

DETERMINAREA BIOECHIVALENȚEI PRODUSULUI NIFEDIPIN COMPRIMATE RETARD (TERAPIA CLUJ-NAPOCA)

S. E. Leucuta*, R. Capalneanu*, D.I. Postestescu*, Marcela Achim*,
Manuela Preda*, Mirela Moldovan*, A. Bodea*, Ana Rusu*

REZUMAT

S-a determinat biodisponibilitatea nifedipinei din comprimate cu cedare prelungită Nifedipin (Terapia) și Adalat (Bayer) printr-o analiză farmacocinetică a concentrațiilor medicamentoase plasmatiche obținute după administrarea unor doze unice de 20 mg pe cale orală la un lot de 12 voluntari sănătoși. Dozarea nifedipinei în probe s-a făcut printr-o metodă HPLC. Raportul valorilor logaritmice ale parametrilor farmacocinetici caracteristici, aria de sub curba (ASC) și perioada în care concentrația plasmatică se menține peste 50% din concentrația maximă: T (50% Cmax) (HVD = half value duration) a produsului testat comparativ cu cel de referință, precum și intervalul de încredere 90% au fost în domeniul bioechivalenței. O situație similară s-a constatat în cazul parametrului secundar, C max, în timp ce T max s-a încadrat în domeniul 70 - 140%. Produsele cercetate s-au dovedit bioechivalente în privința mărimii și vitezei absorbției nifedipinei și folosite în terapie de menținere pot produce același efect clinic în tratamentul unor afecțiuni coronariene cardiace și a hipertensiunii.

Cuvinte cheie: nifedipina; farmacocinetică; bioechivalență

ABSTRACT

Determination of Nifedipine bioequivalence from sustained-release tablets Nifedipin (Terapia Cluj-Napoca)

The aim of this study was to demonstrate the bioequivalence of two sustained formulations of nifedipine: Nifedipin (Terapia, Cluj Napoca) and Adalat (Bayer), following the oral administration of single doses of 20 mg nifedipine to 12 healthy subjects in a cross-over design. The assay of nifedipine in plasma samples was made by HPLC. The characteristic pharmacokinetic parameters were area under the curve (AUC), and half value duration (HVD), both their log ratio and 90% confidence interval being in the bioequivalence range. The same was determined for the secondary pharmacokinetic parameter, C max, but Tmax was in the 70 - 140% domain.

Based on the pharmacokinetic parameters evaluated in this study, it was concluded that the studied products were bioequivalent both as amount and rate of absorption. They may actually be effective as a maintenance treatment of coronary cardiac disorders and hypertension.

Key words: nifedipine; pharmacokinetics; bioequivalence.

Introducere

Nifedipina este un antagonist calcic de tipul 1,4 - dihidropiridinei care s-a dovedit eficient în profilaxia și tratamentul afecțiunilor coronariene cardiace și a hipertensiunii (1, 18). Timpul de înjumătățire biologică este de 1 - 2 ore. Din această cauză nifedipina se formulează și în preparate cu cedare prelungită (comprimate retard).

În literatură există informații complementare cu privire la farmacocinetică și biodisponibilitatea sa (4 - 8, 11, 16).

Produsul farmaceutic Adalat retard (Bayer) este o formulare de comprimate cu cedare prelungită a nifedipinei. Produsul farmaceutic Nifedipin comprimate retard filmate, realizat de S.C. Terapia S.A. Cluj Napoca, este un medicament generic, o formulare cu cedare prelungită a nifedipinei.

Scopul acestei lucrări a fost de a cerceta concentrațiile plasmatiche ale nifedipinei din cele două sortimente de comprimate cu cedare prelungită cu un conținut de 20 mg nifedipina și de a determina biodisponibilitatea lor în scopul stabilirii bioechivalenței. În acest scop s-a urmărit bioechivalența nifedipinei din produsul test Nifedipin Terapia în comparație cu produsul de referință Adalat Bayer.

Studiul farmacocinetic al celor două produse a fost făcut

cu subiecți voluntari sănătoși.

Materiale și metode

Produsele farmaceutice studiate

Formulările cercetate au fost sortimente de comprimate realizate de doi producători diferiți:

1. Nifedipin comprimate filmate retard, produse de S.C. Terapia S.A. Cluj-Napoca, care conțin nifedipina în cantitate de 20 mg pe comprimat. S-a studiat un lot destinat înregistrării produsului farmaceutic în România: 08969884-1.

2. Adalat comprimate cu cedare prelungită, produse Bayer, care conțin nifedipina în cantitate de 20 mg pe comprimat. Lot: VD 801. Data expirării: 31.12.98

Proprietățile comprimatelor utilizate în cercetare s-au cercetat după prevederile specificației tehnice a produsului firmei Terapia și au fost corespunzătoare.

Subiecții participanți la studiu

Studiul a inclus 12 voluntari, bărbați, cu vârsta între 20 - 28 de ani. Toți și-au dat consimțământul scris înainte de

*S. E. Leucuta, R. Capalneanu, D.I. Postestescu, Marcela Achim, Manuela Preda, Mirela Moldovan, A. Bodea, Ana Rusu -
Universitatea de Medicină și Farmacie "I. Hatieganu", Cluj-Napoca, Catedra de Tehnologie farmaceutică și Biofarmacie,
Laboratorul de Biofarmacie și Farmacocinetică

a participa la studiu. Studiul a fost avizat favorabil de Comitetul de Etică al Universității de Medicină și Farmacie "I. Hatieganu" Cluj-Napoca.

Toți subiecții s-au situat în 10% din greutatea și înălțimea ideală (Geigy Scientific Tables). Subiecții au fost găsiți sănătoși în baza examinării clinice și a testelor biochimice hematologice de laborator. Nici unul din subiecți nu a semnalat manifestări alergice semnificative anterior studiului. Participanții erau nefumători.

Protocolul de lucru

Cercetarea a constat în administrarea unei doze unice într-un studiu deschis, randomizat, dublu încrucișat, în care fiecare subiect a primit fiecare din cele două sortimente cercetate, într-o ordine întâmplătoare, la un interval de o săptămână între tratamente.

Voluntarii au primit o doză orală de nifedipină de 20 mg sub forma unei formulări cu cedare prelungită standard, de referință, Adalat (Bayer) precum și o doză orală de nifedipină de 20 mg sub forma unei formulări cu cedare prelungită, test, Nifedipin (Terapia). Comprimatele s-au administrat dimineața, la ora 7, pe stomacul gol, cu 150 ml apă. Subiecții nu au primit nici o altă medicație în timpul tratamentului și nici cu 48 ore înainte de aceasta.

Prelevarea probelor de sânge

Cu ocazia fiecărui tratament s-au prelevat probe de sânge din vena brațului, înaintea administrării dozei și la 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 6; 8; 10; 12 ore după administrarea dozei. Probele de sânge s-au recoltat pe heparină sodică. Ele s-au centrifugat iar plasma recoltată s-a păstrat congelată la -20°C, până la dozare.

Determinarea cantitativă a nifedipinei în plasmă

Pentru dozarea nifedipinei în probele de plasma se folosește metoda cromatografică de lichide de înaltă performanță (HPLC) cu detectare U.V. a substanței medicamentoase (4, 5 16). În cercetare s-a lucrat cu un aparat Beckman folosind o metodă adaptată din literatură, validată pentru studiul propus (3).

Analiza farmacocinetică

Parametrii farmacocinetici s-au calculat în conformitate cu metodele prevăzute în tratatele de specialitate (2, 9).

Mărimea ariilor de sub curba concentrațiilor medicamentoase plasmatice în funcție de timp în perioada 0 - 12 ore s-au calculat prin metoda trapezelor cu ajutorul unui program de calculator (PharmK).

S-a calculat timpul de înjumătățire biologică din panta descendentă a dreptei obținute prin logaritizarea concentrațiilor plasmatice în funcție de timp, pentru comparare cu datele din literatură (PharmK).

Valorile concentrațiilor plasmatice maxime (Cmax) și a timpului necesar pentru obținerea acestora (Tmax), s-au calculat din curbele individuale ale concentrațiilor plasmatice ale nifedipinei în funcție de timp, la fiecare subiect și pentru fiecare produs studiat.

Parametrii farmacocinetici care au fost luați în considerare pentru studiul bioechivalenței produselor testate au fost: aria de sub curba (ASC) ca măsură a mărimii absorbției substanței medicamentoase; concentrația

plasmatică maximă (Cmax); perioada în care concentrația plasmatică se menține peste 50% din concentrația maximă: T (50% Cmax) (HVD = half value duration) (calculul s-a făcut printr-o metoda grafică); timpul necesar atingerii concentrației plasmatice maxime (Tmax).

Analiza statistică

Cerința pentru a afirma bioechivalența unui produs generic cu a produsului inventatorului sau cu un alt produs înregistrat pe piață și a cărei bioechivalență s-a determinat, este ca să nu existe nici o diferență între mărimea și viteza absorbției, sau a biodisponibilității la locul acțiunii, astfel încât să nu existe diferențe clinice importante între cele două produse (10, 12 - 15, 17, 19, 20).

Bioechivalența se acceptă dacă intervalul de încredere 90% pentru raportul valorilor logaritmice medii se încadrează în intervalul de bioechivalență de 0,8 - 1,25. Aceasta echivalează cu aplicarea ipotezei testului "t" dublu unilateral (Schuirmann) (14). Pentru parametrii care se tratează cu modelul aditiv (Tmax) se aplică procedeul Westlake, adică un test non-parametric (Friedman, etc.) pentru diferența valorilor medii nelogaritmizate. Intervalul de încredere 90% în acest caz trebuie să fie în domeniul de 20%.

Bioechivalența produselor cercetate s-a studiat folosind un program de calculator (Pharm-Stat, Simed). S-a aplicat analiza de variantă ANOVA și testul t dublu unilateral Schuirmann pentru parametrul primar, caracteristic, pentru care analiza de echivalență este confirmativă: ASC și T (50% Cmax). În afara acesteia, s-a făcut analiza statistică și pentru parametrii farmacocinetici secundari a căror valoare pentru studiul echivalenței este numai explorativă: Cmax; Tmax (12).

Rezultate

Valorile medii ale concentrațiilor plasmatice ale nifedipinei (ng. ml⁻¹) la cei 12 voluntari sănătoși, obținute după administrarea unei doze orale unice de 20 mg nifedipină sub forma preparatelor Nifedipin retard (Terapia) și Adalat (Bayer) sunt redată în tabelul nr. I și tabelul nr. II

Tabelul nr. I. - Valorile medii (+/- D.S.) ale concentrațiilor plasmatice ale nifedipinei (ng/ml) după o doză orală unică de 20 mg. sub forma produsului Nifedipin retard (Terapia) la 12 voluntari

Timp (h)	Media	D.S.	C.V. (%)	Min.	Max.
0,5	12,5	5,4	43,2	3	20
1	25,25	9,61	38	10	45
1,5	43	20,6	847,9	15	86
2	51,6	51,6	33,3	18	80
2,5	51,4	16	31	25	73
3	48,9	17,8	36,4	24	80
4	39,5	14,4	36,6	20	65
6	25,3	7,6	30	18	42
8	19,9	5,6	28,5	12	31
10	16,6	5,4	32,6	10	30
12	12	5,1	43	5	22

Tabelul nr. II - Valorile medii (+/- D.S.) ale concentrațiilor plasmatice ale nifedipinei (ng/ml) după o doză orală unică de 20 mg sub forma produsului Adalat retard (Bayer) la 12 voluntari

Timp (h)	Media	D.S.	C.V. (%)	Min.	Max.
0,5	9,18	4	43,5	5	15
1	20,1	6,5	32,3	10	30
1,5	30,4	10,6	35	15	45
2	39,1	13,02	33,2	22	60
2,5	42	10,2	24,2	27	59
3	47	10,5	22,3	32	65
4	45,4	16,01	35,1	20	70
6	31,8	14,3	45,3	15	60
8	22,75	7,8	34,2	14	20
10	17,25	5,75	33,1	10	28
12	11,2	4,7	42,4	5	22

Valorile plasmatice medii (ng/ml) ale nifedipinei după administrarea unei doze unice de 20 mg sub forma produselor retard Nifedipin (Terapia) și Adalat (Bayer) sunt prezentate în **fig. 1**.

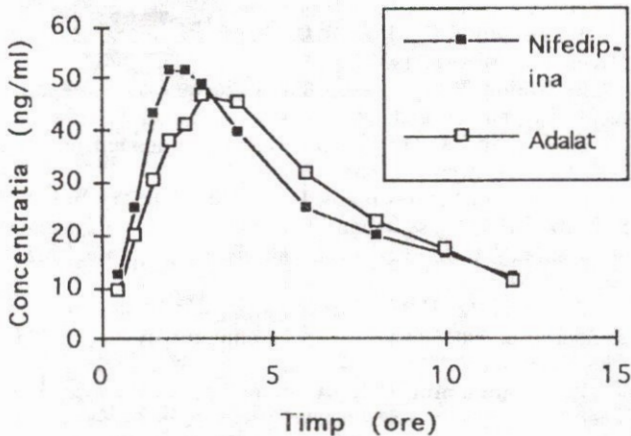


Fig. 1. Valorile medii ale concentrațiilor plasmatice ale nifedipinei după administrarea unor doze unice de 20 mg din preparatele retard Nifedipin (Terapia) și Adalat (Bayer) la 12 voluntari

Așa cum se observă, profilul concentrațiilor plasmatice ale nifedipinei sunt asemănătoare după administrarea produsului test Nifedipin (Terapia) și de referință Adalat (Bayer). Se remarcă însă niveluri mai coborâte și un platou mai prelungit în cazul produsului de referință.

Analiza farmacocinetică

Valorile parametrilor farmacocinetici pentru cele două produse cercetate sunt redată în **tabelul III**.

Tabelul III - Valorile medii ale parametrilor farmacocinetici ai nifedipinei pentru produsul Nifedipin (Terapia) și Adalat (Bayer) obținute prin prelucrarea valorilor concentrațiilor medicamentoase plasmatice de la 12 voluntari

	ASC (ng. oră ml ⁻¹)	C _{max} (ng. ml ⁻¹)	T _{max} (ore)	T (50% C _{max})
Nifedipin				
Media	371	50,91	2,53	3,92
D.S.	119	11,6	0,66	0,79
C.V.	32,1	22,9	26,1	20,2
Min.	209	30	1,47	3
Max.	573	66,9	3,69	5
Adalat				
Media	385	46,6	3,21	4,33
D.S.	113	10,5	0,56	1,07
C.V.	29,5	22,5	17,4	24,7
Min.	214	28,7	2,1	3
Max.	600	58,6	4,11	6

Analiza statistică

Evaluarea statistică a bioechivalenței nifedipinei din produsul test Nifedipin Terapia în comparație cu produsul de referință Adalat Bayer este redată în **tabelul IV** pentru parametrii farmacocinetici caracteristici (primari).

Tabelul IV - Rezultatul analizei statistice a bioechivalenței pentru parametrul farmacocinetic caracteristic

Parametrii farmacologici	Test Media +/- D.S.	Referință Media +/- D.S.	Interval de încredere 90%
ASC (ng/ml.h)	2,549 (0,140)	2,569 (0,126)	0,91 - 1,00
T (50% C _{max}) (ore)	0,585 (0,090)	0,624 (0,109)	0,83 - 1,00

Se constată că raportul valorilor medii pentru ASC este de 0,9922 iar intervalul de încredere 90% este 0,91 - 1,00 deci în domeniul de bioechivalență.

În cazul T (50% C_{max}) raportul valorilor medii ale celor două produse este de 0,9375 iar intervalul de încredere 90% este de 0,83 - 1,00 deci ambele în domeniul de bioechivalență.

Evaluarea statistică a bioechivalenței nifedipinei din produsul test Nifedipin Terapia în comparație cu produsul de referință Adalat Bayer este redată în **tabelul V** pentru parametrii farmacocinetici secundari.

Tabelul V. Parametrii farmacocinetici secundari ai nifedipinei din produsele cu cedare prelungită Nifedipin Terapia și Adalat Bayer

Parametrii farmacologici	Test (+/- D.S.)	Referință (+/- D.S.)	Interval de încredere 90%
C _{max} (ng/ml)	1,695 (0,107)	1,757 (0,109)	1,04 - 1,15
T _{max} (ore)	2,528 (0,660)	3,208 (0,558)	0,66 - 0,92

Se constată că pentru Cmax raportul valorilor medii ale celor două produse este 1,0229 deci în intervalul de bioechivalentă, iar intervalul de încredere 90% este de asemenea în intervalul de bioechivalentă (1,04 - 1,15). În cazul Tmax diferența valorilor medii ale celor două produse cercetate este de -0,68 iar intervalul de încredere este în afara domeniului de bioechivalentă (0,66 - 0,92). În acest caz prin aplicarea procedeu Westlake intervalul de încredere 90% este 31,16% deci în afara domeniului de bioechivalentă. Dar pentru acest parametru nu este obligatoriu încadrarea în domeniul de 20% ci acesta poate fi mai larg în cazul produselor de tipul celor cu cedare prelungită (între 70 - 140%).

Suplimentar s-a calculat și timpul de înjumătățire biologic a nifedipinei din cele două preparate cercetate. Acesta a fost de cca. 3 ore în cazul ambelor preparate, valoare care concordă cu datele din literatură pentru produse cu cedare prelungită cu nifedipină.

Discuții

Profilul concentrațiilor plasmatică a fost asemănător, dar s-a constatat că după administrarea de Nifedipin Terapia s-a înregistrat o absorbție mai rapidă care a condus la niveluri mai mari, în timp ce la Adalat Bayer există un nivel mai coborât dar pe o perioadă mai lungă decât la Nifedipin concentrațiile plasmatică sunt mai ridicate. În toate cazurile s-au înregistrat picuri multiple la toți subiecții și după ambele preparate.

Pentru majoritatea subiecților concentrațiile plasmatică au scăzut gradat după aproximativ 6 ore de la administrarea dozei. Concentrații măsurabile s-au găsit până la 12 ore după doză. Ariile de sub curba și timpul platoului au fost similare în cazul celor două preparate. Mărimea acestor parametri este comparabilă cu valorile raportate în literatură.

Voluntarii participanți în studiu au fost supuși unui control medical înaintea studiului care a constat în examinare clinică și teste de laborator biochimic. Acestea s-au repetat la terminarea studiului. Nu s-au constatat modificări semnificative în valoarea testelor de laborator clinic, și nici cu ocazia examinării clinice a voluntarilor.

Concluziile după efectuarea studiului în privința toleranței produselor este că aceasta a fost bună în cazul ambelor tratamente, cu ambele produse.

Concluzii

Mărimea biodisponibilității relative a produsului test Nifedipin Terapia față de produsului de referință Adalat Bayer a fost de 96%. Ariile de sub curba după administrarea produsului test și de referință au fost, respectiv, de 371 și 385 ng. ml⁻¹ ora, concentrațiile maxime au fost de 50,9 și 46,6 ng/ml iar timpul pentru realizarea concentrației maxime a fost, respectiv, de 2,53 și 3,21 ore.

Analiza statistică a valorilor medii ale parametrilor farmacocinetici primari, caracteristici pentru determinarea bioechivalenței a arătat că intervalul de încredere 90% pentru raportul valorilor logaritmice ale ariei de sub curba s-au încadrat în domeniul de bioechivalentă de 0,8 - 1,25. Diferența valorilor netransformate ale timpului platoului T (50% Cmax) celor două produse a fost de asemenea în intervalul de bioechivalentă de 20%. În cazul parametrilor farmacocinetici secundari, care au o valoare exploratorie și nu confirmativă, rezultatele au fost similare la Cmax, dar au existat variații înafara domeniului bioechivalenței la Tmax.

BIBLIOGRAFIE

1. Aoki K., Kondo S., Mochizuki A., Yoshida I., Kato S.U.K.: Antihypertensive effect of cardiovascular Ca²⁺ antagonists in hypertensive patients, *Amer. Heart. J.* 96, 218 - 226, 1978
2. Gibaldi M., Perrier D.: Pharmacokinetics, *M. Dekker Inc., New York*, 1975
3. Grundy J.S., Kherani R., Foster R.T.: Sensitive high performance liquid chromatographic assay for nifedipine in human plasma utilizing ultraviolet detection, *J. Chromatography*, B. 654, 146 - 151, 1994
4. Herrmann R.: Bioäquivalenz einer Nifedipin-retardformulierung im vergleich zu einer standardzubereitung im steady-state, *Arzneim. Forsch./Drg. Rs.* 46 (1), 28 - 34, 1996
5. Klebovich I., Drabant S. et al.: Human bioequivalence study of a new nifedipine containing retard filtablet after single and repeated administration *Arzneim. Forsch./Drug. Res.* 47 (1), 598 - 603; 1997
6. Kleinbloesem C.H., P. van Brummelen, Breimer D.D.: Nifedipine: relationship between pharmacokinetics and pharmacodynamics, *Clin. Pharmacokin.* 12, 12 - 29, 1987
7. Leucuta S.E.: The kinetics of nifedipine release from porous hydrophilic matrices and the pharmacokinetics in man. *Die Pharmazie*, 43, 845 - 848, 1988
8. Leucuta S.E., Vida Simiti L., Gherman Caprioara M., Fagarasan E., Olinic N., Manasia M., Vlaicu R.: Bioavailability of nifedipine from different oral dosage forms in healthy volunteers. *Die pharmazie*, 44, 336 - 338, 1989
9. Leucuta S.E., Pop R.D.: Farmacocinetica, *Editura Dacia, Cluj-Napoca*, 1981
10. Nation R.L., Sanson L.N.: Bioequivalence requirements for generic products, *Pharmac. Ther.* 62, 41, 1994
11. Richard M.O.: Pharmacocinétique des antagonists calciques. *Thérapie* 48, 651 - 657, 1993
12. Sauter R., Steinijans V.W., Diletti E., Bohm A., Schultz H.U.: Presentation of results from bioequivalence studies. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* 30, Suppl 1, S7 - 30, 1992
13. Schultz H.U., Steinijans V.W.: Striving for standards in bioequivalence assesment: a review. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* 29, 369 - 375, 1991
14. Schuirmann D.J.: A comparison of the two one-sided tests procedure and power approach for assessing the equivalence of average bioavailability, *J. Pharmacokin. Biopharm.* 15, 657, 1987
15. Steinijans V.W., Hauschke D.: Update on the statistical analysis of bioequivalence studies, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* 30 Suppl. 1, S45 - S50, 1992
16. Troger U., Martens J., Meyer F.P., Hoffman A., Terhaag B.: Study on the bioequivalence of an oral nifedipine formulation and a sustained release reference preparation after single dose and repeated doses, *Arzneim. Forsch./Drug Res.* 45, (II), 1266 - 1270, 1995
17. Williams W.J.: Bioavailability and bioequivalence of pharmaceutical formulation, in: *Current Concepts in the Pharmaceutical Sciences*, vol. 48, pp. 1 - 15, Welling P.G., Tse F.I.S. (eds.) *M. Dekker Inc., New York* 1991
18. *** Martindale: The Extra Pharmacopoeia, 31 edition, *The Royal Pharmaceutical Society, London*, 1996
19. *** U.S.FDA, Fed. Register 42, 1635, 1977
20. *** EC, Commission of the European Communities. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP) Note for Guidance. Investigation of bioavailability and bioequivalence. III/54/89