

Determinación simultánea de efavirenz, emtricitabina y tenofovir por HPLC aplicada a equivalencia terapéutica *in vitro*

Simultaneous determination of efavirenz, emtricitabine and tenofovir by HPLC applied to *in vitro* therapeutic equivalence

Luis García B.¹, Giovanni Ramírez E.¹, Daniel Acuña A.¹, Nils Ramírez A.^{1*}

¹Universidad de Costa Rica, Facultad de Farmacia, Instituto de Investigaciones Farmacéuticas, Laboratorio de Biofarmacia y Farmacocinética, Costa Rica

Fecha de recepción: 10 de octubre de 2025. **Fecha de aceptación:** 1 de diciembre de 2025.

***Autor de correspondencia:** nils.ramirez@ucr.ac.cr

Resumen. Este estudio tuvo como objetivo validar un método analítico por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para la cuantificación simultánea de efavirenz, emtricitabina y tenofovir disoproxil fumarato en tabletas de combinación fija, como base para la evaluación de la bioequivalencia terapéutica *in vitro*. Se emplearon equipos HPLC Agilent 1100 con detector UV y sistema de disolución Varian 7010. La validación incluyó pruebas de linealidad, precisión, exactitud, límites de detección y cuantificación, influencia del filtro y especificidad. La metodología cumplió los criterios establecidos en un rango lineal de 24.0 a 144.0 µg/mL para efavirenz, 8.0 a 48.0 µg/mL para emtricitabina y 12.0 a 72.0 µg/mL para tenofovir, y coeficientes de determinación superiores a 0.9988. Las desviaciones estándar relativas fueron menores al 3.0% en todas las evaluaciones. El método fue aplicado al análisis de perfiles de disolución en medios a pH 1.2, 4.5 y 6.8. Se encontró que tenofovir presentó una disolución rápida (>85% en 30 minutos), mientras que efavirenz y emtricitabina mostraron baja disolución. Se concluye que el método es robusto, confiable y útil para estudios de control de calidad y disolución comparativa, aunque se recomienda el uso de medios alternativos como laurilsulfato de sodio al 2% para mejorar la solubilidad de efavirenz y emtricitabina.

Palabras clave. Bioequivalencia, cromatografía líquida de alta eficiencia, disolución, efavirenz, emtricitabina, metodología analítica, tenofovir, validación.

Abstract. This study aimed to validate a high-performance liquid chromatography (HPLC) analytical method for the simultaneous quantification of efavirenz, emtricitabine, and tenofovir disoproxil fumarate in fixed-dose combination tablets, as a basis for evaluating *in vitro* therapeutic equivalence. HPLC Agilent 1100 with UV detector and Varian 7010 dissolution system were used. The validation included linearity, precision, accuracy, detection and quantification limits, filter influence, and specificity. The method met all acceptance criteria within linear ranges of 24.0 to 144.0 µg/mL for efavirenz, 8.0 to 48.0 µg/mL for emtricitabine, and 12.0 to 72.0 µg/mL for tenofovir, with determination coefficients above 0.9988. Relative standard deviations were below 3.0% in all evaluations. The method was applied to dissolution profile analyses in pH 1.2, 4.5, and 6.8 media. Results showed that tenofovir dissolved rapidly (>85% in 30 minutes), whereas efavirenz and emtricitabine showed poor dissolution. It is concluded that the method is robust, reliable, and suitable for quality control and comparative dissolution studies. However, the use of alternative media such as 2% sodium lauryl sulfate is recommended to improve the solubility of efavirenz and emtricitabine.

Keywords. Bioequivalence, high-performance liquid chromatography, dissolution, efavirenz, emtricitabine, analytical methodology, tenofovir, validation.

1. Introducción

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) afecta a millones de personas y es uno de los problemas de salud pública más importantes en el mundo [1]. Las estadísticas más recientes señalan que a finales del 2020 había 37.7 millones de personas con VIH en todo el mundo, de las cuales solamente 28.2 millones tenían acceso a tratamiento a junio de 2021 [2], [3].

La terapia antirretroviral (TARV) ayuda a que las células afectadas por el VIH se mantengan en número y funcionalidad, mediante la disminución de la carga viral, pero sin eliminar el microorganismo. Pese a esto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha señalado la importancia de iniciar el tratamiento contra el VIH tan pronto como se tenga un diagnóstico, sin importar el grado de avance del virus en el cuerpo [4].

En Costa Rica, para el primer semestre del 2021 se atendieron por VIH a 10734 pacientes en la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS), lo que muestra un aumento cercano al 100% de los casos nuevos entre 1990 y 2020. Si bien esto puede ser un indicador de mejores métodos de diagnóstico, constituye un reto para la salud pública al tener que realizar altas inversiones económicas en la adquisición de antirretrovirales [5], que para el año 2017 superó los cuatro millones de dólares [6].

Para el año 2021, 9808 personas tomaban alguno de los tratamientos antirretrovirales disponibles en las Clínicas de VIH de la CCSS [5], lo cual es sumamente costoso para la institución y, por esta razón, debe recurrirse al uso de medicamentos multiorigen con el fin de reducir los costos y aumentar la cobertura [7].

La primera línea de tratamiento utilizada en la CCSS es la combinación de efavirenz, emtricitabina y tenofovir a dosis fija en una única tableta de formulación triple [8], cuyos principios activos deben ser sometidos a pruebas de bioequivalencia, según lo indicado en el listado priorizado de productos que requieren demostrar bioequivalencia, publicado por el Ministerio de Salud de Costa Rica [9] y el Decreto Ejecutivo No 32470 del año 2005 y su actualización de enero 2021 [10], [11].

La importancia de cumplir con los requisitos de bioequivalencia radica en evitar el aumento de la carga viral, así como la posible disminución de la capacidad de defensa del organismo y, por ende, la vulnerabilidad del paciente ante los microorganismos circulantes [12]; además, se ha demostrado que pacientes con una carga viral baja producto del adecuado tratamiento son menos propensos a transmitir el virus a otras personas [13], por lo cual, el acceso a medicamentos que hayan

demostrado bioequivalencia juega un papel vital en la salud pública, pues permite que el paciente obtenga la dosis correcta de los fármacos y se evita la resistencia a los tratamientos.

Debido a lo anteriormente señalado, es de suma importancia contar con un método analítico que permita cuantificar simultáneamente el tenofovir, la emtricitabina y el efavirenz, de manera exacta y precisa, para poder caracterizar la cinética de disolución de las tabletas y, posteriormente, realizar perfiles de disolución comparativos, los cuales son una prueba *in vitro* que constituye el primer paso para demostrar bioequivalencia. Por tanto, se pretende validar un método analítico por cromatografía líquida de alto rendimiento para la determinación simultánea del porcentaje disuelto para perfiles de disolución de tabletas en combinación fija de los antirretrovirales mencionados.

2. Materiales y Métodos

Se utilizó un cromatógrafo líquido de alto rendimiento con detector ultravioleta visible Agilent 1100, equipo de disolución Varian VK 7010 con automuestreador Varian VK 8000. Se utilizaron micropipetas electrónicas Sartorius Picus® para volúmenes de 100 µL, 200 µL y 1000 µL. Se utilizó un baño de ultrasonido ELGA Elmasonic P, centrífuga Hamilton Bell VanGuard V6500 y pH metro marca Sartorius Docu-pHMeter. Se utilizaron filtros de PVDF de 0.45 µm accionados por jeringa y filtros de membrana PVDF de 0.45 µm MILLEX® accionados por jeringa y filtros de membrana de nailon de 0.45 µm Agilent. Los reactivos utilizados fueron dihidrogenofosfato de potasio, ácido fosfórico, cloruro de sodio, hidrogenofosfato de sodio anhidro, hidróxido de sodio, ácido clorhídrico y ácido acético grado analítico. El acetonitrilo utilizado es grado HPLC (JT Baker®). Se utilizó agua ultrapura Milli-Q®.

Los estándares de referencia utilizados para los fármacos efavirenz, emtricitabina y tenofovir disoproxil fumarato fueron estándares de referencia de Sigma Aldrich. Las tabletas utilizadas para ensayar la cinética de disolución fueron Trustiva® HETERO: efavirenz (600 mg), emtricitabina (200 mg) y tenofovir disoproxil fumarato (300 mg, equivalente a 245 mg de tenofovir disoproxil), lote EET21027.

Las condiciones cromatográficas utilizadas fueron: un flujo de 0.8 mL/min, temperatura 25°C, longitud de onda 252 nm. La fase móvil consistió en acetonitrilo/hidrogenofosfato de sodio 0.03 M (50:50), columna C8 (150 mm x 4.6 mm x 5 µm), marca Agilent Zorbax Eclipse XDB-C8.

Para la preparación de la fase móvil se tomó 500 mL de acetonitrilo y se mezcló con 500 mL de una solución resultante de pesar 4.0 g de dihidrogenofosfato de potasio y llevar a volumen de 1 L con agua ultrapura, ajustada la solución hasta

un pH de 3.2 con ácido fosfórico. La fase móvil preparada se filtró por un filtro de PVDF de 0.45 μm .

Como diluyente de las muestras se utilizó una mezcla de acetonitrilo: agua (3:2).

Se prepararon tres medios de disolución para las cinéticas de disolución: a pH 1.2 (fluido gástrico simulado sin enzimas) [14], [15], pH 4.5 solución amortiguadora de acetatos [16] y pH 6.8 (fluido intestinal simulado) [14], [15].

2.1 Preparación de la solución madre y patrones a partir del estándar.

La solución madre se preparó al pesar y colocar en un matraz aforado de 100.0 mL; 30.0 mg de tenofovir disoproxil, 20.0 mg de emtricitabina y 60.0 mg de efavirenz. Se utilizó 30 mL de diluyente, se colocó en el baño ultrasónico por 5 minutos, se dejó enfriar y se llevó a la marca de aforo. Las concentraciones obtenidas fueron de 300.0 $\mu\text{g/mL}$ de tenofovir disoproxil, 200.0 $\mu\text{g/mL}$ de emtricitabina y 600.0 $\mu\text{g/mL}$ de efavirenz [17].

Se prepararon seis niveles de concentración en matraces aforados de 10.0 mL, correspondientes a los siguientes rangos de concentraciones: 10.0 $\mu\text{g/mL}$ a 72.0 $\mu\text{g/mL}$ de tenofovir disoproxil, 8.0 $\mu\text{g/mL}$ a 50.0 $\mu\text{g/mL}$ de emtricitabina, y 20.0 $\mu\text{g/mL}$ a 144.0 $\mu\text{g/mL}$ de efavirenz.

2.2 Validación del sistema

2.2.1 Linealidad e intervalo del del sistema

Se prepararon tres soluciones madre y los patrones a seis niveles de concentración según lo indicado en la sección 2.1 Preparación de la solución madre y patrones. Se obtuvieron 18 soluciones patrón.

Se inyectaron cada una de las soluciones patrón y se registraron las áreas de los picos cromatográficos y los tiempos de retención. Se graficaron las respuestas con respecto a las concentraciones de cada uno de los fármacos de las soluciones patrones.

Se realizó el análisis de varianza de regresión lineal, se determinaron los coeficientes de determinación y correlación. Además, se calculó y graficó los residuos [16], [17].

Como criterios de aceptación para demostrar linealidad se definieron los siguientes: demostrar homocedasticidad, demostrar el paso por el intercepto por cero, mediante una prueba t con un nivel de probabilidad de 5% y la desviación no debe ser significativa con respecto a la regresión. El coeficiente de correlación de todas las curvas debe estar entre 0.98 y 1.00, con un coeficiente de determinación mayor a 0.995. También debe observarse una distribución aleatoria de los residuos sin que se muestren tendencias sistemáticas que indiquen no linealidad [16], [17].

2.2.2 Precisión y exactitud del sistema

La precisión fue valorada por repetibilidad del sistema y la precisión intermedia. Para la repetibilidad se prepararon tres soluciones a cada una de las tres concentraciones (bajo, medio y alto) a partir de la solución madre. Se siguió el procedimiento indicado en el apartado 2.1. Se inyectó cada solución patrón, se registraron las áreas de los picos cromatográficos y los tiempos de retención de cada una.

Se calculó el promedio, la desviación estándar relativa y el porcentaje de error relativo porcentual a cada nivel de concentración.

El criterio para demostrar repetibilidad definido fue que se debe cumplir que el porcentaje relativo no debe ser mayor que el 2.0% en cada nivel de concentración y la desviación estándar relativa debe ser menor o igual que 2.0% para cada nivel de concentración [16], [17].

La precisión intermedia se valoró durante tres días con las concentraciones a bajo, medio y alto. Se preparó la solución madre según los apartados anteriores y las soluciones patrón a las concentraciones indicadas. Se calculó el promedio, la desviación estándar relativa y el porcentaje de error relativo de cada medición realizada [16], [17]. El criterio para demostrar precisión intermedia es que se debe cumplir que el porcentaje relativo no debe ser mayor que el 2.0% en cada nivel de concentración y la desviación estándar relativa debe ser menor o igual que 2.0% para cada nivel de concentración [16], [17].

2.2.3 Límite de detección y límite de cuantificación

Se utilizaron los valores de la pendiente (m) y el error estándar b (S) que se obtuvieron en el análisis de varianza de la regresión lineal de los datos de la linealidad del sistema, con el fin de determinar el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) de acuerdo con las ecuaciones 1 y 2, para cada uno de los fármacos.

$$\text{LOD} = 3S/m \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = 10S/m \quad (2)$$

Para comprobar el límite de detección y el límite de cuantificación se debe cumplir los siguientes criterios: comprobar que la concentración menor del intervalo de linealidad es mayor que el LOQ y que el LOD es menor que el LOQ .

2.2.4 Influencia del filtro en las mediciones analíticas

Se preparó una solución madre según lo indicado en las secciones anteriores. Se realizó a tres niveles de concentración para cada uno de los principios activos (bajo, medio y alto) y se midió la solución antes de filtrar y posterior al paso por el filtro PVDF de 0.45 μm . Se registraron las áreas y altura de los picos, así como los tiempos de retención. Se compararon los resultados obtenidos antes y después de filtrar las soluciones por medio de una prueba de varianzas y de t para detectar diferencias entre las respuestas obtenidas.

El criterio aplicado es que no deben existir diferencias estadísticamente significativas entre los resultados antes y después de filtrar las soluciones patrón a cada nivel de concentración.

2.3 Validación del método

2.3.1 Linealidad e intervalo del método por adición estándar

Se pesaron en forma individual 20 tabletas del producto Trustiva® y se trituraron hasta ser polvo fino. Se pesó por triplicado una cantidad de polvo de tableta equivalente a 30.0 mg de tenofovir disoproxil, 20.0 mg de emtricitabina y 60.0 mg de efavirenz en matraces aforados de 100.0 mL. Se utilizó agua ultrapura como diluyente, se colocó 50 mL en el matraz y se llevó a baño ultrasónico por cinco minutos.

De cada una de estas tres soluciones, se tomaron seis alícuotas de 400 μL y se colocaron en seis matraces aforados de 10.0 mL, a los cuales se les añadió un volumen creciente (0 μL , 400 μL , 800 μL , 1200 μL , 1600 μL y 2000 μL) de solución madre del estándar, con el fin de obtener las concentraciones finales de cada uno de los principios activos que se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Concentración de los principios activos en la evaluación de la linealidad e intervalo del método por adición estándar

Tenofovir $\mu\text{g/mL}$	Emtricitabina $\mu\text{g/mL}$	Efavirenz $\mu\text{g/mL}$
12.0	8.0	24.0
24.0	16.0	48.0
36.0	24.0	72.0
48.0	32.0	96.0
60.0	40.0	120.0
72.0	48.0	144.0

Las 18 soluciones resultantes siguieron el mismo proceso descrito en la sección 2.2.1 Linealidad e intervalo del del sistema, y los criterios de aceptación para demostrar linealidad son los mismos que también se describen en dicha sección.

2.3.2 Exactitud del método por adición estándar

Para evaluar la exactitud del método, se aplicó la técnica de adición estándar a tres niveles de concentración. Las soluciones madre se prepararon como se describe en la sección 2.3.1, a partir de polvo de tableta triturado y filtrado.

A partir de cada solución madre, se tomaron tres alícuotas de 400 μL y se colocaron en matraces aforados de 10.0 mL, a los cuales se añadieron 400 μL , 1200 μL y 2000 μL de la solución estándar (ver sección 2.1 para su preparación), y se aforaron con diluyente.

Las soluciones obtenidas fueron inyectadas, se registraron las áreas de los picos cromatográficos y se determinaron las concentraciones a partir de la curva de calibración. Se calculó el porcentaje de recuperación para cada nivel. Como criterios de aceptación, los porcentajes de recuperación deben estar entre 97.0% y 103.0%, con una desviación estándar relativa menor o igual al 3.0% [16], [17], [18].

2.3.3 Precisión del método

La precisión del método se evaluó mediante dos enfoques: repetibilidad y precisión intermedia. Para la repetibilidad, se prepararon por triplicado soluciones a tres niveles de concentración (bajo, medio y alto) mediante adición estándar, siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.3.2. Las soluciones fueron inyectadas, se registraron los tiempos de retención y áreas de los picos cromatográficos, y se calcularon las concentraciones a partir de la curva de calibración. Posteriormente, se determinó el promedio, la desviación estándar y la desviación estándar relativa para cada nivel.

La precisión intermedia se evaluó mediante la preparación de seis réplicas de una solución de concentración intermedia, siguiendo el mismo procedimiento, y analizadas por dos analistas distintos en días diferentes. Se calcularon los mismos parámetros estadísticos para comparar los resultados obtenidos entre analistas.

Criterios de aceptación: en ambos casos, la desviación estándar relativa no debe ser mayor que el 3.0% para cada nivel de concentración o entre analistas, según corresponda [16].

2.3.4 Especificidad

La especificidad del método se evaluó preparando una solución a partir del polvo de tableta, siguiendo el mismo procedimiento descrito en las secciones anteriores (triturado, disolución, ultrasonido, aforo y filtración). De esta solución se tomaron, por triplicado, alícuotas de 1600 μL y se llevaron a volumen con diluyente en matraces aforados de 10.0 mL. Las soluciones obtenidas fueron inyectadas y sus cromatogramas comparados con los obtenidos a partir de una solución patrón.

Se calcularon los valores promedio, desviación estándar y desviación estándar relativa de las áreas de los picos cromatográficos de cada principio activo.

Criterios de aceptación: La desviación estándar relativa debe ser menor o igual al 3.0%, y los cromatogramas deben presentar comportamientos equivalentes entre muestra y patrón, sin interferencias atribuibles a la matriz [16], [17], [18].

2.4 Evaluación de la cinética de disolución

La cinética de disolución fue evaluada utilizando un equipo de disolución con aparato II (paletas) con las siguientes condiciones: volumen de medio de 900.0 mL, temperatura mantenida a $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$, velocidad de agitación de 75 r.p.m. y tiempos de muestreo de 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos y 180 minutos. Se utilizaron tres medios de disolución: ácido clorhídrico pH 1.2 (fluido gástrico simulado sin enzimas), solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 y solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 (fluido intestinal simulado sin enzimas) [16], [19].

Las tabletas fueron colocadas en los vasos con medio de disolución previamente equilibrado a la temperatura establecida. Se tomaron alícuotas de 10 mL en los tiempos definidos, sin reposición del volumen. Las muestras fueron centrifugadas a 3000 r.p.m. durante 10 minutos. De cada sobrenadante, se tomaron alícuotas de 2000 μL , las cuales fueron llevadas a volumen en matraces aforados de 10.0 mL con diluyente.

Cada muestra fue inyectada en el sistema cromatográfico. Se construyeron curvas de calibración a partir de soluciones patrón (ver sección 2.2.1) y se determinaron las concentraciones de los principios activos en cada punto. Con los datos obtenidos, se estableció el perfil de disolución para cada fármaco en los diferentes medios [16], [19].

3. Resultados y discusión

En la figura 1 se muestra el cromatograma del análisis de una solución de tabletas de Trustiva® HETERO empleando las condiciones de trabajo descritas anteriormente.

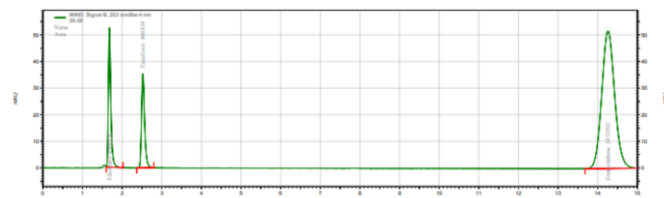


Figura 1. Cromatograma de la solución de tabletas de Efavirenz, Tenofovir y Emtricitabina, respectivamente.

Durante la validación del sistema cromatográfico, se confirmó la linealidad para los tres fármacos evaluados, al obtener coeficientes de determinación (r^2) superiores a 0.999. Adicionalmente, se verificó la homocedasticidad y una distribución aleatoria de residuos, condiciones indispensables para garantizar la confiabilidad de los resultados obtenidos en todo el rango analítico estudiado.

La precisión del sistema mostró desviaciones estándar relativas (DER%) menores a 1.2% en todas las evaluaciones, lo que indica un alto nivel de repetibilidad y precisión intermedia, en cumplimiento con los criterios de aceptación establecidos. Además, se determinó que el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) presentaron valores suficientemente bajos para permitir una detección y cuantificación efectiva de los principios activos en muestras reales. Asimismo, se determinó que el uso del filtro no genera interferencias significativas en las mediciones analíticas.

Tabla 2. Resultados obtenidos en la validación del sistema analítico

Parámetro	Fármaco		
	Efavirenz	Tenofovir	Emtricitabina
Validación del sistema			
Linealidad (r^2)	0.9995	0.9997	0.9994
Homocedasticidad	Sí	Sí	Sí
Distribución aleatoria de residuos	Sí	Sí	Sí
Repetibilidad del sistema (DER%)	0.59	0.53	0.39
Precisión intermedia del sistema (DER%)	1.18	1.03	1.03
LOD ($\mu\text{g/mL}$)	2.85	1.78	0.78
LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	9.51	5.93	2.60
Influencia del filtro en las mediciones	No	No	No

En relación con la validación del método analítico, los valores de coeficientes de determinación también fueron elevados ($r^2 \geq 0.9988$), con homocedasticidad y distribución aleatoria de residuos, confirmando una relación lineal entre la concentración y la respuesta cromatográfica obtenida mediante adición estándar.

La exactitud del método, determinada por la desviación estándar relativa del porcentaje de recuperación, estuvo dentro del rango aceptable, con valores máximos de 2.56%. La repetibilidad y precisión intermedia del método presentaron valores de DER (%) inferiores al 0.8%, lo cual evidencia una muy alta reproducibilidad y precisión bajo condiciones variables de análisis.

Tabla 3. Resultados obtenidos en la validación del método analítico

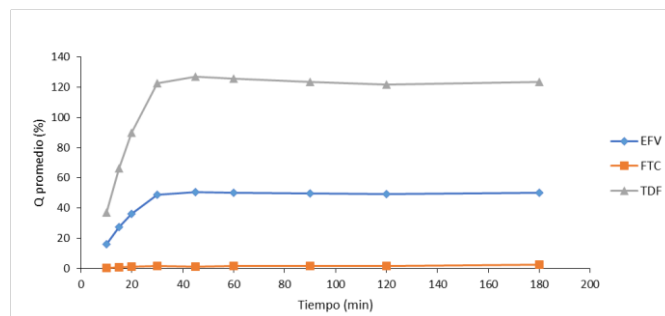
Parámetro	Fármaco		
	Efavirenz	Tenofovir	Emtricitabina
Validación del método			
Linealidad (r^2)	0.9992	0.9988	0.9989
Homocedasticidad	Sí	Sí	Sí
Distribución aleatoria de residuos	Sí	Sí	Sí
Exactitud del método (DER%)	2.56	1.77	1.57
Repetibilidad del método (DER%)	0.78	0.56	0.43
Precisión intermedia del método (DER%)	0.70	0.67	0.78
Especificidad del método (DER%)	0.39	0.27	0.84

Finalmente, la especificidad del método analítico resultó satisfactoria, al presentar DER (%) inferiores al 0.85%, lo que confirma la ausencia significativa de interferencias provenientes de la matriz farmacéutica o excipientes en la determinación simultánea de los tres principios activos.

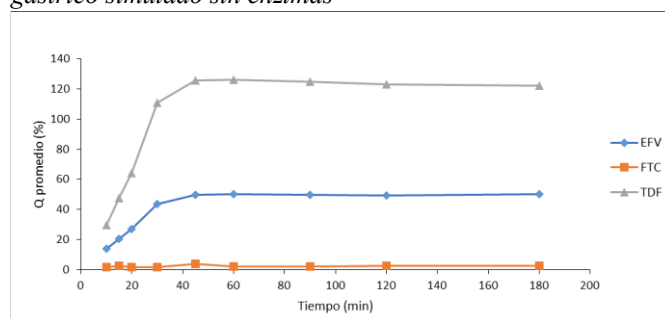
Estos resultados validan de manera integral el método analítico desarrollado, consolidando su utilidad y confiabilidad para la cuantificación simultánea de efavirenz, tenofovir disoproxil fumarato y emtricitabina, y es adecuado para su implementación en estudios rutinarios de control de calidad y ensayos de bioequivalencia.

La figura 2 muestra los perfiles de disolución de los tres principios activos evaluados en los tres medios de disolución descritos anteriormente. En ella, se puede apreciar que para los tres medios de disolución se observó un comportamiento similar: el tenofovir alcanzó rápidamente porcentajes superiores al 85% en los primeros 30 minutos, por lo cual se clasifica como un fármaco de rápida disolución; el efavirenz alcanza niveles pobres de disolución, que no llegan al 50%; y la emtricitabina, presenta una aún más baja disolución, de forma que prácticamente no se disuelve en los medios evaluados.

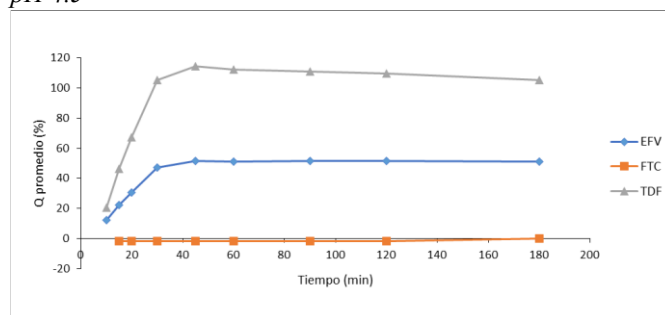
Debido a la baja disolución presentada en los medios empleados, se recomienda utilizar otros medios de disolución, tal y como el laurilsulfato de sodio al 2%.



(a) medio de disolución de ácido clorhídrico a pH 1.2: fluido gástrico simulado sin enzimas



(b) medio de disolución amortiguador de acetatos 0.05M a pH 4.5



(c) medio de disolución amortiguador de fosfatos a pH 6.8: fluido intestinal simulado sin enzimas

Figura 2. Perfiles de disolución de efavirenz, tenofovir y emtricitabina en tres medios de disolución.

4. Conclusiones

El método analítico desarrollado constituye una contribución significativa al control de calidad farmacéutico, pues presenta ventajas importantes como la adecuada separación cromatográfica de efavirenz, emtricitabina y tenofovir disoproxil fumarato en un tiempo de análisis reducido, utilizando una fase móvil compuesta por solución amortiguadora de fosfatos a pH 3.2 y acetonitrilo (50:50).

Se comprobó que el método es lineal en un amplio intervalo de concentración (efavirenz: 24.0 µg/mL a 144.0 µg/mL, emtricitabina: 8.0 µg/mL a 48.0 µg/mL y tenofovir: 12.0 µg/mL a 72.0 µg/mL), además de exacto, preciso y específico para la cuantificación simultánea de estos principios activos en tabletas combinadas de liberación inmediata, lo que representa un método robusto y confiable, aplicable en análisis rutinarios.

Se evidenció una limitación importante respecto a la disolución de efavirenz y emtricitabina, que no alcanzaron niveles adecuados en los medios recomendados para pruebas convencionales (ácido clorhídrico pH 1.2, amortiguador de acetatos pH 4.5 y amortiguador de fosfatos pH 6.8). En contraste, el tenofovir se clasificó como un fármaco de rápida disolución (>85% en 30 minutos) en todos los medios evaluados.

Dado el limitado desempeño de efavirenz y emtricitabina en los medios empleados, se recomienda seguir los lineamientos de las agencias regulatorias FDA y EMA, utilizando medios con laurilsulfato de sodio al 2% para obtener resultados más representativos.

Finalmente, se sugiere ampliar este estudio realizando perfiles de disolución con al menos 12 tabletas por producto y efectuar comparaciones con productos multiorigen y el producto de referencia. Además, debido a la relevancia clínica de estos medicamentos en la terapia antirretroviral, se recomienda extender los estudios mediante pruebas adicionales de disolución in vitro y estudios de bioequivalencia in vivo, contribuyendo significativamente al conocimiento científico y a la garantía de calidad terapéutica de estos medicamentos.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Biofarmacia y Farmacocinética (LABIOFAR) del Instituto de Investigaciones Farmacéuticas (INIFAR) y a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica (UCR).

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener algún conflicto de interés.

REFERENCIAS

- [1] Organización Mundial de la Salud (OMS), «VIH y sida». Accedido: 16 de junio de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/questions-and-answers/item/hiv-aids>
- [2] UNAIDS, «Sigamos el camino de los derechos — Día Mundial del Sida 2024 | UNAIDS». Accedido: 16 de junio de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.unaids.org/es/2024-world-aids-day>
- [3] Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/Sida, «Preguntas frecuentes con relación al VIH y el sida», ONUSIDA. 2022. Accedido: 27 de julio de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.unaids.org/es/frequently-asked-questions-about-hiv-and-aids>
- [4] Organización Mundial de la Salud (OMS), «10 datos sobre el VIH/sida». Accedido: 16 de junio de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/facts-in-pictures/detail/hiv-aids>
- [5] I. Rodríguez, «10.700 pacientes con VIH permanecen bajo seguimiento de CCSS», La Nación, nov. 2021, Accedido: 27 de julio de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.nacion.com/ciencia/salud/10700-pacientes-con-vih-permanecen-bajo-FGN55TPEGVBKHALDROJIWPMIFU/story/>
- [6] A. Fernández y M. Montero, «Por primera vez en 23 años, Caja simplifica tratamiento para pacientes con VIH». Accedido: 16 de junio de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://ameliarueda.com/nota/caja-cambia-tratamiento-antirretrovirales-pacientes-vih>
- [7] Ministerio de Salud Costa Rica y Karen Mayorga Quirós, «Memoria Institucional 2014-2018», San José, Costa Rica, 2018. Accedido: 22 de abril de 2020. [En línea]. Disponible en: <https://www.binasss.sa.cr/opac-ms/media/digitales/Memoria%20institucional%202014-2018.pdf>
- [8] A. G. Castro Mora, «CCSS toma medidas para optimizar existencia de producto contra el VIH/sida», El Mundo Noticias, 22 de enero de 2019. [En línea]. Disponible en: <https://elmundo.cr/costa-rica/ccss-toma-medidas-para-optimizar-existencia-de-producto-contr-el-vih-sida/>
- [9] Ministerio de Salud Costa Rica, «Listado Oficial Acumulado de Productos de Referencia», Ministerio de Salud de Costa Rica. marzo de 2022. [En línea]. Disponible en: <http://ministeriodesalud.go.cr/index.php?view=article&id=132&catid=40>
- [10] M. de S. de C. R. Poder Ejecutivo, «Reglamento para el registro sanitario de los medicamentos que requieren demostrar equivalencia terapéutica N° 32470». 2005. Accedido: 27 de julio de 2025. [En línea]. Disponible en: http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?nValor1=1&nValor2=55246
- [11] C. T. de I. de Medicamentos, «Actualiza la Lista de Principios Activos de Medicamentos Multiorigen». octubre de 2021. Accedido: 27 de julio de 2025. [En línea]. Disponible en: http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=93641&nValor3=124400&strTipM=TC

- [12] M. I. Solís Ramírez, «CCSS hace llamado para que pacientes con VIH retiren sus medicamentos», El Mundo Noticias 23 de marzo de 2017. [En línea]. Disponible en: <https://elmundo.cr/costa-rica/ccss-hace-llamado-para-que-pacientes-con-vih-retiren-sus-medicamentos/>
- [13] J. A. Owen, J. Punt, S. A. Stranford, P. P. Jones, Kuby Inmunología, 8.a ed. McGraw Hill, 2020.
- [14] Ministerio de Salud de Costa Rica, «Guía técnica para la presentación y evaluación de los estudios de perfiles de disolución comparativos». diciembre de 2022. Accedido: 27 de julio de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/biblioteca-de-archivos-left/documentos-ministerio-de-salud/regulacion-de-la-salud/bioequivalencia/guias-oficiales/1120-guia-tecnica-para-la-presentacion-y-evaluacion-de-los-estudios-de-perfiles-de-disolucion-comparativos-version-r2-24-10-2009/file>
- [15] The United States Pharmacopeial Convention, USP 36. Rockville, US, 2013.
- [16] E. A. G. Mora, «Comparación de perfiles de cinética de disolución de tabletas de 500 mg de levofloxacin de liberación inmediata disponibles en el mercado costarricense», PhD Thesis, UCR, 2009.
- [17] N. A. Raju, J. V. Rao, K. V. Prakash, K. Mukkanti, y K. Srinivasu, «Simultaneous estimation of tenofovir disoproxil, emtricitabine and efavirenz in tablet dosage form by RP-HPLC», Orient J Chem, vol. 24, p. 6, 2008.
- [18] D. Varma y A. Lakshmana Rao, «Stability-Indicating RP-HPLC Method for the Simultaneous Estimation of Efavirenz, Tenofovir and Emtricitabine in Pharmaceutical Formulations», Indian J. Pharm. Pharmacol., vol. 1, n.o 1, pp. 1-17, sep. 2014.
- [19] N. S. Wyawahare, R. A. M.M. Bhadgale, A.M. Deshmukh, S.M. Sethi, K. Shanmugham, y P.B. Shetiya. Pharmaceutical formulation for use in hiv therapy [Internet]. WO2008096369A2, 2008 [citado 5 de octubre de 2025]. Disponible en: <https://patents.google.com/patent/WO2008096369A2/en>