
Estudos de bioequivalência de medicamentos que contém fármacos de alta variabilidade: planejamento e realização

Grupo 4: Jordana M. Marques
Marcela Bittar Araujo Lima

1. Introdução

“ *Bioequivalência* é o estudo de biodisponibilidade comparativa entre dois ou mais medicamentos administrados por uma mesma via. Avalia os parâmetros relacionados à absorção do fármaco, a partir das formas farmacêuticas contendo idêntica composição qualitativa e quantitativa de princípio(s) ativo(s).

Dois produtos são bioequivalentes se suas biodisponibilidades (velocidade e extensão da absorção) são semelhantes, após administração na mesma dosagem.” **(ANVISA)**

1. Introdução

Lista 2 - Analito para Estabelecimento da Biodisponibilidade Relativa/Bioequivalência
Resolução - RE nº 1170, de 19 de abril de 2006
atualizada em 03/06/2016

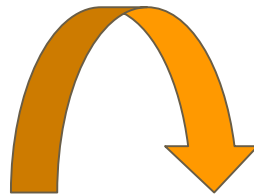
Todos os estudos de bioequivalência devem completar três etapas para serem validados pela ANVISA:

Etapla Clínica: seleção de voluntários para administração dos medicamentos e coleta de amostras (sangue ou urina)

Etapla Analítica: análise das amostras coletadas na etapa clínica com a quantificação do fármaco por métodos bioanalíticos validados.

Etapla Estatística: análise dos dados obtidos na etapa analítica com o cálculo dos parâmetros farmacocinéticos através de intervalos de confiança (IC), utilizando planilhas e softwares devidamente validados

1. Introdução



Fármaco de Alta Variabilidade

- variabilidade intra-sujeito (intra-subject ou within-subject) de 30% ou mais, devido, por exemplo, a extenso efeito de primeira passagem.

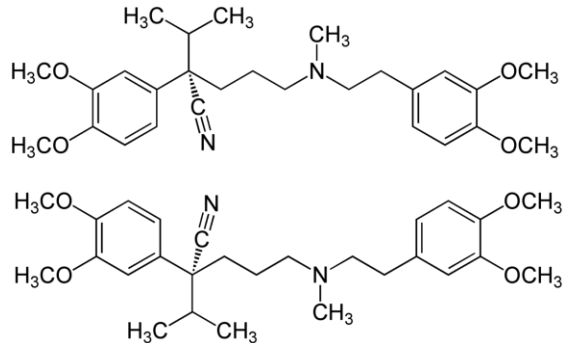
Para contornar este problema:

- IC dos medicamentos teste e referência analisados devem estar compreendidos entre 80 a 125%
- Estudo deve seguir um delineamento cruzado replicado

2. Estudos

Estudo 1: *“High variability in drug pharmacokinetics complicates determination of bioequivalence: experience with verapamil.”*

Cloridrato de verapamil



- Isquemia no músculo cardíaco;
- Hipertensão arterial leve e moderada ;
- Prevenção das taquicardias supraventriculares paroxísticas
- Atua bloqueando o fluxo de cálcio que vai para dentro da célula do músculo cardíaco e das artérias;
- EA: cefaleia e tontura, bradicardia, hipotensão, rubor, constipação, edema periférico;
- **Alta variabilidade.**

- Cloridrato de verapamil-comprimidos 240mg, dose única
- Isoptin® SR 240mg - medicamento referência (Abbott)
- Verapamil SR 240mg - medicamento genérico



- **Etapa Clínica:**

- 20 voluntários sadios (20 homens)
- Estudo com delineamento cruzado, replicado com 3 períodos, havendo 7 dias de intervalo entre cada período. A sequência de administração dos medicamentos foi aleatoriamente atribuída aos indivíduos

- **Etapa Analítica: Etapa Estatística**

- HPLC validado (detecção por fluorescência)

- **Etapa Estatística**

- ANOVA com Intervalo de Confiança (IC) de 90%

Resultados

Etapa Clínica

Não houve eventos adversos significativos ou violações de protocolo. O evento adverso mais frequente após o uso dos medicamentos foi dor de cabeça.



Etapa Analítica

Resposta do detector: linear na faixa de concentração de 2,5 a 300 ng / mL,

Coeficiente de determinação (r^2) > 0,997.

Limite de quantificação foi de 2,5 ng / mL

Coeficiente de variação inter-ensaio (cv) foi de 3,1% (n = 7).

Precisão intra-ensaio e inter-ensaio das amostras de controle de qualidade foi

<10% cv;

Precisão estava dentro de 15% das concentrações nominais.

Etapa Estatística

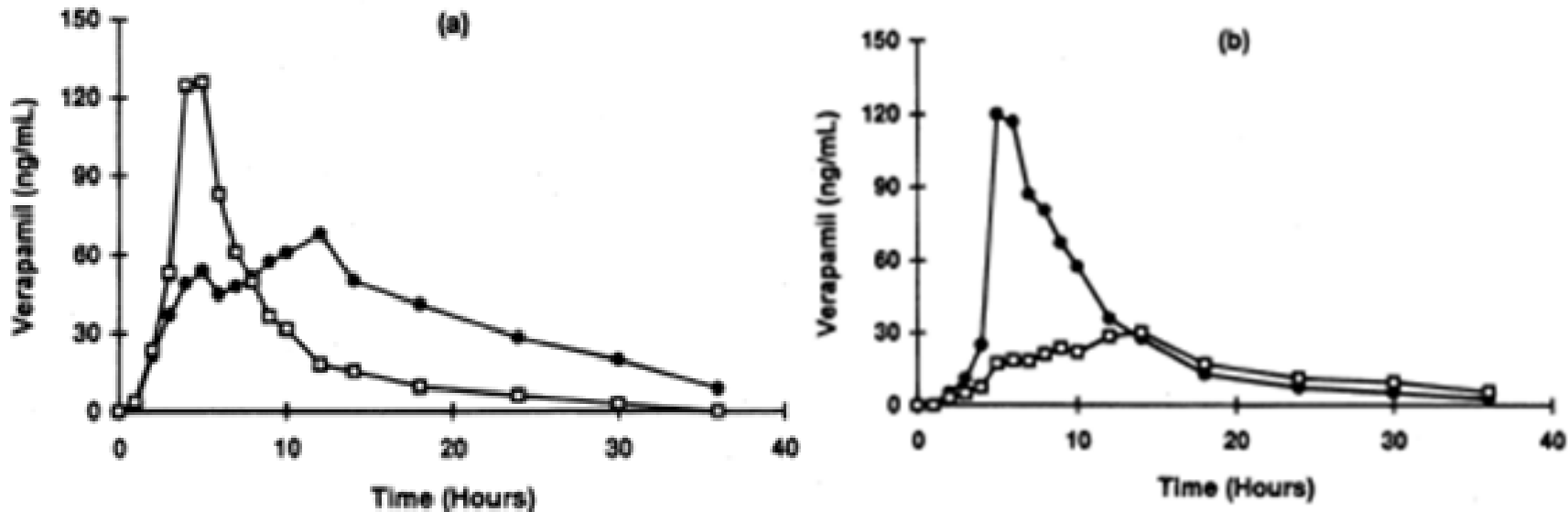


Fig 1. Concentrações plasmáticas de verapamil em dois indivíduos após administração oral de Isoptin SR 240mg comprimidos em duas ocasiões: bolinha preta- Ocasião 1; Quadrado branco- Ocasião2 (a) Indivíduo 4; (B) Indivíduo 14.

Etapa Estatística

Tabela 1: Variações diárias entre AUC 0-t e Cmax com comprimidos de Isoptin® SR 240mg

Subject	AUC _{0-t} (ng·h/mL)			Cmax (ng/mL)		
	Occasion	Occasion	% Diff ^a	Occasion	Occasion	% Diff ^a
	1	2		1	2	
1	640	662	-3	77	81	-5
3 ^c	1069	787	36	72	83	-13
4 ^c	1257	783	60	68	126	-46
5 ^c	762	540	41	36	39	-9
7	845	641	32	81	49	67
8	590	518	14	99	86	15
10	576	633	-9	67	79	-15
14	898	521	73	120	30	298
18 ^c	1832	1984	-8	160	278	-42
Mean ^b	878	713 ^d	23 ^e	80	77	5 ^e
%cv	38	41	—	42	66	—
Min	576	518	-9	36	30	-46
Max	1832	1984	73	160	278	298

^a % Diff = (Occasion 1 - Occasion 2)/Occasion 2 × 100.

^b Geometric mean.

^c Calculated from the means of the parameter.

^d Significantly different from Occasion 1 (p = 0.031).

^e Smokers.

Etapa Estatística

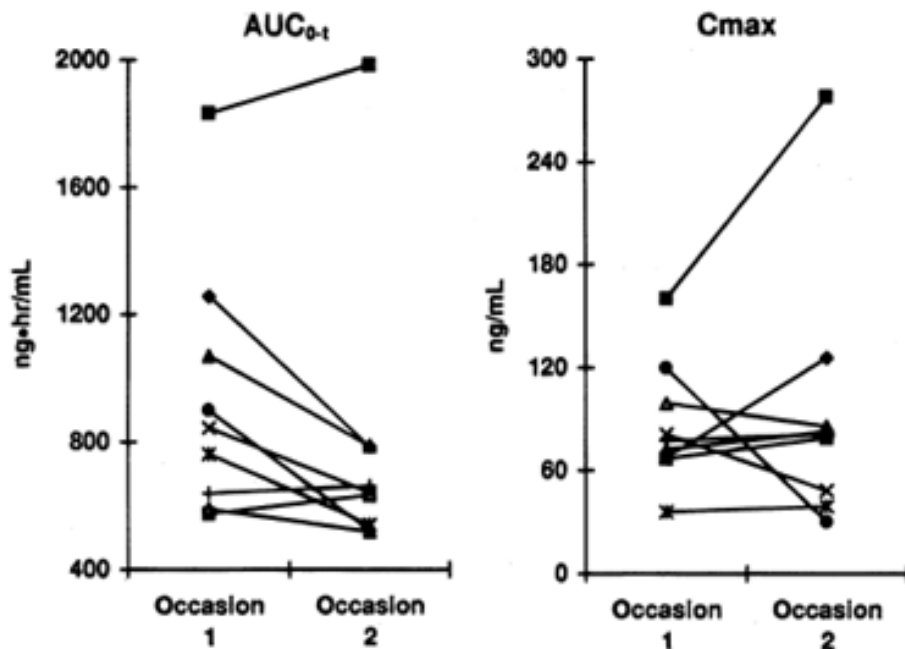
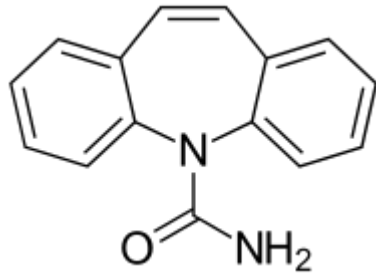


Fig. 2 Variações inter e intra-sujeitos na biodisponibilidade com Isoptin® SR 240mg comprimidos. Cada conjunto de símbolos representa dados de um indivíduo.

2. Estudos

Estudo 2: ***“Bioequivalence study in of carbamazepine oral formulations available in Brazil”***

Carbamazepina



- Antiepilético
- Utilizado para tratar crises epiléticas neuralgia do trigêmeo, e transtorno bipolar
- Inibidor de canais de Na⁺ voltagem dependentes
- EA: diplopia, confusão mental, tremor, tontura, dor de cabeça, arritmia, etc
- **Alta variabilidade**

Carbamazepina comprimidos de 400mg , dose única

- Carmazin®, Laboratório Teuto-Brasileiro - medicamento teste
- Tagretol® , Novartis Biociência - medicamento referência



- **Etapa Clínica:**

- 24 voluntários adultos e sadios (♀ ♂)

- Estudo aberto, randomizado, com o delineamento cruzado replicado com 2 períodos, havendo 3 semanas de intervalo entre as doses aplicadas

- **Etapa Analítica:**

- HPLC validado (detector UV-DAD a 245 nm)

- **Etapa Estatística**

- ANOVA com Intervalo de Confiança (IC) de 95%

Resultados

Etapa Clínica

Table 1. Number of volunteers that reported adverse events after a single oral dose of carbamazepine 400mg.

Effect	Carmazin [®] 400mg (Test)	Tegretol [®] 400mg (Reference)
Headache	5	6
Nausea	1	-
Sedation	1	2
Diarrhea	-	1
Muscular pain	1	1



Etapa Analítica

Table 2. Values of low, mean and high concentrations of carbamazepine (CBZ) in auto sampler stability assay.

	T = 0 h			T = 40 h		
	QC	QC	QC	QC	QC	QC
	low	mean	high	low	mean	high
CBZ ($\mu\text{g/mL}$)	1.999	8.659	15.472	1.988	8.648	15.177
SD	0.072	0.104	0.856	0.092	0.097	0.913
CV (%)	3.58	1.20	5.53	4.62	1.12	6.02
Accuracy	99.93	101.87	103.15	99.42	101.74	101.18
Stability (%)*				-0.55	-0.13	-1.91

$$\text{*Stability (\%)} = \frac{\text{CBZ concentration at T = 40 h} - \text{CBZ concentration at T = 0 h}}{\text{CBZ concentration at T = 0 h}} \times 100$$

Table 3. Values of low, mean and high concentrations of carbamazepine (CBZ) obtained after 148 days of storage at -20°C .

	T = 0 days (fresh samples)			T = 148 days (frozen samples)		
	QC	QC	QC	QC	QC	QC
	low	mean	high	low	mean	high
CBZ ($\mu\text{g/mL}$)	2.029	8.612	15.736	1.885	8.314	14.041
SD	0.059	0.198	1.097	0.018	0.044	0.469
CV (%)	2.91	2.30	6.97	0.97	0.53	3.34
Accuracy	101.47	101.32	104.91	94.25	97.81	93.61
Stability (%)*				-7.10	-3.46	-10.77

$$\text{*Stability (\%)} = \frac{\text{CBZ concentration at T = 148 days} - \text{CBZ concentration at T = 0 days}}{\text{CBZ concentration at T = 0 days}} \times 100$$

Etapa Estatística

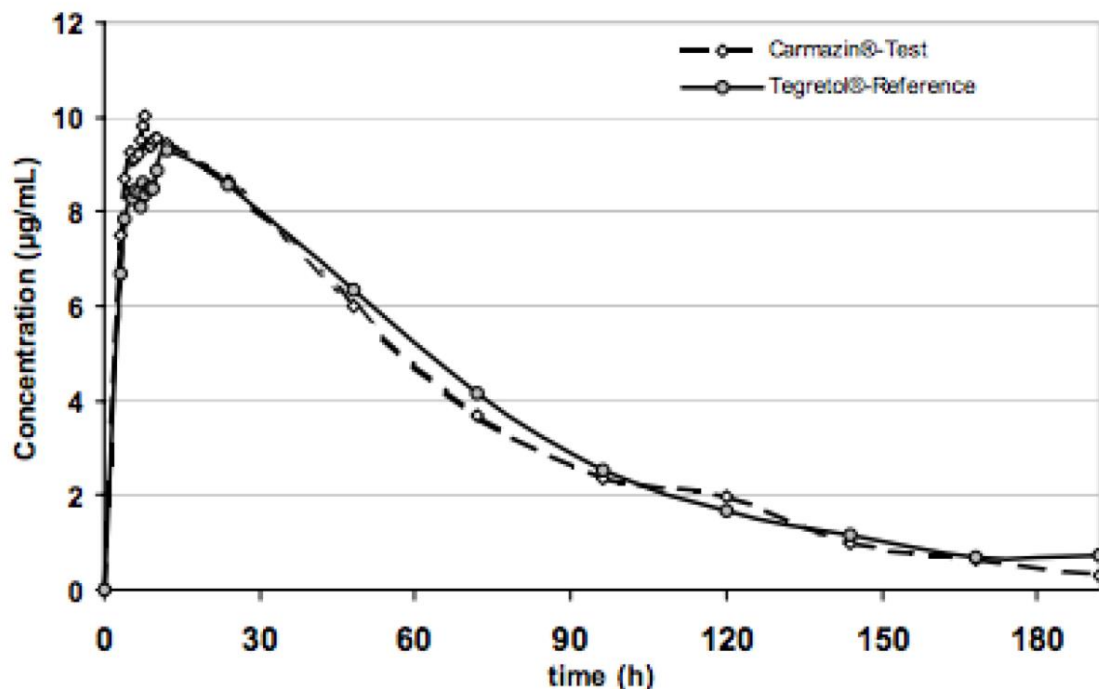


Figure 1. Concentration versus time curves. Mean plasma concentrations ($\mu\text{g/mL}$) of carbamazepine (test and reference) obtained from 24 volunteers.

Table 4. Geometric mean (\pm sd) values of the pharmacokinetic parameters for 24 volunteers after the administration of carbamazepine formulations.

Pharmacokinetic Parameter	Carmazin [®] 400mg (Test)	Tegretol [®] 400mg (Reference)
AUC ₀₋₁₉₂ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$)	650.742 (\pm 176.657)	673.479 (\pm 188.310)
AUC _{0-inf} ($\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$)	679.497 (\pm 205.340)	695.254 (\pm 167.718)
C _{max} ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	10.897 (\pm 3.421)	10.165 (\pm 2.165)
T _{max} (h)	9.055 (\pm 13.458)	10.032 (\pm 9.570)
T _{1/2} (h)	52.586 (\pm 52.711)	53.459 (\pm 31.544)

IC 95% :

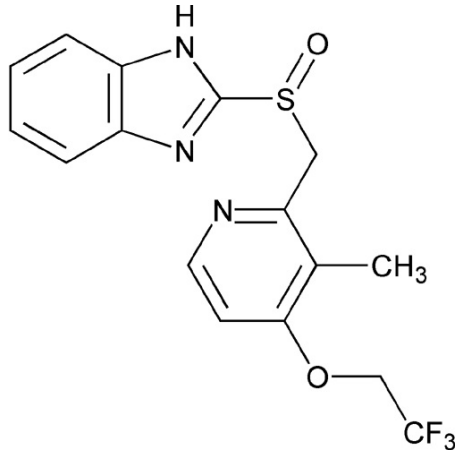
Carmazin[®] , comprimidos de 400mg, Laboratório Teuto-Brasileiro: **0,84 - 1,11%**

Tagretol[®] , comprimidos de 400mg, Novartis Biociência: **0,91 - 1,25%**.

2. Estudos

Estudo 3: “*Bioequivalence evaluation of lansoprazole 30-mg capsules (Lanfast[®] and Lanzor[®]) in healthy volunteers*”.

Lansoprazol



- pró-fármaco
- usos: cicatrização e alívio sintomático de esofagite de refluxo, úlcera duodenal e de úlcera gástrica,
- Inibidor da bomba de prótons estomacal
- Não possui efeitos adversos significativos
- **Alta variabilidade**

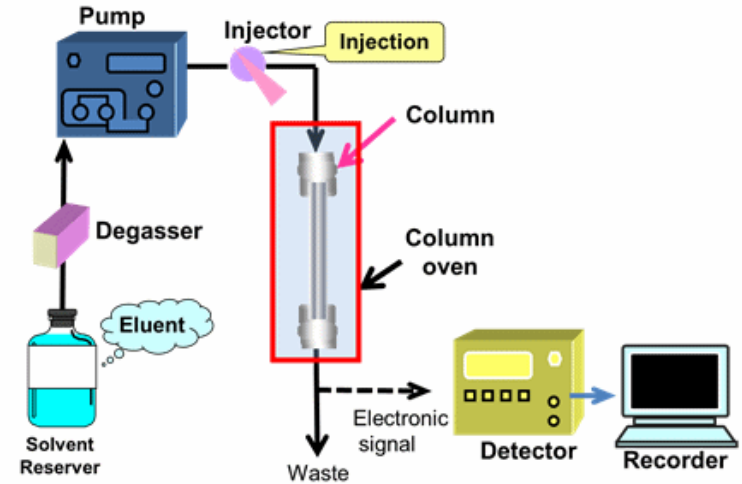
Lansoprazol 3 cápsulas de 30 mg, dose única

- Lanzor®, Laboratoires Houde - medicamento referência
- Lanfast®, Julphar, EAU - medicamento teste
- 240 ml de água
- **Etapa Clínica**
 - 26 voluntários adultos sadios
 - estudo de delineamento cruzado randomizado de 2 tratamentos e 2 períodos.
- **Etapa Analítica**
 - HPLC validado
- **Etapa Estatística**
 - ANOVA com IC de 90%



Etapa Analítica

- LOQ : **20 ng / ml de plasma**
- exatidão : **96,9%**
- precisão : **12,7%**
- exatidão entre os lotes : **94,6 e 105,1%**,
- precisão entre lotes **< 12,7%**
- LSZ é estável no plasma pelo menos **16 h à temperatura ambiente**
- LSZ é estável no plasma pelo menos **64 h à temperatura de -20°C**



Etapa Estatística

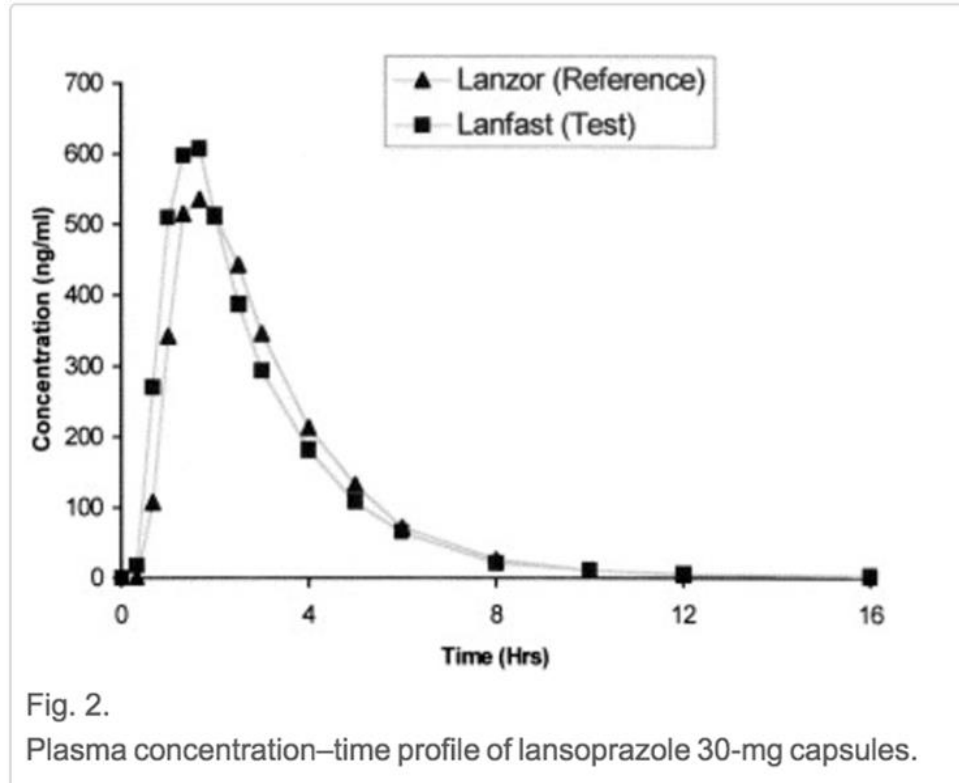


Table 1
Pharmacokinetic parameters of the two brands of lansoprazole capsules

Volunteer no.	AUC _{0-t} (ng h/ml)		AUC _{0-∞} (ng h/ml)		C _{max} (ng/ml)		T _{max} (h)		λ _z (/h)		T _{1/2} (h)	
	Test	Ref.	Test	Ref.	Test	Ref.	Test	Ref.	Test	Ref.	Test	Ref.
1	5724.40	5204.49	6107.77	5479.24	775.71	1093.93	2.50	1.00	0.19	0.19	3.68	3.59
2	1518.37	1172.63	1559.37	1218.05	1088.93	448.64	1.00	4.00	0.66	0.77	1.06	0.90
3	1186.72	1720.13	1247.21	1753.86	549.46	650.23	2.00	3.00	0.67	0.66	1.04	1.06
4	805.70	2390.36	869.29	2445.39	259.24	1002.91	1.00	1.67	0.56	0.58	1.24	1.19
5	1155.86	762.54	1210.83	794.06	617.60	302.34	0.67	2.50	0.63	0.80	1.10	0.87
6	2380.60	3050.71	2449.14	3110.23	723.69	923.12	1.67	2.50	0.40	0.41	1.73	1.70
7	1077.61	1044.55	1101.32	1087.05	676.98	631.89	1.33	1.33	0.92	0.81	0.75	0.86
8	1755.64	1760.97	1811.35	1798.06	1027.63	899.53	1.33	1.33	0.80	0.72	0.86	0.96
9	973.11	1196.18	997.42	1220.28	726.50	842.71	1.00	1.33	0.86	0.97	0.81	0.72
10	689.05	702.22	728.86	730.07	402.61	498.46	1.33	2.50	1.00	1.10	0.70	0.63
11	1323.86	1399.50	1446.42	1470.66	517.65	720.23	1.67	1.67	0.48	0.63	1.46	1.09
12	1367.10	232.78	1404.92	382.08	724.68	101.81	1.67	2.50	0.79	0.31	0.88	2.26
13	3092.67	3354.46	3153.61	3435.88	1000.02	1130.11	1.33	1.33	0.43	0.41	1.61	1.70
14	1730.24	1475.54	1783.64	1537.40	859.90	739.26	1.00	2.00	0.70	0.75	0.99	0.92
15	1070.01	1381.20	1135.48	1414.83	704.49	674.09	1.67	1.33	0.79	0.74	0.88	0.94
16	1803.08	1454.36	1849.72	1516.90	1101.85	597.21	0.67	1.00	0.65	0.61	1.07	1.14
17	2507.96	2160.75	2575.22	2258.86	977.05	781.99	1.33	2.00	0.52	0.50	1.34	1.38
18	2051.32	1192.23	2089.22	1332.68	1040.51	465.25	1.67	1.67	0.60	0.51	1.16	1.36
19	1181.96	1220.58	1237.80	1266.78	558.82	699.28	1.67	1.33	0.86	0.90	0.81	0.77
20	1097.87	395.90	1118.80	439.70	804.68	249.90	1.33	1.67	1.06	0.96	0.65	0.72
21	1339.46	1431.47	1392.86	1476.91	653.11	705.10	2.00	1.33	0.73	0.67	0.95	1.03
22	3610.07	2995.25	3715.98	3095.12	1872.63	1093.00	0.67	1.33	0.48	0.48	1.45	1.45
23	847.34	869.04	879.00	911.96	623.53	523.03	1.00	1.33	0.80	0.80	0.86	0.86
24	1655.91	1436.13	1739.99	1508.53	864.15	865.76	1.00	1.33	0.58	0.62	1.20	1.12
25	1285.73	3253.84	1413.65	3337.19	708.90	1009.81	1.00	1.00	0.81	0.36	0.86	1.91
26	2044.78	1185.02	2121.10	1244.11	536.57	818.97	1.67	1.33	0.30	0.76	2.32	0.91
Mean	1741.40	1709.34	1813.08	1779.46	784.50	710.33	1.35	1.74	0.66	0.65	1.21	1.23
SD	1072.43	1099.15	1127.72	1131.09	307.51	265.86	0.45	0.71	0.21	0.22	0.63	0.62
%CV	61.58	64.30	62.20	63.56	39.20	37.43	33.48	40.82	31.70	33.33	51.72	50.51

Table 2.
Statistical analysis of pharmacokinetic data^a

	AUC _{0-t}	AUC _{0-∞}	C _{max}
ANOVA GLM (Prob. <i>F</i>)	>0.30 (>0.30)	>0.30 (>0.30)	>0.31 (>0.3)
90% CI	88.1–115.6% (89.6–117.3%)	89.0–114.8% (91.1–117.2%)	93.0–128.1% (86.1–119.9%)
Two one-sided <i>t</i> -test probability ^b	0.98	0.98	0.81

a Values in parentheses indicate analysis for periods.

b Probability for *T/R* ratio (*r*) to be within 0.8 and 1.2.

3. Referências

TSANG, Yu Chung; POP, Radu; GORDON, Paul; HEMS, John; SPINO, Michael. Pharmacokinetics Complicates Determination of Bioequivalence: Experience with Verapamil. *Pharmaceutical Research*, v.13, n. 6, p.846-850, março.1996. RUENIS, Ana Paula Del Bortolo. Avaliação de modelos farmacocinéticos *in vivo* e *in vitro* para análise de fármacos.2004.112f. Tese (Doutorado em Odontologia)- Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Escola Estadual de DUGGER, H.A.; CARLSON, J.D.; HENDERSON, William; ERDMANN, G.R.; ALAM, S.Mahmood; DHAM, Ruwayda; QUAMRUZAMAN. Bioequivalence evaluation of lansoprazole 30-mg capsules (Lanfastw and Lanzorw) in healthy volunteers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.51, p.153-157, novembro.2000. NOËL, François; DA SILVEIRA, Gabriel Parreiras Estolano; DOS SANTOS, Fabio Monteiro. Teste de bioequivalência para fármacos que apresentam farmacocinética altamente variável. *INFARMA-Informativo Profissional do Conselho Federal de Farmácia*, Brasília, v.15, n.7/8, p.68-70, jul/ago/set, 200. BONAMICI, Denise. Sistema de classificação biofarmacêutica e bioisenções.2009.159f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Farmacêutica, Universidade de São Paulo, São Paulo. BRASIL. Resolução Nº 898, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. BRASIL. Resolução Nº 898, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. Anvisa: Medicamentos (Glossário). Bula H.BACTER® IBP. Bula cloridrato de verapamil. Anvisa: Genéricos (conceitos).