

## ОДРЕЂИВАЊЕ БИОЛОШКЕ ЕКВИВАЛЕНЦИЈЕ (БИОЕКВИВАЛЕНЦИЈЕ) ЛЕКОВА НА ОСНОВУ ПРАЋЕЊА ФАРМАКОДИНАМСКИХ ВАРИЈАБЛИ ЛЕКА

Митић Р.<sup>1</sup>, Поповић Ј.<sup>2</sup>, Станојевић З.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

<sup>2</sup>Медицински факултет Нови Сад

## THE ASSESSMENT OF BIOLOGICAL EQUIVALENCE (BIOEQUIVALENCE) OF DRUGS BASED ON THEIR PHARMACODYNAMIC VARIABLES

Митић Р.<sup>1</sup>, Поповић Ј.<sup>2</sup>, Станојевић З.<sup>1</sup>

Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

Medical faculty Novi Sad

### SUMMARY

Biological equality assessments are carried out by means of: a) comparative pharmacokinetic study; b) comparative pharmacodynamic study; c) controlled comparative clinical experimentation; d) comparative *in vitro* assay (dissolution test). The first method mentioned, i.e. determining the concentration of a drug in the blood of healthy volunteers, is the most accurate and most frequently employed. In this paper, a study conducted on healthy volunteers that displays the possibility of evaluating biological equality using pharmacodynamic variable data, giving the example of such assay of retard tablets of verapamil produced by two different companies, is presented. Taking into account the effects of this drug, biological equivalence was proved by comparing pharmacodynamic variables such as PR interval, systolic and diastolic blood pressure and heart rate.

**Key words:** biological equivalence (bioequivalence); pharmacodynamic variables; PR interval

### САЖЕТАК

Огледи за одређивање биолошке истоветности лекова спроводе се као: а) компаративне фармакокинетичке студије, б) компаративне фармакодинамске студије, в) компаративни контролисани клинички огледи и г) компаративни *in vitro* тестови (тестови дисолуције). Први начин, тј. одређивање концентрација лека у крви здравих добровољаца је најсигурнији и најчешће коришћен. У овом раду, у студији изведеној на здравим добровољцима показана је могућност одређивања биолошке еквиваленције праћењем фармакодинамских варијабли код ретард таблета верапамила два различита произвођача. У складу са ефектима које овај лек изазива биолошка еквивалентност је доказана компарацијом фармакодинамских варијабли (P-R интервал на ЕКГ-у, систолни и дијастолни крвни притисак, срчана фреквенција).

**Кључне речи:** биолошка еквиваленција (биоеквиваленција); фармакодинамске варијабле; P-R интервал

### УВОД

У фармаколошком смислу, верапамил је селективни антагонист калцијумових канала, дериват фенил-алкиламина (ту спадају и његови аналози: галопамил, тиапамил, анипамил и др.) првенствено са антиаритмијским, антиангинозним и антихипертензивним дејством. Синтетизован је 1961. год. у Harris лабораторијама Knoll Pharmaceutical Company (Knoll Bio Science Laboratories) од стране познатог хемичара Данглера. До сада је регистрован у више од 60 земаља у свету.

Према Закону о лековима и медицинским средствима (2010) биолошка еквиваленција је поступак којим се утврђује да биолошке расположивости два лека који су фармацеутски еквиваленти, односно фармацеутске алтернативе, примењена у истој моларној концентрацији (доза) показују такав степен сличности да је њи-

хово дејство у односу на ефикасност и безбедност суштински исто.(1)

Квалитет формулације лека (као система који ослобађа лек) се одређује брзином улаза и количином лека који у активном облику доспева до биолошке средине, одговорне за фармаколошко деловање. У највећем броју случајева се ова биолошка средина нити познаје, нити се из ње могу узимати узорци. Међутим, обично постоји близак однос ове средине, тј. фармаколошког деловања и концентрације лека у средини из које можемо узимати узорке, као што је крв (серум, плазма). (2)

Иначе, огледи за одређивање биолошке истоветности спроводе се као: а) компаративне фармакокинетичке студије на људима, б) компаративне фармакодинамичке студије на људима, в) компаративни контро-

лисани клинички огледи и г) компаративни ин витро тестови (тестови дисолуције). (3)

Одређивање концентрација лека у крви здравих добровољаца најсигурнији је начин и најчешће коришћен уз ограничење да се неки лекови не могу применити интравенски на људима и да је то понекад ризична и скупа процедура (поготову за стављање у промет паралела нових произвођача).

Основни фармакокинетски параметри за одређивање биолошке еквиваленције су следећи: максимална концентрација лека у крви ( $C_{max}$ ), време постизања максималне концентрације лека у крви ( $t_{max}$ ), површине испод криве концентрација испод криве током времена (AUC). Осим тога могу се користити и други параметри: константа ресорпције ( $K_a$ ), брзина ресорпције ( $v_a$ ), полувреме ресорпције ( $t_{1/2res}$ ), полувреме дистрибуције, полувреме елиминације, клиренски, волумени дистрибуције и др. (4,5,6)

У ситуацијама када не постоји задовољавајући аналитички метод за одређивање концентрације лека у организму, биоэквиваленција се одређује фармакодинамичким студијама. Ове студије се могу спроводити на здравим добровољцима или болесницима којима је лек намењен. Одабирање испитаника се врши према веома строгим критеријумима. Фармакодинамичке студије се могу спроводити само уколико ефекти лека који се испитује имају клинички значај и уколико су дозно зависни, тј. стоје у корелацији са концентрацијом лека у организму. (7)

## ЦИЉ РАДА

Утврдити биолошку истоветност (еквиваленцију) две ретард формулације верапамила на основу праћења фармакодинамских варијабли (вредност Р-Р интервала, вредности систолног и дијастолног притиска и срчане фреквенције).

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У огледу је учествовало 12 здравих одраслих испитаника оба пола, старости од 20-55 година, који задовољавају критеријуме за укључивање /неукључива-

ње у испитивање. Пре извођења испитивања урађене су лабораторијске претраге и испитаници су лекарски прегледани. Пре огледа је проверено да ли су испитаници узимали друге лекове или алкохол пре почетка испитивања. За време испитивања нису узимани други лекови.

Пре извођења огледа испитаници су 12 сати били на стандардизованом оброку (лаган оброк са ограниченим уносом масти). Испитивање је једноструко слепо, cross-over, рандомизовано. Таблете верапамила узимане су према листи рандомизације наташте са 150 ml воде. Са изузетком прва два сата дозвољено је узимање течности (осим алкохола и воде). Након 4 и 6 сата испитаници су добили стандардизован оброк.

Испитиване фармакодинамске варијабле мерење су у следећим временским интервалима (0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4; 6; 8; 10; 12, 24 сати након узимања лека).

Израчунавање површине испод криве (AUC) као основног параметара за процену биоэквивалентности двеју формулација израчунате су интеграцијом, након фитовања експерименталних података методом интерполације сплајн полиномима. (8, 9, 10)

За процену параметара којима се потврђује биоэквиваленција двеју формулација у литератури је описан велики број статистичких тестова међу којима се најчешће користе Анализа Варијансе (One way - ANOVA), t-тест за мале зависне узорке, затим Науск-ов Т-тест (11-13), Охки-ев (14), Westlike-ов тест (15) и др. (16).

Уколико је резултат теста статистички несигнификантан ( $p > 0.05$ ), тј. однос упоређиваних варијабли не излази из опсега 0.8-1.2, говори о биолошкој еквивалентности двеју формулација (лек А - референтни лек, и лек Б - тест супстанца).

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

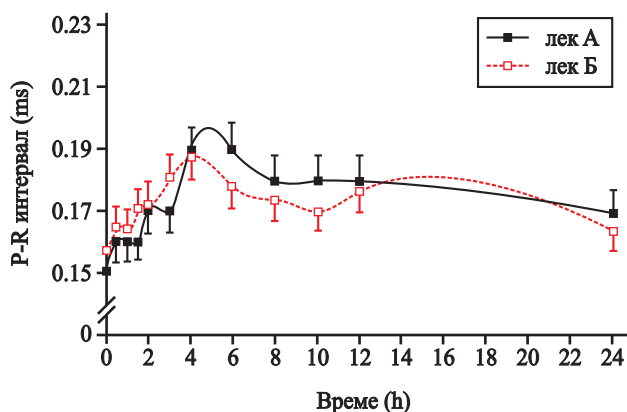
Компарацијом површина испод крива ( $AUC_{0-24h}$ ) мерене методом сплајн интерполационих полинома за испитивану фармакодинамску варијаблу (Р-Р интервал) (А:Б=8.59(ms·h):8.42(ms·h)=1.02) није утврђена статистички значајна разлика ( $p > 0.05$ ), што показује биолошку истоветност двеју испитиваних ретард формулација (табела 1, графикон 1).

Табела 1. Вредности површина испод криве ( $AUC_{0-24h}$ ) израчунате интеграцијом након фитовања података сплајн функцијом.

Статистички параметар	Испитивана фармакодинамска варијабла							
	Р-Р интервал (ms·h)		Систолни крвни притисак (mmHg·h)		Дијастолни крвни притисак (mmHg·h)		Срчана фреквенција (n·min <sup>-1</sup> ·h)	
	Лек А	Лек Б	Лек А	Лек Б	Лек А	Лек Б	Лек А	Лек Б
X bar	8.59	8.42	4924.82	5089.54	2977.72	3036.42	3034.75	3018.05
SD	0.95	0.90	571.98	604.44	489.22	470.40	234.22	321.32
SE	0.34	0.32	190.66	201.48	163.07	156.80	78.07	107.11
min	6.91	6.48	4113.03	4368.27	2325.50	2382.72	2723.97	2335.26
max	9.76	9.42	6204.99	6545.14	4059.55	4103.85	3598.33	3517.19
CV%	11.08	10.67	11.61	11.88	16.43	15.49	7.72	10.65
Сигнификантност	T = 1.00; p>0.05 F = 0.14; p>0.05		T = 1.24; p>0.05 F = 0.35; p>0.05		T = 0.61; p>0.05 F = 0.07; p>0.05		T = 0.22; p>0.05 F = 0.02; p>0.05	

Средња вредност времена у коме је постигнут максимални ефект за формулацију А износи  $5.22 \pm 0.97$  h, док је за формулацију Б  $5.50 \pm 1.51$ h. Однос А/Б = 0.95.

Средња вредност максималног процента промене за формулацију А износи  $24.44\% \pm 3.54$ , док је за формулацију Б  $21.56\% \pm 3.65$ . Однос А/Б = 1.13.

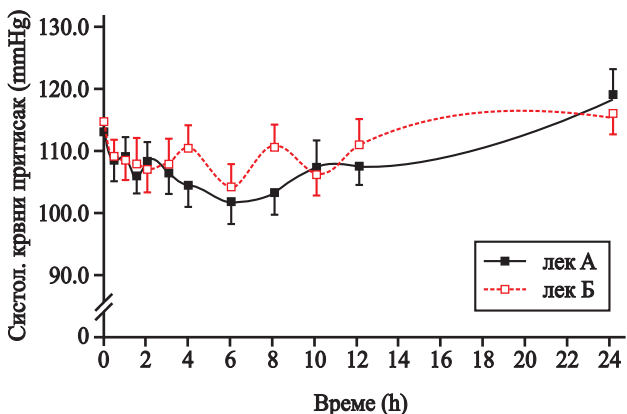


**Графикон 1.** Биоеквиваленција ретард формулација верапамилу у здравих добровољаца на основу вредности P-R интервала.

Упоредбом вредности површина испод крива ( $AUC_{0-24h}$ ) добијеним на основу измерених вредности систолног артеријског крвног притиска (А:Б =  $5089.54 \text{ mmHg} \cdot \text{h} : 4924.82 \text{ mmHg} \cdot \text{h} = 1.03$ ) није утврђена статистички значајна разлика ( $p > 0.05$ ) (табела 1, граф. 2).

Средња вредност времена у коме је постигнут максимални ефект за лек А износи  $5.80 \pm 0.55$ h, док је за формулацију Б ( $6.10 \pm 0.92$ h). Однос А/Б = 0.95.

Средња вредност максималног процента промене за формулацију А износи  $(-14.08\% \pm 1.71)$ , док је за лек Б  $(-13.73\% \pm 2.05)$ . Однос А/Б = 1.03.

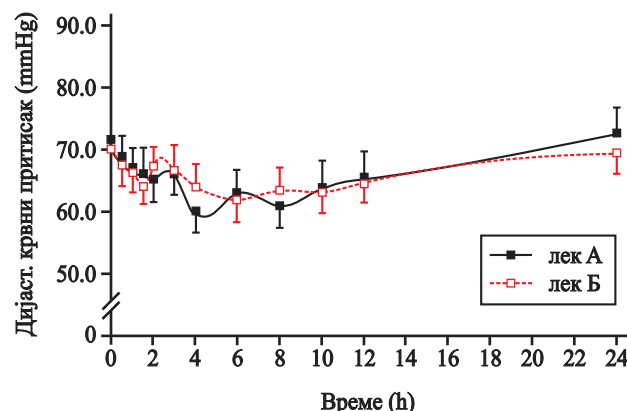


**Графикон 2.** Биоеквиваленција ретард формулација верапамилу у здравих добровољаца на основу вредности систолног крвног притиска.

Однос  $AUC_{0-24h}$  за дијастолни крвни притисак износи 1.02 ( $3036.42 \text{ mmHg} \cdot \text{h} : 2977.72 \text{ mmHg} \cdot \text{h}$ ). (таб. 1)

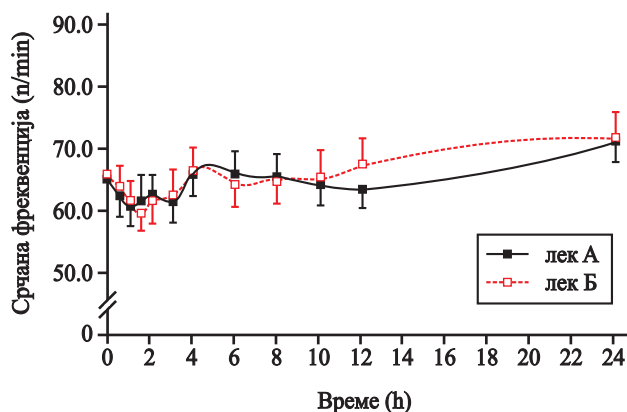
Количник времена у којима се постижу максимални ефект износи 1.11 ( $6.29 \text{ h} : 5.67 \text{ h}$ ).

Максимални постигнути ефекти снижења вредности дијастолног притиска стоје у односу  $(-18.28\% \pm 2.79) : (-17.04\% \pm 1.98) = 1.07$ .



**Графикон 3.** Биоеквиваленција ретард формулација верапамилу у здравих добровољаца на основу вредности дијастолног крвног притиска.

Без обзира на велике интериндивидуалне разлике (појава рефлексне тахикардије) у погледу процене биолошке еквиваленције на основу вредности срчане фреквенције такође је установљен висок степен истоветности две проучаване формулације ( $(AUC_{0-24h})$  А:Б =  $3018.05 \text{ n} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{h} : 3034.75 \text{ n} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{h} = 0.99$ ) - таб. 1, граф. 4.



**Графикон 4.** Биоеквиваленција ретард формулација верапамилу у здравих добровољаца на основу вредности срчане фреквенције.

## ЗАКЉУЧАК

У складу са ефектима које верапамил изазива биолошка еквивалентност је доказана компарацијом фармакодинамских варијабли (P-R интервал на ЕКГ-у, систолни и дијастолни крвни притисак, срчане фреквенције) здравих добровољаца.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Закон о лековима и медицинским средствима (Објављен у "Sl. glasniku RS", br. 30 od 7. maja 2010). [http://www.podaci.net/\\_zakon/propis/Zakon\\_o\\_lekovima/Z-lmsred03v1030.html](http://www.podaci.net/_zakon/propis/Zakon_o_lekovima/Z-lmsred03v1030.html)

2. Popović J.: Matematički principi u farmakokinetici, kompartmentnoj analizi i biofarmaciji II deo, Medicinski fakultet, Novi Sad. 2004. str. 459-60.
3. Guidance for industry: Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products - general considerations. US Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research; 2002. Available at: <http://www.fda.gov/cder/guidance/4964dft.pdf>. Accessed October 11, 2003.
4. Popović J.: Spline functions in convolutional modeling of verapamil bioavailability and bioequivalence. I: Conceptual and numerical issues, Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet. 2006; Vol. 31, No 2: 79-86.
5. Popović J., Mitić R., Sabo A., Mikov M., Jakovljević V., Đaković-Švajcer K.: Spline functions in convolutional modeling of verapamil bioavailability and bioequivalence. II: Study in healthy volunteers. Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet. 2006; Vol. 31, No 2: 87-96.
6. Jakovljević M., Janković S.: Studije bioekvivalencije. Acta Medica Medianae 2006; 45(3):50-55.
7. Đaković-Švajcer K.: Osnovi farmakologije, Ortomedics, Novi Sad, 2010, 77-79.
8. Popović J, Popović V.: Analysis of toxicokinetic data by means of spline functions. Arch Tox Kinet Xenobiot Metab, 1(1):79-93, 1993.
9. Popović J, Popović V. Cubic spline functions in pharmacokinetic data analysis. Period Biol, 87: 293-296, 1985.
10. Popović J.: A method of analyzing drug absorption by inverse convolution, Eur J Pharmacol, 183/2:386-387, 1990.
11. Hauck WW, Anderson S. A new statistical procedure for testing equivalence in two-group comparative bioavailability trials. J Pharmacokinet Biopharm 12:83-91, 1984.
12. Anderson and Hauck WW. A new procedure for testing in comparative bioavailability and other clinical trials. Comm. Stat. A12:2663-2692, 1983.,
13. Anderson S; Hauck WW: Consideration of individual bioequivalence. J Pharmacokinet Biopharm. 1990 Jun; 18(3): 259-73.)
14. Ohki T., Suzuki T., Goto S: A new statistical procedure of interval hypothesis testing for bioequivalence studies. Biol Pharm Bull. 1995 Jan; 18(1): 192-4)
15. Westlake JA. Use of confidence intervals in analysis of comparative bioavailability trials. J Pharm Sci, 61: 1340-1341, 1972.
16. Mitić R. Proučavanje biomatematičkih modela za određivanje brzine resorpcije i bioekvivalencije sa verapamilom kao test supstancom. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet Priština, 1998.