% para 3TC, inapreciable para el d4T, entre 50-60% para NVP y de 60% para IDV (Beach JW, 1998; Martínez J, 2003; Zha W y cols, 2012). La AAG transporta de forma preferente los inhibidores de la proteasa (IP) y puede variar según las razas (la raza negra presenta cifras más altas), según el índice de masa corporal (más proteína cuanto mayor es el índice) y, también depende del estadio de la infección por el VIH, con una clara correlación entre las concentraciones plasmáticas de ARN viral y las de AAG (Craig C y cols, 2001).

#### **II.4.2 Análisis y aspectos metodológicos de los estudios de bioequivalencia.**

El estudio de la bioequivalencia es la metodología aceptada por todas las agencias normativas de los países desarrollados para llevar a cabo el controlar la sustitución de un medicamento original por uno genérico (Estévez FE, 2000). Se trata de demostrar que 2 medicamentos distintos

pero con la misma composición son tan parecidos entre sí que pueden utilizarse indistintamente con las mismas garantías de seguridad y eficacia o sea, que presentan una biodisponibilidad comparable en condiciones experimentales apropiadas. Esta capacidad de utilización indistinta es lo que confiere al medicamento genérico su intercambiabilidad y la capacidad de sustitución cuando las leyes lo permitan. (Frias J y cols, 2001; Meredith P, 2003). De acuerdo a la normativa actual, en la mayoría de los casos se considera que 2 formulaciones son bioequivalentes cuando la diferencia en la velocidad y la magnitud de la absorción entre ellas es inferior al 20% (EMA, 2001; FDA, 2002). Este valor se decidió en base a que no parece clínicamente significativa una diferencia de un 20% en las concentraciones del fármaco activo en sangre (Benet LZ, 1999; Frías J y cols, 2001).

Según las recomendaciones de las principales agencias reguladoras, los parámetros farmacocinéticos útiles en el estudio de la bioequivalencia son (EMA, 2001; FDA, 2003):

- AUC, calculada por el método trapezoidal, que se puede medir desde la administración del fármaco hasta la última muestra con concentración medible ( $AUC_{0-t}$ ) o extrapolándola hasta que la concentración llegue a cero ( $AUC_{0-\infty}$ ). Esta extrapolación se calcula como prolongación de la recta de la fase de eliminación (última concentración medida dividida por la constante de eliminación) y no debería ser superior al 20%.

- Cmax y Tmax obtenidas directamente de las concentraciones plasmáticas.

El AUC y la Cmax son los parámetros primarios para evaluar bioequivalencia, y la Tmax es un parámetro secundario (Steinijans VW y cols, 1992).

Los estudios de bioequivalencia no se utilizan solamente para los fármacos genéricos, sino que también son utilizados en muchas ocasiones por los laboratorios investigadores cuando se cambia la formulación. De hecho, el 59% de las formulaciones de los productos de marca comercializados son distintas de las formulaciones utilizadas en los principales ensayos clínicos en fase II y III en los que se ha demostrado la eficacia y seguridad del producto, y han demostrado su equivalencia terapéutica en base a un estudio de bioequivalencia en voluntarios sanos (Benet LZ, 1999).

El método general para realizar un estudio de bioequivalencia está prácticamente armonizado en el mundo (EMEA, 2001; FDA, 2003; Guías de Malasia, 2000; CECMED, 2007). Se diseña un protocolo y posteriormente se realiza la validación de los métodos bioanalíticos, como fases iniciales de estos estudios. El diseño es abierto, aleatorizado y cruzado, en voluntarios sanos preferiblemente (excepto si se conoce que el fármaco a evaluar ocasiona eventos adversos moderados o graves o que su efecto farmacológico es considerado inaceptable o que entraña algún riesgo para el voluntario sano por lo que se considerará utilizar pacientes), de cualquier sexo. El número de sujetos necesarios no deberá ser inferior a

12. Los individuos elegidos para el estudio deberán asistir a la unidad clínica en dos oportunidades (períodos), en las que recibirá los dos tratamientos, Prueba y Referencia, en un orden o secuencia (PR) y/o (RP), con un tiempo de lavado adecuado (más de 5 vidas medias) entre períodos. Para los estudios de bioequivalencia, el líder internacional o producto innovador debe ser el fármaco de referencia (FDA, 2001).

Luego de una primera muestra de sangre a tiempo 0 hora, se administra una dosis única de cada formulación bajo estudio, con 250 mL de agua, luego de un ayuno nocturno de unas 10 a 12 horas y a partir de ese momento, se controla la ingesta estandarizada de líquidos y sólidos. Las muestras sanguíneas deben tomarse a idénticos tiempos para ambas formulaciones y deben dar cuenta del perfil plasmático de la droga en cada individuo.

Posteriormente, con los resultados de concentraciones plasmáticas vs tiempo (perfil plasmático), se calculan los parámetros de biodisponibilidad:  $C_{max}$ ,  $T_{max}$  y AUC para cada individuo y por formulación. La validez de los supuestos que subyacen el análisis estadístico (por ejemplo la normalidad de las distribuciones) se mejora realizando una transformación logarítmica ( $\ln$ ) de los datos crudos antes del análisis. Esto es importante para los parámetros que se derivan de medidas de concentración ( $C_{max}$  y AUC), para estas variables continuas la comparación de los datos se realizaron mediante un test paramétrico.

En la Etapa Estadística final, se comparan los parámetros de biodisponibilidad (básicamente  $C_{max}$  y AUC) producidos por ambas formulaciones, a fin de evaluar si sus diferencias podrían tener una importancia clínica (Midha KK y col, 2009).

Para realizar esta comparación se siguen una serie de criterios, los cuales han ido modificándose en el tiempo, de acuerdo a su utilidad, ventajas y desventajas, las que fueron evaluadas a medida que se iba obteniendo la casuística apropiada (Giarcovich SS y col, 2004):

- Regla del 80/120: Se concluyó que un 20% de diferencia en dosis entre formulaciones no tendría significación clínica para la mayoría de las drogas. Fue por eso que los límites de bioequivalencia se estimaron inicialmente en 80-120% (Westlake WJ, 1973; Canadá: Discusión Paper, 2003).
- Comparación de las curvas de concentración vs. tiempo: Hubo una propuesta de Westlake en 1973 para comparar estadísticamente las curvas (en lugar de los Parámetros de Biodisponibilidad derivados de ellas). Sin embargo, el método no tuvo aceptación por motivos estadísticos y porque no se consensuó un criterio final, clínicamente relevante, de aceptación o rechazo (Pidgen A, 1996).
- Regla del 75/125: Este método consiste en obtener los cocientes Prueba/Referencia individuales para los parámetros a evaluar (generalmente  $C_{max}$  y AUC) y el criterio establece que dos productos serán bioequivalentes cuando al menos el 75% de los individuos

tengan cocientes que entren dentro del rango 75%-125%. Este criterio, originalmente propuesto por la FDA, fue criticado porque podía producir errores en el veredicto, particularmente en casos de alta variabilidad o de diferente variabilidad entre ambas formulaciones (Cabana BE, 1983; Haynes JD, 1983).

- Intervalos de confianza: Ya en 1972, Westlake planteó que los intervalos de confianza podían dar una expresión cuantitativa a las diferencias entre dos formulaciones, en lugar de un veredicto todo/nada acerca de si dos formulaciones pueden ser consideradas iguales o no. El rango así calculado debe estar contenido dentro del rango de bioequivalencia 80%-125%, que representa un rango simétrico de 20% sobre la escala logarítmica para que ambas formulaciones sean consideradas bioequivalentes.

## **CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **III.1 Validación de métodos analíticos para la determinación de AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP por HPLC.**

Se realizó la revalidación de 5 métodos analíticos para la determinación de los ARV (AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP) en plasma.

#### **III.1.1 Reactivos y equipos**

Todos los reactivos utilizados fueron grado HPLC de la firma Merck (Darmstadt, Alemania).

El plasma humano, libre de los ARV en estudio, se obtuvo del Banco de Sangre de Marianao, La Habana, Cuba. Las columnas de extracción en fase sólida (C-18 LiChrolut, 1mL, 100mg) fueron obtenidos de la firma Merck (Darmstadt, Alemania).

El software EuroChrom 2000 se utilizó para controlar el sistema de HPLC, constituido por una bomba K-1001, un detector UV-variable K-2600 y un inyector automático “Basic Marathon” tipo 816, todo de la firma Knauer (Berlín, Alemania). Las columnas analíticas fueron RP-18, 250x4mm (I.D)

de 5µm y las precolumnas LiCroCART® 4x4, LiCrospher® 100 RP-18 (5µm) igualmente de la firma Merck (Darmstadt, Alemania).

Las materias primas (calidad USP) de lamivudina, estavudina, zidovudina, indinavir y nevirapina fueron suministradas por los Laboratorios NOVATEC.

### **III.1.2 Condiciones cromatográficas**

Las técnicas descritas en la farmacopea (USP 31, 2008) para los productos terminados de estos ARV se describen en el ANEXO 1. Las mismas no son aplicables para la determinación en fluidos biológicos y por tanto, para la determinación de estos ARV en plasma se tomaron las técnicas descritas por Verweij-van Wissen CPWGM y cols, 2005 para el 3TC y el d4T; por Dailly E y cols, 2001 para el IDV; por Marchei E y cols, 2002 para la NVP y por Fan B y col, 2002 para el AZT. A estas técnicas se le realizaron modificaciones las cuales fueron publicadas por los autores de este trabajo en Tarinas A y cols, 2007 (2 artículos).

Con las condiciones de trabajo finales que se anexan en la siguiente tabla se trabajó en modo isocrático y alícuotas de 50 µL de muestras o de soluciones estándares fueron inyectadas automáticamente en la columna analítica.

<b>Parámetros</b>	<b>d4T</b>	<b>3TC</b>	<b>AZT</b>	<b>IDV</b>	<b>NVP</b>
<b>Detector</b>					
<b>UV-Vis</b>	271	271	267	210	265
<b>λ (nm)</b>					
<b>Fase Móvil</b>	CH <sub>3</sub> CN:H <sub>2</sub> O (9:91)	CH <sub>3</sub> CN:H <sub>2</sub> O (9:91)	CH <sub>3</sub> OH:H <sub>2</sub> O (20:80)	Buffer fosfato (pH 5,7):CH <sub>3</sub> CN (60:40) 0,2% TEA	Buffer fosfato (pH 5,5):CH <sub>3</sub> CN (80:20) 0,2% TEA
<b>Flujo</b>	0,7	0,7	1,2	1,3	1,2
<b>(mL/min)</b>					
<b>Método de cuantificación</b>	Estándar externo				

### III.1.3 Preparación de soluciones estándares

La materia prima de cada uno de los ARV fue pesada y disuelta en H<sub>2</sub>O bidestilada para AZT, 3TC, d4T e IDV y en metanol para la NVP y así obtener soluciones madres de cada uno de ellos. Partiendo de estas soluciones madres se prepararon soluciones intermedias y posteriormente se realizaron diluciones apropiadas para obtener concentraciones bajas para los patrones y los estándares de calibración (soluciones de muestras simuladas) (ANEXO 2).

Las muestras simuladas fueron preparadas añadiéndole las concentraciones seleccionadas de los patrones al plasma humano libre de ARV, las cuales fueron posteriormente utilizadas en la determinación del Porcentaje de Recobrado.

Se emplearon 7 concentraciones patrones en cada caso para definir cada una de las curvas de calibración en el procedimiento de revalidación y en el análisis de las muestras de los pacientes. Alícuotas de los patrones, estándares de calibración y de control de calidad (QC, quality control) fueron guardadas a -25°C para su posterior utilización. La concentración que se tomó como QC fue 100 ng/mL para d4T y 3TC y 1,0 µg/mL para AZT, IDV y NVP, utilizando 3 réplicas en cada corrida.

#### **III.1.4 Procedimiento de preparación de muestras**

A las muestras de plasma de los pacientes en estudio, a los estándares de calibración, a las muestras simuladas y a los controles de calidad de los ARV: 3TC, AZT, d4T e IDV se les realizó la técnica de extracción en fase sólida (EFS). Las muestras guardadas a -25°C fueron descongeladas según las necesidades del estudio, calentándose a 57°C durante 40min para inactivar el VIH antes de ser manipuladas (Burger DM y cols, 1992). Además por la necesidad de inactivar el virus, se demostró la estabilidad de los ARV a esa temperatura.

Las columnas para la EFS fueron acondicionadas con 2mL metanol y 2mL de H<sub>2</sub>O bidestilada antes de depositar los 500µL de las muestras de

plasma de los pacientes estudiados o de las muestras simuladas, las cuales son succionadas a través de la columna mediante el empleo de un vacío ligero, seguido de una elusión con 500 $\mu$ L de metanol la cual fue recogida en un vial. El metanol fue evaporado a sequedad con corriente de nitrógeno a 40°C y el residuo se reconstituyó en 200 $\mu$ L de la fase móvil según cada caso y de ellos una alícuota de 50 $\mu$ L se inyectó automáticamente en el equipo de HPLC. Estos métodos fueron modificaciones que se realizaron de métodos descritos en la literatura (Marchei E, y cols, 2002; Fan B y col, 2002; Verweij-van Wissen CPWGM y cols, 2005).

En el caso de la NVP se realizó una extracción líquida-líquida donde se le adicionó a 500 $\mu$ L de muestra de plasma 250 $\mu$ L de Ácido tricloroacético al 20% para la precipitación de las proteínas del plasma, se agitó vigorosamente en el Vortex durante 1 min y luego se centrifugó a 10000 rpm por 5 min. Posteriormente se recuperó el sobrenadante, del cual se tomaron las alícuotas para la inyección automática. Este método fue una modificación realizadas a lo reportado en la literatura por Laurito TL y cols, 2002.

### **III.1.5 Procedimiento de revalidación**

El protocolo de revalidación de los métodos analíticos incluyó la realización de los ensayos de especificidad, linealidad, precisión y exactitud intra- e interdía, límites de cuantificación y detección y porcentaje de recobrado.

Para evaluar la **especificidad** se compararon los cromatogramas que se obtuvieron, bajo las condiciones descritas en cada método analítico, para las siguientes preparaciones:

1. Una muestra de la sustancia química de referencia del principio activo (pa) con una concentración equivalente a un punto del rango estudiado (TABLA 1).
2. Una muestra blanco de plasma que contiene todos los ingredientes con excepción del principio activo.
3. Una muestra de paciente después de la toma oral del ARV que resulta del almacenamiento en condiciones de congelación (-25°C), con ciclos de congelación/descongelación y con calentamiento a temperatura de 57°C durante 40 min.

Para que el método cumpla con la especificidad se tomó como criterio que la señal obtenida en las preparaciones 1 y 3 deberán ser concordantes; los cromatogramas de las muestras blanco 2 no deben presentar señales en el tiempo similar al tiempo de retención de la sustancia química de referencia del analito.

Para evaluar la **linealidad** en las condiciones de trabajo descritas para cada método se realizaron los siguientes pasos:

- Preparación de la curva. Se prepararon las soluciones patrones de las 7 concentraciones de la materia prima de referencia en el rango

de concentraciones establecido según cada ARV, analizándose 5 réplicas de cada valor de concentración (TABLA 1).

- Determinación de la curva de calibración. Se graficaron los valores de concentración en función de la señal del detector. Se calculó el intersepto.
- Se determinaron los coeficientes de correlación y determinación, con sus respectivos CV.
- La ecuación de las curvas se empleó para calcular la concentración adecuada en los controles y las muestras de los pacientes.
- Se realizó el test de regresión, donde se utilizó la siguiente fórmula

para la  $t_{\text{calculada}}$   $t_r = \frac{r \times \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$  (García CM y cols, 2010).

La regresión lineal de los mínimos cuadrados fue usada para calcular las ecuaciones relacionando las áreas de los picos cromatográficos y las concentraciones de los ARV en los estándares de calibración.

La ***precisión*** se evaluó en términos de repetibilidad (estudio intradía) y precisión intermedia (estudio interdías) y se verificó mediante el coeficiente de variación porcentual (CV %) de la serie de medidas, según la fórmula (Calpena AC y cols, 1991):

$$CV (\%) = \frac{\text{Desviación estándar}}{\text{media}} \times 100$$

TABLA 1. Rango de concentraciones empleados en la determinación de los parámetros de validación de los métodos analíticos utilizados para la determinación de trazas.

pa	Linealidad y Rango de concentración (µg/mL)	Precisión* y Exactitud (µg/mL)
d4T	0,01; 0,025; 0,05; 0,1; 0,4; 0,8 y 1,6	<b>0,05; 0,1</b> ; 0,4 y <b>0,8</b>
3TC	0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 y 3,2	<b>0,05; 0,2; 0,8</b> ; 1,6 y 3,2
AZT	0,05; 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,5; y 5,0	<b>0,5; 1,5; 2,5</b> y 5,0
IDV	0,1; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; y 10,0	0,5; <b>1,0</b> ; 2,5; <b>5,0; 7,5</b> y 10,0
NVP	0,1; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; y 10,0	<b>0,5; 2,5</b> ; 5,0 y <b>7,5</b>

**\*En negrita los valores utilizados para la precisión intermedia**

La **exactitud** se evaluó a través del Error Relativo Porcentual (ER), según la fórmula (Calpena AC y cols, 1991):

$$ER (\%) = \frac{\text{Concentración calculada} - \text{Concentración teórica}}{\text{Concentración teórica}} \times 100$$

La precisión y exactitud se basaron en el análisis de patrones de control de calidad de cada ARV a varios niveles de concentración dentro del rango establecido (TABLA 1).

La **sensibilidad** se evaluó en términos de **límite de detección** y **cuantificación**. EL método empleado para su determinación fue el de extrapolación a concentraciones cero de muestras conteniendo bajas concentraciones de analito. El límite de detección (LD) se definió como la cantidad más pequeña, la cual puede ser realmente diferenciada del nivel

de ruido de la línea de base del cromatograma. Cantidades que dieron una señal mayor que 3 veces la relación señal-ruido, se seleccionó como el LD. El límite de cuantificación (LC) más bajo se determinó como la concentración en la cual el coeficiente de variación fue mayor, aunque no sobrepasó el 20% (n=3).

El **Porcentaje de Recobrado** (medida de la eficacia del proceso de extracción) para cada uno de los ARV se estableció comparando la respuesta del área de los patrones de control de calidad extraídos con los no extraídos (concentración de estándar puro) y que representaban el 100% del recobrado. La comparación se realizó en varios valores de concentraciones (TABLA 2) dentro del rango establecido para cada ARV y en 3 corridas diferentes, promediándose los resultados obtenidos.

TABLA 2. Concentraciones empleados en la determinación del porcentaje de recobrado.

PA	Concentraciones utilizadas para el recobrado ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
d4T	0,01; 0,025; 0,05; 0,1; 0,4; 0,8 y 1,6
3TC	0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 y 3,2
AZT	0,1; 1,0; 1,5 y 2,5
IDV	0,5; 1,0 y 5,0
NVP	0,1; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; y 10,0

## **III.2 Determinación de las variables farmacocinéticas necesarias para los estudios de bioequivalencia.**

### **III.2.1 Confección de protocolos y aspectos éticos.**

Todos los estudios fueron conducidos de acuerdo con los principios generales establecidos en los documentos adoptados por la comunidad internacional en relación con las investigaciones biomédicas en humanos y las recomendaciones de la Asociación Médica Mundial (WMA, 2000). Los protocolos de estos estudios fueron realizados según las normas establecidas en la Resolución 18-07 del CECMED y sometidos a la consideración y aprobación del Comité de Ética Médica para la Investigación Clínica del IPK. De igual forma fueron revisados por la Comisión Científica Especializada de la Subdirección de Atención Médica del IPK la cual los evaluó desde el punto de vista ético, científico y metodológico para formar parte del Proyecto Nacional del CITMA PNCT 00408234. Los estudios se realizaron en concordancia con lo establecido en la Declaración de la Asamblea Médica Mundial de Helsinki, con actualización de Edimburgo, Escocia, Octubre 2000; Tokio, 2004 y con las regulaciones estatales vigentes según los requerimientos del Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, CECMED, 2000; así como en la Guía de Buenas prácticas Clínicas de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH E6 (R1), 2005). Al divulgar los resultados del ensayo se garantizó no revelar los datos personales de los pacientes.

### **III.2.2 Metodología para la determinación de las variables farmacocinéticas.**

Para la determinación de las variables farmacocinéticas en todos los casos se realizaron estudios de dosis única, cruzado, aleatorizado y a simple ciego en 13 pacientes para el caso de AZT y 3TC, 14 pacientes para d4T e indinavir y 12 pacientes para la NVP.

Los pacientes-voluntarios cumplieron con los siguientes criterios de inclusión:

- Seropositivos al VIH
- De cualquier sexo
- Vírgenes de TARVAE
- Entre 18 y 59 años de edad

Los mismos tenían las siguientes características antropométricas promedios:

<b>Característica</b>	<b>d4T</b>	<b>3TC</b>	<b>AZT</b>	<b>IDV</b>	<b>NVP</b>
<b>Edad (años)</b>	35 ± 6,07	34 ± 7,24	33 ± 5,92	33 ± 7,70	36 ± 4,72
<b>Peso (Kg)</b>	66 ± 14,63	61 ± 17,48	65 ± 13,77	70 ± 11,52	70 ± 14,71
<b>Talla (cm)</b>	165 ± 8,69	162 ± 8,98	168 ± 9,97	168 ± 7,50	169 ± 9,48

Los ARV administrados tanto de PRUEBA (producidos por NOVATEC, Cuba) como de REFERENCIA se muestran a continuación:

<b>Nombre genérico</b>	<b>Nombre comercial</b>	<b>Lote</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Fecha de aprobación por FDA</b>
Indinavir	Crixivan®	L8299	Merck, Alemania	Marzo 1996
Indinavir	Indinavir	0009	NOVATEC, Cuba	-
Nevirapina	Viramune®	257548A y 403227	Boehringer Ingelheim, Reino Unido	Junio 1996
Nevirapina	Nevirapina	0001 y 0002	NOVATEC, Cuba	-
Lamivudina	Epivir®	B028741	GlaxoSmithKline	Noviembre 1995
Lamivudina	Lamivudina	0004	NOVATEC, Cuba	-
Estavudina	Zerit®	0J42825	Bristol-MyersSquibb, Reino Unido	Junio 1994
Estavudina	Estavudina	0001	NOVATEC, Cuba	-
Zidovudina	Retrovir®	OZP0105	GlaxoSmithKline	Marzo 1987
Zidovudina	Zidovudina	0003	NOVATEC, Cuba	-

Los pacientes fueron ingresados en dos oportunidades (períodos) con un tiempo de lavado entre los mismos de 7 a 15 días; y con dos secuencias de administración PR ó RP. A estos pacientes se les realizaron extracciones de sangre en tubos heparinizados según la cinética establecida en cada caso (Tarinas A y cols, 2006; Tarinas A y cols, 2007):

- **3TC, d4T, IDV:** 0, 15', 30', 45', 1h, 1.5h, 2h, 3h, 4h, 6h, 8h, 12h
- **AZT:** 0, 15', 30', 45', 1h, 1.5h, 2h, 3h, 4h, 6h, 8h
- **NVP:** 0, 30', 1h, 1.5h, 2h, 2.5h, 3h, 3.5h, 4h, 5h, 6h, 8h, 12h

Las muestras de sangre extraídas de los pacientes se centrifugaron a 3000 rpm por 10min y se extrajo el sobrenadante (plasma) el cual fue congelado a -25°C hasta su utilización. Posteriormente estas muestras de plasma fueron procesadas según los métodos de extracción establecidos en cada caso (acápites III.1.4) y el volumen adecuado de cada una fue inyectado automáticamente en el HPLC.

La Cmax, Cmin y Tmax fueron determinadas directamente por los datos de las corridas cromatográficas. Las AUC<sub>0-t</sub> y AUC<sub>0-∞</sub> fueron calculadas por el método trapezoidal y la extrapolación al infinito de la curva de concentración en el tiempo, utilizando la edición profesional del programa WinNolin 2.1. Además se incluyó para los genéricos d4T, 3TC, AZT e IDV el término de Fluctuación (Flu), dado por la fórmula: 
$$Flu = \frac{C_{max} - C_{min}}{C_{max}}$$

Para la NVP no se calculó este parámetro por no contar con un valor adecuado de Cmin (acápites V.2 de la discusión).

Se compararon las variables farmacocinéticas de las 2 formulaciones de cada ARV, usando el test de comparación de medias (t student) para muestras relacionadas un nivel de significación de 0,05 utilizando el programa "Basic Statistics '99 edition". Los cálculos se realizaron en el paquete estadístico NCSS 2000 - Pass 2000. La normalidad de las

variables se verificó a través de los test de Skewness, Kurtosis y Ómnibus y por el programa estadístico MINITAB 14.0 mediante el test de Ryan-Joiner ( $n < 40$ ) que da una distribución normal cuando  $p > 0,05$

Para el cálculo del *efecto período* se realizaron los siguientes pasos:

- Se tomaron los valores de  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{0-\infty}$  del período 1 y del período 2 por separado. Se le determinaron las medias y DE.
- Se compararon estas medias mediante una t de student para dos muestras independientes a través del programa MINITAB 14.1 con un nivel de significación de  $\alpha = 0,05$ .

Para el cálculo del *efecto secuencia* se realizaron los siguientes pasos:

- Se tomaron los valores de  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{0-\infty}$  de los pacientes que tuvieron secuencia PR/RP y de los pacientes que tuvieron secuencia RP/PR por separado. Se le determinaron las medias y DE.
- Se compararon estas medias mediante una t de student para dos muestras independientes a través del programa MINITAB 14.1 con un nivel de significación de  $\alpha = 0,05$ .

### **III.3 Estudio de bioequivalencia.**

El método estadístico para evaluar la bioequivalencia de 2 productos se basó en el intervalo de confianza a 90% (IC 90%) para el cociente (P/R) en el caso de  $C_{max}$  y AUC o la resta de las medias (P-R) para  $T_{max}$ . La decisión a favor de la bioequivalencia resultó de la inclusión del IC 90% para el cociente  $m_P/m_R$  o la resta  $m_P - m_R$  de las medias poblacionales en

el respectivo ámbito de bioequivalencia, asumiendo un modelo multiplicativo o aditivo, respectivamente. En el modelo multiplicativo se calculó la transformación logarítmica de los datos a partir de los cocientes individuales y el entorno de bioequivalencia varió entre 0,80 – 1,25 y 0,70 – 1,43. Para el modelo aditivo, el ámbito de bioequivalencia se expresó en términos de la diferencia absoluta (en el caso de Tmax se calculó  $\pm 20\%$  horas de la media del parámetro para la formulación de referencia). Este método se basó en una prueba de 2 colas, también con un nivel de significación del 5%. Se realizó la transformación logarítmica (ln) de los datos crudos antes del análisis para las variables C<sub>máx</sub> y AUC, para estas variables continuas la comparación de los datos se realizó mediante un test paramétrico. En el caso de la Tmax, que es una variable discontinua, pues sólo se extrajeron muestras a determinados tiempos, se empleó un análisis no paramétrico. Para todas las variables estudiadas se calculó la media, la desviación estándar y los intervalos de confianza por el paquete estadístico NCSS 2000-Pass 2000 y el programa Microsoft Excel 5.0. Los valores fueron expresados como medias. El test de bioequivalencia fue realizado utilizando el programa Equiv Test de soluciones estadísticas. También se determinó la bioequivalencia puntual (Bp) dada por la fórmula:

$$Bp = \frac{P_P}{P_R} \times 100 \quad (\text{González R y cols, 2002}).$$

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS

### IV.1 Validación de métodos analíticos para la determinación de AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP por HPLC.

Los resultados de los parámetros de validación para cada método cromatográfico se resumen en el ANEXO 3.

Como resultado del ensayo de **especificidad** en los ANEXOS del 4 al 8 se presentan los cromatogramas correspondientes a los patrones de referencia de 1,0µg/mL (AZT), 800ng/mL (3TC), 1600ng/mL (d4T), 2,5µg/mL (IDV y NVP); a las muestras blanco de plasma y a las muestras de pacientes después de la toma oral del ARV correspondiente en cada caso.

Los tiempos de retención ( $t_R$ ) estuvieron entre 6,8 y 8,0 min para d4T; entre 7,5 y 9,0 min para 3TC; entre 11,2 y 11,9 min para AZT; entre 11,2 y 11,9 min para IDV y entre 8,5 y 11,3 min para NVP.

Los resultados de los estudios de **linealidad** se resumen en la TABLA 3. Los resultados completos de este ensayo se documentan en los ANEXOS del 9 al 9D.

TABLA 3. Resultados del ensayo de linealidad.

	<b>Estavudina</b>	<b>Lamivudina</b>	<b>Zidovudina</b>	<b>Indinavir</b>	<b>Nevirapina</b>
<b>r (n=7)</b>	0,9992	0,9988	0,9998	0,9915	0,9899
<b>CV (%)</b>	0,08	0,17	0,01	0,33	0,45
<b>Intersecto</b>	-0,0245	0,8187	-0,0231	0,3231	-0,1366
<b>tr <math>\alpha=0,05</math>; f=n-2</b> <b>t tabulado=2,042</b>	143,39	114,66	286,94	43,78	40,59
<b>r<sup>2</sup> (n=7)</b>	0,9984	0,9975	0,9996	0,9834	0,9799
<b>CV (%)</b>	0,16	0,33	0,01	0,69	0,81

En el test de regresión lineal, se mostró que el valor de  $t_{\text{calculado}} > t_{\text{tabulado}}$ .

Todos estos valores están expresados en la TABLA 3.

Los resultados del estudio de **precisión** en sus dos formas, repetibilidad y precisión intermedia, al igual que la **exactitud** se resumen en la TABLA 4, los resultados completos de este ensayo se documentan en los ANEXO del 10 al 14.

TABLA 4. Resultados de los ensayos de precisión y exactitud.

<b>Precisión y Exactitud</b>	<b>Estavudina</b>	<b>Lamivudina</b>	<b>Zidovudina</b>	<b>Indinavir</b>	<b>Nevirapina</b>
<b>Interdías (n=3)</b>	50 – 800 (ng/mL)	50 – 800 (ng/mL)	1,0 – 2,5 ( $\mu\text{g/mL}$ )	1,0 – 7,5 ( $\mu\text{g/mL}$ )	0,5 – 7,5 ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>CV (%)</b>	1,35	4,81	7,82	10,58	2,63
<b>Intradía (n=5)</b>	50 – 1600 (ng/mL)	200 – 3200 (ng/mL)	0,5 – 5,0 ( $\mu\text{g/mL}$ )	0,5 – 10,0 ( $\mu\text{g/mL}$ )	0,5 – 7,5 ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>CV (%)</b>	2,94	6,64	5,82	5,56	3,38
<b>ER (%)</b>	0,25	-0,57	8,77	1,83	-1,03

Los resultados del estudio de ***sensibilidad***, expresados en sus dos parámetros, ***límite de detección*** y ***límite de cuantificación*** estimados a partir de la recta de regresión, por extrapolación a concentración cero se muestran en la TABLA 5. Están expresados en unidades de concentración (masa en el volumen de inyección que se puede detectar o cuantificar). Estos límites, se corroboraron a partir del análisis de disoluciones reales que contenían a los principios activos a esos niveles de concentración. Los resultados de la determinación del porcentaje de recobrado igualmente se muestran en la TABLA 5.

TABLA 5. Resultados de los estudios de sensibilidad y recobrado.

<b>Sensibilidad</b>	<b>Estavudina</b>	<b>Lamivudina</b>	<b>Zidovudina</b>	<b>Indinavir</b>	<b>Nevirapina</b>
<b>LC</b>	10 ng/mL	50 ng/mL	0,05 µg/mL	0,1 µg/mL	0,1 µg/mL
<b>CV (%)</b>	11,9	3,30	13,30	13,60	15,3
<b>LD</b>	5 ng/mL	12 ng/mL	0.01 µg/mL	0.05 µg/mL	-
<b>CV (%)</b>	19,1	14,3	4,44	3,77	-
<b>Recobrado (%)</b>	91,0	95,9	90,0	89,3	89,3

#### **IV.2 Variables farmacocinéticas.**

Los valores de concentración medidos después de la toma oral del ARV por pacientes según cada caso se muestran en los ANEXOS del 15 al 19A. Los valores resumidos de los parámetros farmacocinéticos se agrupan en la TABLA 6 para facilitar su presentación, así como los resultados del test de comparación de medias.

TABLA 6: Resultados farmacocinéticos obtenidos expresados como media y su desviación estándar.

ARV	Parámetro Farmacocinético	Medicamento de Prueba (P)	Medicamento de Referencia (R)	T student p<0,05
d4T	<b>C<sub>máx</sub> (ng/mL)</b>	772,70 ± 313,9	882,80 ± 401,69	0,41
	<b>T<sub>máx</sub> (h)</b>	1,13 ± 0,48	0,98 ± 0,48	0,48
	<b>AUC<sub>0-12</sub> (ng.h/mL)</b>	1380,98 ± 582,09	1477,32 ± 522,28	0,63
	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (ng.h/mL)</b>	1577,41 ± 794,10	1540,31 ± 535,49	0,85
	<b>Flu</b>	0,97 ± 0,04	0,96 ± 0,05	0,95
3TC	<b>C<sub>máx</sub> (ng/mL)</b>	1333,10 ± 655,41	1430,24 ± 726,98	0,44
	<b>T<sub>máx</sub> (h)</b>	1,0 ± 0,35	1,06 ± 0,42	0,73
	<b>AUC<sub>0-12</sub> (ng.h/mL)</b>	3990,01 ± 1802,90	3615,34 ± 1542,24	0,14
	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (ng.h/mL)</b>	4046,24 ± 1570,06	3728,55 ± 1569,66	0,20
	<b>Flu</b>	0,94 ± 0,06	0,97 ± 0,02	0,14
AZT	<b>C<sub>máx</sub> (µg/mL)</b>	3,56 ± 1,34	3,35 ± 1,41	0,99
	<b>T<sub>máx</sub> (h)</b>	0,85 ± 0,56	0,75 ± 0,40	0,52
	<b>AUC<sub>0-8</sub> (µg.h/mL)</b>	4,63 ± 1,20	4,71 ± 1,50	0,82
	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (µg.h/mL)</b>	4,72 ± 1,24	4,76 ± 1,52	0,89
	<b>Flu</b>	0,99 ± 0,01	0,99 ± 0,007	0,84
IDV	<b>C<sub>máx</sub> (µg/mL)</b>	10,56 ± 2,77	9,73 ± 2,93	0,33
	<b>T<sub>máx</sub> (h)</b>	1,0 ± 0,29	0,96 ± 0,32	0,55
	<b>AUC<sub>0-12</sub> (µg.h/mL)</b>	21,28 ± 10,65	19,05 ± 8,03	0,32
	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (µg.h/mL)</b>	21,54 ± 10,83	19,26 ± 8,07	0,32
	<b>Flu</b>	0,99 ± 0,51	0,99 ± 0,52	0,82
NVP	<b>C<sub>máx</sub> (µg/mL)</b>	1,93 ± 0,52	1,91 ± 0,54	0,90
	<b>T<sub>máx</sub> (h)</b>	2,64 ± 1,55	3,14 ± 1,72	0,28
	<b>AUC<sub>0-12</sub> (µg.h/ml)</b>	15,00 ± 4,56	15,46 ± 5,50	0,89
	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (µg.h/mL)</b>	55,73 ± 26,42	93,28 ± 145,22	0,78

En los ANEXOS del 20 al 24A se muestran las tablas con los valores de los parámetros farmacocinéticos del producto de prueba y del producto de referencia de C<sub>máx</sub>, AUC, T<sub>máx</sub> y Flu para cada voluntario.

Se presenta además la transformación logarítmica (ln) de los datos individuales de AUC y C<sub>max</sub>. Al final de dichas tablas se muestran las medias aritméticas de los datos crudos y la media geométrica de las transformaciones logarítmicas.

La normalidad de las variables a través de los test de Skewness, Kurtosis y Ómnibus se presenta en los ANEXOS del 25 al 29C y por el test de Ryan-Joiner en los ANEXOS del 30 al 34C.

Los resultados de los estudios de los efectos período y secuencia para las variables C<sub>máx</sub>, AUC<sub>0-t</sub> y AUC<sub>0-∞</sub> se muestran en las TABLAS 7 y 8.

TABLA 7: Cálculo del efecto período.

ARV	Parámetro Farmacocinético	Período I	Período II	T student p<0,05
D4T	C <sub>máx</sub> (ng/mL)	961 ± 376	694 ± 294	0,05
	AUC <sub>0-12</sub> (ng.h/mL)	1572 ± 597	1325 ± 501	0,25
	AUC <sub>0-∞</sub> (ng.h/mL)	1627 ± 681	1491 ± 667	0,60
3TC	C <sub>máx</sub> (ng/mL)	1269 ± 610	1494 ± 751	0,41
	AUC <sub>0-12</sub> (ng.h/mL)	3812 ± 2004	3801 ± 1292	0,99
	AUC <sub>0-∞</sub> (ng.h/mL)	3809 ± 1826	3965 ± 1279	0,80
AZT	C <sub>máx</sub> (µg/mL)	3,44 ± 1,28	3,80 ± 1,44	0,51
	AUC <sub>0-8</sub> (µg.h/mL)	4,51 ± 1,36	4,83 ± 1,34	0,55
	AUC <sub>0-∞</sub> (µg.h/mL)	4,57 ± 1,38	4,93 ± 1,42	0,51
IDV	C <sub>máx</sub> (µg/mL)	10,07 ± 2,94	10,21 ± 2,82	0,90
	AUC <sub>0-12</sub> (µg.h/mL)	20,1 ± 10,2	20,26 ± 8,71	0,96
	AUC <sub>0-∞</sub> (µg.h/mL)	20,4 ± 10,4	20,43 ± 8,78	0,99
NVP	C <sub>máx</sub> (µg/mL)	1,83 ± 0,55	1,99 ± 0,50	0,48
	AUC <sub>0-12</sub> (µg.h/ml)	15,16 ± 5,40	15,27 ± 4,68	0,96
	AUC <sub>0-∞</sub> (µg.h/mL)	62,4 ± 37,9	87 ± 144	0,60

TABLA 8: Cálculo del efecto secuencia (PR/RP).

ARV	Parámetro Farmacocinético	Secuencia PR	Secuencia RP	T student p<0,05
D4T	C <sub>máx</sub> (ng/mL)	997,08±330,02	726,40±95,65	0,19
	AUC <sub>0-12</sub> (ng.h/mL)	1701,57±486,29	1265,46±268,43	0,11
	AUC <sub>0-∞</sub> (ng.h/mL)	1868,30±668,88	1343,48±391,38	0,17
3TC	C <sub>máx</sub> (ng/mL)	1297,98±652,93	1419,68±758,92	0,76
	AUC <sub>0-12</sub> (ng.h/mL)	3293,34±1507,42	4239,25±1698,16	0,31
	AUC <sub>0-∞</sub> (ng.h/mL)	3348,14±1449,07	4277,76±1532,66	0,29
AZT	C <sub>máx</sub> (µg/mL)	3,57±1,11	3,56±1,34	0,99
	AUC <sub>0-8</sub> (µg.h/mL)	4,27±1,38	4,80±1,11	0,47
	AUC <sub>0-∞</sub> (µg.h/mL)	4,60±1,52	4,86±1,11	0,74
IDV	C <sub>máx</sub> (µg/mL)	9,73±2,35	11,24±1,37	0,10
	AUC <sub>0-12</sub> (µg.h/mL)	17,71±6,94	24,45±7,11	0,06
	AUC <sub>0-∞</sub> (µg.h/mL)	18,70±8,62	24,76±7,21	0,10
NVP	C <sub>máx</sub> (µg/mL)	2,11±0,50	1,67±0,45	1,16
	AUC <sub>0-12</sub> (µg.h/ml)	16,40±5,51	13,80±4,05	0,40
	AUC <sub>0-∞</sub> (µg.h/mL)	52,37±30,25	101,04±100,25	0,35

### IV.3 Estudios de bioequivalencia.

En las TABLAS 9 y 9A se resume el análisis de la bioequivalencia utilizando los parámetros farmacocinéticos derivados de la concentración (C<sub>max</sub> y AUC) y del tiempo (T<sub>max</sub>). Los datos se muestran como cocientes (P/R) con sus respectivas transformaciones logarítmicas en el caso de C<sub>max</sub> y AUC y como diferencia absoluta (P-R) en el caso de T<sub>max</sub>. Además se presentan las medias de cada resultado y como medida de dispersión se utiliza el IC 90%.

TABLA 9: Análisis de bioequivalencia de los ARV. [Producto de prueba (P) vs producto de referencia (R)], ámbitos de bioequivalencia para Cmax y AUC.

ARV	Variable	C <sub>max</sub> P/R	LN C <sub>max</sub> P/R	T <sub>max</sub> (P - R) (horas)	AUC <sub>0-12</sub> P/R	LN AUC <sub>0-12</sub> P/R	AUC <sub>0-∞</sub> P/R	LN AUC <sub>0-∞</sub> P/R
Estavudina	X	1,29	0,10	-0,08	1,21	0,08	1,13	-0,02
	DE	0,65	0,64	0,69	0,51	0,54	0,77	0,52
	MG	1,10	-	-	1,08	-	0,98	-
	IC90%	-	0,92 - 0,99	-	-	0,96 - 1,02	-	0,96 - 1,03
	AB <sub>mm</sub>	-	0,80 - 1,25	-	-	0,80 - 1,25	-	0,80 - 1,25
	AB <sub>ma</sub>	-	-	0,23	-	-	-	-
Lamivudina	X	1,13	0,07	0,06	0,93	-0,11	0,93	-0,11
	DE	0,35	0,35	0,59	0,22	0,24	0,23	0,28
	MG	1,07	-	-	0,90	-	0,90	-
	IC90%	-	0,94 - 1,04	-	-	0,97 - 1,06	-	0,97 - 1,05
	AB <sub>mm</sub>	-	0,80 - 1,25	-	-	0,80 - 1,25	-	0,80 - 1,25
	AB <sub>ma</sub>	-	-	0,20	-	-	-	-
Zidovudina	X	1,08	-0,01	-0,10	1,05	0,02	1,03	-0,01
	DE	0,46	0,46	0,53	0,28	0,33	0,25	0,31
	MG	0,99	-	-	1,02	-	0,99	-
	IC90%	-	0,79 - 1,29	-	-	0,86 - 1,16	-	0,87 - 1,16
	AB <sub>mm</sub>	-	0,75 - 1,33	-	-	0,80 - 1,25	-	0,80 - 1,25
	AB <sub>ma</sub>	-	-	0,17	-	-	-	-
Indinavir	X	0,95	-0,09	-0,04	1,00	-0,07	1,02	-0,06
	DE	0,26	0,28	0,22	0,40	0,38	0,41	0,40
	MG	0,91	-	-	0,94	-	0,95	-
	IC90%	-	0,95 - 1,14	-	-	0,90 - 1,16	-	0,90 - 1,16
	AB <sub>mm</sub>	-	0,80 - 1,25	-	-	0,80 - 1,25	-	0,80 - 1,25
	AB <sub>ma</sub>	-	-	0,20	-	-	-	-
Nevirapina	X	1,01	0,00	0,50	1,03	0,02	2,17	0,02
	DE	0,15	0,16	1,45	0,19	0,20	4,12	1,11
	MG	1,00	-	-	1,02	-	1,02	-
	IC90%	-	0,71 - 1,38	-	-	0,92 - 1,10	-	0,86 - 1,17
	AB <sub>mm</sub>	-	0,70 - 1,43	-	-	0,80 - 1,25	-	0,80 - 1,25
	AB <sub>ma</sub>	-	-	0,53	-	-	-	-

TABLA 9A: Análisis de bioequivalencia de los ARV. Ámbitos de bioequivalencia para Tmax.

ARV	Media de Tmax del producto (P) (horas)	Ámbito de bioequivalencia (horas)
D4T	0,98	0,90 – 1,36 (1,13 ± 0,23)
3TC	1,06	0,80 – 1,20 (1,0 ± 0,20)
AZT	0,75	0,68 – 1,02 (0,85 ± 0,17)
IDV	0,96	0,80 – 1,20 (1,0 ± 0,20)
NVP	3,14	2,11 – 3,17 (2,64 ± 0,53)

Los resultados muestran que la media del **Tmax** del producto de prueba (0,98; 1,06; 0,75, 0,96 y 3,14 horas) se encuentra dentro del ámbito de bioequivalencia 0,90 a 1,36 (1,13±0,23) horas; de 0,80 a 1,20 (1,0±0,20) horas; 0,68 a 1,02 (0,85±0,17) horas; de 0,80 a 1,20 (1,0±0,20) horas y de 2,11 a 3,17 (2,64 ±0,53) horas para d4T, 3TC, AZT, IDV y NVP respectivamente. La media geométrica del cociente P/R para **Cmax** (1,10; 1,07; 0,99; 0,91 y 1,00) también se encuentra dentro del ámbito de bioequivalencia para dichos parámetros (0,80 – 1,25) respectivamente.

E igualmente las medias geométricas de los cocientes individuales P/R de **AUC<sub>0-t</sub>** (1,08; 0,90; 1,02; 0,94 y 1,02) y **AUC<sub>0-∞</sub>** (0,98; 0,90; 0,99; 0,95 y 1,02) de estavudina, lamivudina, zidovudina, indinavir y nevirapina se encuentran dentro del ámbito de bioequivalencia (0,80 – 1,25).

Además se observan los IC 90% de los logaritmos naturales de los cocientes individuales de Cmax, AUC<sub>0-t</sub> y AUC<sub>0-∞</sub> respectivamente; ln Cmax P/R (0,92 – 0,99; 0,94 – 1,04; 0,79 – 1,29; 0,95 – 1,14 y 0,71 – 1,38); ln AUC<sub>0-t</sub> P/R (0,96 – 1,02; 0,97 – 1,06; 0,86 – 1,16; 0,90 – 1,16 y 0,92 – 1,10) y el ln AUC<sub>0-∞</sub> P/R (0,96 – 1,03; 0,97 – 1,05; 0,87 – 1,16; 0,90 – 1,16 y

0,86 – 1,17). Los datos anteriores desglosados por pacientes en cada ARV estudiado se observan en los ANEXOS del 35 al 39. En la TABLA 10 se presentan los valores de la Bioequivalencia puntual (Bp) para todos los parámetros.

También se presentan las curvas lineales de las medias en cada punto de la concentración en plasma *vs* tiempo de los genéricos cubanos estudiados comparados con los líderes internacionales (ANEXOS 40-44).

TABLA 10: Bioequivalencia puntual para los ARV estudiados.

<b>ARV</b>	<b>Parámetro farmacocinético</b>	<b>Bioequivalencia puntual (%)</b>
<b>3TC</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub></b>	90,60
	<b>AUC<sub>0-∞</sub></b>	92,10
	<b>C<sub>máx</sub></b>	107,3
	<b>T<sub>máx</sub></b>	106,0
	<b>Flu</b>	103,2
<b>AZT</b>	<b>AUC<sub>0-8</sub></b>	101,7
	<b>AUC<sub>0-∞</sub></b>	100,8
	<b>C<sub>máx</sub></b>	94,1
	<b>T<sub>máx</sub></b>	88,2
	<b>Flu</b>	100,0
<b>D4T</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub></b>	107,0
	<b>AUC<sub>0-∞</sub></b>	97,6
	<b>C<sub>máx</sub></b>	114,3
	<b>T<sub>máx</sub></b>	86,7
	<b>Flu</b>	99,0
<b>IDV</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub></b>	89,5
	<b>AUC<sub>0-∞</sub></b>	89,4
	<b>C<sub>máx</sub></b>	92,1
	<b>T<sub>máx</sub></b>	96,0
	<b>Flu</b>	100,0
<b>NVP</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub></b>	103,1
	<b>AUC<sub>0-∞</sub></b>	167,4
	<b>C<sub>máx</sub></b>	99,0
	<b>T<sub>máx</sub></b>	118,9

## CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

### V.1. Revalidación de métodos analíticos para la determinación de AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP por HPLC.

En relación a los ensayos de especificidad no hubo cambios significativos en las concentraciones de los ARV por los cambios de temperatura. De igual manera los patrones de calidad almacenados a  $-25^{\circ}\text{C}$  durante 2 meses permanecieron estables, con porcentajes de recuperación semejantes a los obtenidos en los métodos validados durante los ciclos de congelación/descongelación. En los cromatogramas se observó como no hubo interferencias con el plasma a los  $t_R$  en que eluyeron los ARV estudiados, o sea una respuesta para cada ARV cuantificable y distinguible de posibles interferencias que pudieran estar presentes en la muestra, esto nos autoriza a deducir que, en todos los casos, el método seleccionado es específico para la determinación del analito en presencia de los componentes endógenos del plasma y resultantes del tratamiento.

Los resultados del ensayo de linealidad para los cinco métodos analíticos desarrollados mostraron una buena correlación entre el área y la concentración dentro del rango estudiado. Esto está dado por los valores de los coeficientes de correlación ( $r$ ) y determinación ( $r^2$ ) que

fueron mayor a 0,990 y 0,980 respectivamente (FAO, 2005; CPFEUM, 1991; CPFEUM, 2008) para todos los ARV, menos en el caso de la NVP. No obstante, el resultado para la NVP es válido pues es aceptado hasta un  $r \geq 0.95$  (CDER, 2001). El resultado del test de regresión corrobora la linealidad del sistema instrumental. Estos resultados permiten concluir que los métodos analíticos son lineales en el rango de concentraciones estudiadas por lo que se pueden emplear para la cuantificación de estos ARV en plasma.

En otros estudios reportados en la literatura los autores utilizan valores de concentraciones dentro de un rango similar al nuestro (0,05-5 $\mu$ g/mL y 0,15-10 $\mu$ g/mL para AZT y NVP respectivamente) con valores de  $r^2=0,999$  para ambos ARV (Marchei E, 2002; Van Heeswijk RPG y cols, 1998). En otro estudio similar con el 3TC, con 7 valores de concentración entre 20-2000ng/mL se mostraron valores de  $r > 0,99$  (Zhou XJ, 1997). Fernández C y cols en el 2002 validó un método analítico para determinación de IDV donde utilizó valores de concentración dentro del rango (0,2-10 $\mu$ g/mL) con un valor de  $r=0,993$ . En otro estudio con d4T, Burguer DM y cols, 1992 utilizan valores de concentración dentro del rango 10-1000ng/mL con un valor de  $r=0,994$ . Gran variedad de estudios realizados muestran valores de  $r$  y  $r^2$  por encima de 0,9990 (Poirier JM y cols, 1999; Takahashi M y cols, 2005; Jayewardene AL y cols, 1998; Mistri HN y cols, 2007).

En relación a la **precisión**, los CV tanto para el estudio de repetibilidad como para el de precisión intermedia se mantuvieron como media, en

todos los casos, por debajo del 15%, cumpliendo con lo establecido por las Agencias reguladoras. Respecto a la **exactitud**, el ER estuvo siempre entre -10 y 10%. Ambos resultados reflejan una baja dispersión de los datos y un resultado experimental cercano al valor real, como se plantea en la literatura (Marchei E y cols, 2002; CDER, 2001).

Esto coincide con lo reportado por Burguer DM y cols, 1992 con valores de CV entre 0,7-2,9%; Fan B y col, 2002 con CV entre 0,4-13,8% y ER entre 0,1-10,7%; Verweij-van Wissen CPWGM y cols, 2005 con CV entre 0,2-2,4%; Laurito TL y cols, 2002 con CV entre 1,3-10,1% y ER entre 2,7-10,6%; Dailly E y cols, 2004 con CV entre 0,22-5,50%; Marchei E y cols, 2002 con CV entre 1,03-12,8% y ER entre 0,01-8,1%; Zhou XJ y col, 1997 con CV entre 3-12,9% y ER entre -4-+5,4%; Fernández C y cols, 2002 con CV entre 0,3-9,1% y ER <15%; Harker AJ y cols, 1994 con CV entre 3,9-17,4% y ER entre -3.8-+19%; Poirier JM y cols, 1999 con CV entre 3,4-10,5%; Jayewardene y cols, 1998 con CV entre 4,2-11,5%; Takahashi M y cols, 2005 con CV entre 0,4-8,4%.

Los **límites de cuantificación**, calculados en cada caso coincidieron con el valor de concentración inferior del rango de concentraciones que se trabajaron para cada medicamento (Marchei E y cols, 2002) y coinciden con algunos de los casos reportados en la literatura. El CV de los mismos siempre estuvo por debajo del 20%, cumpliendo con lo estipulado (Massaroti P y cols, 2005). Los **límites de detección**, se determinaron,

encontrándose estos entre 1/2 y 1/3 del valor del LC en cada caso según lo que está establecido (FAO, 2005).

Algunos de nuestros valores de límites de cuantificación y detección coinciden o están cercanos a lo reportado en la literatura, pero estos dependen del método y del rango de concentraciones de trabajo. O sea para altos rangos de concentraciones no es de mucho interés buscar el límite óptimo de cuantificación y detección ya que el método estaría validado para esos altos valores de concentración y no sería objetivo del mismo llegar a valores tan bajos. A continuación referimos algunos valores reportados en la literatura:

	<b>AZT</b>	<b>3TC</b>	<b>D4T</b>	<b>IDV</b>	<b>NVP</b>
<b>LC</b>	57,6ng/mL <sup>(1)</sup> ; 15µg/mL <sup>(2)</sup> ; 50ng/mL <sup>(5)</sup>	59,0ng/mL <sup>(1)</sup> ; 15µg/mL <sup>(2)</sup> ; 20ng/mL <sup>(6)</sup> ; 10ng/mL <sup>(8)</sup>	15µg/mL <sup>(2)</sup> ;	0,1µg/mL <sup>(4)</sup> ; 0,1µg/mL <sup>(7)</sup> ; 10ng/mL <sup>(9)</sup>	53,2ng/mL <sup>(1)</sup> ; 10ng/mL <sup>(3)</sup> ; 0,4µg/mL <sup>(4)</sup> ; 0,15µg/mL <sup>(5)</sup>
<b>LD</b>	28,8ng/mL <sup>(1)</sup> ; 25ng/mL <sup>(5)</sup>	14,8ng/mL <sup>(1)</sup> ; 15ng/mL <sup>(6)</sup>	-	0,05µg/mL <sup>(7)</sup>	13,3ng/mL <sup>(1)</sup> ; 50ng/mL <sup>(5)</sup>
<b>Referencias:</b> <sup>1</sup> (Fan B y cols, 2002); <sup>2</sup> (Verweij-van Wissen CPWGM, 2005); <sup>3</sup> (Laurito TL y cols, 2002); <sup>4</sup> (Dailly E y cols, 2004); <sup>5</sup> (Marchei E y cols, 2002); <sup>6</sup> (Zhou XJ y cols, 1997); <sup>7</sup> (Fernández C y cols, 2002); <sup>8</sup> (Harker AJ y cols, 1994); <sup>9</sup> (Jayewardene AL y cols, 1998).					

El **Recobrado** medio en los 5 casos estuvo por encima del 89%. Estando cercanos o superiores a lo reportado en la literatura: 91% (81,5%, Moyer TP y cols, 1999); 95,9% (89.9%, Zhou XJ y col, 1997 y 89,6%, Moyer TP y cols, 1999); 90% (90.4%, Moyer TP y cols, 1999); 89,3% (85,8%, Takahashi M y cols, 2005 y 79,1%, Moyer TP y cols, 1999) y 89,3% (62,3%, Moyer TP y cols, 1999) para d4T, 3TC, AZT, IDV y NVP respectivamente.

Los resultados obtenidos en los ensayos de validación confirmaron que los métodos analíticos desarrollados fueron convenientemente validados y pueden utilizarse para la determinación de una manera fiable y reproducible de concentraciones plasmáticas, que se incluyan dentro de los rangos seleccionados de AZT, 3TC, d4T, IDV y NVP.

## **V.2 Variables farmacocinéticas.**

Los valores de las variables farmacocinéticas del producto de prueba (genérico) y del producto de referencia (líder internacional) no muestran diferencias significativas para un nivel de significación de 0,05.

Todas las variables tuvieron una distribución normal excepto la Tmax para el producto de referencia en el caso del AZT, pero como esta es una variable discontinua, pues solo se extraen muestras a unos determinados tiempos y se emplean métodos no paramétricos para su análisis no es trascendental este resultado (Lacey LF y cols, 1997).

Estudios similares han sido realizados por otros autores obteniendo los siguientes valores de los parámetros farmacocinéticos C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub> y AUC<sub>0-t</sub>:

	<b>AZT</b>	<b>3TC</b>	<b>D4T</b>	<b>IDV</b>	<b>NVP</b>
<b>C<sub>máx</sub></b> <b>(µg/mL)</b>	-	1,725±0,61 <sup>(2)</sup> ; 1,3±0,88 <sup>(4)</sup> ; 0,514±0,139 <sup>(5)</sup>	0,75±0,25 <sup>(4)</sup> ; 0,395±0,107 <sup>(5)</sup> ; 0,60±0,16 <sup>(8)</sup>	15,66±4,24 <sup>(1)</sup> ; 9,85 <sup>(7)</sup>	3,1±1,53 <sup>(3)</sup> ; 8,8±3,4 <sup>(4)</sup> ; 1,185±0,238 <sup>(5)</sup> ; 1,80±0,36 <sup>(6)</sup>
<b>T<sub>max</sub></b> <b>(h)</b>	-	0,88 <sup>(2)</sup> ; 1,85±0,6 <sup>(4)</sup> ; 0,50 <sup>(5)</sup>	1,05±0,85 <sup>(4)</sup> ; 0,43±0,11 <sup>(5)</sup> ; 0,75 <sup>(8)</sup>	0,61±0,22 <sup>(1)</sup> ; 0,8 <sup>(7)</sup>	2,7 <sup>(3)</sup> ; 2,9±2,15 <sup>(4)</sup> ; 1,2 <sup>(5)</sup> ; 4,62±3,12 <sup>(6)</sup>
<b>AUC<sub>0-t</sub></b> <b>(µgh/mL)</b>	-	4,575±0,20 <sup>(2)</sup> ; 6,4±3,2 <sup>(4)</sup> ; 2,227±0,666 <sup>(5)</sup>	1,95±0,55 <sup>(4)</sup> ; 0,631±0,142 <sup>(5)</sup> ; 1,25±0,23 <sup>(8)</sup>	34,25±8,95 <sup>(1)</sup> ; 17,94 <sup>(7)</sup>	53,9±21,38 <sup>(3)</sup> ; 61,8±24 <sup>(4)</sup> ; 71,28±17,44 <sup>(5)</sup> ; 148,85±30,33 <sup>(6)</sup>
<b>Referencias:</b> <sup>1</sup> (Sheng-Tu JZ y cols, 2006); <sup>2</sup> (Johnson MA y cols, 1999); <sup>3</sup> (Regazzi y cols, 2003); <sup>4</sup> (Hosseinipour MC y cols, 2007); <sup>5</sup> (Monif T y cols, 2007); <sup>6</sup> (Narang VS y cols, 2005); <sup>7</sup> (Yeh KC y cols, 1998); <sup>8</sup> (Rana KZ y col, 1997).					

Los valores de este estudio difieren de lo expresado en la literatura lo cual puede estar dado por las características de la población de pacientes VIH utilizada y la variabilidad entre sujetos que puede existir. Por esto es que se trata de homogenizar estos parámetros y se le da ambas formulaciones al mismo paciente de manera cruzada para minimizar la variabilidad interindividuo (Jones B y cols, 2003).

De formas diferentes, cada uno de los parámetros farmacocinéticos determinados indica el grado de exposición al fármaco, ya sea en un momento particular ( $C_{max}$ ) o bien a lo largo de un período completo (AUC) (Martínez J, 2003).

La fracción  $AUC_{0-t} / AUC_{0-\infty}$  se calculó a efecto de controlar la calidad del parámetro extrapolado siendo esta  $>80\%$  para el AZT, 3TC, d4T e IDV por lo que podemos decir que el AUC es homogéneamente proporcional a la cantidad de fármaco en el organismo (Frías J y cols, 2001).

En el caso de la nevirapina, por poseer esta un tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) de aproximadamente entre 30-49 horas y un tiempo de eliminación mayor de 280 horas, se tomó solamente un rango de 0-12 horas para establecer el esquema cinético de determinación de concentraciones tanto para el medicamento de prueba como el de referencia (Martínez J, 2003). Este rango se estableció ya que una extensión del mismo es muy difícil de igualar en los pacientes voluntarios empleados. Esta decisión es factible ya que el  $T_{max}$  reportado en la literatura oscila entre 2-5 horas (Van Heeswijk RPG y cols, 2000; Lambda, 2001; Veldkamp AI y cols, 2001; Laurito TL y

cols, 2002; Penzak S, 2003) y la  $C_{max}$  que se alcanza en ese período de tiempo, muestra muy pequeñas variaciones, pudiéndose establecer la velocidad de absorción. Además en un estudio realizado para validar una estrategia limitada de muestreo a 12h el autor concluye que este tiempo es aceptado para determinar un  $AUC_{0-t}$  que represente la biodisponibilidad de la NVP a una dosis de 200mg (Veldkamp AI y cols, 2001). El parámetro de Flu no se determinó, ya que no se tenía un valor adecuado de  $C_{min}$ . Igualmente no se determinó el  $AUC_{0-\infty}$  ni se calculó el cociente  $AUC_{0-t}/AUC_{0-\infty}$  por la misma razón expuesta anteriormente.

En el estudio del efecto período de las variables analizadas ( $C_{máx}$ ,  $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{0-\infty}$ ) no se encontraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre ambos períodos para ninguno de los ARV estudiados. De esto podemos concluir que no hubo influencia de dos ingresos diferentes con períodos de lavado entre uno y otro que oscilaron entre 7-15 días, sobre los valores de estas variables.

En el estudio del efecto secuencia PR/RP de las variables analizadas ( $C_{máx}$ ,  $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{0-\infty}$ ) no se encontraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre ambas secuencias para ninguno de los ARV estudiados. De esto se puede inferir que no hubo influencia alguna sobre los valores de las variables farmacocinéticas a partir de la secuencia de administración de las formulaciones de cada uno de los ARV.

### **V.3 Estudios de bioequivalencia.**

Los datos presentados en las tablas del análisis de bioequivalencia de los genéricos d4T, 3TC, AZT, IDV y NVP producidos en Cuba por los LABORATORIOS DE NOVATEC mostraron que los productos de prueba son bioequivalentes con sus líderes internacionales en cuanto a la *velocidad y magnitud de la absorción*. Esto se constata observando que tanto la media de **Tmax** del producto de prueba como la media geométrica de los cocientes individuales P/R para **Cmáx**, **AUC<sub>0-t</sub>** y **AUC<sub>0-∞</sub>** se encuentran dentro de los ámbitos de bioequivalencia establecidos para todos los casos. También a través de las curvas lineales de las medias en cada punto de la concentración en plasma versus tiempo para ambos productos (R y P) de los 5 ARV estudiados que tienen buena similitud, lo que demuestra que los genéricos nacionales y sus líderes internacionales una vez que el fármaco está en circulación sistémica tienen el mismo efecto terapéutico a la misma concentración.

Además los IC 90% de los logaritmos naturales de los cocientes individuales de Cmax, AUC<sub>0-t</sub> y AUC<sub>0-∞</sub> del d4T, 3TC, AZT, IDV y NVP quedan incluidos en el ámbito de bioequivalencia (80-125%); excepto en el caso de ln Cmax para AZT y NVP cuyo ámbito de bioequivalencia fue 70-143%, cumpliendo estos con las normas establecidas por las agencias reguladoras (EMEA, 2001; CECMED, 2007 y FDA, 2001).

Estudios realizados para la NVP (Narang VS y cols, 2005; Laurito TL y cols, 2002) demostraron que ambas formulaciones (Prueba y Referencia) eran

bioequivalentes por encontrarse el cociente P/R para  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{0-\infty}$  y la diferencia P-R para  $T_{max}$  dentro del ámbito de bioequivalencia aprobado por las Agencias Reguladoras (EMEA, 2001; CECMED, 2007 y FDA, 2001). De igual manera se comporta en el estudio realizado con Hosseinipour MC y cols, 2007 aunque no se analizó el parámetro  $AUC_{0-\infty}$ ; mientras que para Byakika-Tusiirne J y cols, 2008 ambas formulaciones no resultaron bioequivalentes.

Para el 3TC en el estudio realizado por Narang VS y cols, 2005 ambas formulaciones resultaron bioequivalentes para todos los parámetros. En el trabajo publicado por Monif T y cols, 2009 resultaron ambas formulaciones bioequivalentes para los parámetros ( $C_{m\acute{a}x}$ ,  $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{0-\infty}$ ), no determinándose el parámetro  $T_{max}$ . En otros estudios reportados (Hosseinipour MC y cols, 2007; Joshi A y cols, 2010; y Byakika-Tusiirne J y cols, 2008) las formulaciones de prueba y referencia no resultaron bioequivalentes, por no encontrarse todos sus parámetros analizados dentro de los ámbitos de bioequivalencia.

Para el d4T solo en el estudio de Narang VS y cols, 2005 ambas formulaciones resultaron bioequivalentes. En los trabajos publicados por Monif T y cols, 2007 y 2009 resultaron ambas formulaciones bioequivalentes para los parámetros ( $C_{m\acute{a}x}$ ,  $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{0-\infty}$ ), no determinándose el parámetro  $T_{max}$ . En el resto de los estudios reportados no se encontraron las formulaciones analizadas como bioequivalentes (Byakika-Tusiirne J y cols, 2008; Hosseinipour MC y cols, 2007).

Para Dos Reis Serra CH y cols, 2008 ambos formulaciones de AZT analizadas resultaron bioequivalentes aunque no se determinó el parámetro Tmax; no comportándose así para Joshi A y cols, 2010.

	AZT	3TC	D4T	IDV	NVP
<b>C<sub>máxP/R</sub> (IC90%)</b>	(0,80-1,14) <sup>5</sup> / (0,63-0,96) <sup>6</sup>	1,15 (1,03-1,28) <sup>1</sup> / 1,1 (0,8-1,6) <sup>2</sup> / (0,74-1,13) <sup>6</sup> / (0,63-0,98) <sup>7</sup>	0,99 (0,91-1,08) <sup>1</sup> / 1,4 (1,2-1,7) <sup>2</sup> / (0,99-1,71) <sup>7</sup> / 1,00 (0,94-1,06) <sup>8</sup>	(0,80-1,25) <sup>4</sup>	1,01 (0,95-1,07) <sup>1</sup> / 0,9 (0,7-1,2) <sup>2</sup> / 1,03 (0,95-1,12) <sup>3</sup> / (0,95-1,23) <sup>7</sup>
<b>T<sub>max</sub> (IC90%)</b>	-	1,0 (0,5-5,0) <sup>1</sup> / 0,5 (0,3-0,7) <sup>2</sup>	0,75 (0,5-0,75) <sup>1</sup> / 0,7 (0,4-1,1) <sup>2</sup>	-	2,5 (1,25-24,00) <sup>1</sup> / 0,7 (0,5-1,0) <sup>2</sup> / 1,2 (-0,6-3,0) <sup>3</sup>
<b>AUC<sub>0-tP/R</sub> (IC90%)</b>	(0,94-1,10) <sup>5</sup> / (0,68-1,15) <sup>6</sup>	1,05 (0,97-1,14) <sup>1</sup> / 1,0 (0,7-1,3) <sup>2</sup> / (0,69-1,06) <sup>6</sup> / (0,65-0,99) <sup>7</sup>	0,97 (0,92-1,01) <sup>1</sup> / 1,1 (1,0-1,2) <sup>2</sup> / (0,87-1,38) <sup>7</sup> / 1,00 (0,98-1,01) <sup>8</sup>	(0,80-1,25) <sup>4</sup>	0,98 (0,95-1,02) <sup>1</sup> / 0,9 (0,7-1,1) <sup>2</sup> / 1,00 (0,96-1,05) <sup>3</sup> / (0,95-1,31) <sup>7</sup>
<b>AUC<sub>0-∞P/R</sub> (IC90%)</b>	(0,94-1,10) <sup>5</sup> / (0,80-1,20) <sup>6</sup>	1,04 (0,96-1,13) <sup>1</sup> / (0,64-1,06) <sup>6</sup>	0,97 (0,93-1,01) <sup>1</sup> / 0,99 (0,98-1,01) <sup>8</sup>	(0,80-1,25) <sup>4</sup>	0,97 (0,94-1,01) <sup>1</sup> / 0,98 (0,91-1,05) <sup>3</sup>
<b>Referencias:</b> <sup>1</sup> (Narang VS y cols, 2005); <sup>2</sup> (Hosseinipour MC y cols, 2007); <sup>3</sup> (Laurito TL y cols, 2002); <sup>4</sup> (Gonçalves TM y cols, 2007); <sup>5</sup> (Dos Reis Serra CH y cols, 2008); <sup>6</sup> (Joshi A y cols, 2010); <sup>7</sup> (Byakika-Tusiirne J y cols, 2008); <sup>8</sup> (Monif T y cols, 2007).					

Para el IDV en el estudio realizado por Gonçalves TM y cols, 2007 ambas formulaciones resultaron bioequivalentes aunque no se determinó el parámetro Tmax.

Los métodos paramétricos estándar son poco apropiados para sacar inferencias acerca del cociente de dos promedios. La transformación logarítmica posibilita hacer inferencias acerca de la diferencia de dos promedios, para lo cual los métodos estándar son más apropiados (CDER, 1997). Los datos de concentración plasmática, incluyendo los parámetros AUC y Cmax, tienden a estar sesgados, y sus varianzas tienden a aumentar con los promedios. La transformación logarítmica corrige esta situación y hace que las varianzas sean independientes del promedio. Además, las distribuciones de frecuencia sesgadas a la izquierda (con una cola larga hacia la derecha) con frecuencia se vuelven más simétricas con la transformación logarítmica (CDER, 1997).

Luego de realizada la transformación logarítmica, se calculan los límites de confianza superior e inferior, considerando un 90% como nivel de confianza del cociente Prueba/Referencia de medias geométricas para Cmax y para AUC (Patterson SD y cols, 2001). En general, el criterio tomado en cuenta a fin de establecer bioequivalencia entre dos formulaciones está restringido a Cmax y a AUC, mientras que, la evaluación estadística de Tmax, sólo se toma en cuenta si se considera clínicamente relevante o si la formulación se rotula de liberación rápida o

por signos relacionados con efectos adversos. De todas formas, la estadística aplicada a  $T_{max}$  no es idéntica a la de AUC y  $C_{max}$  y cada agencia establece particularidades. El ancho del Intervalo de Confianza calculado en cada ensayo dependerá del número de sujetos y de la magnitud de la varianza residual. Este criterio general es el más moderno y está básicamente armonizado dentro de las agencias regulatorias de los países de alta vigilancia sanitaria. Williams y cols, 2002 comentan que el campo de la bioequivalencia ha sido, de alguna manera, único en especificar límites (80-125%) aplicables a todos los productos y observan que, si bien es una forma de simplificar estandarizando el criterio, no hace distinción entre productos con muy diversas características. El límite 80-125% ha sido revisado y modificado de distintas formas por diferentes agencias de países de alta vigilancia sanitaria incluidas la European CPMP, la US FDA, la Canadian HPB y el CECMED de Cuba.

Existen lineamientos vigentes recomendados por diferentes agencias sanitarias que flexibilizan los límites 80-125%. Estas diferencias tienen que ver con distintos grados de flexibilidad (Giarcovich SS y col, 2004):

- ESTADOS UNIDOS establece básicamente en la USP el criterio más estricto (80-125% para los límites de confianza del cociente de medias geométricas de Prueba/Referencia, tanto para  $C_{max}$  como para  $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{0-\infty}$ ).
- CANADÁ, si bien considera idéntico criterio que EEUU para AUC (aunque solo exige que  $AUC_{0-t}$  lo cumpla, no  $AUC_{0-\infty}$ ), reconoce que

C<sub>max</sub> es un parámetro de mayor variabilidad y el límite 80-125% lo aplica, en el caso de este parámetro, directamente al cociente de medias geométricas, Test/Referencia (o sea, no calcula los límites de confianza para C<sub>max</sub>). Asimismo, permite la corrección de los cocientes y sus límites de confianza, según el título del lote de las formulaciones empleadas y autoriza la realización de estudios secuenciales.

- JAPÓN, de ser necesario, se independiza de la variabilidad de los parámetros C<sub>max</sub> y AUC, estrechando el rango a 90-110%; pero aplicándolo solo a los cocientes de medias geométricas (no exige la inclusión de los límites de confianza dentro del intervalo). Asimismo, considera la posibilidad de estudios secuenciales.
- Tanto la OMS como la UNION EUROPEA dejan abierta la posibilidad de flexibilización del rango 80-125% para el Intervalo de Confianza de ambos parámetros, atendiendo justificaciones prospectivas en casos especiales y reconociendo particularmente la mayor variabilidad de C<sub>max</sub>.
- Dentro de Latinoamérica, ARGENTINA y BRASIL reconocen la mayor variabilidad de C<sub>max</sub>; pero BRASIL es el único que exige la adopción de un intervalo de confianza al 95% para las drogas de estrecho rango terapéutico.
- SUDÁFRICA establece un intervalo de 75-133% para C<sub>max</sub> (80-125% para drogas de estrecho rango terapéutico) y para drogas de

alta variabilidad, acepta un intervalo más amplio siempre que haya sido establecido y justificado inicialmente en el protocolo.

- CUBA establece según la Regulación 18-07 que para el Cociente AUC el intervalo de confianza del 90% de este parámetro, deberá estar dentro de un intervalo de bioequivalencia de 80-125%. En caso de fármacos con estrecho margen terapéutico, será necesario estrechar dicho rango. En otro caso podría darse por válido un intervalo de aceptación mayor, siempre que sea aceptable desde el punto de vista clínico. En el caso del cociente C<sub>max</sub> este parámetro es más variable que el cociente AUC y puede ser necesario un intervalo de aceptación más amplio, por ejemplo 75-133%. Generalmente, se considera el intervalo de 80-125%. Se justificará el intervalo empleado, teniendo en cuenta la seguridad y eficacia de la formulación evaluada.

En este punto, es interesante comentar un trabajo de Hauck WW y cols, 2001 en el que estos autores estudiaron a cuánto podría llegar un cociente Test/Referencia, considerando límites de 70-143% para C<sub>max</sub> y de 80-125% para AUC. En realidad, unas Guías de la FDA, 1997, en versión borrador (*Draft*), emitido para el caso de estudios de efecto de comida en biodisponibilidad y bioequivalencia ya había incluido un límite de 70-143% para C<sub>max</sub>; sin embargo, los autores de la Guía manifestaron que las implicaciones de la ampliación de los rangos, aún no había sido completamente analizada. Los autores hallaron mediante simulaciones

que, diferencias hasta 28% entre las medias de C<sub>max</sub> de dos formulaciones podían ocurrir, si se ampliaban los límites de bioequivalencia hasta 70-143% para C<sub>max</sub>. Como es de esperar, concluyeron que estas mayores diferencias en C<sub>max</sub> serían clínicamente indeseables para drogas de estrecha ventana terapéutica, que no es nuestro caso. Sin embargo, a nivel internacional, la ampliación de rangos nunca se propuso para drogas críticas sino para casos de elevada variabilidad. Habitualmente las drogas de estrecha ventana terapéutica exhiben pequeña variabilidad intrasujeto. Si esto no fuese cierto, los pacientes mostrarían ciclos de toxicidad y falta de eficacia (Bellibas SE, 2001; Steinijans VW y cols, 1992; Haidar SH, y cols, 2008). Generalmente, una droga de estrecha ventana terapéutica y alta variabilidad, no supera las fases II y III de estudios clínicos, lo cual no se cumple en los ARV estudiados.

Por todo esto y al ver la similitud de las curvas lineales de las medias en cada punto de la concentración en plasma *vs* tiempo de ambos productos para cada ARV podemos concluir que son biosimilares e intercambiables entre si.

## **CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES**

- Los 5 métodos analíticos revalidados resultaron ser lineales, sencillos, precisos y de fácil reproducibilidad dentro de los rangos de concentraciones estudiados.
- Las variables farmacocinéticas  $AUC_{0-t}$ ,  $AUC_{0-\infty}$ ,  $T_{max}$ ,  $C_{max}$  y  $Flu$  de los genéricos nacionales son similares a la de los líderes internacionales para los 5 ARV estudiados.
- Se demostró que la formulación de prueba (P) y la de referencia (R), de cada uno de los ARV estudiados, son bioequivalentes cuando la misma dosis es administrada bajo las mismas condiciones experimentales establecidas en este estudio.

## **CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES**

- Que las técnicas analíticas validadas sean utilizadas en la determinación de los perfiles farmacocinéticos de los genéricos 3TC, IDV y NVP.
  
- Que las técnicas analíticas validadas sean utilizadas en los estudios de monitoreo de estos ARV en pacientes VIH/sida.
  
- Validar nuevas técnicas analíticas para la determinación en fluidos biológicos de otros genéricos ARV cubanos y con esto realizar los correspondientes estudios de bioequivalencia de los mismos.

## **CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

- Abad F, Martínez E, Gálvez MA. Estudios de bioequivalencia: Análisis y aspectos metodológicos. En: García AG, Gandía L, editores. El ensayo clínico en España. Madrid: Eurocolor: Farmaindustria; 2001.
- AEFI (Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria). Validación de métodos analíticos. Sección Catalana de AEFI. La Bisbal (Girona): AEFI; 2001.
- AEMPS [Internet]. Nota informativa sobre medicamentos genéricos. 29 de septiembre del 2006 [Citado el 4 de enero del 2010]. Disponible en: <http://www.agemed.es/actividad/documentos/infoInteres/docs/notaGenericos-sept06.pdf>.
- Akshaya SB, Chandra BS, Narayan YH, Kumar JS. Incidence of adverse drug reactions in human immune deficiency virus-positive

patients using highly active antiretroviral therapy. *J Adv Pharm Technol Res.* 2012; 3(1):62-67.

- Bartlett JG, Gallant JE. Medical management of HIV infection. Ed. Johns Hopkins Medicine Health. Publishing Business Group, Baltimore, Maryland, USA. 2005-2006.
- Beach JW. Chemotherapeutic agents for human immunodeficiency virus infection: Mechanism of action, pharmacokinetics, metabolism, and adverse reactions. *Clin Ther* 1998; 20(1):2-25.
- Bellibas SE. A new bioequivalence (BE) assessment method for drugs with well defined therapeutic window. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69(2):36.
- Benet LZ. Pharmacokinetics: The dynamics of drug absorption, distribution, metabolism, and elimination. Introduction. En: Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC, editores. Goodman & Gilman´s. The pharmacological basis of therapeutics. 12<sup>TH</sup> Ed. San Diego, California, EE.UU. Mc Graw-Hill Companies Inc, 2010.

- Benet LZ. Understanding bioequivalence testing. *Transplant Proc* 1999; 31(3A Suppl):7-9.
- Burger DM, Rosing H, van Gijn R, Meenhorst PL, van Tellingen O, Beijnen JH. Determination of stavudine, a new antiretroviral agent in human plasma by reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr* 1992; 584:239-47.
- Byakika-Kibwika P, Larnorde M, Kalerneera F, D'Avolio A, Mauro S, Di Perri G y cols. Steady-state pharmacokinetics comparison of generic and branded formulations of stavudine, lamivudine and nevirapine in HIV-infected Ugandan adults. *J Antimicrob Chemoth* 2008; 62(5):1113-7.
- Byakika-Tusiirne J, Chinn LW, Oyugi JH, Obua C, Bangsberg DR, Kroetz DL. Steady state bioequivalence of generic and innovator formulations of stavudine, lamivudine and nevirapine in HIV-infected Ugandan adults. *PLoS One* 2008; 3(12):1981.
- Cabana BE. Assessment of 75/75 Rule: FDA Viewpoint. *J Pharm Sci* 1983; 72(1):98-99.

- Calpena AC, Escribano E, Fernández C. Validación de los métodos analíticos. *Farm Clin* 1991; 7(9):749-58.
- Canadá, Therapeutic Products Directorate, Discussion Paper: Bioequivalence Requirements: Highly Variable Drugs and Highly Variable Drug Products: Issues and Options, 2003.
- CDER (Center for Drug Evaluation and Research). Guidance for Industry: Bioanalytical methods validation. U.S. Department of Health and Human Services, FDA. 5600 Fishers Lane, Rockville, USA; 2001.
- CDER (Centro de Evaluación e Investigación de Fármacos). Guía para la Industria: Procedimientos estadísticos para estudios de bioequivalencia usando un diseño estándar cruzado de dos tratamientos. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos de Norte América, Administración de Alimentos y Fármacos. 5600 Fishers Lane, Rockville, USA; 1997.
- CECMED (Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos). Requerimientos para estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia. Regulación No. 18-07, 2007; Cuba.

- Chachad SS, Lulla A, Malhotra G, Purandare S. Bioequivalence evaluation of a fixed dose combination lamivudine/stavudine tablet with concurrent administration of lamivudine tablet and stavudine capsule in healthy volunteers. *Arzneimittel-Forsch* 2009; 59(10):537-40.
- CPFEUM (Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos). Validación de los métodos analíticos 1991; 1-73.
- CPFEUM (Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos). Validación de los métodos analíticos 2008; 9<sup>a</sup> Ed.
- Craig C, Rose J, Haywood J. Protein binding: Effect on antiviral efficacy. 3<sup>rd</sup> Eur Sym Clin Implications HIV Drug Resistance (23-25 febrero, Frankfurt) 2001; Abst 42.
- Dailly E, Thomas L, Kergueris MF, Jolliet P, Bourin M. High-performance liquid chromatographic assay to determine the plasma levels of HIV-protease inhibitors (amprenavir, indinavir, nelfinavir, ritonavir and saquinavir) and the non-nucleoside reverse

transcriptase inhibitor (nevirapine) after liquid-liquid extraction. *J Chromatogr B: Biomed Sci Appl* 2001; 758(2):129-35.

- Dailly E, Raffi F, Jolliet P. Determination of atazanavir and other antiretroviral drugs (indinavir, amprenavir, nelfinavir and its active metabolite M8, saquinavir, ritonavir, lopinavir, nevirapine and efavirenz) plasma levels by high performance liquid chromatography with UV detection. *J Chromatogr B* 2004; 813:353-8.
- De Clercq E. What can be expected from Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) in the treatment of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infections?. *Med Viro* 1996; 6:97-117.
- De Souza J, Kano EK, Koono EEM, Schramm SG, Porta V, Storpirtis S. Bioequivalence test applied to a new lamivudine/zidovudine combined formulation tablet. *Lat Am J Pharm* 2009; 28(3):433-37.
- Dos Reis Serra CH, Mori Koono EE, Kano EK, Schramm SG, Armando YP, Porta V. *Clin Ther* 2008; 30(5):902-8.

- Dubois EA, Cohen AF. Maraviroc and raltegravir. *Brit J Clin Pharmacol* 2009; 68(5):651-2.
- EMEA (European agency for the evaluation of medical products). Committee for proprietary medicinal products (CPMP). Working party in the efficacy of medicinal products. Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98. London; July 2001.
- Espona M, Ferrández O, Grau S, Carmona A. Enfuvirtida: primer fármaco de una nueva familia de antirretrovirales. *Farm Hosp* 2005; 29(6):375-83.
- Estévez FE. Estudios de bioequivalencia: enfoque metodológico y aplicaciones prácticas en la evaluación de medicamentos genéricos. *Rev Med Uruguay* 2000; 16:133-43.
- Fan B, Stewart JT. Determination of zidovudine/lamivudine/nevirapine in human plasma using ion-pair HPLC. *J Pharm Biomed Anal* 2002; 28:903-8.

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). Taller subregional sobre aseguramiento de calidad y validación de metodología para análisis químico. Bogotá, Colombia. Noviembre - Diciembre, 2005.
- Fausto Rangel MS. Tratamiento antirretroviral. En: Ponce de León S, Fausto Rangel MS. SIDA, aspectos clínicos y terapéuticos. Mc Graw-Hill Interamericana, editores. México, DF; 2000: 441-52.
- FDA (Food and Drug Administration), and CDER (Center for Drug Evaluation and Research). Draft Guidance. In vivo bioequivalence studies based on population and individual bioequivalence approaches; 1997.
- FDA (Food and Drug Administration), and CDER (Center for Drug Evaluation and Research). Guidance. Statistical approaches to establishing bioequivalence; 2001.
- FDA (Food and Drug Administration), and CDER (Center for Drug Evaluation and Research). Guidance for Industry: Preface, Statistical criteria for bioequivalence. In: Approved drug products with

therapeutic equivalence evaluations. 22<sup>nd</sup> Ed. Rockville: Office of Information Technology, 2002.

- FDA (Food and Drug Administration). Guidance for Industry. Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products, general considerations. 2003 (Citado el 15 de mayo del 2003). Disponible en: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.
- Fernández C, Modamio P, Albert V, Martínez MS, Mariño EL. Método analítico para determinar indinavir en plasma humano y estudio de la función del error. VI Congreso SEFIG- 3<sup>a</sup> Jornada Tecnología Farmacéutica, 2002:245.
- Fondo común de patentes de medicamentos. Sida y hepatitis. Salud.elmundo.es. Unidad Editorial Internet, S,L; 2010 (Citado el 30 de Septiembre del 2010). Disponible en: <http://www.elmundo.es/elmundosalud/2010/09/30/hepatitissida/1285859071.html>.
- Frias J, Guerra P, Soto A, Carcas AJ. Limitaciones de los estudios de bioequivalencia: Aspectos prácticos. En: Garcia AG, Gandía L,

editores. El Ensayo Clínico en España. Madrid: Eurocolor, S.A. – Farmaindustria; 2001.

- García CM, Cunill E, Cartaya M, Diaz A, Curbelo Y. Validación de métodos analíticos de control de procesos de antitumorales inyectables. Rev Cub Farm 2010; 45(1):13-20.
- García de Olalla P, Knobel H, Carmona A, Guelar A, López-Colomer José L, Caylà JA. Impact of adherence and highly active antiretroviral therapy on survival in HIV-infected patients. AIDS 2002; 30:05-10.
- Gatell JM, Clotet B, Podzamser D, Miro JM, Mallotas J. Guía práctica de SIDA. Clínica, diagnóstico y tratamiento. Barcelona: Masson Salvat; 2000.
- Giarkovich SS, Bolaños R. El “ser o no ser” de la Bioequivalencia: Rangos *one size fits all* vs. *case by case* y otras opciones. Rev SAFYBI 2004; 108(44):1-29.
- Gonçalves TM, Pires BXF, Bedor DCG, De Souza VC, De Abreu LRP, De Santana DP. Determination of indinavir in human plasma and its

use in pharmacokinetic study. Rev Bras Cienc Farm 2007; 43(4):639-47.

- González R, Contreras J, Pérez M, Jordán G, López M, Suzarte A. Development of a 100 mg theophylline sustained release formulation using POVIAC polymer for infants. Rev CENIC Cienc Biol 2002; 33(1):13-7.
- Greenspan S, Greenspan D. The epidemiology of the oral lesions of HIV infection in the developed world. Oral Dis 2002; 8:34-9.
- Groning E. Procesos a los que están sometidos los fármacos en el organismo. En: Morón FJ y cols. Farmacología General. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2002.
- Guías para la conducta a seguir en los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia del Ministerio de Salud de Malasia, 2000.
- Gullick RM, Mellors JW, Havlir D, Eron JJ, Gonzalez C, Mc Mahon D, et al. Treatment with indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antirretroviral therapy. N Engl J Med 1997; 337:734-39.

- Haidar SH, Makhlouf F, Schuirmann DJ, Hyslop T, Davit B, Conner D, et al. Evaluation of a scaling approach for the bioequivalence of highly variable drugs. *AAPS J* 2008; 10(3):450-4.
- Harker AJ, Evans GL, Hawley AE, Morris DM. High-performance liquid chromatographic assay for 2'-deoxy-3'-thiacytidine in human serum. *J Chromatogr B* 1994; 657:227-32.
- Hauck WW, Parekh A, Lesko LJ, Chen M, Williams RL. Limits of 80%-125% for AUC and 70%-143% for C<sub>max</sub>. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2001; 39(8):350-55.
- Haynes JD. FDA 75/75 Rule: A response. *J Pharm Sci* 1983; 72(1):99-100.
- Heald AE, Hsyu PH, Yuen GJ, Robinson P, Mydlow P, Bartlett JA. Pharmacokinetics of lamivudine in human immunodeficiency virus-infected patients with renal dysfunction. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40(6):1514-19.
- Hoetelmans R. Clinical pharmacokinetics of antiretroviral drugs. *AIDS Rev* 1999; 1:167-78.

- Hosseinipour MC, Corbett AH, Kanyama C, Mshali I, Phakati S, Rezk NL y cols. Pharmacokinetic comparison of generic and trade formulations of lamivudine, stavudine and nevirapine in HIV-infected Malawian adults. AIDS 2007; 21(1):59-64.
- ICH (International Conference on Harmonisation of Technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use). ICH Harmonised Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures: Test and Methodology Q2 (R1). Complementary Guideline on Methodology dated 6 November 1996 incorporated in November 2005 (Citado el 3 de Noviembre del 2010). Disponible en: [http://www.ich.org/UrlGrpServer.jsr?@\\_ID=1325&@\\_TEMPLATE=272#Organisation](http://www.ich.org/UrlGrpServer.jsr?@_ID=1325&@_TEMPLATE=272#Organisation).
- ICH (International Conference on Harmonisation of Technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use). ICH Harmonised Tripartite Guideline: Efficacy. Good Clinical Practice: Consolidated Guideline E6 (R1). Complementary Guideline on Methodology dated 6 November 1996 incorporated in November 2005 (Citado el 3 de Noviembre del 2010). Disponible en: [http://www.ich.org/UrlGrpServer.jsr?@\\_ID=1325&@\\_TEMPLATE=272#Organisation](http://www.ich.org/UrlGrpServer.jsr?@_ID=1325&@_TEMPLATE=272#Organisation).

- InfoRed SIDA. Información confiable y actualizada sobre el tratamiento antirretroviral, 2009 (Citado el 12 de junio del 2009). Disponible en: <http://www.aidsinfoned.org>.
- Iribarren JA, Labarga P, Rubio R, Berenguer J, Miró JM, Antela A, et al. por el Grupo de Estudio de Sida (GESIDA) y por el Consejo Asesor Clínico (CAC) del Plan Nacional sobre el SIDA (PNS) del Ministerio de Sanidad y Consumo (MSC). Recomendaciones de GESIDA/PNS respecto al tratamiento antirretroviral en pacientes adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana, 2005 (Citado el 30 de Junio del 2006). Disponible en: [http://www.gesida.seimc.org/pcientifica/fuentes/DcyRc/DcyRc\\_Recomendaciones-TAR-GESIDA-PNS.pdf](http://www.gesida.seimc.org/pcientifica/fuentes/DcyRc/DcyRc_Recomendaciones-TAR-GESIDA-PNS.pdf)
- Jayewardene AL, Zhu F, Aweeka FT, Gambertoglio JG. Simple high-performance liquid chromatographic determination of the protease inhibitor indinavir in human plasma. J Chromatogr B 1998; 707:203-11.
- Jenke D. R. Chromatographic method validation. Guidelines for primary validation parameters. J Liq Chromatogr R T 1996; 19 (5):737-57.

- Johnson MA, Moore KHP, Yuen GJ, Bye A, Pakes GE. Clinical pharmacokinetics of Lamivudine. *Clin Pharmacokinet* 1999; 36(1):41-66.
- Jones B, Kenward MG. Design and analysis of cross-over trials. 2<sup>nd</sup> ed. Chapman & Hall/CRC; 2003.
- Joshi A, Esseku F, Silva L, Igwilo C, Oqua D, Kunle B y cols. Postmarketing in vitro/in vivo assessment of fixed dose combination products of first line antiretrovirals. *J Pharm Sci* 2010; 99(6):2655-63.
- Katzung BG. Farmacología Básica y Clínica. 5ta ed. Manual Moderno; 1994.
- Koelsch KK, Cooper DA. Integrase inhibitors in salvage therapy regimens for HIV-1 infection. *Curr Opin HIVAIDS* 2009; 4(6):518-23.
- Lacey LF, Keene ON, Pritchard JF, Bye A. Common noncompartmental pharmacokinetic variables: are they normally or log-normally distributed?. *J Biopharm Stat* 1997; 7:171-8.

- Lambda Therapeutic Research PVT. LTD. Report of open label, balanced, randomized, two-treatment, two-period, two-sequence, single dose, crossover, comparative bioavailability study of tablets containing Nevirapine 200mg, manufactured by Cipla Ltd. India; 2001.
- Larrea R, Roque MC. Vigilancia farmacológica con el uso de los antirretrovirales. Rev Cub Med 2007 [Citado el 26 Octubre del 2010]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-752320070004000048lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-752320070004000048lng=es).
- Laurito TL, Santagada V, Caliendo G, Oliveira CH, Barrientos-Astigarraga RE, De Nucci G. Nevirapine quantification in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. Application to bioequivalence study. J Mass Spectrom 2002; 37(4):434-41.
- Lenderman MM, Valdez H. Immune restoration with antiretroviral therapies: implications for clinical management. JAMA 2000; 284:223-8.

- Marchei E, Valvo L, Pacifici R, Pellegrini M, Tossini, Zuccaro P. Simultaneous determination of zidovudine and nevirapine in human plasma by RP-LC. *J Pharm Biomed Anal* 2002; 29:1081-8.
- Marier JF, DiMarco M, Guilbaud R, Dodard C, Morelli G, Tippabhotla SK y cols. Pharmacokinetics of lamivudine, zidovudine, and nevirapine administered as a fixed-dose combination formulation versus coadministration of the individual products. *J Clin Pharmacol* 2007; 47(11):1381-89.
- Markowitz M. Los inhibidores de la proteasa. Edited by Abbott Lab, Illinois, USA; 1997.
- Martínez J. Farmacocinética y farmacodinámica de los principales antirretrovirales. *Aids Caber J* 2003; 6(2):116-23.
- Massaroti P, Cassiano NM, Duarte LF, Campos DR, Marchioretto MAM, Bernasconi G, et al. Validation of a selective method for determination of Paroxetine in human plasma by LC-MS/MS. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2005; 8(2):340-7.

- Mc Kinnell JA, Saag MS. Novel drug classes: entry inhibitors (enfuvirtide, chemokine C-C motif) receptor 5 antagonists. *Curr Opin HIVAIDS* 2009; 4(6):513-7.
- Meredith P. Bioequivalence and other unresolved issues in generic drug substitution. *Clin Ther* 2003; 25:2875-90.
- Midha KK, McKay G. Bioequivalence: Its history, practice, and future. *AAPS J* 2009; 11(4):664-70.
- Miller V, Sabin CA, Phillips AN, Rottman C, Rabenau H, Weidman E et al. The impact of protease inhibitor-containing highly active antiretroviral therapy on progression of HIV disease and its relationship to CD4 and viral load. *AIDS* 2000; 14:2129-36.
- Mistri HN, Shrivastav P, Jangid AG, Sanyal M. Development and validation of a rapid liquid chromatography tandem spectrometry method to quantify nevirapine in human plasma and its application to bioequivalence study in healthy human subjects. *Anal Lett* 2007; 40(6):1147-65.

- Mocrofot A, Vella S, Benfield TL, Chiesi A, Miller V, Gargalianos P, et al. Changing patterns of mortality across Europe en patients infected with HIV-1. EuroSIDA Study Group. Lancet 1998; 352:1725-30.
- Monif T, Rao N, Koundinya S, Khuroo A, Marwah A, Kumar S y cols. A single-dose, randomized, open-label, two-period crossover bioequivalence study of a fixed-dose pediatric combination of lamivudine 40mg, nevirapine 70mg, and stavudine 10mg tablet for oral suspension with individual liquid formulations in healthy adult male volunteers. Clin Ther 2007; 29(12):2677-84.
- Monif T, Tippabhotla SK, Garg M, Singla AK. Comparative bioavailability/bioequivalence of two different stavudine 40mg capsule formulations: A randomized, 2-way, crossover study in healthy volunteers under fasting condition. Int J Clin Pharm Th 2007; 45(8):469-74.
- Monif T, Reyar S, Tiwari HK, Tippabhotla SK, Khuroo A, Thudi NR y cols. A single-dose, randomized, open-label, two-period crossover bioequivalence study comparing a fixed-dose pediatric combination of lamivudine and stavudine tablet for oral suspension with individual liquid formulation in healthy adult male volunteers. Arzneimitelforschug 2009; 59(2): 104-8.

- Mookherjea S. “Method Development, Validation procedures and Conformity Assessment in the analytical Laboratory”. II Simposio de la AOAC INTERNATIONAL. Buenos Aires; 1997.
- Moyer TP, Temesgen Z, Enger R, Estes L, Charlson J, Oliver L y cols. Drug monitoring of antiretroviral therapy for HIV-1 infection: Method validation and results of a pilot study. Clin Chem 1999; 45(9):1465-76.
- Narang VS, Lulla A, Malhotra G, Puranadre S. A combined-formulation of lamivudine/nevirapine/stavudine: bioequivalence compared with concurrent administration of lamivudine, nevirapine and stavudine in healthy Indian subjects. J Clin Pharmacol 2005; 45(3):265-74.
- Palella FJ Jr., Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. N Engl J Med 1998; 338:853-60.
- Palma D, Dominguez JC. Genéricos, cuestión de bioequivalencia. Farm Hosp 2007; 31:73-4.

- Patterson SD, Zariffa NM, Monatgue TH, Howland K. Non-traditional study designs to demonstrate average bioequivalence for haighly variable drug products. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; 57:663-70.
- Patton LL. Sensitivity, specificity and positive predictive value of oral opportunistic infection in adults with HIV/AIDS as markers of immune suppression and viral burden. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; 90:182-8.
- Penzak S. Análisis of generis nevirapine products in developing countries. *JAMA* 2003; 289:2468-9.
- Pérez D, Pérez J, Orta M, Trujillo A, González A. Two year follow up of patients treated with generic antirretrovirals. [CD-ROM] *Interntional Proceedings XV International AIDS Conference; 2004 july 11-16; Bangkok, Thailand: MEDIMOND S.r.l; 2004.*
- Pérez J, Pérez D, González D, Diaz M, Millán JC, Orta M. pautas cubanas para el tratamiento antirretroviral en los pacientes con VIH/SIDA. 2004; IPK, MINSAP.

- Pérez J. Approaches to the management of HIV/AIDS in Cuba: case study (Perspectives and practice in antirretroviral treatment), WHO; 2004.
- Pidgeon A. Bioequivalence and Generic Prescribing: An Industrial View. *J Pharm Pharmacol* 1996; 48:11-16.
- PNPC ITS/VIH/SIDA (Programa Nacional de prevención y Control ITS/VIH/SIDA. *Epidemiología y estadística*, 2011 (Citado en Mayo del 2012). Disponible en: [http://www.unaids.org/en/dataanalysis/knowyourresponse/ncpi/2012countries/Cuba NCPI 2012.pdf](http://www.unaids.org/en/dataanalysis/knowyourresponse/ncpi/2012countries/Cuba%20NCPI%202012.pdf).
- Poirier JM, Robidou P, Jaillon P. Determination of indinavir in plasma by Solid-phase extraction and Column liquid chromatography. *Ther drug Monit* 1999; 21(4):404-10.
- Quattrocchi OA, Abelaira de Andrizzi SI, Laba RF. "Introducción a la HPLC. Aplicación y Práctica" 1992; 66-76, 79-85, 90-6, 106-8.
- Raices RSL, Saladori MC, Estrela RDCE, De Aquino FR, Suarez G. Determination of stavudine in human serum by on-line solid-phase

extraction coupled to HPLC with electrospray ionization tandem mass spectrometry: Application to a bioequivalence study. *Rapid Commun Mass Sp* 2003; 17(10):1611-18.

- Rana KZ, Dudley MN. Clinical Pharmacokinetics of stavudine. *Clin Pharmacokinet* 1997; 33(4):276-84.
- Ray N. Maraviroc in the treatment of HIV infection. *Drug Des Devel Ther* 2009; 6(2):151-61.
- Regazzi M, Villani P, Seminari E, Ravasi G, Cusato M, Marubbi F y cols. Sex differences in nevirapine disposition in HIV-infected patients. *AIDS* 2003; 17(16):2399-2400.
- Shah VP, Midha KK, Dighe S, Mc Gilveray IJ, Skelly JP, Yakobi A, et al. Analytical methods validation: Bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. *Int J Pharm* 1992; 82:1-7.
- Sheng-Tu JZ, Lu XY, Zhou HL, Zheng GG, Chen ZG, Huang MZ y cols. Studies on bioequivalence of indinavir capsule in healthy volunteers. *Chinese Pharm J* 2006; 41(2):126-9.

- Soriano V, Perno CF, Kaiser R, Calvez V, Gattel JM, di Perri G, Pillay D, Rockstroh J, Geretti AM. When and how to use maraviroc in HIV-infected patients. *AIDS* 2009; 23(18):2377-85.
- Steinijans VW, Hauschke D, Jonkman JHG. Controversies in bioequivalence studies. *Clin Pharmacokinet* 1992; 22:247-53.
- Swartz ME, Krull I.S. Validation of Chromatographic Methods. *Pharm Technol* 1998; 1:104-14.
- Takahashi M, Yoshida M, Oki T, Okumura N, Suzuki T, Kaneda T. Conventional HPLC method used for simultaneous determination of the seven HIV protease inhibitors and nonnucleoside reverse transcription inhibitor Efavirenz in human plasma. *Biol Pharm Bull* 2005; 28(7):1286-90.
- Tarinas A, Gil L, Caveda H, Tápanes RD, Hernández Y, Pérez Avila J. Caracterización de la terapia antirretroviral en pacientes cubanos seropositivos al VIH. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; 3(4):260-5.
- Tarinas A, Tápanes RD, Gil L, González D, Castro O, Padrón A, et al. Bioequivalence study: Generic and trade formulations of stavudine,

lamivudine, zidovudine and indinavir in HIV-infected Cuban subjects. Rev Cub Farm 2006; 40(2):2-8.

- Tarinas A, Tápanes RD, González D, Ferrer G, Abreu D, Pérez J. Bioequivalence study of two nevirapine tablet formulations in human immunodeficiency virus-infected patients. Farm Hosp 2007; 31(3):165-8.
- Tarinas A, Tápanes RD, Ferrer G, Pérez J. Validation of High-performance liquid chromatography methods for determination of zidovudine, stavudine, lamivudine and indinavir in human plasma. Farm Hosp 2007; 31(4): 243-7.
- UNAIDS World AIDS Day Report: Global summary of the AIDS epidemic, 2010 (Citado en Abril del 2011). Disponible en: [http://www.who.inthiv/data/2011\\_epi\\_core\\_en.png](http://www.who.inthiv/data/2011_epi_core_en.png).
- USP 31-NF26 trough First Supplement Official. August-November 30, 2008 (Citado el 25 de Octubre del 2010). Disponible en: <http://sisfarma.blogspot.com>.

- Van Heeswijk RPG, Hoetelmans RMW, Meenhorst PL, Mulder JW, Beijenn JH. Rapid determination of nevirapina in human plasma by ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr B* 1998; 713:395-99.
- Van Heeswijk RPG, Rolf PG, Veldkamp AI, Mulder JW, Meenhorst PL, Wit FWNM, et al. The steady-state pharmacokinetics of nevirapina during once daily and twice daily dosing in HIV-1-infected individuals. *AIDS* 2000; 14(8):77-83.
- Veldkamp AI, van Heeswijk RPG, Mulder JW, Meenhorst PL, Hoetelmans RMW, Lange JMA, et al. Limited sampling strategies for the estimation of the systemic exposure to the HIV-1 Nonnucleoside Reverse Transcriptase inhibitor Nevirapine. *Ther Drug Monit* 2001; 23(6):606-11.
- Ventura-Cardá JM, Alós-Almiñana M. Programa de Atención farmacéutica a pacientes VIH con tratamiento antirretroviral: metodología y documentación. *Farm Hosp* 2004; 28 (Supl.1):72-9.
- Verweij-van Wissen CPWGM, Aarnoutse RE, Burger DM. Simultaneous determination of the HIV nucleoside analogue reverse

transcriptase inhibitors lamivudine, didanosine, stavudine, zidovudine and abacavir human plasma by reverse phase high performance liquid chromatography. *J Chromatogr B* 2005; 816:121-9.

- Wahlich JC, Carr GP. Practical approach to method validation in pharmaceuticals analysis. *J Pharm Biomed Anal* 1990; 8:613-618.
- Weed DH. Una aproximación estadísticamente integrada a la validación del método analítico. *Pharm Technol* 2000; 4:10-8.
- Westlake WJ. Use of statistical methods in evaluation of in vivo performance of dosage forms. *J Pharm Sci* 1973; 62(19):1579-88.
- WHO (World Health Organization). National AIDS programmes: a guide to indicators for monitoring and evaluating national antirretroviral programmes, 2005.
- Williams RL, Chen M, Hauck WW. Equivalence approaches. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72(3):229-37.
- Wittinghoff E, Scheer S, O'Malley P, Colfax G, Holmberg SD, Buchbinder SP. Combination antirretroviral therapy and recent

declines in AIDS incidence and mortality. *J Infect Dis* 1999; 179:717-20.

- WMA (World Medical Association). Declaration of Helsinki. Edinburgh: Ethical principles for medical research involving human subjects, 2000.
- Yeh KC, Deutsch PJ, Haddix H, Hesney M, Hoagland V, Ju WD y cols. Single-dose pharmacokinetics of Indinavir and the effect of food. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42(2):332-8.
- Zha W, Zha BS, Zhou F, Zhou H, Wang G. The cellular pharCurr Drug Metab 2012 June 29.
- Zhou XJ, Sommadossi JP. Rapid quantitation of (-)-2'-deoxy-3'-thiacytidine in human serum by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr B* 1997; 691:417-24.

*Anexos*

## **INDICE DE ANEXOS**

**ANEXO 1:** *Técnicas para las formas terminadas de los ARV según la USP 31*

**ANEXO 2:** *Metodología para la preparación de soluciones estándares*

**ANEXO 3:** *Resultados de los parámetros de validación*

**ANEXO 4:** *Cromatogramas del AZT*

**ANEXO 5:** *Cromatogramas del 3TC*

**ANEXO 6:** *Cromatogramas del d4T*

**ANEXO 7:** *Cromatogramas del IDV*

**ANEXO 8:** *Cromatogramas de la NVP*

**ANEXO 9:** *Resultados del ensayo de linealidad para el 3TC*

**ANEXO 9A:** RESULTADOS DEL ENSAYO DE LINEALIDAD PARA EL AZT

**ANEXO 9B:** RESULTADOS DEL ENSAYO DE LINEALIDAD PARA EL D4T

**ANEXO 9C:** RESULTADOS DEL ENSAYO DE LINEALIDAD PARA EL IDV

**ANEXO 9D:** RESULTADOS DEL ENSAYO DE LINEALIDAD PARA EL NVP

**ANEXO 10:** *Resultado de los ensayos de precisión y exactitud para el AZT*

**ANEXO 11:** *Resultado de los ensayos de precisión y exactitud para el 3TC*

**ANEXO 12:** *Resultado de los ensayos de precisión y exactitud para el d4T*

**ANEXO 13:** *Resultado de los ensayos de precisión y exactitud para el IDV*

**ANEXO 14:** *Resultado de los ensayos de precisión y exactitud para la NVP*

**ANEXO 15:** *Valores de las concentraciones (ng/mL) medidas en los tiempos de extracción del producto de referencia del 3TC*

**ANEXO 15A:** VALORES DE LAS CONCENTRACIONES (NG/ML) MEDIDAS EN LOS TIEMPOS DE EXTRACCIÓN DEL PRODUCTO DE PRUEBA DEL 3TC

**ANEXO 16:** *Valores de las concentraciones (µg/mL) medidas en los tiempos de extracción del producto de prueba del AZT*

**ANEXO 16A:** VALORES DE LAS CONCENTRACIONES (µG/ML) MEDIDAS EN LOS TIEMPOS DE EXTRACCIÓN DEL PRODUCTO DE REFERENCIA DEL AZT

**ANEXO 17:** *Valores de las concentraciones (ng/mL) medidas en los tiempos de extracción del producto de referencia del d4T*

**ANEXO 17A:** VALORES DE LAS CONCENTRACIONES (NG/ML) MEDIDAS EN LOS TIEMPOS DE EXTRACCIÓN DEL PRODUCTO DE PRUEBA DEL D4T

**ANEXO 18:** *Valores de las concentraciones (µg/mL) medidas en los tiempos de extracción del producto de prueba del IDV*

**ANEXO 18A:** VALORES DE LAS CONCENTRACIONES ( $\mu\text{G}/\text{mL}$ ) MEDIDAS EN LOS TIEMPOS DE EXTRACCIÓN DEL PRODUCTO DE REFERENCIA DEL IDV

**ANEXO 19:** *Valores de las concentraciones ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) medidas en los tiempos de extracción del producto de prueba de la NVP*

**ANEXO 19A:** VALORES DE LAS CONCENTRACIONES ( $\mu\text{G}/\text{mL}$ ) MEDIDAS EN LOS TIEMPOS DE EXTRACCIÓN DEL PRODUCTO DE REFERENCIA DE LA NVP

**ANEXO 20:** *Parámetros farmacocinéticos del producto de prueba (d4T)*

**ANEXO 20A:** PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DEL PRODUCTO DE REFERENCIA (D4T)

**ANEXO 21:** *Parámetros farmacocinéticos del producto de prueba (3TC)*

**ANEXO 21A:** PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DEL PRODUCTO DE REFERENCIA (3TC)

**ANEXO 22:** *Parámetros farmacocinéticos del producto de prueba (AZT)*

**ANEXO 22A:** PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DEL PRODUCTO DE REFERENCIA (AZT)

**ANEXO 23:** *Parámetros farmacocinéticos del producto de prueba (IDV)*

**ANEXO 23A:** PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DEL PRODUCTO DE REFERENCIA (IDV)

**ANEXO 24:** *Parámetros farmacocinéticos del producto de prueba (NVP)*

**ANEXO 24A:** PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DEL PRODUCTO DE REFERENCIA (NVP)

**ANEXO 25:** *Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro  $C_{\text{max}}$  de AZT*

**ANEXO 25A:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $T_{\text{MAX}}$  DE AZT

**ANEXO 25B:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO FLU DE AZT

**ANEXO 25C:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $AUC_{0-8}$  DE AZT

**ANEXO 25D:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $AUC_{0-\infty}$  DE AZT

**ANEXO 26:** *Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro  $C_{\text{max}}$  de d4T*

**ANEXO 26A:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $T_{\text{MAX}}$  DE D4T

**ANEXO 26B:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO FLU DE D4T

**ANEXO 26C:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $AUC_{0-12}$  DE D4T

**ANEXO 26D:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $AUC_{0-\infty}$  DE D4T

**ANEXO 27:** *Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro  $C_{max}$  de 3TC*

**ANEXO 27A:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO TMAX DE 3TC

**ANEXO 27B:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO FLU DE 3TC

**ANEXO 27C:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $AUC_{0-12}$  DE 3TC

**ANEXO 27D:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $AUC_{0-\infty}$  DE 3TC

**ANEXO 28:** *Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro  $C_{max}$  de IDV*

**ANEXO 28A:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO TMAX DE IDV

**ANEXO 28B:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO FLU DE IDV

**ANEXO 28C:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $AUC_{0-12}$  DE IDV

**ANEXO 28D:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $AUC_{0-\infty}$  DE IDV

**ANEXO 29:** *Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro  $C_{max}$  de NVP*

**ANEXO 29A:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO TMAX DE NVP

**ANEXO 29B:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $AUC_{0-12}$  DE NVP

**ANEXO 29C:** RESULTADO DE LOS ESTUDIOS ESTADÍSTICOS DE HIPÓTESIS NULA PARA EL PARÁMETRO  $AUC_{0-\infty}$  DE NVP

**ANEXO 30:** *Análisis de distribución de la variable  $C_{m\acute{a}x}$  para los productos de prueba y referencia del d4T (Test Ryan-Joiner)*

**ANEXO 30A:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $AUC_{0-T}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL D4T (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 30B:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $AUC_{0-\infty}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL D4T (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 30C:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $T_{MAX}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL D4T (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 31:** *Análisis de distribución de la variable  $C_{max}$  para los productos de prueba y referencia del AZT (Test Ryan-Joiner)*

**ANEXO 31A:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $AUC_{0-T}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL AZT (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 31B:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $AUC_{0-\infty}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL AZT (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 31C:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $T_{MAX}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL AZT (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 32:** *Análisis de distribución de la variable  $C_{max}$  para los productos de prueba y referencia del 3TC (Test Ryan-Joiner)*

**ANEXO 32A:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $AUC_{0-T}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL 3TC (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 32B:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $AUC_{0-\infty}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL 3TC (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 32C:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $T_{MAX}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL 3TC (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 33:** *Análisis de distribución de la variable  $C_{max}$  para los productos de prueba y referencia del IDV (Test Ryan-Joiner)*

**ANEXO 33A:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $AUC_{0-T}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL IDV (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 33B:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $AUC_{0-\infty}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL IDV (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 33C:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $T_{MAX}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DEL IDV (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 34:** *Análisis de distribución de la variable  $C_{max}$  para los productos de prueba y referencia de la NVP (Test Ryan-Joiner)*

**ANEXO 34A:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $AUC_{0-T}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DE LA NVP (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 34B:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $AUC_{0-\infty}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DE LA NVP (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 34C:** ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE LA VARIABLE  $T_{MAX}$  PARA LOS PRODUCTOS DE PRUEBA Y REFERENCIA DE LA NVP (TEST RYAN-JOINER)

**ANEXO 35:** *Análisis de bioequivalencia del d4T [Producto de prueba (P) vs producto de referencia (R)] por pacientes*

**ANEXO 36:** *Análisis de bioequivalencia del 3TC [Producto de prueba (P) vs producto de referencia (R)] por pacientes*

**ANEXO 37:** *Análisis de bioequivalencia del AZT [Producto de prueba (P) vs producto de referencia (R)] por pacientes*

**ANEXO 38:** *Análisis de bioequivalencia del IDV [Producto de prueba (P) vs producto de referencia (R)] por pacientes*

**ANEXO 39:** *Análisis de bioequivalencia del NVP [Producto de prueba (P) vs producto de referencia (R)] por pacientes*

**ANEXO 40:** *Representación lineal de las medias de la concentración vs tiempo (d4T)*

**ANEXO 41:** *Representación lineal de las medias de la concentración vs tiempo (3TC)*

**ANEXO 42:** *Representación lineal de las medias de la concentración vs tiempo (AZT)*

**ANEXO 43:** *Representación lineal de las medias de la concentración vs tiempo (IDV)*

**ANEXO 44:** *Representación lineal de las medias de la concentración vs tiempo (NVP)*

**ANEXO 1: Técnicas para las formas terminadas de los ARV según la USP 31**

➤ **AZT**

Fase Móvil: H<sub>2</sub>O - Metanol (80:20 v/v).

Solución madre de 1mg/mL y solución de trabajo 100µg/mL (materia prima disuelta en metanol).

Columna cromatográfica: L1 4mm x 25cm.

Precolumna: L1 3,2mm x 1,5cm.

Flujo= 1mL/min.

λ=265nm.

Volumen inyección=10µL.

➤ **D4T**

Fase Móvil: 0,01M Acetato Amonio - Acetonitrilo (95:5 v/v).

Solución madre de 100µg/mL y solución de trabajo 20µg/mL (materia prima disuelta en H<sub>2</sub>O bidestilada).

Columna cromatográfica: L1 3µm 4,6mm x 3,3cm.

Flujo= 0,7mL/min.

λ=254nm.

Volumen inyección=25µL.

➤ **3TC**

Fase Móvil: 0,025M Acetato Amonio - Metanol (95:5 v/v).

Solución madre de 250µg/mL (materia prima disuelta en Fase Móvil).

Columna cromatográfica: L1 4,6mm x 25cm.

Flujo= 1mL/min.

λ=277nm.

Volumen inyección=10µL.

Temperatura de la columna=35°C.

➤ **NVP**

Fase Móvil: 0,025M Buffer Fosfato – Acetonitrilo (4:1).

Solución madre de 240µg/mL y solución de trabajo 28,8µg/mL (materia prima disuelta en Fase Móvil-Acetonitrilo (20:1)).

Columna cromatográfica: L60 5µm 4,6mm x 15cm.

Flujo= 1mL/min.

$\lambda$ =220nm.

Volumen inyección=25µL.

Temperatura de la columna=35°C.

➤ **IDV**

Fase Móvil: Buffer Fosfato de Dibutilamonio 2% – Acetonitrilo (11:9).

Solución madre de 500µg/mL (materia prima disuelta en Fase Móvil).

Columna cromatográfica: L7 5µm 4,6mm x 25cm.

Flujo= 1mL/min.

$\lambda$ =260nm.

Volumen inyección=10µL.

Temperatura de la columna=40°C.

## **ANEXO 2: Metodología para la preparación de soluciones estándares**

### **(AZT)**

Reactivos:

- Materia prima de zidovudina (Laboratorios NOVATEC).
- H<sub>2</sub>O bidestilada

Pesar 10mg de AZT y disolver en H<sub>2</sub>O bidestilada y enrasar en un volumétrico de 10mL (Soln. Madre de 1mg/mL).

De la soln. Madre de 1mg/mL tomar 1mL y enrasar con H<sub>2</sub>O bidestilada en volumétrico de 10mL (Soln de trabajo de 100µg/mL).

De la soln. de trabajo tomar:

- 5µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (0.05 µg/mL)
- 10µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (0.1 µg/mL)
- 50µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (0.5 µg/mL)
- 100µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (1 µg/mL)
- 150µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (1.5 µg/mL)
- 250µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (2.5 µg/mL)
- 500µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (5 µg/mL)

### **(3TC)**

Reactivos:

- Materia prima de lamivudina (Laboratorios NOVATEC).
- H<sub>2</sub>O bidestilada

Pesar 10mg de 3TC y disolver en H<sub>2</sub>O bidestilada y enrasar en un volumétrico de 10mL (Soln. Madre de 1mg/mL).

De la soln. Madre de 1mg/mL tomar 1mL y enrasar con H<sub>2</sub>O bidestilada en volumétrico de 10mL (Soln de trabajo de 100µg/mL).

De la soln. de trabajo tomar:

- 5µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (50 ng/mL)
- 10µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (100 ng/mL)

- 20µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (200 ng/mL)
- 40µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (400 ng/mL)
- 80µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (800 ng/mL)
- 160µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (1600 ng/mL)
- 320µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (3200 ng/mL)

#### **(d4T)**

Reactivos:

- Materia prima de estavudina (Laboratorios NOVATEC).
- H<sub>2</sub>O bidestilada

Pesar 10mg de d4T y disolver en H<sub>2</sub>O bidestilada y enrasar en un volumétrico de 10mL (Soln. Madre de 1mg/mL).

De la soln. Madre de 1mg/mL tomar 100µL y enrasar con H<sub>2</sub>O bidestilada en volumétrico de 10mL (Soln de trabajo de 10µg/mL).

De la soln. de trabajo tomar:

- 10µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (10 ng/mL)
- 25µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (25 ng/mL)
- 50µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (50 ng/mL)
- 100µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (100 ng/mL)
- 400µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (400 ng/mL)
- 800µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (800 ng/mL)
- 1600µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (1600 ng/mL)

#### **(IDV)**

Reactivos:

- Materia prima de indinavir (Laboratorios NOVATEC).
- H<sub>2</sub>O bidestilada

Pesar 10mg de IDV y disolver en H<sub>2</sub>O bidestilada y enrasar en un volumétrico de 10mL (Soln. Madre de 1mg/mL).

De la soln. Madre de 1mg/mL tomar 1mL y enrasar con H<sub>2</sub>O bidestilada en volumétrico de 10mL (Soln de trabajo de 100µg/mL).

De la soln. de trabajo tomar:

- 10µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (0.1 µg/mL)
- 50µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (0.5 µg/mL)
- 100µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (1 µg/mL)
- 250µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (2.5 µg/mL)
- 500µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (5 µg/mL)
- 750µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (7.5 µg/mL)
- 1000µL y enrasar a 10mL con H<sub>2</sub>O bidestilada (10 µg/mL)

### **(NVP)**

Reactivos:

- Materia prima de nevirapina (Laboratorios NOVATEC).
- Metanol

Pesar 10mg de NVP y disolver en Metanol y enrasar en un volumétrico de 10mL (Soln. Madre de 1mg/mL).

De la soln. Madre de 1mg/mL tomar 1mL y enrasar con Metanol en volumétrico de 10mL (Soln de trabajo de 100µg/mL).

De la soln. de trabajo tomar:

- 10µL y enrasar a 10mL con Metanol (0.1 µg/mL)
- 50µL y enrasar a 10mL con Metanol (0.5 µg/mL)
- 100µL y enrasar a 10mL con Metanol (1 µg/mL)
- 250µL y enrasar a 10mL con Metanol (2.5 µg/mL)
- 500µL y enrasar a 10mL con Metanol (5 µg/mL)
- 750µL y enrasar a 10mL con Metanol (7.5 µg/mL)
- 1000µL y enrasar a 10mL con Metanol (10 µg/mL)

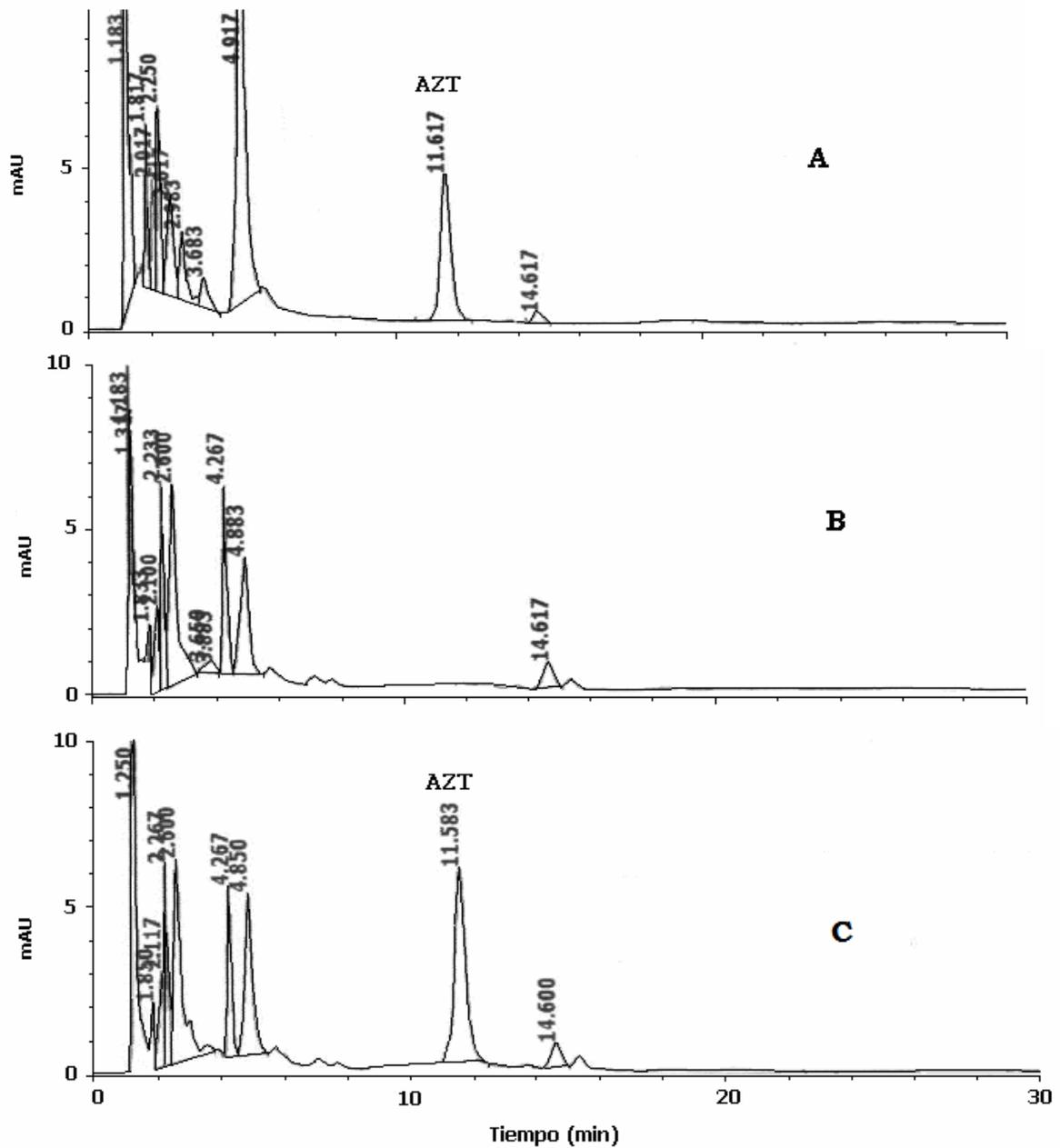
### ANEXO 3: Resultados de los parámetros de validación.

	Estavudina	Lamivudina	Zidovudina	Indinavir	Nevirapina
<b>t<sub>R</sub> (min.)</b>	6,8 – 8,0	7,5 – 9,0	11,2 – 11,9	11,2 – 11,9	8,5 – 11,3
<b>r (n=7)</b>	0,9992	0,9988	0,9998	0,9915	0,9899
<b>CV (%)</b>	0,08	0,17	0,01	0,33	0,45
<b>Intercepto</b>	-0,0245	0,8187	-0,0231	0,3231	-0,1366
<b>tr <math>\alpha=0,05</math>; f=n-2</b>	143,39	114,66	286,94	43,78	40,59
<b>r<sup>2</sup> (n=7)</b>	0,9984	0,9975	0,9996	0,9834	0,9799
<b>CV (%)</b>	0,16	0,33	0,01	0,69	0,81
<b>Entre días (n=3)</b>	50 – 800 (ng/mL)	50 – 800 (ng/mL)	1,0 – 2,5 ( $\mu$ g/mL)	1,0 – 7,5 ( $\mu$ g/mL)	0,5 – 7,5 ( $\mu$ g/mL)
<b>CV (%)</b>	1,35	4,81	7,82	10,58	2,63
<b>En el día (n=5)</b>	50 – 1600 (ng/mL)	200 – 3200 (ng/mL)	0,5 – 5,0 ( $\mu$ g/mL)	0,5 – 10,0 ( $\mu$ g/mL)	0,5 – 7,5 ( $\mu$ g/mL)
<b>CV (%)</b>	2,94	6,64	5,82	5,56	3,38
<b>ER (%)</b>	0,25	-0,57	8,77	1,83	-1,03
<b>LC</b>	10 ng/mL	50 ng/mL	0,05 $\mu$ g/mL	0,1 $\mu$ g/mL	0,1 $\mu$ g/mL
<b>CV (%)</b>	11,9	3,30	13,30	13,60	15,3
<b>LD</b>	5 ng/mL	12 ng/mL	0.01 $\mu$ g/mL	0.05 $\mu$ g/mL	*
<b>CV (%)</b>	19,1	14,3	4,44	3,77	*
<b>Recobrado (%)</b>	91,0	95,9	90,0	89,3	89,3

t<sub>R</sub>: tiempo de retención; r: coeficiente de correlación; r<sup>2</sup>: coeficiente de determinación; tr: t de student para el test de regresión C.V: coeficiente de variación; LC: límite de cuantificación; LD: límite de detección; ER: error relativo porcentual.

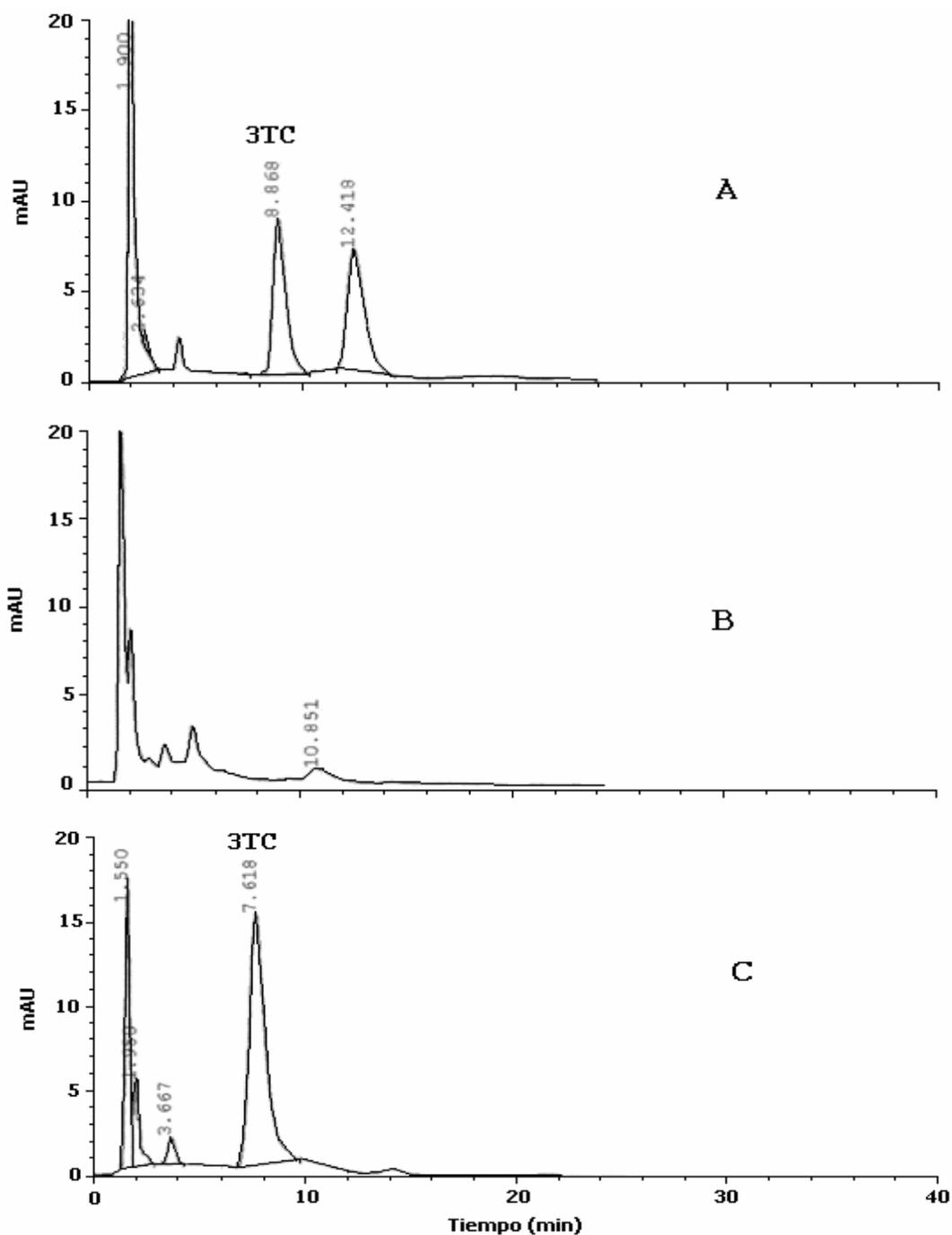
\* En el caso de la NVP, como en el rango de tiempo escogido para la toma de muestra, los valores de concentración alcanzada estaban distantes de la C<sub>min</sub>, no se determinó el LD.

#### ANEXO 4: Cromatogramas del AZT



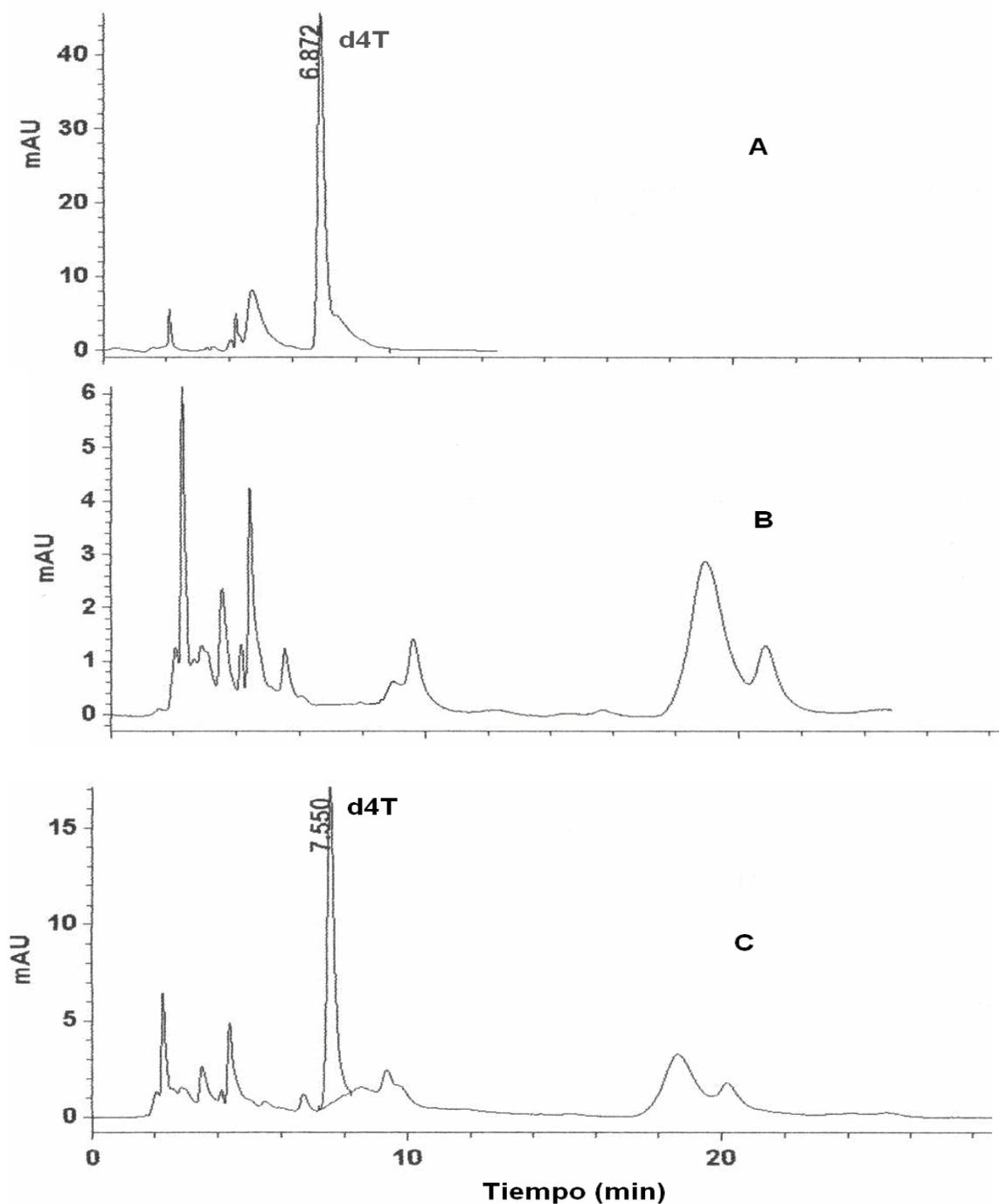
**(A)** Estándar de zidovudina de 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; **(B)** Muestra de plasma de un paciente-voluntario a  $t=0$  (blanco); **(C)** Muestra de plasma del mismo paciente-voluntario a los 30 min de la ingestión oral de 300 mg de zidovudina (concentración calculada fue de 1.20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

## ANEXO 5: Cromatogramas del 3TC.



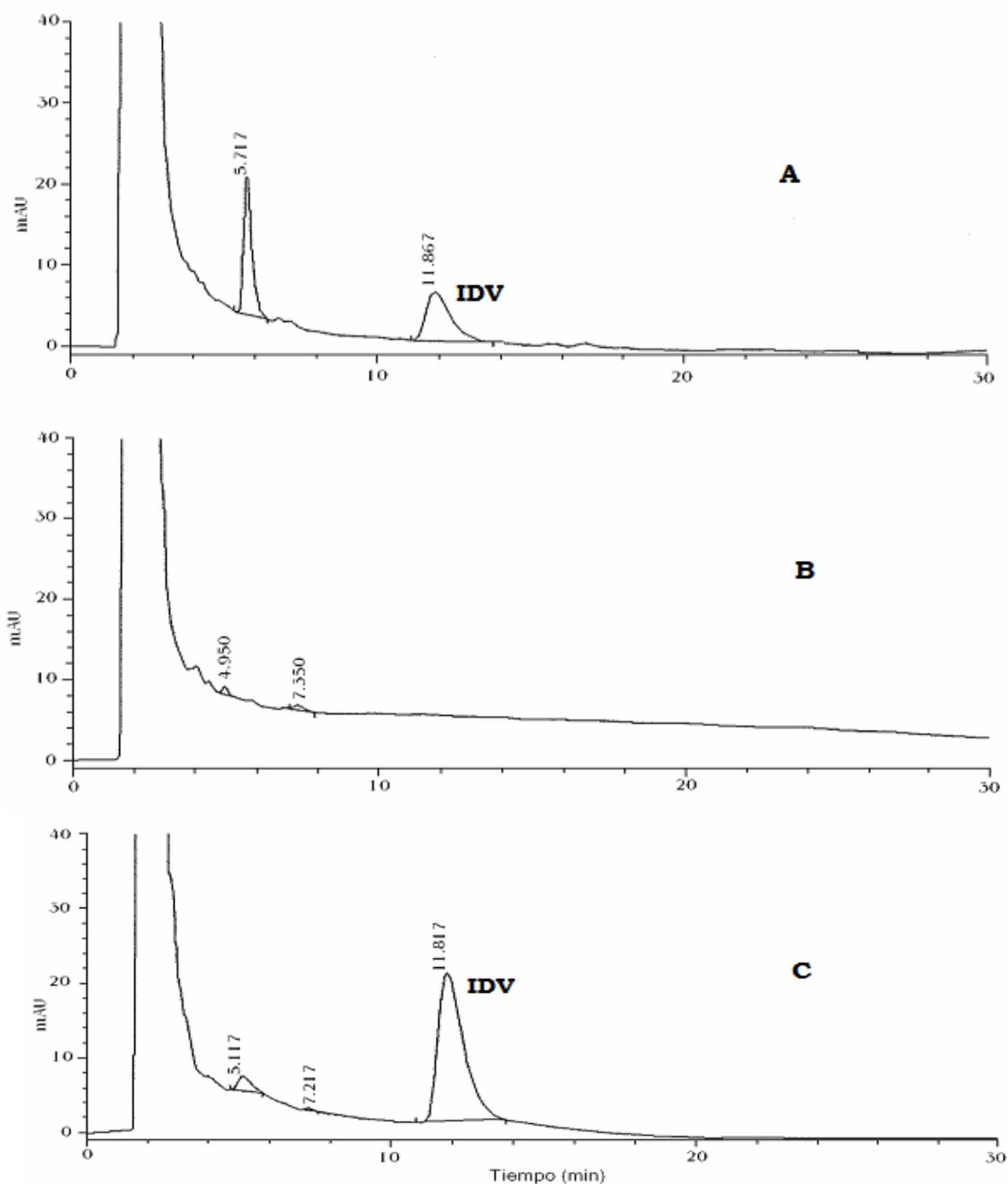
**(A)** Estándar de lamivudina de 800 ng/mL; **(B)** Muestra de plasma de un paciente-voluntario a t=0 (blanco); **(C)** Muestra del mismo paciente-voluntario a 1h de la ingestión oral de 150 mg de lamivudina (concentración calculada fue de 1670 ng/mL).

## **ANEXO 6: Cromatogramas del d4T.**



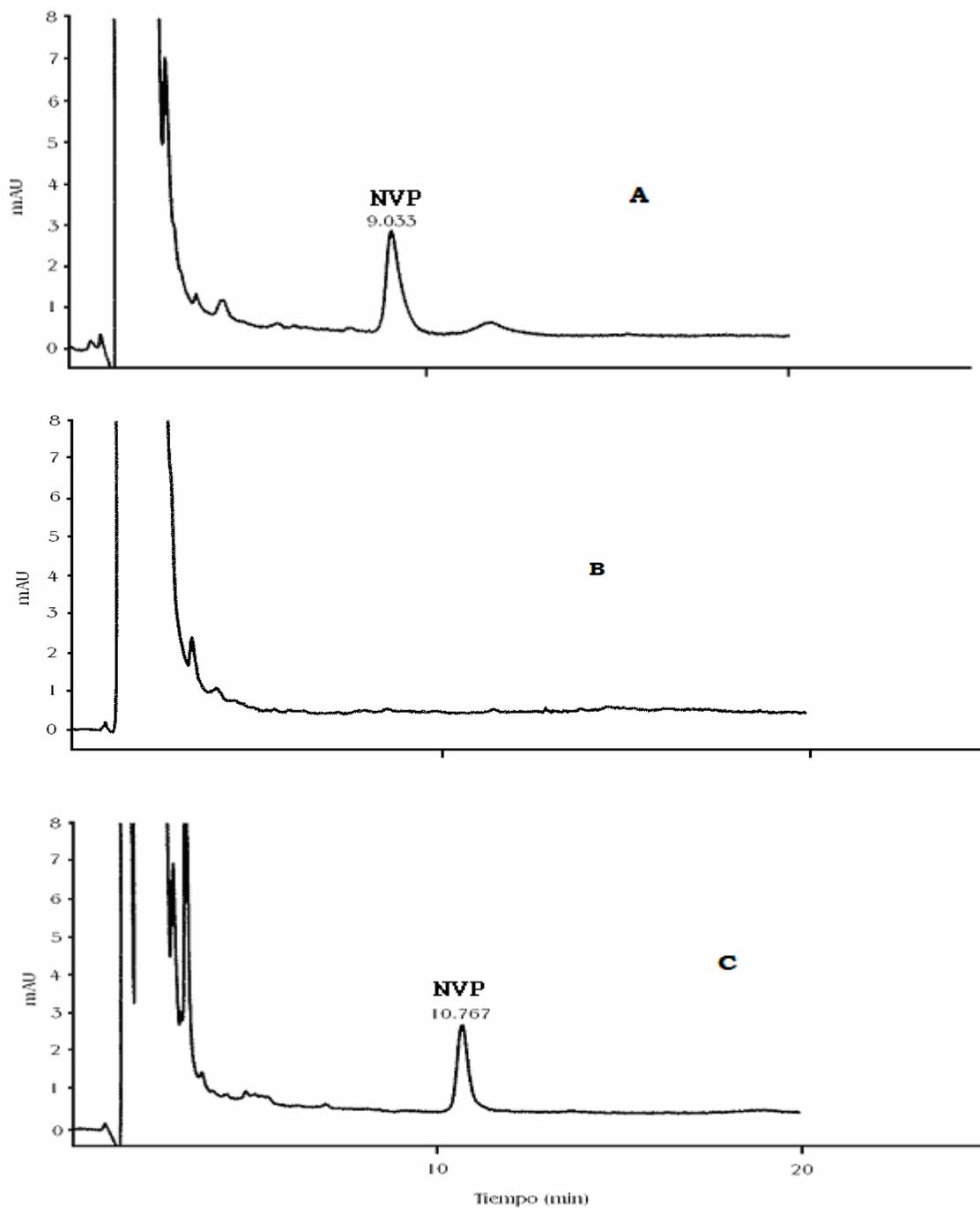
**(A)** Estándar de estavudina de 1600 ng/mL; **(B)** Muestra de plasma de un paciente-voluntario a  $t=0$  (blanco); **(C)** Muestra de plasma del mismo paciente-voluntario a los 30 min. de la ingestión oral de 40 mg de estavudina (concentración calculada fue de 1230 ng/mL).

## **ANEXO 7: Cromatogramas del IDV.**



**(A)** Estándar de indinavir de 2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; **(B)** Muestra de plasma de un paciente-voluntario a  $t=0$  (blanco); **(C)** Muestra de plasma del mismo paciente después de 1h de la ingestión oral de 800 mg de indinavir (concentración calculada fue de 7.48  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

## **ANEXO 8: Cromatogramas de la NVP.**



**(A)** Estándar de nevirapina de 2.5 µg/mL; **(B)** Muestra de plasma de un paciente-voluntario a t=0 (blanco); **(C)** Muestra de plasma del mismo paciente-voluntario a las 2h de la ingestión oral de 200 mg de nevirapina (concentración calculada fue 2.04 µg/mL).

**ANEXO 9. Resultados del ensayo de linealidad para el 3TC.**

<b>Concentración Nominal (ng/mL)</b>	<b>Area N1</b>	<b>Area N2</b>	<b>Area N3</b>	<b>Area N4</b>	<b>Area N5</b>	<b>Area Media</b>
50	0.3659	0.3771	0.3754	0.3898	0.3972	0.3811
100	0.5540	0.6146	0.5638	0.5629	0.4931	0.5577
200	1.4069	1.3954	1.4398	1.3804	1.4660	1.4177
400	3.6909	3.0054	3.5024	3.413	3.1105	3.3444
800	6.0282	5.9919	6.1583	6.2808	6.4908	6.1900
1600	11.6945	13.5277	12.5034	12.319	13.4325	12.6954
3200	25.4581	26.9339	24.9778	25.495	22.7776	25.1285
<b>Coef. Corr r</b>	<b>0.9987</b>	<b>0.9997</b>	<b>0.9998</b>	<b>0.9997</b>	<b>0.9959</b>	<b>0.9988</b>
<b>Coef. Det r<sup>2</sup></b>	<b>0.9977</b>	<b>0.9993</b>	<b>0.9996</b>	<b>0.9995</b>	<b>0.9918</b>	<b>0.9975</b>
<b>Intercepto</b>	<b>1.7633</b>	<b>3.7316</b>	<b>0.2677</b>	<b>1.3149</b>	<b>-2.9836</b>	<b>0.8187</b>

Microsoft Excel 5.0

<b>Variables</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>SE</b>	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>	<b>CV (%)</b>
<b>r</b>	5	0.9988	0.0017	0.0008	0.9959	0.9998	0.1663
<b>r<sup>2</sup></b>	5	0.9975	0.0033	0.0015	0.9918	0.9996	0.333
Intercepto	5	0.8187	2.4692	1.1042	-2.984	3.7316	30.5928

Estadística descriptiva. WinNolin, edición profesional, versión 2.1.

SD = desviación estándar      SE = estándar error      CV = coeficiente de variación

Min. = valor mínimo              Max. = valor máximo

**ANEXO 9A. Resultados del ensayo de linealidad para el AZT.**

<b>Concentración Nominal (ug/mL)</b>	<b>Area N1</b>	<b>Area N2</b>	<b>Area N3</b>	<b>Area N4</b>	<b>Area N5</b>	<b>Area Media</b>
0.05	0.0287	0.0250	0.0323	0.0278	0.0272	0.02818
0.1	0.0658	0.0603	0.0595	0.0694	0.0646	0.06392
0.5	0.3494	0.3478	0.3395	0.3381	0.3466	0.34428
1.0	0.7018	0.7239	0.7145	0.6955	0.6959	0.70632
1.5	1.1095	1.1152	1.0921	1.0642	1.0699	1.09018
2.5	1.9258	1.9217	1.9467	1.8695	1.8765	1.90804
5.0	3.7610	3.7305	3.7634	3.7416	3.7436	3.74802
<b>Coef. Corr r</b>	<b>0.9997</b>	<b>0.9998</b>	<b>0.9996</b>	<b>0.9998</b>	<b>0.9998</b>	<b>0.9998</b>
<b>Coef. Det r<sup>2</sup></b>	<b>0.9995</b>	<b>0.9996</b>	<b>0.9993</b>	<b>0.9996</b>	<b>0.9997</b>	<b>0.9996</b>
<b>Intercepto</b>	<b>-0.0200</b>	<b>-0.0138</b>	<b>-0.0222</b>	<b>-0.0304</b>	<b>-0.0288</b>	<b>-0.0231</b>

Microsoft Excel 5.0

<b>Variables</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>SE</b>	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>	<b>CV (%)</b>
<b>r</b>	5	0.9998	0.0001	0.0000	0.9997	0.9999	0.0068
<b>r<sup>2</sup></b>	5	0.9996	0.0001	0.0001	0.9994	0.9997	0.0137
<b>Intercepto</b>	5	-0.0231	0.0068	0.0030	-0.0304	-0.0138	-29.2702

Estadística descriptiva. WinNolin, edición profesional, versión 2.1.

SD = desviación estándar    SE = estándar error    CV = coeficiente de variación.

Min. = valor mínimo    Max. = valor máximo

**ANEXO 9B. Resultados del ensayo de linealidad para el d4T.**

<b>Concentración Nominal (ng/mL)</b>	<b>Area N1</b>	<b>Area N2</b>	<b>Area N3</b>	<b>Area N4</b>	<b>Area N5</b>	<b>Area Media</b>
10	0.009	0.006	0.008	0.008	0.007	0.0076
25	0.025	0.032	0.029	0.027	0.032	0.0290
50	0.094	0.094	0.089	0.084	0.084	0.0890
100	0.141	0.142	0.141	0.141	0.152	0.1444
400	0.584	0.582	0.584	0.579	0.578	0.5814
800	1.202	1.237	1.215	1.288	1.255	1.2194
1600	2.632	2.632	2.620	2.600	2.635	2.6238
<b>Coef. Corr r</b>	<b>0.9989</b>	<b>0.9976</b>	<b>0.9992</b>	<b>0.9996</b>	<b>0.9994</b>	<b>0.9992</b>
<b>Coef. Det r<sup>2</sup></b>	<b>0.9978</b>	<b>0.9953</b>	<b>0.9984</b>	<b>0.9993</b>	<b>0.9988</b>	<b>0.9984</b>
<b>Intercepto</b>	<b>-0.0262</b>	<b>-0.0298</b>	<b>-0.0236</b>	<b>-0.0201</b>	<b>-0.0226</b>	<b>-0.0245</b>

Microsoft Excel 5.0

<b>Variables</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>SE</b>	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>	<b>CV (%)</b>
<b>r</b>	5	0.99920	0.0008	0.0003	0.9977	0.9997	0.08
<b>r<sup>2</sup></b>	5	0.99842	0.0016	0.0007	0.9954	0.9993	0.16
Intercepto	5	-0.0245	0.0037	0.0016	-0.0298	-0.0202	15.05

Estadística descriptiva. WinNolin, edición profesional, versión 2.1.

SD = desviación estándar      SE = estándar error      CV = coeficiente de variación

Min. = valor mínimo      Max. = valor máximo

**ANEXO 9C. Resultados del ensayo de linealidad para el IDV.**

<b>Concentración Nominal (µg/mL)</b>	<b>Area N1</b>	<b>Area N2</b>	<b>Area N3</b>	<b>Area N4</b>	<b>Area N5</b>	<b>Area Media</b>
10.0	11.151	10.693	10.847	11.182	11.854	<b>11.1454</b>
7.5	6.9	6.878	6.723	6.931	6.678	<b>6.822</b>
5.0	4.752	4.25	4.679	4.529	4.657	<b>4.5734</b>
2.5	1.934	2.041	2.112	2.1	2.212	<b>2.0798</b>
1.0	0.787	0.783	0.735	0.829	0.762	<b>0.7792</b>
0.5	0.453	0.467	0.455	0.464	0.460	<b>0.460</b>
0.1	0.05	0.047	0.061	0.064	0.08	<b>0.064</b>
<b>Coef. Corr r</b>	<b>0.9926</b>	<b>0.9935</b>	<b>0.9934</b>	<b>0.9925</b>	<b>0.9857</b>	<b>0.9915</b>
<b>Coef. Det r<sup>2</sup></b>	<b>0.9852</b>	<b>0.9870</b>	<b>0.9868</b>	<b>0.9850</b>	<b>0.9716</b>	<b>0.9834</b>
<b>Intercepto</b>	<b>0.3138</b>	<b>0.2922</b>	<b>0.2691</b>	<b>0.3750</b>	<b>0.3650</b>	<b>0.3230</b>

Microsoft Excel 5.0

<b>Variables</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>SE</b>	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>	<b>CV (%)</b>
<b>r</b>	5	0.9915	0.0033	0.0015	0.9857	0.9935	0.3310
<b>r<sup>2</sup></b>	5	0.9834	0.0067	0.003	0.9716	0.9883	0.6855
<b>Intercepto</b>	5	0.323	0.0458	0.0205	0.2691	0.375	14.1946

Estadística descriptiva. WinNolin, edición profesional, versión 2.1.

SD = desviación estándar      SE = estándar error      CV = coeficiente de variación

Min. = valor mínimo

Max. = valor máximo

**ANEXO 9D. Resultados del ensayo de linealidad para el NVP.**

<b>Concentración Nominal (µg/mL)</b>	<b>Area N1</b>	<b>Area N2</b>	<b>Area N3</b>	<b>Area N4</b>	<b>Area N5</b>	<b>Area Media</b>
10.0	4.9092	4.6395	4.9976	3.9164	4.0059	<b>4.4937</b>
7.5	3.5458	3.6967	3.0957	3.5756	3.5756	<b>3.4979</b>
5.0	1.5338	1.9726	1.8636	1.8715	1.8669	<b>1.8217</b>
2.5	1.2394	1.1350	1.2730	0.8004	0.9272	<b>1.2158</b>
1.0	0.2360	0.2332	0.2205	0.2394	0.3109	<b>0.2480</b>
0.5	0.1099	0.1682	0.1354	0.1232	0.1335	<b>0.1340</b>
0.1	0.0166	0.0256	0.0102	0.0330	0.0245	<b>0.0220</b>
<b>Coef. Corr r</b>	<b>0.9849</b>	<b>0.9957</b>	<b>0.9885</b>	<b>0.9891</b>	<b>0.9914</b>	<b>0.9899</b>
<b>Coef. Det r<sup>2</sup></b>	<b>0.9701</b>	<b>0.9915</b>	<b>0.9771</b>	<b>0.9782</b>	<b>0.9829</b>	<b>0.9799</b>
<b>Intercepto</b>	<b>-0.1948</b>	<b>-0.1258</b>	<b>-0.1602</b>	<b>-0.1175</b>	<b>-0.0847</b>	<b>-0.1366</b>

Microsoft Excel 5.0

<b>Variables</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>SE</b>	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>	<b>CV (%)</b>
<b>r</b>	5	0,9899	0.00398	0.00178	0.9849	0.9957	0.45
<b>r<sup>2</sup></b>	5	0.9799	0.00791	0.00354	0.9701	0.9915	0.81
<b>Intercepto</b>	5	-0.1366	0.0422	0.0189	-0.1948	-0.0847	-20.88

Estadística descriptiva. WinNolin, edición profesional, versión 2.1.

SD = desviación estándar      SE = estándar error      CV = coeficiente de variación

Min. = valor mínimo

Max. = valor máximo

**ANEXO10: Resultado de los ensayos de precisión y exactitud para el AZT.**

***INTRADÍA***

Concentración Nominal (µg/mL)	N	Media Conc. Exp. (µg/mL)	DE Conc. Exp.	Precisión CV (%)	Exactitud ER (%)
0,5	5	0,43	0,05	11,2	- 14,0
1,5	5	1,69	0,09	5,12	12,67
2,5	5	2,85	0,18	6,43	14,0
5,0	5	6,12	0,03	0,52	22,4
<b>Media</b>				<b>5,82</b>	<b>8,77</b>

***INTERDÍA***

Concentración Nominal (µg/mL)	N	Media Conc. Exp. (µg/mL)	DE Conc. Exp.	Precisión CV (%)
1,0	3	0,79	0,06	7,90
1,5	3	1,36	0,10	7,10
2,5	3	2,59	0,22	8,47
<b>Media</b>				<b>7,82</b>

DE: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación, ER: Error relativo porcentual.

**ANEXO 11: Resultado de los ensayos de precisión y exactitud para el 3TC.**

***INTRADÍA***

<b>Concentración Nominal (ng/mL)</b>	<b>N</b>	<b>Media Conc. Exp. (ng/mL)</b>	<b>DE Conc. Exp.</b>	<b>Precisión CV (%)</b>	<b>Exactitud ER (%)</b>
200	5	192,44	12,55	6,52	- 3,78
800	5	782,69	26,98	3,45	- 2,16
1600	5	1619,57	117,52	7,26	1,22
3200	5	3278,10	305,79	9,33	2,44
<b>Media</b>				<b>6,64</b>	<b>-0,57</b>

***INTERDÍA***

<b>Concentración Nominal (ng/mL)</b>	<b>N</b>	<b>Media Conc. Exp. (ng/mL)</b>	<b>DE Conc. Exp.</b>	<b>Precisión CV (%)</b>
50	3	50,18	3,32	6,61
200	3	196,41	6,94	3,53
800	3	845,84	36,38	4,30
<b>Media</b>				<b>4,81</b>

DE: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación, ER: Error relativo porcentual.

**ANEXO 12: Resultado de los ensayos de precisión y exactitud para el d4T.**

***INTRADÍA***

<b>Concentración Nominal (ng/mL)</b>	<b>N</b>	<b>Media Conc. Exp. (ng/mL)</b>	<b>DE Conc. Exp.</b>	<b>Precisión CV (%)</b>	<b>Exactitud ER (%)</b>
50	5	49,6	2,51	5,06	- 0,8
100	5	100,4	3,36	3,35	0,4
400	5	400,2	1,79	0,45	0,05
800	5	810,6	23,31	2,88	1,33
<b>Media</b>				<b>2,94</b>	<b>0,25</b>

***INTERDÍA***

<b>Concentración Nominal (ng/mL)</b>	<b>N</b>	<b>Media Conc. Exp. (ng/mL)</b>	<b>DE Conc. Exp.</b>	<b>Precisión CV (%)</b>
50	3	47,0	1,0	2,13
100	3	101,3	1,53	1,51
800	3	858,0	3,46	0,40
<b>Media</b>				<b>1,35</b>

DE: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación, ER: Error relativo porcentual.

**ANEXO 13: Resultado de los ensayos de precisión y exactitud para el IDV.**

***INTRADÍA***

<b>Concentración Nominal (µg/mL)</b>	<b>N</b>	<b>Media Conc. Exp. (µg/mL)</b>	<b>DE Conc. Exp.</b>	<b>Precisión CV (%)</b>	<b>Exactitud ER (%)</b>
10,0	5	9,49	0,30	3,16	- 5,1
5,0	5	5,24	0,38	7,25	4,8
2,5	5	2,54	0,25	9,84	1,6
0,5	5	0,53	0,01	1,89	6,0
<b>Media</b>				<b>5,56</b>	<b>1,83</b>

***INTERDÍA***

<b>Concentración Nominal (µg/mL)</b>	<b>N</b>	<b>Media Conc. Exp. (µg/mL)</b>	<b>DE Conc. Exp.</b>	<b>Precisión CV (%)</b>
7,5	3	8,04	0,414	5,15
5,0	3	4,24	0,576	13,58
1,0	3	0,90	0,117	13,0
<b>Media</b>				<b>10,58</b>

DE: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación, ER: Error relativo porcentual.

**ANEXO 14: Resultado de los ensayos de precisión y exactitud para la NVP.**

***INTRADÍA***

<b>Concentración Nominal (µg/mL)</b>	<b>N</b>	<b>Media Conc. Exp. (µg/mL)</b>	<b>DE Conc. Exp.</b>	<b>Precisión CV (%)</b>	<b>Exactitud ER (%)</b>
0,5	5	0,49	0,03	6,12	- 2,00
2,5	5	2,53	0,01	5,14	1,20
5,0	5	5,10	0,05	0,98	2,00
7,5	5	7,10	0,09	1,27	- 5,30
<b>Media</b>				<b>3,38</b>	<b>-1,03</b>

***INTERDÍA***

<b>Concentración Nominal (µg/mL)</b>	<b>N</b>	<b>Media Conc. Exp. (µg/mL)</b>	<b>DE Conc. Exp.</b>	<b>Precisión CV (%)</b>
0,5	3	0,48	0,02	3,61
2,5	3	2,37	0,05	2,08
7,5	3	7,52	0,17	2,21
<b>Media</b>				<b>2,63</b>

DE: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación, ER: Error relativo porcentual.

**ANEXO 15: Valores de las concentraciones (ng/mL) medidas en los tiempos de extracción del producto de referencia del 3TC.**

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 001(2)	Paciente 002 (2)	Paciente 003 (1)	Paciente 004 (1)	Paciente 005 (2)	Paciente 006 (1)	Paciente 007 (1)
1	0,0	-	-	-	-	-	-	-
2	0,25	246,94	326,32	806,01	1394,84	452,24	252,74	147,88
3	0,50	1649,09	690,24	1250,46	1557,14	1376,05	1014,09	741,47
4	0,75	2368,87	809,07	1502,11	1689,62	2146,13	1512,95	1535,05
5	1,0	2023,60	615,37	1078,83	1390,80	1366,08	1656,99	1612,89
6	1,5	1019,97	598,30	1042,19	873,06	1339,53	2243,76	1179,64
7	2,0	736,61	548,70	882,74	676,90	1080,14	1705,22	951,94
8	3,0	426,48	365,06	533,33	537,77	598,75	1195,88	675,30
9	4,0	265,25	287,44	332,72	541,75	431,17	785,34	411,71
10	6,0	87,67	147,46	94,64	509,19	267,65	351,44	216,87
11	8,0	25,87	122,42	46,19	510,98	139,78	139,15	127,82
12	12,0	-	83,06	-	377,25	24,90	51,92	35,70

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 008 (1)	Paciente 009 (2)	Paciente 010 (2)	Paciente 011 (1)	Paciente 012 (2)	Paciente 013 (1)
1	0,0	-	-	-	-	-	-
2	0,25	233,16	186,80	0,33	69,88	39,67	21,36
3	0,50	239,28	987,45	125,32	570,23	580,65	291,65
4	0,75	302,93	1460,07	461,90	833,82	588,34	443,07
5	1,0	575,94	1156,46	733,07	605,42	362,74	502,37
6	1,5	607,29	1088,10	830,78	429,76	296,78	637,48
7	2,0	448,60	819,82	769,18	350,73	292,04	594,21
8	3,0	505,88	664,02	626,77	297,40	208,72	450,69
9	4,0	302,52	470,06	303,55	165,49	111,49	330,13
10	6,0	208,34	160,94	144,54	103,15	69,39	186,91
11	8,0	126,16	115,80	73,95	55,27	31,98	116,94
12	12,0	56,25	36,80	12,64	19,59	-	81,11

**(1)= 1<sup>er</sup> Ingreso**

**(2)= 2<sup>do</sup> Ingreso**

**ANEXO 15A: Valores de las concentraciones (ng/mL) medidas en los tiempos de extracción del producto de prueba del 3TC.**

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 001(1)	Paciente 002 (1)	Paciente 003 (2)	Paciente 004 (2)	Paciente 005 (1)	Paciente 006 (2)	Paciente 007 (2)
1	0,0	-	-	-	-	-	-	-
2	0,25	43,00	40,99	163,97	489,07	33,77	-	917,83
3	0,50	390,03	366,13	1194,91	1231,77	264,00	2090,74	1341,86
4	0,75	2185,72	677,47	1530,12	2183,91	865,51	3002,28	1749,61
5	1,0	1801,37	823,84	708,68	1711,61	1261,71	2688,40	1253,13
6	1,5	1332,73	257,69	621,88	1226,15	1612,0	2013,16	1043,26
7	2,0	881,56	223,14	463,33	1065,27	1386,46	1448,87	819,82
8	3,0	570,73	97,50	364,47	650,70	937,64	628,81	537,16
9	4,0	352,98	152,12	305,94	579,56	682,82	295,05	423,24
10	6,0	174,83	122,88	152,59	201,10	304,32	152,15	205,28
11	8,0	68,26	16,86	59,50	101,93	157,88	76,12	108,74
12	12,0	11,45	-	39,09	45,70	62,525	54,16	33,13

Muestra No,	Tiempo (hora)	Paciente 008 (2)	Paciente 009 (1)	Paciente 010 (1)	Paciente 011 (2)	Paciente 012 (1)	Paciente 013 (2)
1	0,0	-	-	-	-	-	-
2	0,25	101,36	37,91	12,36	38,32	14,21	64,01
3	0,50	473,01	141,21	897,74	322,02	426,50	144,16
4	0,75	740,83	300,73	1548,77	450,11	546,61	335,35
5	1,0	825,98	473,53	656,94	639,35	468,89	739,51
6	1,5	635,85	582,53	653,26	1076,06	237,01	852,64
7	2,0	566,05	655,56	555,96	693,37	164,95	797,73
8	3,0	442,53	587,26	427,88	528,72	87,94	540,64
9	4,0	373,36	408,15	240,21	221,87	74,53	412,53
10	6,0	157,10	162,70	89,10	107,22	29,96	250,55
11	8,0	121,59	125,02	62,75	55,79	20,12	122,98
12	12,0	43,87	29,87	13,89	-	-	48,13

**(1)= 1<sup>er</sup> Ingreso**

**(2)= 2<sup>do</sup> Ingreso**

**ANEXO 16: Valores de las concentraciones ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) medidas en los tiempos de extracción del producto de prueba del AZT.**

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 001(2)	Paciente 002 (2)	Paciente 003 (1)	Paciente 004 (1)	Paciente 005 (1)	Paciente 006 (2)	Paciente 007 (2)
1	0.0	-	-	-	-	-	-	-
2	0.25	1.24	1.37	5.09	-	0.81	0.25	0.10
3	0.50	3.32	5.71	2.21	0.75	1.45	0.52	0.72
4	0.75	1.51	3.95	1.49	1.47	1.34	3.04	1.71
5	1.0	0.47	2.49	0.92	1.70	0.52	3.14	2.34
6	1.5	0.49	1.49	0.55	1.34	0.47	2.00	2.63
7	2.0	0.16	0.72	0.35	1.09	0.42	1.20	1.82
8	3.0	0.13	0.29	0.18	0.68	0.11	0.62	1.20
9	4.0	0.07	0.22	0.05	0.34	0.05	0.15	0.54
10	6.0	0.02	0.03	0.02	0.12	0.02	0.04	0.08
11	8.0	0.03	0.02	-	0.05	-	-	0.06

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 008 (2)	Paciente 009 (1)	Paciente 010 (2)	Paciente 011 (1)	Paciente 012 (2)	Paciente 013 (1)
1	0.0	-	-	-	-	-	-
2	0.25	-	0.37	-	2.42	1.28	0.22
3	0.50	1.06	2.29	3.08	4.03	4.37	3.73
4	0.75	1.61	5.61	2.64	3.92	2.95	3.91
5	1.0	1.88	3.34	1.62	3.57	2.28	1.04
6	1.5	2.04	1.38	0.96	2.54	1.80	1.03
7	2.0	1.49	0.78	0.83	1.39	1.13	0.57
8	3.0	0.60	0.35	0.39	0.51	0.67	0.10
9	4.0	0.21	0.17	0.20	0.29	0.35	0.15
10	6.0	0.08	0.06	0.06	0.09	0.10	0.03
11	8.0	0.03	0.03	0.02	0.03	0.07	0.02

(1)= 1<sup>er</sup> Ingreso

(2)= 2<sup>do</sup> Ingreso

**ANEXO 16A: Valores de las concentraciones ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) medidas en los tiempos de extracción del producto de referencia del AZT.**

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 001 (1)	Paciente 002 (1)	Paciente 003 (2)	Paciente 004 (2)	Paciente 005 (2)	Paciente 006 (1)	Paciente 007 (1)
1	0.0	-	-	-	-	-	-	-
2	0.25	0.14	0.62	3.09	-	1.56	0.08	0.51
3	0.50	1.18	5.41	1.28	1.86	3.89	2.49	1.13
4	0.75	4.06	4.28	0.92	1.92	2.94	2.68	1.48
5	1.0	2.05	2.96	0.54	1.89	1.95	3.48	1.50
6	1.5	0.83	1.41	0.43	1.20	1.15	2.07	1.61
7	2.0	0.62	0.65	0.29	0.75	0.77	1.61	1.70
8	3.0	0.26	0.24	0.15	0.34	0.31	0.63	0.98
9	4.0	0.12	0.14	0.08	0.14	0.18	0.33	0.58
10	6.0	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.11	0.19
11	8.0	-	0.02	0.02	0.03	0.04	0.04	0.09

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 008 (1)	Paciente 009 (2)	Paciente 010 (1)	Paciente 011 (2)	Paciente 012 (1)	Paciente 013 (2)
1	0.0	-	-	-	-	-	-
2	0.25	0.16	0.09	-	0.51	6.10	0.58
3	0.50	2.52	2.94	0.13	2.59	4.36	4.53
4	0.75	3.14	1.81	0.30	3.84	2.18	3.06
5	1.0	2.26	3.27	1.16	2.71	1.69	1.11
6	1.5	1.58	1.53	1.38	1.97	0.96	0.69
7	2.0	1.27	1.03	1.66	1.23	0.63	0.48
8	3.0	0.57	0.38	0.59	0.57	0.33	0.17
9	4.0	0.29	0.23	0.32	0.31	0.16	0.10
10	6.0	0.09	0.08	0.09	0.11	0.06	0.04
11	8.0	0.03	0.03	0.04	0.04	0.03	0.02

(1)= 1<sup>er</sup> Ingreso

(2)= 2<sup>do</sup> Ingreso

**ANEXO 17: Valores de las concentraciones (ng/mL) medidas en los tiempos de extracción del producto de referencia del d4T.**

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 001(2)	Paciente 002 (2)	Paciente 003 (1)	Paciente 004 (1)	Paciente 005 (1)	Paciente 006 (2)	Paciente 007 (2)
1	0.0	-	-	-	-	-	-	-
2	0.25	8.7	26.5	-	-	-	603.2	-
3	0.50	214.0	58.0	1024.0	16.3	688.0	1305.6	66.7
4	0.75	494.9	181.4	1310.1	506.2	1007.9	1503.1	218.5
5	1.0	323.3	324.3	846.1	775.9	291.0	731.1	463.7
6	1.5	317.1	689.3	423.8	446.2	220.7	401.4	641.0
7	2.0	110.9	611.0	358.8	260.3	173.7	368.9	529.2
8	3.0	93.0	380.1	201.7	87.0	97.1	293.6	187.3
9	4.0	71.9	243.5	77.7	31.8	18.8	120.7	80.7
10	6.0	84.3	16.4	96.6	3.4	6.0	98.8	11.7
11	8.0	89.4	-	52.3	-	-	84.5	-
12	12.0	71.1	-	-	-	-	102.2	-

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 008 (2)	Paciente 009 (1)	Paciente 010 (2)	Paciente 011 (1)	Paciente 012 (2)	Paciente 013 (1)	Paciente 014 (1)
1	0.0	-	-	-	-	-	-	-
2	0.25	-	126.3	4.9	16.1	16.9	-	53.1
3	0.50	4.6	167.8	868.3	118.8	187.3	16.6	252.8
4	0.75	144.2	181.3	486.5	248.6	535.8	350.8	508.4
5	1.0	369.5	191.8	545.6	570.6	312.0	373.1	668.0
6	1.5	380.4	212.9	249.7	197.0	291.8	486.7	341.0
7	2.0	462.1	801.0	150.8	122.8	263.0	345.0	225.0
8	3.0	185.1	362.4	73.1	99.0	245.4	215.6	121.0
9	4.0	79.9	245.8	71.4	42.3	67.8	142.0	55.4
10	6.0	23.0	116.6	22.9	6.2	21.0	67.5	21.9
11	8.0	3.7	83.6	8.0	-	-	18.4	11.3
12	12.0	-	66.5	-	-	-	-	4.6

**(1)= 1<sup>er</sup> Ingreso**

**(2)= 2<sup>do</sup> Ingreso**

**ANEXO 17A: Valores de las concentraciones (ng/mL) medidas en los tiempos de extracción del producto de prueba del d4T.**

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 001 (1)	Paciente 002 (1)	Paciente 003 (2)	Paciente 004 (2)	Paciente 005 (2)	Paciente 006 (1)	Paciente 007 (1)
1	0.0	-	-	-	-	-	-	-
2	0.25	9.7	35.0	5.6	11.6	47.8	230.3	112.0
3	0.50	22.1	1351.3	9.4	146.5	139.7	1768.4	1249.0
4	0.75	53.9	870.7	22.4	313.4	246.4	1026.8	659.9
5	1.0	1219.8	622.5	283.3	384.4	338.9	807.1	505.7
6	1.5	893.1	402.9	221.6	679.2	550.2	450.5	290.1
7	2.0	459.5	411.3	113.4	370.9	481.5	402.4	195.1
8	3.0	427.0	175.9	88.3	252.0	119.2	200.5	89.0
9	4.0	380.4	91.7	75.8	197.1	134.5	42.4	43.9
10	6.0	131.6	28.2	10.8	142.7	41.4	45.3	19.9
11	8.0	76.2	7.1	-	-	41.7	-	14.4
12	12.0	4.9	3.6	-	-	39.8	61.5	3.7

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 008 (1)	Paciente 009 (2)	Paciente 010 (1)	Paciente 011 (2)	Paciente 012 (1)	Paciente 013 (2)	Paciente 014 (2)
1	0.0	-	-	-	-	-	-	-
2	0.25	-	90.5	11.0	143.6	-	59.0	129.9
3	0.50	-	604.3	424.2	864.6	-	76.3	352.7
4	0.75	68.0	907.6	758.0	492.9	11.7	771.3	412.9
5	1.0	190.2	415.4	568.0	309.9	256.5	489.1	473.2
6	1.5	962.7	212.3	504.5	261.7	457.7	394.2	318.7
7	2.0	313.4	113.2	411.2	143.1	520.0	281.0	226.1
8	3.0	343.5	102.2	317.0	85.0	355.0	213.0	163.8
9	4.0	180.9	61.5	158.8	50.7	92.0	116.1	63.7
10	6.0	35.1	69.8	56.0	38.7	46.3	40.8	40.3
11	8.0	-	49.1	19.5	42.3	-	10.6	15.3
12	12.0	-	30.6	4.6	4.8	5.0	-	-

**(1)= 1<sup>er</sup> Ingreso**

**(2)= 2<sup>do</sup> Ingreso**

**ANEXO 18: Valores de las concentraciones ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) medidas en los tiempos de extracción del producto de prueba del IDV.**

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 001(1)	Paciente 002 (1)	Paciente 003 (1)	Paciente 004 (2)	Paciente 005(1)	Paciente 006 (1)	Paciente 007 (2)
1	0.0	-	-	-	-	-	-	-
2	0.25	<b>2.90</b>	<b>0.47</b>	<b>0.07</b>	<b>0.39</b>	<b>0.03</b>	<b>5.30</b>	-
3	0.50	<b>3.27</b>	<b>8.66</b>	<b>10.72</b>	<b>3.47</b>	<b>0.20</b>	<b>13.30</b>	<b>0.74</b>
4	0.75	<b>3.57</b>	<b>10.29</b>	<b>11.07</b>	<b>6.67</b>	<b>0.48</b>	<b>8.76</b>	<b>6.34</b>
5	1.0	<b>6.15</b>	<b>9.80</b>	<b>6.19</b>	<b>8.46</b>	<b>5.42</b>	<b>8.21</b>	<b>14.72</b>
6	1.5	<b>5.06</b>	<b>7.29</b>	<b>4.28</b>	<b>9.46</b>	<b>6.21</b>	<b>5.36</b>	<b>12.10</b>
7	2.0	<b>1.36</b>	<b>6.67</b>	<b>2.70</b>	<b>5.86</b>	<b>2.30</b>	<b>4.39</b>	<b>8.58</b>
8	3.0	<b>1.10</b>	<b>2.66</b>	<b>1.19</b>	<b>3.99</b>	<b>0.82</b>	<b>3.52</b>	<b>5.48</b>
9	4.0	<b>0.10</b>	<b>1.04</b>	<b>0.66</b>	<b>1.35</b>	<b>0.69</b>	<b>1.31</b>	<b>4.02</b>
10	6.0	<b>0.05</b>	<b>0.34</b>	<b>0.25</b>	<b>0.44</b>	<b>0.25</b>	<b>0.34</b>	<b>1.10</b>
11	8.0	<b>0.02</b>	<b>0.12</b>	<b>0.08</b>	<b>0.33</b>	<b>0.05</b>	<b>0.34</b>	<b>0.36</b>
12	12.0	<b>0.01</b>	-	-	<b>0.03</b>	-	<b>0.03</b>	<b>0.09</b>

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 008 (1)	Paciente 009 (1)	Paciente 010 (2)	Paciente 011 (2)	Paciente 012 (2)	Paciente 013 (2)	Paciente 014 (2)
1	0.0	-	-	-	-	-	-	-
2	0.25	<b>0.03</b>	<b>1.36</b>	<b>0.30</b>	<b>0.11</b>	<b>0.69</b>	-	<b>0.15</b>
3	0.50	<b>2.80</b>	<b>2.63</b>	<b>1.99</b>	<b>1.66</b>	<b>6.99</b>	<b>0.12</b>	<b>4.27</b>
4	0.75	<b>6.73</b>	<b>4.60</b>	<b>7.65</b>	<b>5.13</b>	<b>11.40</b>	<b>6.46</b>	<b>12.27</b>
5	1.0	<b>8.26</b>	<b>1.70</b>	<b>6.38</b>	<b>6.23</b>	<b>10.68</b>	<b>9.11</b>	<b>11.70</b>
6	1.5	<b>6.88</b>	<b>1.35</b>	<b>5.61</b>	<b>11.71</b>	<b>7.37</b>	<b>7.68</b>	<b>7.02</b>
7	2.0	<b>4.53</b>	<b>0.65</b>	<b>5.18</b>	<b>8.38</b>	<b>4.68</b>	<b>5.31</b>	<b>5.90</b>
8	3.0	<b>2.53</b>	<b>0.32</b>	<b>1.89</b>	<b>5.49</b>	<b>2.00</b>	<b>2.51</b>	<b>3.43</b>
9	4.0	<b>1.04</b>	<b>0.21</b>	<b>0.95</b>	<b>3.68</b>	<b>0.71</b>	<b>1.02</b>	<b>1.35</b>
10	6.0	<b>0.33</b>	<b>0.14</b>	<b>0.18</b>	<b>1.03</b>	<b>0.36</b>	<b>0.14</b>	<b>0.19</b>
11	8.0	<b>0.24</b>	<b>0.11</b>	<b>0.04</b>	<b>0.30</b>	<b>0.31</b>	<b>0.08</b>	<b>0.05</b>
12	12.0	<b>0.12</b>	<b>0.09</b>	-	<b>0.12</b>	<b>0.14</b>	-	-

(1)= 1<sup>er</sup> Ingreso

(2)= 2<sup>do</sup> Ingreso

**ANEXO 18A: Valores de las concentraciones ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) medidas en los tiempos de extracción del producto de referencia del IDV.**

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 001(2)	Paciente 002 (2)	Paciente 003 (2)	Paciente 004 (1)	Paciente 005 (2)	Paciente 006 (2)	Paciente 007 (1)
1	0.0	-	-	-	-	-	-	-
2	0.25	<b>0.49</b>	<b>0.07</b>	<b>0.12</b>	<b>0.13</b>	<b>0.10</b>	<b>0.11</b>	<b>0.28</b>
3	0.50	<b>5.98</b>	<b>1.75</b>	<b>1.83</b>	<b>0.47</b>	<b>0.15</b>	<b>2.13</b>	<b>6.40</b>
4	0.75	<b>9.49</b>	<b>14.78</b>	<b>9.42</b>	<b>0.70</b>	<b>1.61</b>	<b>8.37</b>	<b>11.57</b>
5	1.0	<b>6.89</b>	<b>15.69</b>	<b>10.07</b>	<b>0.92</b>	<b>6.36</b>	<b>9.17</b>	<b>10.49</b>
6	1.5	<b>4.93</b>	<b>11.35</b>	<b>5.02</b>	<b>12.68</b>	<b>6.92</b>	<b>6.45</b>	<b>7.61</b>
7	2.0	<b>3.94</b>	<b>8.54</b>	<b>2.77</b>	<b>9.24</b>	<b>3.11</b>	<b>6.82</b>	<b>5.59</b>
8	3.0	<b>1.47</b>	<b>5.26</b>	<b>1.31</b>	<b>6.08</b>	<b>0.88</b>	<b>3.57</b>	<b>3.93</b>
9	4.0	<b>0.62</b>	<b>3.36</b>	<b>0.55</b>	<b>3.54</b>	<b>0.61</b>	<b>2.23</b>	<b>2.15</b>
10	6.0	<b>0.12</b>	<b>0.71</b>	<b>0.36</b>	<b>1.00</b>	<b>0.14</b>	<b>0.54</b>	<b>0.33</b>
11	8.0	<b>0.04</b>	<b>0.25</b>	<b>0.10</b>	<b>0.58</b>	<b>0.07</b>	<b>0.14</b>	<b>0.09</b>
12	12.0	-	<b>0.06</b>	-	<b>0.18</b>	<b>0.05</b>	<b>0.04</b>	<b>0.03</b>

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 008 (2)	Paciente 009 (2)	Paciente 010 (1)	Paciente 011 (1)	Paciente 012 (1)	Paciente 013 (1)	Paciente 014 (1)
1	0.0	-	-	-	-	-	-	-
2	0.25	<b>0.16</b>	-	-	<b>0.98</b>	<b>1.48</b>	<b>0.03</b>	<b>0.52</b>
3	0.50	<b>6.95</b>	<b>4.01</b>	<b>10.20</b>	<b>2.05</b>	<b>10.94</b>	<b>6.21</b>	<b>4.19</b>
4	0.75	<b>8.53</b>	<b>5.26</b>	<b>12.11</b>	<b>2.24</b>	<b>12.90</b>	<b>8.53</b>	<b>9.52</b>
5	1.0	<b>10.09</b>	<b>2.98</b>	<b>13.71</b>	<b>3.93</b>	<b>11.59</b>	<b>4.81</b>	<b>8.82</b>
6	1.5	<b>4.19</b>	<b>0.92</b>	<b>11.25</b>	<b>12.23</b>	<b>6.38</b>	<b>2.10</b>	<b>7.07</b>
7	2.0	<b>3.94</b>	<b>0.57</b>	<b>8.62</b>	<b>10.13</b>	<b>4.89</b>	<b>1.15</b>	<b>4.53</b>
8	3.0	<b>2.53</b>	<b>0.12</b>	<b>5.78</b>	<b>7.62</b>	<b>1.89</b>	<b>0.45</b>	<b>2.50</b>
9	4.0	<b>0.99</b>	<b>0.05</b>	<b>3.61</b>	<b>5.68</b>	<b>0.75</b>	<b>0.28</b>	<b>1.46</b>
10	6.0	<b>0.36</b>	-	<b>0.84</b>	<b>2.39</b>	<b>0.24</b>	<b>0.07</b>	<b>0.26</b>
11	8.0	<b>0.09</b>	-	<b>0.22</b>	<b>0.66</b>	<b>0.21</b>	<b>0.02</b>	<b>0.03</b>
12	12.0	<b>0.02</b>	-	-	<b>0.09</b>	-	-	-

(1)= 1<sup>er</sup> Ingreso

(2)= 2<sup>do</sup> Ingreso

**ANEXO 19: Valores de las concentraciones ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) medidas en los tiempos de extracción del producto de prueba de la NVP.**

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 001(1)	Paciente 002 (2)	Paciente 003 (1)	Paciente 004 (1)	Paciente 005(1)	Paciente 006 (1)	Paciente 007 (2)
1	<b>0.0</b>	-	-	-	-	-	-	-
2	<b>0.5</b>	0.23	0.14	0.10	0.43	1.34	1.94	1.74
3	<b>1.0</b>	0.99	0.47	0.17	1.19	1.74	2.42	2.26
4	<b>1.5</b>	0.94	1.15	1.40	1.30	1.99	2.83	2.47
5	<b>2.0</b>	0.85	0.96	1.58	1.62	2.19	2.56	2.22
6	<b>2.5</b>	1.28	0.68	1.26	1.56	2.76	2.59	2.32
7	<b>3.0</b>	1.43	1.07	1.50	1.24	1.99	2.86	1.61
8	<b>3.5</b>	1.26	1.27	1.41	1.02	1.84	2.19	1.99
9	<b>4.0</b>	1.35	1.13	1.68	0.95	1.51	2.74	2.04
10	<b>5.0</b>	1.53	0.77	1.50	0.65	1.80	2.71	1.85
11	<b>6.0</b>	1.30	0.91	1.38	0.44	1.58	2.69	1.71
12	<b>8.0</b>	1.49	1.17	1.10	0.38	1.50	1.93	1.69
13	<b>12.0</b>	1.03	0.69	1.13	0.39	1.26	1.96	1.55

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 008 (2)	Paciente 010 (2)	Paciente 011 (1)	Paciente 012 (2)
1	<b>0.0</b>	-	-	-	-
2	<b>0.5</b>	0.87	0.32	1.23	0.43
3	<b>1.0</b>	1.51	2.00	1.82	0.74
4	<b>1.5</b>	0.89	1.63	1.39	0.84
5	<b>2.0</b>	1.28	1.65	1.63	0.87
6	<b>2.5</b>	1.05	1.66	1.64	1.28
7	<b>3.0</b>	1.31	1.69	1.51	1.07
8	<b>3.5</b>	1.33	1.09	1.62	1.26
9	<b>4.0</b>	1.41	0.91	1.52	0.96
10	<b>5.0</b>	1.47	0.60	1.36	1.47
11	<b>6.0</b>	1.58	0.40	1.31	1.43
12	<b>8.0</b>	1.12	0.56	1.32	1.43
13	<b>12.0</b>	0.95	0.53	1.16	1.32

**(1)= 1<sup>er</sup> Ingreso**

**(2)= 2<sup>do</sup> Ingreso**

**ANEXO 19A: Valores de las concentraciones ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) medidas en los tiempos de extracción del producto de referencia de la NVP.**

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 001(2)	Paciente 002 (1)	Paciente 003 (2)	Paciente 004 (2)	Paciente 005 (2)	Paciente 006 (2)	Paciente 007 (1)
1	<b>0.0</b>	-	-	-	-	-	-	-
2	<b>0.5</b>	0.16	0.10	0.22	0.84	1.93	1.58	0.98
3	<b>1.0</b>	0.37	0.68	0.79	2.18	2.80	2.13	2.32
4	<b>1.5</b>	1.06	0.74	1.17	0.92	2.72	1.97	2.11
5	<b>2.0</b>	0.60	0.78	1.54	0.88	2.53	2.17	2.15
6	<b>2.5</b>	1.31	0.84	2.20	0.94	2.22	2.57	2.13
7	<b>3.0</b>	1.33	1.18	1.93	1.08	2.08	2.31	1.79
8	<b>3.5</b>	1.38	1.26	1.63	0.96	2.12	2.04	2.05
9	<b>4.0</b>	1.25	0.91	1.63	0.91	1.84	2.27	1.74
10	<b>5.0</b>	1.43	0.86	1.63	0.86	1.50	2.01	1.87
11	<b>6.0</b>	1.52	0.86	1.67	0.68	2.11	1.77	1.66
12	<b>8.0</b>	1.31	0.87	1.27	0.68	1.43	2.05	1.55
13	<b>12.0</b>	0.43	0.82	1.22	0.65	1.50	1.29	1.42

Muestra No.	Tiempo (hora)	Paciente 008 (1)	Paciente 010 (1)	Paciente 011 (2)	Paciente 012(1)
1	<b>0.0</b>	-	-	-	-
2	<b>0.5</b>	0.63	1.01	1.50	0.63
3	<b>1.0</b>	0.49	1.30	1.60	1.11
4	<b>1.5</b>	0.58	1.24	1.94	1.02
5	<b>2.0</b>	0.69	1.24	1.74	1.00
6	<b>2.5</b>	0.62	1.12	1.33	1.35
7	<b>3.0</b>	1.03	1.31	1.33	0.89
8	<b>3.5</b>	1.17	1.62	1.04	0.90
9	<b>4.0</b>	1.43	1.42	1.04	0.93
10	<b>5.0</b>	1.41	1.11	0.88	0.80
11	<b>6.0</b>	1.39	1.16	1.33	0.92
12	<b>8.0</b>	1.39	1.12	1.21	0.85
13	<b>12.0</b>	0.98	1.01	1.18	0.84

**(1)= 1<sup>er</sup> Ingreso**

**(2)= 2<sup>do</sup> Ingreso**

**ANEXO 20: Parámetros farmacocinéticos del producto de prueba (d4T).**

<b>Pcte</b>	<b>C<sub>max</sub> (ng/mL)</b>	<b>LN C<sub>max</sub> (ng/mL)</b>	<b>T<sub>max</sub> (horas)</b>	<b>Flu</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-12/0-∞</sub> (%)</b>	<b>LN AUC<sub>0-12</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> (ng/mL.h)</b>
1	1219,8	7,11	1,0	1,00	2769,225	2796,003	99,0	7,926	7,936
2	1351,3	7,21	0,5	0,99	1705,963	1713,828	99,5	7,442	7,446
3	283,3	5,65	1,0	0,96	524,238	599,725	87,4	6,262	6,396
4	679,2	6,52	1,5	0,79	1570,150	1494,800	105,0	7,359	7,310
5	550,2	6,31	1,5	0,93	1480,237	1711,065	86,5	7,300	7,445
6	1768,4	7,48	0,5	0,96	2063,788	2295,132	89,9	7,632	7,739
7	1249,0	7,13	0,5	1,0	1216,488	1224,871	99,3	7,104	7,111
8	962,7	6,87	1,5	0,96	1454,675	1584,069	91,8	7,283	7,368
9	907,6	6,81	0,75	0,97	1289,975	1427,181	90,3	7,162	7,263
10	758,0	6,63	0,75	0,99	1806,850	1820,195	99,2	7,499	7,507
11	864,6	6,76	0,5	0,99	1104,613	1118,029	98,8	7,007	7,019
12	520,0	6,25	2,0	0,99	1313,563	1330,044	98,8	7,180	7,193
13	771,3	6,65	0,75	0,99	1297,263	1326,823	97,8	7,168	7,191
14	473,2	6,16	1,0	0,97	1085,500	1122,622	96,7	6,990	7,023
<b>X</b>	<b>882,8</b>	<b>6,68</b>	<b>0,98</b>	<b>0,96</b>	<b>1477,323</b>	<b>1540,313</b>	<b>95,7</b>	<b>7,236</b>	<b>7,282</b>
<b>DE</b>	<b>401,7</b>	<b>0,48</b>	<b>0,48</b>	<b>0,05</b>	<b>522,280</b>	<b>535,490</b>	<b>5,50</b>	<b>0,380</b>	<b>0,360</b>
<b>MG</b>	-	<b>6,66</b>	-	-	-	-	-	<b>7,227</b>	<b>7,273</b>

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **MG:** media geométrica;  
**AUC<sub>0-12/0-∞</sub>:** indica si la AUC es homogéneamente proporcional al fármaco en el organismo (<80 no, y >80 si).

**ANEXO 20A: Parámetros farmacocinéticos del producto de referencia (d4T).**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> (ng/mL)</b>	<b>LN C<sub>max</sub> (ng/mL)</b>	<b>T<sub>max</sub> (horas)</b>	<b>Flu</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-12/0-∞</sub> (%)</b>	<b>LN AUC<sub>0-12</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> (ng/mL.h)</b>
1	494,9	6,20	0,75	0,86	1322,213	2532,041	52,2	7,187	7,837
2	683,3	6,53	1,5	0,98	1752,737	1863,082	94,1	7,469	7,530
3	1310,1	7,18	0,75	0,96	1945,563	2069,217	94,0	7,573	7,635
4	775,9	6,65	1,0	1,0	978,013	982,774	99,5	6,886	6,890
5	1017,9	6,93	0,75	0,99	905,025	911,692	99,3	6,808	6,815
6	1503,1	7,32	0,75	0,94	2734,622	3173,398	86,2	7,914	8,063
7	641,0	6,46	1,5	0,98	1282,636	1306,168	98,2	7,157	7,175
8	462,1	6,14	2,0	0,99	1067,880	1073,866	99,4	6,973	6,979
9	801,0	6,69	2,0	0,92	2246,075	2878,875	78,0	7,717	7,965
10	868,3	6,77	0,5	0,99	1016,475	1036,974	98,0	6,924	6,944
11	570,6	6,35	1,0	0,99	669,100	683,004	98,0	6,506	6,527
12	535,8	6,28	0,75	0,96	1013,250	1089,237	93,0	6,921	6,993
13	486,7	6,19	1,5	0,96	1315,863	1387,273	95,0	7,182	7,235
14	668,0	6,50	1,0	0,99	1084,325	1096,214	98,9	6,989	7,000
<b>X</b>	<b>772,7</b>	<b>6,58</b>	<b>1,13</b>	<b>0,97</b>	<b>1380,984</b>	<b>1577,41</b>	<b>91,7</b>	<b>7,157</b>	<b>7,2562</b>
<b>DE</b>	<b>313,9</b>	<b>0,36</b>	<b>0,48</b>	<b>0,04</b>	<b>582,09</b>	<b>794,10</b>	<b>12,8</b>	<b>0,387</b>	<b>0,4711</b>
<b>MG</b>	-	<b>6,57</b>	-	-	-	-	-	<b>1283,740</b>	<b>1416,930</b>

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **MG:** media geométrica;  
**AUC<sub>0-12/0-∞</sub>:** indica si la AUC es homogéneamente proporcional al fármaco en el organismo (<80 no, y >80 si).

**ANEXO 21: Parámetros farmacocinéticos del producto de prueba (3TC).**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> (ng/mL)</b>	<b>LN C<sub>max</sub> (ng/mL)</b>	<b>T<sub>max</sub> (horas)</b>	<b>Flu</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-12/0-∞</sub> (%)</b>	<b>LN AUC<sub>0-12</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> (ng/mL.h)</b>
<b>1</b>	2185,72	7,69	0,75	0,99	4335,28	4360,54	99,4	8,375	7,689
<b>2</b>	823,84	6,71	1,00	0,98	1714,88	1750,79	97,9	7,447	6,714
<b>3</b>	1530,12	7,33	0,75	0,97	3031,68	3171,19	95,6	8,017	7,333
<b>4</b>	2183,91	7,69	0,75	0,98	5349,50	5484,80	97,5	8,585	7,689
<b>5</b>	1612,00	7,39	1,50	0,98	5779,01	5974,91	96,7	8,662	7,385
<b>6</b>	3002,28	8,01	0,75	0,98	6087,00	6226,10	97,8	8,714	8,007
<b>7</b>	1749,61	7,47	0,75	0,98	4584,14	4694,37	97,7	8,430	7,467
<b>8</b>	825,98	6,72	1,00	0,95	3150,29	3316,35	95,0	8,055	6,717
<b>9</b>	655,56	6,49	2,00	0,95	3040,16	3134,96	97,0	8,020	6,486
<b>10</b>	1548,77	7,35	0,75	0,99	2787,10	2825,10	98,7	7,933	7,345
<b>11</b>	1076,06	6,98	1,50	0,95	2632,18	2793,83	94,2	7,876	6,981
<b>12</b>	546,61	6,30	0,75	0,96	944,66	1002,58	94,2	6,851	6,304
<b>13</b>	852,64	6,75	1,50	0,94	3563,55	3735,61	88,2	8,179	6,748
<b>X</b>	<b>1430,24</b>	<b>7,14</b>	<b>1,06</b>	<b>0,97</b>	<b>3615,34</b>	<b>3728,55</b>	<b>96,2</b>	<b>8,088</b>	<b>7,144</b>
<b>DE</b>	<b>726,98</b>	<b>0,52</b>	<b>0,42</b>	<b>0,02</b>	<b>1542,24</b>	<b>1569,66</b>	<b>2,89</b>	<b>0,52</b>	<b>0,52</b>
<b>MG</b>	-	<b>7,13</b>	-	-	-	-	-	<b>3254,70</b>	<b>3366,24</b>

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **MG:** media geométrica;  
**AUC<sub>0-12/0-∞</sub>:** indica si la AUC es homogéneamente proporcional al fármaco en el organismo (<80 no, y >80 si).

**ANEXO 21A: Parámetros farmacocinéticos del producto de referencia (3TC).**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> (ng/mL)</b>	<b>LN C<sub>max</sub> (ng/mL)</b>	<b>T<sub>max</sub> (horas)</b>	<b>Flu</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-12/0-∞</sub> (%)</b>	<b>LN AUC<sub>0-12</sub> (ng/mL.h)</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> (ng/mL.h)</b>
<b>1</b>	2368,87	7,77	0,75	0,99	3913,08	3959,59	98,8	8,272	8,284
<b>2</b>	809,07	6,70	0,75	0,90	3022,37	3888,91	77,7	8,014	8,266
<b>3</b>	1502,11	7,31	0,75	0,97	3745,24	3837,42	97,6	8,228	8,253
<b>4</b>	1689,62	7,43	0,75	0,78	7282,37	5720,37	127,3	8,893	8,652
<b>5</b>	2146,13	7,67	0,75	0,99	5235,70	5297,81	98,8	8,563	8,575
<b>6</b>	2243,76	7,72	1,50	0,98	7315,17	7456,47	98,1	8,898	8,919
<b>7</b>	1612,89	7,39	1,00	0,98	4696,17	4813,76	97,6	8,455	8,479
<b>8</b>	607,29	6,41	1,50	0,91	2917,24	3181,56	91,7	7,978	8,065
<b>9</b>	1460,07	7,29	0,75	0,97	4363,16	4474,52	97,5	8,381	8,406
<b>10</b>	830,78	6,72	1,50	0,98	3032,37	3064,20	99,0	8,017	8,028
<b>11</b>	833,82	6,73	0,75	0,98	2030,37	2102,99	96,5	7,616	7,651
<b>12</b>	588,34	6,38	0,75	0,95	1352,33	1443,80	93,7	7,210	7,275
<b>13</b>	637,48	6,46	1,50	0,87	2964,55	3359,70	88,2	7,995	8,120
<b>X</b>	<b>1333,10</b>	<b>7,07</b>	<b>1,0</b>	<b>0,94</b>	<b>3990,01</b>	<b>4046,239</b>	<b>97,1</b>	<b>8,194</b>	<b>8,228</b>
<b>DE</b>	<b>655,41</b>	<b>0,52</b>	<b>0,35</b>	<b>0,06</b>	<b>1802,90</b>	<b>1570,02</b>	<b>10,88</b>	<b>0,47</b>	<b>0,43</b>
<b>MG</b>	-	<b>7,06</b>	-	-	-	-	-	<b>3618,41</b>	<b>3746,02</b>

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **MG:** media geométrica; **AUC<sub>0-12/0-∞</sub>:** indica si la AUC es homogéneamente proporcional al fármaco en el organismo (<80 no, y >80 si).

**ANEXO 22: Parámetros farmacocinéticos del producto de prueba (AZT).**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> (ug/mL)</b>	<b>LN C<sub>max</sub> (ug/mL)</b>	<b>T<sub>max</sub> (horas)</b>	<b>Flu</b>	<b>AUC<sub>0-8</sub> (ug/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (ug/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-8/0-∞</sub> (%)</b>	<b>LN AUC<sub>0-8</sub> (ug/mL.h)</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> (ug/mL.h)</b>
1	3,32	1,20	0,50	0,99	3,538	3,563	99,3	1,26	1,27
2	5,71	1,74	0,50	0,99	5,676	5,705	99,5	1,74	1,74
3	5,09	1,63	0,25	0,99	3,355	3,381	99,2	1,21	1,22
4	1,70	0,53	1,00	0,97	4,160	4,25677	97,7	1,43	1,45
5	1,45	0,37	0,50	0,99	1,850	1,886	98,1	0,62	0,63
6	3,14	1,14	1,00	0,99	4,915	4,960	99,1	1,59	1,60
7	2,63	0,97	1,50	0,98	6,420	6,515	98,5	1,86	1,87
8	2,04	0,71	1,50	0,98	4,615	4,677	98,9	1,53	1,54
9	5,61	1,72	0,75	0,99	5,350	5,419	98,7	1,68	1,69
10	3,08	1,12	0,50	0,99	3,970	4,005	99,1	1,38	1,39
11	4,03	1,39	0,50	0,99	7,399	7,452	99,3	2,00	2,01
12	4,37	1,47	0,50	0,98	6,218	6,347	98,0	1,83	1,85
13	3,91	1,36	0,75	0,99	3,703	3,736	99,1	1,31	1,32
<b>X</b>	<b>3,55</b>	<b>1,18</b>	<b>0,75</b>	<b>0,99</b>	<b>4,705</b>	<b>4,762</b>	<b>98,8</b>	<b>1,49</b>	<b>1,51</b>
<b>DE</b>	<b>1,41</b>	<b>0,44</b>	<b>0,40</b>	<b>0,01</b>	<b>1,50</b>	<b>1,52</b>	<b>0,57</b>	<b>0,36</b>	<b>0,36</b>
<b>MG</b>	-	<b>1,08</b>	-	-	-	-	-	<b>4,46</b>	<b>4,51</b>

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **MG:** media geométrica;  
**AUC<sub>0-8/0-∞</sub>:** indica si la AUC es homogéneamente proporcional al fármaco en el organismo (<80 no, y >80 si).

**ANEXO 22A: Parámetros farmacocinéticos del producto de referencia (AZT).**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> (ug/mL)</b>	<b>LN C<sub>max</sub> (ug/mL)</b>	<b>T<sub>max</sub> (horas)</b>	<b>Flu</b>	<b>AUC<sub>0-8</sub> (ug/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (ug/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0.8/0-∞</sub> (%)</b>	<b>LN AUC<sub>0.8</sub> (ug/mL.h)</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> (ug/mL.h)</b>
1	4,06	1,40	0,75	0,99	3,464	3,506	98,8	1,24	1,25
2	5,41	1,69	0,50	0,99	5,410	5,444	99,4	1,69	1,69
3	3,09	1,13	0,25	0,99	2,308	2,348	98,3	0,84	0,85
4	1,92	0,65	0,75	0,98	3,476	3,524	98,6	1,25	1,26
5	3,89	1,36	0,50	0,99	4,681	4,743	98,7	1,54	1,56
6	3,48	1,25	1,00	0,99	6,245	6,521	95,8	1,83	1,87
7	1,70	0,53	2,00	0,94	5,743	5,924	96,9	1,75	1,78
8	3,14	1,14	0,75	0,99	5,260	5,313	99,0	1,66	1,67
9	3,27	1,18	1,00	0,99	4,889	4,948	98,8	1,59	1,60
10	1,66	0,51	2,00	0,98	3,768	3,841	98,1	1,33	1,35
11	3,84	1,35	0,75	0,99	5,954	6,032	98,7	1,78	1,80
12	6,10	1,81	0,25	0,99	5,466	5,536	98,7	1,70	1,71
13	4,53	1,51	0,50	1,0	3,584	3,631	98,7	1,28	1,29
<b>X</b>	<b>3,55</b>	<b>1,19</b>	<b>0,85</b>	<b>0,99</b>	<b>4,634</b>	<b>4,716</b>	<b>98,3</b>	<b>1,50</b>	<b>1,51</b>
<b>DE</b>	<b>1,34</b>	<b>0,41</b>	<b>0,56</b>	<b>0,02</b>	<b>1,20</b>	<b>1,24</b>	<b>0,96</b>	<b>0,29</b>	<b>0,29</b>
<b>MG</b>	-	<b>1,11</b>	-	-	-	-	-	<b>4,47</b>	<b>4,55</b>

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **MG:** media geométrica; **AUC<sub>0.8/0-∞</sub>:** indica si la AUC es homogéneamente proporcional al fármaco en el organismo (<80 no, y >80 si).

**ANEXO 23: Parámetros farmacocinéticos del producto de prueba (IDV).**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> (ug/mL)</b>	<b>LN C<sub>max</sub> (ug/mL)</b>	<b>T<sub>max</sub> (horas)</b>	<b>Flu</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub> (ug/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (ug/mL.h)</b>	<b>AUC<sub>0-12/0-∞</sub> (%)</b>	<b>LN AUC<sub>0-12</sub> (ug/mL.h)</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> (ug/mL.h)</b>
1	6,15	1,82	1,0	99,8	9,721	9,721	99,9	2,274	2,274
2	10,29	2,33	0,75	98,8	22,198	22,443	98,9	3,100	3,111
3	11,07	2,40	0,75	99,3	14,711	14,887	98,8	2,689	2,701
4	9,46	2,25	1,5	99,7	22,875	22,949	99,7	3,130	3,133
5	6,21	1,83	1,5	99,2	9,445	9,675	97,6	2,246	2,270
6	13,30	2,59	0,5	99,8	23,136	23,197	99,7	3,141	3,144
7	14,72	2,69	1,0	99,4	34,838	35,079	99,3	3,551	3,558
8	8,26	2,11	1,0	98,5	18,040	18,497	97,5	2,892	2,918
9	4,60	1,53	0,75	98,0	5,373	5,653	95,1	1,681	1,732
10	7,65	2,03	0,75	99,5	15,283	15,359	99,5	2,727	2,732
11	11,71	2,46	1,5	99,0	30,411	30,882	98,5	3,415	3,430
12	11,40	2,43	0,75	98,8	20,965	21,363	98,1	3,043	3,062
13	9,11	2,21	1,0	99,1	17,254	17,414	99,1	2,848	2,857
14	12,27	2,51	0,75	99,6	22,380	22,474	99,6	3,108	3,112
<b>X</b>	<b>9,73</b>	<b>2,23</b>	<b>0,96</b>	<b>99,2</b>	<b>19,045</b>	<b>19,257</b>	<b>98,7</b>	<b>2,846</b>	<b>2,860</b>
<b>DE</b>	<b>2,93</b>	<b>0,33</b>	<b>0,32</b>	<b>0,52</b>	<b>8,03</b>	<b>8,07</b>	<b>1,28</b>	<b>0,50</b>	<b>0,49</b>
<b>MG</b>	-	<b>2,20</b>	-	-	-	-	-	<b>17,220</b>	<b>17,453</b>

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **MG:** media geométrica;  
**AUC<sub>0-12/0-∞</sub>:** indica si la AUC es homogéneamente proporcional al fármaco en el organismo (<80 no, y >80 si).

**ANEXO 23A: Parámetros farmacocinéticos del producto de referencia (IDV).**

Pctes	C <sub>max</sub> (ug/mL)	LN C <sub>max</sub> (ug/mL)	T <sub>max</sub> (horas)	Flu	AUC <sub>0-12</sub> (ug/mL.h)	AUC <sub>0-∞</sub> (ug/mL.h)	AUC <sub>0-12/0-∞</sub> (%)	LN AUC <sub>0-12</sub> (ug/mL.h)	LN AUC <sub>0-∞</sub> (ug/mL.h)
1	9,49	2,25	0,75	99,6	14,674	14,738	99,6	2,686	2,690
2	15,69	2,75	1,0	99,6	34,704	34,881	99,5	3,547	3,552
3	10,07	2,31	1,0	99,0	14,161	14,419	98,2	2,651	2,669
4	12,68	2,54	1,5	98,6	29,430	31,019	94,9	3,382	3,435
5	6,92	1,93	1,5	99,3	10,965	11,075	99,0	2,395	2,405
6	9,17	2,22	1,0	99,8	22,926	23,035	99,5	3,132	3,137
7	11,57	2,45	0,75	99,7	24,639	24,703	99,7	3,204	3,207
8	10,09	2,31	1,0	99,8	17,789	17,832	99,8	2,879	2,881
9	5,26	1,66	0,75	99,1	4,468	4,504	99,2	1,497	1,505
10	13,71	2,62	1,0	98,4	35,904	36,312	98,9	3,581	3,592
11	12,23	2,50	1,5	99,3	39,584	39,922	99,2	3,678	3,687
12	12,90	2,56	0,75	98,4	21,239	21,636	98,2	3,056	3,074
13	8,53	2,14	0,75	98,8	8,439	8,439	100,0	2,133	2,133
14	9,52	2,25	0,75	99,7	19,038	19,089	99,7	2,946	2,949
<b>X</b>	<b>10,56</b>	<b>2,32</b>	<b>1,0</b>	<b>99,2</b>	<b>21,283</b>	<b>21,543</b>	<b>98,9</b>	<b>2,912</b>	<b>2,923</b>
<b>DE</b>	<b>2,77</b>	<b>0,29</b>	<b>0,29</b>	<b>0,51</b>	<b>10,65</b>	<b>10,83</b>	<b>1,29</b>	<b>0,61</b>	<b>0,61</b>
<b>MG</b>	-	<b>2,30</b>	-	-	-	-	-	<b>18,392</b>	<b>18,588</b>

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **MG:** media geométrica; **AUC<sub>0-12/0-∞</sub>:** indica si la AUC es homogéneamente proporcional al fármaco en el organismo (<80 no, y >80 si).

**ANEXO 24: Parámetros farmacocinéticos del producto de prueba (NVP).**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> (ug/mL)</b>	<b>LN C<sub>max</sub> (ug/mL)</b>	<b>T<sub>max</sub> (horas)</b>	<b>AUC 0-12 (ug.h/mL)</b>	<b>LN AUC<sub>0-12</sub> (ug.h/mL)</b>	<b>AUC 0-∞ (ug.h/mL)</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> (ug.h/mL)</b>
<b>1</b>	1,53	0,43	5,0	14,593	2,68	41,823	3,73
<b>2</b>	1,27	0,24	3,5	10,742	2,37	32,095	3,46
<b>3</b>	1,68	0,52	4,0	14,1	2,64	34,358	3,53
<b>4</b>	1,62	0,48	2,0	8,122	2,09	11,153	2,41
<b>5</b>	2,76	1,02	2,5	19,248	2,95	58,606	4,07
<b>6</b>	2,86	1,05	3,0	27,205	3,30	140,501	4,94
<b>7</b>	2,47	0,90	1,5	21,42	3,06	70,664	4,25
<b>8</b>	1,58	0,46	6,0	14,278	2,65	518,03	6,25
<b>10</b>	2	0,69	1,0	9,643	2,26	14,248	2,65
<b>11</b>	1,82	0,60	1,0	16,165	2,78	64,758	4,17
<b>12</b>	1,47	0,39	5,0	14,59	2,68	39,807	3,69
<b>X</b>	<b>1,91</b>	<b>0,62</b>	<b>3,14</b>	<b>15,46</b>	<b>2,68</b>	<b>93,28</b>	<b>3,93</b>
<b>DE</b>	<b>0,54</b>	<b>0,27</b>	<b>1,72</b>	<b>5,50</b>	<b>0,35</b>	<b>145,22</b>	<b>1,05</b>
<b>MG</b>	-	<b>0,56</b>	-	-	<b>2,66</b>	-	<b>3,80</b>

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **MG:** media geométrica

**ANEXO 24A: Parámetros farmacocinéticos del producto de referencia (NVP).**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> (ug/mL)</b>	<b>LN C<sub>max</sub> (ug/mL)</b>	<b>T<sub>max</sub> (horas)</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub> (ug.h/mL)</b>	<b>LN AUC<sub>0-12</sub> (ug.h/mL)</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> (ug.h/mL)</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> (ug.h/mL)</b>
<b>1</b>	1,52	0,42	6,0	12,543	2,52	40,433	3,69
<b>2</b>	1,26	0,23	3,5	9,872	2,28	28,298	3,34
<b>3</b>	2,20	0,79	2,5	16,348	2,79	51,830	3,94
<b>4</b>	2,18	0,78	1,0	9,803	2,28	19,567	2,97
<b>5</b>	2,80	1,03	1,0	21,535	3,06	47,561	3,86
<b>6</b>	2,57	0,94	2,5	22,483	3,11	73,535	4,29
<b>7</b>	2,32	0,84	1,0	19,920	2,99	99,244	4,59
<b>8</b>	1,43	0,36	4	13,303	2,58	35,728	3,57
<b>10</b>	1,62	0,48	3,5	13,715	2,61	88,665	4,48
<b>11</b>	1,94	0,66	1,5	14,885	2,70	44,438	3,79
<b>12</b>	1,35	0,30	2,5	10,558	2,35	83,698	4,42
<b>X</b>	<b>1,93</b>	<b>0,62</b>	<b>2,64</b>	<b>15,00</b>	<b>2,66</b>	<b>55,73</b>	<b>3,90</b>
<b>DE</b>	<b>0,52</b>	<b>0,28</b>	<b>1,55</b>	<b>4,56</b>	<b>0,30</b>	<b>26,42</b>	<b>0,51</b>
<b>MG</b>	-	<b>0,56</b>	-	-	<b>2,65</b>	-	<b>3,87</b>

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **MG:** media geométrica

## **ANEXO 25: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Cmax de AZT.**

### **Paired T-Test Report**

Variable : X1 = CONC\_R, X2 = CONC\_P

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
CONC_R	13	3.545385	1.338423	0.3712118	2.736583	4.354186
CONC_P	13	3.544615	1.405754	0.3898859	2.695127	4.394104
Difference	13	7.692308E-02	1.406399	0.3900649	-0.8491091	0.8506476

T for Confidence Limits = 2.1788

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
CONC_R-CONC_P<>0	0.0020	0.998459	Accept Ho	0.050000	0.010000
CONC_R-CONC_P<0	0.0020	0.500771	Accept Ho	0.049808	0.009953
CONC_R-CONC_P>0	0.0020	0.499229	Accept Ho	0.050193	0.010047

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	6	7	0.500000	0.709473	1.000000

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
48	45.5	14.30909	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability			Approximation Without Continuity Correction		Approximation With Continuity Correction		
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.892578	Accept Ho	0.1747	0.861304	Accept Ho	0.1398	0.888841	Accept Ho
X1-X2<0	0.580322	Accept Ho	0.1747	0.569348	Accept Ho	0.2097	0.583032	Accept Ho
X1-X2>0	0.446289	Accept Ho	0.1747	0.430652	Accept Ho	0.1398	0.444420	Accept Ho

**ANEXO 25A: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Tmax de AZT.**

**Paired T-Test Report**

Variable: X1 = Tmax\_R, X2 = Tmax\_P

**Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
Tmax_R	13	0.8461539	0.5640115	0.1564287	0.5053251	1.186983
Tmax_P	13	0.75	0.3952847	0.1096323	0.5111318	0.9888682
Difference	13	9.615385E-02	0.5257778	0.1458245	-0.2215705	0.4138782

T for Confidence Limits = 2.1788

**T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
Tmax_R-Tmax_P<>0	0.6594	0.522105	Accept Ho	0.093324	0.023510
Tmax_R-Tmax_P<0	0.6594	0.738948	Accept Ho	0.011644	0.001760
Tmax_R-Tmax_P>0	0.6594	0.261052	Accept Ho	0.153365	0.041180

**Nonparametric Tests Section**

**Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Number Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	4	5	0.500000	0.746094	1.000000

**Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
46.5	40.5	13.88794	4	1	210

Alternative Hypothesis	Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.4320	0.665720	Accept Ho	0.3960	0.692085	Accept Ho
X1-X2<0	0.4320	0.667140	Accept Ho	0.4680	0.680119	Accept Ho
X1-X2>0	0.4320	0.332860	Accept Ho	0.3960	0.346043	Accept Ho

## **ANEXO 25B: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Flu de AZT**

### **Paired T-Test Report**

Variable: X1 = FLU\_R, X2 = FLU\_P

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
FLU_R	13	0.9853846	1.450022E-02	4.021638E-03	0.9766222	0.994147
FLU_P	13	0.9861538	6.504436E-03	1.804006E-03	0.9822233	0.9900844
Difference	13	-7.692308E-04	1.320451E-02	3.662271E-03	-8.748634E-03	7.210172E-03

T for Confidence Limits = 2.1788

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Level	ProbDecision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
FLU_R-FLU_P<>0	-0.2100	0.837159	Accept Ho	0.054314	0.011264
FLU_R-FLU_P<0	-0.2100	0.418579	Accept Ho	0.074038	0.016243
FLU_R-FLU_P>0	-0.2100	0.581421	Accept Ho	0.032631	0.005958

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	2	4	0.343750	0.890625	0.687500

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
40	31.5	12.93252	7	1	120

Alternative Hypothesis	Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.6573	0.511015	Accept Ho	0.6186	0.536183	Accept Ho
X1-X2<0	0.6573	0.744492	Accept Ho	0.6959	0.756761	Accept Ho
X1-X2>0	0.6573	0.255508	Accept Ho	0.6186	0.268091	Accept Ho

## **ANEXO 25C: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro $AUC_{0-8}$ de AZT.**

### **Paired T-Test Report**

Variable: X1 = AUC\_R, X2 = AUC\_P

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
AUC_R	13	4.634354	1.200551	0.332973	3.908868	5.35984
AUC_P	13	4.705246	1.502069	0.4165989	3.797555	5.612937
Difference	13	-0.0708923	1.123837	0.3116964	-0.7500204	0.6082358

T for Confidence Limits = 2.1788

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
AUC_R-AUC_P<>0	-0.2274	0.823910	Accept Ho	0.055060	0.011485
AUC_R-AUC_P<0	-0.2274	0.411955	Accept Ho	0.076369	0.016885
AUC_R-AUC_P>0	-0.2274	0.588045	Accept Ho	0.031449	0.005700

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	10	3	0.988770	0.046143	0.092285

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
30	45.5	14.30909	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction		Approximation With Continuity Correction	
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)	Decision (5%)	Z-Value
X1-X2<>0	0.305420	Accept Ho	1.0832	0.278707	Accept Ho	1.0483
X1-X2<0	0.152710	Accept Ho	-1.0832	0.139354	Accept Ho	-1.0483
X1-X2>0	0.863281	Accept Ho	-1.0832	0.860646	Accept Ho	-1.1182

## **ANEXO 25D: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro $AUC_{0-\infty}$ de AZT**

### **Paired T-Test Report**

Variable: X1 = AUCINF R, X2 = AUCINF P

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
AUCINFR	13	4.716169	1.241725	0.3443924	3.965803	5.466536
AUCINFP	13	4.761531	1.518862	0.4212565	3.843692	5.67937
Difference	13	-4.536154E-02	1.152158	0.3195511	-0.7416037	0.6508806

T for Confidence Limits = 2.1788

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
AUCINFR-AUCINFP<>0	-0.1420	0.889472	Accept Ho	0.051968	0.010574
AUCINFR-AUCINFP<0	-0.1420	0.444736	Accept Ho	0.065433	0.013929
AUCINFR-AUCINFP>0	-0.1420	0.555264	Accept Ho	0.037615	0.007073

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	10	3	0.988770	0.046143	0.092285

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
32	45.5	14.30909	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction		Approximation With Continuity Correction		Decision	
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value		Prob Level
X1-X2<>0	0.375732	Accept Ho	0.9435	0.345448	Accept Ho	0.9085	0.363607	Accept Ho
X1-X2<0	0.187866	Accept Ho	-0.9435	0.172724	Accept Ho	-0.9085	0.181803	Accept Ho
X1-X2>0	0.830200	Accept Ho	-0.9435	0.827276	Accept Ho	-0.9784	0.836062	Accept Ho

## **ANEXO 26: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Cmax de d4T**

### **Paired T-Test Report**

Variable: X1 = Cmax\_\_P, X2 = Cmax\_\_R

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
Cmax__P	14	882.6143	401.3556	107.2668	650.8785	1114.35
Cmax__R	14	772.4072	313.2759	83.7265	591.527	953.2872
Difference	14	110.2071	479.3102	128.101	-166.5383	386.9526

T for Confidence Limits = 2.1604

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
Cmax__P-Cmax__R<>0	0.8603	0.405203	Accept Ho	0.125571	0.034925
Cmax__P-Cmax__R<0	0.8603	0.797398	Accept Ho	0.006901	0.000951
Cmax__P-Cmax__R>0	0.8603	0.202602	Accept Ho	0.203579	0.060398

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	6	8	0.395264	0.788025	0.790527

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
70	52.5	15.92953	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.295776	Accept Ho	1.0986	0.271948	Accept Ho	1.0672	0.285881	Accept Ho
X1-X2<0	0.866211	Accept Ho	1.0986	0.864026	Accept Ho	1.1300	0.870757	Accept Ho
X1-X2>0	0.147888	Accept Ho	1.0986	0.135974	Accept Ho	1.0672	0.142941	Accept Ho

**ANEXO 26A: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Tmax de d4T**

**Paired T-Test Report**

Variable: X1 = Tmax\_\_P, X2 = Tmax\_\_R

**Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
Tmax__P	14	0.9821429	0.4749928	0.1269472	0.7078902	1.256395
Tmax__R	14	1.125	0.4878327	0.1303788	0.8433338	1.406666
Difference	14	-0.1428571	0.7319251	0.1956152	-0.5654581	0.2797438

T for Confidence Limits = 2.1604

**T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
Tmax__R-Tmax__P<>0	-0.7303	0.478164	Accept Ho	0.104047	0.027282
Tmax__R-Tmax__P<0	-0.7303	0.239082	Accept Ho	0.170519	0.047629
Tmax__R-Tmax__P>0	-0.7303	0.760918	Accept Ho	0.009675	0.001407

**Nonparametric Tests Section**

**Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	7	6	0.709473	0.500000	1.000000

**Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
40.5	52	15.85481	1	5	102

Alternative Hypothesis	Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.7253	0.468248	Accept Ho	0.6938	0.487810	Accept Ho
X1-X2<0	-0.7253	0.234124	Accept Ho	-0.6938	0.243905	Accept Ho
X1-X2>0	-0.7253	0.765876	Accept Ho	-0.7569	0.775436	Accept Ho

## **ANEXO 26B: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Flu de d4T.**

### **Paired T-Test Report**

Variable: X1 = Flu\_P, X2 = Flu\_\_R

### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mea	95% UCL of Mean
Flu__P	14	0.9635714	5.372396E-02	1.435833E-02	0.9325522	0.9945907
Flu__R	14	0.965	3.777463E-02	0.0100957	0.9431896	0.9868104
Difference	14	-1.428571E-03	7.533077E-02	0.020133	-4.492326E	-02 4.206612E-02

T for Confidence Limits = 2.1604

### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
Flu_P-Flu__R<>0	-0.0710	0.944512	Accept Ho	0.050497	0.010146
Flu_P-Flu__R<0	-0.0710	0.472256	Accept Ho	0.057341	0.011840
Flu_P-Flu__R>0	-0.0710	0.527744	Accept Ho	0.043428	0.008414

### **Nonparametric Tests Section**

#### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	4	7	0.274414	0.886719	0.548828

#### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor	
Sum Ranks	58	49.5	15.78765	3	2	48

Alternative Hypothesis	Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.5384	0.590304	Accept Ho	0.5067	0.612348	Accept Ho
X1-X2<0	0.5384	0.704848	Accept Ho	0.5701	0.715683	Accept Ho
X1-X2>0	0.5384	0.295152	Accept Ho	0.5067	0.306174	Accept Ho

**ANEXO 26C: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro  $AUC_{0-12}$  de d4T**

**Paired T-Test Report**

Variable: X1 = AUC\_\_P, X2 = AUC\_\_R

**Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
AUC__P	14	1500.043	539.6862	144.2372	1188.437	1811.648
AUC__R	14	1397.279	587.2252	156.9426	1058.225	1736.332
Difference	14	102.7643	753.654	201.4225	-332.3826	537.9111

T for Confidence Limits = 2.1604

**T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
AUC__P-AUC__R<>0	0.5102	0.618468	Accept Ho	0.076063	0.017984
AUC__P-AUC__R<0	0.5102	0.690766	Accept Ho	0.016607	0.002654
AUC__P-AUC__R>0	0.5102	0.309234	Accept Ho	0.122865	0.030998

**Nonparametric Tests Section**

**Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	6	8	0.395264	0.788025	0.790527

**Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
61	52.5	15.92953	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.625732	Accept Ho	0.5336	0.593618	Accept Ho	0.5022	0.615519	Accept Ho
X1-X2<0	0.708496	Accept Ho	0.5336	0.703191	Accept Ho	0.5650	0.713959	Accept Ho
X1-X2>0	0.312866	Accept Ho	0.5336	0.296809	Accept Ho	0.5022	0.307759	Accept Ho

**ANEXO 26D: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro  $AUC_{0-\infty}$  de d4T.**

**Paired T-Test Report**

Variable : X1 = AUCINFP, X2 = AUCINFR

**Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
AUCINFP	12	1622.572	500.8058	144.5702	1304.375	1940.769
AUCINFR	12	1585.152	831.8504	240.1345	1056.62	2113.685
Difference	12	37.41992	656.1049	189.4012	-379.4492	454.289

T for Confidence Limits = 2.2010

**T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
AUCINFP-AUCINFR<>0	0.1976	0.846985	Accept Ho	0.053760	0.011091
AUCINFP-AUCINFR<0	0.1976	0.576507	Accept Ho	0.033571	0.006179
AUCINFP-AUCINFR>0	0.1976	0.423493	Accept Ho	0.072268	0.015728

**Nonparametric Tests Section**

**Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	5	7	0.387207	0.806152	0.774414

**Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
Sum Ranks	39	12.74755	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.622070	Accept Ho	0.5491	0.582920	Accept Ho	0.5099	0.610120	Accept Ho
X1-X2<0	0.715332	Accept Ho	0.5491	0.708540	Accept Ho	0.5883	0.721851	Accept Ho
X1-X2>0	0.311035	Accept Ho	0.5491	0.291460	Accept Ho	0.5099	0.305060	Accept Ho

**ANEXO 27: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Cmax de 3TC.**

**Paired T-Test Report**

Variable: X1 = Cmax\_P, X2 = Cmax\_R

**Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
Cmax_P	13	1430.238	726.9792	201.6277	990.9293	1869.548
Cmax_R	13	1333.095	655.4122	181.7786	937.033	1729.156
Difference	13	97.14384	442.7956	122.8094	-170.4349	364.7226

T for Confidence Limits = 2.1788

**T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
Cmax_P-Cmax_R<>0	0.7910	0.444290	Accept Ho	0.112815	0.030155
Cmax_P-Cmax_R<0	0.7910	0.777855	Accept Ho	0.008348	0.001196
Cmax_P-Cmax_R>0	0.7910	0.222145	Accept Ho	0.184615	0.052631

**Nonparametric Tests Section**

**Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	4	9	0.133423	0.953857	0.266846

**Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
Sum Ranks	60	45.5	14.30909	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction		Approximation With Continuity Correction	
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)	Decision (5%)	Z-Value
X1-X2<>0	0.339600	Accept Ho	1.0133	0.310897	Accept Ho	0.9784
X1-X2<0	0.847290	Accept Ho	1.0133	0.844552	Accept Ho	1.0483
X1-X2>0	0.169800	Accept Ho	1.0133	0.155448	Accept Ho	0.9784

## **ANEXO 27A: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Tmax de 3TC**

### **Paired T-Test Report**

Variable: X1 = Tmax\_P, X2 = Tmax\_R

#### **Descriptive Statistics Section**

UCL Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% CL of Mean
Tmax_P	13	1.057692	0.4227125	0.1172394	0.8022497	1.313135
Tmax_R	13	1	0.3535534	9.805807E-02	0.7863498	1.21365
Difference	13	5.769231E-02	0.587667	0.1629895	-0.2974313	0.412816

T for Confidence Limits = 2.1788

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
Tmax_P-Tmax_R<>0	0.3540	0.729508	Accept Ho	0.062304	0.013655
Tmax_P-Tmax_R<0	0.3540	0.635246	Accept Ho	0.023874	0.004100
Tmax_P-Tmax_R>0	0.3540	0.364754	Accept Ho	0.095027	0.022230

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Number of Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	4	4	0.636719	0.636719	1.000000

#### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
40.5	38	13.77044	5	2	66

Alternative Hypothesis	Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.1815	0.855937	Accept Ho	0.1452	0.884522	Accept Ho
X1-X2<0	0.1815	0.572031	Accept Ho	0.2179	0.586230	Accept Ho
X1-X2>0	0.1815	0.427969	Accept Ho	0.1452	0.442261	Accept Ho

## **ANEXO 27B: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Flu de 3TC**

### **Paired T-Test Report**

Variable: X1 = Flu\_P, X2 = Flu R

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
Flu_B	13	0.9692308	1.705947E-02	4.731447E-03	0.9589218	0.9795397
Flu_A	13	0.9423077	6.206903E-02	1.721485E-02	0.9047998	0.9798156
Difference	13	2.692308E-02	6.128956E-02	1.699867E-02	-1.011383E-02	6.395999E-02

T for Confidence Limits = 2.1788

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
Flu_P-Flu_R<>0	1.5838	0.139217	Accept Ho	0.308214	0.115002
Flu_P-Flu_R<0	1.5838	0.930392	Accept Ho	0.000830	0.000087
Flu_P-Flu_R>0	1.5838	0.069608	Accept Ho	0.440054	0.179917

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	3	6	0.253906	0.910156	0.507813

#### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
58	40.5	14.02676	4	1	24

Alternative Hypothesis	Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	1.2476	0.212172	Accept Ho	1.2120	0.225524	Accept Ho
X1-X2<0	1.2476	0.893914	Accept Ho	1.2833	0.900300	Accept Ho
X1-X2>0	1.2120	0.112762	Accept Ho	1.2476	0.106086	Accept Ho

**ANEXO 27C: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro AUC<sub>0-12</sub> de 3TC.**

**Paired T-Test Report**

Variable: X1 = AUC\_P, X2 = AUC\_R

**Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
AUC_B	13	3615.339	1542.242	427.7408	2683.372	4547.307
AUC_A	13	3990.008	1802.896	500.0333	2900.529	5079.487
Difference	13	-374.6689	860.0449	238.5335	-894.3888	145.0511

T for Confidence Limits = 2.1788

**T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
AUC_P-AUC_R<>0	-1.5707	0.142229	Accept Ho	0.304007	0.112825
AUC_P-AUC_R<0	-1.5707	0.071114	Accept Ho	0.435188	0.176885
AUC_P-AUC_R>0	-1.5707	0.928886	Accept Ho	0.000866	0.000092

**Nonparametric Tests Section**

**Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	8	5	0.866577	0.290527	0.581055

**Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
28	45.5	14.30909	0	0	0

Alternative	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision Hypothesis (5%)
X1-X2<>0	0.243896	Accept Ho	1.2230	0.221330	Accept Ho	1.1881	0.234811	Accept Ho
X1-X2<0	0.121948	Accept Ho	-1.2230	0.110665	Accept Ho	-1.1881	0.117406	Accept Ho
X1-X2>0	0.891846	Accept Ho	-1.2230	0.889335	Accept Ho	-1.2579	0.895794	Accept Ho

**ANEXO 27D: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro  $AUC_{0-\infty}$  de 3TC.**

**Paired T-Test Report**

Variable: X1 = AUC\_P\_inf, X2 = AUC\_R\_inf

**Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
AUC_P_inf	13	3728.548	1569.657	435.3445	2780.014	4677.082
AUC_R_inf	13	4607.775	3781.048	1048.674	2322.91	6892.64
Difference	13	-879.2271	3035.373	841.8611	-2713.485	955.0306

T for Confidence Limits = 2.1788

**T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
AUC_P_inf-AUC_R_inf<>0	-1.0444	0.316890	Accept Ho	0.161018	0.048026
AUC_P_inf-AUC_R_inf<0	-1.0444	0.158445	Accept Ho	0.254950	0.081599
AUC_P_inf-AUC_R_inf>0	-1.0444	0.841555	Accept Ho	0.004227	0.000547

**Nonparametric Tests Section**

**Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	7	6	0.709473	0.500000	1.000000

**Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
36	45.5	14.30909	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.541748	Accept Ho	0.6639	0.506746	Accept Ho	0.6290	0.529368	Accept Ho
X1-X2<0	0.270874	Accept Ho	-0.6639	0.253373	Accept Ho	-0.6290	0.264684	Accept Ho
X1-X2>0	0.751343	Accept Ho	-0.6639	0.746627	Accept Ho	-0.6989	0.757679	Accept Ho

## **ANEXO 28: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Cmax de IDV**

### **Paired T-Test Report**

Variable X1 = CONC\_B, X2 = CONC\_A

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
CONC_B	14	10.55929	2.774867	0.7416143	9.245936	11.87263
CONC_A	14	9.728572	2.927106	0.7823021	8.343166	11.11398
Difference	14	0.8307143	3.043703	0.8134639	-0.6098762	2.271305

T for Confidence Limits = 1.7709

#### **Tests of Assumptions about Differences Section**

Assumption	Value	Probability	Decision(5%)
Skewness Normality	0.1635	0.870125	Cannot reject normality
Kurtosis Normality	-0.3838	0.701096	Cannot reject normality
Omnibus Normality	0.1741	0.916647	Cannot reject normality

Correlation Coefficient: 0.431139

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
CONC_B-CONC_A<>0	1.0212	0.325786	Accept Ho	0.157418	0.046992
CONC_B-CONC_A<0	1.0212	0.837107	Accept Ho	0.004456	0.000574
CONC_B-CONC_A>0	1.0212	0.162893	Accept Ho	0.249367	0.079719

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	5	9	0.000000	1.000000	0.000000

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
69	52.5	15.92953	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.325806	Accept Ho	1.0358	0.300290	Accept Ho	1.0044	0.315174	Accept Ho
X1-X2<0	0.852112	Accept Ho	1.0358	0.849855	Accept Ho	1.0672	0.857059	Accept Ho
X1-X2>0	0.162903	Accept Ho	1.0358	0.150145	Accept Ho	1.0044	0.157587	Accept Ho

## **ANEXO 28A: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Tmax de IDV**

### **Paired T-Test Report**

Variable X1 = Tmax\_B, X2 = Tmax\_A

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95%UCL of Mean
Tmax_B	14	1	0.2941742	7.862137E-02	0.8607668	1.139233
Tmax_A	14	0.9642857	0.3231031	8.635293E-02	0.8113604	1.117211
Difference	14	3.571429E-02	0.2161095	5.775768E-02	-6.657072E-02	0.1379993

T for Confidence Limits = 1.7709

#### **Tests of Assumptions about Differences Section**

Assumption	Value	Probability	Decision(5%)
Skewness Normality	0.9181	0.358585	Cannot reject normality
Kurtosis Normality	0.4401	0.659836	Cannot reject normality
Omnibus Normality	1.0366	0.595542	Cannot reject normality

Correlation Coefficient: 0.758721

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
Tmax_B-Tmax_A<>0	0.6183	0.547028	Accept Ho	0.088502	0.022027
Tmax_B-Tmax_A<0	0.6183	0.726486	Accept Ho	0.012798	0.001952
Tmax_B-Tmax_A>0	0.6183	0.273514	Accept Ho	0.144974	0.038448

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	3	4	0.000194	0.999994	0.000387

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
Sum Ranks	45.5	38.5	7	1	210

Alternative Hypothesis	Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.4781	0.632585	Accept Ho	0.4439	0.657084	Accept Ho
X1-X2<0	0.4781	0.683707	Accept Ho	0.5122	0.695759	Accept Ho
X1-X2>0	0.4781	0.316293	Accept Ho	0.4439	0.328542	Accept Ho

## **ANEXO 28B: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Flu de IDV.**

### **Paired T-Test Report**

Variable X1 = FLU\_B, X2 = FLU\_A

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
FLU_B	14	99.22143	0.5116768	0.1367514	98.97925	99.46361
FLU_A	14	99.17857	0.5235655	0.1399288	98.93076	99.42638
Difference	14	4.285714E-02	0.7078834	0.1891898	-0.2921854	0.3778997

T for Confidence Limits = 1.7709

#### **Tests of Assumptions about Differences Section**

Assumption	Value	Probability	Decision(5%)
Skewness Normality	0.2096	0.833944	Cannot reject normality
Kurtosis Normality	0.0745	0.940624	Cannot reject normality
Omnibus Normality	0.0495	0.975554	Cannot reject normality

Correlation Coefficient: 0.065016

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
FLU_B-FLU_A<>0	0.2265	0.824312	Accept Ho	0.055082	0.011504
FLU_B-FLU_A<0	0.2265	0.587844	Accept Ho	0.031445	0.005686
FLU_B-FLU_A>0	0.2265	0.412156	Accept Ho	0.076380	0.016922

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	6	7	0.000001	1.000000	0.000002

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
53.5	52	15.87844	1	2	66

Alternative Hypothesis	Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.0945	0.924738	Accept Ho	0.0630	0.949784	Accept Ho
X1-X2<0	0.0945	0.537631	Accept Ho	0.1260	0.550117	Accept Ho
X1-X2>0	0.0945	0.462369	Accept Ho	0.0630	0.474892	Accept Ho

## **ANEXO 28C: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro $AUC_{0-12}$ de IDV**

### **Paired T-Test Report**

Variable X1 = AUC\_B, X2 = AUC\_A

### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
AUC_B	14	21.28271	10.6518	2.846812	16.2412	26.32423
AUC_A	14	19.04457	8.02853	2.145715	15.24465	22.84449
Difference	14	2.238143	8.131833	2.173324	-1.610669	6.086955

T for Confidence Limits = 1.7709

### **Tests of Assumptions about Differences Section**

Assumption	Value	Probability	Decision(5%)
Skewness Normality	1.2045	0.228392	Cannot reject normality
Kurtosis Normality	0.9125	0.361499	Cannot reject normality
Omnibus Normality	2.2835	0.319255	Cannot reject normality

Correlation Coefficient: 0.653611

### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
AUC_B-AUC_A<>0	1.0298	0.321872	Accept Ho	0.159287	0.047727
AUC_B-AUC_A<0	1.0298	0.839064	Accept Ho	0.004350	0.000559
AUC_B-AUC_A>0	1.0298	0.160936	Accept Ho	0.251965	0.080872

### **Nonparametric Tests Section**

#### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	7	7	0.000002	1.000000	0.000004

#### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
64	52.5	15.92953	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction		Approximation With Continuity Correction	
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)
X1-X2<>0	0.501587	Accept Ho	0.7219	0.470338	0.6905	0.489854
X1-X2<0	0.768433	Accept Ho	0.7219	0.764831	0.7533	0.774371
X1-X2>0	0.250793	Accept Ho	0.7219	0.235169	0.6905	0.244927

## **ANEXO 28D: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro $AUC_{0-\infty}$ de IDV**

### **Paired T-Test Report**

Variable

X1 = AUCINFB, X2 = AUCINFA

### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
AUCINFB	14	21.54311	10.82835	2.893999	16.41803	26.66819
AUCINFA	14	19.25667	8.065396	2.155568	15.4393	23.07404
Difference	14	2.286436	8.303123	2.219103	-1.643448	6.21632

T for Confidence Limits = 1.7709

### **Tests of Assumptions about Differences Section**

Assumption	Value	Probability	Decision(5%)
Skewness Normality	1.1685	0.242616	Cannot reject normality
Kurtosis Normality	0.8356	0.403366	Cannot reject normality
Omnibus Normality	2.0636	0.356365	Cannot reject normality

Correlation Coefficient: 0.649007

### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
AUCINFB-AUCINFA<>0	1.0303	0.321639	Accept Ho	0.159399	0.047772
AUCINFB-AUCINFA<0	1.0303	0.839181	Accept Ho	0.004344	0.000558
AUCINFB-AUCINFA>0	1.0303	0.160819	Accept Ho	0.252121	0.080942

### **Nonparametric Tests Section**

#### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0.5	7	7	0.000002	1.000000	0.000004

#### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
63	52.5	15.92953	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction		Approximation With Continuity Correction		
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)	Decision (5%)
X1-X2<>0	0.541626	Accept Ho	0.6592	0.509797	0.6278	0.530158	Accept Ho
X1-X2<0	0.749207	Accept Ho	0.6592	0.745101	0.6905	0.755073	Accept Ho
X1-X2>0	0.270813	Accept Ho	0.6592	0.254899	0.6278	0.265079	Accept Ho

## **ANEXO 29: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Cmax de NVP.**

### **Paired T-Test Report**

Variable X1 = CONC\_A, X2 = CONC\_B

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
CONC_A	12	143,3046	105,006	31,66049	72,76057	213,8485
CONC_B	12	146,9164	105,5117	31,81296	76,03267	217,8001
Difference	12	-3,611818	26,73698	8,061503	-21,57397	14,35033

T for Confidence Limits = 2,2281

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
CONC_A-CONC_B<>0	-0,4480	0,663680	Accept Ho	0,069151	0,015628
CONC_A-CONC_B<0	-0,4480	0,331840	Accept Ho	0,110021	0,026532
CONC_A-CONC_B>0	-0,4480	0,668160	Accept Ho	0,019509	0,003264

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0,5	4	7	0,274414	0,886719	0,548828

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
38	33	11,24166	0	1	6

Alternative Hypothesis	Approximation Without Continuity Correction			Approximation With Continuity Correction		
	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level	Decision (5%)
X1-X2<>0	0,4448	0,656483	Accept Ho	0,4003	0,688938	Accept Ho
X1-X2<0	0,4448	0,671758	Accept Ho	0,4893	0,687668	Accept Ho
X1-X2>0	0,4448	0,328242	Accept Ho	0,4003	0,344469	Accept Ho

## **ANEXO 29A: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro Tmax de NVP.**

### **Paired T-Test Report**

Variable X1 = Tmax\_A, X2 = Tmax\_B

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
Tmax_A	12	21,27273	26,81824	8,086004	3,255986	39,28947
Tmax_B	12	11,22727	11,67125	3,519016	3,386417	19,06813
Difference	12	10,04545	24,56161	7,405604	-6,45526	26,54617

T for Confidence Limits = 2,2281

#### **Tests of Assumptions about Differences Section**

Assumption	Value	Probability	Decision(5%)
Skewness Normality	1,7940	0,072816	Cannot reject normality
Kurtosis Normality	0,7655	0,443965	Cannot reject normality
Omnibus Normality	3,8044	0,149242	Cannot reject normality
Correlation Coefficient: 0,402814			

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
Tmax_A-Tmax_B<>0	1,3565	0,204783	Accept Ho	0,232970	0,076536
Tmax_A-Tmax_B<0	1,3565	0,897608	Accept Ho	0,001773	0,000213
Tmax_A-Tmax_B>0	1,3565	0,102392	Accept Ho	0,351910	0,126090

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0,5	4	6	0,376953	0,828125	0,753906

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
43	32,5	11,2361	1	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction		Approximation With Continuity Correction	
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)
X1-X2<>0	0,413086	Accept Ho	0,9345	0,350052	0,8900	0,373472
X1-X2<0	0,817383	Accept Ho	0,9345	0,824974	0,9790	0,836207
X1-X2>0	0,206543	Accept Ho	0,9345	0,175026	0,8900	0,186736

## **ANEXO 29B: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro $AUC_{0-12}$ de NVP.**

### **Paired T-Test Report**

Variable: **X1 = AUC\_A, X2 = AUC\_B**

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
AUC_A	12	15,46418	5,504643	1,659712	11,76611	19,16225
AUC_B	12	14,99682	4,564456	1,376235	11,93038	18,06326
Difference	12	0,4673636	2,750288	0,829243	-1,380305	2,315032

T for Confidence Limits = 2,2281

#### **Tests of Assumptions about Differences Section**

Assumption	Value	Probability	Decision(5%)
Skewness Normality	-0,1508	0,880096	Cannot reject normality
Kurtosis Normality	-0,5545	0,579228	Cannot reject normality
Omnibus Normality	0,3302	0,847792	Cannot reject normality

Correlation Coefficient: 0,867066

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
AUC_A-AUC_B<>0	0,5636	0,585440	Accept Ho	0,080467	0,019110
AUC_A-AUC_B<0	0,5636	0,707280	Accept Ho	0,014919	0,002387
AUC_A-AUC_B>0	0,5636	0,292720	Accept Ho	0,131657	0,033357

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

Hypothesized Value	Number Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0,5	4	7	0,274414	0,886719	0,548828

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

W Sum Ranks	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
36	33	11,24722	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction		Approximation With Continuity Correction	
	Prob Level	Decision (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)	Z-Value	Prob Level (5%)
X1-X2<>0	0,831055	Accept Ho	0,2667	0,789675	0,2223	0,824098
X1-X2<0	0,617676	Accept Ho	0,2667	0,605162	0,3112	0,622171
X1-X2>0	0,415527	Accept Ho	0,2667	0,394838	0,2223	0,412049

## **ANEXO 29C: Resultado de los estudios estadísticos de hipótesis nula para el parámetro $AUC_{0-\infty}$ de NVP.**

### **Paired T-Test Report**

Variable X1 = AUCINFA, X2 = AUCINFB

#### **Descriptive Statistics Section**

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
AUCINFA	12	98,6236	151,9277	48,04376	-10,05893	207,3061
AUCINFB	12	52,9299	26,07809	8,246617	34,27476	71,58504
Difference	12	45,6937	157,5869	49,83334	-67,03714	158,4245

T for Confidence Limits = 2,2622

#### **T-Test For Difference Between Means Section**

Alternative Hypothesis	T-Value	Prob Level	Decision (5%)	Power (Alpha=.05)	Power (Alpha=.01)
AUCINFA-AUCINFB<>0	0,9169	0,383092	Accept Ho	0,130337	0,035356
AUCINFA-AUCINFB<0	0,9169	0,808454	Accept Ho	0,006255	0,000894
AUCINFA-AUCINFB>0	0,9169	0,191546	Accept Ho	0,213034	0,062020

#### **Nonparametric Tests Section**

##### **Quantile (Sign) Test**

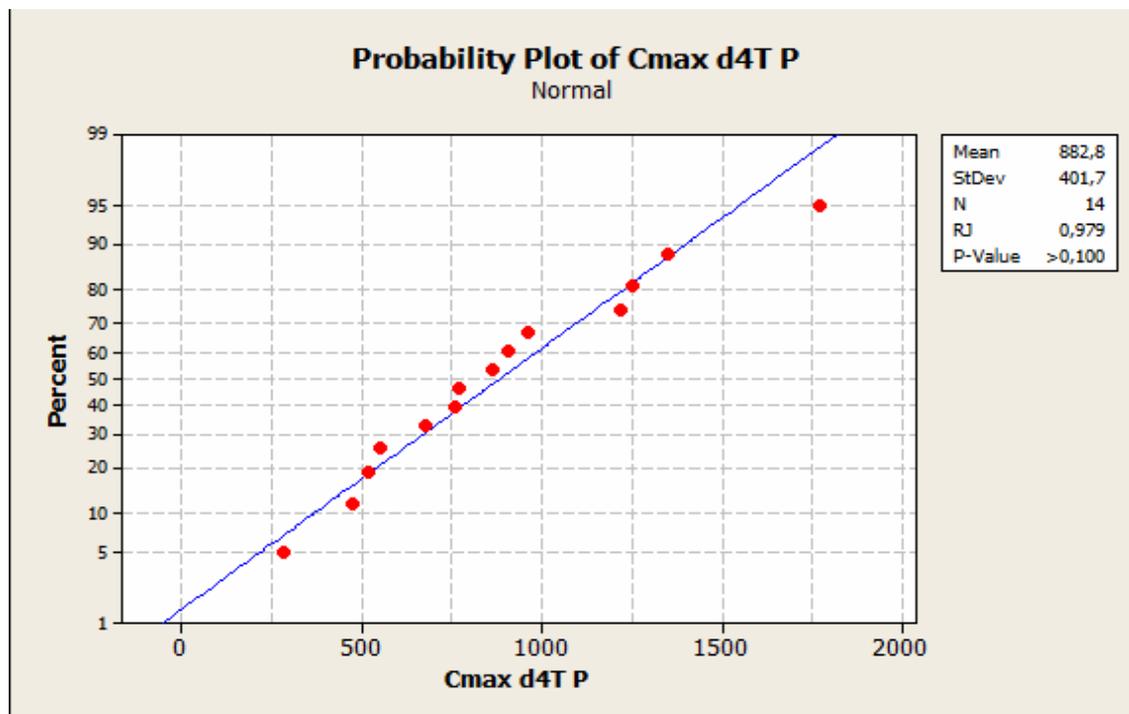
Hypothesized Value	Quantile	Number Lower	Number Higher	Prob Lower	Prob Higher	Prob Both
0	0,5	4	6	0,376953	0,828125	0,753906

##### **Wilcoxon Signed-Rank Test for Difference in Medians**

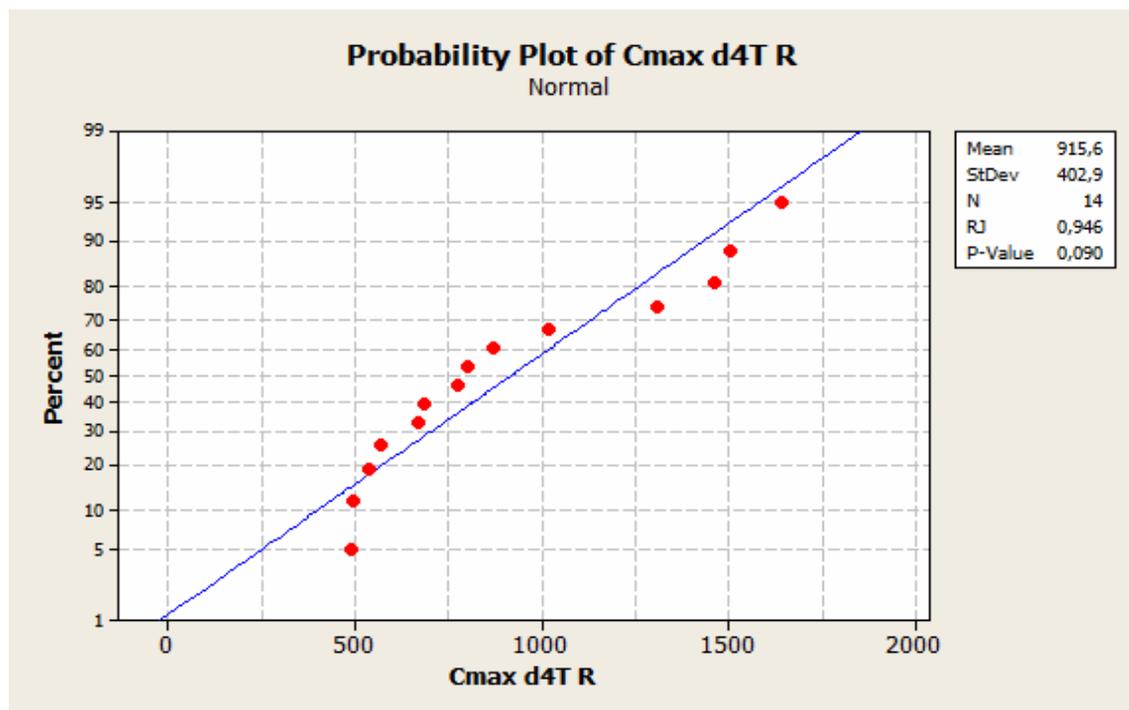
W	Mean of W	Std Dev of W	Number of Zeros	Number Sets of Ties	Multiplicity Factor
31	27,5	9,810708	0	0	0

Alternative Hypothesis	Exact Probability		Approximation Without Continuity Correction		Approximation With Continuity Correction		
	Prob Level	Decision (5%)	Prob Z-Value	Decision (5%)	Prob Z-Value	Decision (5%)	Decision (5%)
X1-X2<>0	0,769531	Accept Ho	0,3568	0,721277	0,3058	0,759766	Accept Ho
X1-X2<0	0,652344	Accept Ho	0,3568	0,639362	0,4077	0,658260	Accept Ho
X1-X2>0	0,384766	Accept Ho	0,3568	0,360638	0,3058	0,379883	Accept Ho

**ANEXO 30: Análisis de distribución de la variable C<sub>máx</sub> para los productos de prueba y referencia del d4T (Test Ryan-Joiner).**

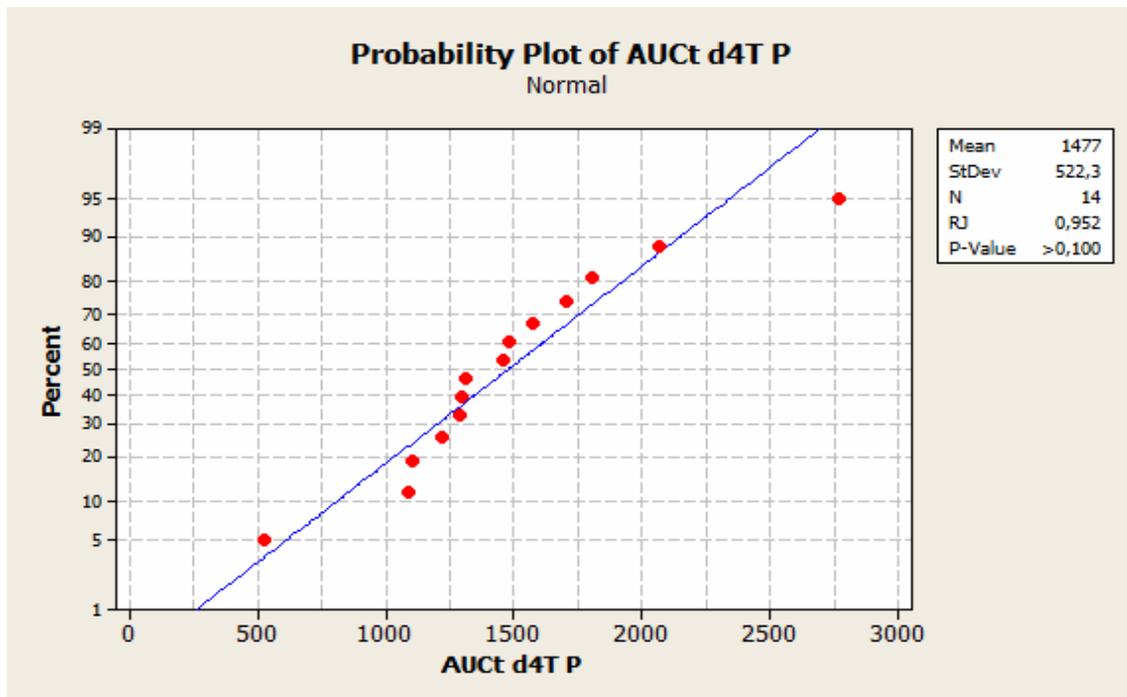


$p > 0.05$  es normal

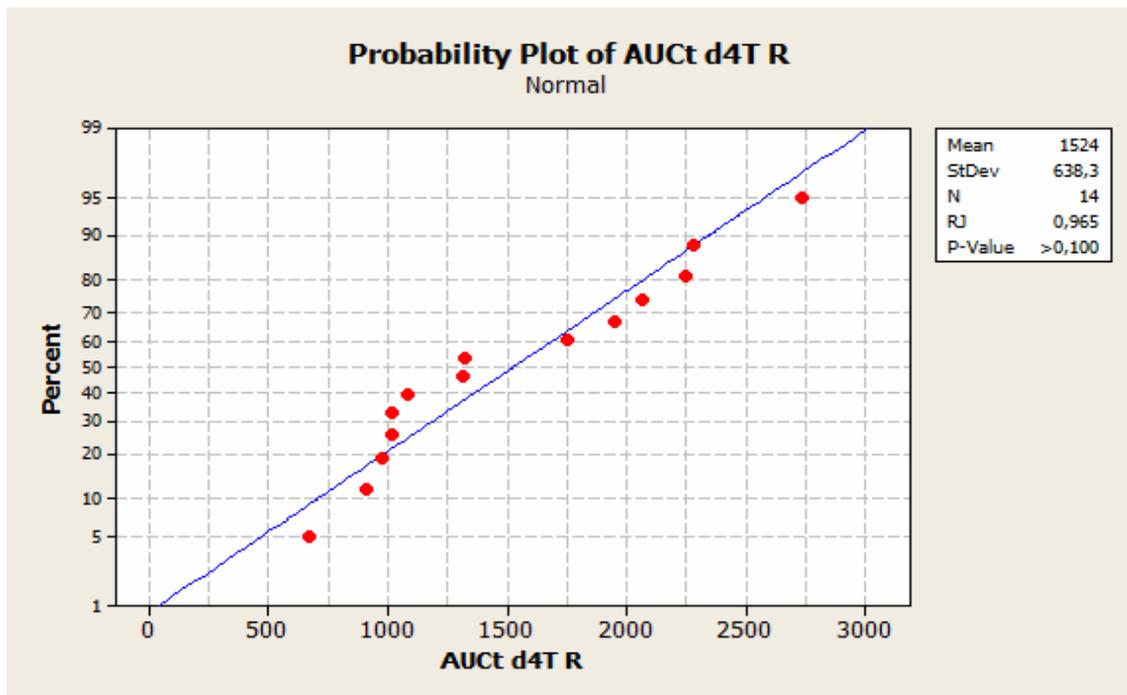


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 30A: Análisis de distribución de la variable  $AUC_{0-t}$  para los productos de prueba y referencia del d4T (Test Ryan-Joiner).**

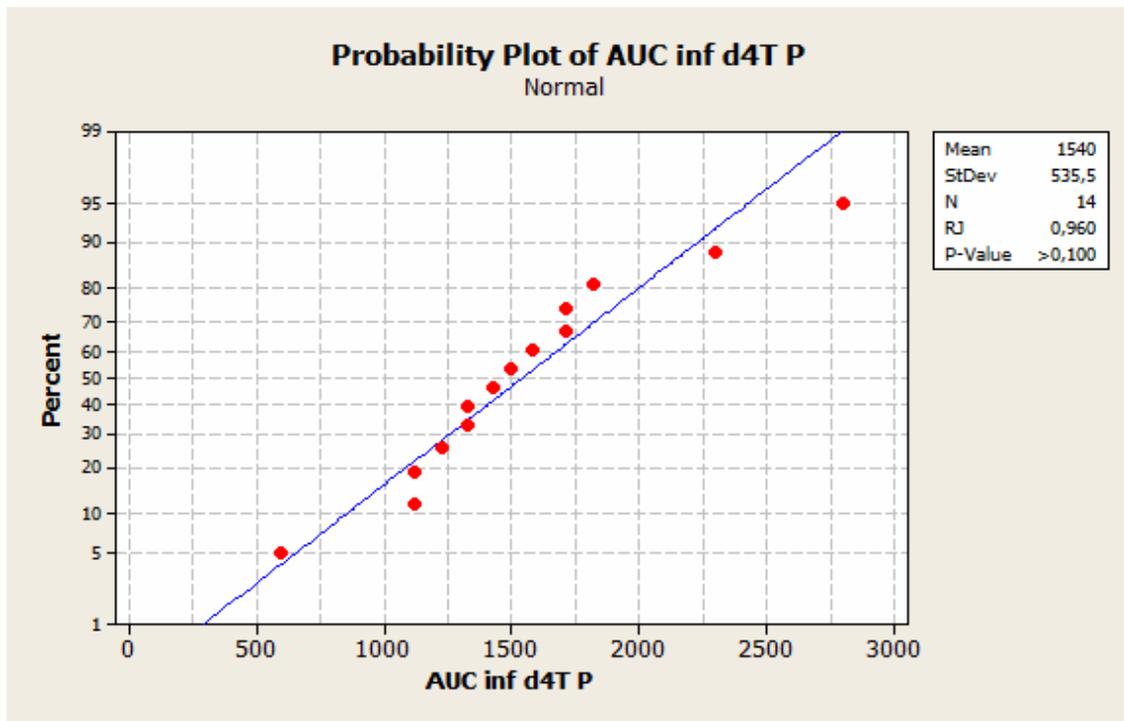


$p > 0.05$  es normal

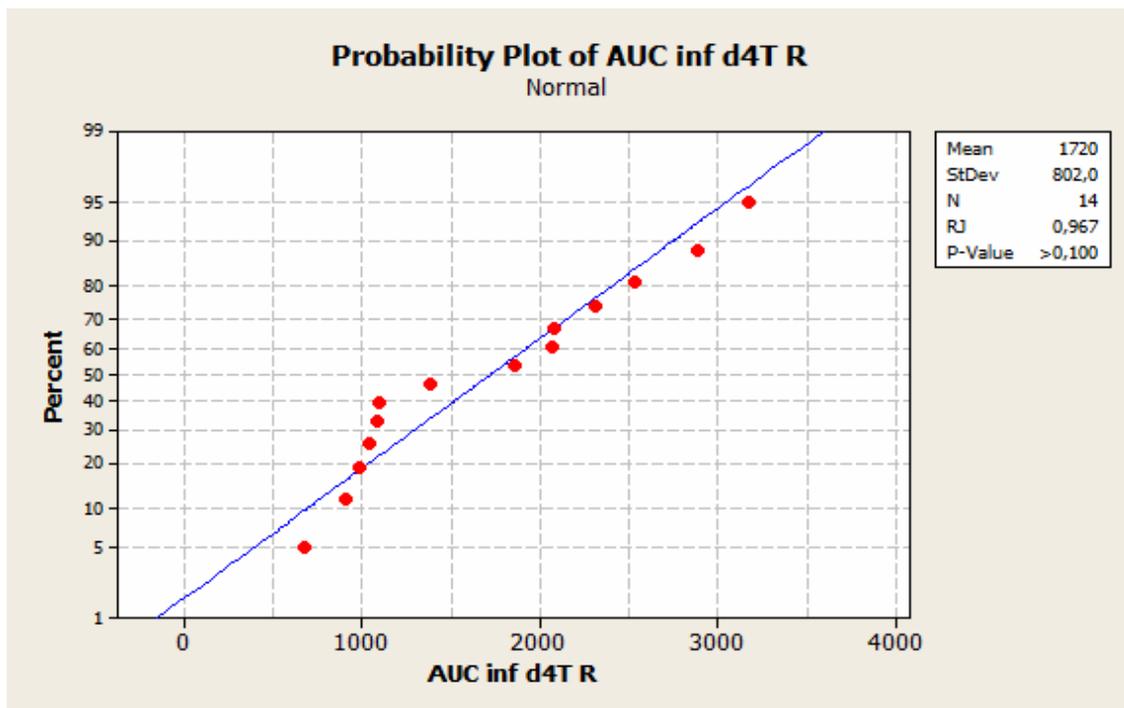


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 30B: Análisis de distribución de la variable  $AUC_{0-\infty}$  para los productos de prueba y referencia del d4T (Test Ryan-Joiner).**

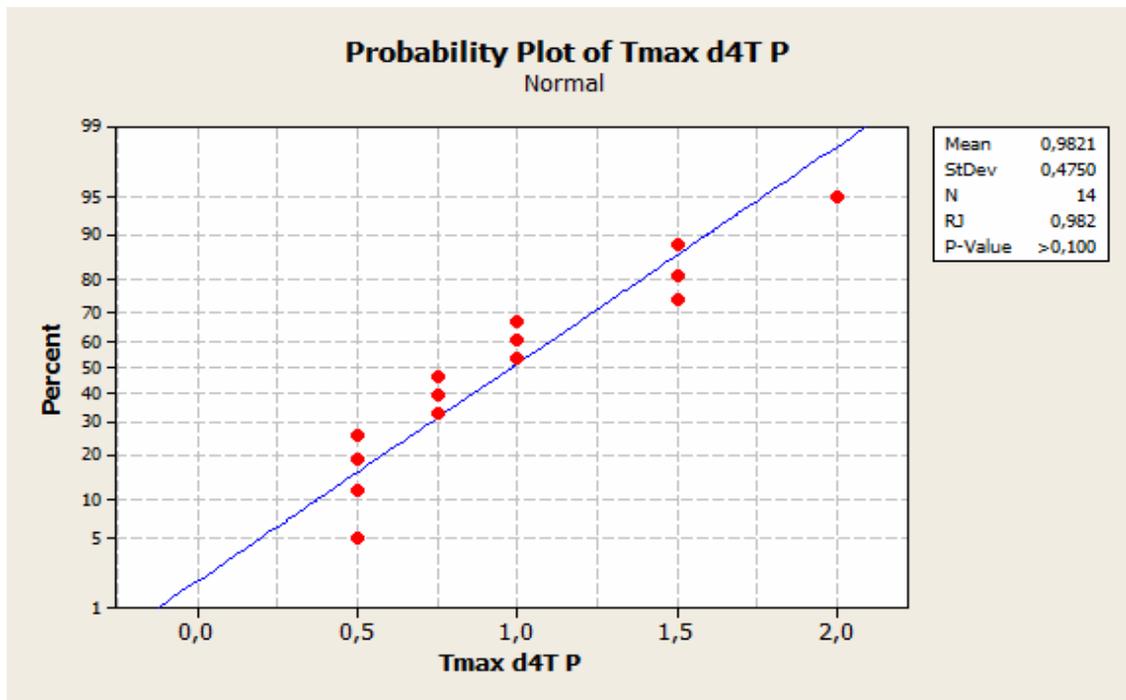


$p > 0.05$  es normal

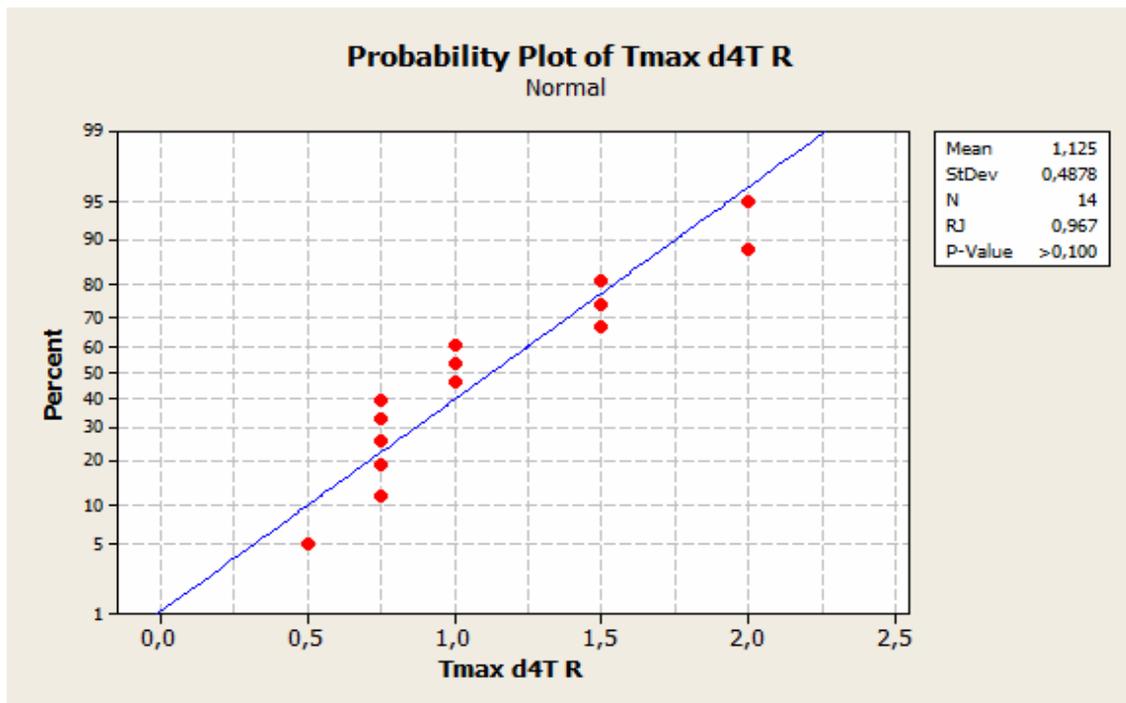


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 30C: Análisis de distribución de la variable Tmax para los productos de prueba y referencia del d4T (Test Ryan-Joiner).**

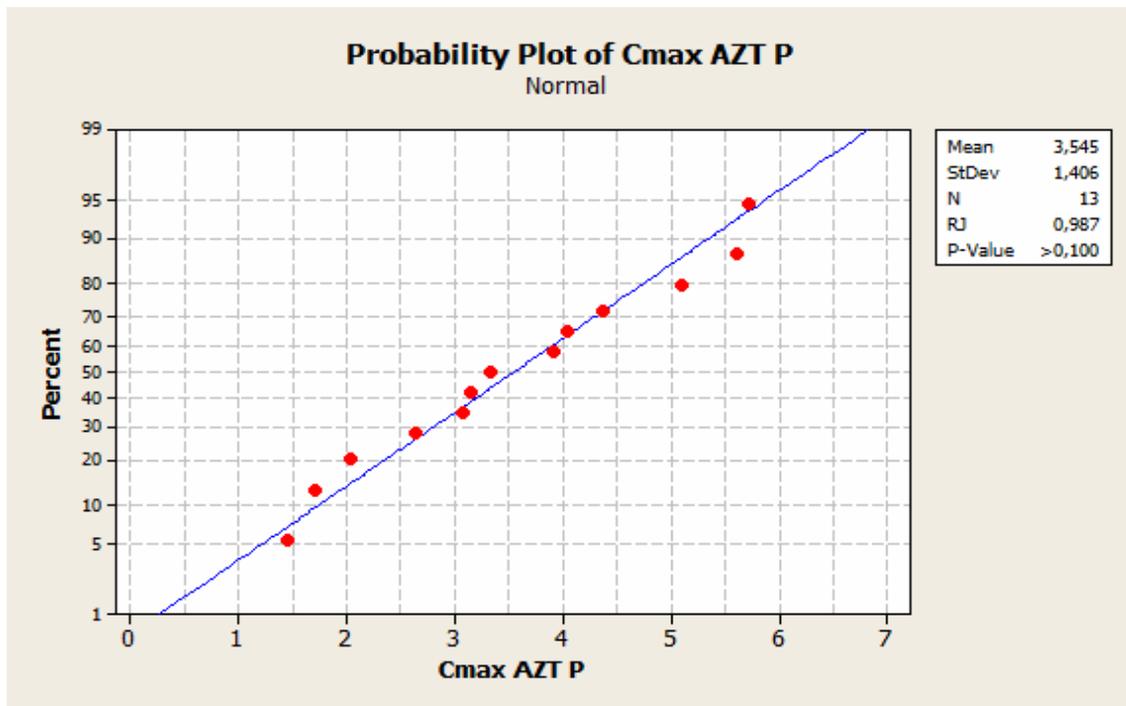


$p > 0.05$  es normal

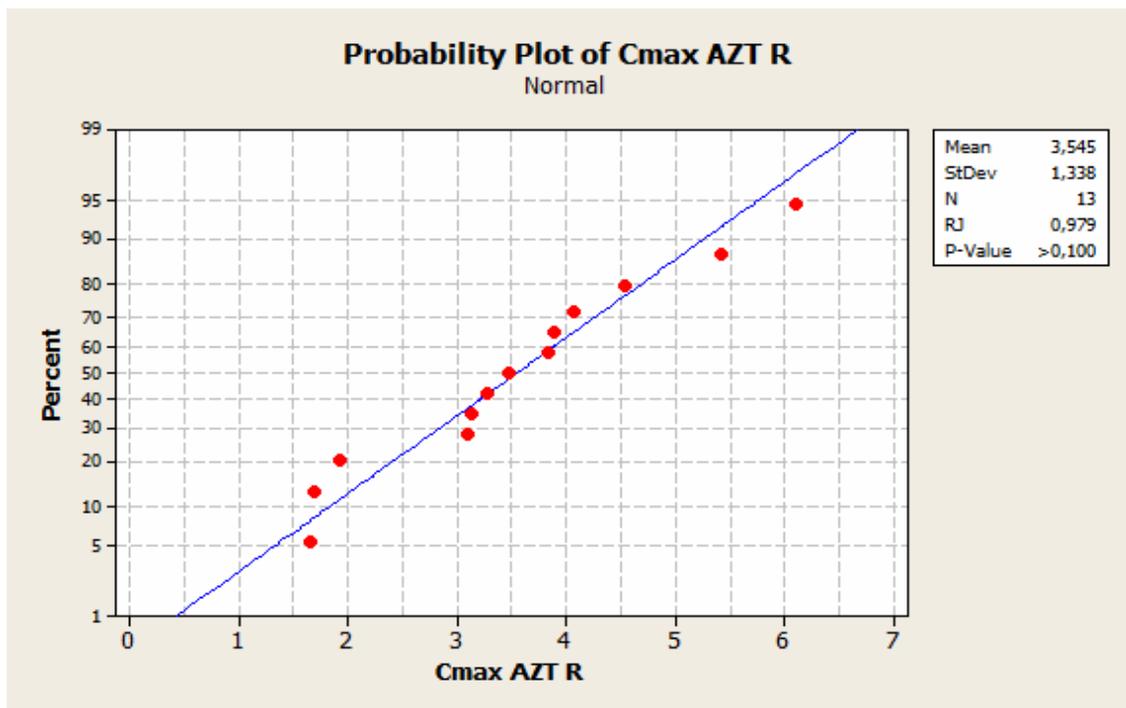


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 31: Análisis de distribución de la variable Cmax para los productos de prueba y referencia del AZT (Test Ryan-Joiner).**

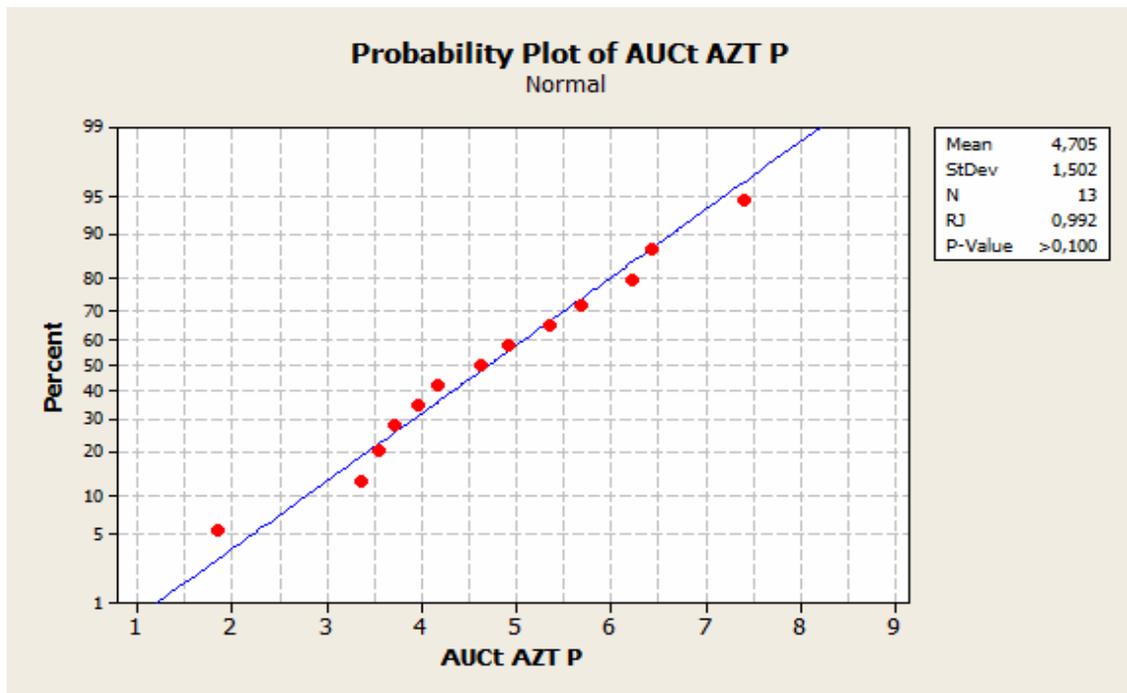


$p > 0.05$  es normal

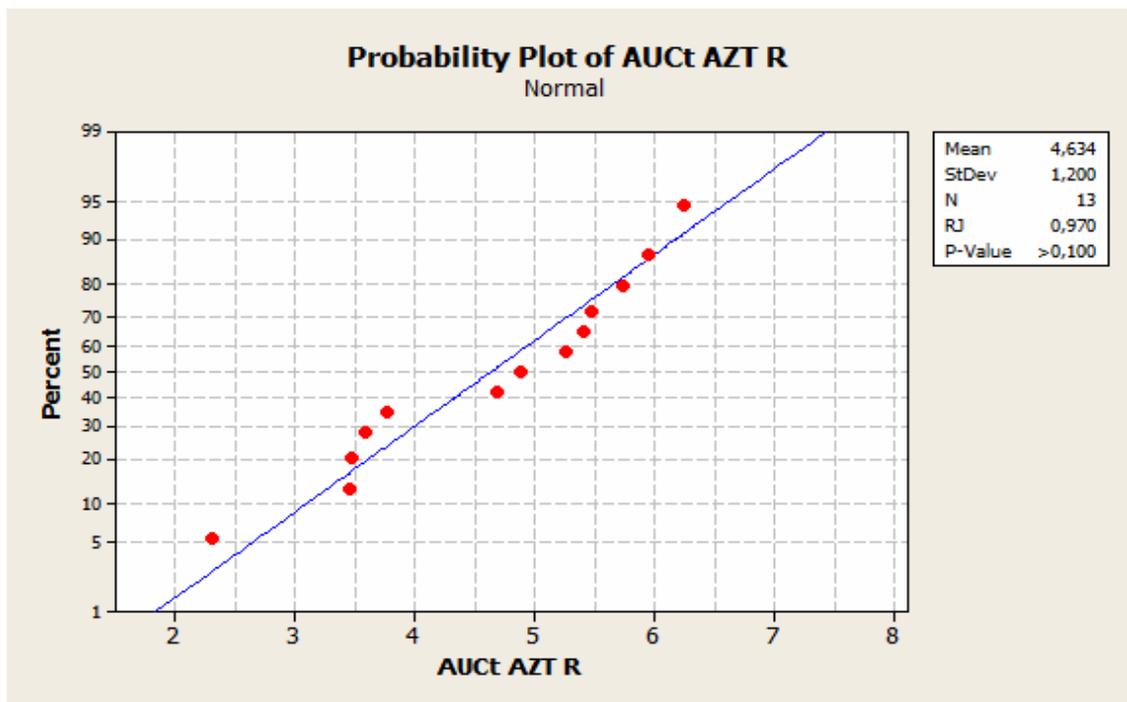


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 31A: Análisis de distribución de la variable  $AUC_{0-t}$  para los productos de prueba y referencia del AZT (Test Ryan-Joiner).**

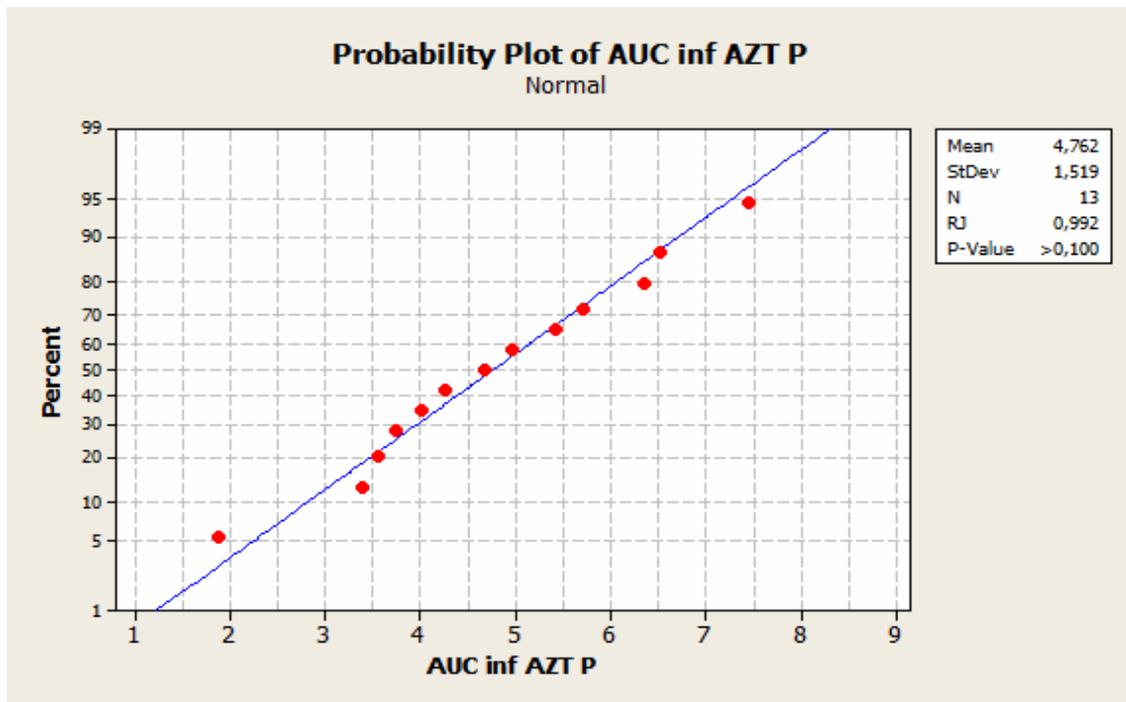


$p > 0.05$  es normal

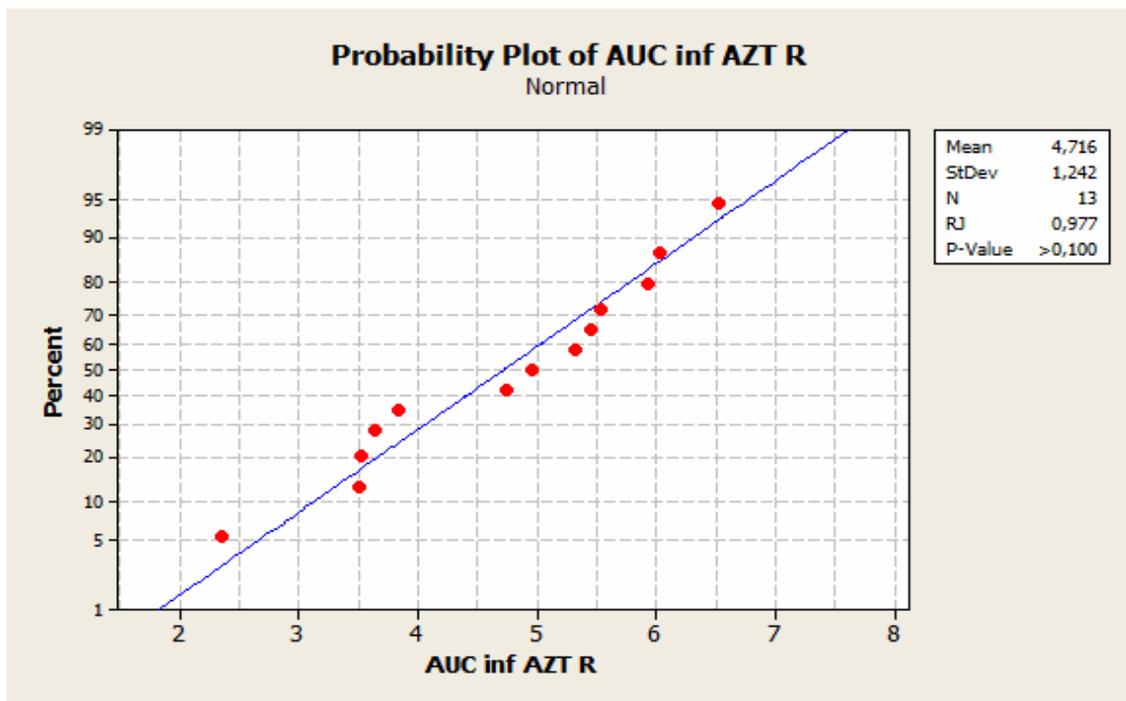


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 31B: Análisis de distribución de la variable  $AUC_{0-\infty}$  para los productos de prueba y referencia del AZT (Test Ryan-Joiner).**

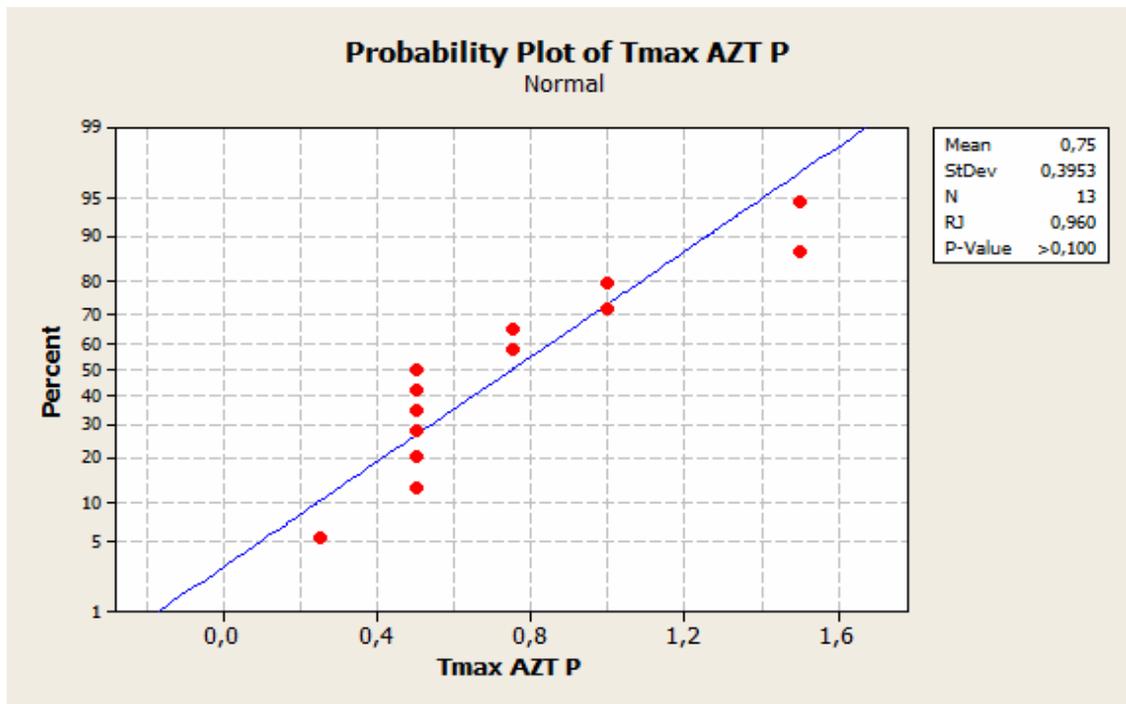


$p > 0.05$  es normal

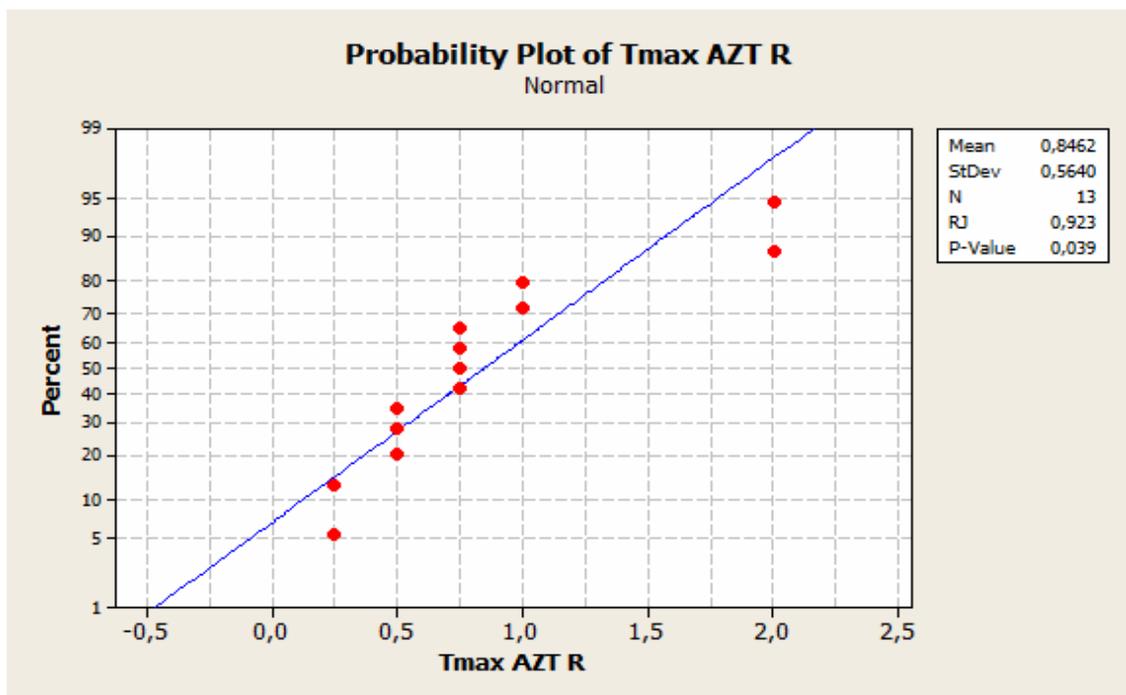


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 31C: Análisis de distribución de la variable Tmax para los productos de prueba y referencia del AZT (Test Ryan-Joiner).**

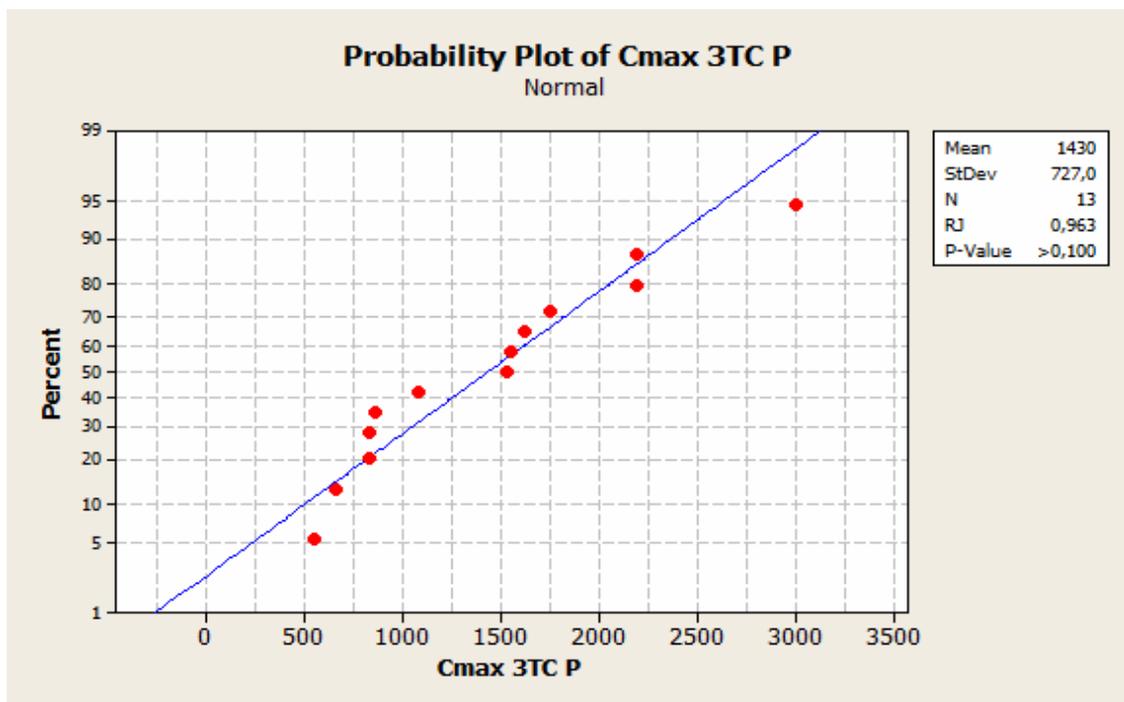


$p > 0.05$  es normal

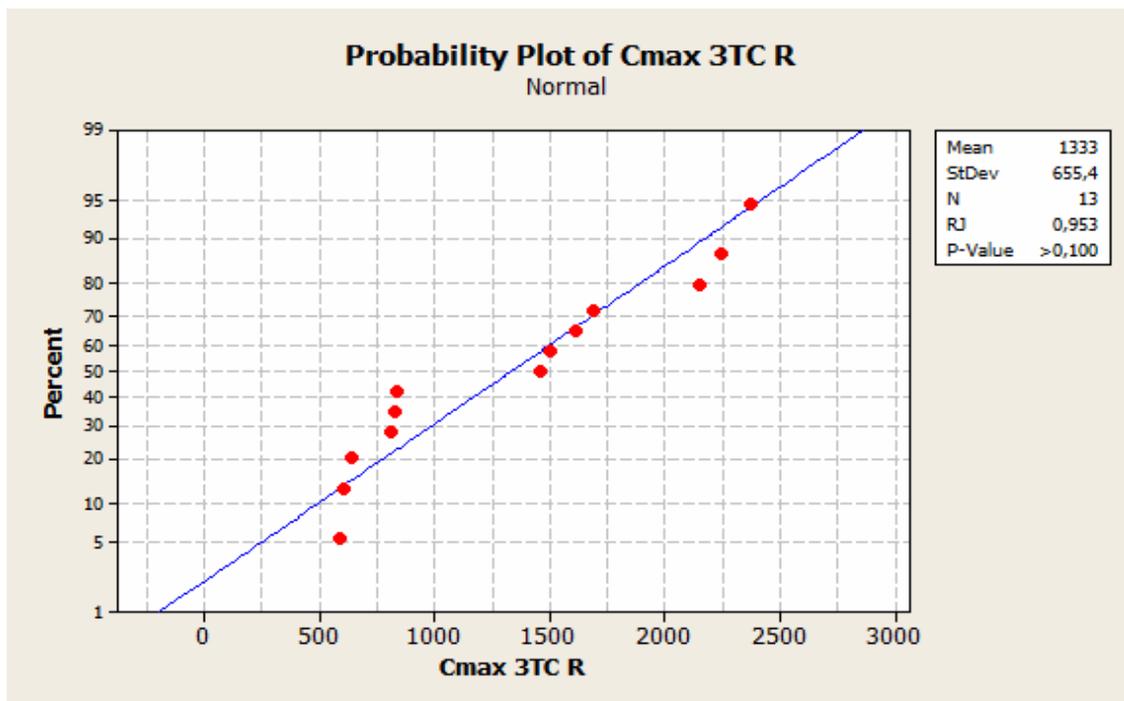


$p < 0.05$  no es normal

**ANEXO 32: Análisis de distribución de la variable Cmax para los productos de prueba y referencia del 3TC (Test Ryan-Joiner).**

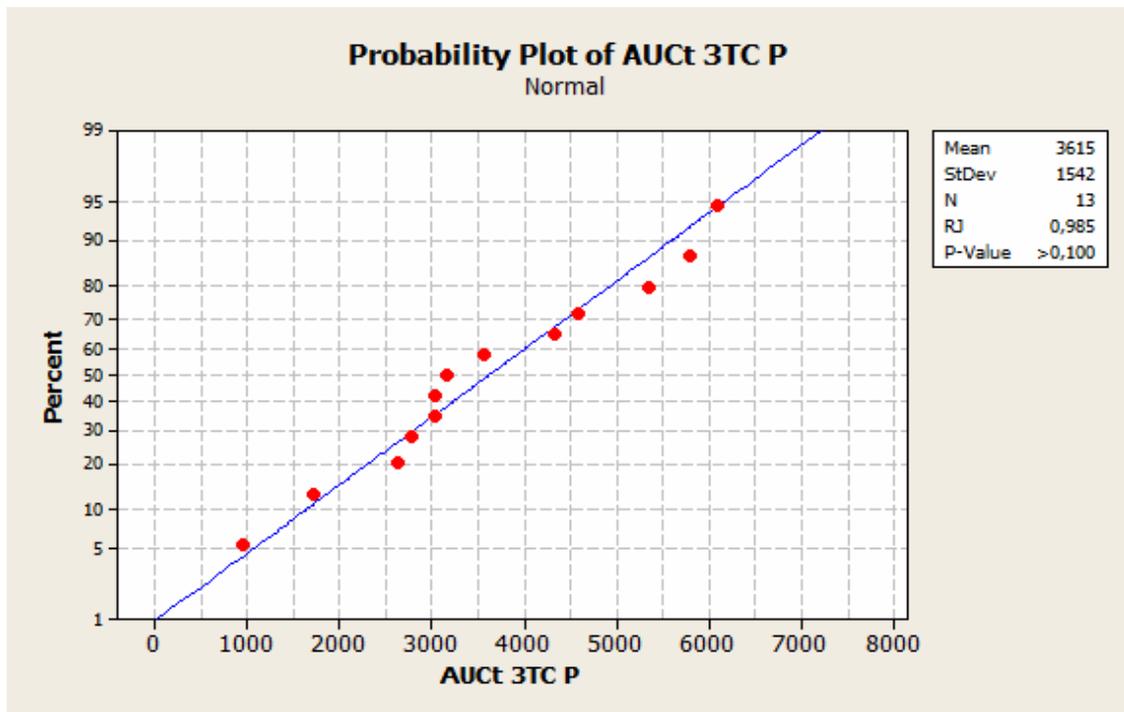


$p > 0.05$  es normal

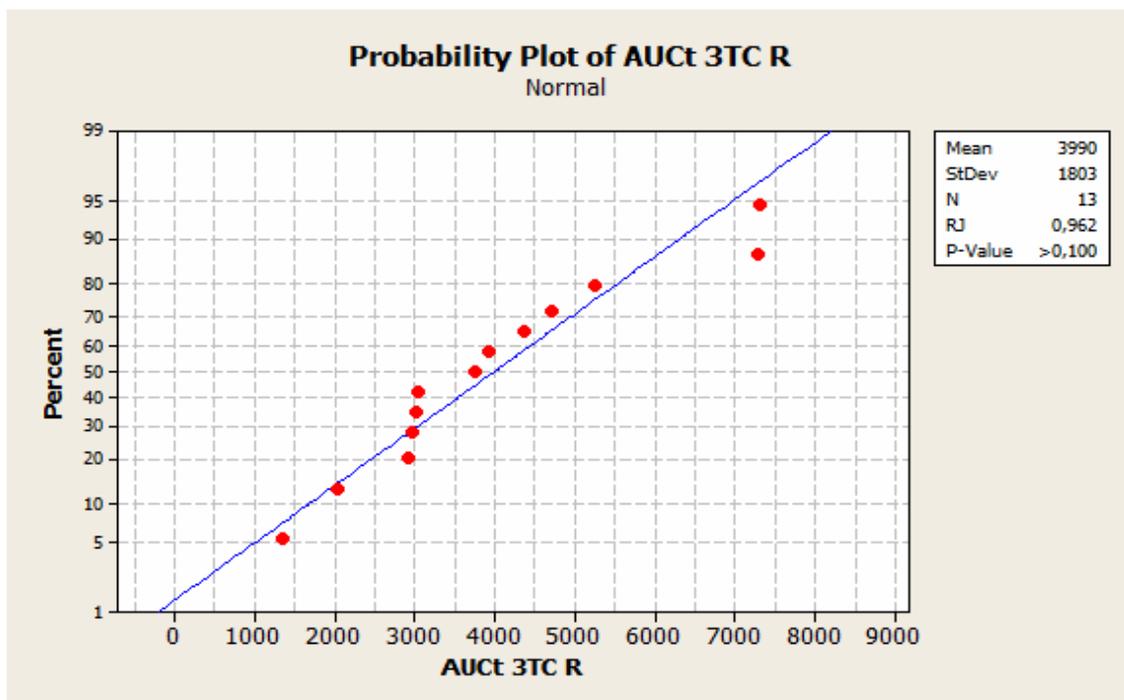


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 32A: Análisis de distribución de la variable  $AUC_{0-t}$  para los productos de prueba y referencia del 3TC (Test Ryan-Joiner).**

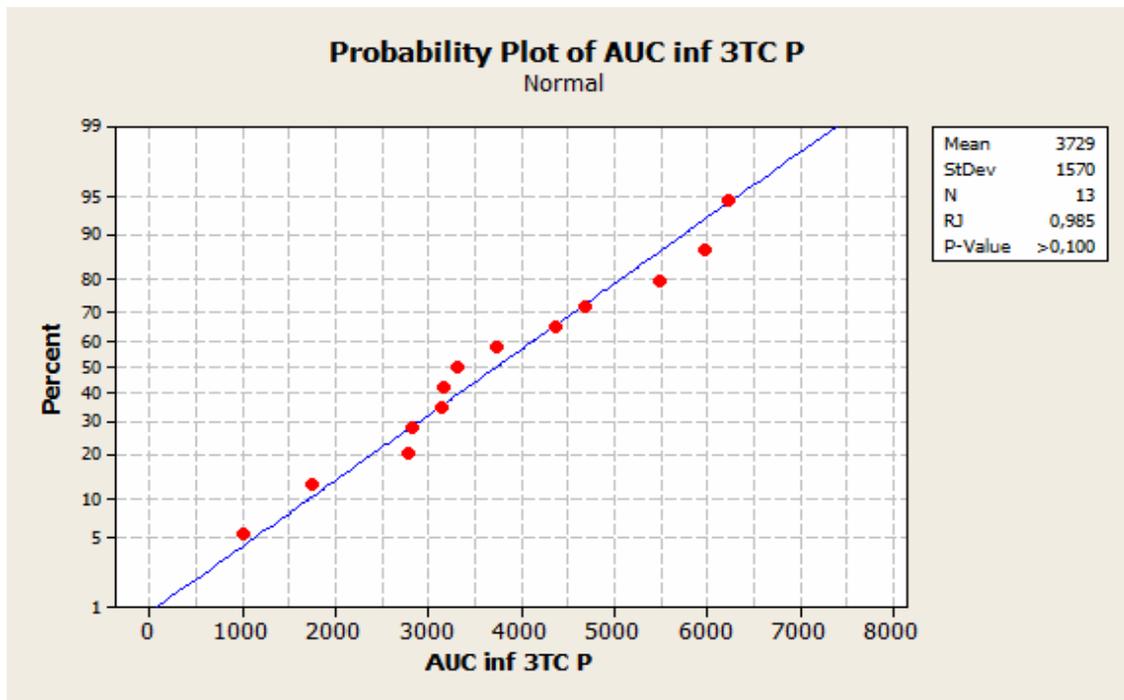


$p > 0.05$  es normal

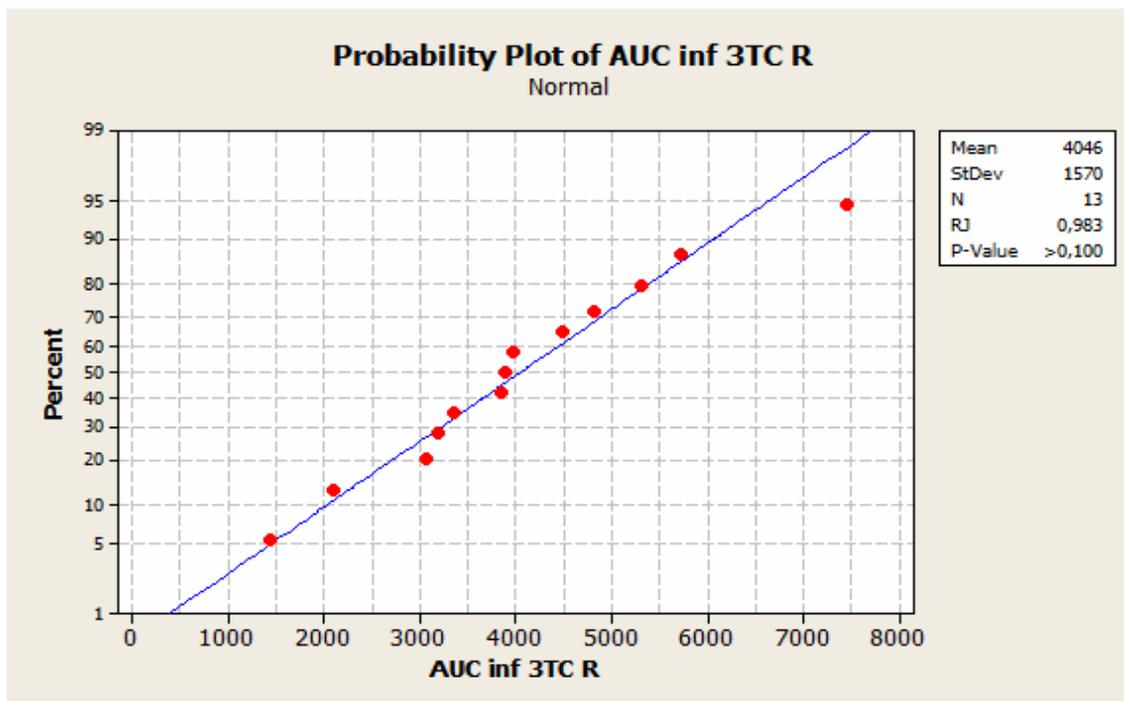


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 32B: Análisis de distribución de la variable  $AUC_{0-\infty}$  para los productos de prueba y referencia del 3TC (Test Ryan-Joiner).**

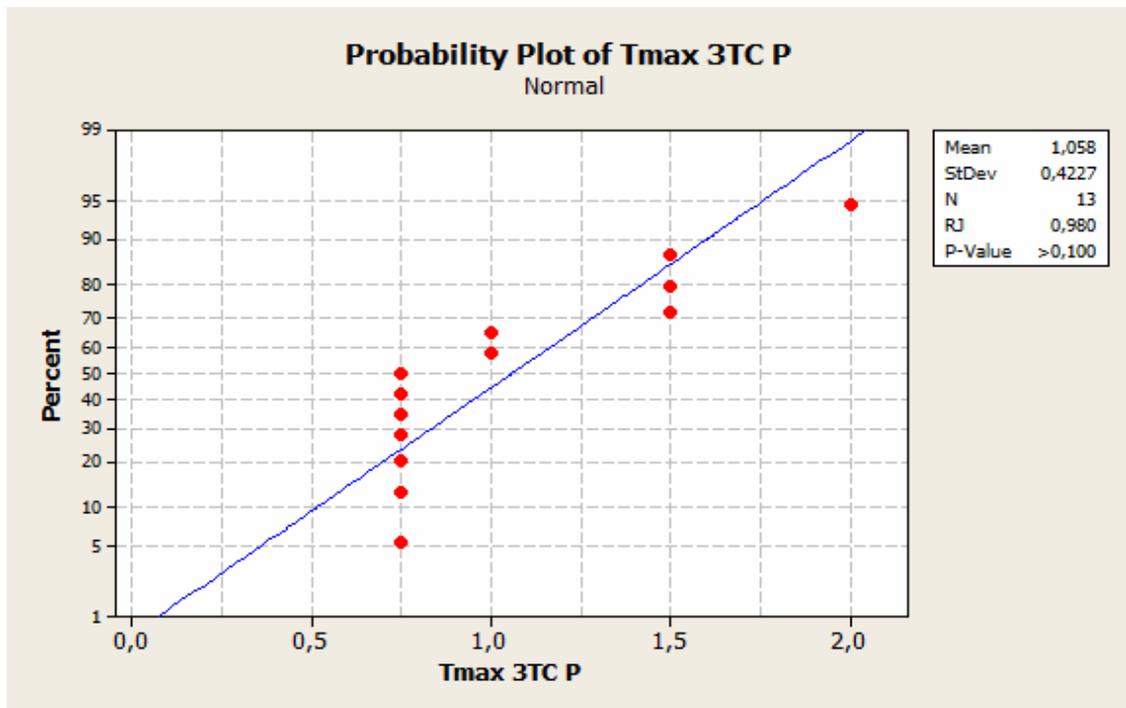


$p > 0.05$  es normal

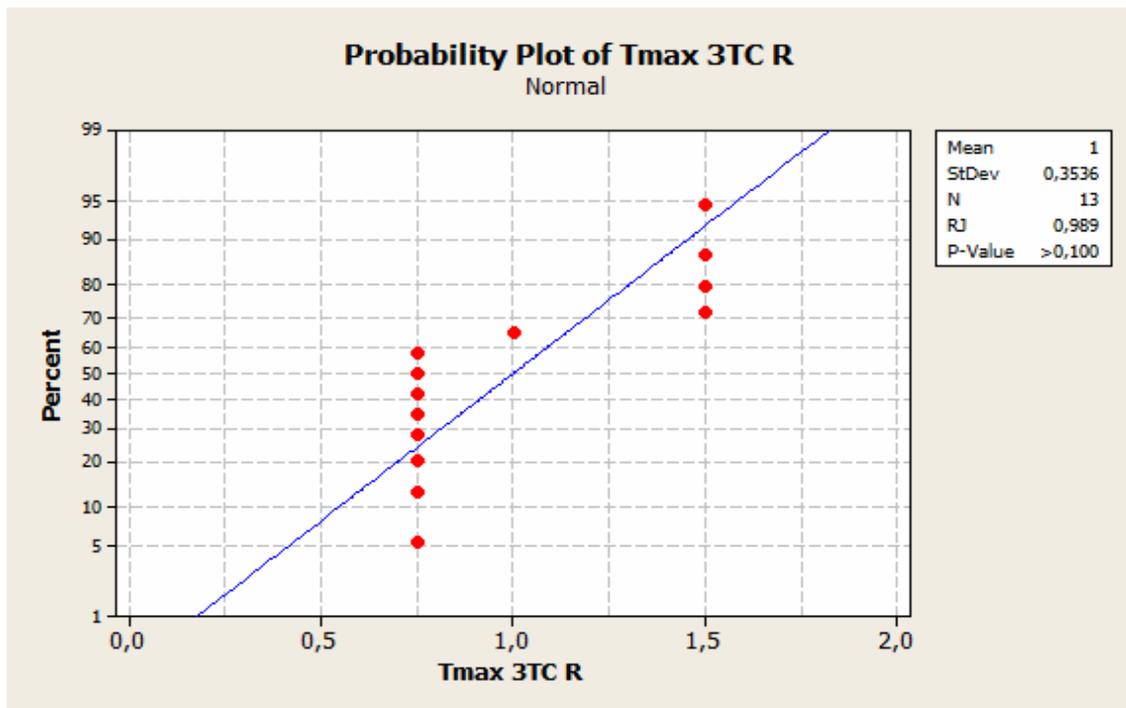


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 32C: Análisis de distribución de la variable Tmax para los productos de prueba y referencia del 3TC (Test Ryan-Joiner).**

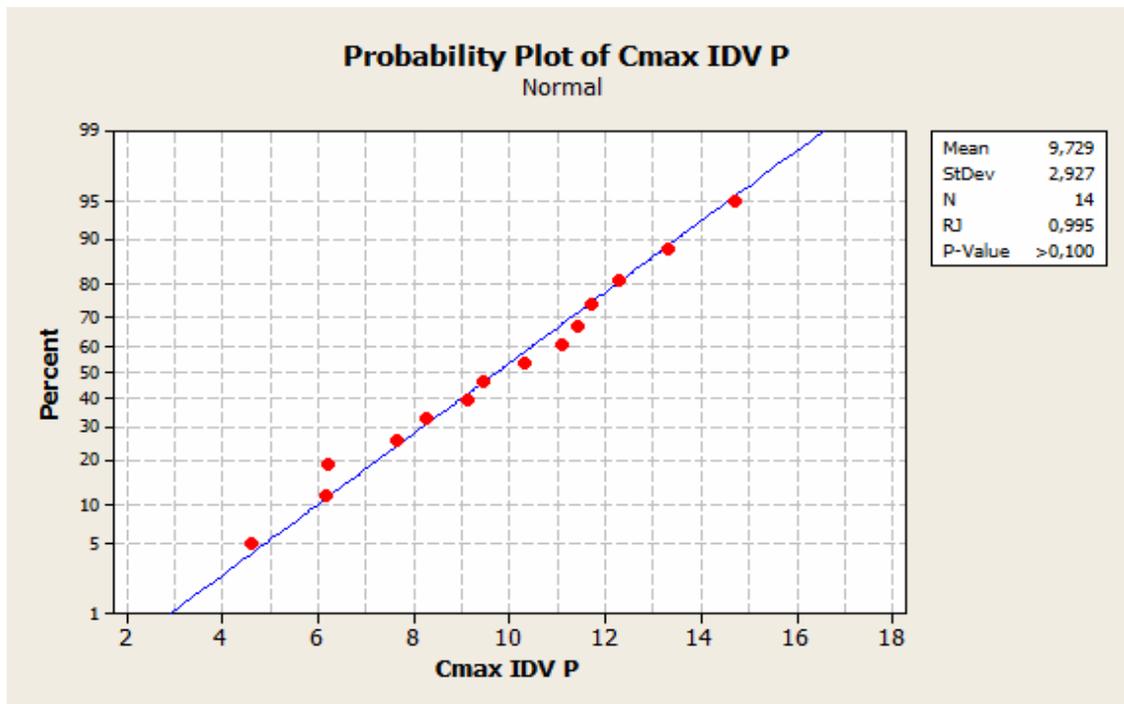


$p > 0.05$  es normal

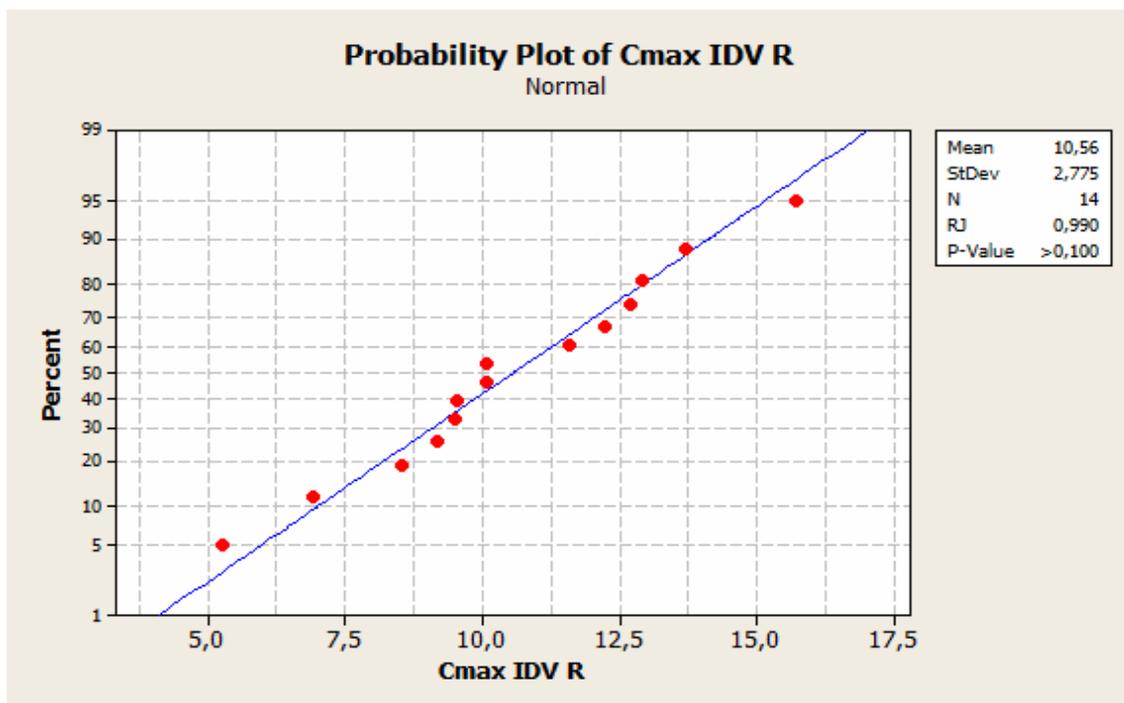


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 33: Análisis de distribución de la variable Cmax para los productos de prueba y referencia del IDV (Test Ryan-Joiner).**

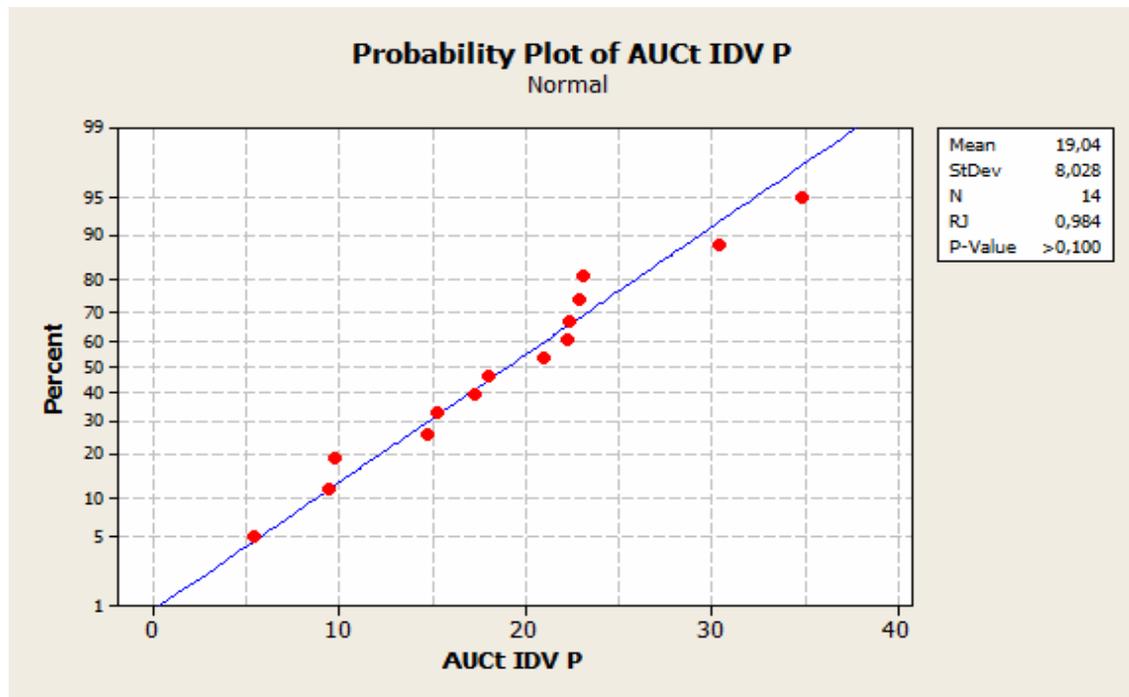


$p > 0.05$  es normal

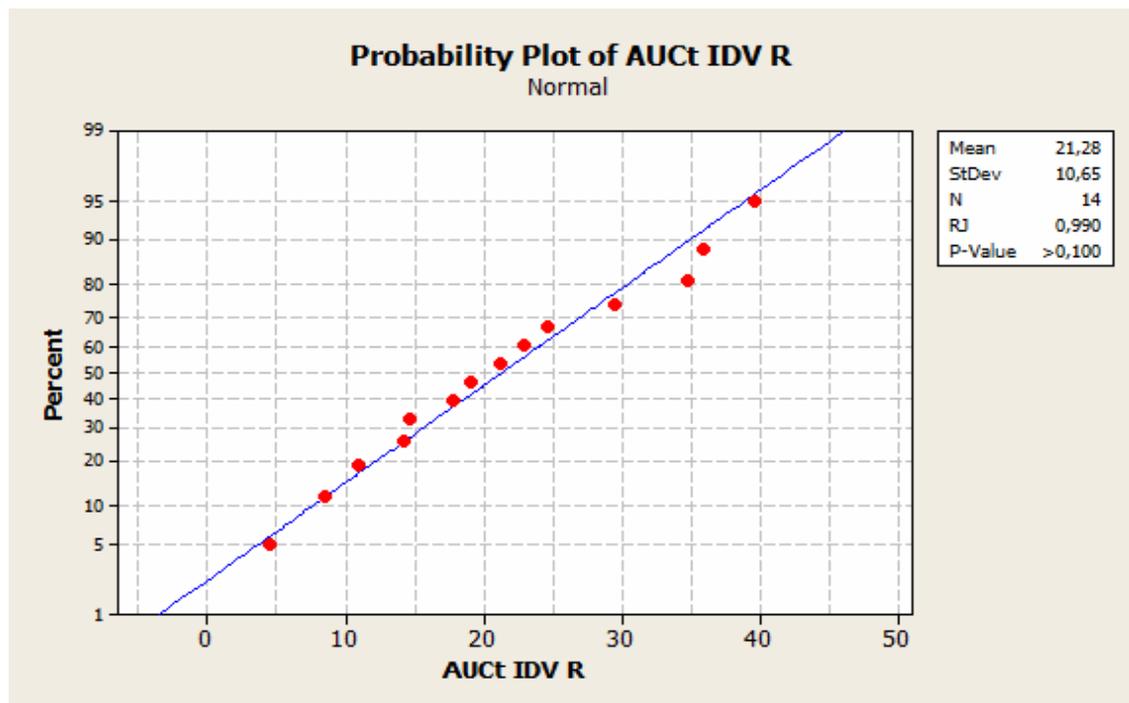


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 33A: Análisis de distribución de la variable  $AUC_{0-t}$  para los productos de prueba y referencia del IDV (Test Ryan-Joiner).**

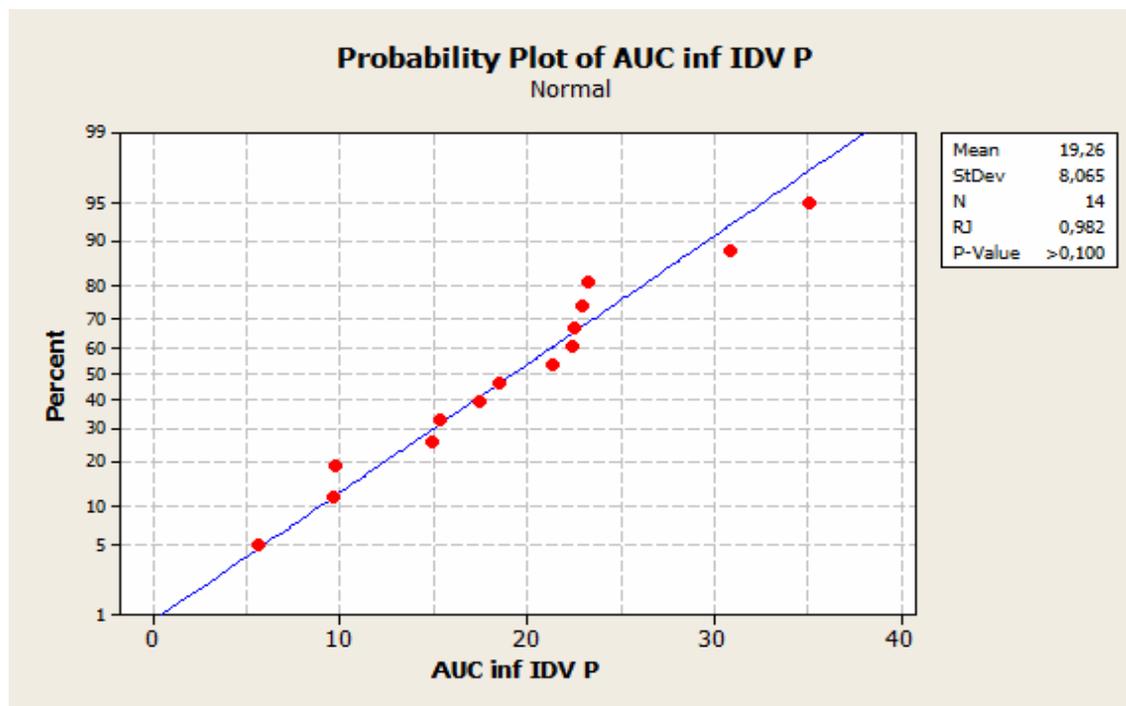


$p > 0.05$  es normal

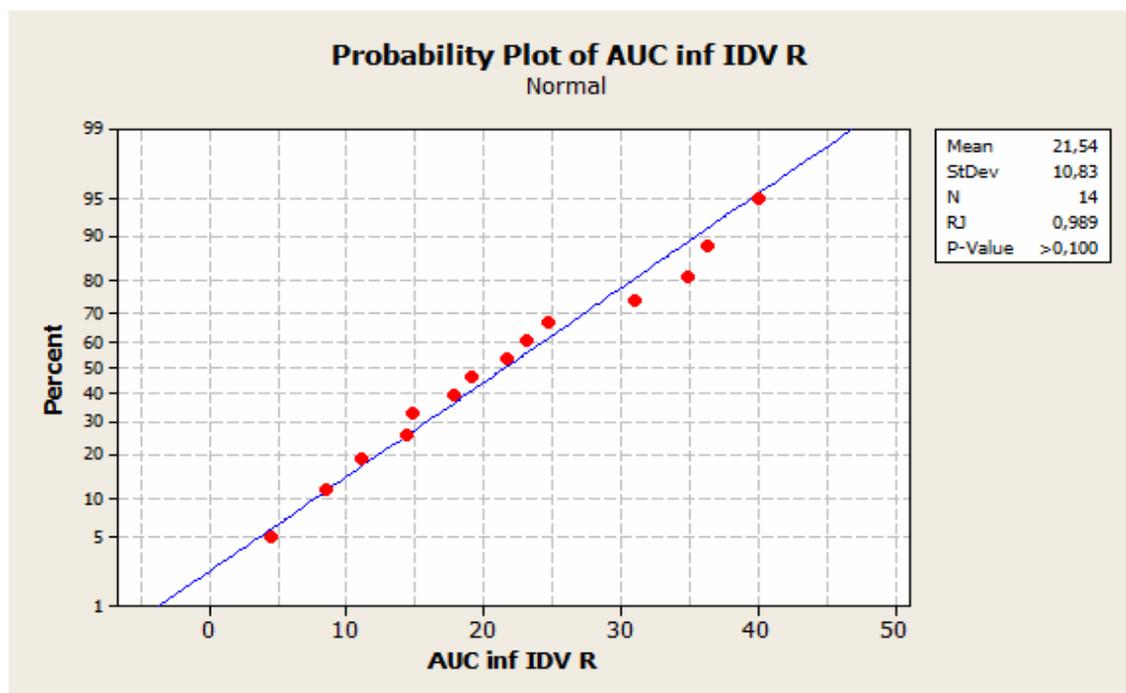


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 33B: Análisis de distribución de la variable  $AUC_{0-\infty}$  para los productos de prueba y referencia del IDV (Test Ryan-Joiner).**

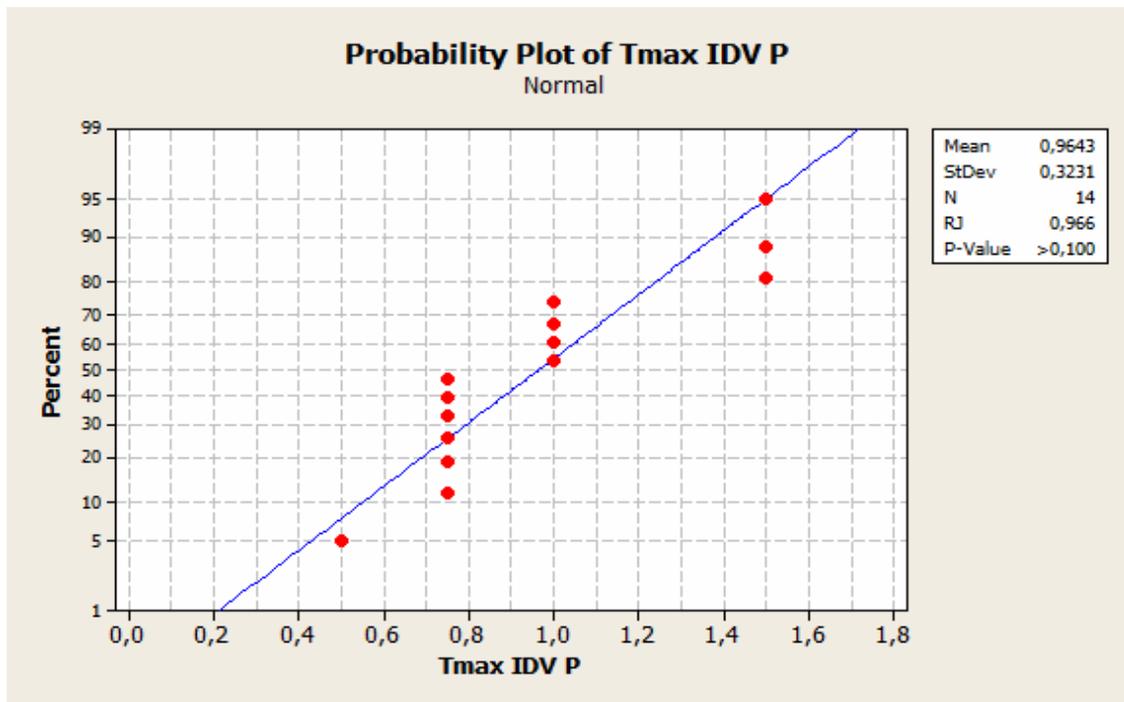


$p > 0.05$  es normal

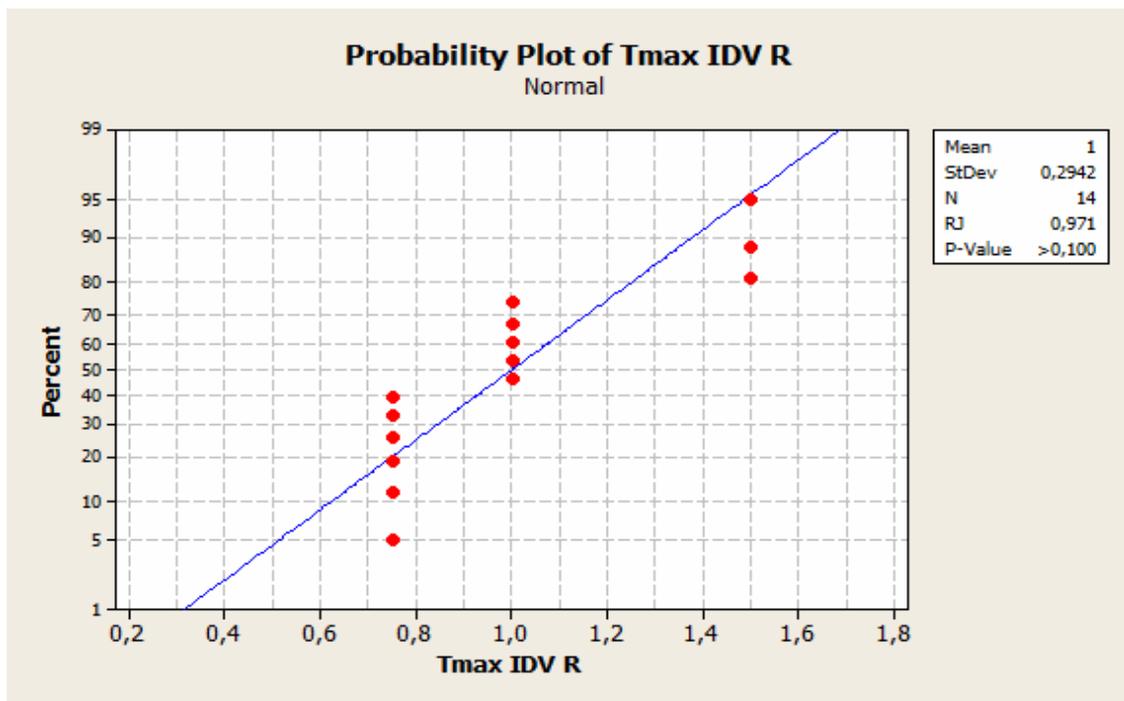


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 33C: Análisis de distribución de la variable Tmax para los productos de prueba y referencia del IDV (Test Ryan-Joiner).**

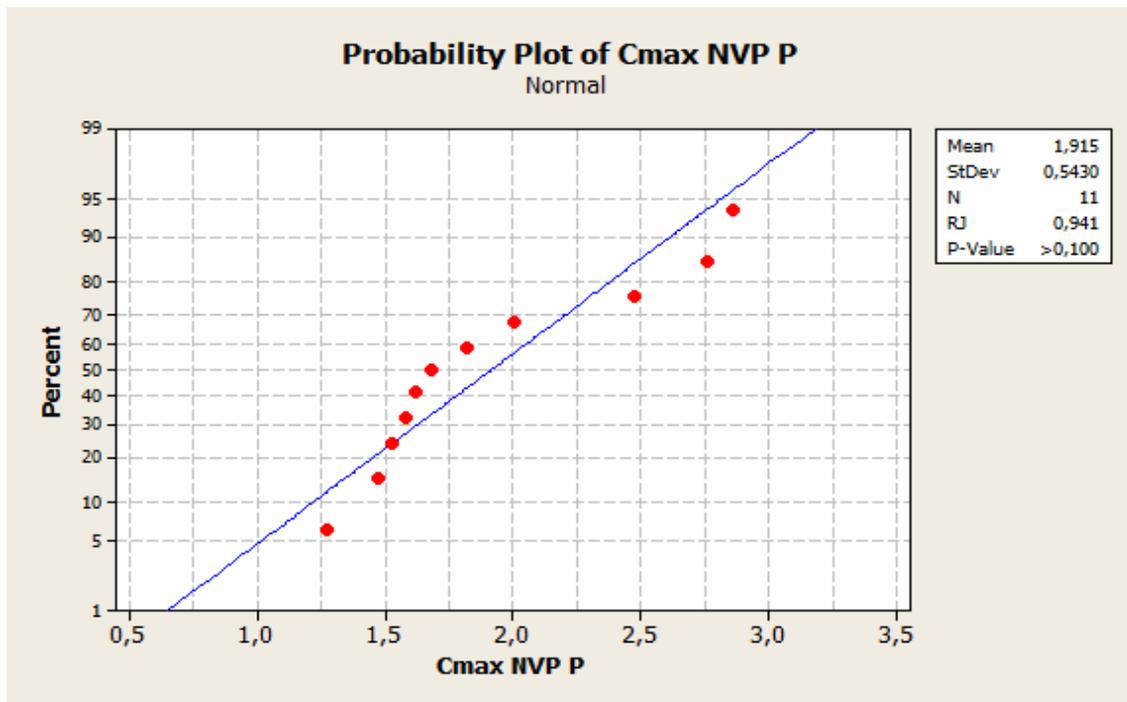


$p > 0.05$  es normal

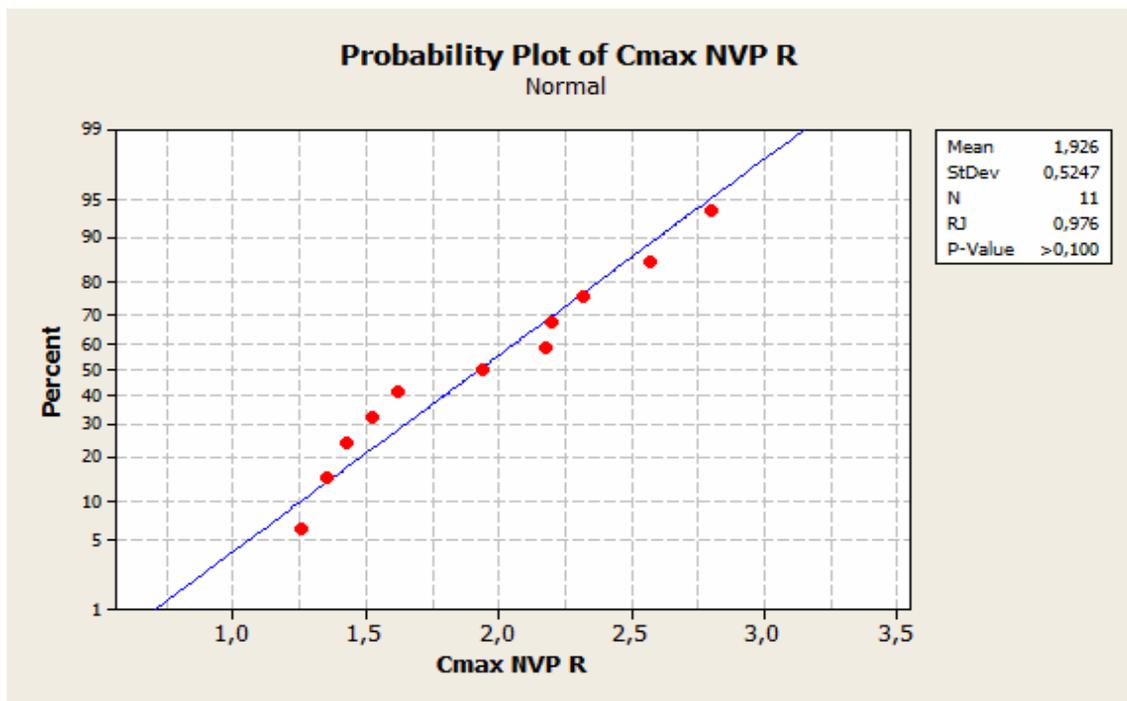


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 34: Análisis de distribución de la variable Cmax para los productos de prueba y referencia de la NVP (Test Ryan-Joiner).**

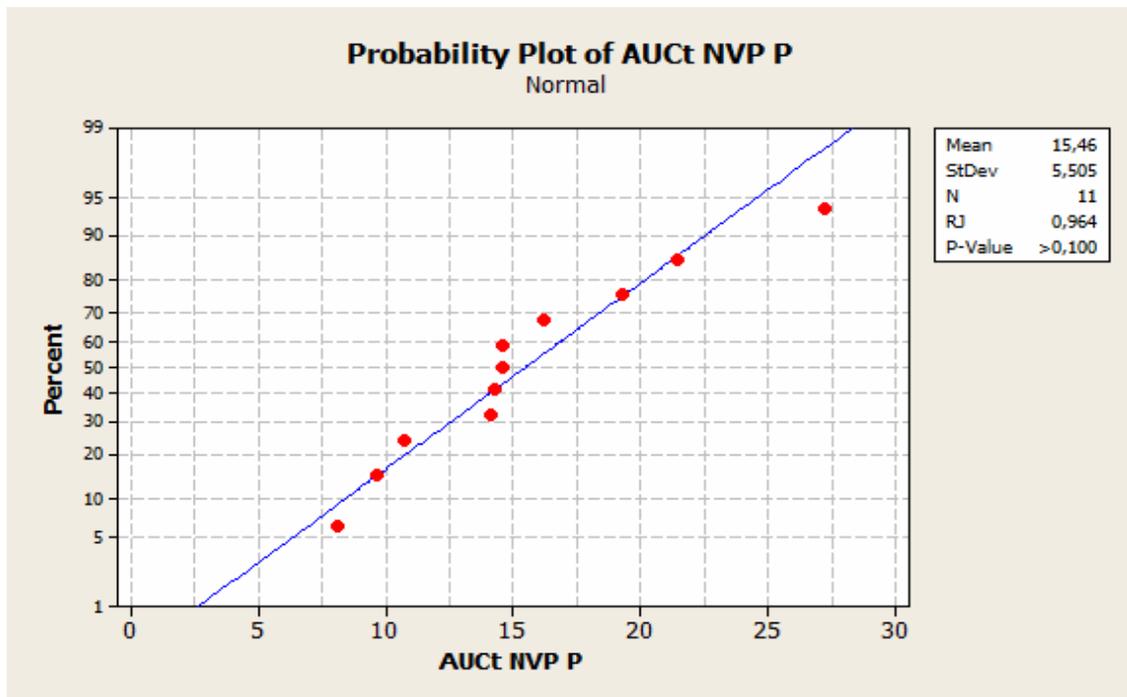


$p > 0.05$  es normal

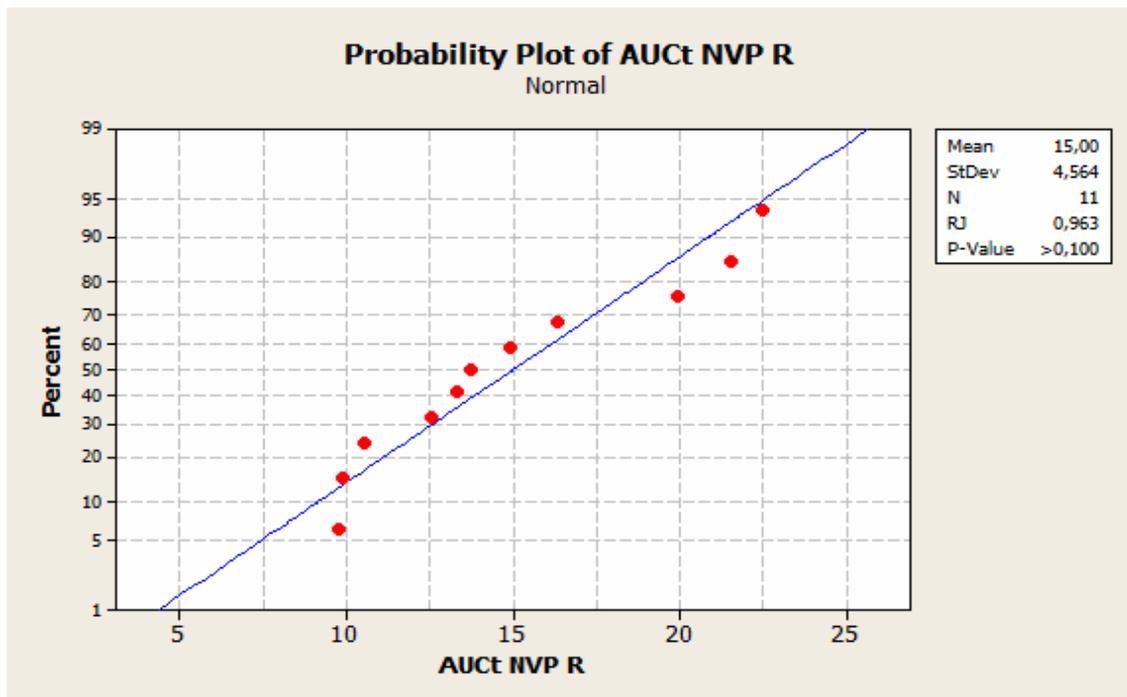


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 34A: Análisis de distribución de la variable  $AUC_{0-t}$  para los productos de prueba y referencia de la NVP (Test Ryan-Joiner).**

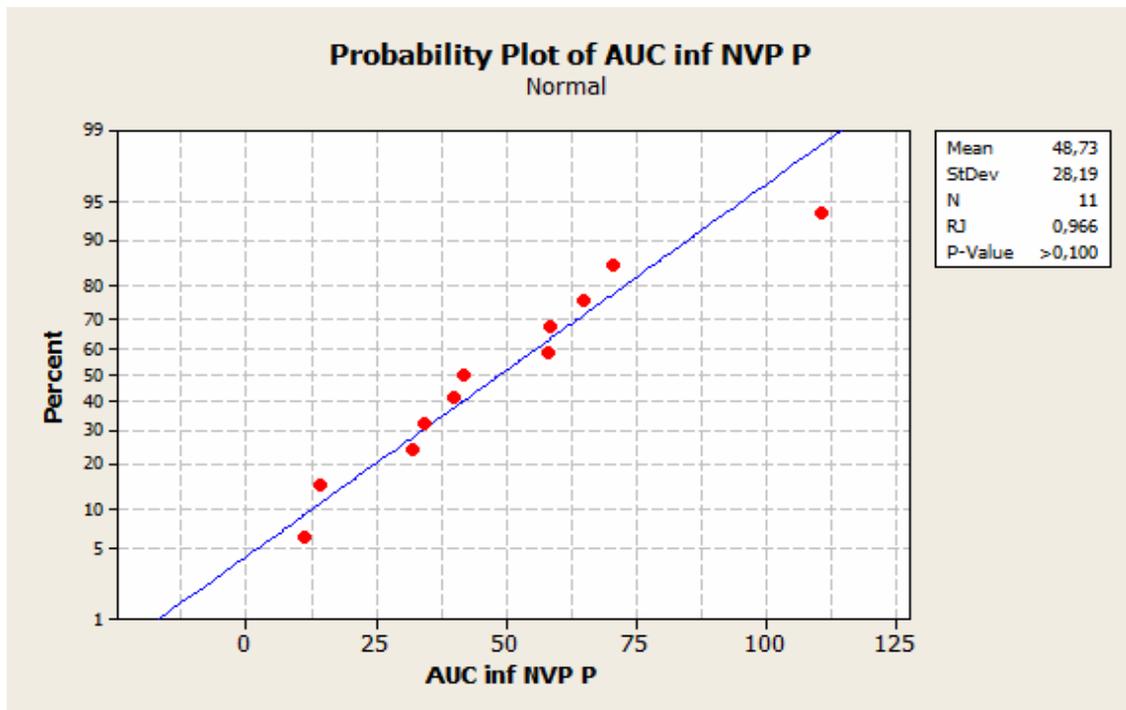


$p > 0.05$  es normal

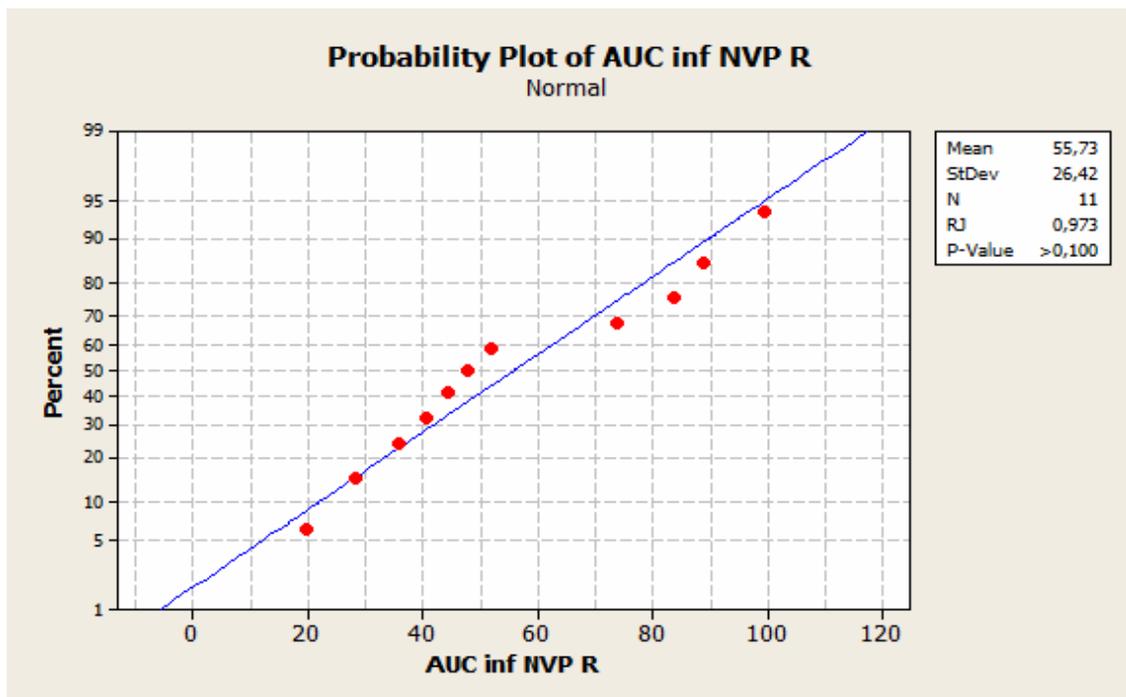


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 34B: Análisis de distribución de la variable  $AUC_{0-\infty}$  para los productos de prueba y referencia de la NVP (Test Ryan-Joiner).**

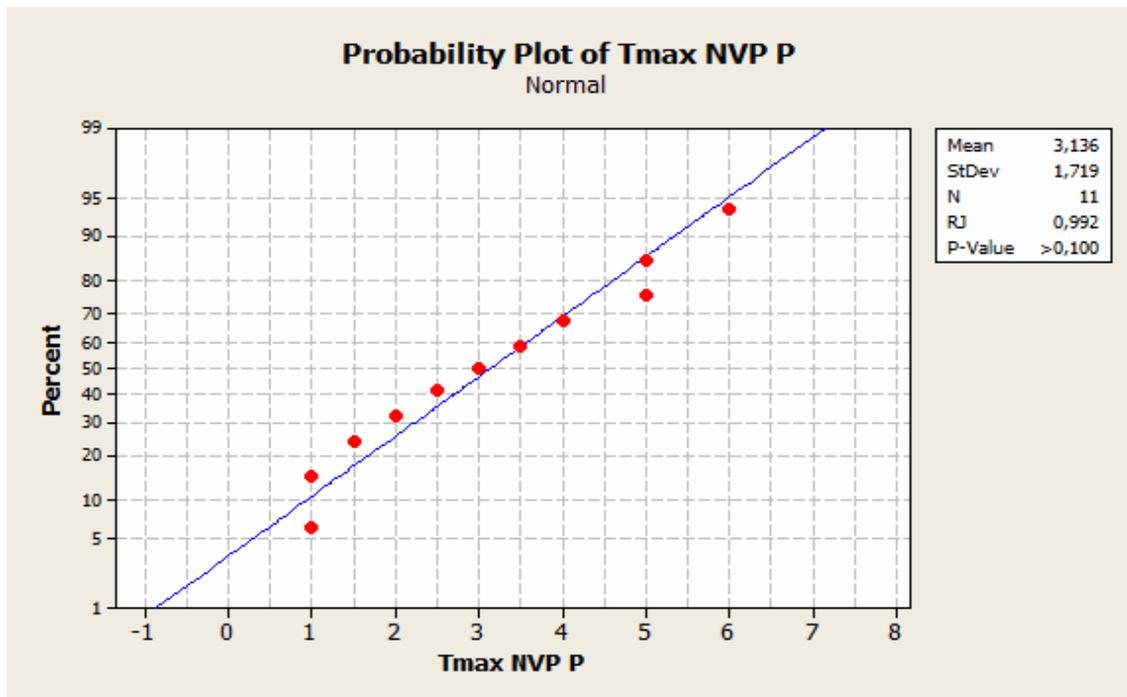


$p > 0.05$  es normal

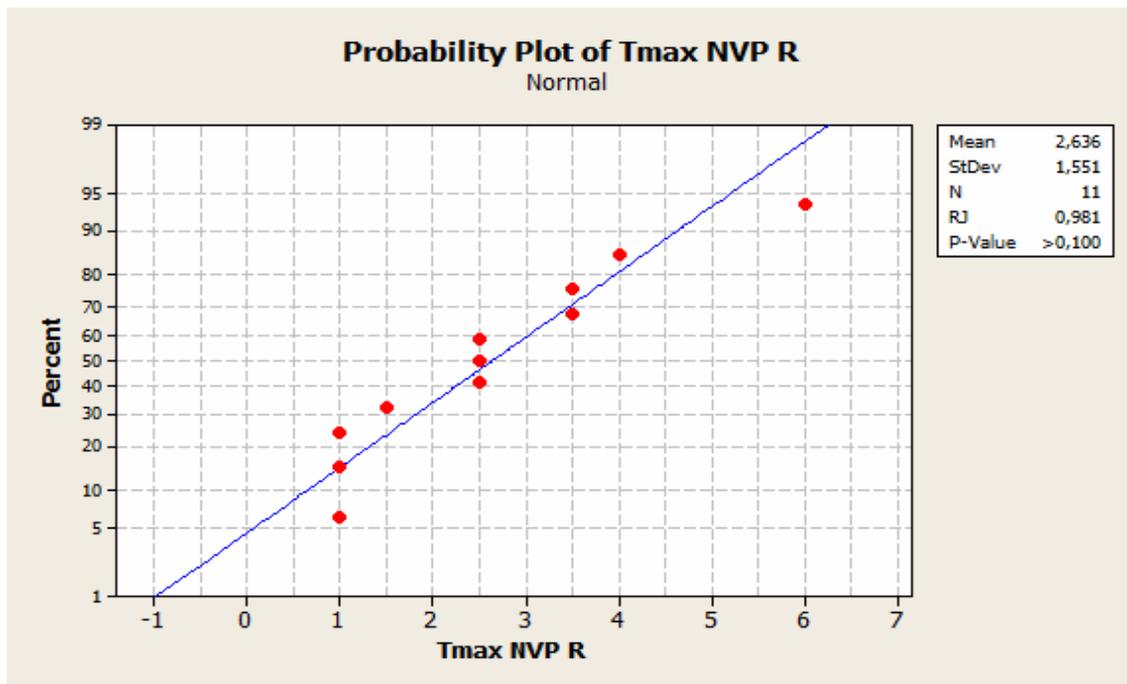


$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 34C: Análisis de distribución de la variable Tmax para los productos de prueba y referencia de la NVP (Test Ryan-Joiner).**



$p > 0.05$  es normal



$p > 0.05$  es normal

**ANEXO 35: Análisis de bioequivalencia del d4T [Producto de prueba (P) vs producto de referencia (R)] por pacientes.**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> P/R</b>	<b>LN C<sub>max</sub> P/R</b>	<b>T<sub>max</sub> (P - R) (horas)</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub> P/R</b>	<b>LN AUC<sub>0-12</sub> P/R</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> P/R</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> P/R</b>
1	2,46	0,90	0,25	2,09	0,74	0,91	-0,09
2	1,96	0,67	-0,10	0,97	-0,03	1,09	0,09
3	0,22	-1,51	0,25	0,27	-1,31	3,45	1,24
4	0,88	-0,13	0,50	1,61	0,48	0,66	-0,42
5	0,55	-0,60	0,75	1,64	0,50	0,53	-0,63
6	1,18	0,17	-0,25	0,76	-0,27	1,38	0,32
7	1,95	0,67	-1,0	0,95	-0,05	1,07	0,07
8	2,08	0,73	-0,50	1,36	0,31	0,68	-0,39
9	1,13	0,12	-1,25	0,57	-0,56	2,02	0,70
10	0,87	-0,14	0,25	1,78	0,58	0,57	-0,56
11	1,52	0,42	-0,50	1,65	0,50	0,61	-0,49
12	0,97	-0,03	1,25	1,30	0,26	0,82	-0,20
13	1,58	0,46	-0,75	0,99	-0,01	1,05	0,05
14	0,71	-0,34	0,0	1,0	0,0	0,98	-0,02
<b>X</b>	<b>1,29</b>	<b>0,10</b>	<b>-0,08</b>	<b>1,21</b>	<b>0,08</b>	<b>1,13</b>	<b>-0,02</b>
<b>DE</b>	<b>0,65</b>	<b>0,64</b>	<b>0,69</b>	<b>0,51</b>	<b>0,54</b>	<b>0,77</b>	<b>0,52</b>
<b>IC90%</b>	-	<b>0,92 - 0,99</b>	-	-	<b>0,96 - 1,02</b>	-	<b>0,96 - 1,03</b>
<b>ABmm</b>	-	<b>0,80 - 1,25</b>	-	-	<b>0,80 - 1,25</b>	-	<b>0,80 - 1,25</b>
<b>ABma</b>	-	-	<b>0,23</b>	-	-	-	-

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **IC90%:** Intervalo de confianza; **ABmm:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo multiplicativo; **ABma:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo aditivo.

**ANEXO 36: Análisis de bioequivalencia del 3TC [Producto de prueba (P) vs producto de referencia (R)] por pacientes.**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> P/R</b>	<b>LN C<sub>max</sub> P/R</b>	<b>T<sub>max</sub> (P - R) (horas)</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub> P/R</b>	<b>LN AUC<sub>0-12</sub> P/R</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> P/R</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> P/R</b>
<b>1</b>	0,92	-0,29	0,00	1,11	0,10	1,10	0,10
<b>2</b>	1,02	0,29	0,25	0,57	-0,56	0,45	-0,80
<b>3</b>	1,02	0,08	0,00	0,81	-0,21	0,83	-0,19
<b>4</b>	1,29	0,31	0,00	0,73	-0,31	0,96	-0,04
<b>5</b>	0,75	-0,80	0,75	1,10	0,10	1,13	0,12
<b>6</b>	1,34	0,62	-0,75	0,83	-0,19	0,83	-0,19
<b>7</b>	1,08	0,25	-0,25	0,98	-0,02	0,98	-0,02
<b>8</b>	1,36	-0,07	-0,50	1,08	0,08	1,04	0,04
<b>9</b>	0,45	0,29	1,25	0,70	-0,36	0,70	-0,36
<b>10</b>	1,86	-0,29	-0,75	0,92	-0,08	0,92	-0,08
<b>11</b>	1,29	0,29	0,75	1,30	0,26	1,33	0,29
<b>12</b>	0,93	0,08	0,00	0,70	-0,36	0,69	-0,37
<b>13</b>	1,34	0,31	0,00	1,20	0,18	1,11	0,10
<b>X</b>	<b>1,13</b>	<b>0,07</b>	<b>0,06</b>	<b>0,93</b>	<b>-0,11</b>	<b>0,93</b>	<b>-0,11</b>
<b>DE</b>	<b>0,35</b>	<b>0,35</b>	<b>0,59</b>	<b>0,22</b>	<b>0,24</b>	<b>0,23</b>	<b>0,28</b>
<b>IC90%</b>	-	<b>0,94 - 1,04</b>	-	-	<b>0,97 - 1,06</b>	-	<b>0,97 - 1,05</b>
<b>ABmm</b>	-	<b>0,80 - 1,25</b>	-	-	<b>0,80 - 1,25</b>	-	<b>0,80 - 1,25</b>
<b>ABma</b>	-	-	<b>0,20</b>	-	-	-	-

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **IC90%:** Intervalo de confianza; **ABmm:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo multiplicativo; **ABma:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo aditivo.

**ANEXO 37: Análisis de bioequivalencia del AZT [Producto de prueba (P) vs producto de referencia (R)] por pacientes.**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> P/R</b>	<b>LN C<sub>max</sub> P/R</b>	<b>T<sub>max</sub> (P - R) (horas)</b>	<b>AUC<sub>0-8</sub> P/R</b>	<b>LN AUC<sub>0-8</sub> P/R</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> P/R</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> P/R</b>
<b>1</b>	0,82	-0,20	-0,25	1,02	0,02	1,02	0,02
<b>2</b>	1,06	0,06	0,00	1,05	0,05	1,05	0,05
<b>3</b>	1,65	0,50	0,00	1,45	0,37	1,44	0,36
<b>4</b>	0,89	-0,12	0,25	1,20	0,18	1,21	0,19
<b>5</b>	0,37	-0,99	0,00	0,40	-0,92	0,40	-0,92
<b>6</b>	0,90	-0,11	0,00	0,79	-0,24	0,76	-0,27
<b>7</b>	1,55	0,44	-0,50	1,10	0,10	1,10	0,10
<b>8</b>	0,65	-0,43	0,75	0,88	-0,13	0,88	-0,13
<b>9</b>	1,72	0,54	-0,25	1,10	0,10	1,10	0,10
<b>10</b>	1,86	0,62	-1,50	1,04	0,04	1,04	0,04
<b>11</b>	1,05	0,05	-0,25	1,25	0,22	1,24	0,22
<b>12</b>	0,72	-0,33	0,25	1,45	0,37	1,15	0,14
<b>13</b>	0,86	-0,15	0,25	1,03	0,03	1,03	0,03
<b>X</b>	<b>1,08</b>	<b>-0,01</b>	<b>-0,10</b>	<b>1,05</b>	<b>0,02</b>	<b>1,03</b>	<b>-0,01</b>
<b>DE</b>	<b>0,46</b>	<b>0,46</b>	<b>0,53</b>	<b>0,28</b>	<b>0,33</b>	<b>0,25</b>	<b>0,31</b>
<b>IC90%</b>	-	<b>0,79 - 1,29</b>	-	-	<b>0,86 - 1,16</b>	-	<b>0,87 - 1,16</b>
<b>ABmm</b>	-	<b>0,75 - 1,33</b>	-	-	<b>0,80 - 1,25</b>	-	<b>0,80 - 1,25</b>
<b>ABma</b>	-	-	<b>0,17</b>	-	-	-	-

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **IC90%:** Intervalo de confianza; **ABmm:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo multiplicativo; **ABma:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo aditivo.

**ANEXO 38: Análisis de bioequivalencia del IDV [Producto de prueba (P) vs producto de referencia (R)] por pacientes.**

<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> P/R</b>	<b>LN C<sub>max</sub> P/R</b>	<b>T<sub>max</sub> (P - R) (horas)</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub> P/R</b>	<b>LN AUC<sub>0-12</sub> P/R</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> P/R</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> P/R</b>
<b>1</b>	0,65	-0,43	0,25	0,66	-0,42	0,66	-0,42
<b>2</b>	0,66	-0,41	-0,25	0,64	-0,45	0,64	-0,45
<b>3</b>	1,09	0,08	-0,25	1,04	0,04	1,03	0,03
<b>4</b>	0,75	-0,28	0,00	0,78	-0,25	0,74	-0,30
<b>5</b>	0,90	-0,10	0,00	0,86	-0,15	0,87	-0,14
<b>6</b>	1,45	0,37	-0,50	1,01	0,01	1,01	0,01
<b>7</b>	1,27	0,23	0,25	1,41	0,34	1,48	0,39
<b>8</b>	0,82	-0,19	0,00	1,01	0,01	1,04	0,04
<b>9</b>	0,87	-0,13	0,00	1,20	0,18	1,25	0,22
<b>10</b>	0,56	-0,57	-0,25	0,43	-0,84	0,42	-0,87
<b>11</b>	0,96	-0,04	0,00	0,77	-0,26	0,77	-0,26
<b>12</b>	0,88	-0,12	0,00	0,99	-0,01	0,99	-0,01
<b>13</b>	1,10	0,09	0,25	2,05	0,72	2,06	0,72
<b>14</b>	1,29	0,25	0,00	1,18	0,17	1,28	0,25
<b>X</b>	<b>0,95</b>	<b>-0,09</b>	<b>-0,04</b>	<b>1,00</b>	<b>-0,07</b>	<b>1,02</b>	<b>-0,06</b>
<b>DE</b>	<b>0,26</b>	<b>0,28</b>	<b>0,22</b>	<b>0,40</b>	<b>0,38</b>	<b>0,41</b>	<b>0,40</b>
<b>IC90%</b>	-	<b>0,95 - 1,14</b>	-	-	<b>0,90 - 1,16</b>	-	<b>0,90 - 1,16</b>
<b>ABmm</b>	-	<b>0,80 - 1,25</b>	-	-	<b>0,80 - 1,25</b>	-	<b>0,80 - 1,25</b>
<b>ABma</b>	-	-	<b>0,20</b>	-	-	-	-

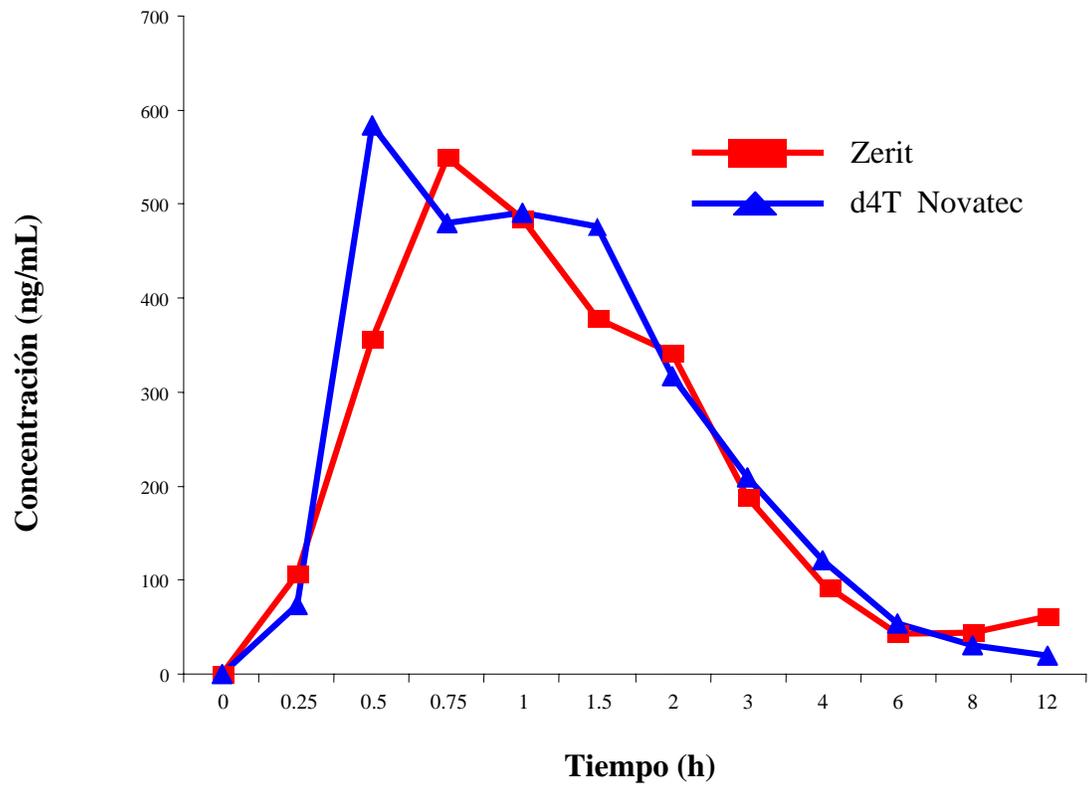
**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **IC90%:** Intervalo de confianza; **ABmm:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo multiplicativo; **ABma:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo aditivo.

**ANEXO 39: Análisis de bioequivalencia del NVP [Producto de prueba (P) vs producto de referencia (R)] por pacientes.**

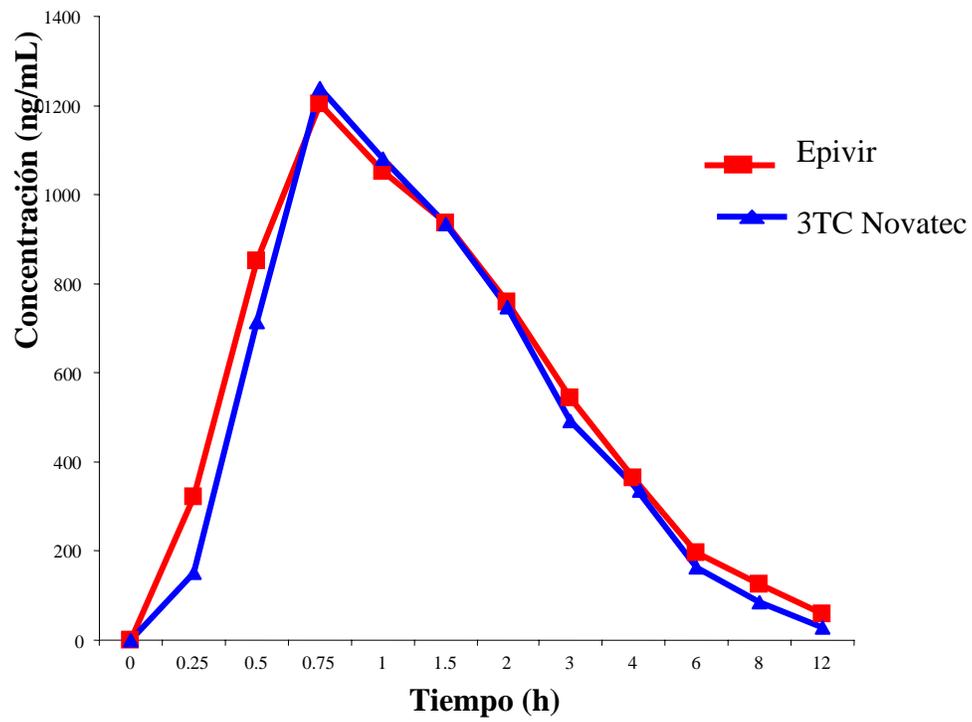
<b>Pctes</b>	<b>C<sub>max</sub> P/R</b>	<b>LN C<sub>max</sub> P/R</b>	<b>T<sub>max</sub> (P - R) (horas)</b>	<b>AUC<sub>0-12</sub> P/R</b>	<b>LN AUC<sub>0-12</sub> P/R</b>	<b>AUC<sub>0-∞</sub> P/R</b>	<b>LN AUC<sub>0-∞</sub> P/R</b>
<b>1</b>	1,01	0,01	-1	1,16	0,15	1,03	0,03
<b>2</b>	1	0,00	0	1,09	0,09	1,13	0,12
<b>3</b>	0,76	-0,27	1,5	0,86	-0,15	0,66	-0,42
<b>4</b>	0,74	-0,30	1	0,83	-0,19	0,57	-0,56
<b>5</b>	0,99	-0,01	1,5	0,9	-0,11	1,23	0,21
<b>6</b>	1,11	0,10	0,5	1,21	0,19	1,91	0,65
<b>7</b>	1,07	0,07	0,5	1,08	0,08	0,71	-0,34
<b>8</b>	1,12	0,11	2	1,07	0,07	14,50	2,67
<b>10</b>	1,24	0,22	-2,5	0,7	-0,36	0,16	-1,83
<b>11</b>	0,94	-0,06	-0,5	1,09	0,09	1,46	0,38
<b>12</b>	1,09	0,09	2,5	1,38	0,32	0,48	-0,73
<b>X</b>	<b>1,01</b>	<b>0,00</b>	<b>0,50</b>	<b>1,03</b>	<b>0,02</b>	<b>2,17</b>	<b>0,02</b>
<b>DE</b>	<b>0,15</b>	<b>0,16</b>	<b>1,45</b>	<b>0,19</b>	<b>0,20</b>	<b>4,12</b>	<b>1,11</b>
<b>IC90%</b>	-	<b>0,71 – 1,38</b>	-	-	<b>0,92 – 1,10</b>	-	<b>0,86 – 1,17</b>
<b>ABmm</b>	-	<b>0,70 – 1,43</b>	-	-	<b>0,80 – 1,25</b>	-	<b>0,80 – 1,25</b>
<b>ABma</b>	-	-	<b>0,53</b>	-	-	-	-

**X:** media aritmética; **DE:** desviación estándar; **IC90%:** Intervalo de confianza; **ABmm:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo multiplicativo; **ABma:** Ámbito de bioequivalencia para el modelo aditivo.

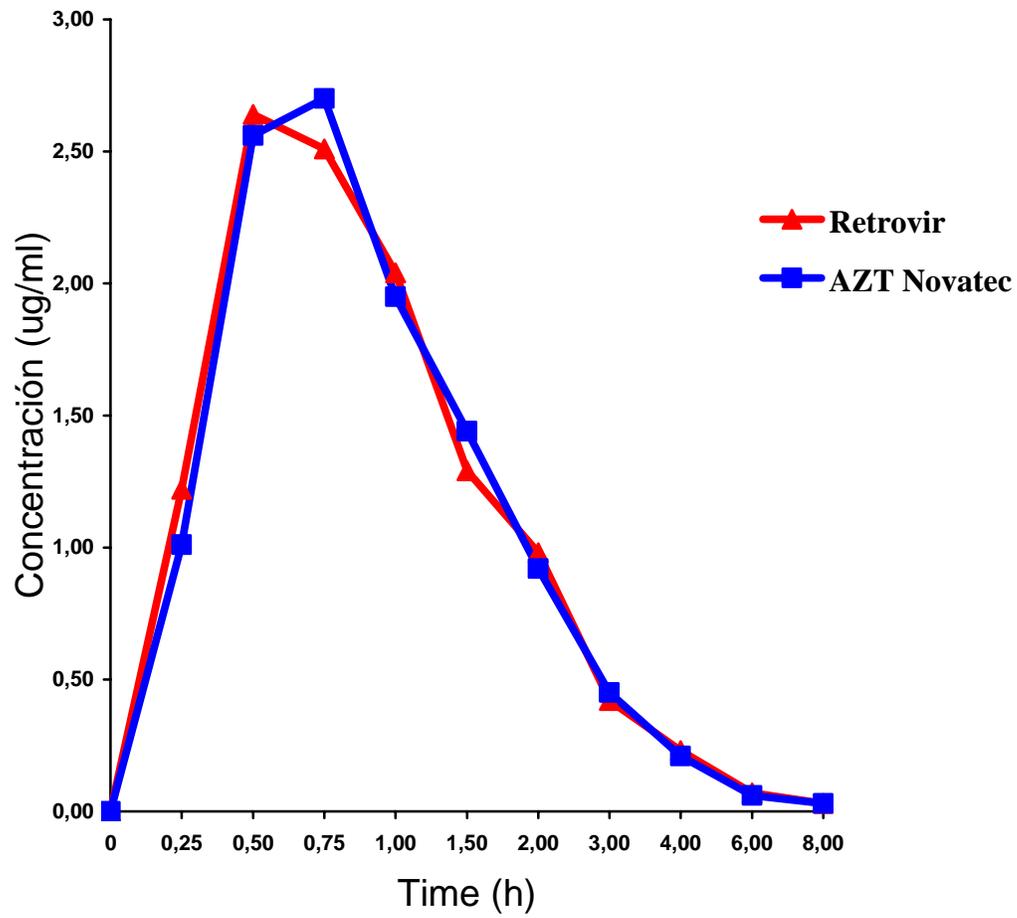
**ANEXO 40: Representación lineal de las medias de la concentración vs tiempo (d4T).**



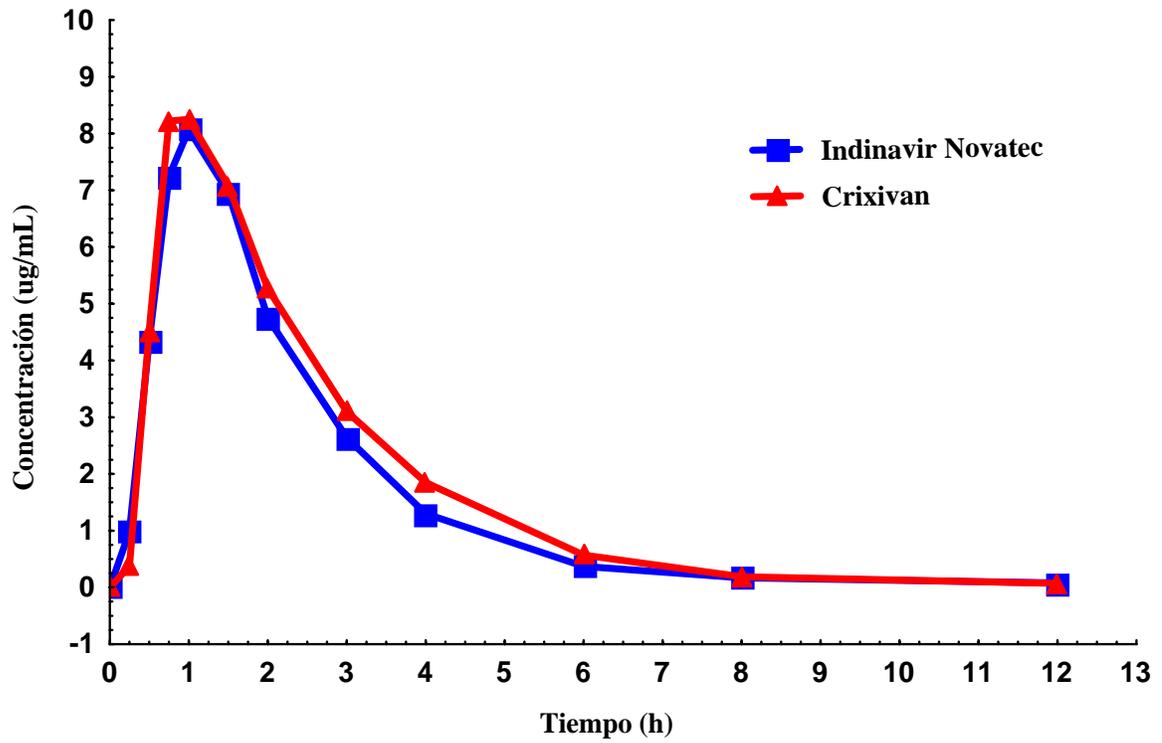
**ANEXO 41: Representación lineal de las medias de la concentración vs tiempo (3TC).**



**ANEXO 42: Representación lineal de las medias de la concentración vs tiempo (AZT).**



**ANEXO 43: Representación lineal de las medias de la concentración vs tiempo (IDV).**



**ANEXO 44: Representación lineal de las medias de la concentración vs tiempo (NVP).**

