

REPUBLIKA E SHQIPËRISË
UNIVERSITETI I MJEKËSISË TIRANË
FAKULTETI I MJEKËSISË
DEPARTAMENTI I FARMACISË

DISERTACION
I PARAQITUR NGA

ZNJ. EVA TROJA

PËR MARRJEN E GRADËS SHKENCORE

“DOKTOR”

**TEMA: STUDIMET FARMAKOKINETIKE NË VLERËSIMIN E EKUIVALENCËS
TERAPEUTIKE TË METFORMINËS TË PRODHIMIT TË VENDIT KRAHASUAR ME
GLUCOPHAGE-IN DHE SIOFOR-IN.**

Udhëheqës shkencor: PROF.ASC. LEONARD DEDA

TIRANË, 2021

REPUBLIKA E SHQIPËRISË
UNIVERSITETI I MJEKËSISË TIRANË
FAKULTETI I MJEKËSISË
DEPARTAMENTI I FARMACISË

DISERTACION
I PARAQITUR NGA

ZNJ. EVA TROJA
PËR MARRJEN E GRADËS SHKENCORE

“DOKTOR”

**TEMA: STUDIMET FARMAKOKINETIKE NË VLERËSIMIN E EKUIVALENCËS
TERAPEUTIKE TË METFORMINËS TË PRODHIMIT TË VENDIT KRAHASUAR ME
GLUCOPHAGE-IN DHE SIOFOR-IN.**

Udhëheqës shkencor: PROF.ASC. LEONARD DEDA

MBROHET ME DATË/.....2021 PARA JURISË

1.	_____	KRYETAR
2.	_____	ANËTAR (OPONENT)
3.	_____	ANËTAR (OPONENT)
4.	_____	ANËTAR
5.	_____	ANËTAR

PËRMBAJTJA

Parathënie.....	VI
Falënderime.....	VII
Lista e Akronimeve.....	VIII
1. HYRJJE.....	1
1.1 METFORMINA.....	1
1.1.1 Farmakodinamika.....	1
1.1.2 Farmakokinetika.....	1
1.1.3 Indikacionet terapeutike.....	2
1.1.4 Dozimi.....	3
1.1.5 Efektet anësore.....	3
1.1.6 Ndërveprime të barit.....	4
1.2 BARNAT PATENTË PËRKUNDREJT BARNAVE XHENERIKË - KONSIDERATA TË PËRGJITHSHME.....	4
1.3 PRINCIPET E BIOEKUIVALENCËS IN VIVO.....	7
1.3.1 Protokolli i studimit.....	9
1.3.2 Metoda bioanalitike.....	15
1.3.3 Zgjedhja e analitit(ëve) dhe/ose metabolitit(ëve).....	19
1.3.4 Transformimi i të dhënave.....	19
1.3.5 Llogaritja e parametrave farmakokinetikë.....	20
1.3.6 Analiza statistikore.....	21
1.3.7 Procedura TOST.....	22
1.3.8 Intervali i konfidencës.....	22
1.3.9 Metodat e testimit të hipotezës.....	23
1.3.10 Fuqia e studimit dhe madhësia e kampionit.....	25
1.3.11 Vendosja dhe aplikimi i kriterëve të BE.....	27
1.4 SISTEMI I KLASIFIKIMIT BIOFARMACEUTIK / "BIO"EKUIVALENCA IN VITRO.....	28
1.4.1 Shpejtësia e procesit të tretjes.....	30

1.4.2 Parametrat e provës së disolucionit.....	31
2. QËLLIMI DHE OBJEKTIVAT E STUDIMIT.....	36
3. PËRCAKTIMI I METFORMINËS NË PLAZMËN E NJERIUT	37
3.1 Materialet e punës	37
3.2 Tretësira mëmë, tretësirat e punës dhe kontrollet e cilësisë.....	38
3.3 Përgatitja e mostrës	38
3.4 Parametrat e punës të HPLC.....	39
3.5 Zhvillim dhe validimi i metodës bioanalitike	39
4. PËRCAKTIMI I METFORMINËS NË URINËN E NJERIUT	39
4.1 Materialet e punës	39
4.2 Tretësirat mëmë, tretësirat e punës dhe kontrollet e cilësisë.....	39
4.3 Përgatitja e mostrës	39
4.4 Parametrat e punës të HPLC	39
4.5 Zhvillim dhe validimi i metodës bioanalitike	40
5. FARMAKOKINETIKA E METFORMINËS PAS ADMINISTRIMIT TË NJË DOZE TË VETME (FORMULIMEVE FARMACEUTIKE ME ÇLIRIM TË SHPEJTË) NË VULLNETARË TË SHËNDETSHËM	40
5.1. Aspekte etike.....	40
5.1.1 Komiteti i Etikës.....	40
5.1.2 Udhëzuesit dhe dokumentat bazë.....	40
5.1.3 Informimi për lejen me shkrim të pjesmarrësit.....	40
5.2 Plani i punës kerkimore.....	40
5.2.1 Përzgjedhja e popullatës.....	40
5.2.2 Karakteristikat e subjekteve në studim.....	41
5.2.3 Modeli i studimit.....	41
5.2.4 Diskutimi i modelit të studimit, përfshirë zgjedhjen e grupit të kontrollit.....	42
5.2.5 Shpërndarja e subjekteve në grupet e trajtimit (randomizimi).....	42
5.2.6 Trajtimet.....	43
5.2.7 Komplanca e trajtimit.....	44
5.2.8 Tabela e orareve të studimit.....	44
5.2.9 Matjet e sigurisë.....	45
5.2.10 Përshtatshmëria e matjeve.....	45
5.2.11 Skema e kampioneve për matjen e përqëndrimit të barit.....	45
5.2.12 Mbledhja e mostrës.....	46
5.2.13 Trajtimi i mostrës biologjike.....	46
5.2.14 Shmangiet nga koha e marrjes së lëngjeve biologjike (Shmangiet e flebotomisë).....	46
5.3 Vlerësimi i bioekuivalencës të metforminës me të dhënat plazmatike dhe urinare.....	46
6. PËRCAKTIMI I METFORMINËS NË FORMULIMET FARMACEUTIKE.....	49
6.1. Reagentët dhe materialet.....	49
6.2 Instrumentat dhe pajisjet.....	49

6.3 Formulimi i tabletave.....	50
6.4 Tretësira mëmë dhe tretësirat e punës	50
6.5 Prova e disolucionit.....	50
6.6 Validimi i metodës analitike në pH 1.2 dhe 4.5.....	51
6.7 Modeli matematikor i disolucionit in vitro/krahasimi i profileve të disolucionit.....	51
7. REZULTATET.....	52
7.1 Rezultatet e validimit të metodës për përcaktimin e metforminës në plazmë dhe urinë.....	52
7.2 Rezultatet <i>in vivo</i> të metforminës tek subjektet.....	57
7.3 Rezultatet e disolucionit	80
8. DISKUTIMI.....	85
9. PËRFUNDIME.....	98
10. REKOMANDIME.....	99
11. SHTOJCA 1.....	100
11.1 Karakteristikat e popullatës	100
12. SHTOJCA 2.....	102
12.1 Miratimi nga Komiteti i Etikës.....	102
13. SHTOJCA 3.....	104
13.1 Informimi dhe miratimi nga subjektet për pjesëmarrjen në studim.....	104
14. REFERENCAT.....	109

Parathënie

Ky studim ka si qëllim të ofrojë evidencë të re mbi shkëmbyeshmërinë terapeutike të tabletave metformine 850 mg që qarkullojnë në tregun farmaceutik shqiptar. Në mënyrë specifike, punimi aktual ofron një panoramë të detajuar të metodave të validuara për përcaktimin e metforminës në plazmë, urinë dhe formë farmaceutike (tabletë).

Barasvlershmëria biologjike dhe/ose shkëmbyeshmëria terapeutike provohet përmes studimeve të bioekuivalencës (studimeve krahasuese farmakokinetike), studimeve krahasuese farmakodinamike, studimeve krahasuese klinike dhe provave krahasuese “in vitro”. Mënyra më e zakonshme e vlerësimit të shkëmbyeshmërisë terapeutike është ajo me anë të krahasimit të farmakokinetikës. Vlerësimi nëpërmjet studimeve klinike në pacientë është më i miri për të vlerësuar barasvlershmërinë klinike, por kjo mbart vështirësi dhe kosto të konsiderueshme.

Studimet e barasvlershmërisë biologjike (bioekuivalencës) janë shumë të rëndësishme për zhvillimin e një përgatitje farmaceutike në industrinë farmaceutike. Studimet e bioekuivalencës janë gjithnjë e më të rëndësishme për shkak të rritjes së madhe të prodhimit dhe konsumit të produkteve xhenerike, pasi ato përfaqësojnë afro 50% të barnave që përdoren në shumë vende evropiane dhe SHBA.

Studimi i bioekuivalencës së bashku me të dhënat farmaceutike të cilësisë së produktit mjekësor, është një nga pjesët kryesore të dosjes së regjistrimit që kërkohet nga autoritetet kombëtare rregullatore, konform legjislacionit në fuqi. Regjistrimi (dhënia e autorizimit për tregëtim) i barnave xhenerike kërkon krahasimin e barit origjinal dhe xhenerikut nëpërmjet studimit të bioekuivalencës.

Studimi aktual që përmbledh në vetvete dhjetë punime përcakton qartë performancën e tabletës së metforminës “in vivo” dhe “in vitro”.

Studimi ynë përmes studimeve farmakokinetike dhe studimeve “in vitro” tregon ekuivalencën terapeutike të tabletave të ndryshme që përmbajnë metforminë dhe që janë në qarkullim në tregun vendas.

Në këtë drejtim, janë bërë përparime të vogla pasi në këtë fushë të rëndësishme në Shqipëri janë kryer shumë pak studime dhe të dhënat janë të pamjaftueshme.

Realizimi i këtij studimi në aspektin praktik bën të mundur që institucionet përgjegjëse të mund të sigurojnë një kontroll të shpejtë të cilësisë së metforminave që qarkullojnë në tregun tonë farmaceutik. Studimet e barasvlershmërisë biologjike do të garantojnë cilësinë dhe efikasitetin e barit tek të sëmurët diabetikë. Ky studim vlen jo vetëm për të sëmurët por dhe për personelin mjekësor mjek, farmacist, pasi jep një tjetër garanci për cilësinë e barit. Nga rezultatet e këtij studimi Fondi i Sigurimit të Detyrueshëm të Kujdesit Shëndetësor do të bëjë një analizë kosto-efikasitet kurse Agjensia Kombëtare e Barnave dhe Pajisjeve Mjekësore do të marrë një feedback për produktin. Prova e barasvlershmërisë biologjike është po aq e sigurt sa edhe studimet klinike krahasuese. Ndër të tjera studimi do të garantojë dhe një mbështetje të mëtejshme për aprovimin rregullator për formulimin e provës.

Falenderime

Përfundimi i këtij dizertacioni nuk ishte vetëm një përmbushje e ëndërrave të mia, por gjithashtu një ëndërr e familjes time, e cila ka marrë shumë dhimbje për mua në përfundimin e studimeve të mia të larta.

Është e pamatshme mirënjohja që shpreh falenderimet e mia dashamirëse për udhëheqësin shkencor Prof. Asc. Leonard Deda, për mbështetjen dhe inkurajimin e tij të vazhdueshëm përgjatë gjithë periudhës së punimit tim shkencor. Ai ka dhënë këshillën më të mirë dhe gjithmonë ka patur kohë për të më dëgjuar, veçanërisht në fillimet e këtij projekti. Ai ka treguar kujdes me udhëzimet dhe kritikën e tij gjatë përgatitjes dhe hartimit të dizertacionit përfundimtar.

Dëshiroj të falenderoj përzemërsisht bashkëudhëheqësin tim shkencor, Prof. Dr. Gëzim Boçari për drejtimin e çmuar e në realizimin e këtij projekti.

I shpreh mirënjohjen time të thellë kompanisë Profarma Sh.a për zhvillimin e bashkëpunimit mjedisor dhe të thellë gjatë studimit. Falenderimet i takojnë shefes së Departamentit të Kontrollit të Cilësisë të kësaj kompanie Znj. Albana Pëllumbi, e cila më dha mundësinë e kompletimit të projektit me organizimin përkatës duke qenë përherë motivuese dhe dashamirëse.

Marr këtë privilegj dhe kënaqësi për të njohur kontributin e shumë individëve që kanë qenë frymëzues dhe mbështetës në punën time të ndërmarrë për të parë sukses në përpjekjet e mia.

Puna ime mban gjurmët e të gjithë miqve për sugjerimet e paçmueshme, inkurajimin konstant, mbështetjen morale për të përfunduar suksesshëm këtë projekt.

Së fundmi, e konsideroj veten të privilegjuar që kam parë optimizmin, moralin, kurajon, sakrificën në familjen time për ndjekjen e arsimimit tim të vazhdueshëm.

LISTA E AKRONIMEVE

Vs: versus
ACN: acetonitril
DKM: diklormetan
LSN: lauril sulfat natriumi
BD: biodisponibilitet
BE: bioekuivalencë
FK: farmakokinetike
SKB: sistemi i klasifikimit biofarmaceutik
HPLC : kromatografi e lëngët me performancë të lartë
DS : deviacion standard
DSR : deviacion standard relativ
GS: gabimi standard
KPM: kufiri i poshtëm i matjes
CV: koeficient variacioni
KC: kontroll cilësie
KZ: kufiri i zbulimit
KP: kufiri i përcaktimit
ELL: ekstraktim lëng-lëng
EFN: ekstraktim në fazë të ngurtë
KOH: hidroksid kaliumi
NaOH: hidroksid natriumi
ANOVA : Analiza e Variancës
AUC_{0-∞}: Sipërfaqja nën lakore e përqëndrimit plazmatik ndaj kohës, nga zero deri në infinit.
AUC_{0-t}: Sipërfaqja nën lakore e përqëndrimit plazmatik ndaj kohës, nga koha zero deri në përqëndrimin e fundit matës.
dF-shkalle lirie

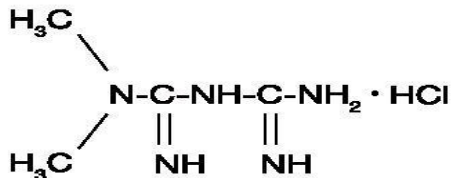
MS-mesatarja e katrorëve

1. HYRJE

1.1 METFORMINA

Metformina (N, N-Dimetil imido dikarbonimidik diamide) u prezantua për herë të parë në vitin 1950 në Evropë, dhe më pas u miratua në SHBA.

Struktura molekulare:



Metformina i përket klasës së antidiabetikëve oralë dhe është është preparat që përdoret gjerësisht. Metformina, në diabetikët, ul nivelin e glukozës plazmatike bazale dhe postprandiale, nuk stimulon sekretimin e insulinës dhe për këtë arsye nuk sjell hipoglicemi. Metformina stimulon sintezën brendaqelizore të glikogjenit duke vepruar në enzimën glikogjensintetazë.

1.1.1 Farmakodinamika

Metformina ul hipergliceminë me këto mekanizma:

- uljes të prodhimit të glukozës hepatiche duke frenuar glukoneogjenezën dhe glikogjenolizën (1,2),
- rritjes të ndjeshmërisë ndaj insulinës në muskuj duke përmirësuar kapjen periferike të glukozës dhe përdorimin e saj (3)
- vonesës në përthithjen e glukozës në zorrë (4). Metformina stimulon sintezën brendaqelizore të glikogjenit duke vepruar në glikogjensintetazë. Ajo rrit kapacitetin e transportit të të gjitha llojeve të transportuesve membranorë të glukozës.

Metformina ka efekt antilipolitik dhe frenues të oksidimit të acideve yndyrore të lira. Veprime të tjera, jo të lidhura direkt me efektin antihiperglicemiant janë: rritja e fibrinolizës, reduktimi i fibrinogjenit dhe i aktivitetit trombocitar.

1.1.2 Farmakokinetika

a. Përthithja

Kromatografia gaz-lëng, kromatografia e lëngët me presion të lartë dhe mas fragmentografia janë përdorur për përcaktimin e përqendrimeve të metforminës në plazmë dhe urinë. Këto metoda janë tepër specifike dhe të ndjeshme. Biodisponibiliteti i dozave të zakonshme të marra nga goja është 50-60% (5,6). Përthithja është e ngadaltë dhe përfundon brenda 6 orësh. Edhe pse përthithja ndodh në të gjithë zorrën, pjesa kryesore e barit përthithet në zorrën e hollë. Marrja e barit me ushqimin mund të pengojë përthithjen e tij.

b. Shpërndarja

Shpërndarja e metforminës është e shpejtë, por ndodh një transferim i ulët në një kompartment të thellë. Në studime të ndryshme farmakokinetike vlerat mesatare të vëllimit të shpërndarjes luhaten nga 63 në 276 L. Metformina grumbullohet në muret e ezofagut, stomakut, duodenit, në gjëndrat e pështymës dhe veshkat. Ajo nuk lidhet me proteinat plazmatike (7). Metformina gjendet në pështymë, por në një përqëndrim më të ulët se në plazmë. Përqëndrimet e larta në veshka nuk vijnë nga kapja në indet e veshkave, por nga përqëndrimet e larta të barit në traktin urinar.

c. Metabolizmi dhe jashtëqitja

Gjysmë-jeta mesatare plazmatike e eliminimit shkon nga 1.5 në 4.5 orë, rritet në të sëmurët me dëmtim të veshkave dhe kjo është e lidhur me klirensin e kreatininës. Të dhënat e sekretimit urinar kanë treguar një fazë jashtëqitje përfundimtare të vogël sasiore me një gjysmë-jetë mesatare të gjatë, duke filluar nga 8.9 në 19 orë. Kjo sugjeron një kompartment të vogël të thellë me një jashtëqitje të ngadalshme. Metformina jashtëqitet e pametabolizuar me shpejtësi nga veshkat.

1.1.3 Indikacionet terapeutike

a) diabeti i tipit 2 (diabeti joinsulinovartës)

Metformina rekomandohet si zgjedhje e parë për diabetin melit tipit 2 (8,9), sidomos në të sëmurët me mbipeshë, në rastet kur dieta dhe aktiviteti fizik janë të pamjaftueshëm për të arritur një kontroll të përshtatshëm të glicemisë. Metformina përdoret si mjekim i parë në të sëmurët me mbipeshë (të cilët nuk kanë shfaqur acetonuri); kur nuk është arritur një kontroll i kënaqshëm me dietë strikte dhe kur ka dështuar terapia e vetme me derivatet e sulfaniluresë. Metformina mund të jepet e vetme ose e kombinuar me një derivat sulfanilureje. Epërsitë e metforminës janë: nuk shkakton hipoglicemi, ka incidencë e ulët të shtimit në peshë dhe nivele të ulëta të insulinës në plazmë.

b) diabeti i tipit 1 (diabeti insulinovartës)

Metformina përdoret ekskluzivisht e shoqëruar me terapinë insulinike, me qëllim të ulë nevojën për insulinë si duke pakësuar absorbimin e sheqernave ashtu edhe duke përmirësuar ndjeshmërinë periferike ndaj insulinës.

- Në fëmijët mbi 10 vjeç dhe të rinjtë, metformina mund të përdoret e vetme (monoterapi) ose e shoqëruar me insulinë.
- Në të sëmurët e rritur, metformina mund të përdoret e vetme (monoterapi) ose e shoqëruar me barna të tjerë antidiabetikë që merren nga goja, ose me insulinë.

c) prediabet

Trajtimi me metforminë i njerëzve në rrezik për diabet të tipit 2 mund të ulë shanset e tyre për zhvillimin e sëmundjes, edhe pse veprimtaria intensive fizike dhe dieta veprojnë më mirë për këtë qëllim. Është e paqartë nëse metformina ngadalëson përparimin e prediabetit në diabet (efekti i vërtetë parandalues), ose ulja e diabetit në popullatën e trajtuar me metforminë ishte thjesht për shkak të veprimit të saj në uljen e glukozës (efekt trajtimi) apo ndikojnë dhe faktorë të tjerë. (10)

d) sindroma policistike e ovareve

Metformina konsiderohet një trajtim efektiv për mosovulacionin tek gratë me sindromën policistike të ovareve. Studiuesit kanë gjetur se metformina përmirëson ovulacionin dhe shtatzëninë, veçanërisht kur kombinohet me klomifenin. (11)

e) diabeti gestacional

Disa studime vëzhguese dhe të randomizuara, kanë gjetur që metformina është po aq efektive dhe e sigurt sa insulina për menaxhimin e diabetit gestacional (12,13). Megjithatë, janë ngritur shqetësime në lidhje me studimet e publikuara deri më tani, dhe provat për sigurinë afat-gjatë të metforminës për nënën dhe fëmijën ende mungojnë (14). Metformina është e sigurt në shtatzëni. Gratë me diabet gestacional të trajtuara me metforminë kanë më pak shtim në peshë gjatë shtatzënisë sesa ato që trajtohen me insulinë. Fëmijët e lindur nga nënat që trajtohen me metforminë kanë zhvilluar me pak yndyrë viscerale, duke i bërë ata më pak të prirur për rezistencë të insulinës në jetën e mëvonshme (15).

1.1.4 Dozimi

Metformina furnizohet nga disa prodhues në formë tabletash që merren nga goja. Metformina gjendet në formën e tabletave të veshura me film që përmbajnë 500 mg ose 850 mg. Tabletat duhet të merren me ose pas ushqimit dy ose tri herë në ditë. Tabletat duhet të ruhen në temperatura 15 dhe 30°C, në kushte të thata dhe gjysmë-jetë prej 5 vjet. Metformina e lëngët qarkullon në Indi nën emrin Riomet, ku 5 mL tretësirë është ekuivalent me tabletën 500 mg. Tabletat me çlirim të menjëhershëm gjendet në formën e tabletave 500, 850 dhe 1000 mg.

Metformina me çlirim të ngadaltë dhe të zgjatur u prezantua në 2004. Ajo gjendet në formën e tabletave 500, 750 dhe 1000 mg.

Klorhidrati i metforminës është gjithashtu në formën e tabletave me çlirim të vazhdueshëm prej 850 dhe 1000 mg të cilat merren nga goja, një herë ose dy herë në ditë. Metformina gjendet gjithashtu e kombinuar me klorpropamid, gliburid dhe butamid.

1.1.5 Efektet anësore

a. Efekte anësore simptomatike

Metformina normalisht tolerohet mirë, por nganjëherë mund të shfaqen çrregullime gastrointestinale, të cilat zakonisht janë të lehta dhe shpesh mënjanohe duke e marrë barin gjatë ngrënies ose mbas ngrënies. Si çrregullime gastrointestinale përmenden krampe, të përziera, të vjella, diarre dhe gazra. Metformina shfaq efekte anësore gastrointestinale më shumë sesa antidiabetikët e tjerë (16). Shqetësimi gastrointestinal mund të shkaktojë diskomfort të rëndë. Ai paraqitet i zakonshëm kur bari merret për herë të parë, ose kur rritet doza. Diskomforti mund të shmanget duke filluar me dozë të vogël (1.0 - 1.7 gram në ditë) dhe duke rritur dozën gradualisht.

b. Efektet anësore të rënda apo të pakthyeshme

Komplikimi më i madh kërcënues për jetën nga mbidozimi me metforminë është acidoza laktike, e cila ndodh nga akumulimi i laktatit (17,18).

Metformina mund të shkaktojë acidozë laktike, veçanërisht në të sëmurët me funksion të dëmtuar të veshkave (1). Të sëmurët që përdorin vazhdimisht metforminë duhet që çdo vit të bëjnë një vlerësim të niveleve të vitaminës B12, sepse bari e pakëson përthithjen e saj (19,20).

c. Efekte akute nga mbidoza

Në fëmijët e shëndetshëm, doza të paqëllimshme me pak se 1700 mg nuk sjellin efekte helmuese të rëndësishme (21). Simptomat më të zakonshme nga mbidozimi përfshijnë të vjella, diarre, dhimbje abdominale, takikardi dhe rrallë hipoglicemi ose hiperglicemi (22,23). Gjatë periudhës së viteve 2000-2006 në qendrat e kontrollit të helmimit në Teksas janë raportuar raste të mbidozimit me mbi 5000 mg metforminë me pasoja serioze në të rritur (22). Në literaturën mjekësore janë raportuar raste të mbijetesës pas marrjes së dozave deri në 63 gram preparat (24). Vdekjet prej mbidozimit janë të rralla (25,23,26).

d. Efektet potencialisht kërcënuese për jetën

Metformina nuk ka efekte të drejtpërdrejta helmuese në palcën e kockave, mëlçi ose organe të tjera dhe nuk nxit rritjen e tumoreve.

1.1.6 Ndërveprime të barit

Cimetidina (antagonist i receptorëve H₂), shkakton një rritje në përqëndrimin plazmatik të metforminës, duke ulur klirensin e metforminës nga veshkat (27). Si metformina dhe cimetidina dalin nga trupi përmes sekretimit tubular, dhe të dyja, veçanërisht forma kationike (e ngarkuar pozitivisht) e cimetidinës, mund të konkurojnë për të njëjtin mekanizëm transporti (28). Një studim i randomizuar dyfish i verbër, ka treguar se cefaleksina rrit përqëndrimet e metforminës me një mekanizëm të ngjashëm (29). Teorikisht, barna të tjera kationike mund të prodhojnë të njëjtin efekt (28). Alkooli fuqizon efektin antihiperglicemik dhe hiperlaktatemik të metforminës nga frenimi i glukoneogjenezës. Për këtë arsye popullata e trajtuar me metforminë duhet të shmangi alkoolin.

1.2 BARI PATENTË PËRKUNDREJT ATIJ XHENERIK

Produktet farmaceutike (barnat) janë të ndryshëm nga mallrat e tjera. Kjo vjen jo vetëm nga vlera e lartë sociale e tyre, por edhe nga që të sëmuret dhe mjekët (përshkruesit) nuk janë të aftë për të gjykuar dhe vlerësuar plotësisht cilësinë, sigurinë dhe efikasitetin e tyre. Agjensitë rregullatore kombëtare duhet të sigurojnë që fabrikimi, tregëtimi dhe përdorimi i barnave janë të rregulluara në mënyrë efektive për të mbrojtur dhe nxitur shëndetin publik.

Në tregun farmaceutik qarkullojnë produkte një dhe shumëburimore. Kjo i referohet numrit të fabrikuesit të barit. Produktet një-burimore janë barna për të cilat prodhuesi i barit patentë vazhdon të ketë të drejta ekskluzive për prodhimin e barit. Barnat një-burimore bëhen shumë burimore kur mbaron afati i patentës dhe shumë fabrikues lejohen të prodhojnë ekuivalentin terapeutik.

Rritja e shpenzimeve të kujdesit shëndetësor vazhdon të mbetet një shqetësim madhor nga i sëmuri deri tek politikëbërësit. Strategjia e madhe për uljen e kostos së kujdesit shëndetësor është ulja e shpenzimeve të barnave. Por në epokën moderne, shpenzimet e barnave që jepen me recetë janë rritur mbi 10% në vit dhe aktualisht përfaqësojnë 11% të të gjitha shpenzimeve të kujdesit shëndetësor. Strategjia e madhe për uljen e kostos së kujdesit shëndetësor është ulja e shpenzimeve të barnave.

Barnat xhenerike janë një zgjedhje e rëndësishme që mundësojnë një akses të madh në kujdesin shëndetsor. Barnat xhenerike janë kopje të barnave inovatore (referencë) dhe janë të njëjtë përsa i përket sigurisë, rrugës së administrimit, cilësisë, karakteristikave të performancës dhe qëllimit të përdorimit (30).

Juridiksione dhe organizata të ndryshme e përkufizojnë barin xhenerik dhe referencën korespoduese në mënyra të ndryshme (31).

Termi “bar xhenerik” sipas Organizatës Botërore të Shëndetsisë (OBSH) përkufizohet një produkt farmaceutik, i cili:

- pikësynon të jetë i shkëmbyeshëm me produktin inovator (produktin original)
- prodhohet pa lejen e prodhuesit origjinal dhe,
- tregëtohet pas mbarimit të patentës ose të drejtave të tjera (32).

Termi “bar referencë/inovator” sipas OBSH përkufizohet një produkt farmaceutik që është zakonisht i autorizuari i parë për tregëtim (normalisht si një produkt i patentuar) në bazë të dokumentacionit të efikasitetit, sigurisë dhe cilësisë (në përputhje me kërkesat në kohën e autorizimit).

Shtete të ndryshme dhe organizatat si Bashkimi Europian dhe OBSH kanë autoritetet e tyre rregullatore për aprovimin në treg të barnave xhenerike (33). Brenda një juridiksioni, barnat xhenerike janë barna shumë burimore, që prodhohen nga shumë prodhues dhe kanë lëndë vepruese, formë farmaceutike dhe rrugë administrimi të njëjtë (34).

Bari xhenerik tregëtohet me emrin e përgjithshëm, ndërsa emri i barit tregëtar caktohet nga fabrikuesi. Përdorimi i emrit tregëtar është ekskluzivitet për mbajtësin e tij. Barnat xhenerike janë shpesh po aq efektive, por shumë më të lirë se inovatorët ose ish patentatë përkatëse. Për shkak të çmimit të tyre të ulët, ato shpesh janë të vetmet barna për të cilët mund të kenë akses grupet më të varfëra sociale.

Ekivalentët farmaceutikë kanë sasi të njëjtë të të njëjtës lëndës vepruese (kripë, ester), formë farmaceutike dhe rrugë përdorimi të njëjtë (35). Në rastin e tretësirave ujore, pluhurave që do të treten dhe gazeve, ekuivalenca farmaceutike është e mjaftueshme për të demonstruar shkëmbyeshmërinë e barnave. Ekuivalentët farmaceutikë për shkak të dallimeve të mundshme (madhësia e grimcës, eksipientët, pajisjet ose procesi i prodhimit, vendi i prodhimit) mund të shkaktojnë diferenca në performancën in vivo. Shumica e agjensive rregullatore kërkojnë prej prodhuesve të barnave xhenerike të provojnë që produktet e tyre janë bioekuivalentë me produktin ish-patentë dhe për rrjedhojë të shkëmbyeshëm nga pikëpamja terapeutike. Të dhënat e sigurisë dhe efikasitetit janë përcaktuar gjatë provave klinike të barit inovator. Një skemë përmbledhëse e rrugëtimit të barit patentë dhe xhenerik paraqitet si me poshtë:

Bari patentë



Etiketimi

Kimia

Fabrikimi

Kontrollet

vs

Bari xhenerik



Etiketimi

Kimia

Fabrikimi

Kontrollet

Mikrobiologjia

Inspektimi

Studimi

Studimet në kafshë

Studimet klinike

Biodisponibiliteti

Mikrobiologjia

Inspektimi

Studimi

Bioekuivalenca

Një produkt xhenerik konsiderohet i shkëmbyeshëm (i zëvendësueshëm) me produktet e tjera që përmbajnë të njëjtën lëndë vepruese, përfshi edhe produktin original apo ish-patentën, kur:

- është ekuivalent farmaceutik me origjinalin
- është bioekuivalent me origjinalin (ekuivalent terapeutik)
- prodhohet sipas rregullave të Praktikës së Mirë të Fabrikimit

Demonstrimi i shkëmbyeshmërisë realizohet përmes bioekuivalencës (studim farmakokinetik), studimeve farmakodinamike, provave in vitro dhe studimeve klinike. Demonstrimi praktik i drejtpërdrejtë i ekuivalencës terapeutike në një studim klinik zakonisht kërkon një numër të madh të sëmurëve. Studime të tilla në njerëz kërkojnë kosto të lartë, shumë herë janë të panevojshme dhe duhet të plotësojnë kërkesat etike. Për këto arsye gjatë dekadave të fundit është zhvilluar disiplina e bioekuivalencës. Sipas parimeve të kësaj disipline, ekuivalenca terapeutike sigurohet kur produkti shumëburimor është ekuivalent/alternativ farmaceutik dhe bioekuivalent. (36)

Krahasimi i drejtpërdrejtë ose i tërthortë i performancave terapeutike të dy formulimeve farmaceutike që përmbajnë të njëjtën lëndë vepruese është parakusht për shkëmbyeshmërinë midis formulimeve xhenerike dhe patentë. Për të arritur një veprim optimal terapeutik, lënda vepruese farmaceutike duhet të çlirohet në vendin e saj të veprimit në një përqëndrim efektiv për periudhën e dëshiruar. Për të patur një efekt terapeutik, performanca e një formulimi farmaceutik duhet të karakterizohet nga studimet in vivo dhe/ose in vitro. Provat in vivo dhe in vitro për demonstrimin e bioekuivalencës janë thelbësore për të gjitha legjislacionet që zbatohen nga agjensitë rregullatore të vendeve të ndryshme. Studimet farmakokinetike mbështeten në përcaktimin in vivo të përqëndrimeve të lëndës vepruese. Ato krahasojnë biodisponibilitetin e produkteve referencë (origjinali) dhe provë (xheneriku) dhe vlerësojnë in vivo performancën e produkteve. Presupozohet se ka lidhje ndërmjet përqëndrimeve plazmatike të barit dhe sigurisë dhe efikasitetit të tij. Në raste të përzgjedhura (barna me tretshmëri dhe përthithje të shpejtë), krahasimi i profilit të disolucionit të formulimit xhenerik me formulimin krahasues (provat in vitro) mund të jetë i mjaftueshëm për të pohuar bioekuivalencën dhe nuk është e domosdoshme prova klinike (36).

1.3 PRINCIPET E BIOEKUIVALENCËS IN VIVO

Format farmaceutike që merren nga goja shërbejnë si një mjet për shpërndarjen e barnave në qarkullimin e gjakut me qëllim arritjen e barit në vendin e veprimit. Efektshmëria

terapeutike e një produkti farmaceutik varet nga aftësia e formës farmaceutike për të çliruar lëndën vepruese me një ritëm dhe në një masë të përshtatshme. Kjo veti e formës farmaceutike njihet edhe si biodisponibilitet. Biodisponibiliteti (BD) përkufizohet si ritmi dhe shkalla në të cilën lënda vepruese përthithet nga forma farmaceutike dhe bëhet e vlefshme në vendin e veprimit. Kur bari injektohet në venë, biodisponibiliteti i tij është 100%. Megjithatë, kur një bar përdoret nëpërmjet rrugëve të tjera (p.sh., nga goja), biodisponibiliteti i tij zakonisht është më i ulët (për shkak të përthithjes jo të plotë dhe metabolizmit gjatë kalimit të parë ose parasistemik). Biodisponibiliteti mund të ndryshojë nga pacienti në pacient për shkak të ndryshimeve ndërindividuale në procesin e përthithjes. Biodisponibiliteti i një bari përcaktohet kryesisht nga vetitë e formës farmaceutike, të cilat varen pjesërisht nga formulimi dhe procesi i prodhimit. Ndryshimet në biodisponibilitet në formulimet e një bari të dhënë kanë rëndësi klinike; në këtë mënyrë është thelbësore të dihet nëse formulimet janë bioekuivalentë. Barnat bioekuivalentë janë ekuivalentë farmaceutike ose alternativë farmaceutikë që paraqesin biodisponibilitet të krahasueshëm kur studiohen në kushte eksperimentale të njëjta. Dy produkte konsiderohen bioekuivalentë kur ritmi dhe shkalla e përthithjes të barit provë nuk paraqet një diferencë të rëndësishme nga ritmi dhe shkalla e përthithjes të barit referencë kur barnat administrohen me të njëjtën dozë të përbërësiterapeutik në kushte të ngjashme eksperimentale (37).

Ekuivalenca kimike është një term që përdoret për të treguar qëproduktet farmaceutike (barnat) përmbajnë të njëjtën lëndë vepruese në sasi të njëjtë dhe përmbushin standardet zyrtare; por përbërësit joveprues (ekspientët) në produktet farmaceutike mund të ndryshojnë.

Ekuiivalentët farmaceutikë kanë sasi të njëjta të të njëjtës lëndës vepruese (kripë, ester), formë farmaceutike dhe rrugë përdorimi të njëjtë (35).

Bioekuivalenca (barasvlershmëria biologjike, biobarasvlershmëria) është një term që përdoret për të treguar qëdy a më shumë përgatesa farmaceutike (barna) që përmbajnë të njëjtën lëndë vepruese, në sasi të barabartë kalojnë në qarkullimin e përgjithshëm me të njëjtën shpejtësi relative, dhe me të njëjtën sasi, duke dhënë të njëjtat përqëndrime në gjak.

Në qoftë se dy produkte janë ekuivalentë farmaceutikë, atëherë demonstrimi i bioekuivalencës së tyre nënkupton ekuivalencën terapeutike dhe/ose shkëmbyeshmërinë e tyre (38,39).

Produktet bioekuivalente priten që të jenë edhe ekuivalentë terapeutikë. Joekuivalenca terapeutike (psh., më shumë efekte të padëshirueshme, më pak të efektshme) zakonisht gjendet gjatë trajtimit afatgjatë kur të sëmurëve, të cilët janë stabilizuar me një formulim, u jepet një zëvendësues joekuivalent.

Ndonjëherë ekuivalenca terapeutike është e mundur pavarësisht ndryshimeve në biodisponibilitet. Për shembull, treguesi terapeutik (raporti i përqëndrimit minimal helmues me përqëndrimin mesatar të efektshëm) i penicilinës është aq i gjerë sa

efektshmëria dhe siguria zakonisht nuk preken nga ndryshimet mesatare në përqendrimin plazmatik për shkak të ndryshimeve në biodisponibilitet në produktet e penicilinës. Në kundërt, për barnat me një tregues relativisht të ngushtë terapeutik, ndryshimet e biodisponibilitetit mund të shkaktojnë jobarasvlershmëri terapeutike.

Gjatë tre dekadave të fundit, përzgjedhja e barit, biodisponibiliteti dhe bioekuivalenca konsiderohen çështje kritike në fushat mjekësore e farmaceutike dhe kanë një ndikim të rëndësishëm në procesin e zhvillimit të barit. BE shërben për të treguar ekuivalencën terapeutike midis barit xhenerik (testit) dhe barit referencë korespodues.

Ndër të tjera, studimet e BD/BE janë jetike për procesin pas miratimit për shkak të ndryshimeve të bëra në prodhimin e barnave. BD i produkteve të ndryshme farmaceutike që përmbajnë të njëjtën dozë të së njëjtës lëndë vepruese përbën një sfidë të veçantë për profesionistët e kujdesit shëndetësor. Këto çështje janë shumë të rëndësishme për farmacistët, pasi ata luajnë një rol të rëndësishëm në vendimet e përzgjedhjes së produktit, duke e bërë të nevojshme të dinë parimet dhe konceptin e BD dhe BE.

Studimet e BE kërkohen (i) kur forma farmaceutike e propozuar është e ndryshme nga ajo e përdorur për provat klinike, (ii) kur bëhen ndryshime të rëndësishme në fabrikimin e formulimit të tregëtuar dhe (iii) kur një formulim i ri xhenerik testohet përkundrejt një produkti inovator.

Bioekuivalenca përdor matje farmakokinetike në një matriks biologjik si gjaku, plazma apo serum dhe/ose urina për të treguar çlirimin e lëndës vepruese nga produkti farmaceutik në qarkullimin sistematik. Studimet e BE krahasojnë performancën in vivo të një produkti farmaceutik test (shumë burimor) me një produkt farmaceutik referencë. Projektimi më i zakonshëm në një studim BE përfshin marrjen e produkteve test dhe referencë nga vullnetarët, me një periudhë shpëlarje midis dy trajtimeve. Periudha e shpëlarjes përcaktohet në mënyrë të tillë që bari i dhënë në një trajtim është eliminuar tërësisht para marrjes të trajtimit të ardhshëm. Kampionet e gjakut dhe/ose urinës mbledhen dhe analizohen për përqendrimin e lëndës vepruese dhe/ose një ose më shumë metabolitëve. Rritja dhe rënia e këtyre përqëndrimeve përgjatë kohës në çdo subjekt siguron një vlerësim të lëndës vepruese që çlirohet dhe përthithet në trup nga produktet test dhe referencë. Për të krahasuar dy produktet, përdoren lakoret e varësisë të përqëndrimit të gjakut (plazmë ose serum) dhe/ose urinës ndaj kohës për të llogaritur parametrat farmakokinetikë. Këto parametra llogariten për secilin subjekt dhe rezultatet krahasohen statistikisht. Parametrat farmakokinetikë që përdoren për të vlerësuar ritmin dhe shkallën e produkteve test dhe referencë duhet të jenë brenda një intervali besimi të caktuar.

Të gjitha hulumtimet që përfshijnë qeniet humane duhet të kryhen në përputhje me parimet etike të përfshira në Deklaratën e Helsinkit. Është thelbësore që të ketë një komitet shqyrtimi që konfirmon protokollin në përputhje me standardet etike për kërkime mbi njerëzit. Nga çdo vullnetar duhet të merret një konsent me shkrim për pjesëmarrjen në studim. Informacioni i dhënë për çdo vullnetar duhet të përfshijë detajet e studimit, rreziqet që lidhen me pjesëmarrjen dhe informacion në lidhje me të drejtën për tu tërhequr në çdo kohë nga studimi.

Dy qasjet për të vlerësuar BE janë studimet in vivo dhe studimet in vitro.

Studimi i BE in vivo përmbledh në vetvete (40):

- protokollin e studimit
- metodën bioanalitike dhe validimin
- zgjedhjen e analitit(ëve)—dhe/ose metabolitëve
- transformimin e të dhënave
- llogaritjen e parametrave FK
- analizën statistikore
- vendosjen dhe aplikimin e kriterëve të BE

1.3.1 Protokollin e studimit

Elementët e një protokollin e studimit janë si më poshtë:

a. Titulli

Në një protokollin e studimit specifikohet titulli i studimit, investigatori kryesor, numri i projektit dhe data.

b. Objektivat e studimit

Objektivi i një studimi BE është demonstrimi i mungesës të diferencës sinjifikative, në ritmin dhe masën, me të cilën substanca vepruese, e përmbajtur në doza të njëjta, në produktet farmaceutike ekuivalente (test dhe referencë) kalon në qarkullimin sistematik dhe/ose vendin e veprimit, ndërkohë që administrohet në kushte të njëjta dhe studiohet sipas modeleve të përshtatshme për këtë qëllim.

c. Modeli i studimit

Për format farmaceutike të ngurta që merren nga goja kërkohen studime të bioekuivalencës në kushte esëll ose në praninë e ushqimit.

Në studimet FK të BE përfshihen modeli standard dhe modelet alternative.

- Modeli standard (i kryqëzuar)

Në modelin standard, BE investigohet në vullnetarë të shëndetshëm të përfshirë në një studim të hapur, të kryqëzuar, me një dozë të vetme nën kushtet esëll. Një studim i tillë përfshin së paku 12 subjekte dhe në mënyrë tipike përfshin 18 deri 24, ose më shumë. Subjektet shpërndahen në mënyrë të rastësishme dhe ndahen në dy grupe. Çdo subjekt i një grupi merr një dozë të vetme të formulimit test dhe çdo subjekt i grupit tjetër merr formulimin standard (referencë). Pas periudhës së shpëlarjes, marrja e formulimeve test dhe referencë ndërkëmbetet (shih figurën 1). Në këtë studim variabiliteti ndërindividual është eliminuar dhe vetëm variabiliteti brenda individëve midis produkteve test dhe referencë përcakton rezultatet.

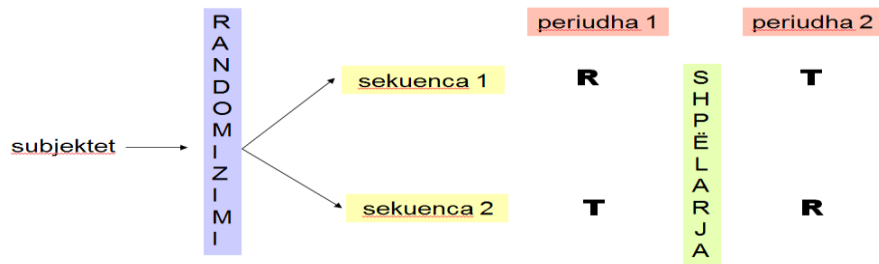


Figura 1. Modeli i një studimi të kryqëzuar

- Modelet alternative

Në raste të veçanta për studimet e BE, përdoren modele alternative.

I. Modeli paralel

Në rastet kur modeli i kryqëzuar nuk është praktik, bëhet i dobishëm modeli paralel. Në modelin paralel subjektet janë të ndarë në dy grupe. Dy grupet e trajtimit mund të marrin barna të ndryshme ose doza të ndryshme të të njëjtit bar. Aspekti kryesor në një studim paralel është randomizimi, i cili garanton rezultate të sakta dhe një risk të ulët për bias. Në këtë tip studimi janë shpesh të përfshirë dhe grupet e kontrollit. Në këtë model nuk është e nevojshme një periudhë shpëlarje. Ky model gjen zbatim për barnat me gjysmëjetë të gjatë.

II. Modeli pa replikatë

Modeli i studimit pa replikatë rekomandohet për studimin e BE të formave farmaceutike me çlirim të menjëhershëm, për përdorim nga goja.

III. Modeli me replikatë

Modelet e studimit me replikatë rekomandohen kryesisht për barnat me një variabilitet të lartë. Epërsitë shkencore të modelit me replikatë krahasuar me modelin pa replikatë janë:

- krahason variancat brenda subjektit për produktin test dhe referencë
- tregon nëse produkti test paraqet variabilitet të ulët ose të lartë brenda subjektit
- jep më tepër informacion për faktorët që lidhen me performancën e formulimit,
- pakëson numrin e personave që nevojiten në studimet e BE.

Të metat e modelit me replikatë janë:

- angazhohen shumë subjekte
- më shumë administrime për subjekt
- kostoja e lartë

IV. Modeli pilot

Modeli pilot është preferuar në rastet kur sponsori zgjedh një numër të vogël subjektsh. Ky tip studimi kryhet për të vlerësuar variabilitetin, për të optimizuar intervalet kohore të marrjes të mostrës dhe për të siguruar informacione të tjera.

d. Subjektet

I. Numri i subjekteve

Studimet e BD zakonisht rekomandohen të kryhen në një popullatë sa më homogjene. Numri i subjekteve që do të përfshihen në studim duhet të bazohet në një njehsim të madhësisë të kampionit. Njehsimi paraprak i numrit minimal të subjekteve që do të përfshihen në studim (madhësia e kampionit) bëhet duke presupozuar se variacioni brenda individit (intraindividual) i njehsuar sipas ANOVA (ANOVA-CV) për vlerat e log-transformuara të AUC të të dy formulimeve të jetë më pak se 10%. Duke supozuar se ndryshimi i vërtetë ndërmjet mesatareve të AUC të referencës dhe testit të jetë jo më i madh se 5% e vlerës së AUC së referencës, rezulton se numri minimal i subjekteve që duhet ti nënshtrohet studimit, me qëllim që të konfirmohet BE, të jetë 12 (gabimi $\alpha < 5\%$ dhe fuqia $1 - \beta = 80\%$). Një numër minimal prej 20 subjektsh kërkohen për format farmaceutike me çlirim të modifikuar. Subjektet do të rekrutohen pas ftesës paraprake për të marrë pjesë në studim. Ato do të kualifikohen për të marrë pjesë në studim në qoftë se plotësojnë të gjithë kriteret e përfshirjes dhe asnjë nga kriteret e përjashtimit të përmendura në Shtojcën 1.

II. Përzgjedhja e subjekteve

Popullata për studimet e BE duhet të përzgjidhet me qëllimin për të zvogëluar variabilitetin dhe të lejojë zbulimin e diferencave midis produkteve farmaceutike. Si e tillë, studimet duhet të kryhen në vullnetarë të shëndetshëm.

III. Karakteristikat e popullatës

Në një provë klinike, investigatorët duhet të specifikojnë karakteristikat e popullatës (karakteristikat e përfshirjes dhe të përjashtimit) për pjesëmarrje në studim (shiko Shtojca 1). Duhet të merren parasysh rekrutimi i pjesëmarrësve dhe ndikimi që këto karakteristika do të kenë në hartimin e studimit.

IV. Zëvendësimi i subjekteve

Me qëllim që të realizohet numri prej 12 vetash, të gjithë individët që largohen duhet të zëvendësohen. Shkaqet prej të cilave subjekti mund të largohet nga studimi dhe, për pasojë, duhet të zëvendësohet janë:

- Largimi për shkaqe personale
- Shfaqja e efekteve të padëshirueshme që kërkojnë ndërprerjen e trajtimit
- Sëmuret nga patologji që përbëjnë kritere përjashtimi nga studimi
- Çdo situatë, ku pjesëmarrja e mëtejshme dëmton shëndetin e subjektit
- Shkelja e protokollit të studimit

V. Fenotipi gjenetik

Bari mund të jetë subjekt i polimorfizmit gjenetik. Në modelin e kryqëzuar fenotipi dhe/ose gjenotipi i vullnetarëve duhet të merret në konsideratë për arsye sigurie dhe farmakokinetike.

VI. Të sëmuret versus vullnetarët e shëndetshëm

Nëse lënda vepruese paraqet efekte anësore dhe risqe ose efektet farmakologjike konsiderohen të papranueshme për vullnetarët e shëndetshëm, është e nevojshme të përfshihen të sëmuret në një studim BE.

e. Standardizimi i kushteve të studimit

Standardizimi i dietës, ushtrimeve, marrjes së lëngjeve dhe kufizimi i alkoolit, kafes, barnave para dhe gjatë studimit është i rëndësishëm për të minimizuar variabilitetin e të gjithë faktorëve të përfshirë përjashtuar produktet farmaceutike që do të analizohen.

- Doza

Në protokollin e studimit duhet të specifikohet ora dhe data e marrjes së dozës.

- Ushqimi dhe lëngjet e marra gjatë dozimit

Të gjitha juridiksionet dhe organizatat kërkojnë një studim BE me një dozë të vetme në kushtet esëll për format farmaceutike të ngurta me çlirim të menjëhershëm. Meqenese marrja e ushqimit mund të ndikojë në përthithjen e barit dhe në BD për format farmaceutike të marra nga goja, për rrjedhojë vëllimi i lëngut që merret gjatë dozimit duhet të jetë konstant (p.sh., 200 mL). Në studimet në kushtet esëll, koha e mosngrënies para dozimit duhet të standardizohet dhe mbikqyret. Gjithashtu të gjitha lëngjet dhe ushqimet të marra pas dozimit duhet të standardizohen sipas përbërjes, kohës së administrimit dhe të jenë në përputhje me kërkesat specifike për çdo studim. Subjektet nuk duhet të marrin ushqime dhe pije që mund të ndërveprojnë me barin (pije alkoolike, pije që përmbajnë ksantina ose lëngje frutash specifike).

- Përdorimi i njëkohshëm i barnave të tjerë

Subjektet nuk duhet të marrin barna të tjerë për një periudhë të përshtatshme para dhe gjatë studimit. Në rastet e një reaksioni alergjik apo ndonjë efekti të padëshiruar kërkuesi kryesor gjithashtu është i lirë të përdorë një medikament, kur ai gjen indikim. Në çdo rast kërkuesi kryesor duhet të shpjegojë vendimin e marrë. Çdo ndërhyrje medikamentoze jashtë trajtimit në provë, duhet shënuar në dokumentin përkatës, duke specifikuar barin, dozën e tij, kohën e përdorimit dhe arsyen përkatëse.

- Aktiviteti fizik

Meqenëse BD i lëndës vepruese të një forme farmaceutike varet nga tranziti gastrointestinal dhe rrjedhja regjionale e gjakut, është thelbësore të standardizohet aktiviteti fizik.

f. Produktet investiguese

Produkti test në një aplikim për produkt xhenerik zakonisht krahasohet me formën farmaceutike korespoduese të produktit mjekësor inovator (produkti referencë). Produktet

që përdoren për qëllime regjistrimi duhet të jenë identike me produktin farmaceutik inovator. Rekomandohet që përcaktimi sasior dhe karakteristikat e provës të disolucionit të kryhen përpara një studimi të bioekuivalencës. Përmbajtja e lëndës vepruese në të dy produktet nuk duhet të ndryshojë më shumë se $\pm 5\%$. Nëse përmbajtja e lëndës vepruese të referencës devijon më shumë se 5% nga përmbajtja e deklaruar prej 100%, kjo diferencë mund të përdoret për të normalizuar parametrat e BD që të lehtësojë krahasimin midis testit dhe referencës.

g. Mbledhja e mostrës dhe koha e marrjes së mostrës

Pas marrjes së barit, mostrat e lëngjeve biologjike (gjaku, plazma/serumi, urina, indi) mblidhen në intervale të ndryshme kohore. Skema e marrjes së tyre varet nga karakteristikat farmakokinetike të barit të analizuar. Në shumicën e rasteve, plazma apo serumi është matriksi i zgjedhjes. Megjithatë, nëse bari nuk metabolizohet dhe jashtëqitet kryesisht i pandryshuar mund të analizohet urina për të vlerësuar bioekuivalencën. Marrja e mostrave bëhet e shpeshtë para arritjes së përqendrimit maksimal. Periudha e marrjes të mostrave duhet të vazhdojë për të paktën tre ose me tepër gjysmë-jeta plazmatike eliminimi të barit. Koha kur administrohet bari dhe koha kur mblidhen mostrat duhet të dokumentohen. Mostrat përpunohen në mënyrë të përshtatshme dhe ruhen me kujdes sipas kushteve që të ruhet integriteti i analitit.

➤ Mbledhja e gjakut

a) Kohëzgjatja e marrjes së mostrave të gjakut në një studim duhet të jetë e mjaftueshme për të llogaritur të paktën 80% të $AUC_{0-\infty}$. b) Për shumicën e barnave për çdo subjekt duhet të mblidhen 12 deri në 18 mostra, duke përfshirë një mostër para-dozës. c) Mbledhja e mostrës duhet të ketë një hapësirë kohore që të vlerësohet përqëndrimi maksimal i barit në gjak (C_{max}) dhe konstantja e ritmit të eliminimit (Kel). d) Të paktën tre deri në katër mostra mbi kufirin e përcaktimit duhet të merren gjatë fazës terminale loglineare për të vlerësuar Kel me analizë regresioni linear. e) Nëse përqëndrimet e barit në gjak janë shumë të ulëta për të zbuluar dhe një sasi të konsiderueshme ($> 40\%$) e barit eliminohet e pandryshuar në urinë, atëherë urina mund të shërbejë si lëngu biologjik për tu analizuar.

➤ Mbledhja e urinës

a) Vëllimi i çdo mostre duhet të matet menjëherë pas mbledhjes dhe të përfshihet në raport. b) Urina duhet të mblidhet gjatë një periudhe të zgjatur dhe në përgjithësi jo më pak se shtatë gjysmëjetë eliminimi, në mënyrë që të vlerësohet sasia e ekskretuar në pafundësi (U_{∞}). c) duhet të përftohen mostra të mjaftueshme për të përcaktuar ritmin dhe shkallën e ekskretimit renal. Për një studim 24 orësh janë zakonisht të përshtatshme kohët prej 0 – 2; 2 – 4; 4 – 8; 8 – 12; dhe 12 - 24 orë pas dozës.

h. Karakteristikat që do të investigohen

➤ Profilet e përqendrimit në gjak/plazmë/serum ndaj kohës

Në shumicën e rasteve vlerësimi i BD dhe BE bazohet në matjen e përqendrimeve të komponentit kryesor (p.sh., lënda vepruese) ku forma dhe sipërfaqja nën lakoren e varësisë të përqendrimit plazmatik ndaj kohës përdoren për të vlerësuar ritmin dhe shkallën e përthithjes.

Parametrat e BD që do të vlerësohen janë si më poshtë:

- AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, C_{max} , t_{max} për profilet e përqendrimit plazmatik ndaj kohës
- $AUC_{0-\infty}$, C_{max} , C_{min} , fluktuacioni (% PTF) dhe swing (% Swing) për studimet në gjendjen e qëndrueshme.
- Karakteristika të tjera të justifikueshme
- Duhet të specifikohet metoda për vlerësimin e AUC.

➤ Profilet e ekskretimit urinar

Në rastin e lëndëve vepruese që kryesisht ekskretohen në rrugë renale, përdorimi i të dhënave të ekskretimit urinar mund të jetë i dobishëm në përcaktimin e barit. Gjithashtu arsytimi duhet të jepet kur të dhënat përdoren për të vlerësuar shkallën e përthithjes. Pikat e marrjes të mostrave duhen të zgjidhen në mënyrë që profilet e ekskretimit urinar të përcaktohen në mënyrë të përshtatshme për të vlerësuar saktë parametrat përkatës. Ekskretimi i barit dhe i metabolitit në urinë përcaktohet me një kinetikë jo-lineare. Parametrat që do të vlerësohen janë:

- $(Duc)_i$, Du_{∞} të përshtatshme për studimet e ekskretimit urinar
- Karakteristika të tjera të justifikueshme
- Duhet të specifikohet metoda për vlerësimin e AUC.

Në studimet farmakokinetike rekomandohet të jepet një informacion mbi subjektet, periudhat, sekuencat, trajtimet, variabilitetin (varianca) brenda subjektit, ndërmjet subjekteve dhe variancën e përgjithshme.

➤ Studimet farmakodinamike

Në qoftë se përdoren parametra/efekte farmakodinamike si kritere të BE, aplikanti duhet të justifikojë përdorimin e tyre. Përcaktimet e BE të bazuara në këto matje duhet të justifikohen në çdo rast. Për më tepër duhet të paraqiten:

- një marrdhënie dozë-përgjigje
- matje që sigurojnë një profil të përgjigjes farmakodinamike
- një lakore e plotë dozë-efekt duhet të mbetet poshtë përgjigjes maksimale fiziologjike
- të gjitha matjet/metodat farmakodinamike duhet të validohen

➤ Kiraliteti

Matja e enantiomerëve individualë në studimet e BE rekomandohet kur:

- Enantiomerët paraqesin karakteristika farmakokinetike dhe/ose farmakodinamike të ndryshme
- Efikasiteti/siguria është kryesisht e lidhur me enantiomerin minor
- Është e pranishme një përthithje jo-lineare për të paktën një nga enantiomerët

Në raste të tjera rekomandohet matja e racematit duke përdorur një metodë akirale.

i. Periudha e shpëlarjes (wash-out)

Periudha e shpëlarjes përkufizohet si periudha midis dy trajtimeve, për të cilën efekti i trajtimit të parë nuk ka efekt mbartës (carry over) në trajtimin e ardhshëm. Periudha e

shpëlarjes në studimet e kryqëzuara midis administrimeve të produkteve T dhe R duhet të jetë 5 herë më shumë se gjysmëjeta e eliminimit të lëndës vepruese të pandryshuar ose e metabolitëve veprues që do të maten.

1.3.2 Metoda bioanalitike

Pjesa bioanalitike e provave të bioekuivalencës kryhet në përputhje me parimet e zbatueshme të Praktikës së Mirë Laboratorike (GLP-Good Laboratory Practice). Metoda bioanalitike përdoret për të përcaktuar barin dhe/ose metabolitët e tij në lëngjet biologjike. Ajo duhet të jetë e mirëkarakterizuar, e standardizuar, e validuar, e dokumentuar me rezultate të besueshme që mund të interpretohen në mënyrë të kënaqshme. Metoda përmbledh dy faza: fazën parastudimore dhe studimore. Faza parastudimore kryhet para studimit dhe përfshin validimin e metodës në mostrat biologjike të njeriut dhe mostrat biologjike të spikuara. Në fazën studimore, metoda bioanalitike e validuar zbatohet për analizën aktuale të mostrave nga studimi i BD/BE kryesisht për të konfirmuar qëndrueshmërinë, saktësinë dhe përsëritshmërinë.

Validimi i metodës bioanalitike përfshin kryerjen e të gjitha procedurave që tregojnë se një metodë e veçantë e përdorur për matjen sasiore të analitëve në një matriks të dhënë biologjik (p.sh. gjaku, plazma, serumi, ose urina) është e besueshme dhe riprodhueshme për përdorimin e parashikuar. Parametrat themelorë që duhen mbajtur parasysh gjatë zhvillimit dhe validimit të një metode bioanalitike janë saktësia, përsëritshmëria, përzgjedhshmëria, riprodhueshmëria dhe qëndrueshmëria (41). Në qoftëse metoda do të shërbejë për të matur më tepër se një substancë atëhere është e nevojshme që validimi të bëhet veçmas për secilën prej tyre.

Në mënyrë tipike zhvillimi i një metode bioanalitike përfshin përcaktimin e (a) përzgjedhshmërisë, (b) saktësisë, përsëritshmërisë, rikuperimit, (c) kurbën e kalibrimit dhe (d) qëndrueshmërinë e substancës që do të matet në mostrat e spikuara.

a. Përzgjedhshmëria (selektiviteti)

Përzgjedhshmëria përkufizohet si aftësia e një metode analitike për të dalluar dhe përcaktuar analitin e interesit në prani të komponentëve të tjerë në mostër. Ndër lëndët potenciale interferuese përfshihen: komponentët endogjenë të matriksit biologjik, metabolitët, produktet e degradimit, mjekimet shoqëruese dhe ksenobiotikët ekzogjenë.

Përzgjedhshmëria në metodë vlerësohet nga analiza e 6 mostrave blank nga subjekte të ndryshme (gjini apo grupmoshë) për të monitoruar interferencat e mundshme në kohën e mbajtjes të analitit. Gjithashtu përzgjedhshmëria vlerësohet edhe në përqendrimin më të vogël të matshëm. Limiti i pranueshëm për mungesën e interferencave është nën vlerën 20% të kufirit të poshtëm të matjes.

b. Saktësia, përsëritshmëria, rikuperimi (accuracy, precision, recovery)

- Saktësia

Saktësia e një metode analitike përshkruan afërsinë e vlerës së përcaktuar (të marrë nga metoda) me përqendrimin nominal të analitit (të shprehur në përqindje). Saktësia duhet të vlerësohet në mostrat e spikuara me sasi të njohur të analitit, dhe në mostrat e kontrollit të cilësisë (KC). Mostrat e KC spikohen në mënyrë të pavarur nga standardet e kalibrimit, duke përdorur tretësira të përgatitura veçmas. Mostrat e KC analizohen kundrejt kurbës

së kalibrimit dhe përqëndrimet e fituara krahasohen me vlerën nominale. Saktësia vlerësohet për vlerat e mostrave të KC të marra brenda një run-i të vetëm (saktësia brenda ditës) dhe run-eve të ndryshme (saktësia ndërmejt ditëve). Vlerësimi i saktësisë bëhet për çdo ditë pune duke matur nga 5 herë secilin nga 4 përqëndrimet e blanqeve të spikuara të cilat shtrihen brenda diapazonit të lakores së kalibrimit. Saktësia e metodës (RE) shprehet përmes formulës së mëposhtme:

$$RE = \frac{(\text{përqëndrimi mesatar i matur} - \text{përqëndrimi nominal})}{\text{përqëndrimi nominal}} \times 100\%$$

Saktësia raportohet si përqindje e vlerës nominale. Vlerësimi i saktësisë (brenda ditës dhe ndërmjet ditëve) konsiderohet i suksesshëm kur mesatarja e 5 matjeve nuk e kalon 15% të vlerës nominale përjashtoj rastin e kufirit të poshtëm të matjes i cili duhet të jetë brenda 20% të vlerës nominale.

- **Përsëritshmëria**

Përsëritshmëria e metodës analitike përshkruan afërsinë e matjeve të përsëritura individuale të analizit. Në figurën 2 paraqitet diagrama klasike për saktësinë dhe precizionin. Përsëritshmëria mund të shprehet si koeficient i variacionit (CV). Përsëritshmëria duhet të demonstron për kufirit e poshtëm të matjes, kontrollet e cilësisë në përqëndrime të ulët, të mesëm dhe të lartë, brenda një run-i dhe midis run-eve të ndryshme. Për validimin e përsëritshmërisë brenda dhe midis run-it analitik, duhet të ketë një minimum prej 5 mostrash në përqëndrime të njohura të matura në mbi katër nivele (kufiri i poshtëm i matjes, kontrollet e cilësisë në përqëndrime të ulët, të mesëm dhe të lartë). Vlera e koeficientit të variacionit CV (brenda dhe midis run-it analitik) nuk duhet të tejkalojë 15% për mostrat e kontrollit të cilësisë, me përjashtim të kufirit të poshtëm të matjes e cila nuk duhet të kalojë 20%.

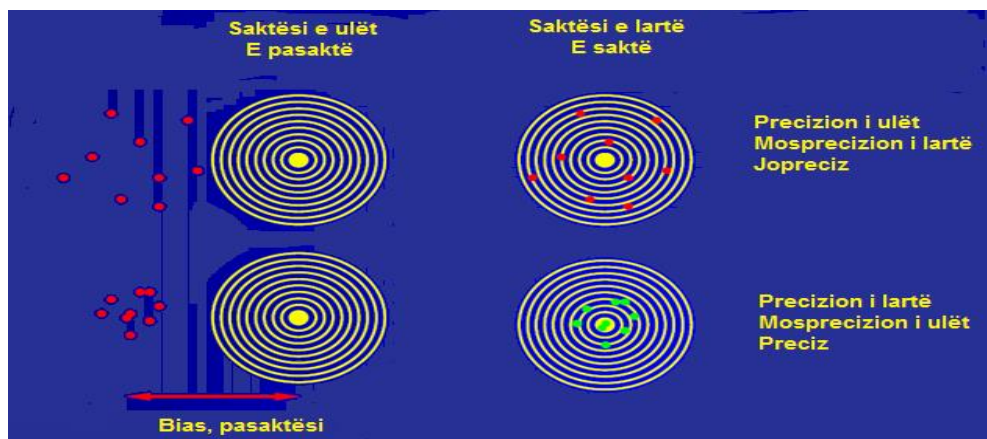


Figura 2. Paraqitje e diagramës klasike për saktësinë dhe precizionin.

- **Rikuperimi**

Rikuperimi i analizit të interesit nënkupton efikasitetin e procesit të ekstraktimit të analizit nga matriksi biologjik. Rikuperimi i analizit matet në tre përqëndrime të mostrave të KC (të ulët, mesatar, të lartë) duke krahasuar përgjigjen e detektorit pas procedurës së ekstraktimit nga matriksi biologjik të një përqëndrimi të njohur dhe përgjigjen e detektorit për të njëjtin përqëndrim të standardit të referencës, i cili konsiderohet 100%.

Rikuperimi i analitit nuk ka nevojë të jetë 100%, por duhet që ky proces të jetë i qëndrueshëm, i përsëritshëm dhe i riprodhueshëm.

c. Kurba e kalibrimit

Kurba e kalibrimit shpreh vartësinë ndërmjet përgjigjes së instrumentit dhe përqëndrimeve të njohura të analitit të interesit. Për çdo analizë që do të matet duhet të krijohet një kurbë kalibrimi. Kurba e kalibrimit duhet të ndërtohet duke përdorur të njëjtin matriks biologjik me atë ku ndodhet analiti i interesit, duke e spikuar me sasi (përqëndrime) të njohura të analitit.

Kurba e kalibrimit ndërtohet duke përdorur matriks (mostër) blank, mostër me përqëndrim zero (spikuar vetëm me standard të brendshëm) dhe 6-8 mostra të spikuara me përqëndrime të cilat mbulojnë të gjithë diapazonin e vlerave të pritura, përfshi edhe përqëndrimin më të vogël të matshëm. Për ndërtimin e kurbave të kalibrimit përdoren gjithmonë mostra të spikuara të freskëta me përqëndrime të njohura.

Eksperimentet e validimit të metodës përfshijnë minimalisht 6 run-e analitike të kryera përgjatë ditëve të ndryshme, më së paku katër përqëndrime (përfshirë kufirin e poshtëm të matjes, përqëndrimin e ulët, mesatar dhe të lartë) të analizuar në dublikatë për çdo run analitik.

➤ Kufiri i poshtëm i matjes (përqëndrimi më i vogël i matshëm)

Kufiri i poshtëm i matjes është përqëndrimi më i ulët i analitit në një mostër, i cili mund të përcaktohet besueshmërisht brenda një saktësie dhe precizioni të pranueshëm. Ai mund të konsiderohet dhe vlera më e ulët e kalibrimit. Përgjigja që jep instrumenti ndaj përqëndrimit më të vogël të matshëm duhet të jetë 5 herë më e madhe se përgjigja që jep matriksi blank. Përgjigja duhet të jetë e identifikueshme, e dallueshme e riprodhueshme, me një përsëritshmëri <20% dhe me një saktësi 80-120%.

Për përcaktimin e kufirit të poshtëm të matjes si sinjal zbulimi përcaktohet vlera e raportit sinjal/zhurmë 10/1. Sinjalet e matura të mostrave me përqëndrime të ulëta të njohura krahasohen me vlerën e sinjalit (zhurmën) e blankut. Nga analizimi i këtyre vlerave përcaktohet vlera më e ulët që mund të matet në mënyrë të besueshme. Kufiri i poshtëm i matjes llogaritet sipas formulës $KPM=10 SD/S$, ku SD është deviacioni rezidual standard i vijës së regresionit dhe S është pjerrësia e vijës.

➤ Kufiri i sipërm i matjes

Standardi më i lartë do të përcaktojë vlerën e sipërme të matjes të analitit. Piku i analitit duhet të jetë i riprodhueshëm dhe përqëndrimi i llogaritur duhet të ketë një përsëritshmëri < 15% dhe një saktësi < 15% të përqëndrimit nominal.

➤ Kurba e kalibrimit/varësia përqëndrim-përgjigje aparati

Për varësinë përqëndrim-përgjigje e aparatit u përdor një model i thjeshtë. Tretësira ujore mëmë e barit hollohet me ujë për të përfutur një varg përqëndrimesh. Me anë të këtyre tretësirave spikohet plazma dhe urina blank. Gjashtë mostra përfshirë dhe kufirin e poshtëm të matjes përdoren për të ndërtuar kurbën e kalibrimit (n=3). Mostrat përgatiten dhe injektohen në të njëjtën ditë. Për çdo kurbë kalibrimi ndërtohet kromatograma me mostrën blank. Për secilin përqëndrim bëhen të paktën tre matje. Matjet për kurbën e

kalibrimit dhe blankun bëhen çdo ditë dhe të shpërndara përgjatë gjithë periudhës së matjeve. Kurba e kalibrimit përftohet nga plotimi i përgjigjes së aparatit ndaj përqëndrimit të barit. Pas ndërtimit të kurbës së kalibrimit llogariten parametrat e saj (pjerrësia, intercepti). Kurba konsiderohet e vlefshme kur vlerat e parashikuara nuk devijojnë më shumë se 15% nga përqëndrimet nominale, përjashtuar vlerën e parashikuar të kufirit të poshtëm të matjes e cila nuk duhet të devijojë më shumë se 20% nga vlera e matur. Duke qënë se për secilin përqëndrim bëhen 3 matje, kurba konsiderohet e vlefshme kur të paktën 2 nga matjet plotësojnë kriteret e mësipërme.

➤ **Mostrat e kontrollit të cilësisë**

Gjatë seancës analitike përfshihen tre kontrole cilësie në triplikatë në vlerë të ulët, mesatare dhe të lartë. Së paku 67% e rezultateve të përqëndrimeve të KC duhet të jenë brenda 15% të vlerave teorike respektive. Së paku 50% e KC në çdo nivel duhet të jetë brenda 15% të përqëndrimeve të tyre nominale. Standardet e kurbës së kalibrimit dhe KC përgatiten nga tretësirat e veçanta pas hollimit të tretësirës mëmë të barit. Shpërndarja e mostrave të standardeve të kalibrimit dhe të kontrollit të cilësisë duhet bërë në mënyrë të tillë që të zbulohet devijimi eventual gjatë seancës analitike.

d. Qëndrueshmëria

Provat e qëndrueshmërisë të analitit janë dizenuar për të mbuluar kushtet e pritshme në lidhje me mbajtjen e mostrave klinike. Qëndrueshmëria e barit studiohet në mostrat e trajtuara dhe të patrajtuara. Procedurat e qëndrueshmërisë duhet të vlerësojnë qëndrueshmërinë e analitit për të cilën jemi të interesuar në kushtet e marrjes së kampionit dhe ruajtjes afatgjatë të tij (sipas kushteve të specifikuara), në kushtet e përdorimit të tij në procedurën analitike (qëndrueshmëria në temperaturën e dhomës), si dhe qëndrueshmëria në kushtet e ngrirjes dhe shkrijës së matriksit biologjik. Përqëndrimet mesatare të mostrave të spikuara me barin e interesit për analizën e qëndrueshmërisë krahasohen me përqëndrimin teorik.

• **Cikli i trefishtë i ngrirje-shkrijës**

Tre alikuota me tre përqëndrime të ndryshme (KC) mbahen 24 orë në temperaturë dhome (shkrijja) dhe më pas ringrijnë për 24 orë të tjera. Ky cikël përsëritet tre herë dhe më pas analizohet përmbajtja e barit në lëngun biologjik.

• **Ruajtja afatshkurtër (temperaturë dhome)**

Tre alikuota me tre përqëndrime të ndryshme (KC) shkrijnë në temperature dhome për 4-24 orë dhe më pas analizohen. Njëkohësisht analizohen dhe mostrat e ruajtura 48 orë në -20°C.

• **Ruajtja afatgjatë**

Qëndrueshmëria afatgjatë e tretësirave analizohet për 30 ditë në -20°C.

• **Qëndrueshmëria e tretësirës mëmë**

Qëndrueshmëria e tretësirës mëmë, përfshi edhe atë të standardit të brendshëm, duhet të vlerësohet në kushtet e temperaturës së dhomës për të paktën 6 orë. Në fund të procesit analitik duhet të krahasohet përgjigja e instrumentit si për tretësirën mëmë të përdorur

ashtu edhe për tretësirës me të njëjtin përqëndrim të përgatitur rishtas.

1.3.3 Zgjedhja e analitit(ëve) dhe/ose metabolitit(ëve)

Zbatimi i metodës së validuar presupozon që analiti monitorohet për të dëshmuar për BE. Rekomandimet për matjen e lëndës vepruese dhe/ose metabolitëve në matriksin biologjik varen nga kontributi i tyre.

Në parim, vlerësimi i BE bazohet në matjen e përqëndrimit të analitit të interesit (lënda vepruese), i cili është përgjithësisht analiti më i përshtatshëm për t'u monitoruar. Arsyeja është se C_{max} i lëndës vepruese është më i ndjeshëm për të zbuluar diferencat midis formulimeve në shkallën e përthithjes krahasuar me C_{max} e metabolitit.

Matjet e metabolitit aktiv ose joaktiv mund të jenë prioritare kur:

- përqëndrimi i lëndës vepruese është shumë i ulët për tu matur në lëngun biologjik.
- ka vështirësi me metodën analitike
- komponenti kryesor është i paqëndrueshëm në matriksin biologjik
- gjysmëjeta e komponentit kryesor është shumë e shkurtër, për rrjedhojë rritet variabiliteti sinjifikativ
- analizohen promedikamentet
- metaboliti është i lidhur me efikasitetin terapeutik më shumë sesa lënda vepruese
- si lënda vepruese dhe metaboliti(ët) janë përgjegjës për efektin terapeutik (42).

Aplikuesi duhet të justifikojë mosmatjen e komponentit kryesor dhe përcaktimet e BE të bazuara në metabolitë duhet të justifikohen në çdo rast.

1.3.4 Transformimi i të dhënave

Përpara analizës statistikore rekomandohet transformimi logaritmik i parametrave të ekspozimit. Transformimi logaritmik ul variabilitetin (variancën) dhe siguron një shpërndarje normale (simetrike) të vlerave. Në shumë raste studimet e bioekuivalencës kryhen me dozë të vetme, sipas modelit të kryqëzuar. Krahasimi i parametrave në këto studime bëhet duke vlerësuar kriterin e bioekuivalencës mesatare. Transformimi i vlerave të parametrave duhet të bëhet përpara përpunimit statistikor. Transformimi mund të bëhet në logaritmat natyralë ose në ata me bazë 10.

1.3.5 Llogaritja e parametrave farmakokinetikë

Parametrat primarë dhe më të rëndësishëm janë përqëndrimi maksimal plazmatik (C_{max}) dhe sipërfaqja nën lakore (AUC) që tregon varësinë e përqëndrimit ndaj kohës. Këto parametra konsiderohen thelbësore sepse janë matës të ritmit dhe shkallës të përthithjes së barit në vendin e veprimit. Së dyti, AUC dhe C_{max} lidhen me efikasitetin dhe toksicitetin e barnave dhe, në këtë mënyrë, ata matin respektivisht ekspozimin e përgjithshëm dhe maksimal të barit (43). Të gjitha juridiksionet përdorin analizën jokompartimentale për të llogaritur parametrat FK. Parametrat e tjerë FK dhe llogaritja e tyre janë paraqitur si më poshtë:

- a) Sipërfaqja nën lakore – AUC

Pas marrjes të një doze të vetme, AUC mund të përcaktohet duke zbatuar rregullin trapezoidal deri në matjen e fundit (AUC_{0-t}) dhe ekstrapolohet deri në kohën infinit ($AUC_{0-\infty}$).

AUC nga ora t deri në infinit llogaritet sipas formulës $AUC_{t-\infty} = C/\lambda$.

AUC nga koha 0 deri në infinit llogaritet sipas formulës $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + AUC_{t-\infty}$.

λ është konstantja e pjesës terminale të eliminimit.

Fraksioni i AUC së ekstrapoluar : $rAUC = (AUC_{t-\infty} / AUC_{0-\infty})$

b) Përqëndrimi maksimal – C_{max}

Përqëndrimi maksimal për përqëndrimet plazmatike të produkteve për secilin subjekt përcaktohen nëpërmjet ekzaminimit vizual të të dhënave.

c) Koha e arritjes së përqëndrimit maksimal – T_{max}

T_{max} do të konsiderohet koha kur është arritur C_{max} .

d) Sasia e përgjithshme kumulative e barit të ekskretuar - Du_{∞}

Sasia kumulative e barit së ekskretuar (Du_c) përcaktohet duke mbledhur sasinë e barit të ekskretuar në çdo interval kohor me sasinë e barit të ekskretuar në intervalet kohore të mëparshme. Shuma e përgjithshme e barit e përftuar nga urina pas gjithë periudhës të ekskretimit është shënuar me simbolin Du_{∞} .

e) Shkalla maksimale e ekskretimit të barit - $[(dDu/dt)_{max}]$

Shkalla e ekskretimit urinar të barit (dDu/dt) nuk mund të përcaktohet eksperimentalisht për çdo çast të dhënë. Vlera mesatare e shkallës së ekskretimit urinar llogaritet për çdo periudhë të mbledhjes. Vlerat mesatare të dDu/dt transformohen logaritmisht (\ln) dhe plotohen kundrejt kohës së mesit të periudhës së mbledhjes (tm).

f) Fraksioni i dozës të përthithur – F

Kur i gjithë bari është ekskretuar ($t = \infty$), fraksioni i dozës së përthithur pas një doze të vetme të marrë nga goja, jepet nga ekuacioni: $F = k \cdot Du_{\infty} / ke D_0$, ku F është fraksioni i dozës së përthithur; k është konstantja e eliminimit; ke është konstantja e ekskretimit renal; Du_{∞} është sasia e përgjithshme e barit e përftuar pas ekskretimit dhe D_0 është doza e barit. Megjithatë, kur eliminimi i barit kryhet zakonisht dhe tërësisht nga ekskretimi i veshkave, $ke=k$ dhe fraksioni i dozës të përthithur gjendet sipas formulës: $F = Du_{\infty} / D_0$

g) Konstantja e eliminimit – K_{el} , λ

Konstantja e pjesës terminale të eliminimit λ llogaritet për secilin formulim dhe subjekt nëpërmjet regresionit log-linear të porcionit linear të përqëndrimeve të log-transformuara paraprakisht përkundrejt kohëve respektive. Algoritmi i përlllogaritjes së λ fillon me tre pikat e fundit të përqëndrimeve me kusht që $C(t) > LP$ (limiti i përcaktimit) dhe rritet me nga një përqëndrim respektivisht deri sa të arrihet C_{max} . Konstante e pjesës terminale të eliminimit λ do të konsiderohet koeficienti i pjerrësisë së drejtëzës që ka koeficientin më të madh të korrelimit (në vlerë absolute) dhe me kusht që ky koeficient të jetë sinjifikativisht i ndryshëm nga 0 ($p < 0.05$).

h) Gjysmëjeta e eliminimit – $t_{1/2}$

Gjysmëjeta e pjesës terminale të eliminimit llogaritet sipas formulës: $t_{1/2} = \ln(2)/\lambda$

1.3.6 Analiza statistikore

Analiza statistikore duhet të bazohet në parametrat FK jo-kompartimentale (AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ dhe C_{max} që derivojnë nga lakorja përqëndrim-kohë). FDA në udhëzuesin e saj të fundit, Janar të 2001, deklaroi tre forma të BE: bioekuivalencën mesatare, të popullatës dhe individuale.

Bioekuivalenca mesatare specifikon se dy barna konsiderohen bioekuivalente kur intervali me 90% konfidencë i raportit T/R është brenda kufirit 80-125%, për të dhënat e transformuara logaritmisht. Rezultati shprehet si bioekuivalencë mesatare dhe krahason vlerat mesatare të BD të T dhe R. Përcaktimi i bioekuivalencës mesatare bazohet vetëm në krahasimin e mesatareve të popullatës për matjet FK të përzgjedhura dhe jo në variancat e tyre (variancë ndërindividuale). Bioekuivalenca mesatare paraqet kufizime për barnat me variabilitet të lartë dhe me dritare të ngushtë terapeutike. Studimet e modeleve me replikatë përdoren për vlerësimin e barnave me variabilitet të lartë. Për barnat specifike, kur është nevoja për matje më të sakta të BD rekomandohen format alternative të BE si bioekuivalenca e popullatës dhe ajo individuale (44).

Për të demonstruar BE mesatare për të dhënat e patransformuara duhet që intervali me 90% konfidencë i raportit të mesatareve gjeometrike të AUC dhe C_{max} për T dhe R të jetë brenda intervalit 80% - 125%.

Nëse mbahet risku i disa pacientëve të veçantë në 5%, risku i gjithë popullatës të pacientëve (<80% dhe >125% është $2 \times \alpha$ (10%). Kjo është arsyeja që intervali me 90% konfidencë (CI) vjen nga formula $(CI=1- 2\alpha)$. Metodatat statistikore të BE mesatare që përdoren së fundmi janë procedura e dy testeve të njëanshëm sipas Schuirmann (TOST), ose derivimi i një intervali konfidence $(1-2\alpha) \times 100\%$ parametrik ose joparametrik për raportin (diferencën) midis mesatareve të variablave FK të produkteve T dhe R (45). Alfa është vendosur 5% në rastin parametrik, për intervalin e shkurtër me 90% konfidencë të bazuar në analizën e variancës ose, në rastin joparametrik, në intervalet me 90% konfidencë (46).

1.3.6.1 Procedura TOST

Në 1987, Schuirmann propozoi procedurën e dy testeve të njëanshëm për BE. Kjo procedurë konsiston në dekompozimin e hipotezave të intervalit H_0 dhe H_1 në dy grupe hipotezash të njëanshme:

$$H_{01}: \mu_T - \mu_R \leq -\delta$$

$$H_{11}: \mu_T - \mu_R > -\delta$$

dhe

$$H_{02}: \mu_T - \mu_R \geq +\delta$$

$$H_{12}: \mu_T - \mu_R < +\delta$$

Hypotezat zero (H_{01} dhe H_{02}) të BE do të hidhen poshtë (p.sh., formulimet test dhe referencë do të rezultojnë bioekuivalente ose μ_T dhe μ_R janë ekuivalente për një studim të balancuar) në qoftë se:

$$t_1 = \frac{\mu_T - \mu_R - (-\delta)}{s \cdot \sqrt{2/n}} \geq t_{1-\alpha(v)}$$

$$t_2 = \frac{\delta - (\mu_T - \mu_R)}{s \cdot \sqrt{2/n}} \geq t_{1-\alpha(v)}$$

Ku S është rrënja katrore e katrorit të gabimit mesatar nga modeli i kryqëzuar ANOVA, n është numri i subjekteve për periudhë, $t_{1-\alpha(v)}$ është pika që izolon probabilitetin α në anën e sipërmet të shpërndarjes t me v shkallë lirie, ku v është numri i shkallëve të lirisë që shoqëron katrorin e gabimit mesatar.

Kjo procedurë është identike me atë që deklaron ekuivalencën vetëm në qoftë se intervali me $(1-2\alpha)$ konfidencë i $\mu_T - \mu_R$ përfshihet plotësisht në intervalin e ekuivalencës $[-\delta, +\delta]$. (47)

1.3.6.2 Intervali i konfidencës

Intervalet e sipërm dhe të poshtëm të konfidencës $(1-2\alpha) \times 100\%$ gjenden në formulat e bazuara në shpërndarjen t-Student. Një analizë për hipotezën zero të barazisë të dy formulimeve që derivon nga një model i kryqëzuar standard 2×2 , tregon që metoda e intervalit të konfidencës është e përshtatshme për të vlerësuar BE. Bazuar në këtë përjasje, Westlake sugjeroi si më poshtë për një vendimmarrje:

Nëse intervali i konfidencës $(1-2\alpha) \times 100\%$ për diferencën ($\mu_T - \mu_R$) ose raportin (μ_T/μ_R) është brenda limiteve të pranimit siç rekomandohet nga agjensitë rregullatore, atëherë pranohet formulimi test (nëse formulimi T është ekuivalent me R), në të kundërt do të hidhet poshtë.

Për intervalin me 90% konfidencë të raportit (μ_T/μ_R) janë propozuar disa analiza që përmbledhin:

- Intervali klasik i konfidencës (intervali i shkurtër i konfidencës).
- Analiza e intervalit simetrik të konfidencës sipas Westlake
- Intervali i konfidencës për ($\mu_T - \mu_R$) i bazuar në teoremën Fieller.
- Regioni lidhës i konfidencës sipas Chow dhe Shoa (μ_T, μ_R)

a) Intervali klasik i konfidencës (intervali i shkurtër i konfidencës)

FDA sugjeron përdorimin e intervalit me $(1-2\alpha) \times 100\%$ konfidencë, si metodën më të mirë për të vlerësuar BE. Analiza e intervalit të konfidencës duhet të zbatohet për parametrat individuale të interesit (p.sh., AUC dhe C_{max}). Për të patur një model me

variancë homogjene rekomandohet transformimi logaritmik i të dhënave. Metodën e paraqitura më sipër mund të zbatohen direkt (48). FDA rekomandon transformimin logaritmik të të dhënave përpara studimit të BE. BE duhet të vlerësohet nëse intervali me 90% konfidencë për $(\mu_T - \mu_R)$ është brenda intervalit (80% - 125%). Duhet të kihet parasysh se $[\log 1.25 = -\log 0.8]$, i cili është $0.231 = -(-0.231)$. E shprehur me fjalë të tjera, limiti i BE për të dhënat e transformuara logaritmisht është simetrik rreth 0.

Intervalet e poshtme dhe të sipërme me $(1 - 2\alpha) \times 100\%$ konfidencë gjenden nga formulat e bazuara në shpërndarje t-Student. Të dhënat e transformuara logaritmisht duhet të transformohen sërish për të patur shkallën origjinale të matjes. Mesatarja e ri-transformimit të të dhënave quhet ndryshe mesatarja gjeometrike.

Studimet e BE matin dhe krahasojnë statistikiisht AUC, Cmax dhe Tmax të formulimeve. Në rastin e AUC dhe Cmax, rekomandohet që të dhënat të transformohen logaritmisht përpara analizës statistikore.

1.3.6.3 Metodën e testimit të hipotezës

Vlerësimi i BE bazohet në krahasimin e profileve të BD midis trajtimeve. Schuirmann në 1987, ishte i pari që prezantoi konceptin e hipotezës të intervalit për vlerësimin e BE mesatare, i bazuar në dy teste të njëanshëm (TOST). Westlake në 1972, vuri në dukje se një diferencë statistikiisht e rëndësishme në krahasimin e BD midis barnave nuk do të thotë se ka një diferencë klinikiisht sinjifikante midis barnave. Hipotezat statistikiore të intervalit të konfidencës me të dhënat më poshtë tregojnë bioekuivalencën mesatare nga hedhja poshtë e hipotezës zero të bioinekuivalencës mesatare. Hipotezat e intervalit për të dhënat e patransformuara mund të formulohen si më poshtë:

$H_0: \mu_T - \mu_R \leq \theta_L$ ose $\mu_T - \mu_R \geq \theta_U \leftrightarrow$ **produktet janë bioinekuivalente**

$H_1: \theta_L < \mu_T - \mu_R < \theta_U \leftrightarrow$ **produktet janë bioekuivalente**

Ose ndryshe:

$H_{01}: \mu_T - \mu_R \leq \theta_L$

$H_{11}: \mu_T - \mu_R > \theta_L$

dhe

$H_{02}: \mu_T - \mu_R \geq \theta_U$

$H_{12}: \mu_T - \mu_R < \theta_U$

Seti i parë i hipotezave verifikon që BD i formulimit test nuk është shumë i ulët, ndërsa seti i dytë i hipotezave verifikon që BD i formulimit test nuk është shumë i lartë (49).

Testet multiplikative të hipotezës pas transformimit logaritmik të të dhënave e paraqesin hipotezën si më poshtë:

$$\mathbf{H}_0: \mu_T / \mu_R \leq \delta_L \text{ ose } \mu_T / \mu_R \geq \delta_U \quad \text{vs.} \quad \mathbf{H}_1: \delta_L < \mu_T / \mu_R < \delta_U$$

Pas ln-transformimit kemi:

$$H_0: \ln\mu_T - \ln\mu_R \leq \ln\delta_L \text{ ose } \ln\mu_T - \ln\mu_R \geq \ln\delta_U$$

$$H_1: \ln\delta_L < \ln\mu_T - \ln\mu_R < \delta_U$$

ku μ_T dhe μ_R janë respektivisht mesatarja e trajtimeve T dhe R.

Kur popullata ka një shpërndarje normale logaritmike, θ konsiderohet raporti dhe të dhënat analizohen pas transformimit logaritmik. Hypoteza e raportit të transformimit logaritmik shdërrohet në hipotezë diference si më poshtë:

$$\log\theta = \log \theta_T / \log \theta_R = \log \theta_T - \log \theta_R$$

Për të mbajtur integritetin, limitet e BE konvertohen në vlera logaritmike kur ka raport. Për shembull, kur limitet e BE janë 0.8 dhe 1.25, vlera e $\log 0.8 = -0.223$ dhe vlera e $\log 1.25 = 0.223$ përdoren si limite të poshtme dhe të sipërme të BE, respektivisht për qëllimin e analizës.

1.3.6.4 Fuqia e studimit dhe madhësia e kampionit

Gjatë fazës së studimit të BE, klinicisti dhe statisticioni janë në gjendje tu përgjigjen pyetjeve të mëposhtme. Sa subjekte nevojiten për të patur një fuqi studimi të dëshiruar (zakonisht 80%) për të treguar BE midis dy formulimeve? Si do veprohet kur ka një numër të vogël subjektsh për arsye buxheti apo konsiderata mjekësore? Për tu përgjigjur këtyre pyetjeve, realizohet një përjasje statistikore për të përcaktuar madhësinë e kampionit. Mënyra më e zakonshme e përdorur është llogaritja e fuqisë para studimit që bazohet në vlerësimin e variabilitetit brenda subjektit nga studimi paraardhës (50).

Sipas udhëzimit të Komitetit për Produktet Mjekësore (51), numri i subjekteve përcaktohet nga varianca e gabimit (e lidhur me karakteristikën kryesore të studimit), niveli i sinjifikancës të dëshiruar, devijimi nga produkti referencë dhe fuqia e kërkuar. Numri i subjekteve duhet të llogaritet me anë të metodave të përshtatshme dhe nuk duhet të jetë më pak se 12. Ekuacionet për llogaritjen e madhësisë të kampionit për dy testet e njëanshme 't', nga Liu dhe Chow (52) për modelin aditiv (të dhëna të patransformuara), janë dhënë më poshtë (kurbat e fuqisë janë simetrike, formulat janë dhënë vetëm për $\nabla \geq 0$):

$$n \geq \left[t_{\sigma, 2n-2} + t_{\beta/2, 2n-2} \right]^2 [CV / \delta]^2 \quad \text{for } \nabla = 0$$

$$n \geq \left[t_{\sigma, 2n-2} + t_{\beta, 2n-2} \right]^2 [CV / (\delta - \nabla)]^2 \quad \text{for } \nabla > 0$$

ku n = numri i subjekteve për sekuençë; CV = koeficienti i variacionit δ = limiti i bioekuivalencës

$$\nabla = \frac{\mu_T - \mu_R}{\mu_R} \cdot 100$$

$$CV = \frac{\sqrt{MSE}}{\mu_R} \cdot 100$$

Ky ekuacion mund të interpretohet si më poshtë:

(i) ∇ , diferenca minimale midis mesatareve të popullatës: të zbulohet një diferencë shumë e vogël kërkohet një kampion i madh ;

(ii) CV , variancë e popullatës: nëse variabiliteti brenda kampionit është i madh, atëherë kërkohet një kampion më i madh për të zbuluar diferencat midis mesatareve;

(iii) niveli i sinjifikancës α : nëse testi kryhet në një vlerë të vogël α , atëherë vlera kritike $t_{\alpha, v}$ do të jetë e madhe dhe për rrjedhojë do të nevojitet një kampion i madh për të kapur diferencën midis mesatareve.

Llogaritja e madhësisë të kampionit për modelin multiplikativ (të dhëna të transformuara logaritmisht) u siguroa nga Hauschke, i cili dha vlera të n për vlera të ndryshme të % CV dhe μ_T/μ_R (48,53). Për të kryer një studim me 12 subjekte, supozohet se CV është 20%, fuqia e testit është më pak se 80% madje edhe kur $\mu_T/\mu_R=1$ (p.sh., risku i fabrikuesit është më i madh se 20% për produkte të ngjashme). Kjo tregon që madhësia e kampionit prej 12 nuk është e mjaftueshme për të treguar BE edhe nëse produktet janë bioekuivalente. Padyshim, ky është shqetësim i prodhuesit, i cili duhet të marrë në konsideratë kohën dhe burimet.

➤ Gabimet e tipit I dhe II

Gjate testimit të hipotezës ndodhin dy tipe gabimesh. Kur hidhet poshtë hipoteza zero kur ajo është e vërtetë, atëherë ndodh gabimi i tipit I. Kur hipoteza zero është fals dhe nuk hidhet poshtë atëherë bëhet gabimi i tipit II (47,50). Propabiliteti i dy gabimeve përmbledhet më poshtë:

$$\alpha = P(\text{gabimi i tipit I}) = P(\text{hidhet poshtë } H_0 \text{ kur } H_0 \text{ është e vërtetë})$$

$$\beta = P(\text{gabimi i tipit II}) = P(\text{dështon hedhja poshtë e } H_0 \text{ kur } H_0 \text{ është fals})$$

Propabiliteti i gabimit të tipit I, α , quhet nivel sinjifikance, ose risku i pacientit. Propabiliteti i gabimit të tipit II, β , quhet risku i prodhuesit të barit.

➤ Vendosija e hipotezës

Në praktikë, hipoteza zero H_0 dhe hipoteza alternative H_a janë të kundërta dhe vlerësohen për interesa të ndryshme. Në përgjithësi, zgjedhja e hipotezave (H_0 dhe H_a) mund të ketë impakt në parametrin e testuar. Zgjedhja e H_0 bazohet në rëndësinë e gabimit të tipit I. Sipas këtij rregulli, besohet se gabimi i tipit të I është më i rëndësishëm dhe serioz sesa gabimi i tipit II. Ne mund të kontrollojmë mundësinë e ndodhisë të gabimit të tipit I në një limit të tolerueshëm. Në rastin e bioekuivalencës-bioinekuivalencës, gjatë vlerësimit të BE kur krahasohen dy formulime në BD mesatare ndodhin dy gabime:

- i. Ne deklarojmë bioekuivalencë kur në fakt formulimi test nuk është bioekuivalent me formulimin referencë.
- ii. Ne deklarojmë bioinekuivalencë kur në fakt formulimi test është bioekuivalent me formulimin referencë.

Për të kontrolluar mundësinë (shansin) e ndodhjes të gabimit të tipit I, FDA konsideron (i) më të rëndësishëm sesa (ii) dhe zgjedh hipotezat vijuese:

H_0 : Bioinekuivalencë

H_1 : Bioekuivalencë

1.3.7 Vendosja dhe aplikimi i kriterëve të bioekuivalencës

Parametrat farmakokinetikë që do të testohen, procedura për testim dhe limitet e pranueshme, duhet të shprehen paraprakisht në protokoll. Të dhënat duhet të raportohen dhe duhet të jepet shpjegimi i duhur.

a) Studimet me dozë të vetme

Në studimet me dozë të vetme për të përcaktuar bioekuivalencën mesatare, kriteret e pranimi për parametrat kryesorë të BE janë si më poshtë:

- Raporti i AUCt

Intervali me 90% konfidencë i raportit të mesatareve gjeometrike të AUCt për testin dhe referencën duhet të jetë 0,80 - 1,25 (80-125%). Për barnat me variabilitet të lartë mund të përdoren metodat alternative (54, 55).

- Raporti i Cmax

Intervali me 90% konfidencë i raportit të mesatareve gjeometrike të Cmax për testin dhe referencën duhet të jetë 75 - 133%, i llogaritur duke përdorur të dhënat transformuara logaritmisht. Për barnat me dritare terapeutike të ngushtë, intervali i pranimi është 80 - 125%. Në raste të caktuara, psh për barnat me variabilitet të lartë, mund të jetë i pranueshëm një interval i gjerë, por duhet të thuhet apriori dhe të justifikohet në protokoll (55,56).

- Raporti i $[D_{uc}, D_{u\infty}$ dhe $(dD_{u}/dt)_{max}$

Intervali me 90% konfidencë i raportit të mesatareve gjeometrike të parametrave për testin dhe referencën duhet të jetë 0,80-1,25 (80 - 125%).

b) Studimet në gjendjen e qëndrueshme

- Format farmaceutike me çlirim të menjëhershëm

Kriteret e pranimit janë të njëjta me studimet me dozë të vetme por përdoret AUC_{∞} në vend të AUC_t .

- Format farmaceutike me çlirim të kontrolluar/modifikuar

Kriteret e pranimit janë si më poshtë:

I. intervali me 90% konfidencë i raportit të mesatareve gjeometrike të AUC_{∞} për testin dhe referencën duhet të jetë brenda intervalit të pranimit të 0,80-1,25 (80 – 125 %).

II. intervali me 90% konfidencë i raportit të mesatareve gjeometrike të $C_{max,ss}$ (përqëndrimi maksimal në gjendjen e qëndrueshme) dhe $C_{min,ss}$ (përqëndrimi minimal në gjendjen e qëndrueshme) për testin dhe referencën duhet të jetë brenda intervalit të pranimit 0,75-1,33 (75 – 133 %), i llogaritur me të dhëna të transformuara logaritmisht.

III. intervali me 90% konfidencë i raportit të mesatareve gjeometrike të % Swing dhe % PTF (fluktuacioni maksimal) për testin dhe referencën duhet të jetë brenda intervalit të pranimit 0,80-1,25 (80 – 125 %), i llogaritur me të dhëna të transformuara logaritmisht.

1.4 SISTEMI I KLASIFIKIMIT BIOFARMACEUTIK (SKB) / ”BIO”EKUIVALENCA IN VITRO

Kërkesat rregullatore të barnave kanë pësuar ndryshime të vazhdueshme. Futja e sistemit të klasifikimit biofarmaceutik në udhëzimet e Administratës të Barnave dhe Ushqimeve (Food and Drug Administration) bëri një hap të madh përpara në klasifikimin e vetive biofarmaceutike të barnave. Përthithja e barit nga një formë farmaceutike e ngurtë pas përdorimit nga goja varet nga çlirimi i barit, shpejtësia e tretjes ose solubilizimi i barit në kushte fiziologjike, dhe përshkueshmëria nëpër traktin gastrointestinal. Për shkak të natyrës kritike të dy hapave të parë, prova e disolucionit mund të jetë e rëndësishme për parashikimin e performancës “in vivo”.

Sistemi i klasifikimit biofarmaceutik (SKB) është një kornizë shkencore që i ndan lëndët vepruese në katër klasa bazuar në tretshmërinë dhe përshkueshmërinë e tyre në zorrë (57). Kur kombinohet me karakteristikat e provës së disolucionit të produktit farmaceutik, SKB merr parasysh dy faktorë kryesorë: tretshmërinë dhe përshkueshmërinë në zorrë, të cilat rregullojnë shpejtësinë dhe shkallën e përthithjes të barnave që merren nga goja nga format farmaceutike të ngurta dhe në fund të fundit, biodisponibilitetin e tij. Për këtë arsye, SKB është mjet themelor në zhvillimin e barnave sidomos atyre që merren nga goja.

Kriteri i Administratës të Barnave dhe Ushqimeve për klasifikimin e tretshmërisë së barit është i bazuar në dozën më të lartë në një produkt me çlirim të menjëhershëm që merren

nga goja. Nga ana tjetër, klasifikimi i përshkueshmërisë bazohet drejtpërdrejt në shkallën e përthithjes intestinale të një lëndë vepruese në njerëz ose në mënyrë të tërthortë në matjet e shpejtësisë të transferimit të masës përgjatë membranës intestinale së njeriut, ose në kafshë, ose në modelet “in vivo” (58). SKB është shfrytëzuar për të vendosur standarde të provës së disolucionit të barit në mënyrë që të zvogëlojë kërkesat e BE. Njohja e karakteristikave të sistemit për një bar në formulim mund të përdoret gjithashtu për të zhvilluar një formë farmaceutike më të optimizuar të bazuar në karakteristikat themelore mekanike (59). SKB mundëson mënjanimin e provës të BE dhe BD in vivo për format farmaceutike të ngurta me çlirim të shpejtë që merren nga goja për komponimet e klasës I dhe III kur ato paraqesin një disolucion të shpejtë ose shumë të shpejtë (60-62). Klasa I përfshin barnat me tretshmëri dhe përshkueshmëri të lartë, kurse, klasa III përfshin barnat me tretshmëri të lartë dhe përshkueshmëri të ulët. Klasa III (ku përfshihet dhe metformina) mund të shmangi provat e BE në qoftë se 85% ose më shumë e barit çlirohet në 15 minuta në të tre vlerat e pH (62,63).

Prova e disolucionit është një provë që përdoret në industrinë farmaceutike për të karakterizuar vetitë e tretjes së lëndës vepruese, çlirimin e saj dhe shpejtësinë e tretjes nga një formulim i caktuar. Barnat që përdoren nga goja, të tilla si tableta ose kapsula, duhet ta shpërndajnë përmbajtjen e tyre në TGI përpara se të ndodhë përthithja e lëndës vepruese. Shpesh shkalla e përthithjes të barit përcaktohet nga shkalla e shpejtësisë së tretjes të tij nga forma farmaceutike. Prandaj, për të arritur nivele të larta në gjak të një bari, është thelbësisht e rëndësishme që shpejtësia e tretjes të barit nga përgatesa farmaceutike të jetë e madhe.

Shpejtësia e tretjes mund të përkufizohet si sasia e barit që kalon në tretësi për njësinë e kohës në kushte standarde të ndërfaqes lëng/trup i ngurtë, temperature dhe përbërje tretësi. Ajo mund të konsiderohet si një reaksion heterogjen në të cilën masa shndërruese rezulton si një efekt neto midis largimit dhe depozitimit të molekulave të lëndës së tretur në një sipërfaqe të ngurtë. Provat e shpejtësisë të tretjes dhe e çlirimit të barit janë prova “in vitro” që matin shpejtësinë dhe shkallën e tretjes ose çlirimin e barit nga një produkt, zakonisht në një mjedis uhor sipas kushteve të caktuara. Këto prova mund të tregojnë efektshmërinë e tretjes “in vivo”, por nuk japin asnjë informacion për përthithjen e barit. Prova e shpejtësisë të tretjes (prova e disolucionit) është një procedurë e rëndësishme e kontrollit të cilësisë që përdoret për të konfirmuar riprodhueshmërinë nga seria në seri dhe për të treguar ndryshueshmërinë tipike në përbërje dhe parametrat e prodhimit. Ndër të tjera, provat matin performancën e produktit “in vitro” kur lidhet me performancën e produktit “in vivo”. Prova duhet të pasqyrojë ndryshimet përkatëse në formulimin e produktit apo në procesin e prodhimit që mund të ndikojnë në performancën e produktit “in vivo”. Provat janë përdorur shpesh për mbikqyerjen e qëndrueshmërisë të produktit dhe kontrollin e procesit të prodhimit. Në këtë rast, prova in vitro dëshmon se produkti do të performojë në mënyrë të përshtatshme gjatë gjithë periudhës së përdorimit. Prova in vitro është një mjet i vlefshëm në zhvillimin e formulimit. Një provë e përshtatshme duhet të reflektojë ndryshimet në formulim, procesin e prodhimit, si dhe karakteristikat fiziko-kimike të barit, të tilla si madhësia e grimcave, polimorfet, dhe sipërfaqja (64). Prova e shpejtësisë së tretjes është një kërkesë madhore për ndryshimet pas miratimit. Pas një ndryshimi të bërë në formulim, prodhuesi duhet të vlerësojë efektin e mundshëm të ndryshimit në barasvlershmëri biologjike, e cila zakonisht përfshin profil me shumë pika të shpejtësisë së tretjes. Nëse është e nevojshme, studimi “in vivo” i BE mund të kryhet

për të vërtetuar provën e disolucionit. Përzgjedhja e përshtatshme e kushteve “in vitro” (sistemi buferik dhe hidrodinamika) që imitojnë kushtet “in vivo” mund të çojë në gjenerimin e suksesshëm të lidhjeve “in vivo”-“in vitro” ose “in vitro”-“in vivo” (65).

Prova e disolucionit duhet të jetë diskriminuese, e aftë të dallojë ndryshime të rëndësishme në përbërje ose në procesin e prodhimit që mund të pritët të ndikojë në performancën “in vivo”. Nëse prova është tepër diskriminuese, ajo mund të tregojë ndryshimet midis serive kur nuk vërehen ndryshime të rëndësishme në BD. Nëse prova ka diskriminim të pamjaftueshëm, atëherë nuk do të vërehen ndryshimet e rëndësishme në formulim dhe/ose në procesin e prodhimit që mund të ndikojnë në performancën *in vivo*.

Prova e disolucionit paraqet rëndësi sepse:

1. Rezultatet nga eksperimentet *in-vitro* të disolucionit mund të përdoren për të shpjeguar diferencat që vërehen në disponibilitet *in-vivo*.
2. Ajo siguron mjetet për të vlerësuar parametrat kritikë si: BD adekuat dhe siguron informacionin e nevojshëm për formuluesin në zhvillimin e formave farmaceutike më të efektshme dhe optimale nga ana terapeutike.
3. Ajo është parashikuese më e ndjeshme dhe më e besueshme e disponibilitet *in-vivo*.
4. Ajo është provë e rëndësishme që siguron cilësinë e produktit.
5. Ajo mund të sigurojë BD e produktit ndërmjet serive që plotësojnë kriteret e shpejtësisë së tretjes.
6. Prova siguron barasvlershmërinë nga seria në seri si *in-vitro* dhe *in-vivo*, por edhe kontrollon formulimet gjatë zhvillimit të produktit për të përfutur në mënyrë optimale produkte të efektshme.
7. Vetitë fiziko-kimike të modelit mund të kuptohen duke imituar mjedisin *in-vivo*.
8. Modele të tilla mund të përdoren për të kontrolluar barnat dhe formulimet e tyre për karakteristikat e tretjes dhe përthithjes.
9. Shërben si një procedurë e kontrollit të cilësisë, pasi janë finalizuar forma e barit dhe formulimin e tij.

1.4.1 Shpejtësia e procesit të tretjes

Vetitë e tretshmërisë të barit dhe shpejtësisë të tretjes të lëndës vepruese nga format farmaceutike kanë një rëndësi themelore në lidhje me BD e produktit. Në përgjithësi, vetëm lënda e tretur (në nivel molekular) është në gjendje të përthithet dhe shpejtësia e tretjes në një masë të madhe ndikon në shpejtësinë e proceseve të transportit dhe shpejtësia e tretjes kufizon shpejtësinë e përthithjes. Procesi përfshin tretjen e formave farmaceutike të ngurta (shih Figurën 3). Modeli i çlirimit të barit karakterizohet nga dy nënprocese: çlirimi i grimcave të barit nga forma farmaceutike dhe tretja e barit nga

grimcat e çliruara. Mendohet se tretja e barit nga sipërfaqja e formëdozës të paprekur është e vogël.

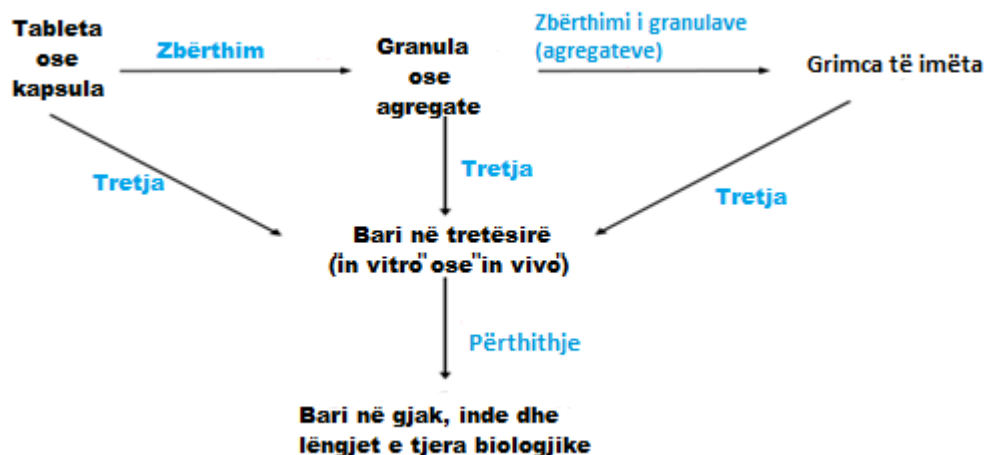


Figura 3. Ilustrim skematik i rolit të shpejtësisë së tretjes në përthithjen e barnave nga format farmaceutike të ngurta.

Zbërthimi është konsideruar një proces i rendit të parë, dhe shpejtësia e tretjes nga grimcat e barit është në përpjestim të drejtë me sipërfaqen e kontaktit midis lëndës së ngurtë dhe tretësit, me koeficientin e shpërhapjes, i cili ndryshon sipas natyrës së lëndës, me diferencën midis përqendrimit të tretësirës së ngopur e përqendrimit të tretësirës në një kohë të caktuar dhe në përpjestim të zhdrejtë me trashësinë e shtresës ku kryhet shpërhapja. Faktorët që ndikojnë në çlirimin e grimcave të barit nga formëdozat përfshijnë formulimin dhe faktorët e procesit. Zbërthimi përfshin efektet e formulimeve dhe ndryshimet e procesit të prodhimit, kurse tretja përfshin efektet e tretshmërisë dhe madhësisë së grimcave. Gjatë studimeve të paraformulimit, mund të ndryshohen karakteristikat e formës së dozimit dhe/ose vetitë fizikokimike të barit. Si rregull i përgjithshëm, nëse një lëndë ka një tretshmëri ujore më pak se 10 mg/ml, tretja është hapi kufizues në procesin e përthithjes të barit.

1.4.2 Parametrat e provës së disolucionit

Një qasje logjike e sistematike duke marrë në konsideratë parimet shkencore dhe rregullatore, duhet të ndiqet gjatë zhvillimit të një metode disolucioni. Gjatë zhvillimit të formulimit përdoren një shumëllojshmëri provash duke përdorur kushte të ndryshme pH-i dhe sisteme buferike (tampon) të ndryshme.

1.4.2.1 Lënda vepruese

Vetitë e lëndës vepruese (klasifikimi i saj në SKB, pKa, qëndrueshmëria, tretshmëria si një funksion i përqendrimit pH/lëndë tensiovepruese, madhësisë së grimcave, dhe polimorfizmit) duhet të vlerësohen gjatë zhvillimit të metodës.

1.4.2.2 Forma farmaceutike

Vetitë kryesore të njësisë të dozimit, duke përfshirë llojin e formës farmaceutike (tabletë, kapsulë), fuqinë e dozimit, mekanizmin e dëshiruar të çlirimit, informacione specifike të formulimit (eksipientët, lyrësuesit, zbërthyesit, përmbajtja e lagështisë, sipërfaqja e veshjes) dhe çështjet e njohura të qëndrueshmërisë, qëndresës mekanike janë faktorë të rëndësishëm që duhet të merren në konsideratë. Variablat e prodhimit të tilla si koha e lyrësimit, forca e tabletimit, radha e shtimit të lëndës vepruese/eksipientit, parametrat e tharjes dhe të veshjes janë të rëndësishme për të kuptuar ndryshimet e çlirimit të lëndës vepruese midis formulimeve.

1.4.2.3 Aparati

Për format farmaceutike të ngurta që merren nga goja përdoren me shpesh aparati USP 1 (me shportë rrotulluese) dhe aparati USP 2 (me lopatë) (shih figurën 4). Zgjedhja e tij bëhet nga lehtësia e përdorimit, disponueshmëria e aparatit dhe e metodave të automatizuara. Tabletat me çlirim të menjëhershëm, të përndryshuar dhe ato me çlirim të zgjatur analizohen zakonisht në banjo klasike me aparatit USP 2. Kapsulat dhe tabletat në përgjithësi analizohen me aparatit USP 1. Teknika të tjera të provës së disolucionit përfshijnë aparate të tjerë farmakopealë dhe jofarmakopealë.



Figura 4. Aparati i disolucionit

Për aparatet USP 1 dhe 2, shpejtësitë rrotulluese të vogla ndikojnë në riprodhueshmërinë e hidrodinamikës, ndërsa shpejtësitë e larta japin turbulenca. Profilet e shpejtësisë së tretjes që tregojnë një shpejtësi tretje të barit shumë të ngadaltë, ose shumë të shpejtë duhet të justifikojnë rritjen apo uljen e shpejtësisë rrotulluese (64).

1.4.2.4 Sistemi buferik

Hapi i parë është vëzhgimi i formulimeve me sistemet buferike ujore në diapazonin e pH 1.2 deri në 6.8 në forcën jonike të rekomanduar në USP. Për lëndët vepruese që shfaqin tretshmëri të ulët në sistemet buferike ujore në të gjithë diapazonin e pH, rekomandohet shtimi i lëndëve tensiovepruese. Në disa raste, 1% lauril sulfat natriumi mund të përdoret në sistemin buferik për barnat e patretshme në ujë. Parapëlqehet një sistem buferik që rezulton në një rritje graduale të çlirimit të barit deri në 100%, sepse ka më shumë gjasa të zbulohen ndryshimet në formulim ose në parametrat e procesit. Gjatë provës të disolucionit vëllimi i tretësirës që merret duhet të zëvendësohet në mënyrë që vëllimi të jetë konstant dhe të lejojë barin të tretet në mënyrë të vazhdueshme. Nëse tretësira e barit bëhet e ngopur, nuk do të ndodhë më tej një tretje neto e barit. Sipas farmakopesë

amerikane, "sasia e sistemit buferik të përdorur nuk duhet të jetë më e vogël se trefishi i sasisë të nevojshme për të formuar një tretësirë të ngopur të lëndës vepruese" (66,67).

1.4.2.5 Analiza

Në intervalet kohore të caktuara, merren dhe analizohen me HPLC ose spektrofotometër UV-Vis alikuota të sistemit buferik të filtruar për përmbajtjen e lëndës vepruese. Paralelisht përgatitet një tretësirë standard me përqëndrim të njëjtë me përqëndrimin teorik, të njehsuar duke iu referuar sasisë së lëndës vepruese në një tabletë. Gjatë zhvillimit të metodës, përdoret më shpesh HPLC. Ajo ka epërsinë të ndajë lëndën vepruese nga interferencat e mundshme të matrisit të formulimit ose sistemit buferik dhe mund të zbulojë shpërbërjen e lëndës vepruese. Për më tepër, variacionet e mëdha në përqëndrimin e mostrës shpesh mund të vendosen duke rregulluar vëllimin e injektimit.

1.4.2.6 Limitet e provës së disolucionit

Qëllimi i limiteve specifike të disolucionit është të sigurojë konsistencën nga seria në seri në një diapazon i cili garanton performancën e pranueshme biofarmaceutike in vivo. Pra kufijtë duhet të përcaktohen në bazë të përvojës së fituar gjatë fazës së zhvillimit të barit veçanërisht në fazën e zhvillimit klinik dhe/ose në studimet e bioekuivalencës. Për formulimet me çlirim të menjëhershëm/konvencionale zakonisht është përcaktuar një limit për të siguruar që shumica e përbërësit aktiv është çliruar brenda periudhës kohore. Përsa i përket zbritjes së limiteve, rekomandohen procedura të ndryshme, në varësi të karakteristikave individuale të shpejtësisë së tretjes (disolucionit). Megjithatë, është e deklaruar qartë, se kategorizimi ka të bëjë vetëm me procesin e verifikimit të specifikeve. Ajo nuk kualifikon ose skualifikon formulimet e barnave të karakterizuara nga një kohë të caktuar prej më shumë se 15 minuta. Në rastin e barnave me çlirim shumë të shpejtë, të dhënat e pikës së vetme të disolucionit gjatë fazës së zhvillimit dhe specifíkimi i një pikë të vetme, i përbërë nga një parametër që përcakton shkallën dhe një parametër që përcakton kohën, gjykohen të mjaftueshme. Një formulim konsiderohet me çlirim shumë të shpejtë, kur të paktën 80% e lëndës aktive, që korrespondon me "Q" = 75%, është tretur në rreth 20-30 minuta (duke përfshirë çdo kohë ku përqëndrimi i barit është zero nga tretja e një tablete të veshur apo kapsule) në kushte të justifikuara. Në këtë rast limitet mund të përcaktohen duke u bazuar në të dhëna *in vitro*, të fituara gjatë fazës së zhvillimit të barit pa nevojën e një studimi krahasues *in vitro-in vivo*. Formulimet me çlirim të menjëhershëm/konvencionale me një kohë të disolucionit prej më shumë se 30 minuta kërkojnë një studim krahasues in vitro-in vivo dhe profile të disolucionit me disa pika (p.sh., 3) të marra gjatë fazës së zhvillimit, që përcaktojnë limitet e një pikë të vetme.

Formulimet me një kohë të disolucionit mbi 45 minuta mund të kërkojnë dy kohë specifike të disolucionit për qëllime të kontrollit të cilësisë.

1.4.2.7 Interpretimi, kriteret e pranimit

Specifikimet e provës të disolucionit janë vendosur zakonisht në bazë të një vlerësimi të të dhënave të profilit të disolucionit. Specifikimet përfshijnë përcaktimin e limiteve, numri i njësive të shqyrtuara dhe kriteret përkatëse të pranimit. Pikat kohore të kësaj

prove duhet të zgjidhen për të karakterizuar në mënyrë të përshtatshme fazat ngjitëse dhe plato të lakores së disolucionit. Farmakopeja amerikane përcakton kërkesat e kësaj prove për shumë produkte, të cilat zbatohen për metodat me kosh dhe lopatë. Sasia e barit të tretur brenda një periudhe të dhënë kohore (Q) është shprehur si një përqindje e përmbajtjes së etiketës. Vlera Q specifikohet në monografi për një bar të kalojnë provën e disolucionit. Në farmakopenë amerikane përshkruhen tre faza (S1, S2 dhe S3) të provës. Fillimisht, provës i nënshtrohen gjashtë tableta ose kapsula. Nëse prova nuk i përmbush kriteret për fazën S1, atëherë përdoren gjashtë tableta më shumë. Prova vazhdon derisa të plotësohen kriteret e disolucionit ose të realizohen të tre fazat (Tabela 1). Për shumë produkte vlera kaluese për Q është caktuar 75% në 45 minuta. Disa produkte kërkojnë një vlerë Q prej 85% në 30 minuta, të tjerët 75% në 60 minuta. Për një produkt të ri, vendosja e specifikimeve të disolucionit kërkon një shqyrtim të plotë të vetitë fizike dhe kimike të barit. Përveç konsideratës që prova e disolucionit duhet të sigurojë BD e qëndrueshëm të produktit, kjo provë duhet të sigurojë variacionet në prodhim dhe analizën e variablave në mënyrë që një produkt të mos refuzohet në mënyrë të papërshtatshme (68). Monografitë e USP paraqesin prova të shumta të disolucionit për produktet xhenerike që janë aprovuar nga FDA si ekuivalentë terapeutikë.

Tabela 1. Kriteret e pranimit sipas USP <711> (produktet me çlirim të menjëhershëm/konvencionale)

Faza	Numri i analizuar	Kriteret e pranimit
S1	6	Çdo njësi nuk është më pak se $Q^* + 5\%$
S2	6	Mesatarja e 12 njësive (S1 + S2) është e barabartë ose më e madhe se Q, dhe asnjë njësi nuk është më e vogël se $Q - 15\%$
S3	12	Mesatarja e 24 njësive (S1 + S2 + S3) është e barabartë ose më e madhe se Q, jo më shumë se 2 njësi janë më të vogla se $Q - 15\%$, dhe asnjë njësi nuk është më e vogël se $Q - 25\%$

*Q është sasia e lëndës vepruese të tretur e specifikuar në monografi e shprehur në përqindjen e përmbajtjes së etiketuar.

1.4.2.8 Profilet e disolucionit

Profili i disolucionit është një paraqitje grafike e çlirimit të lëndës vepruese nga forma farmaceutike në një bufer të caktuar në varësi të kohës.

Profili i disolucionit ka si objektiv:

- të zhvillojë lidhjen in vitro-in vivo, e cila zvogëlon shpenzimet, përshpejton zhvillimin e produktit dhe redukton nevojën për të kryer studime të BD në vullnetarë të shëndetshëm
- të stabilizojë specifikimin përfundimtar të shpejtësisë së tretjes për formëdozat farmakologjike
- të vërtetojë ngjashmërinë e formave farmaceutike, për të cilat përbërja, procesi i prodhimit dhe/ose pajisja mund të ketë ndryshuar brenda kufijve të përcaktuar.

1.4.2.9 Analiza e profileve të disolucionit

Grafiku i disolucionit shprehet si përqindje e lëndës së tretur kundrejt kohës dhe arrin vlerën 100% në infinit (ose në praktikë, në fund të provës). Për të krahasuar profilet e

disolucionit mes dy produkteve farmaceutike përdoren metoda grafike, analiza statistikore, metodat e modelit të varur dhe metoda e modelit të pavarur.

Në metodën grafike realizohet plotimi i grafikut të përqëndrimit të tretësirës (barit) në bufer apo lëngun biologjik ndaj kohës.

Metodat statistikore janë shumë diskriminuese dhe sigurojnë informacionin e detajuar për të dhënat e disolucionit. (69)

Metodat e një modeli të varur përdorin ekuacionet matematikore që përshkruajnë profilin e çlirimit në funksion të disa parametrave që kanë të bëjnë me format farmaceutike. Këto metoda janë të dobishme në fazën e formulim-zhvillimit (70).

Metoda e modelit të pavarur përfshin faktorin e diferencës f_1 , faktorin e ngjashmërisë f_2 (71) dhe indeksin Rescigno (72). Faktori i diferencës, f_1 , tregon përqindjen e gabimit midis dy grafikëve në të gjitha pikat kohore. Faktori i ngjashmërisë, f_2 , përkufizohet si transformimi logaritmik i shumës të katrorëve të gabimeve të llogaritur nga diferenca midis mostrave të testit dhe standardit në të gjitha pikat kohore (73,74). Vlerat f_1 dhe f_2 për produktet xhenerike ndaj referencës llogariten nga mesataret e përqindjes të barit të tretur në çdo pikë kohore duke përdorur ekuacionet e mëposhtme:

$$f_1 = \left| \frac{\sum_{t=1}^n (R_t - T_t)}{\sum_{t=1}^n R_t} \right| * 100$$

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left(1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right)^{-0.5} \times 100 \right\}$$

ku n është numri i pikave kohore të marrjes së mostrës që përdoren për të llogaritur f_2 , R_t është përqindja e barit të tretur nga formulimi referencë në kohën t , dhe T_t është përqindja e barit të tretur nga formulimi test në kohën t .

Sipas Administratës të Barnave dhe Ushqimeve (62) profilet e disolucionit janë të ngjashme në qoftë se vlerat për f_1 janë midis 0-15 dhe vlerat për f_2 janë midis 50-100.

Vlerësimi i ngjashmërisë midis profileve të disolucionit është i bazuar në kushtet e mëposhtme:

- numri minimal i pikave kohore të matjes është tre
- numri i produkteve të testit dhe referencës është 12
- devijimi standard rezidual nuk duhet të jetë më shumë se 20% brenda 15 minutave dhe jo më shumë se 10% në të gjitha pikat e tjera kohore
- vetëm një matje duhet të merret parasysh pasi produkti referencë ka arritur një disolucion prej 85% (ose kur arrihet asimptota) (63).

QËLLIMI DHE OBJEKTIVAT E STUDIMIT

Qëllimi i këtij studimi është vlerësimi i shkëmbyeshmërisë terapeutike të produktit xhenerik të prodhimit të vendit (tabletë metformine 850 mg) me ish-patentën (tabletë Glucophage 850 mg) mbështetur në normativat rregullatore të SHBA dhe Bashkimit Europian.

Objektivat specifike të studimit renditen në mënyrë të përmbledhur si më poshtë:

Objektivi i parë : Investigimi i bioekuivalencës të barit (tabletë metformine 850 mg) nga fabrikues të ndryshëm në subjekte adultë, të shëndetshëm nën kushtet esëll përmes të dhënave farmakokinetike plazmatike.

Objektivi i dytë : Investigimi i bioekuivalencës të tabletave metformine 850 mg nga fabrikues të ndryshëm në subjekte adultë, të shëndetshëm nën kushtet esëll përmes të dhënave farmakokinetike urinare.

Objektivi i tretë : Krahasimi i ekuivalencës *in vitro* (prova e disolucionit) të disa formulimeve të tabletave të klorhidratit të metforminës 850 mg.

Për realizimin e objektivave janë të domosdoshme studimet e mëposhtme:

- 1) Zhvillimi dhe validimi i një metode kromatografike për përcaktimin e metforminës në plazmë
- 2) Zhvillimi dhe validimi i një metode kromatografike për përcaktimin e metforminës në urinë
- 3) Zhvillimi dhe validimi i një metode spektrofotometrike për përcaktimin e metforminës në formulimet farmaceutike (tabletë).

Ndër të tjera do të realizohet dokumentimi, raportimi, diskutimi i efekteve anësore dhe tolerancës ndaj trajtimeve.

3. PËRCAKTIMI I METFORMINËS NË PLAZMËN E NJERIUT

3.1 Materialet e punës

Për përgatitjen e mostrave u përdorën mikropipeta dhe balona qelqi të taruar 50, 100, 1000 mL. Lënda e parë klorhidrat metformine (pastërti 100%, China) me seri A-21411209129 u dhurua nga kompania Profarma Sh.a (Tiranë, Shqipëri). Reagentët e përdorur në eksperiment ishin: dihidrogjenortofosfat natriumi (Sigma Aldrich, Germany); LSN (97%) (BASF SE, Ludwigshafen); acid orto-fosforik 85% (Prolabo, Briare, France); diklormetan (Merck, Darmstadt, Germany); acetonitril të gradës HPLC (Merck, Darmstadt, Germany). Për filtrimin e ujit dhe të fazës së lëvizshme u përdorën filtra membranorë hidrofilikë Nylon (EMD Millipore) (47mm, 0.45µm madhësi poresh). Heparinadhe tretësira fiziologjike u blenë në tregun farmaceutik. Plazma, për provën e bardhë e siguruar nga Qendra e Grupit të Gjakut (Tiranë), ishte e ambalazhuar në flakone prej 130 ml. Heparina sodike (mn pharmaceutical, Turkey), me përqëndrim 25000 UI/5 ml, u përdor si antikoagulues dhe 1 ml e kësaj tretësire u hodh në 500 ml tretësirë klorur natriumi izotonike, sterile dhe jopirogjene 0.9%. Tretësira izotonike e klorurit të natriumit, e prodhuar nga Demo S.A e ambalazhuar në shishe plastike prej 500 ml, u përdor si kontroll negativ.

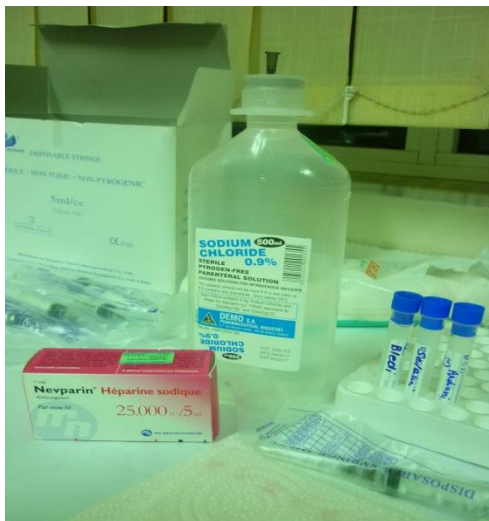


Figura 5. Heparina dhe tretësira izotonike e klorurit të natriumit (0.9%) sterile dhe jopirogjene.

Për marrjen e mostrave të gjakut u përdorën shiringa 5 mL dhe kateterë intravenozë. Për mbajtjen dhe përpunimin e mostrave të gjakut u përdorën tuba gjaku (6 mL) nën trysni VacuCyte (Zhejiang U-REAL Medical Technology, Co., LTD, Zhe Jiang, China) me material PET dhe me antikoagulues (Lithium Heparine) (figura 6).



Figura 6. Tuba PET nën zbrazëti për mbledhjen e gjakut.

Për mbajtjen dhe përpunimin e plazmës u përdorën tuba qelqi me kapak dhe fund të rrumbullakët (11 mL). Për rikostituim u përdorën tuba plastikë 4 mL. Filtrat Varian Scientific Syringe (PTFE, 17 mm., 0.22µm) u përdorën për filtrimin e plazmës.

Si aparate analitike për përcaktimin e metforminës në plazmë dhe urinë shërbyen aparatet e paraqitura në tabelën 2 kurse si metodë analitike, u zbatua kromatografia e lëngët me performancë të lartë.

Tabela 2. Lista e aparateve dhe origjina e tyre.

Nr.	Emri i aparatit	Origjina
1	Centrifugë 55702	Bioblock Scientific, Illkirch, France
2	Peshore analitike	Denver Instrument, Bohemia, NY, USA
3	Aparati për përfitim e ujit Millipore	Direct Q-UV-Ultrapure® water system Millipore, France
4	Përzierësi	VELP Scientifica, Usmate, Italy
5	PH- metër tip DN2401	Denver Instruments
6	Banjo me ultratinguj Ultrasonic 1210	Branson Ultrasonics, Danbury, CT, USA
7	Pompë zbrazëtie	DryFast® WELCH, USA
8	Sistemi kromatografik	Agilent 1200, Agilent Technologies

3.2 Tretësira mëmë, tretësirat e punës dhe kontrollet e cilësisë

Tretësira mëmë u përgatit duke tretur 50 mg klorhidrat metformine në 100 ml ujë (500 µg/mL). Tretja u bë në banjo me ultratinguj për 30 minuta. Tretësira u filtrua me filtër Nylon dhe u ruajt në 4-8°C. Duke u nisur nga tretësira mëmë u përgatit një varg tretësirash ujore me përqëndrime 1, 8, 10, 16, 32, 50 µg/mL. Me anën e këtyre të fundit u

bë spikimi i plazmës blank dhe u ndërtua lakorja e kalibrimit me përqëndrime nga 50 – 1600 ng/mL. Nga lakorja e kalibrimit u zgjedhën tre përqëndrime (i ulët, i mesëm, i lartë), të cilat shërbyen si kontrolle cilësie (300, 800 dhe 1500 ng/mL). Këto tretësira u përgatitën të freskëta për çdo analizë.

3.3 Përgatitja e mostrës

Në 500 µL plazëm u shtua acetonitril (1:1) dhe u përzie për 30 sekonda në 25 Hertz. Përzierja u centrifugua me 10000 rpm për 10 minuta. Shtresa e sipërme (0.75 mL) u nda dhe u përzie me 1.5 mL diklormetan për 30 sekonda dhe u centrifugua me 5000 rpm për 10 minuta. Më pas, 20 µL e lëngut që qëndronte sipër (supernatanti) u injektua në sistemin kromatografik.

3.4 Parametrat e punës të HPLC

Ndarja u krye në një kolonë LiChroCart® 100 RP 18 (125×4.0mm i.d. 5 µm, madhësi grimcash) (ISS, Surrey, UK). Faza e lëvizshme u përgatit duke përzier sistemin buferik fosfat natriumi 0.01 M (pH=6.0), 0.3% LSN, dhe acetonitril në raportin 67.5:32.5. Rregullimi i pH u realizua me acid orto-fosforik 2 N, në rastet e nevojshme. Faza e lëvizshme u përgatit e freskët çdo ditë. Ajo u filtrua përmes filtrave membranorë Nylon dhe u zhgazua për 30 minuta para përdorimit. Fluksi i rrjedhjes dhe temperatura e kolonës ishin përkatësisht 1.25 mL/minutë dhe 50°C. Detektimi i metforminës u krye në 236 nm.

3.5 Zhvillim dhe validimi i metodës bioanalitike

Për matjen e metforminës në plazmë janë zhvilluar shumë metoda, shumica e të cilave bazohen në HPLC me detektim spektrofotometrik në intervalin 230–240 nm. Ekstraktimi i metforminës nga lëngjet biologjike përmes tretësve organikë është i vështirë për shkak të polaritetit të lartë të saj. Për rrjedhojë për ekstraktimin e saj nga plazma u përzgjedh teknika e precipitimit të proteinave dhe e shpëlarjes me diklormetan (75). Metoda u validua sipas principeve teorike të paraqitura në paragrafin 1.3.2.

4. PËRCAKTIMI I METFORMINËS NË URINËN E NJERIUT

4.1 Materialet e punës

Aparatet e përdorura paraqiten në tabelën 2. Për matjen e vëllimit të urinës u përdorën cilindra të shkallëzuar. Për filtrimin e urinës u përdorën filtra Varian Syringe.

4.2 Tretësira mëmë, tretësirat e punës dhe kontrollet e cilësisë

Tretësira mëmë u përgatit duke tretur klorhidrat metforminë në ujë (40 mg/mL). Tretja u bë me ultratinguj për 30 minuta. Tretësira u filtrua me filtër Nylon dhe u ruajt në 4-8⁰C për 4 javë. Standardet e punës, të përfutuara nga hollimi i tretësirës mëmë me urinë, si provë e bardhë u përgatitën me përqëndrime 2000, 1000, 500, 250, 125, dhe 62.5 µg/mL. Mostrat e kontrollit të cilësisë kishin përqëndrime 100, 400 dhe 1600 µg/mL). Këto tretësira u përgatitën të freskëta për çdo analizë.

4.3 Përgatitja e mostrës

Mostrat e urinës u centrifuguan me 10000 rpm për 10 minuta. Pas filtrimit, mostrat u holluan 100 herë me ujë, përpara injektimit në HPLC.

4.4 Parametrat e punës të HPLC

Ndarja u krye në një kolonë Superspher100 RP 18 (250×4.0mm i.d. 5 µm, madhësi grimcash) (ISS, Surrey, UK). Faza e lëvizshme u përgatit duke përzier sistemin buferik fosfat natriumi 0.01 M (pH=6.0), 0.3% LSN, dhe acetonitril në raportin 70:30. Rregullimi i pH u realizua me acid orto-fosforik 2 N, në rastet e nevojshme. Faza e lëvizshme u përgatit e freskët çdo ditë. Ajo u filtrua përmes filtrave membranorë Nylon dhe u zhgazua për 30 minuta para përdorimit. Fluksi i rrjedhjes dhe temperatura e kolonës ishin përkatësisht 1.0 mL/minutë dhe 40°C. Detektimi i metforminës u krye në 236 nm.

4.5 Zhvillimi dhe validimi i metodës bioanalitike

Gjatë zhvillimit të metodës u përzgjodh një teknikë e thjeshtëzuar e përcaktimit të metforminës në urinë. Metoda u validua sipas principeve teorike të paraqitura në paragrafin 1.3.2. Qëndrueshmëria afatgjatë u përcaktua nga ruajtja e alikuotave të urinës në -20⁰C për dy ditë (76).

5. FARMAKOKINETIKA E METFORMINËS PAS ADMINISTRIMIT TË NJË DOZE TË VETME NË VULLNETARË TË SHËNDETSHËM

5.1 Aspekte etike

5.1.1 Komiteti i Etikës

Përpara fillimit të studimit Komitetit të Etikës iu paraqitën për rishikim dhe miratim protokollit i studimit, fleta informuese lidhur me studimin dhe formulari i lejes së pjesmarrjes në studim. Studimi filloi vetëm pas marrjes së miratimit nga ana e Komitetit të Etikës. Në shtojcën 2 paraqitet dokumenti i miratimit nga Komiteti i Etikës (Nr. Prot. 080, datë aprovimi 6/11/2014).

5.1.2 Udhëzuesit dhe dokumentat bazë

Ky studim u krye në përputhje me Udhëzuesin “Guideline for good clinical practice E6(R1)” të 10 Qershorit, 1996, me Udhëzuesin “Guidance for Industry-Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products-General Consideration”, FDA, CDER, Tetor, 2000, me Udhëzuesin “Guidance for Industry - Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence”, FDA, CDER, Janar, 2001, me Deklaratën e Helsinkit (Versioni i rishikuar i Brazilit, tetor 2013) dhe me legjislacionin shqiptar në fuqi (38,77-80).

5.1.3 Informimi për lejen me shkrim të pjesmarrësit

Studimi u krye në vullnetarë të shëndoshë (shëndetshëm). Përpara ekzaminimit klinik, kërkuesi kryesor u tregoi subjekteve pjesëmarrës, natyrën, rëndësinë dhe shkallën e përfshirjes së tyre në studim. Ai u shpjegoi metodat e aplikuara, mënyrën e marrjes së lëngjeve biologjike, si dhe rregullat dhe kufizimet të cilave do ti nënshtrohet vullnetari gjatë studimit. Gjithashtu u diskutuan efektet e mundshme apo efektet anësore që mund të shfaqen nga marrja e trajtimit apo nga aplikimi i procedurave të tjera. Subjektet u informuan se ata janë të lirë të largohen nga studimi në çdo moment dhe se nuk janë të detyruar të japin shpjegime për një veprim të tillë. Subjektet duhet të jenë plotësisht të aftë që të kuptojnë pasojat dhe implikimet që rrjedhin nga vendimi i tyre. Përpara fillimit të punës kërkimore të gjithë subjektet nënshkruan me vullnetin e tyre të lirë një dokument (consent form) si vërtetim i lejes së tyre për të marrë pjesë në studim (shiko shtojcën 3).

5.2 Plani i punës kërkimore

5.2.1 Përzgjedhja e popullatës

Popullata e studimit u përzgjodh sipas karakteristikave të specifikuara në Shtojcën 1.

5.2.2 Karakteristikat e subjekteve në studim

Një numër i përgjithshëm prej 20 subjektësh ju nënshtruan studimit pas miratimit të protokollit të studimit nga Komiteti Kombëtar i Etikës. Subjektet ishin të shëndetshme të përzgjedhur në mënyrë rastësore (16 meshkuj dhe 4 femra). Të gjitha karakteristikat e grupit studimor ishin brenda kufijve të kërkuara për provat e BE. Përpara fillimit të studimit subjekteve iu bë një intervistë e hollësishtme mbi historinë shëndetësore apo problemet shëndetësore aktuale. Në asnjë rast nuk u zbulua ndonjë e dhënë që mund të

supozohet të ndikojë në rezultatet e studimit. Subjektet përpara fillimit të studimit nuk vuanin nga ndonjë sëmundje apo gjendje shëndetsore jonormale, e rrallë apo e pazakontë.

5.2.3 Modeli i studimit

Modeli i studimit ishte i hapur, i balancuar, i randomizuar dhe i kryqëzuar, me dy trajtime, dy periudha, dy sekuenca, me një dozë të vetme nën kushtet esëll. Në studim subjektet përdorën një dozë të vetme 850 mg tabletë klorhidrat metformine. Subjektet ju nënshtruan sekuençës së trajtimit në mënyrë rastësore (tabela 3). Koha minimale ndërmjet dy administrimeve (koha ndërmjet periudhës I dhe periudhës II) ishte të paktën 7 ditë. Skema e modelit të kryqëzuar 2 x 2 paraqitet në figurën 7.

Tabela 3. Sekuenca e trajtimit

Sekuenca	Periudha I	Periudha II
RT	GLUCOPHAGE® 850 mg	METFORMINE PROFARMA 850 mg
TR	METFORMINE PROFARMA 850 mg	GLUCOPHAGE® 850 mg

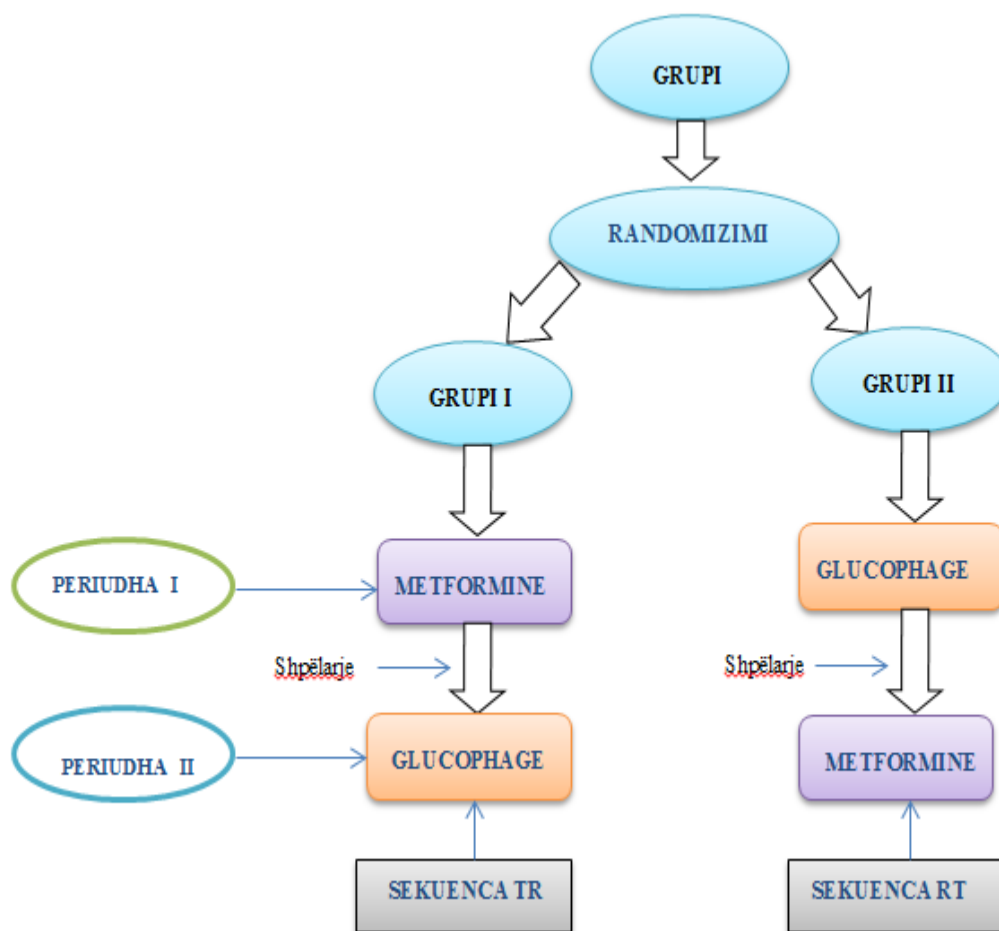


Figura 7. Modeli i kryqëzuar 2 x 2

5.2.4 Diskutimi i modelit të studimit, përfshirë zgjedhjen e grupit të kontrollit

Studimi ishte projektuar me 22 subjekte nga te cilet u përdoren 20 subjekte dhe 2 subjekte qëndruan në gadishmëri. Në këtë studim BE të metforminës janë krahasuar dy prodhues të ndryshëm. Të gjithë subjektet përfunduan studimin dhe sipas protokollit u përfshinë për analizën farmakokinetike dhe statistikore. Të dhënat farmakokinetike të marra nga subjektet, pas përdorimit të barit referencë (R) u konsideruan si të dhënat e grupit aktiv të kontrollit me të cilat u krahasuan të dhënat e barit test (T).

5.2.5 Shpërndarja e subjekteve në grupet e trajtimit (randomizimi)

Radha e marrjes së produkteve referencë dhe test për secilin subjekt gjatë studimit u përcaktua duke ndërtuar një skemë rastësore. Randomizimi u balancua dhe skema e tij u gjenerua duke përdorur tabelën e randomizimit (tabela 4). Të gjitha regjistrimet u mbajtën nën mbikqyrjen e personelit të studimit dhe studiuesit kryesor.

Subjektet që morën pjesë në studim pas renditjes, në mënyrë progresive i bashkëngjitet një numër rëndor progresiv, duke filluar nga numri 1. Ky numër, ID, është plotësisht i pavarur nga ndonjë karakteristikë tjetër e subjektit apo nga dëshira e tij. Duke filluar nga një numër i rastësishëm në tabelën e numrave të rastësishëm, duke ruajtur drejtimin e lëvizjes në këtë tabelë, secilit subjekt, duke filluar nga numri 1 i bashkëngjitet një numër i rastësishëm. Numrat e identifikimit të secilit subjekt renditen në varësi të numrit të rastësishëm. 10 subjekteve iu caktua trajtimi sipas rradhes RT ndërsa 10 të tjerëve TR.

Tabela 4. Skema e randomizimit

Numri i subjektit	Sekuena	Periudha 1	Periudha 2
1	RT	R	T
2	RT	R	T
3	RT	R	T
4	RT	R	T
5	TR	T	R
6	RT	R	T
7	TR	T	R
8	TR	T	R
9	RT	R	T
10	TR	T	R
11	RT	R	T
12	TR	T	R
13	RT	R	T
14	RT	R	T
15	TR	T	R
16	RT	R	T
17	TR	T	R
18	TR	T	R
19	TR	T	R
20	TR	T	R

5.2.6 Trajtimet

Si produkt referencë u përzgjedh tableta **Glucophage** kurse si produkt test **Metformine** (prodhimi vendas). Të dhënat e tabletave paraqiten në paragrafin 6.1.

I. Sigurimi i produkteve që do të provohen

Produktet që u analizuan u morën në sasi të mjaftueshme nga farmacitë. Ato ishin të paktën 6 muaj larg afatit të skadencës.

II. Ruajtja e produkteve

Formulimet, deri në çastin e përdorimit të tyre, u ruajtën sipas rekomandimeve të prodhuesit.

III. Administrimi i produkteve

Subjekti duhet të jetë esëll të paktën që prej 12 orësh nga çasti i paraqitjes në qendrën e studimit klinik. Marrja e produkteve të testit dhe referencës për çdo subjekt gjatë studimit është përcaktuar rastësisht. Në të njëjtën kohë u sigurua një ndarje e barabartë e trajtimeve apo randomizimi i balancuar. Formulimet u administruan nga goja rreth orës 08:00 me 240 mL ujë, duke pasur parasysh një kohë të mjaftueshme që lejon praktikisht marrjen e gjakut nga të gjithë subjektet pa shkelur kohët e parashikuara në protokoll. Subjektit nuk ju lejua të merrte ushqim 4 orët e para të studimit nga çasti i marrjes së trajtimit. Tridhjetë minuta përpara marrjes së trajtimit dhe 2 orë më pas nuk u lejua të konsumoheshin lëngje, përjashtojë sasinë e ujit që parashikon protokollin për të shoqëruar barnat në studim. Më pas subjekti mund të përdorë lëngje sipas dëshirës, por jo alkool, kafe, çaj apo koka-kola. Numri i cigareve që u lejuan gjatë studimit (qëndrimin në qendër) ishte më pak se 10.

IV. Zgjedhja e dozave dhe koha e dozimit për çdo subjekt

850 mg e tabletës të klorhidratit të metforminës është një nga dozat e rekomanduara për trajtimin e diabetit të tipit II, dhe mund t'i nënshtrohet vlerësimit të BE për marketingun e përgjithshëm në vend.

Sipas planit të përdorimit subjektet morën një dozë të vetme prej 850 mg (2 tableta) si trajtim test (T) ose si trajtim referencë (R). Gjatë gjithë studimit secili subjekt mori një dozë të përgjithshme prej 1700 mg metforminë. Në periudhën e I dhe të II, 20 subjektet morën produktet (test apo referencë) në orën 8⁰⁰ të mëngjesit. Subjektet, të cilët morën produktin test në periudhën e parë, morën produktin referencë në periudhën e II dhe anasjelltas.

5.2.7 Komplianca e trajtimit

Komplianca e subjekteve me protokollin dhe kushtet e studimit u sigurua nga prania në të gjitha fazat e studimit të kërkuesit kryesor dhe të paktën njërit prej kërkuesve të tjerë. Pas administrimit të barit, menjëherë u krye një kontroll i zgavrës së gojës të subjektit, për të verifikuar që tabletat janë gëlltitur.

5.2.8 Tabela e orareve të studimit

Oraret e studimit gjatë periudhës së I dhe II paraqiten në tabelën 5. Të gjitha veprimtaritë e lejuara si vaktet ushqimore, koha e mbledhjes së gjakut dhe urinës janë konsideruar sipas protokollit të studimit.

Tabela 5. Oraret e studimit gjatë periudhës së I dhe II.

Dita	Ora e skemës	Ora aktuale	Veprimtaritë	
0	-14:00 ose përpara	18:00	Ekzaminim klinik, kontrolli i shenjave vitale, matja e presionit të gjakut dhe e sheqerit në gjak. Marrja e pëlqimit për të hyrë në studim.	
	-12:00	20:00	Ngrënia e darkës	
1		7:00	Telefonatë zgjimi	
		7:30	Fillon kufizimi i pirjes së ujit	
		7:32	Marrja e urinës për provën e bardhë (zbrazja e fshikëzës së urinës)	
		7:35		
		7:40-7:55	Vendosja e kanulës Marrja e gjakut (provë e bardhë)	
		00:00	8:00	Administrimi i barit (dozimi)
		00:30	8:30	Marrja e gjakut/Vlerësimi i gjendjes shëndetsore
		01:00	9:00	Marrja e gjakut/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore
		01:30	9:30	Marrja e gjakut/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore
		02:00	10:00	Marrja e gjakut dhe urinës/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore
		02:30	10:30	Marrja e gjakut/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore
		03:00	11:00	Marrja e gjakut/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore
		04:00	12:00	Marrja e gjakut dhe urinës/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore
		05:00	13:00	Marrja e gjakut/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore
	06:00	14:00	Marrja e gjakut dhe urinës/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore	
	08:00	16:00	Marrja e gjakut dhe urinës/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore	
	10:00	18:00	Marrja e gjakut/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore	
	12:00	20:00	Marrja e gjakut dhe urinës/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore	
	14:00	22:00	Marrja e fundit e gjakut/ Vlerësimi i gjendjes shëndetsore	
2	24:00	08:00	Marrja e fundit e urinës	

5.2.9 Matjet e sigurisë

Në secilën periudhë, u bë vlerësimi i mirëqënies së subjektit para, gjatë dhe 24 orë pas dozës.

5.2.10 Përshatshmëria e matjeve

Zgjedhja e pikave kohore të marrjes së kampioneve të gjakut ishte planifikuar për të siguruar një vlerësim të përshtatshëm të C_{max} , gjysmëjetës të pjesës fundore dhe të paktën 80% të $AUC_{0-\infty}$. Për përcaktimin e karakteristikave të BD të barit dhe BE të testit me referencën, u krahasuan C_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$. Kampioni pre-dozë u mblodh brenda një ore para përdorimit të barit. Kampionet pas përdorimit të barit, u mblodhën brenda 2 minutave të kohës së planifikuar ku u regjistrua ora e fundit e mbledhjes në minutin më të afërt, si e tillë nuk kishte shmangie në skemën e mbledhjes së kampioneve të gjakut. Zgjedhja e kohëve për të vlerësuar gjendjen shëndetsore, ekzaminimin klinik dhe shenjave vitale u planifikua në bazë të T_{max} të barit dhe fazave të studimit. Veprimtaritë janë kryer në mënyrë të ngjashme në dy periudhat.

5.2.11 Skema e kampioneve për matjen e përqendrimit të barit

Përpara përdorimit të barit u morën 4 mL gjak dhe një sasi urine me qëllim përgatitjen e mostrave të nevojshme për kalibrim dhe kontroll të cilësisë.

Në çdo periudhë, një sasi e përgjithshme prej 14 mostra gjaku janë mbledhur nga secili subjekt në pikat kohore që vijojnë:

00.0 orë (para-dozë), 00.30, 01.00, 01.30, 02.00, 02.30, 03.00, 04.00, 05.00, 06.00, 08.00, 10.00, 12.00, 14.00 orë pas dozimit të barit. (gjithsej 14 kampione me 5 ml secila).

Në çdo periudhë, një sasi e përgjithshme prej 7 mostra urine janë mbledhur nga secili subjekt në pikat kohore që vijojnë:

00.0 orë (para-dozë), 02.00, 04.00, 06.00, 08.00, 12.00, 24.00 orë pas dozimit të barit.

5.2.12 Mbledhja e mostrës

Përpara marrjes së tabletës, vullnetarëve ju këshillua zbrazja e fshikëzës së urinës për të mbledhur urinën si provë të bardhë. Marrja e mostrave të urinës u bë në enë qelqi të përshtatshme ku ishte shënuar paraprakisht data, ora dhe emri i vullnetarit. Matja e vëllimit të urinës u realizua në cilindra të shkallëzuar. Pas mbledhjes së urinës dhe përpara përdorimit të tabletës metforminë, vullnetarëve iu bë vendosja e kateterëve intravenozë në venën kubitale në njërin nga parakrahët nga një person i kualifikuar. Pas vendosjes, fiksimit të kateterit me adezivë mjekësorë, dhe pas çdo marrje gjaku bëhej shpëlarja e tij me 0.5 ml tretësirë izotonike klorur natriumi 0.9% të heparinizuar (10 IU/ml) për të parandaluar bllokimin e tij. Mostra para-dozë u mblodh brenda gjysmë ore para përdorimit të barit. Mostrat post-dozë u mblodhën brenda 2 minutash nga koha e planifikuar ku u regjistrua koha e fundit e mbledhjes në minutën e afërt. Nëse kishte vështirësi në marrjen e mostrave të gjakut përmes kanulës intravenoze ose vonesë në marrjen e gjakut, atëherë gjaku merrej me një çipim direkt në venë. Të gjithë vullnetarëve iu morën nga 5 ml gjak përpara marrjes së tabletës metforminë. E njëjta procedurë u ndoq edhe 13 herë të tjera, përkatësisht 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14 orë pas marrjes së antidiabetikut. Kur mostrat e gjakut u mblodhën nga kateteri intravenoz, në të cilën u injektua më parë tretësira izotonike klorur natriumi 0.9% e heparinizuar, sasia fillestare e gjakut (0.5 mL) hidhej. Më pas mbledhjet e vëllimit i kërkuar i gjakut në tuba ku ishte shënuar paraprakisht data, ora dhe emri i vullnetarit.

5.2.13 Trajtimi i mostrës biologjike

Pas mbledhjes, mostrat e gjakut u centrifuguan në 3500 rpm për 10 minuta në temperaturë dhome brenda 30 minutash për të ndarë plazmën. Plazma u mblodh në dy alikuota dhe u mbaj në gypa plastikë në kushte frigoriferike në -20°C deri sa të analizohej. Me pas trajtimi u bë sipas paragrafit “Përgatitja e mostrës 3.3”. Trajtimi i urinës së subjekteve u bë sipas paragrafit 4.3.

Gjatë transferimit të mostrave, u ndërmorën masa të përshtatshme për mirëmbajtjen e temperaturës dhe integritetin e mostrave.

5.2.14 Shmangiet nga koha e marrjes së lëngjeve biologjike (Shmangiet e flebotomisë)

Të gjitha mostrat e gjakut dhe urinës janë mbledhur në pikat kohore të planifikuara pa ndonjë shmangie sinjifikative (> 3 min).

5.3 Vlerësimi i bioekuivalencës me të dhënat plazmatike dhe urinare

Protokollet e studimeve të BE në përgjithësi rekomandojnë mbledhjen e plazmës për një periudhë kohe që i korrespondon tre deri në katër herë të gjysmëjetës plazmatike të eliminimit (38), e cila sjell përqëndrime terminale rreth 6% të vlerës së përqëndrimit maksimal. Karakteristikat individuale farmakokinetike të Metformines dhe Glucophage-it u analizuan duke përdorur metodën jokompartimentale me software STATA 13 (StataCorp LLC, College Station, Texas, USA). Përlllogaritjet statistikore u bënë duke përdorur numrat e parrumbullakuar, ndërsa në tabela u paraqitën numrat e rrumbullakuar me një shifër pas presjes dhjetore. Përqëndrimet plazmatike në çdo pikë kohore të marrjes së mostrave u përcaktuan për çdo subjekt dhe produkt farmaceutik, së bashku me statistikat përshkruese. Të gjitha vlerat nën kufirin e e poshtem te matjes janë konsideruar si zero për llogaritjen e parametrave farmakokinetikë dhe llogaritjet statistikore. Profilet e përqëndrimit mesatar plazmatik të metforminës kundrejt kohës për secilin bar paraqiten grafikisht me të dhënat e patransformuara dhe të transformuara logaritmisht. Nga të dhënat e grafikut, për çdo individ dhe çdo periudhë, u llogaritën parametrat farmakokinetikë C_{max} , T_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$. Përqëndrimi maksimal plazmatik (C_{max}), përqëndrimi minimal plazmatik (C_{min}) dhe koha për të arritur përqëndrimin maksimal (T_{max}) përcaktohen direkt nga lakorja e përqëndrimit plazmatik të barit. Sipërfaqja nën lakoren e varësisë së përqëndrimit plazmatik-kohë (AUC) nga koha 0 deri në kohën e përqëndrimit të fundit të matshëm (AUC_{0-t}) llogaritet me integrimin trapezoidal dhe ekstrapolohet deri në infinit sipas ekuacionit:

$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t / K_{el}$, ku, $AUC_{0-\infty}$ është sipërfaqja nën lakore nga koha 0 deri në pafundësi; C_t përfaqëson përqëndrimin e fundit të matshëm dhe K_{el} është konstantja e eliminimit (81).

Parametrat farmakokinetikë janë analizuar statistikisht nga statistikat përshkruese, testi ANOVA, intervali i konfidencës dhe procedura e dy testeve të njëanshëm (TOST) për të provuar bioekuivalencën e dy produkteve (38).

Analiza e variancës ANOVA u krye në $P = 0.05$ për parametrat farmakokinetikë C_{max} , AUC_{0-t} dhe $AUC_{0-\infty}$ të transformuar logaritmisht për metforminën. Modeli i analizës së variancës përfshin sekuencën, periudhën dhe trajtimet. Diferencat në parametrat

farmakokinetike u analizuan per sinjifikance nga F-testi i variancës ne $P=0.05$. Intervalet me 90% konfidencë për diferencën midis trajtimeve, mesatareve gjeometrike u llogariten për parametrat e transformuar logaritmisht C_{max} , AUC_{0-t} dhe $AUC_{0-\infty}$. U llogarit intervali me 90% konfidencë ($p=0.05$) i raportit të mesatareve gjeometrike të C_{max} , AUC_{0-t} dhe $AUC_{0-\infty}$ të produkteve test dhe referencë. Produktet konsiderohen bioekuivalentë kur diferenca midis dy parametra të krahasuar është statistikisht jo sinjifikante ($P > 0.05$) dhe kur intervali me 90% konfidencë për këto parametra përfshihet brenda intervalit të bioekuivalencës 80-125%.

Parametrat farmakokinetikë mund të llogariten nga sasia akumulative e barit te ekskretuar në mostrën e urinës në një interval të caktuar kohor. Megjithatë, është e nevojshme që mostrat të mblidhen me frekuencë më të madhe për të përcaktuar profilin e ekskretimit dhe marrja e tyre të bëhet deri në eliminimin pothuajse të plotë të barit (praktikisht shtatë gjysmëjeta). Rënia e lakoreve të përqëndrimit plazmatik dhe shkalla e ekskretimit urinar të barit mund të përshkruhet matematikisht nga i njëjti ekuacion. Pra, është e mundur të supozojmë se parametrat e marra nga të dhënat e ekskretimit urinar reflektojnë përthithjen e barit (82,83). Megjithatë, kjo hipotezë është e vlefshme vetëm kur arrihen kërkesat e sipërpërmendura. Pra, parametrat farmakokinetikë dhe, për rrjedhojë, BD dhe bioekuivalenca mund të llogariten nga të dhënat e ekskretimit urinar. Për më tepër, studimet në serumin e gjakut mund të zëvendësohen nga përdorimi i të dhënave urinare të barit për shkak të kostos së ulët dhe teknikës më pak invazive (83,84,85).

Meqënëse metformina ekskretohet 100% e pandryshuar në urinë, parametrat farmakokinetikë për përcaktimin e bioekuivalencës u llogariten duke përdorur të dhënat e ekskretimit urinar. Mostrat e urinës u mblodhën në periudha të ndryshme kohore pas dozimit dhe u analizuan për metforminën. U përftua një grafik i sasisë kumulative të barit të ekskretuar kundrejt intervaleve kohore të mbledhjes së kampioneve urinare. Sasia kumulative e metforminës së ekskretuar (Duc) është përcaktuar duke mbledhur sasinë e barit të ekskretuar në çdo interval kohor me sasinë e barit të ekskretuar në intervalet kohore të mëparshme. Shuma e përgjithshme e barit e përftuar nga urina pas gjithë periudhës të ekskretimit është shënuar me simbolin Du_{∞} . Në studimin tonë Du_{∞} u përftua nga ekskretimi kumulativ në 24 orë, duke përdorur ekuacionin vijues (86,83):

$$(Duc)_i = Du_{\infty} - [1 / e^{-k\Delta t}] [(Duc)_{i+1} - (Duc)_i]$$

ku $(Duc)_i$ është sasia kumulative e metforminës e ekskretuar në një kohë të caktuar; $(Duc)_{i+1}$ është sasia kumulative e metforminës e ekskretuar menjëherë pas asaj kohe; k është konstantja e eliminimit; dhe Δt është intervali kohor.

Shkalla e ekskretimit urinar të barit (dDu/dt) nuk mund të përcaktohet eksperimentalisht për çdo çast të dhënë. Vlera mesatare e shkallës së ekskretimit urinar llogaritet më pas për çdo periudhë të mbledhjes. Vlerat mesatare të dDu/dt transformohen logaritmisht (\ln) dhe plotohen kundrejt kohës së mesit të periudhës së mbledhjes (tm). U regjistruan shkalla maksimale e ekskretimit urinar të metforminës $[(dDu/dt)_{max}]$ dhe koha e mesit (tm_{max}) për të arritur $[(dDu/dt)_{max}]$. Konstantja e eliminimit (k) u përcaktua nga regresioni linear i fazës terminale të lakores " $dDu/dt \times tm$ " të transformuar logaritmisht. Gjysmëjeta e eliminimit $(t_{1/2})_{\beta}$ u llogarit duke pjestuar 0,693 me k . U vlerësuan sasia

kumulative e metforminës të ekskretuar në 24 orë (C_{total} , mg) dhe % e dozës e metforminës të ekskretuar.

Kur i gjithë bari është ekskretuar ($t = \infty$), fraksioni i dozës së përthithur pas një dozë të vetme të marrë nga goja, jepet nga ekuacioni i mëposhtëm:

$$F = k \cdot Du_{\infty} / ke D_0$$

ku F është fraksioni i dozës së përthithur; k është konstantja e eliminimit; ke është konstantja e ekskretimit renal; Du_{∞} është sasia e përgjithshme e barit e përftuar pas ekskretimit dhe D_0 është doza e barit.

Megjithatë, kur eliminimi i barit kryhet zakonisht dhe tërësisht nga ekskretimi i veshkave, $ke=k$ dhe:

$$F = Du_{\infty} / D_0$$

Analiza e variancës (ANOVA) u krye për parametrat farmakokinetikë të mëposhtëm:

- Sasia kumulative e metforminës të ekskretuar (Duc);
- Sasia e përgjithshme kumulative e metforminës të ekskretuar (Du_{∞});
- Shkalla maksimale e ekskretimit të metforminës [$(dDu/dt)_{max}$];

U morën në konsideratë faktorët që përbëjnë variacion: sekuenca, subjektet, periudha dhe trajtimi. U llogarit intervali me 90% konfidencë për raportin [Duc , Du_{∞} dhe $(dDu/dt)_{max}$] e testit dhe referencës. Për këto parametra u zbatua procedura e dy testeve të njëanshëm.

Bioekuivalenca konfirmohet nëse intervali me 90% konfidencë për parametrat farmakokinetikë është brenda intervalit 80-125%.

6. PËRCAKTIMI I METFORMINËS NË FORMULIMET FARMACEUTIKE

6.1. Reagentët dhe materialet

Reagentët e përdorur në eksperiment ishin: dihidrogjenortofosfat kaliumi(Sigma Aldrich, Germany); hidroksid natriumi (Sigma Aldrich, Germany); LSN (97%) (BASF SE, Ludwigshafen); acid ortofosforik 85% (Prolabo, Briare, France); acid klorhidrik; acetat natriumi (trihidrat) (Sigma Aldrich, Germany); acid acetik glacial 100%; klorur kaliumi. Të gjithë reagentët e përdorur ishin të gradës analitike. Uji i pastruar u përdor gjatë gjithë procesit të punës. Buferat për provën e disolucionit u përgatitën sipas specifikimeve të USP në pH 1.2, 4.5 dhe 6.8 (87).

Për përgatitjen e mostrave u përdorën balona qelqi të taruar 10, 20, 25, 50, 100, 1000 mL; cilindër 100 mL, erlermajer 100 mL, shiringa 20 mL; tuba qelqi; filtra Cannula 20µm tip UHMW PE. Tabletat e veshura me cipë u blenë nga farmaci të ndryshme. Një listë e produkteve të analizuar paraqitet në tabelën 6.

Tabela 6: Lista e tabletave të analizuar të klorhidratit të metforminës 850 mg që qarkullojnë në tregun farmaceutik shqiptar.

Emri i formulimit	Prodhuesi	Seria	Data e prodhimit	Data e skadencës
Glucophage®	Merck Sante s.a.s	500911	09.2012	08.2017
Siofor	Berlin-Chemie AG	48273	04.2014	04.2019
Metformine	Profarma Sh.A	1310	09.2013	09.2015

6.2 Instrumentat dhe pajisjet

Për të kryer provën e disolucionit u përdorën aparatet vijuese (shiko tabelën 7).

Tabela 7. Lista e aparateve dhe origjina e tyre.

Nr.	Emri i aparatit	Origjina
1	Peshore analitike	Ohaus Corp, Zvicër
2	UltraBasic pH metër UB-5	Denver Instrument
3	Aparati i disolucionit, model TDT – 08L	Pharma Alliance Group, Sh.B.A.
4	Spektrofotometër UV/VIS, HEWLETT PACKARD	Agilent 8453, Gjermani

6.3 Formulimi i tabletave

Në literaturën e specialitetit të konsultuar për këtë qëllim, si fillim u paraqitën formulime të ndryshme (që përshkruhen në tabelën 8).

Tabela 8. Përbërësit farmaceutikë në formulimet e ndryshme të tabletave të metforminës.

Formulimi	Përbërësit
Glucophage®	Povidon K30, stearat magnezi dhe hidroksipropil celulozë
Metformine	Klorhidrat metformine 50 mesh, klorhidrat metformine 100 mesh, Povidon (K-30), stearat magnezi, dioksid silici koloidal (Aerosil 200)
Siofor	Povidon K25, stearat magnezi, hidroksipropil celulozë, macrogol 6000, dioksid titani (E171)

6.4 Tretësira mëmë dhe tretësirat e punës

Tretësira mëmë u përgatit duke peshuar me saktësi 85 mg klorhidrat metforminë të tretur në 100 mL bufer. Standardet e punës me përqëndrimet 1.7 µg/mL, 2.125 µg/mL, 3.4 µg/mL, 4.25 µg/mL, 5.1 µg/mL, 6.8 µg/mL dhe 8.5 µg/mL u përgatitën çdo ditë nga hollimi me ujë i tretësirës mëmë.

6.5 Prova e disolucionit

Prova e disolucionit u krye në përputhje me kërkesat e USP 37 <711> (procedura e disolucionit për format farmaceutike me çlirim të shpejtë). Për çdo formulim u analizuan 12 tableta. Sistemet buferike të përdorura ishin buferi fosfat pH 6.8, buferi acetat pH 4.5 dhe ai acid në pH 1.2. Sistemi buferik në pH 6.8 u zgjodh në përputhje me monografinë USP të klorhidratit të metforminës. Dy vlerat e tjera të pH (1.2 dhe 4.5) u zgjodhën për të imituar pH fiziologjik të TGI. Në dy buferat me pH jofarmakopealë u parashikua shtimi i 0.01% LSN.

Disolucioni i tabletave u përcaktua duke përdorur aparatën USP I (metoda me shportë rrotulluese). Pas mbushjes të gjashtë enëve me sistemin buferik përkatës (1000 mL), aparati u kalibrua në parametrat e dëshiruar. Tabletat u vendosën në gjashtë shportat përkatëse dhe nga ky çast fillon analiza. Në intervalet e përmendura në tabelën 9 merren manualisht 10 mL mostër nga çdo enë me sistemin buferik dhe sasia zëvendësohet po me sistemin buferik për të mbajtur vëllimin konstant. Mostrat, të filtruara përmes filtrave Cannula 20 µm, u transferuan në tuba të shënuar paraprakisht. 5 mL të alikuotave u holluan me ujë në balona të taruar 50 mL. Pas përzierjes së tretësirave, u morën 10 mL dhe u holluan deri në 100 mL me ujë të pastruar. Prova e disolucionit vazhdoi për 60 minuta. Sasia e metforminës e çliruar nga secila tabletë u përcaktua me metodën spektrofotometrike UV/Vis. Dendësia optike (absorbanca) e standardeve të punës dhe e tretësirave të provës u mat në gjatësinë e valës maksimale 233 nm duke përdorur si provë të bardhë ujin (88). Krahasimi i profileve të disolucionit u krye sipas skemës të paraqitur në tabelën 9.

Tabela 9. Kushtet e disolucionit të tabletave metformine 850 mg që qarkullojnë në tregun farmaceutik shqiptar.

Kushtet e punës	Aparati 1 (Shportë rrotulluese)
Sistemi buferik për disolucionin	1. Bufer fosfat pH 6.8 (100 rpm) 2. Bufer acetat pH 4.5 (150 rpm, 0.01% LSN) 3. Bufer pH 1.2 (150 rpm, 0.01% LSN)
Vëllimi i sistemit buferik	1000 mL
Temperatura	37°C ± 0.5°C
Intervalet kohore të marrjes së mostrës	0, 10, 15, 20, 30, 45, 60 min
Njësitë	12 tableta
Analiza	UV/Vis ($\lambda_{max}=233$ nm)
Kërkesat (USP37NF32)	≥ 70% e barit duhet të çlirohet brenda 45 min

6.6 Validimi i metodës analitike në pH 1.2 dhe 4.5

Metoda spektrofotometrike UV u validua në dy buferat jofarmakopealë për të demonstruar riprodhueshmëri dhe besueshmëri. (89,90).

6.7 Modeli matematikor i disolucionit in vitro/krahasimi i profileve të disolucionit

Të dhënat analitike u analizuan duke përdorur programin Microsoft Office Excel 2007 për krahasimet statistikore dhe grafike. Kurba e kalibrimit u përfutua nga plotimi i absorbancës (A) versus përqëndrimin e metforminës ($\mu\text{g/mL}$). Ekuacioni i vijës, $y = ax + b$, u përcaktua duke përdorur regresionin linear dhe më pas u llogarit koeficienti i korrelacionit (r). Për çdo run analitik u ndërtua kurba e kalibrimit për të llogaritur përqëndrimet e tretësirave të provës.

Çdo rezultat i marrë përfaqëson një mesatare të 12 matjeve dhe gabimi u shpreh si deviacion standard (DS). Përqindja e çlirimit të barit u llogarit duke përdorur ekuacionin e përfutur nga kurba e kalibrimit. Profilet e çlirimit të barit u përshtatën në modelin matematikor për të patur një ide mbi mekanizmin e çlirimit të barit nga tabletat. Profilet e disolucionit u krahasuan duke përdorur modelin e pavarur që përdor faktorin e diferencës (f_1) dhe faktorin e ngjashmërisë (f_2). Për çdo produkt farmaceutik, profili i disolucionit u ndërtua duke plotuar mesataren e përqindjes kumulative të çlirimit të barit në buferin specifik kundrejt kohës së marrjes së mostrave (minuta). Profilet e disolucionit konsiderohen të ngjashëm nëse f_1 ka vlerë midis 0 dhe 15 dhe f_2 ka vlerë midis 50 dhe 100. Në konsideratë u mor matja në të cilën produkti referencë arriti një disolucion prej 85 % (ose arritja e asimptotës).

7. REZULTATET

7.1 Rezultatet e validimit të metodës për përcaktimin e metforminës në plazmë dhe urinë

7.1.1 Përzgjedhshmëria (selektiviteti)

Selektiviteti i metodës demonstron nga mungesa e pikeve të tjerë në intervalin kohor të pritshëm për pikun e metforminës (kohën e retnionit të metforminës). Mungesa e pikut në këtë interval është vërejtur në të gjithë plazmat dhe urinat blanke të përdorura (mbi 15). Në figurën 8 jepen kromatogramat e blankut (figura 8a) të marrë nga plazmat e 6 individëve të ndryshëm (plasma pool) dhe kromatogramat e plazmës të spikuara me metforminë (figura 8b dhe 8c). Në këto kushte, koha e retnionit të analitit ishte 4.1 minuta. Metoda ka një kohë eluimi 7 minuta për mostrat plazmatike.

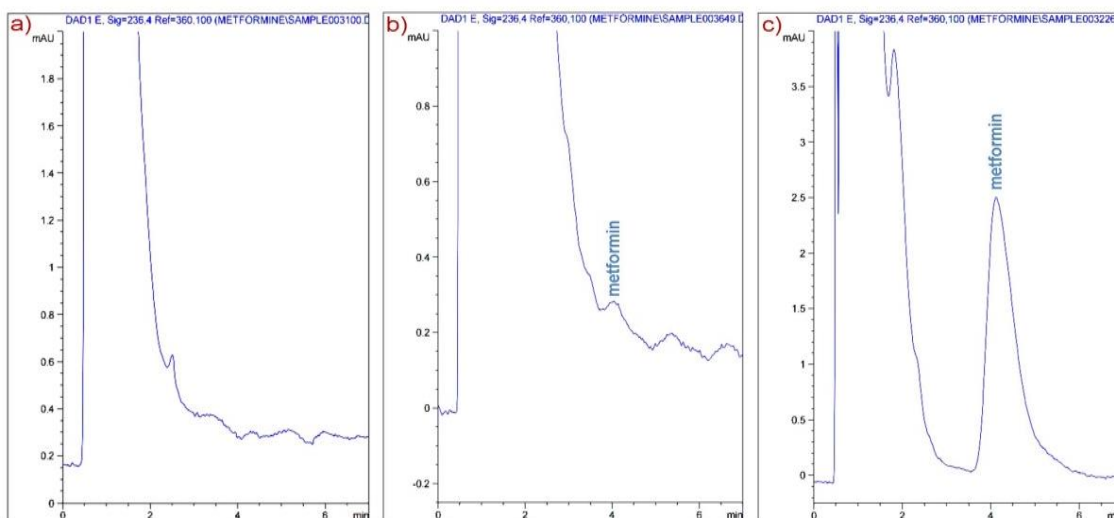


Figura 8. Kromatogramat HPLC-UV të (a) plazmës blank; (b) plazmës blank të spikuar me 50 ng/mL metforminë; (c) plazmës nga një vullnetar i shëndetshëm 1 orë pas administrimit oral të një tablete 850 mg metforminë.

Koha e retnionit të metforminës në mostrat urinare është 6.4 minuta. Siç paraqitet në figurën 9, nuk ka interferenca sinjifikative në urinën blank nga substancat endogjene në kohën e retnionit të analitit.

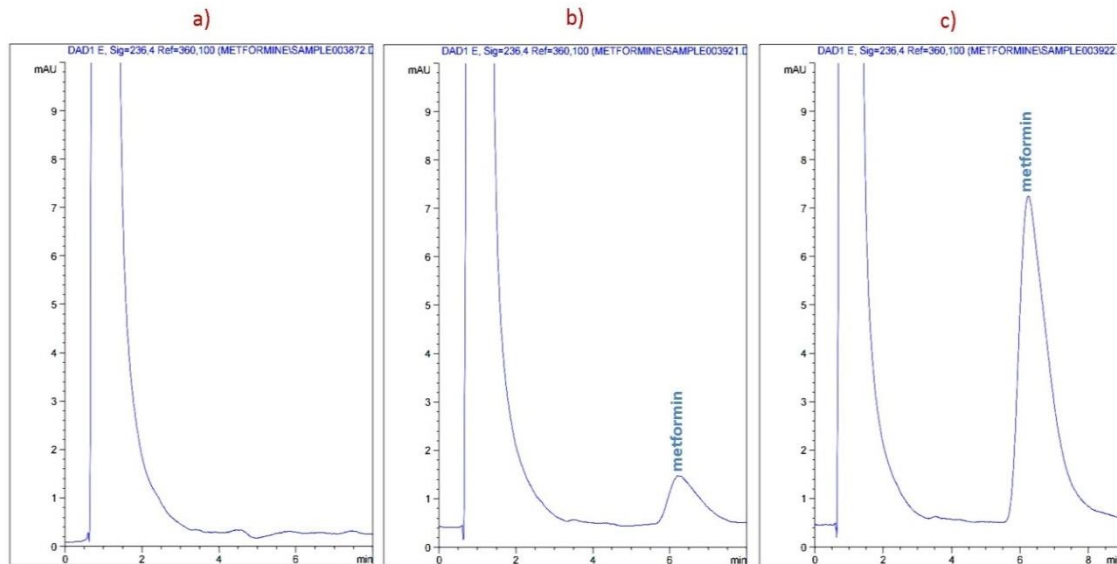


Figura 9. Kromatogramat HPLC-UV të përfuara për urinën blank (a), urinën blank të spikuar me 62.5 µg/mL metforminë (b), urinën blank të spikuar me 400 µg/mL metforminë KC (c).

7.1.2 Lineariteti

Në fazën e validimit të metodës lineariteti u përcaktua nga kurba e kalibrimit. Për ndërtimin e kurbës së kalibrimit u përdorën në ditë të ndryshme 6 plazma të spikuara me sasi të njohura të metforminës (50, 200, 300, 400, 800, dhe 1600 ng/mL), përfshirë këtu dhe kufirin e poshtëm të përcaktimit si edhe plazmën blank. Kurba e kalibrimit u përfuata nga plotimi i raportit të lartësisë së pikut versus përqëndrimin e metforminës. Mostrat u përgatitën dhe u injektuan vetëm një herë brenda ditës. Kurba e kalibrimit është ndërtuar për çdo seri matjesh nga mesatarja e të paktën dy plazmave për çdo përqëndrim (të paktën tre përqëndrime jo zero). Kurba e kalibrimit (shiko figurën 10) ishte lineare në diapazonin e dhënë ($R^2=0.9994$).

Për përcaktimin e metforminës në urinë, lineariteti i metodës u studiua nga injektimi i 6 përqëndrimeve të tretësirave ujore të metforminës në diapazonin 62.5–2,000 µg/mL, e kryer në triplikatë duke e mbajtur konstant vëllimin e injektimit. Koeficienti i korrelacionit (R^2) ishte më i madh se 0.999 gjatë kursit të validimit.

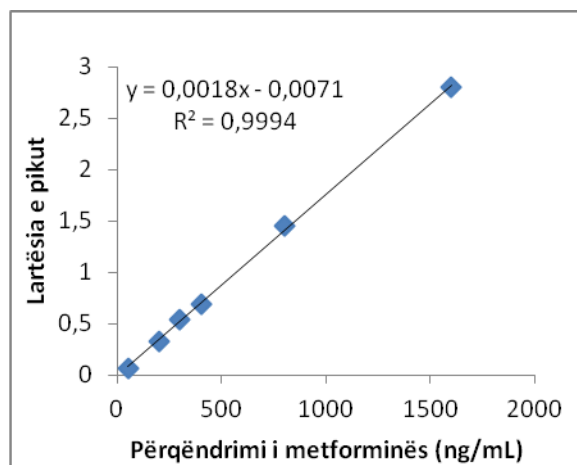


Figura 10. Kurba e kalibrimit për metforminën në plazmën e njeriut.

7.1.3 Kufiri i përcaktimit (KP) dhe kufiri i zbulimit (KZ)

Ndjeshmëria e metodës të propozuar u vlerësua në termat e KP dhe KZ. Kufiri i përcaktimit dhe kufiri i zbulimit (detektimit) u përcaktuan veçmas në bazë të kurbës së kalibrimit. Deviacioni rezidual standard i vijës së regresionit ose deviacioni standard i y-intercepteve të vijave të regresionit u përdorën për të llogaritur KP dhe KZ. Këto të fundit u llogaritën sipas formulave vijuese:

$KZ=3.3 \text{ SD}/S$ dhe $KP=10 \text{ SD}/S$, ku SD është deviacioni rezidual standard i vijës të regresionit dhe S është pjerrësia e vijës. Kufiri i përcaktimit dhe kufiri i zbulimit në plazmë u gjetën përkatësisht 50 ng/mL dhe 18 ng/mL kurse në urinë u gjetën përkatësisht 35 µg/mL dhe 12 µg/mL.

7.1.4 Precizioni dhe saktësia

Precizioni dhe saktësia e metodës brenda ditës u përfutuan duke analizuar gjashtë replikata të mostrave të kontrollit të cilësisë në një ditë të vetme. Precizioni dhe saktësia e metodës ndërmjet ditëve u përfutuan duke analizuar gjashtë replikata të mostrave të kontrollit të cilësisë në tre ditë të ndryshme. Precizioni (përsëritshmëria) vlerësohet nëpërmjet koeficientit të variacionit (CV) të vlerave të matjeve, të vlerësuara nëpërmjet kurbës së kalibrimit dhe shprehet në përqindje. Precizionet brenda dhe ndërmjet ditëve u llogaritën sipas formulës:

$[\text{deviacion standard} / \text{përqëndrim mesatar}] \times 100\%$.

Saktësia shpreh shmangien e vlerës së vlerësuar nëpërmjet kurbës së kalibrimit nga vlera nominale dhe llogaritet në përqindje, mbi bazën e formulës:

$[(\text{përqëndrimi mesatar i matur} - \text{përqëndrimi nominal}) / \text{përqëndrimi nominal}] \times 100\%$.

Përqindja e gabimit relativ (RE%) e vlerës mesatare duhet të jetë brenda $\pm 15\%$ në çdo përqëndrim. Precizioni duhet të jetë më pak se 15% në çdo përqëndrim. Siç tregohet në

tabelën 10 dhe 11 vlerat e saktësisë dhe precizionit brenda dhe ndërmjet ditëve për plazmën dhe urinën ishin brenda kritereve të pranimit.

Tabela 10. Precizioni dhe saktësia brenda dhe ndërmjet ditëve për metforminën në plazmën e njeriut

Përqëndrimi (ng/mL)	Brënda ditës (n=6)			Ndërmjet ditëve (n=21)		
	Përqëndrimi i gjetur (ng/mL)			Përqëndrimi i gjetur (ng/mL)		
	(mesatare ± DS)	Precizion (CV, %)	Saktësia (RE, %)	(mesatare ± DS)	Precizion (CV, %)	Saktësia (RE %)
300	312.2 ± 13.09	4.2	4.1	304 ± 13.78	4.5	1.36
800	819.7 ± 23.06	2.8	2.5	791.8 ± 38.7	4.9	1.02
1500	1591.8 ± 23.06	1.4	6.1	1547.92 ± 51.97	3.4	3.19

Tabela 11. Saktësia dhe precizioni brenda dhe ndërmjet ditëve për metforminën në urinën e njeriut.

Përqëndrimi (ng/mL)	Brënda ditës (n=6)			Ndërmjet ditëve (n=21)		
	Përqëndrimi i gjetur (ng/mL)			Përqëndrimi i gjetur (ng/mL)		
	(mesatare ± DS)	Precizion (CV, %)	Saktësia (RE, %)	(mesatare ± DS)	Precizion (CV, %)	Saktësia (RE %)
300	97.4 ± 3.81	2.2	3.9	99.8 ± 9.8	0.2	9.8
800	401.4 ± 20.4	4.3	5.1	396.1 ± 23.7	1.0	6.0
1500	1,666.2 ± 107.6	1.1	6.5	1,651.9 ± 101.9	3.2	6.2

7.1.5 Rikuperimi

Përcaktimi i rikuperimit të analitit me interes për të tre mostrat e KC bëhet duke llogaritur raportin e pikut të substancës të injektuar pas ekstraktimit me pikun e substancës të përfutur nga injektimi i tretësirës ujore.

Në këtë rast duhet patur parasysh që përqëndrimi i substancës me interes në supranatant do të jetë më i vogël, për shkak të hollimit nga tretësira precipituese. Në rastin konkret ky përqëndrim është teorikisht 2 herë më i vogël dhe për këtë arsye, kur përcaktojmë rikuperimin pas precipitimit të një kampioni plazme me përqëndrim 10 µg/mL krahasimi bëhet me një tretësirë ujore me përqëndrim 5 µg/mL.

Kjo metodë paraqiti një rikuperim të mirë të metforminës në lëngjet biologjike të studimit (tabela 12 dhe tabela 13).

Tabela 12. Rikuperimi i metforminës në plazmë në tre përqëndrime (n = 6)

Përqëndrimi (ng/mL) (n=6)	Rikuperimi mesatar % ± DS	DSR %
300	95.3 ± 0.92	0.97
800	98 ± 0.6	0.62
1500	100.7 ± 0.6	0.59

Tabela 13. Rikuperimi i metforminës në urinë në tre përqëndrime (n = 6)

Përqëndrimi (µg/mL) (n=6)	Rikuperimi mesatar % ± DS	DSR %
100	100 ± 1.9	1.9
400	100.4 ± 5.9	5.9
1600	101.2 ± 5.9	5.9

7.1.6 Qëndrueshmëria e metforminës në tretësirë ujore, plazmë dhe urinë

Provat e qëndrueshmërisë të analitëve janë projektuar për të mbuluar kushtet e pritshme në lidhje me trajtimin e mostrave klinike. Qëndrueshmëria e metforminës u hetua në mostrat plazmatike dhe urinare të përpunuara dhe të papërpunuara.

Metformina në mostrat e përpunuara (300 dhe 800 ng/mL) u gjet e qëndrueshme për 24 orë në temperaturën e dhomës dhe 48 orë në -20°C. Metformina në mostrat e papërpunuara të plazmës ishte e qëndrueshme për të paktën 24 orë në temperaturën e dhomës, 30 ditë në -20 °C, ose pas tre ciklesh ngrirje dhe shkrirje. Të dhënat janë përmbledhur në tabelën 14. Metformina në tretësirat mëmë (40 mg/mL dhe 500 µg/mL në ujë të gradës HPLC) u gjet e qëndrueshme për 48 orë në temperaturën e dhomës dhe të paktën 4 javë në 2 ° - 8 °C. Mostrat konsiderohen të qëndrueshme, nëse vlerat janë brenda kufijve të pranueshëm të saktësisë (≤ 15% RE) dhe precizionit (≤ 15% CV).

Tabela 14. Qëndrueshmëria e metforminës në plazmën e njeriut të përpunuar dhe të papërpunuar (n=6)

Kushtet e ruajtjes	Përqëndrimi i shtuar (ng/mL)	Përqëndrimi i gjetur (ng/mL) (± DS)	Precizioni (DSR, %)	Saktësia (RE, %)
Mostra të përpunuara 24 orë (temperaturë dhome)	300	308 (±27.99)	9.1	2.7
	800	824.2 (±32.76)	4.0	3.0
48 orë (-20 °C)	300	299.6 (±10.50)	3.5	0.1
	800	761.7 (±0.00)	0.0	4.8
Mostra të papërpunuara 24 orë (temperaturë dhome)	300	292.7 (±3.1)	1.1	2.4
	800	769.3 (±0.00)	0	3.8
30 ditë (-20 °C)	300	303.1 (±8.16)	2.7	1.0
	800	739.1 (±30.82)	4.2	7.6
Ngrirje –shkrirje në -20 °C (3 cikle)	300	312.2 (±13.09)	4.2	4.1
	800	819.7 (±23.06)	2.8	2.5

Në mënyrë të ngjashme u përcaktua qëndrueshmëria e metforminës në urinë e njeriut. Pas ciklit të tretë për tre alikuotat të dy përqëndrimeve 100 dhe 400 µg/mL, rikuperimi mesatar ± DSR u gjet 99 ± 0.9%.

Tre alikuota të dy përqëndrimeve 100 dhe 400 µg/mL u shkrinë në temperaturë dhome dhe u mbajtën për 6 orë. Pas analizës së mostrave, rikuperimi mesatar ± DSR u gjet 100 ± 0.9%.

Qëndrueshmëria afatgjatë u përcaktua duke i mbajtur tre alikuotat (100 dhe 400 µg/mL) në -20°C për 2 ditë. Rikuperimi mesatar ± DSR u gjet 98.9 ± 0.5%.

Rezultatet treguan se metformina ishte e qëndrueshme gjatë gjithë periudhës të eksperimentit.

7.1.7 Stabiliteti i metodës

Stabiliteti i metodës tregon aftësinë e metodës për të mbetur e paprekur nga ndryshimet e vogla të kushteve eksperimentale. Ndryshime të vogla në lauril sulfatin e natriumit (me ±0.05%), në pH (me ±0.2 njësi) nuk paraqesin efekt të rëndësishëm në rezolucionin kromatografik.

Tabela 15. Profili demografik i subjekteve pjesëmarrës në studimin e BE.

Inicialet e subjekteve	ID	Sekuenca	Mosha (vjeç)	Pesha (kg)	Lartësia (cm)	Seksi
E.T	1	RT	29	59	168	F
R.Z	2	RT	19	78.2	177	M
M.Z	3	RT	28	49	150	F
E.B	4	RT	28	67.7	165	M
P.K	5	TR	19	71.05	176	M
G.N	6	RT	44	55.2	172	M
V.S	7	TR	46	66.4	170	M
B.D	8	TR	31	84.6	161	M
B.F	9	RT	38	81.05	170	M
P.K	10	TR	31	77.6	173	M
A.K	11	RT	31	93	167	F
D.S	12	TR	18	58.15	164	M
S.P	13	RT	29	95.55	179	M
J.C	14	RT	21	61.5	180	M
B.B	15	TR	26	69.15	179	M
S.B	16	RT	22	70.1	174	M
Sh.B	17	TR	51	72.9	174	M
M.B	18	TR	48	52.95	159	F
A.D	19	TR	43	65.25	171	M
G.K	20	TR	34	62.95	175	M
Mesatarja			31.8	69.6	170.2	
DS			10.2	12.6	7.6	

7.2 Rezultatet *in vivo* të metforminës tek subjektet

Subjektet përfunduan me sukses studimin sipas protokollit. Në rastin e përfimit të të dhënave urinare dy prej vullnetarëve nuk u përfshinë në studim. Dy formulimet e metforminës (Glucophage dhe Metformine) u toleruan mirë nga subjektet në të dy fazat e studimit. Nuk pati efekte anësore serioze apo komplikime të tjera gjatë dy periudhave studimore. Nuk u vërejtën deviacione nga skema e marrjes të lëngjeve biologjike, të cilat konsiderohen sinjifikante nga protokollit (më shumë se 5 minuta). Ndër të tjera nuk pati humbje të mostrave plazmatike apo të të dhënave plazmatike. Në tabelën e mëposhtme (tabela 15), është paraqitur profili demografik i subjekteve pjesëmarrës në studimin e bioekuivalencës. Në studim morën pjesë 4 femra dhe 16 meshkuj. Vlerat mesatare (\pm deviacioni standard) të moshës, peshës dhe lartësisë janë respektivisht 31.8 ± 10.2 ; 69.6 ± 12.6 ; 170.2 ± 7.6 .

Tabela 16. Pasqyra përmbledhëse e përqëndrimeve plazmatike (ng/mL) sipas kohës për periudhën I

Subjekti	Koha (orë)													
	0	0.30	1.00	1.30	2.00	2.30	3.00	4.00	5.00	6.00	8.00	10.00	12.00	14.00
1	0	644.9	1153.2	1407.3	1534.4	1852	1788.5	1788.5	1725	1407.3	899.1	594.1	301.9	136.7
2	0	393.9	832.4	942	1088.1	1088.1	1234.3	1161.2	942	722.8	467	342.8	196.6	167.4
3	0	865.1	1401.1	1535.1	1401.1	1334.1	1267.1	932.1	731.1	657.4	396.1	262.1	161.6	94.6
4	0	689.3	1883.7	1946.6	1758	1695.1	1569.4	1317.9	1129.4	940.8	551	299.6	211.6	111
5	0	933.4	1928.7	1990.9	1804.3	2053.1	2177.5	1555.4	1057.8	871.2	454.4	280.3	180.7	131
6	0	1679.9	2364.1	1990.9	1617.7	1555.4	1493.2	1431	995.6	871.2	578.9	348.7	211.8	168.3
7	0	1028.2	1478.9	1704.2	1816.9	2211.2	2300	2380.2	1985.9	1873.2	1422.5	915.5	690.1	459.2
8	0	392.6	894.0	1001.9	894.0	894.0	1001.9	1001.9	786.2	624.4	365.6	295.6	117.6	96.1
9	0	272.7	815.0	1187.1	1399.7	1559.2	1771.9	1718.7	1346.6	1133.9	708.6	474.7	320.5	224.9
10	0	526.5	687.4	741.1	955.7	1170.3	1438.5	1170.3	1331.2	687.4	370.9	215.4	129.5	75.9
11	0	794.7	1223.9	1599.4	1706.7	1599.4	1492.1	1223.9	902	633.8	451.4	247.5	156.3	92
12	0	913.4	1685.2	2100.7	2041.3	1922.6	1685.2	1091.5	854.1	557.3	337.6	236.7	123.9	106.1
13	0	345.7	1127.8	836	1478.1	1302.9	1419.7	1127.8	777.6	602.5	351.5	240.6	182.3	135.6
14	0	164.7	949.7	1079.4	1209.2	1209.2	1014.6	1144.3	755.1	612.3	482.6	249	145.2	99.8
15	0	2169.8	2229	2229	2643	2820.5	2347.3	2110.7	1637.5	1164.3	750.2	495.9	235.6	123.3
16	0	363.6	1322.4	1597.9	1708.1	1818.3	1873.4	1542.8	1267.3	1046.9	826.5	391.2	286.5	203.8
17	0	1157.9	1473.8	1631.7	1684.3	1684.3	1737	1421.1	1368.5	1000	631.6	578.9	315.8	226.3
18	0	789.5	1052.7	1000.0	1210.6	1157.9	1210.6	894.8	789.5	631.6	436.8	289.4	210.5	147.3
19	0	764.1	977.3	1030.6	1190.4	1456.9	1243.7	1243.7	1083.9	870.7	657.6	316.5	231.2	162
20	0	908.5	1388.1	1548	1867.7	1707.9	1334.9	1175	908.5	748.7	503.5	311.7	258.4	157.2
Mesatare	0	789.92	1343.42	1454.99	1550.47	1604.62	1570.04	1371.64	1118.74	882.89	582.17	369.31	233.38	155.93
DS	0	481.08	473.60	455.68	410.13	446.48	391.10	386.49	355.46	326.45	255.75	170.27	124.47	83.45
GS	0	107.57	105.90	101.89	91.70	99.83	87.45	86.42	79.48	72.99	57.18	38.07	27.83	18.66

Në tabelën 16 ilustrohen të dhënat e përqëndrimeve plazmatike (ng/mL), vlerat mesatare, deviacionet standarde dhe gabimet standarde për secilin individ sipas kohës për periudhën e parë (I).

Në tabelën 17 jepen detaje për përqëndrimet plazmatike (ng/mL), vlerat mesatare, deviacionet standarde dhe gabimet standarde për secilin individ sipas kohës për periudhën e parë (I).

Tabela 17. Pasqyra përmbledhëse e përqëndrimeve plazmatike (ng/mL) sipas kohës për periudhën II

Subjekti	Koha (orë)													
	0	0.30	1.00	1.30	2.00	2.30	3.00	4.00	5.00	6.00	8.00	10.00	12.00	14.00
1	0	899.1	1216.7	1343.8	1470.9	1979.1	1915.6	1597.9	1343.8	1026.1	587.8	371.8	174.8	92.0
2	0	715.5	1088.1	1307.4	1161.2	1088.1	1015.1	795.8	635.1	503.5	284.3	160.1	108.9	87.0
3	0	630.6	1468.1	1870.1	2406.1	2138.1	1870.1	1535.1	1133.1	932.1	590.4	436.3	228.6	108.0
4	0	877.9	1192.2	1380.8	1443.7	1380.8	1380.8	1129.4	940.8	752.2	544.7	331.0	167.6	123.6
5	0	995.6	1431.0	1368.8	1431.0	1493.2	1431.0	1244.4	1057.8	809.0	460.7	267.8	199.4	131.0
6	0	1555.4	1399.9	1711.0	1493.2	1928.7	1928.7	1617.7	1182.2	1120.0	902.3	622.4	435.8	286.5
7	0	971.8	1535.2	1591.5	1422.5	1535.2	1591.5	1647.9	1704.2	1647.9	1535.2	1366.2	859.1	566.2
8	0	435.7	894	1217.5	1271.4	1001.9	1001.9	1001.9	894	678.4	403.4	187.7	128.4	90.7
9	0	538.5	1080.8	1027.6	1133.9	1133.9	1027.6	868.1	815	602.3	453.4	304.6	203.6	134.5
10	0	902.0	1492.1	1653.1	1867.7	2028.6	1975.0	1814.0	1653.1	1009.3	510.4	290.5	167.1	134.9
11	0	848.4	1116.6	1223.9	1223.9	1223.9	1384.9	1170.3	955.7	741.1	419.2	295.8	177.8	102.7
12	0	545.4	1150.9	1329.0	1269.6	1329.0	1269.6	1210.3	913.4	676.0	456.3	313.9	213.0	123.9
13	0	404.1	952.7	1302.9	1711.5	1244.6	1361.3	1127.8	1011.1	836.0	602.5	398.2	322.4	188.1
14	0	625.3	755.1	1144.3	1209.2	1468.7	1144.3	1274.1	1014.6	819.9	515.0	541.0	184.1	125.7
15	0	868.5	1755.8	1874.1	1933.2	1814.9	1814.9	1519.2	1164.3	986.8	572.8	383.5	235.6	152.8
16	0	1212.2	2259.1	2479.5	2148.9	2038.7	1983.6	1763.2	1377.5	1102	661.2	424.2	292	148.7
17	0	1157.9	1579.0	1421.1	1631.7	1842.2	1789.6	1421.1	1263.2	1000.0	631.6	410.5	278.9	184.2
18	0	842.1	1000	1263.2	1157.9	1105.3	1000	842.1	789.5	442.1	268.4	210.5	142.1	100
19	0	1083.9	1190.4	1403.6	1616.7	1883.2	1883.2	2043.0	1616.7	1350.3	977.3	551.0	353.8	268.5
20	0	908.5	1281.6	1281.6	1761.2	1814.5	1654.6	1388.1	1228.3	961.8	642.1	439.6	274.4	199.8
Mesatare	0	850.92	1291.97	1459.74	1538.27	1573.63	1521.17	1350.57	1134.67	899.84	600.95	415.33	257.37	167.44
DS	0	281.07	340.58	329.77	349.92	372.65	362.27	343.57	293.76	283.05	278.78	254.00	163.13	108.84
GS	0	62.84	76.15	73.73	78.24	83.32	81	76.82	65.68	63.29	62.33	56.79	36.47	24.33

Në tabelën 18 jepen hollësitë e parametrave të ekspozimit sistemik për secilin subjekt pas marrjes të produktit referencë (Glucophage 850 mg). Subjekti numër 7 rezulton me Tmax më të lartë sesa subjektet e tjera për produktin referencë. Subjekti numër 6

rezulton me përqëndrimin maksimal Cmax më të lartë sesa subjektet e tjera për produktin Glucophage 850 mg.

Tabela 18. Parametrat e ekspozimit sistematik për produktin REFERENCË

Subjekti	AUC₀₋₁₄ (ng x orë/mL)	AUC_{0-inf} (ng x orë/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (orë)
1	13989	14361	1852	2.5
2	8466	9318	1234	3.0
3	8602	8973	1535	1.5
4	11257	11689	1947	1.5
5	9936	10509	1493	2.5
6	11904	12698	2364	1.0
7	18633	21204	1704	5.0
8	7605	8103	1271	2.0
9	11945	13117	1772	3.0
10	12505	12998	2029	2.5
11	9460	9827	1707	2.0
12	8992	9576	1329	1.5
13	8104	9049	1478	2.0
14	7738	8155	1209	2.0
15	12185	12539	1933	2.0
16	12185	12855	1873	3.0
17	12169	13071	1842	2.5
18	7071	7608	1263	1.5
19	14719	16004	2043	4.0
20	11736	12755	1814	2.5
Mesatare	10960.05	11720.45	1684.60	2.38
DS	2860.36	3223.83	321.10	0.93
GS	639.59	720.87	71.80	0.20

Në tabelën 19 paraqiten parametrat farmakokinetikë të bioekuivalencës për secilin subjekt pas marrjes të produktit test (Glucophage 850 mg). Evidentohet sërish subjekti numër 7 me Tmax më të lartë sesa subjektet e tjera për produktin test (Metformine e prodhimit vendas). Subjekti numër 15 rezulton me përqëndrimin maksimal (Cmax) më të lartë sesa subjektet e tjera për produktin Metformine 850 mg.

Në figurën 11 ilustron në shkallë origjinale varësia e përqëndrimit plazmatik ndaj kohës për secilin subjekt pas administrimit të formulimeve referencë dhe test. Në figurën 12 paraqitet plotimi i përqëndrimit plazmatik ndaj kohës në shkallë logaritmike log₁₀ për secilin subjekt për të dy formulimet.

Tabela 19. Parametrat e ekspozimit sistemik për produktin TEST

Subjekti	AUC₀₋₁₄ (ng x orë/mL)	AUC_{0-inf} (ng x orë/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (orë)
1	11714	11891	1979	2.5
2	6821	7196	1307	1.5
3	12344	12653	2406	2.0
4	9582	10132	1444	2.0
5	11870	12498	2177	3.0
6	14178	15687	1929	2.5
7	19536	22134	2380	4.0
8	7168	7566	1002	1.5
9	7872	8537	1134	2.0
10	8159	8447	1438	3.0
11	8983	9371	1385	3.0
12	9880	10286	2101	1.5
13	10056	11136	1712	2.0
14	9584	10141	1469	2.5
15	16388	16742	2820	2.5
16	14254	14876	2479	1.5
17	12687	13906	1737	3.0
18	8166	8966	1211	2.0
19	9849	10816	1457	2.5
20	10222	11030	1868	2.0
Mesatare	10965.65	11700.55	1771.75	2.33
DS	3233.64	3598.39	503.38	0.65
GS	723.06	804.62	112.55	0.14

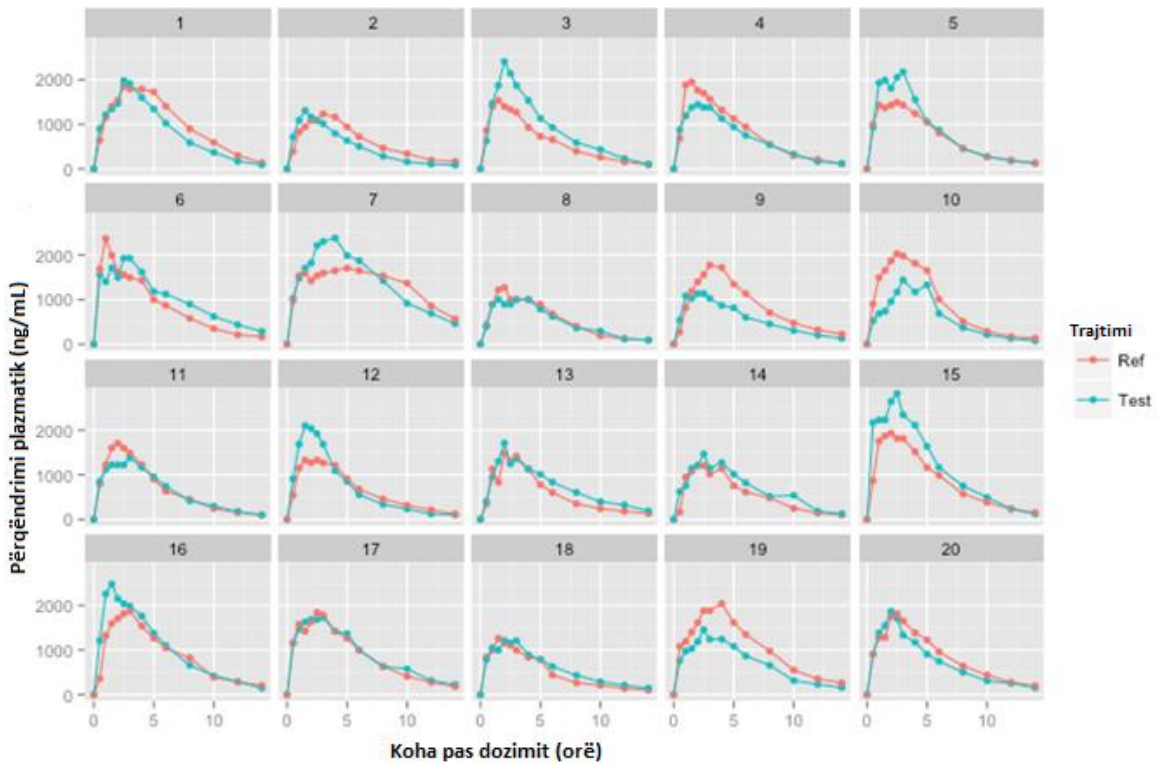


Figura 11. Lakorja përqëndrim plazmatik – kohë e metforminës për secilin subjekt pas administrimit të dy formulimeve (në shkallë origjinale).

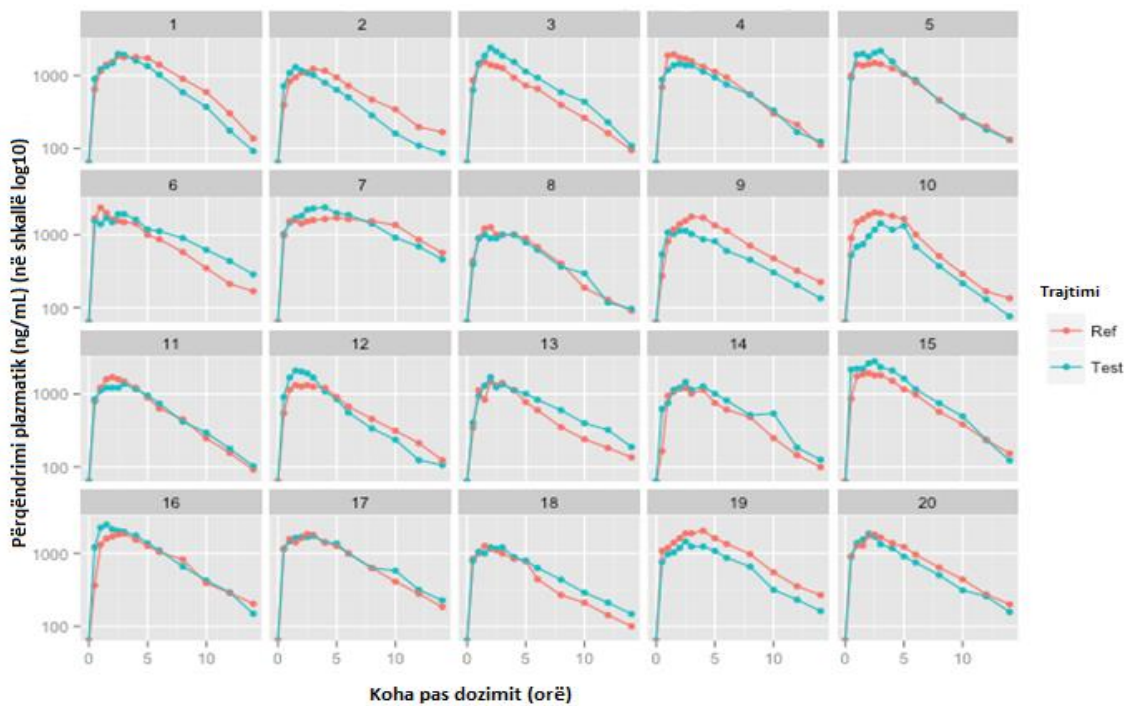


Figura 12. Plotimi i përqëndrimit plazmatik ndaj kohës në shkallë logaritmike log10 për secilin subjekt për të dy formulimet.

Në tabelën 20 paraqiten vlerat mesatare të përqendrimit gjatë gjithë periudhës kohore të studimit për formulimet Glucophage dhe Metformine 850 mg.

Tabela 20. Përqëndrimi mesatar plazmatik për trajtimin test (tabletë Meformine) dhe referencë (tabletë Glucophage).

Koha (orë)	Trajtimi referencë (ng/mL)	Trajtimi test (ng/mL)
0.00	0	0
0.50	746.3	894.54
1.00	1319.16	1316.21
1.50	1426.26	1488.46
2.00	1513.20	1575.54
2.50	1543.09	1635.16
3.00	1516.77	1574.41
4.00	1376.02	1346.19
5.00	1142.80	1110.58
6.00	909.52	873.20
8.00	608.53	574.58
10.00	393.57	391.06
12.00	251.31	239.45
14.00	169.29	154.05

Në figurat 13 dhe 14 paraqiten profilet e përqendrimit mesatar plazmatik ndaj kohës për të dy formulimet respektivisht me të dhënat e patransformuara dhe të tranformuara logaritmisht. Të dhënat janë të shprehura si vlerë mesatare ± deviacion standard për 20 subjektet. Baret vertikale tregojnë deviacionin standard mesatar. Profilet e përqendrimeve mesatare janë të ngjashme për të dy formulimet.

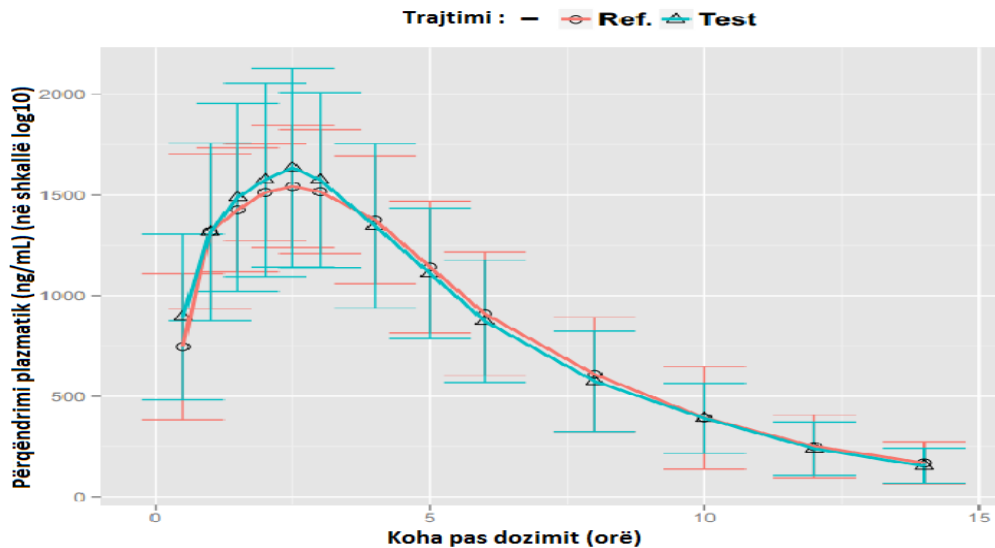


Figura 13. Profilet e përqendrimit mesatar plazmatik ndaj kohës për të dy formulimet (me deviacion standard, N=20)

Në tabelat 21 dhe 22 paraqiten respektivisht vlerat e përqëndrimeve plazmatike sipas kohës për produktet referencë dhe test për 20 subjektet.

Tabela 21. Pasqyra përmbledhëse e përqëndrimeve plazmatike (ng/mL) sipas kohës për produktin REFERENCË

Subjekti	Koha (orë)													
	0	0.50	1.00	1.50	2.00	2.50	3.00	4.00	5.00	6.00	8.00	10.00	12.00	14.00
1	0	644.9	1153.2	1407.3	1534.4	1852.0	1788.5	1788.5	1725.0	1407.3	899.1	594.1	301.9	136.7
2	0	393.9	832.4	942.0	1088.1	1088.1	1234.3	1161.2	942.0	722.8	467.0	342.8	196.6	167.4
3	0	865.1	1401.1	1535.1	1401.1	1334.1	1267.1	932.1	731.1	657.4	396.1	262.1	161.6	94.6
4	0	689.3	1883.7	1946.6	1758.0	1695.1	1569.4	1317.9	1129.4	940.8	551.0	299.6	211.6	111.0
5	0	995.6	1431.0	1368.8	1431.0	1493.2	1431.0	1244.4	1057.8	809.0	460.7	267.8	199.4	131.0
6	0	1679.9	2364.1	1990.9	1617.7	1555.4	1493.2	1431.0	995.6	871.2	578.9	348.7	211.8	168.3
7	0	971.8	1535.2	1591.5	1422.5	1535.2	1591.5	1647.9	1704.2	1647.9	1535.2	1366.2	859.1	566.2
8	0	435.7	894.0	1217.5	1271.4	1001.9	1001.9	1001.9	894.0	678.4	403.4	187.7	128.4	90.7
9	0	272.7	815.0	1187.1	1399.7	1559.2	1771.9	1718.7	1346.6	1133.9	708.6	474.7	320.5	224.9
10	0	902.0	1492.1	1653.1	1867.7	2028.6	1975.0	1814.0	1653.1	1009.3	510.4	290.5	167.1	134.9
11	0	794.7	1223.9	1599.4	1706.7	1599.4	1492.1	1223.9	902.0	633.8	451.4	247.5	156.3	92.0
12	0	545.4	1150.9	1329.0	1269.6	1329.0	1269.6	1210.3	913.4	676.0	456.3	313.9	213.0	123.9
13	0	345.7	1127.8	836.0	1478.1	1302.9	1419.7	1127.8	777.6	602.5	351.5	240.6	182.3	135.6
14	0	164.7	949.7	1079.4	1209.2	1209.2	1014.6	1144.3	755.1	612.3	482.6	249.0	145.2	99.8
15	0	868.5	1755.8	1874.1	1933.2	1814.9	1814.9	1519.2	1164.3	986.8	572.8	383.5	235.6	152.8
16	0	363.6	1322.4	1597.9	1708.1	1818.3	1873.4	1542.8	1267.3	1046.9	826.5	391.2	286.5	203.8
17	0	1157.9	1579.0	1421.1	1631.7	1842.2	1789.6	1421.1	1263.2	1000.0	631.6	410.5	278.9	184.2
18	0	842.1	1000.0	1263.2	1157.9	1105.3	1000.0	842.1	789.5	442.1	268.4	210.5	142.1	100.0
19	0	1083.9	1190.4	1403.6	1616.7	1883.2	1883.2	2043.0	1616.7	1350.3	977.3	551.0	353.8	268.5
20	0	908.5	1281.6	1281.6	1761.2	1814.5	1654.6	1388.1	1228.3	961.8	642.1	439.6	274.4	199.8
Mesatare	0	746.31	1319.17	1426.26	1513.20	1543.10	1516.78	1376.02	1142.81	909.53	608.54	393.58	251.31	169.30
DS	0	362.96	383.50	308.24	239.93	302.54	308.35	316.77	327.53	306.02	283.58	253.92	156.88	105.33
GS	0	81.16	85.75	68.92	53.65	67.64	68.94	70.83	73.23	68.42	63.41	56.78	35.07	23.55

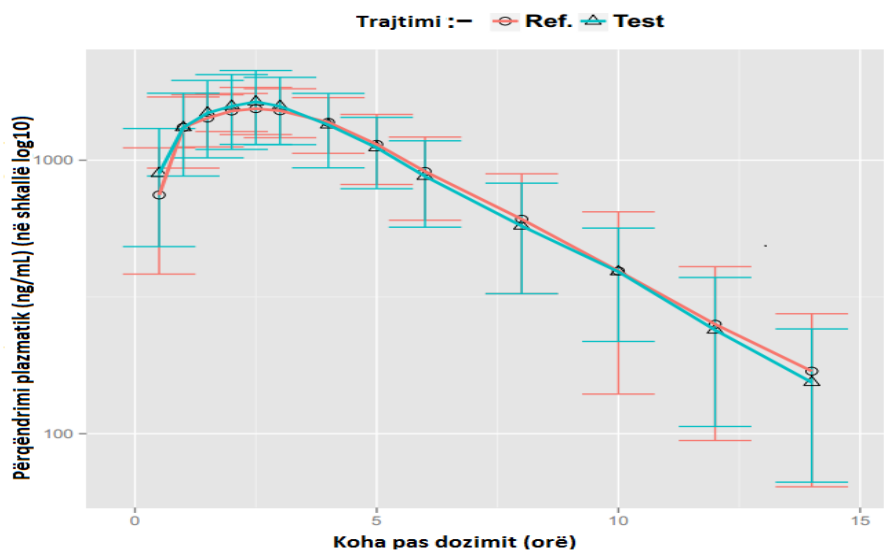


Figura 14. Profilet e logaritmit të përqëndrimit plazmatik ndaj kohës për të dy trajtimet (me deviacion standard, N=20, shkallë log10).

Tabela 22. Pasqyra përmbledhëse e përqëndrimeve plazmatike (ng/mL) sipas kohës për produktin TEST

Subjekti	Koha (orë)													
	0	0.50	1.00	1.50	2.00	2.50	3.00	4.00	5.00	6.00	8.00	10.00	12.00	14.00
1	0	899.1	1216.7	1343.8	1470.9	1979.1	1915.6	1597.9	1343.8	1026.1	587.8	371.8	174.8	92.0
2	0	715.5	1088.1	1307.4	1161.2	1088.1	1015.1	795.8	635.1	503.5	284.3	160.1	108.9	87.0
3	0	630.6	1468.1	1870.1	2406.1	2138.1	1870.1	1535.1	1133.1	932.1	590.4	436.3	228.6	108.0
4	0	877.9	1192.2	1380.8	1443.7	1380.8	1380.8	1129.4	940.8	752.2	544.7	331.0	167.6	123.6
5	0	933.4	1928.7	1990.9	1804.3	2053.1	2177.5	1555.4	1057.8	871.2	454.4	280.3	180.7	131.0
6	0	1555.4	1399.9	1711.0	1493.2	1928.7	1928.7	1617.7	1182.2	1120.0	902.3	622.4	435.8	286.5
7	0	1028.2	1478.9	1704.2	1816.9	2211.2	2300.0	2380.2	1985.9	1873.2	1422.5	915.5	690.1	459.2
8	0	392.6	894.0	1001.9	894.0	894.0	1001.9	1001.9	786.2	624.4	365.6	295.6	117.6	96.1
9	0	538.5	1080.8	1027.6	1133.9	1133.9	1027.6	868.1	815.0	602.3	453.4	304.6	203.6	134.5
10	0	526.5	687.4	741.1	955.7	1170.3	1438.5	1170.3	1331.2	687.4	370.9	215.4	129.5	75.9
11	0	848.4	1116.6	1223.9	1223.9	1223.9	1384.9	1170.3	955.7	741.1	419.2	295.8	177.8	102.7
12	0	913.4	1685.2	2100.7	2041.3	1922.6	1685.2	1091.5	854.1	557.3	337.6	236.7	123.9	106.1
13	0	404.1	952.7	1302.9	1711.5	1244.6	1361.3	1127.8	1011.1	836.0	602.5	398.2	322.4	188.1
14	0	625.3	755.1	1144.3	1209.2	1468.7	1144.3	1274.1	1014.6	819.9	515.0	541.0	184.1	125.7
15	0	2169.8	2229.0	2229.0	2643.0	2820.5	2347.3	2110.7	1637.5	1164.3	750.2	495.9	235.6	123.3
16	0	1212.2	2259.1	2479.5	2148.9	2038.7	1983.6	1763.2	1377.5	1102.0	661.2	424.2	292.0	148.7
17	0	1157.9	1473.8	1631.7	1684.3	1684.3	1737.0	1421.1	1368.5	1000.0	631.6	578.9	315.8	226.3
18	0	789.5	1052.7	1000.0	1210.6	1157.9	1210.6	894.8	789.5	631.6	436.8	289.4	210.5	147.3

19	0	764.1	977.3	1030.6	1190.4	1456.9	1243.7	1243.7	1083.9	870.7	657.6	316.5	231.2	162.0
20	0	908.5	1388.1	1548.0	1867.7	1707.9	1334.9	1175.0	908.5	748.7	503.5	311.7	258.4	157.2
Mesatare	0	894.55	1316.22	1488.46	1575.54	1635.17	1574.41	1346.20	1110.59	873.21	574.59	391.06	239.45	154.05
DS	0	411.21	441.14	468.35	480.74	492.66	434.32	408.46	323.97	304.13	249.56	173.61	133.13	87.55
GS	0	91.94	98.64	104.72	107.49	110.16	97.11	91.33	72.44	68	55.8	38.81	29.77	19.57

Në figurën e mëposhtme (figura 15) paraqitet plotimi i përqendrimit plazmatik ndaj kohës për secilin subjekt pas marrjes të formulimeve test (Metformine) dhe referencë (Glucophage). Transformimi \ln i vlerave të përqendrimeve plazmatike ndaj kohës paraqitet në figurën 16 për 20 subjektet pas administrimit të produktit referencë (R) dhe test (T).

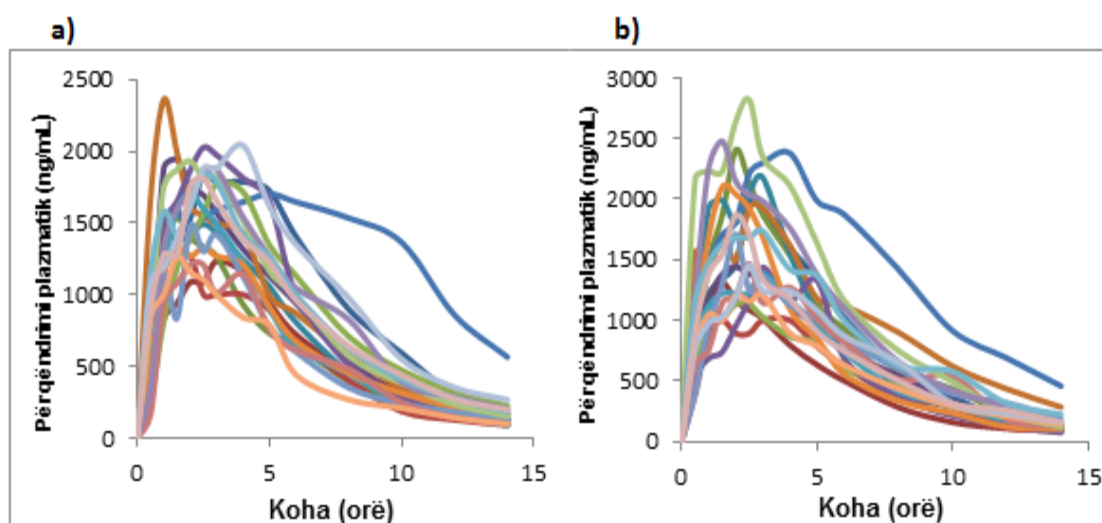


Figura 15. Plotimi i përqendrimit plazmatik ndaj kohës për 20 subjektet pas administrimit të produktit referencë (a) dhe test (b).

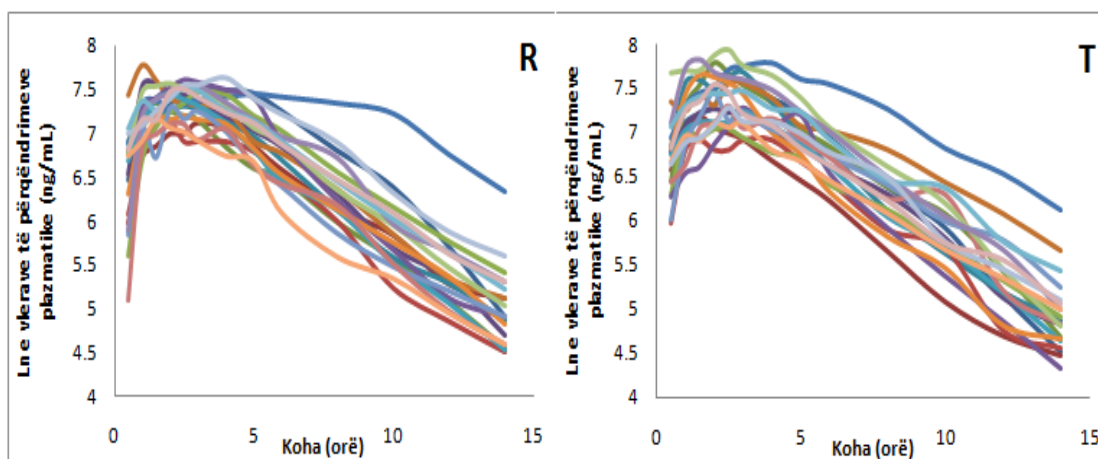


Figura 16. Plotimi i vlerave të transformuara të përqëndrimit plazmatik ndaj kohës për 20 subjektet pas administrimit të produktit referencë (R) dhe test (T).

Vlerat mesatare të parametrave farmakokinetikë plazmatikë prezantohen në tabelën 23. Siç vihet re, vlera mesatare e përqëndrimit plazmatik e tejkalon kufirin e sipërm të matjes (1600 ng/mL). Mesatarja dhe deviacioni standard i parametrave farmakokinetikë për të dy formulimet janë të afërta, duke treguar që profilet plazmatike të gjeneruara nga tableta Metformine janë të krahasueshme me tabletën Glucophage.

Tabela 23. Parametrat farmakokinetikë të metforminës (deviacion standard mesatar; N=20) pas administrimit oral të dy formulimeve.

Parametrat farmakokinetikë	Vlerat mesatare ± DS (CV%) Referencë-R	Vlerat mesatare ± DS (CV%) Test-T
C _{max} (ng/mL)	1684.70 ± 321.02 (19.05)	1771.75 ± 503.53 (28.42)
AUC _{0-t} (ng x orë/mL)	10960 ± 2860.33 (26.10)	10966 ± 3233.56 (29.49)
AUC _{0-∞} (ng x orë/mL)	11720 ± 3223.78 (27.51)	11700 ± 3598.32 (30.75)
T _{max} (orë)	2.4 ± 0.93 (39.16)	2.3 ± 0.65 (28.15)

Nuk rezultoi dallim i rëndësishëm statistikisht përse i përket sekuencave, periudhave dhe trajtimeve në rastin e C_{max} (p>0.05), (Tabela 24).

Tabela 24. Analiza e variancës (ANOVA) për C_{max} në studimin e kryqëzuar 2 x 2.

Burimi i variacionit	Shuma e katrorëve				
	dF	MS	F	Prob > F	
<i>Ndërmjet subjekteve</i>					
Efekti i sekuencës	1	0.00	0.02	0.8772	
Rezidualet	18	0.08	1.85	0.1004	
<i>Brënda subjekteve</i>					
Efekti i sekuencës	1	0.01	0.20	0.6620	
Efekti i periudhës	1	0.01	0.15	0.7018	
Rezidualet	18	0.04			
Totali	39	2.29			

Në tabelën 25 është realizuar analiza e variancës për parametrin e ekspozimit sistemik AUC₀₋₁₄. Nga vlerat vihet re se nuk ka diferenca sinjifikative në sekuencë, trajtim dhe periudhë (p>0.05).

Tabela 25. Analiza e variancës (ANOVA) për AUC₀₋₁₄ në studimin e kryqëzuar 2 x 2.

Burimi i variacionit	Shuma e katrorëve	dF	MS	F	Prob > F
<i>Ndërmjet subjekteve</i>					
Efekti i sekuencës	0.05	1	0.05	0.46	0.5065
Rezidualet	2.07	18	0.12	3.86	0.0032
<i>Brënda subjekteve</i>					
Efekti i sekuencës	0.0	1	0.00	0.01	0.9099
Efekti i periudhës	0.00	1	0.00	0.09	0.7700
Rezidualet	0.54	18	0.03		
Totali	2.66	39			

Në tabelën 26 është realizuar analiza e variancës për parametrin e ekspozimit sistemik AUC_{0-∞}. Nuk rezultoi dallim i rëndësishëm statistikisht në sekuencë, trajtim dhe periudhë (p>0.05).

Tabela 26. Analiza e variancës (ANOVA) për AUC_{0-∞} në studimin e kryqëzuar 2 x 2.

Burimi i variacionit	Shuma e katrorëve	dF	MS	F	Prob > F
<i>Ndërmjet subjekteve</i>					
Efekti i sekuencës	0.07	1	0.07	0.56	0.4638
Rezidualet	2.15	18	0.12	3.93	0.0029
<i>Brënda subjekteve</i>					
Efekti i sekuencës	0.00	1	0.00	0.02	0.8761
Efekti i periudhës	0.00	1	0.00	0.07	0.7936
Rezidualet	0.55	18	0.03		
Totali	2.77	39			

Tabela 27. Analiza statistikore e parametrave farmakokinetikë plazmatikë pas administrimit të tabletave Glucophage dhe Metformine 850 mg.

Parametri	Intervali me 90% konfidencë	
	Limiti i poshtëm	Limiti i sipërm
C_{max}	91.8	115.6
AUC_{0-14}	90.4	109.2
$AUC_{0-\infty}$	90.1	109.1
BD relativ (%)*		
C_{max}	102.7	
AUC_{0-14}	99.3	
$AUC_{0-\infty}$	99.1	

Intervale me 90% konfidencë për raportin T/R lëvizin nga 90.4-109.2 për AUC_{0-14} ; 90.1-109.1 për $AUC_{0-\infty}$; 91.8-115.6 për C_{max} , respektivisht (Tabela 27). Biodisponibiliteti relativ është llogaritur si raporti i parametrave farmakokinetik të formulimit T me parametrin korrespondues të formulimit R) x 100. BD relativ rezulton 102.7%; 99.3% dhe 99.1% respektivisht për C_{max} , AUC_{0-14} , $AUC_{0-\infty}$. Të gjitha vlerat “point estimate” të intervalit me 90% konfidencë për raportin e parametrave plazmatikë u gjetën brenda limiteve të specifikuar të bioekuivalencës (80-125%) për të dhënat e transformuara logaritmisht. Rezultatet e studimit të BE tregojnë se nuk ka diferenca sinjifikante për parametrat farmakokinetikë midis produkteve Glucophage dhe Metformine nisur nga të dhënat plazmatike.

Në tabelën 28 dhe tabelën 29 jepen detaje për sasinë kumulative (mg), vlerat mesatare, deviacionet standarde dhe gabimet standarde për secilin individ sipas kohës respektivisht për formulimin referencë (Glucophage 850 mg) dhe test (Metformine). Subjekti numër 13 karakterizohet nga një vlerë e lartë e sasisë kumulative pas 24 orësh pas administrimit të formulimit referencë dhe test (tabela 28 dhe 29). Kjo reflekton sasinë më të lartë të përthithur të formulimeve Glucophage dhe Metformine nga subjekti në fjalë.

Tabela 28. Pasqyra përmbledhëse e sasisë kumulative (mg) sipas kohës për formulimin REFERENCË

Subjekti	Koha (orë)						
	0	2	4	6	8	12	24
1	0	85	210	210	270	326	358
2	0	60	163	276	302	331	351
3	0	66	136	179	203	228	238

4	0	92	202	263	298	333	357
5	0	137	250	337	370	429	440
8	0	49	157	305	317	332	355
9	0	42	172	245	302	392	406
10	0	102	156	188	286	312	322
11	0	34	87	87	112	129	132
12	0	61	206	281	311	348	358
13	0	84	271	312	372	419	447
14	0	48	164	235	267	267	327
15	0	98	206	262	321	363	382
16	0	97	123	282	321	369	394
17	0	90	187	249	323	356	407
18	0	49	67	108	197	209	229
19	0	25	92	196	246	295	317
20	0	109	227	318	365	409	413
Mesatare	0	73.78	170.89	240.72	287.94	324.83	346.28
DS	0	29.96	55.70	68.97	65.97	77.43	79.66
GS	0	7.06	13.13	16.26	15.55	18.25	18.78

Tabela 29. Pasqyra përmbledhëse e sasisë kumulative (mg) sipas kohës për formulimin TEST

Subjekti	Koha (orë)						
	0	2	4	6	8	12	24
1	0	68	198	267	308	342	371
2	0	137	215	262	275	300	320
3	0	149	207	308	358	379	389
4	0	96	192	223	248	279	310
5	0	21	57	141	157	197	207
8	0	44	68	136	165	203	230
9	0	66	144	189	212	233	276
10	0	49	148	200	226	226	245
11	0	57	155	222	256	282	293
12	0	105	275	332	368	397	415
13	0	50	186	399	471	544	590
14	0	67	141	259	312	350	370
15	0	154	244	319	342	388	410

16	0	32	192	280	407	463	491
17	0	0	108	253	334	362	422
18	0	71	137	196	225	249	280
19	0	69	186	293	356	426	460
20	0	114	218	281	314	352	377
Mesatare	0	74.94	170.61	253.33	296.33	331.78	358.67
DS	0	43.14	56.77	67.13	83.20	94.36	98.91
GS	0	10.17	13.38	15.82	19.61	22.24	23.31

Vlerat e ritmit të ekskretimit urinar ($\mu\text{g}/\text{min}$) për secilin subjekt, formulim dhe përkatësisht matje respektive në kohë janë të paraqitura në tabelat 30 dhe 31. Ndër të tjera jepen vlerat mesatare, deviacionet standarde dhe gabimet standarde për secilin individ sipas kohës.

Tabela 30. Pasqyra përmbledhëse e ritmit të ekskretimit urinar ($\mu\text{g}/\text{min}$) sipas kohës për formulimin REFERENCE

Subjekti	Koha (orë)						
	0	1	3	6	8	12	24
1	0	711	1037	4	499	232	45
2	0	500	860	942	217	237	166
3	0	546	589	355	202	104	20
4	0	764	918	513	290	146	34
5	0	1145	934	730	273	490	97
8	0	409	896	1240	98	61	32
9	0	352	1082	607	477	374	19
10	0	847	455	262	817	108	14
11	0	285	440	0	210	72	4
12	0	511	1208	626	246	155	14
13	0	697	1557	345	501	198	38
14	0	398	969	593	263	180	84
15	0	819	897	470	486	176	27
16	0	808	217	1325	330	198	35
17	0	749	812	518	613	136	71
18	0	406	156	340	741	49	29
19	0	205	563	862	422	203	31
20	0	911	984	758	387	185	5
Mesatare	0	614.61	809.67	582.78	392.89	183.56	42.50
DS	0	250.35	350.98	360.67	194.67	108.01	39.96

GS	0	59	82.73	85.01	45.88	25.46	9.42
----	---	----	-------	-------	-------	-------	------

Tabela 31. Pasqyra përmbledhëse e ritmit të ekskretimit urinar ($\mu\text{g}/\text{min}$) sipas kohës për formulimin TEST

Subjekti	Koha (orë)						
	0	2	4	6	8	12	24
1	0	563	1087	576	340	142	40
2	0	1139	649	396	104	216	163
3	0	1239	487	841	418	86	14
4	0	796	806	255	210	128	44
5	0	174	304	699	130	336	83
8	0	367	201	567	243	158	37
9	0	547	655	372	195	85	61
10	0	412	824	427	218	118	26
11	0	477	818	554	283	110	15
12	0	877	1411	477	300	120	25
13	0	413	1133	1781	595	307	64
14	0	556	622	977	448	158	27
15	0	1281	756	625	186	192	31
16	0	264	1333	740	1056	234	38
17	0	0	897	1214	670	118	84
18	0	591	548	491	243	101	43
19	0	578	974	888	529	288	48
20	0	951	868	519	279	158	35
Mesatare	0	623.61	798.50	688.83	358.17	169.72	48.78
DS	0	359.06	319.89	361.60	234.87	76.88	34.85
GS	0	84.63	75.40	85.23	55.36	18.12	8.21

Në tabelat vijuese (tabela 32 dhe tabela 33) jepen vlerat e ritmit të ekskretimit maksimal (dD_u/dt) dhe sasisë kumulative pas 24 orësh ($D_{\text{cum}0-24}$) për çdo formulim dhe subjekt.

Tabela 32. Pasqyra përmbledhëse e ritmit të ekskretimit maksimal ($\mu\text{g}/\text{min}$) (dD_u/dt) për formulimet R dhe T.

Subjekti	Ritmi i ekskretimit maksimal ($\mu\text{g}/\text{min}$)	
	Formulimi R	Formulimi T
1	1037	1087
2	942	1139
3	589	1239
4	918	806
5	1145	699
8	1240	567
9	1082	655
10	847	824
11	440	818
12	1208	1411
13	1557	1781
14	969	977
15	897	1281
16	1325	1333
17	812	1214
18	741	591
19	862	974
20	984	951
Mesatare	977.50	1019.28
DS	264.14	321.90
GS	62.26	75.87

Tabela 33. Pasqyra përmbledhëse e sasisë kumulative pas 24 orësh ($D_{cum0-24}$) për formulimet R dhe T.

Subjekti	Sasia kumulative pas 24 orësh ($D_{cum0-24}$) (mg)	
	Formulimi R	Formulimi T
1	358	371
2	351	320
3	238	389
4	357	310
5	440	207
8	355	230
9	406	276
10	322	245
11	132	293
12	358	415
13	447	590
14	327	370
15	382	410
16	394	491
17	407	422
18	229	280
19	317	460
20	413	377
Mesatare	346.28	358.67
DS	79.66	98.91
GS	18.78	23.31

Tabela 34. Përmbledhje e parametrave farmakokinetikë urinarë të metforminës pas administrimit të formulimeve R dhe T.

Parametri farmakokinetik	Vlerat mesatare ± DS (CV%) Formulimi R	Vlerat mesatare ± DS (CV%) Formulimi T
	(dDu/dt) _{max} (µg/min)	977.50 ± 264.14 (27.02%)
$D_{cum0-24}$ (mg)	346.28 ± 79.66 (23.01%)	358.67 ± 98.91 (27.58%)
$D_{cum0-\infty}$ (mg)	446.27 ± 104.88 (23.50%)	458.60 ± 153.86 (33.55%)
$T_{1/2}$ (orë)	3.258 ± 0.639 (19.599)	3.11 ± 0.668 (21.481)
Kel (orë ⁻¹)	0.221 ± 0.047 (21.39)	0.234 ± 0.058 (24.644)

Vlerat mesatare të sasisë kumulative të metforminës të ekskretuar ($D_{cum0-24}$), sasisë totale të ekskretuar ($D_{cum0-\infty}$) dhe të ritmit të eliminimit $[(dDu/dt)_{max}]$ për të dy formulimet jepen në tabelën 34. Mesatarja e vlerave $U_{cum0-24}$ ishte 358.7 mg dhe 346.3 mg për formulimet test dhe referencë, respektivisht. Sasi të maksimale të ekskretuara në intervalet kohore $(dDu/dt)_{max}$ nga formulimet Glucophage dhe Metformine ishin 977.50 dhe 1019 $\mu\text{g}/\text{min}$, respektivisht. Mesatarja dhe deviacioni standard i parametrave farmakokinetikë për të dy formulimet janë të afërta, duke treguar që profilet urinare të gjeneruara nga tableta Metformine janë të krahasueshme me tabletën Glucophage. Pas administrimit oral të formulimeve vihen re profile shumë të ngjashme të vlerave mesatare të sasisë kumulative të metforminës të ekskretuar përkundrejt kohës (figura 17).

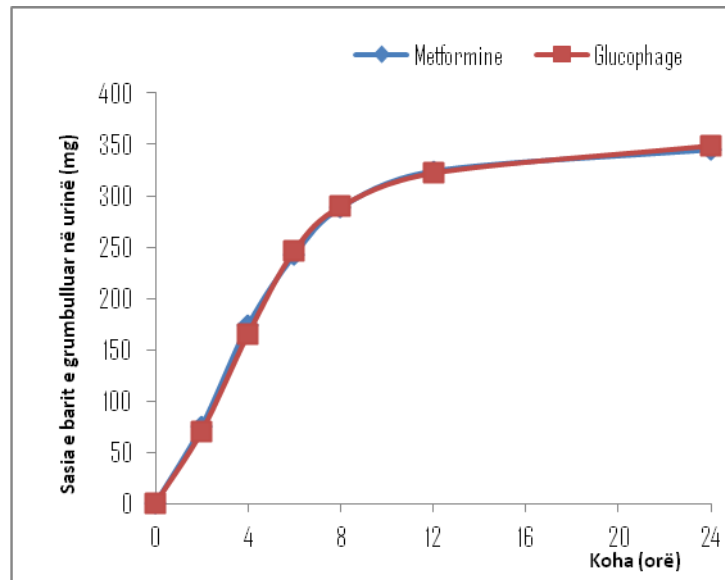


Figura 17. Plotimi linear i sasisë kumulative (mg) të metforminës të ekskretuar në urine ($D_{cum0-24}$) gjatë 24 orëve pas administrimit oral të tabletave [produktet Glucophage (R) dhe Metformine (T), N=18].

Ritmi i eliminimit urinar i metforminës (dDu/dt) për secilin produkt jepet në figurën 18. U vërejt që të dy formulimet treguan një ritëm maksimal ekskretimi pas 2.4 dhe 2.3 orësh (T_{max}) përkundrejt pikës kohore të mesit. Është e evidente se formulimet Glucophage dhe Metformine shfaqin një ritëm të ngjashëm eliminimi, i cili tregon një ngjashmëri në biodisponibilitetin e tyre.

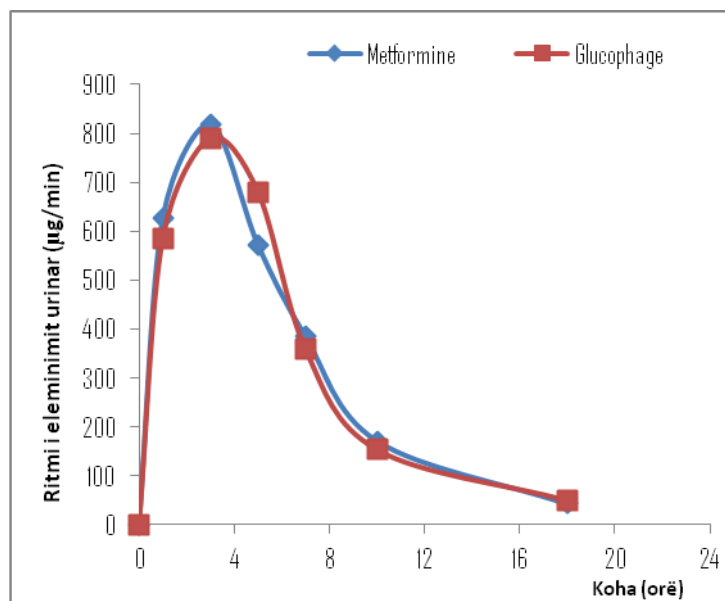


Figura 18. Plotimi linear i ritmit të eliminimit urinar ($\mu\text{g}/\text{min}$) gjatë 24 orëve pas administrimit oral të tabletave metforminë [produktet Glucophage (R) dhe Metformine (T), N=18].

Nuk rezultoi dallim i rëndësishëm statistikiisht përsa i përket sekuencave, periudhave dhe trajtimeve në rastin e ritmit të eliminimit ($p > 0.05$), (Tabela 35).

Tabela 35. Analiza e variancës (ANOVA) për ritmin e eliminimit për studimin e kryqëzuar 2 x 2.

Burimi i variacionit	Shuma e katrorëve	dF	MS	F	Prob > F
<i>Ndërmjet subjekteve</i>					
Efekt i sekuencës	0.03	1	0.03	0.27	0.6095
Rezidualet	1.93	16	0.12	1.65	0.1620
<i>Brënda subjekteve</i>					
Efekt i sekuencës	0.02	1	0.01	0.13	0.7204
Efekt i periudhës	0.08	1	0.08	1.03	0.3248
Rezidualet	1.16	16	0.07		
Totali	3.21	35			

Tabela 36. Analiza e variancës (ANOVA) për sasinë kumulative pas 24 orësh ($D_{cum0-24}$) për studimin e kryqëzuar 2 x 2.

Burimi i variacionit	Shuma e				
	katrorëve	dF	MS	F	Prob > F
<i>Ndërmjet subjekteve</i>					
Efekti i sekuencës	0.00	1	0.00	0.01	0.9259
Rezidualet	1.67	16	0.10	1.68	0.1545
<i>Brënda subjekteve</i>					
Efekti i sekuencës	0.01	1	0.01	0.16	0.6931
Efekti i periudhës	0.12	1	0.12	1.89	0.1879
Rezidualet	0.99	16	0.06		
Totali	2.79	35			

Tabela 37. Analiza e variancës (ANOVA) për sasinë totale të ekskretuar $D_{cum0-\infty}$ për studimin e kryqëzuar 2 x 2.

Burimi i variacionit	Shuma e				
	katrorëve	dF	MS	F	Prob > F
<i>Ndërmjet subjekteve</i>					
Efekti i sekuencës	0.00	1	0.00	0.01	0.9868
Rezidualet	2.11	16	0.13	2.01	0.0860
<i>Brënda subjekteve</i>					
Efekti i sekuencës	0.0	1	0.00	0.01	0.9263
Efekti i periudhës	0.14	1	0.14	2.14	0.1627
Rezidualet	1.05	16	0.07		
Totali	3.30	35			

Në tabelat 36 dhe 37 nuk vihen re diferenca sinjifikative në sekuencë, periudhë dhe trajtim në rastin e sasisë kumulative pas 24 orësh dhe sasisë totale të ekskretuar ($p > 0.05$).

Tabela 38. Analiza statistikore e parametrave farmakokinetikë urinarë të metforminës pas administrimit të dy formulimeve.

Parametri farmakokinetik	Raporti i mesatares gjeometrike (T/R) %	Intervali me 90% konfidencë	
		Limiti i poshtëm %	Limiti i sipërm %
$D_{cum0-24}$	103.5	89.4	119.5
$D_{cum0-\infty}$	100.6	86.8	117
$(dDu/dt)_{max}$	103.2	88.3	120.9

Intervalet me 90% konfidencë për raportin T/R lëvizin nga 89.4-119.5 (point estimate 103.5) për D_{uc} , 86.8-117 (point estimate 100.6) për $D_{u\infty}$, 88.3-120.9 (point estimate 103.2) për $(dD_{u}/dt)_{max}$, respektivisht (Tabela 38). Sipas protokollit të studimit, hipoteza e bioekuivalencës të formulimeve u pranua në qoftë se intervali me 90% konfidencë i raportit të mesatareve gjeometrike të testit ndaj referencës përfshihej brënda intervalit të pranimit 80-125% për D_{uc} , $D_{u\infty}$ dhe $(dD_{u}/dt)_{max}$ të transformuar logaritmisht. Rezultatet e studimit të BE tregojnë se nuk ka diferenca sinjifikante për parametrat farmakokinetikë midis produkteve Glucophage dhe Metformine bazuar tek të dhënat urinare.

7.3 Rezultatet e disolucionit

Pas matjes në spektrofotometër UV-Vis të tretësirave të punës me përqëndrimet 1.7 $\mu\text{g/mL}$, 2.125 $\mu\text{g/mL}$, 3.4 $\mu\text{g/mL}$, 4.25 $\mu\text{g/mL}$, 5.1 $\mu\text{g/mL}$, 6.8 $\mu\text{g/mL}$ dhe 8.5 $\mu\text{g/mL}$ u përftua kurba e kalibrimit në bufer fosfat pH 6.8 (Figura 19). Kurba e kalibrimit u përftua nga plotimi i raportit të absorbancës versus përqëndrimin e metforminës. Mostrat u përgatitën dhe u matën vetëm një herë brënda ditës. Kurba e kalibrimit është ndërtuar për çdo seri matjesh nga mesatarja e të paktën dy tretësirave ujore për çdo përqëndrim. Kurba e kalibrimit ishte lineare në diapazonin e dhënë ($R^2 = 0.9979$).

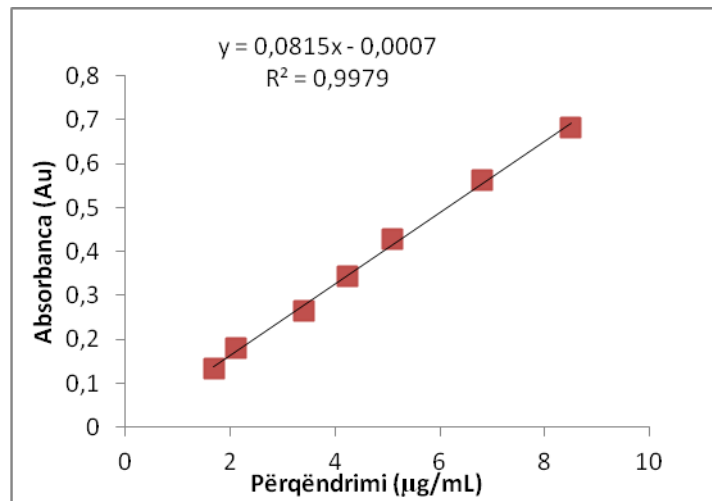


Figura 19. Kurba e kalibrimit për metforminën në bufer fosfat pH 6.8.

Në tabelën 39 paraqitën përqindjet mesatare të metforminës të çliruar (vlerat e disolucionit) sipas kohës për tabletat Glucophage, Siofor dhe Metformine 850 mg në bufer fosfat në pH 6.8. Pas minutit të 15 vihet re një disolucion më i shpejtë i tabletës Metformine të prodhuar nga kompania Profarma krahasuar me dy formulimet e tjera. Në minutën e 45 (kohë farmakopeale e përcaktimit të disolucionit) vlerat e disolucionit të tre formulimeve janë të përafërta.

Tabela 39. Përqindjet mesatare të metforminës të çliruar sipas kohës nga tre formulimet e tabletave 850 mg në bufer fosfat në pH 6.8.

Koha (minuta)	% e çliruar		
	Glucophage	Siofor	Metformine
0	0	0	0
10	43.46	34.41	48.54
15	56.27	48.96	65.13
20	68.88	64.13	79.34
30	88.57	89.26	96.01
45	101.21	100.73	99.05
60	102.35	101.44	99.05

Profilet e disolucionit në bufer fosfat me pH 6.8 në 37°C, me 100 rpm, për Glucophage, Siofor-in dhe Metforminen jepen në figurën Figurën 20. Çdo pikë përfaqëson mesataren e 12 vlerave. Në të gjitha rastet gabimi standard ishte më pak se $\pm 5\%$.

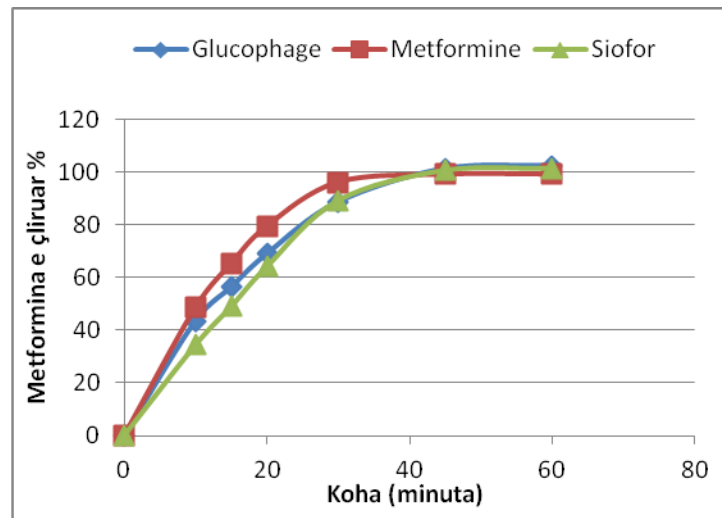


Figura 20. Profilet e disolucionit të formulimeve të ndryshme të tabletave të klorhidratit të metforminës 850 mg në bufer fosfat pH 6.8.

Pas matjes në spektrofotometër UV-Vis të tretësirave të punës me përqëndrimet 1.7- 8.5 $\mu\text{g/mL}$ u përftua kurba e kalibrimit në pH 1.2 me 0.01% LSN (Figura 21). Mostrat u përgatitën dhe u matën vetëm një herë brenda ditës. Kurba e kalibrimit është ndërtuar për çdo seri matjesh nga mesatarja e të paktën dy tretësirave ujore për çdo përqëndrim. Kurba e kalibrimit ishte lineare në diapazonin e dhënë ($R^2 = 0.993$).

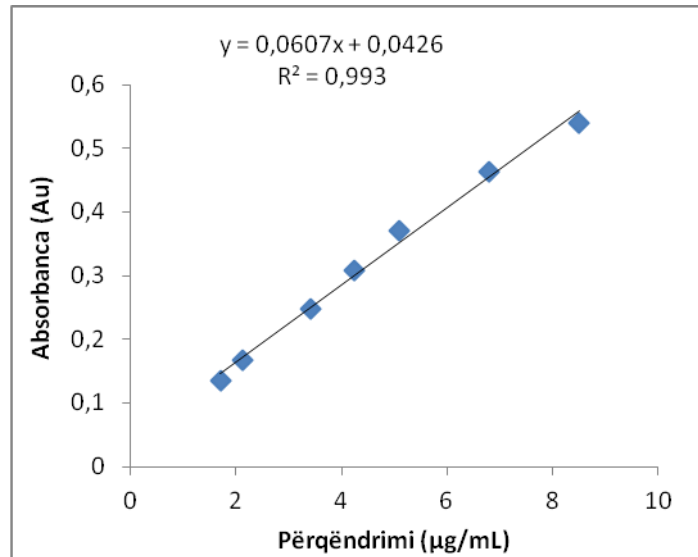


Figura 21. Kurba e kalibrimit të metforminës në bufer pH 1.2 me 0.01% LSN

Meqënëse metodat e disolucionit të metforminës në pH 1.2 dhe 4.5 nuk janë farmakopeale atëherë u realizua vlerësimi i parametrave në pH përkatëse (tabela 40 dhe tabela 42). Precizioni dhe saktësia e metodës brënda ditës u përfatuan duke analizuar gjashtë replikata të mostrave të kontrollit të cilësisë në një ditë të vetme. Precizioni dhe saktësia e metodës ndërmjet ditëve u përfatuan duke analizuar gjashtë replikata të mostrave të kontrollit të cilësisë në tre ditë të ndryshme. Precizioni (përsëritshmëria) vlerësohet nëpërmjet koeficientit të variacionit (CV) të vlerave të matjeve, të vlerësuara nëpërmjet kurbës së kalibrimit dhe shprehet në përqindje. Precizionet brënda dhe ndërmjet ditëve u llogaritën sipas formulës:

$[\text{deviacion standard} / \text{përqëndrim mesatar}] \times 100\%$.

Saktësia shpreh shmangien e vlerës së vlerësuar nëpërmjet kurbës së kalibrimit nga vlera nominale dhe llogaritet në përqindje, mbi bazën e formulës:

$[(\text{përqëndrimi mesatar i matur} - \text{përqëndrimi nominal}) / \text{përqëndrimi nominal}] \times 100\%$.

Precizioni rezultoi më pak se 2% në çdo përqëndrim. Siç tregohet në tabelën 40 vlerat e saktësisë dhe precizionit brënda dhe ndërmjet ditëve për tretësirat ujore ishin brënda kritereve të pranimit. Rezultatet e këtyre eksperimenteve çuan në përfundimin e një rikuperimi të mirë të metforminës nga tretësirat ujore pas shtimit të sasisë 0.01% LSN. Rezultatet treguan se metformina ishte e qëndrueshme gjatë gjithë periudhës të eksperimentit.

Tabela 40. Të dhënat me parametrat e validimit në bufer HCl pH 1.2 me 0.01% LSN.

Vlerësimi i parametrave në pH 1.2	Intervali 1.7-8.5 µg/mL	Përqëndrimi (µg/mL)		
		2.125	5.1	6.8
Lineariteti	r ² (mesatare ± DS)	0.9976 ± 0.007		
Saktësia	% e rikuperimit ± DS	99.64 ± 0.014	100.08 ± 0.039	100.16 ± 0.005
Precizioni %	Ndërmjet ditëve	0.8	0.3	0.7
	Brënda ditës	1.4	0.5	0.5
Qëndrueshmeria	% e rikuperimit ± DS	99.91 ± 0.12	100.02 ± 0.31	100.12 ± 0.25

Në tabelën 41 paraqiten vlerat e disolucionit në përqindje sipas kohës për të tre formulimet në bufer me pH 1.2 me 0.01% LSN.

Tabela 41. % mesatare të metforminës të çliruar sipas kohës nga tre formulimet e tabletave 850 mg në bufer me pH 1.2 me 0.01% LSN.

Koha (minuta)	% e çliruar		
	Glucophage	Siofor	Metformine
0	0	0	0
10	49.87	54.51	85.16
15	70.43	79.16	91.58
20	90.25	92.49	93.18
30	103.14	94.65	93.16
45	104.14	94.97	93.23
60	104.12	95.30	92.98

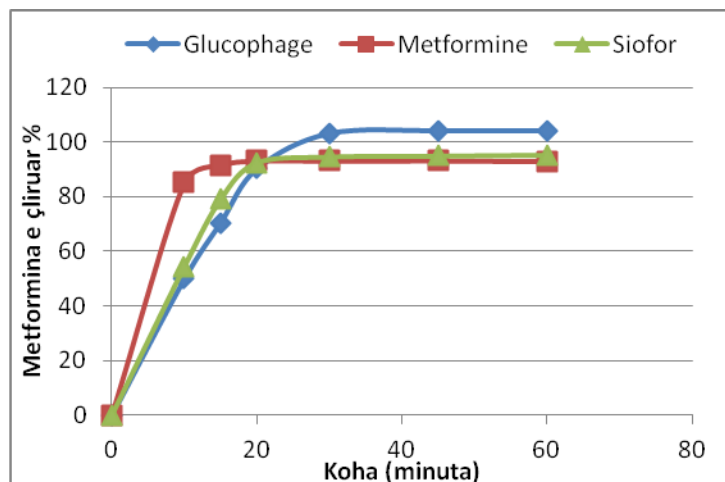


Figura 22. Profilet e disolucionit të formulimeve të ndryshme të tabletave të klorhidratit të metforminës 850 mg në bufer HCl pH 1.2 me 0.01% LSN.

Në figurën 22 paraqiten profilet e disolucionit në bufer HCl në pH 1.2, që përmban 0.01% LSN, në 37°C me 150 rpm, për të tre formulimet. Çdo pikë përfaqëson mesataren e 12 vlerave. Në të gjitha rastet gabimi standard ishte më pak se $\pm 5\%$.

Në figurën 23 paraqitet kurba e kalibrimit të metforminës në bufer pH 4.5 me 0.01% LSN. Kurba e kalibrimit ishte lineare në diapazonin e dhënë ($R^2 = 0.9994$).

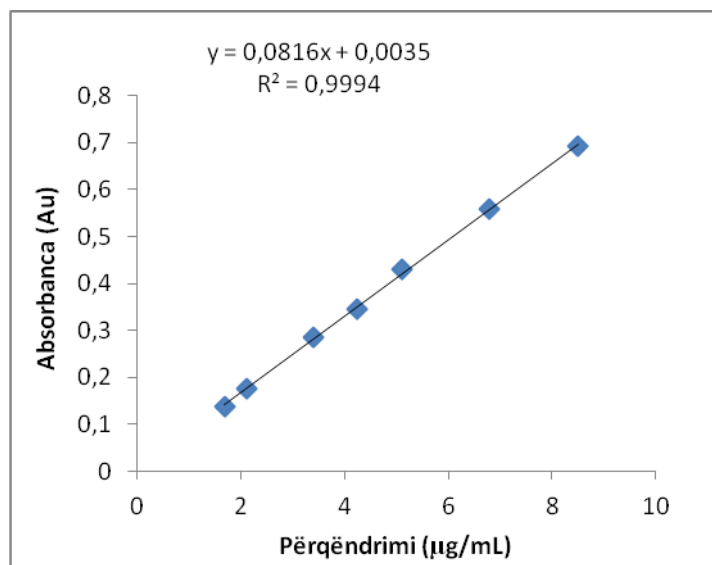


Figura 23. Kurba e kalibrimit të metforminës në bufer pH 4.5 me 0.01% LSN

Siç tregohet në tabelën 42 vlerat e parametrave në pH 4.5 me 0.01 % LSN brënda dhe ndërmjet ditëve për tretesirat ujore ishin brenda kritereve të pranimit. Rezultatet treguan se metformina ishte e qëndrueshme gjatë gjithë periudhës të eksperimentit.

Tabela 42. Të dhënat me parametrat e validimit në bufer acetat pH 4.5 me 0.01% LSN

Vlerësimi i parametrave në pH 4.5	Intervali 1.7-8.5 µg/mL	Përqëndrimi (µg/mL)		
		2.125	5.1	6.8
Lineariteti	r ² (mesatare ± DS)	0.999 ± 0.0035		
Saktësia	% e rikuperimit ± DS	99.87 ± 0.018	102.87 ± 0.031	100.77 ± 0.040
Precizioni (%)	Ndërmjet ditëve	0.2	0.5	0.3
	Brënda ditës	0.9	0.6	0.6
Qëndrueshmeria	% e rikuperimit ± DS	100.05 ± 0.37	99.88 ± 1.24	99.66 ± 0.42

Në tabelën 43 paraqiten vlerat e disolucionit në përqindje sipas kohës për të tre formulimet në bufer me pH 4.5 me 0.01% LSN dhe 150 rpm.

Tabela 43. Përqindjet mesatare të metforminës të çliruar sipas kohës nga tre formulimet e tabletave 850 mg në bufer acetat në pH 4.5 me 0.01% LSN.

Koha (minuta)	% e çliruar		
	Glucophage	Siofor	Metformine
0	0	0	0
10	54.90	62.03	67.28
15	73.16	84.58	88.36
20	90.63	97.02	100.03
30	103.61	100.43	101.95
45	104.19	100.37	101.93
60	104.02	99.67	101.84

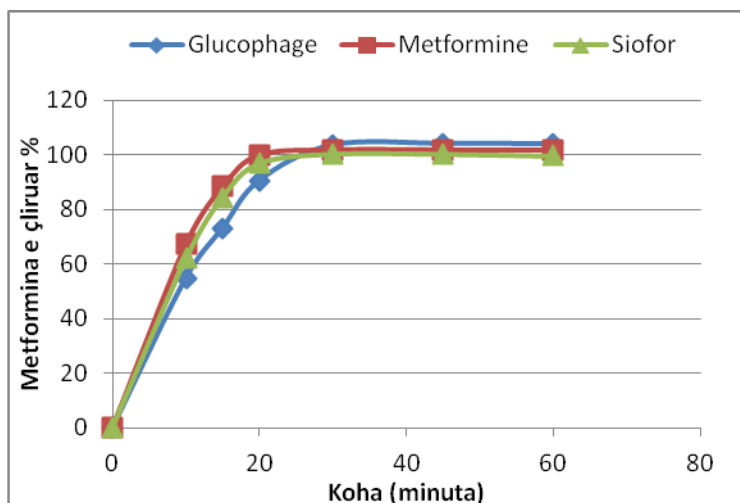


Figura 24. Profilet e disolucionit të formulimeve të ndryshme të tabletave të klorhidratit të metforminës 850 mg në bufer acetat pH 4.5 me 0.01% LSN.

Në figurën 24 paraqiten profilet e disolucionit në bufer acetat pH 4.5, që përmban 0.01% LSN, në 37°C me 150 rpm, për të tre formulimet. Çdo pikë përfaqëson mesataren e 12 vlerave. Në të gjitha rastet gabimi standard ishte më pak se $\pm 5\%$.

Pas llogaritjeve të faktorëve të diferencës dhe ngjashmërisë të Sioforit dhe Metformines përkundrejt formulimit referencë Glucophage për të tre vlerat e pH, u përfutuan rezultatet e paraqitura në tabelën 44.

Tabela 44. Krahasimi i formulimeve të metforminës në vlerat e ndryshme të pH.

Formulimi	pH 1.2			pH 4.5			pH 6.8		
	% dis.	f1	f2	% dis.	f1	f2	% dis.	f1	f2
Siofor	+	7	61	+	11	53	+	8	60
Metformine	++	28*	31*	++	17*	45*	+	12	54

(+) Së paku 85% e barit çlirohet brënda 30 minutash ose më pak (të tretshme)

(++) Së paku 85% e barit çlirohet brënda 15 minutash ose më pak (shumë të tretshme)

(*) dështon f1 dhe f2

f1 nga 0-15 garanton diferencë të vogël

f2 > 50 tregon ngjashmëri kurse f2 < 50 tregon jo ngjashmëri

8. DISKUTIMI

Bari xhenerik është një produkt farmaceutik, i cili ka për qëllim të jetë i shkëmbyeshëm me produktin inovator, që tregëtohet pas afatit të skadencës të patentës. Barnat xhenerike shpesh janë po aq efektive, por më të lirë sesa inovatorët përkatës. Për shkak të kostos të ulët, barnat xhenerike janë të vetmet barna prej të cilave grupet sociale kanë akses. Në shumicën e rasteve, çmimet e ulta të barnave xhenerike lidhen me faktin se fabrikuesit e tyre nuk shpenzojnë për zbulimin e barit dhe provat klinike, të cilat përdoren për të demonstruar sigurinë dhe efikasitetin e tyre. Megjithatë, agjensitë rregullatore kërkojnë nga fabrikuesit e barnave xhenerikë të provojnë që produktet e tyre janë bioekuivalente me produktin inovator dhe për rrjedhojë të shkëmbyeshëm. Si standardi i artë i vlerësimit të shkëmbyeshmërisë midis barit xhenerik dhe inovator shërben studimi i ekuivalencës in vivo ose bioekuivalencës (91). Studimi i bioekuivalencës in vivo gjithashtu përbën një metodë objektive dhe shkencore për të konfirmuar ose hedhur poshtë dyshimet lidhur me performancën e një produkti farmaceutik në praktikën klinike.

Sipas specifikimit të FDA/USA, vlerësimi i BD përfshin përcaktimin e sasisë së barit të përthithur dhe ritmin për këtë proces (38). Ndërsa BE i referohet studimit të BD të dy formëdozave që përmbajnë të njëjtën lëndë vepruese në sasi të njëjtë, parametrat farmakokinetikë duhet të reflektojnë procesin e përthithjes (83). Shkalla e përthithjes është një karakteristikë kryesore e formulimit të barit, si e tillë AUC është një parametër i rëndësishëm për studimin e BE (92). Gjithashtu, dy parametrat e tjerë, Cmax dhe Tmax, konsiderohen karakteristika të rëndësishme të profilit plazmatik dhe mund të prekin përdorimin terapeutik të një bari (93). Objektivi më i rëndësishëm i bioekuivalencës është garantimi i sigurisë dhe efikasitetit të barnave xhenerike. Kur dy formulime të ndryshme të të njëjtës lëndë vepruese janë ekuivalente në ritëm dhe shkallë përthithje në të cilën lënda vepruese bëhet e vlefshme në vendin e veprimit, dy produkte janë bioekuivalente dhe mund të konsiderohen ekuivalente terapeutikë (94). Provat e BE përdoren për vlerësimin final të performancës të produktit dhe për të vlerësuar besueshmërinë e përputhjes midis produkteve referencë dhe xhenerik (95). Për të paraqitur BE, komitete dhe organizata të ndryshme ndërkombëtare kanë propozuar krahasimin e produkteve në kushte eksperimentale të përcaktuara. Pas provës klinike është thelbësore të mos vërehen diferenca sinjifikante. Kjo nënkupton vendosjen e disa kufijve përpara deklarimit të BE. Këto kufij varen nga natyra e barit, popullata dhe pikat fundore klinike. Në përgjithësi pranohet që për parametrat farmakokinetikë të ketë një kufi 80-125% për të dhënat e transformuara logaritmisht.

Metformina, e cila përthithet ngadalë dhe pjesërisht nga zorra, merret nga goja në formën e tabletave 500, 850 ose 1000 mg, zakonisht me një doze 2 g (maksimumi 3 g) në ditë. Ajo i përket klasës së III të barnave. Metformina është shumë e tretshme, por ka përshkueshmëri të ulët në membranat biologjike (96). Ajo ka një bazë hidrofilike me një koeficient ndarjeje, log P (n-oktanol / ujë tampon pH 7.4), prej -1.43. Metformina është e tretshme në raportin 1:2 në ujë. Tretshmëria e saj është më e madhe se 100 mg/mL në ujë Milli-Q, 0.1N HCl, buferët fosfatë në pH 4.5, pH 6.8 dhe pH 9.5. Doza më e lartë e metforminës në tabletë (1000 mg) është e tretshme në 250 ml tretësirë ujore në diapazonin 1-7.5. Vlera pKa e metforminës (11.5) është jashtëzakonisht e lartë. Për rrjedhojë, ajo gjendet në formën e jonizuar, kryesisht si kation në traktin gastrointestinal

dhe në pH fiziologjik. Lipofilizmi dhe shkalla e jonizimit të metforminës sygjerojnë që transporti nëpër membranën qelizore mund të jetë i kufizuar. Studimet me qelizat Caco-2 demonstrojnë një ritëm të ulët të transportit të metforminës (97) dhe një koeficient përshkueshmërie prej 5.5×10^{-6} cm/s në pH 7.4 (98), i cili është më i ulët sesa barnat referencë të klasës së I (41.9×10^{-6} cm/s).

Metoda analitike për përcaktimin e metforminës në plazmë dhe urinë

Në përgjithësi analiza e metforminës, në metodat e përshkruara, bëhet me kromatografi me fazë reverse duke përdorur një fazë të palëvizshme jo-polare (p.sh. kolona RP8, RP18), fazë të lëvizshme polare dhe një agjent jono-shkëmbyes. Përqëndrimet e metforminës në plazmë dhe urinë u përcaktuan nga një metodë HPLC me një agjent jono-shkëmbyes e zhvilluar në laboratorin e Lëndëve Biomjekësore dhe Eksperimentale siç shpjegohet në seksionin eksperimental.

Për përcaktimin e metforminës në plazmë janë zhvilluar shumë metoda, shumica e të cilave bazohet në HPLC me detektim spektrofotometrik në diapazonin 230–240 nm (Tabela 45). Metformina mund të eluohet duke përdorur kolonën e silikës (99,100), ciano (101), C18 (102 – 110), fenil (111,112,113) ose kolonat me këmbim-kationik (114,115, 116) me fazë të lëvizshme që përmban përzierje buferi fosfat (pH 2.4–7.5) dhe acetonitril. Metodat e paratrajtimit të mostrës përfshijnë precipitim proteinash (117,104, 111,105,112,108,100,101,110,116), ekstraktim me fazë të ngurtë (106,107,113), derivatizim të metforminës (118,119), ultrafiltrim (115), dhe ekstraktim lëng-lëng të ndjekur nga ekstraktimi i anasjelltë (99,109). Për shkak të polaritetit të lartë të metforminës, e cila e vështirëson ekstraktimin nga lëngjet biologjike përmes tretësve organikë, precipitimi i proteinave është metoda më e zakonshme që përdoret për përgatitjen e mostrave plazmatike. Sipas raportimeve është treguar se përdorimi i kësaj procedure të thjeshtë dhe të thjeshtë sakrifikon ndjeshmërinë dhe nuk është efikase për largimin e lëndëve endogjene (99,107,115). Për të mënjanuar këto probleme, David dhe bashkëpunëtorët e tij (118) dhe Tache (119) përshkruan metoda të bazuara në reaksionet e derivatizimit; Gabr dhe bashkëpunëtorët e tij (103); Amini (99) dhe Keal e Somogyi (109) përshkruan ekstraktimin lëng-lëng të ndjekur nga ekstraktimi i anasjelltë; AbuRuz dhe bashkëpunëtorët e tij (106,107) përshkruan procedurën e ekstraktimit në fazë të ngurtë me agjent jono çiftëzues, por këto metoda janë shumë të komplikuar dhe kërkojnë shumë kohë për zbatimin e provave të BE. Në studimin tonë, precipitimi i proteinave me acetonitril u gjet tepër efektiv për të mënjanuar lëndët endogjene, ku këto të fundit kanë një kohë retensionimi më të vogël se 4 minuta dhe nuk interferojnë me metforminën. Rezultatet e këtyre eksperimenteve çuan në konkluzionin se rikuperimi i metforminës nga plazma rritej nga hapi i shpëlarjes me diklormetan. Sasia më e mirë për shpëlarje u gjet 1.5 mL DKM. Ndër të tjera, kjo sasi dha rikuperime më të larta sesa metoda e mëparshme që përdorte të njëjtin proces (precipitim proteinash dhe shpëlarje me DKM) (111), ekstraktim lëng-lëng (103), ekstraktim lëng-lëng i ndjekur nga ekstraktimi i anasjelltë (109), ose ekstraktimi në fazë të ngurtë (113) për përgatitjen e mostrës.

Tabela 45. Krahasimi i metodave të publikuara për përcaktimin e metforminës në plazmën e njeriut

KP në plazmë (ng/mL)	Përgatitja e mostrës	Kolona analitike	Koha e retensionit (min)	Koha e run-it (min)	Referenca
50	Precipitim proteinash dhe shpëlarje me DKM	RP-C18	4.1	7	Metoda jonë
125	Precipitim proteinash me një hap të vetëm	C18	9.932	15	(102) Chetri 2014
7.8	ELL	C18	9.5	16	(103) Gabr 2010
50	Precipitim proteinash me ACN dhe avullim deri në të thatë	C18	9.375	20	(104) Ranetti 2009
30	Precipitim proteinash dhe shpëlarje me DKM	Fenil	7.5	10	(111) Porta 2008
330	Precipitim proteinash	C18	4.74	8	(105) Wanjari 2008
250	Precipitim proteinash me ACN	Fenil	5.26	10	(112) Yardimci 2007
15.6	ELL	Silicë	5.7	10	(99) Amini 2005
Metoda 1 (5) Metoda 2 (16.5)	EFN me agjent jonoçiftëzues	C18	4.7	20	(106) AbuRuz 2005
5	EFN me agjent jonoçiftëzues	C18	4.85	15	(107) AbuRuz 2003
Pa specifikim 10	Precipitim proteinash me një hap të vetëm	C18	3.4	6	(108) Zarghi 2002
	Precipitim proteinash dhe shpëlarje me DKM	Silicë	7.8	10	(100) Cheng dhe Chou 2001
60	Deproteinim me acid perklorik	Ciano	5.9	8	(101) YuendhePeh 1998
100	Ultrafiltrim	CX	5	12	(115) Vesterqvist 1998
50	EFN C8	Fenil	2.8	6	(113) Huupponen 1992
10	Ekstraktim jonoçiftëzues	C18	3.3	9	(109) Keal dhe Somogyi 1986
75	Precipitim proteinash me ACN dhe avullim	C18	8	10	(110) Benzi 1986
200	Acid trikloracetik/precipitim proteinash	CX	8	12	(116) Charles 1981

Metoda ka një kohë eluimi 7 minuta për mostrat plazmatike, që është më e shkurtër sesa metoda me ndjeshmëri të ngjashme (104). Gjithashtu, koha e retensionit dhe koha e run-it analitik janë më të shkurtra se procedura e përshkruar nga AbuRuz dhe bashkëpunëtorët e tij (106,107).

Metodat që përdoren për përcaktimin e metforminës në urinë përfshijnë elektroforezën kapilare me C4D (120), metodën voltametrike (121), HPLC me këmbim kationik (116), HPLC me fazë të kundërt (110,122,123)dhe LC–MS (124). Shumica e metodave bazohen në HPLC me detektim spektrofotometrik në diapazonin 230–240 nm (Tabela 46).

Derivatizimi kimik i metforminës është përdorur në gaz kromatografi (125,126,127), FT-IR (Fourier transform infrared) dhe teknikat masë spektroskopike (128), dhe në elektroforezë kapilare të lidhur me elektrokemiluminishencë (129). Këto metoda paraqesin një kompleksitet dhe ofrojnë pak epërsi në terma të ndjeshmërisë. Për rrjedhojë, kromatografia e lëngët është më e preferuar në laboratorët klinikë. Së fundmi, metoda e kromatografisë të lëngët-masë spektrometrisë paraqet një selektivitet dhe ndjeshmëri të lartë duke dhënë një kohë të shkurtër retensionit. Megjithatë, kjo teknologji është tepër e sofistikuar dhe pajisja nuk gjendet shpesh në laboratorët klinikë. Në studimin tonë paraqitet një metodë HPLC me një agjent jonoçiftëzues që përdor një kolonë RP C18 dhe ka një fazë përgatitore të thjeshtë të mostrës urinare. Metoda e studimit tonë është më e thjeshtë krahasuar me metodat e tjera të publikuara më parë për përcaktimin e metforminës në urinë sepse nuk kërkohet standard i brendshëm, kolonë specifike apo procedurë paratrajtimi (116, 130).

Tabela 46. Krahasimi i disa metodave të publikuara për përcaktimin e metforminës në urinën e njeriut.

Vëllimi i mostrës (µL)	KP (µg/mL)	Përgatitja e mostrës	Kolona analitike	Koha e retensionit (min)	Koha e run-it (min)	Referenca
10	35	Hollimi me ujë	RP-C18	6.4	9	Metoda jonë
20	30	Hollimi me fazë të lëvizshme	Silicë	8.5	15	[124Zhang]
1000	0.04	EFN	HILIC	9.53	14	[131Nielsen]
100	1	Hollimi me fazë të lëvizshme	C18	9.35	11	[123 Tong]
20000	KZ=0.0136	Precipitim me acetone	C18	14.52	20	[132 Liu]
200	0.001	Etil acetat + NaOH	Derivatizim i prekolonës	3	5	[129 Deng]
100	1.6	ELL	C18	9.5	16	[103 Gabr]

2000	0.01	Hollim me fazë të lëvizshme	RP-C8	9	22	[122 El-Gindy]
1000	2	Hollim me ujë, më pas EFN me jonoçiftëzues	F5	13	20	[130Tahara]
20	25	Ekstraktim me jonoçiftëzues	C18	3.3	12	[109 Keal]
300	250	KOH, precipitim proteinash me ACN dhe avullim	RP-C18	8.8	16	[110 Benzi]
500	25	Hollim me ujë	CX	8	12	[116 Charles]
200	0.85	Precipitim proteinash me ACN	Qelqi	1.7	4	[127 Lennard]
2000	10	Derivatizim	Fenil/Corasil	6	10	[126 Ross]

Koha e retensionit (6.4 minuta) dhe koha e run-it analitik të metforminës në mostrat urinare është më e shkurtër sesa procedura e përshkruar nga Liu në 2011 dhe Tong në 2012 (132,123).

Lartësia e pikut ishte më e ndjeshme sesa sipërfaqja e pikut. Gjithashtu, kërkesat e rezolucionit u përmbushën me lartësinë e pikut.

Qëndrimi i autorëve të ndryshëm ndaj nevojës për të përdorur standard të brendshëm gjatë precipitimit të proteinave plazmatike është i ndryshëm. Në literaturë gjenden punime ku standardi i brendshëm përdoret ose nuk përdoret.

Në rastin e metodës tonë precizioni brënda ditës dhe ndërmjet ditëve demonstron që sasia e metforminës që rikuperohet pas precipitimit të proteinave plazmatike dhe shpëlarjes me DKM është relativisht konstante, pasojë kjo e një procesi të qëndrueshëm dhe me variabilitet të tillë që nuk ndikon dukshëm në saktësinë dhe precizionin e vetë metodës. Për këtë arsye në metodën e validimit të plazmës nuk është gjykuar i nevojshëm shtimi i standardit të brendshëm. Sidoqoftë, standarti i brendshëm është i nevojshëm kur rikuperimi i analitit të interesit bëhet nëpërmjet procedurave ekstraktuese, sidomos me shumë etapa. Shtimi i standardit të brendshëm nuk do të sillte asnjë epërsi. Së pari, është më e besueshme dhe më pak e kushtueshme sepse mënjanohet një hap shtesë gjatë përgatitjes të mostrës. Së dyti, kromatograma thjeshtëzohet, si e tillë nuk do ketë pique interferuese që kompromentojnë rezultatet. Së treti, të dhënat thjeshtëzohen sepse matet

vetëm një pik i vetëm. Së katërti, pasiguria e rezultateve mund të jetë më e vogël, sepse eliminohet variabiliteti në shtimin e standardit të brendshëm.

Rezultatet e këtyre eksperimenteve çuan në përfundimin se rikuperimi i metforminës në plazmë rritet nga hapi i shpëlarjes me DKM. Sasia më e mirë në hapin e shpëlarjes u gjet 1.5 mL DKM. Kjo sasi dha rikuperime të larta për analitin krahasuar me metodat e mëparshme që përdorën precipitim proteinash dhe shpëlarje me DKM (111), ekstraktim lëng-lëng (103), ekstraktim lëng-lëng i ndjekur nga ekstraktimi i anasjelltë (109), ose ekstraktimi në fazë të ngurtë (113) për fazën përgatitore të mostrës.

Metodat analitike të zhvilluara dhe të validuara për përcaktimin e metforminës në plazmë dhe urinë treguan një ndjeshmëri (kufiri i poshtëm i matjes ishte respektivisht 50 ng/mL dhe 35 µg/mL në plazmë dhe urinë), linearitet, precision dhe saktësi të mirë, duke mundësuar përdorimin e tyre në studimin tonë të BE.

Vlerësimi i bioekuivalencës

Studimi i BE që përdor tabletat Glucophage dhe Metformine 850 mg u bazua në një model të kryqëzuar, të hapur, të randomizuar, me dy periudha, me një dozë të vetme ku u përfshinë 20 vullnetarë të shëndetshëm, të cilët administruan esëll tabletat metforminë 850 mg me çlirim të menjëhershëm. Subjektet përfunduan me sukses studimin sipas protokollit, përjashtuar dy subjekteve të cilët nuk u përfshinë për të dhënat urinare. Dy formulimet e metforminës (Glucophage dhe Metformine) u toleruan mirë nga subjektet në të dy fazat e studimit. Nuk pati efekte anësore serioze apo komplikime të tjera gjatë dy periudhave studimore. Nuk u vërejtën deviacione nga skema e marrjes të lëngjeve biologjike, të cilat konsiderohen sinjifikante nga protokollit (më shumë se 5 minuta). Meqënëse gjysmëjeta maksimale terminale e metforminës është rreth 4.5 orë, një periudhë shpëlarje prej 7 ditësh në një studim me një dozë të vetme, ishte e mjaftueshme për të minimizuar efektin potencial “carry over” nga administrimi i barit të parë.

Të dhënat e subjekteve u përpunuan nga një analizë farmakokinetike dhe statistikore. Mbështetur tek të dhënat e grafikut përqëndrim – kohë u llogaritën parametrat farmakokinetikë nëpërmjet programit STATA 13. ANOVA dhe procedura e testeve të dyanshëm u përdorën për të analizuar karakteristikat farmakokinetikë të dy formulimeve të metforminës. Analiza e variancës sipas një modeli të kryqëzuar u krye për të dhënat e transformuara logaritmisht të parametrave farmakokinetikë plazmatikë dhe urinarë për të dy formulimet.

Fokusi parësor i këtij studimi ishte krahasimi i parametrave farmakokinetikë të formulimeve që përmbajnë dozë të vetme metforminë.

Përqëndrimi maksimal plazmatik (C_{max}) prezanton përqëndrimin maksimal në plazmë të barit pas administrimit oral të tij. Për shumicën e barnave, ekziston një marrdhënie midis efekteve farmakologjike e terapeutike të barnave dhe përqëndrimit plazmatik. Përgjigjia farmakologjike është në përpjestim direkt me përqëndrimin plazmatik të barnave. C_{max} është një indikator i ritmit të përthithjes të barit p.sh., piku më i lartë i përqëndrimit tregon një ritëm më të shpejtë të përthithjes. C_{max} jep një indikim që bari përthithet mjaftueshëm në rrugë sistemike për të dhënë një përgjigje terapeutike. Ndër të tjera, C_{max} jep dhe paralajmërim për nivelet e mundshme toksike të barnave (83).

Formulimet Glucophage dhe Metformine u përthithën nga trakti gastrointestinal dhe metformina u mat në mostrën e parë (30 minuta) në të gjithë vullnetarët. Profilet e përqëndrimeve mesatare janë të ngjashme për të dy formulimet. Përqëndrimet plazmatike të metforminës dhe glucophage-it nuk ndryshojnë në mënyrë sinjifikante pas administrimit të dy formulimeve. Mesatarja dhe deviacioni standard i parametrave farmakokinetikë për të dy formulimet ishin të afërta, duke treguar që profilet plazmatike të gjeneruara nga tableta Metformine janë të krahasueshme me tabletën Glucophage.

Përthithja e preparatit test (tableta Metformine e prodhimit vendas) është më e lartë në krahasim me preparatin referencë (Glucophage) siç vihet re nga vlera mesatare e lartë C_{max} [1771.75 ± 503.53 (ng/mL)] vs. 1684.70 ± 321.02 (ng/mL). Parametri farmakokinetik C_{max} është më i lartë sesa vlera e vrojtuar me tabletat metforminë 850 mg nga Porta, Holguin dhe Bhavesh (111,133,134) por më i ulët se vlera e deklaruar nga He dhe bashkëpunëtorët e tij (110). Për metforminën, vlera mesatare e përqëndrimit maksimal ishte 1771 ng/mL. Ajo jep përqëndrime plazmatike pas një periudhe që i korrespondon në 4 gjysmëjeta prej 100 ng/mL.

Në T_{max} ndodh përthithja maksimale e barit dhe ritmi i përthithjes është i barabartë me ritmin e eliminimit (83). Në rastin e tabletës Metformine (prodhimi vendas) vlera e T_{max} ishte më e ulët në krahasim me Glucophage-in. Të dhënat e studimit tonë janë shumë të ngjashme me rezultatet e raportuara në literaturë. Koha për të arritur përqëndrimin maksimal plazmatik për formulimet Glucophage dhe Metformine ishte 2.4 dhe 2.3 orë, respektivisht, vlerë kjo brënda kufijve që përshkruhen në literaturë (135). Koha për të arritur përqëndrimin maksimal (T_{max}) ishte e përafërt me vlerën e raportuar nga Porta (111), më e ulët se vlera e raportuar nga He (136) dhe e lartë se vlera e raportuar nga Holguin (133).

Shkalla e përthithjes tregon fraksionin e dozës të administruar që përthithet dhe shfaqet në qarkullimin e gjakut. Realisht është e vështirë të përcaktohet direkt fraksioni i dozës të marrë që aktualisht përthithet. Sipërfaqja nën lakoren e përqëndrimit plazmatik ndaj kohës (AUC) përdoret si indikator i përcaktimit të shkallës të përthithjes (137). AUC është sasia totale e lëndës vepruese që arrin qarkullimin sistematik (83). Në studimin tonë vlera mesatare e $AUC_{0-\infty}$ të produktit Glucophage është 11720 ± 3223.78 (ng x orë/mL), vlerë kjo më e lartë se ajo e deklaruar nga autorët Holguin, Bhavesh dhe He (133,134,136).

Gjysmë-jeta e barit përfaqëson kohën e nevojshme ku përqëndrimi i barit të palidhur në gjak reduktohet përgjysmë nga vlera fillestare e tij. Në studimin tonë gjysmëjeta plazmatike ($T_{1/2}$) e formulimit Glucophage ishte 3.258 ± 0.639 orë kurse për formulimin Metformine ishte 3.11 ± 0.668 orë.

Nëstudimet e mëparshme të raportuara, gjysmëjeta e barit si një dozë e vetme 500 mg ishte 5.738 orë (138); 2.5 orë (139); 3.27 orë (140); 2.3 orë (141) dhe 3.5 orë (142). Gjysmëjeta e metforminës e marrë si një dozë e vetme 850 mg në raportet e mëparshme ishte 2.3 orë (136) dhe 2.77 orë (133). Në studimin tonë vlera e gjysmëjetës $T_{1/2}$ është e përafërt me vlerën e raportuar nga Holguin (133).

Konstantja e eliminimit (kel) përcaktohet nga regresioni linear i fazës terminale të lakores " $dDu/dt \times tm$ " të transformuar logaritmisht. Në studimin tonë vlerat e konstantes të

eliminimit përkatësisht për Glucophage-in dhe Metforminen janë 0.221 ± 0.047 ore⁻¹ dhe 0.234 ± 0.058 orë⁻¹. Vlerat e gjetura nga studimi ynë janë shumë të përafërta me ato të gjetura nga autorë të tjerë (133, 139, 140).

Shumë studime farmakokinetike përfshihen në matjen e përqëndrimeve të barit në plazëm. Përpos të dhënave plazmatike, BE mund të vlerësohet edhe përmes të dhënave urinare, kur në studim janë barna që nuk metabolizohen. Megjithatë, mbledhja e gjakut nuk është krejtësisht pa rrezik dhe shpesh rezultojnë në një gjendje të vështirë për pacientët ose vullnetarët e shëndetshëm. Për më tepër, subjekti mund të shqetësohet në lidhje me marrjen e mostrave të përsëritura të gjakut, duke rezultuar në një ngadalësimin të normës së përthithjes nga traktin gastrointestinal, dhe ndoshta në ndryshime të tjera në parametrat farmakokinetikë. Për më tepër, teknika e mbledhjes të urinës është e thjeshtë, joinvazive dhe ka kosto të ulët në krahasim me metodën konvencionale. Të dhënat e ekskretimit urinar përcaktojnë përqëndrimet në gjak përmes proceseve të rendit të parë të eliminimit. Megjithatë është e nevojshme që sasia sinjifikante e barit të pandryshuar të ekskretohet në urinë, mostrat të mbledhen me një frekuencë të madhe për të përcaktuar profilin e ekskretimit dhe mbledhja të bëhet derisa të ndodhi eliminimi i plotë i barit (praktikisht 7 gjysmë-jetë biologjike të barit dhe idealisht duhet të konsiderohet më pak. Ndryshimet në pH e urinës dhe në vëllimin e saj ndikojnë në ritmin e eliminimit urinar. Meqënëse ritmi i ekskretimit të barit në urinë ecën paralel me përqëndrimet e barit në serum, analiza e ekskretimit të barit jep evidencë të performancës *in vivo* të formulimeve test. Pra analiza e të dhënave të ekskretimit urinar është e rëndësishme në zhvillimin e formulimeve të reja. Kjo është veçanërisht e vërtetë për barnat ekzistuese për të cilat të dhënat farmakokinetike dhe përqëndrimet e barit janë të publikuara dhe të gatshme për krahasimin me të dhënat e ritmit të ekskretimit urinar.

Krahasimi me rezultatet e studimeve të tjera

Ritmi dhe shkalla i një bari të ekskretuar në urinë pasqyrojnë ritmin dhe shkallën e procesit të përthithjes (83). Disa raporte në literaturën tregojnë se të dhënat e ekskretimit urinar mund të përdoren për studime të BE/BD midis produkteve të ndryshme mjekësore (84; 143-146) meqënëse grafiku i marrë nga ritmi i ekskretimit urinar (dU/dt) kundrejt kohës (t), rezultojnë në një grafik shumë të ngjashëm me grafikun e përfutur nga plazma kundrejt kohës. Sipas Shargel dhe Yu (83), grafiku i varësisë të përqëndrimit plazmatik ndaj kohës dhe grafiku i ritmit të ekskretimit urinar të barit janë të mbivendosur. Pra, parametrat për eliminimin e barit në urinë reflektojnë përthithjen e tij (147). Meqënëse ritmi i eliminimit urinar (dDu/dt) nuk mund të përcaktohet eksperimentalisht, zgjidhet pika kohore e mesit (t^*). Në praktikë, urina mbledhet në një interval kohor të specifikuar dhe mostra analizohet për përqëndrimin e barit me një metodë analitike. Ritmi mesatar i eliminimit urinar llogaritet për atë periudhë. Më pas, mesatarja dDu/dt plotohet kundrejt t^* .

Në studimin tonë, mesatarja e vlerave $U_{cum0-24}$ ishte 358.7 mg dhe 346.3 mg për formulimet test dhe referencë, respektivisht. Pas administrimit oral të formulimeve vihen re profile shumë të ngjashme të vlerave mesatare të sasisë kumulative të metforminës të ekskretuar përkundrejt kohës. Sasia mesatare e metforminës që ekskretohet e pandryshuar në urinë u gjet 40.74 % (Glucophage) dhe 42.2 % (Metformine) për një tabletë 850 mg të

administruar nga goja brënda 24 orësh (më e ulët se vlera e përshkruar nga El-Gindy dhe bashkëpunëtorët e tij) (122). U vërejt që të dy formulimet treguan një ritëm maksimal ekskretimi në intervalin prej 2.4 dhe 2.3 orësh (T_{max}) në pikën kohore të mesit. Sasitë maksimale të ekskretuara në intervalet kohore $(dDu/dt)_{max}$ nga formulimet Glucophage dhe Metformine ishin respektivisht 977.50 dhe 1019 $\mu\text{g}/\text{min}$ (Tabela 34). Është evidente se formulimet Glucophage dhe Metformine shfaqin një ritëm të ngjashëm eliminimi, i cili tregon një ngjashmëri në biodisponibilitetin e tyre. Fraksioni i dozës të përthithur ishte 52.5 % dhe 53.95 % për respektivisht formulimin referencë dhe test. Kjo tregon një përputhje me vlerat që jep literatura (5,6).

Matjet e parametrave farmakokinetikë urinarë reflektojnë përthithjen gastrointestinale të metforminës nga tabletat. Faktorë të ndryshëm si ushqimi dhe lëvizshmëria gastrointestinale prekin përthithjen e metforminës. Ushqimi ul shkallën e përthithjes të metforminës (148) dhe rrit T_{max} për format farmaceutike orale me çlirim të menjëhershëm. Shkalla e përthithjes të metforminës rritet kur lëvizshmëria gastrointestinale ngadalësohet (149).

Ekskretimi i barit është në trendin e rritjes dhe akumulimit, por ritmi i eliminimit nuk është konstant. Metoda e grumbullimit të barit në urinë mund të reflektojë tërthorazi procesin e metabolizmit të barit në trup. Një sasi e vogël e metforminës eliminohet në formën e barit prototip dhe pas 16 orësh bari eliminohet plotësisht.

Në rastin e studimeve të bioekuivalencës mesatare, e cila konsiderohet e përshtatshme dhe rekomandohet në shumicën e rasteve, këshillohet që analiza statistikore e parametrave farmakokinetikë të ekspozimit sistemik, të tillë si AUC dhe C_{max} , të bazohet në procedurën e dy testeve t të njëanshëm (two one-sided test procedure). Sipas kësaj procedure llogaritet intervali me 90% konfidencë i raportit të mesatareve gjeometrike të AUC dhe C_{max} për T dhe R. Bioekuivalenca e formulimeve T dhe R demonstron atëherë kur ky interval përfshihet i tëri brenda kufijve 80-125% të raportit të mësipërm. Kufiri 80-125%, që njihet edhe me emrin kufiri apo intervali i bioekuivalencës, pranohet si i mjaftueshëm për shkëmbyeshmërinë terapeutike për një pjesë të madhe barnash.

Të gjitha vlerat "point estimate" të intervalit me 90% konfidencë për raportin e parametrave plazmatikë dhe urinarë u gjetën brënda limiteve të specifikuar të bioekuivalencës (80-125%) për të dhënat e transformuara logaritmisht. Analiza e variancës (ANOVA), pas transformimit logaritmik të të dhënave, nuk tregoi statistikisht diferencë sinjifikante midis dy formulimeve në periudha, formulime apo sekuencë, duke patur një vlerë p më të madhe se 0,05. Krahasimi statistikor i AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ dhe C_{max} tregon qartësisht se nuk ka diferencë sinjifikante midis produktit test (Metformine 850 mg) dhe produktit referencë (Glucophage 850 mg) në kushte esëll. Krahasimi i parametrave farmakokinetikë plazmatikë vë në dukje biodisponibilitet të ngjashëm të metforminës për formulimet Glucophage dhe Metformine 850 mg.

Ky studim, i pari në llojin e vet i kryer në një kampion të popullatës shqiptare, tregon se profili farmakokinetik i metforminës nuk është i ndryshëm nga ai i vërejtur në kampione të popullatave të tjera. Kjo mundëson që rekomandimet mbi dozimin dhe mënyrën e përdorimit të produkteve farmaceutike që përmbajnë metforminë të përdoren pa ndonjë kufizim të veçantë.

Vlerat e parametrave të tjerë farmakokinetikë urinarë të formulimit test ishin të krahasueshëm me formulimin referencë. Sipas protokollit të studimit, hipoteza e bioekuivalencës të formulimeve u pranua në qoftë se intervali me 90% konfidencë i raportit të mesatareve gjeometrike të testit ndaj referencës përfshihej brënda intervalit të pranimit 80-125% për $D_{cum0-24}$, $D_{cum0-\infty}$ dhe $(dDu/dt)_{max}$ të transformuar logaritmisht. Rezultatet e studimit të BE tregojnë se nuk ka diferenca sinjifikante për parametrat farmakokinetikë midis produkteve Glucophage dhe Metformine dhe të dhënat plazmatike dhe urinare tregojnë dukshëm se produktet janë bioekuivalentë.

Studimet e disolucionit

Përcaktimi i tretshmërisë së barit është i rëndësishëm për vlerësimin e variablave që mund të influencojnë në përthithje. Zhvillimi i sistemit të klasifikimit biofarmaceutik (150) si një kornizë për klasifikimin e lëndëve vepruese të bazuar në tretshmërinë e tyre ujore dhe përshkueshmërinë intestinale ka mundësuar parashikimin e përthithjes intestinale të barnave të marra nga goja. Profili pH-tretshmëri i lëndës vepruese përcaktohet në 37 ± 1 °C në mjedis uxor me një pH në diapazonin 1-7.5. Mbështetur në këtë sistem, agjensitë rregullatore kanë rekomanduar që fabrikuesit e barnave xhenerikë të mund t'i zëvendësojnë studimet e bioekuivalencës me studimet in vitro për format farmaceutike orale me çlirim të shpejtë që kanë tretshmëri dhe përshkueshmëri të lartë (Klasa I), në rastet e nevojshme. E njëjta gjë pritet për barnat e klasës së III që kanë tretshmëri të lartë dhe përshkueshmëri të ulët, edhe pse kriteri do të jetë më kufizues.

Përpara se të dizenjohej një provë analitike, pyetja e parë që i drejtojmë vetes është “Cili është qëllimi i provës?”. Prova e disolucionit mat kohën që kërkohet për një bar të dhënë të kalojë nga një formë farmaceutike në një tretësirë nën kushte të specifikuar. Si një fenomen fundamental, ai kontrollohet nga afiniteti midis trupit të ngurtë (tabletës) dhe buferit. Disolucioni është pjesë integrale e zhvillimit dhe fabrikimit të formave farmaceutike. Për format farmaceutike të ngurta me çlirim të shpejtë (p.sh., tableta, kapsula), prova e disolucionit:

- * përdoret për të përcaktuar cilësinë e produktit nga loti në lot,
- * udhëzon për zhvillimin e një formulimi të ri
- * mbështet BD e produktit të ri dhe bioekuivalencën e produktit xhenerik (73,74)

Disolucioni përdoret së fundmi si një provë in vitro e bioekuivalencës për të treguar profilin e shpejtësisë të tretjes dhe krahasimin e profileve të shpejtësisë të tretjes për të vërtetuar ngjashmërinë e formave farmaceutike [150, 96]. Të dhënat analitike nga prova e disolucionit janë të mjaftueshme në disa raste për të treguar sigurinë dhe efikasitetin e një produkti pa provat in vivo, që ndiqen nga ndryshime të vogla të formulimit dhe fabrikimit (151).

Tre specififikimet e provës të disolucionit për produktet me çlirim të shpejtë të përshkruara nga FDA janë: (a) me një pikë të vetme, (b) me dy pika, and (c) krahasim i profilit të disolucionit. Prova e disolucionit (veçanërisht me një pikë e vetme) shpesh është e pamjaftueshme për të garantuar cilësinë/BD e formulimit. Krahasimi i profilit të disolucionit është më i saktë e preciz sesa specififikimet me një dhe dy pika të vetme për të krahasuar produktin (152). Produktet që kanë një vlerë disolucioni rreth 70% pas 45 minutash, shpesh nuk kanë probleme në bioekuivalencë. E fundit por jo më pak, të dhënat in vitro të disolucionit kanë rëndësi të madhe kur vlerësohen ndryshimet në vendin e prodhimit, procesin e prodhimit apo formulimit dhe ndihmojnë në vendimmarrje në lidhje

me nevojën për studimet e BE. Meqënëse disolucioni është një provë fizike dhe ka natyrë destruktive, ai kërkon vëmendje të veçantë.

Është e preferueshme të kemi një metodë in vitro të disolucionit që është e ndjeshme ndaj faktorëve që prekin procesin e disolucionit dhe biodisponibilitetin. Si rezultat, besueshmëria dhe aftësitë diskriminuese të provave të disolucionit për produktet me çlirim të shpejtë kanë tërhequr shumë vëmendjen në vitet e fundit (153).

Në vitin 2000, FDA publikoi një udhëzim për industrinë duke theksuar që demonstrimi i BD in vivo ose BE mund të mos jetë i nevojshëm për barnat e klasës I (shumë të tretshme dhe shumë të përshkueshme) të formave farmaceutike me çlirim të shpejtë që merren nga goja që paraqesin disolucion të shpejtë (62). Është sygjyeruar që shmangia e provave të BE duhet të shtrihet në klasën III të barnave. Sidoqoftë, të dhënat e disponueshme për të mbështetur shmangien e provave të BE të barnave të klasës së III mbeten ende të kufizuara. Ndër të tjera, nëse bari paraqet tretshmëri të lartë dhe përthithje të ulët, udhëzimi i EMA (73) lejon mënjanimin e provës të BE për klasën e III të produkteve me çlirim të shpejtë. Megjithëse nuk është një organizatë rregullatore, OBSH sygjeron që SKB i bazuar në “biowaiver” të mund të konsiderohet për klasën e III nën kushte të veçanta. OBSH ka përgatitur një dokument draft për të mënjeluar kërkesat e BE in vivo për listën e formave farmaceutike të ngurta orale me çlirim të shpejtë (154). Për format farmaceutike me çlirim të shpejtë të klasës III (barna me tretshmëri të lartë-përshkueshmëri të ulët), që mund të sillen in vivo si një tretësirë orale, përshkueshmëria në membranë pritet të jetë një hap i kufizuar në përthithjen e barit. Prandaj, kinetika e përthithjes nga trakti gastrointestinal do të varet më shumë nga faktorë biofarmaceutikë të barit dhe faktorë fiziologjikë, sesa nga faktorët e formulimit, duke pasur parasysh që eksipientët nuk kanë efekte të rëndësishme në tranzitin gastrointestinal dhe përshkueshmërinë e barit. Është raportuar (155-161) që eksipientët më të përdorur nuk kanë efekt në BD, përjashtuar surfaktantët, manitolin, polimerët dhe ciklodekstrinat. Sipas udhëzuesve, eksipientët që prekin BD e produktit duhet të jenë në sasi të njëjtë. Eksipientët e tjerë duhet të jenë të njëjtë dhe shumë të ngjashëm nga ana sasiore për klasat I dhe III (73,62) për një “biowaiver” të bazuar në SKB.

Udhëzimi i FDA për provën e disolucionit (74) rekomandon krahasimin e profileve të barnave në bufera të ndryshëm në një diapazon pH 1-6.8. Në shumicën e rasteve, surfaktantët përfshihen në bufer për të përmirësuar tretjen e barnave dhe për rrjedhojë për të rritur disolucionin e tyre. Siç raportohet nga Aburub dhe bashkëpunëtorët e tij, (162) kur pjesëzat hidrofobike kontaktojnë me buferin, ato agregojnë për shkak të tensionit të lartë ndërfaqësor midis buferit dhe pjesëzave, duke ulur sipërfaqen e kontaktit dhe disolucionin. Megjithatë, agjentët njomës si LSN pakësojnë tensionin ndërfaqësor dhe përmirësojnë lagjen duke çuar në rritje të disolucionit (162). Ndër të tjera, përdorimi i surfaktantëve në provën e disolucionit imiton praninë e surfaktantëve natyrorë si kripërat dhe acidet biliare në traktin gastrointestinal (163).

Shumica e formave farmaceutike paraqesin disolucion të shpejtë kur rritet numri i rrotullimeve për minutë. Siç rekomandohet në udhëzimet e FIP, është thelbësore të përzgjidhet një shpejtësi rrotullimi e caktuar që të përftohet një çlirim 80% i lëndës vepruese në fund të intervalit të specifikuar (164).

Sipas udhëzimeve, nëse mbi 85% e lëndës vepruese në formulimin me çlirim të shpejtë tretet brënda 30 minutash, profilet e disolucionit të produkteve referencë dhe test duhet të

krahasohen nga faktori i ngjashmërisë (f_2). Dy profile disolucioni konsiderohen të ngjashëm nëse vlera f_2 është ≥ 50 . Megjithatë, kur 85% ose më shumë e sasisë të deklaruar për produktet test dhe referencë disolvohet në ≤ 15 minuta duke përdorur buferin e rekomanduar (pH 1.2, pH 4.5 dhe pH 6.8), profilet e disolucionit konsiderohen të ngjashëm pa llogaritje matematikore (73, 62).

Në studim tonë, prova e disolucionit u krye për tre formulime të ndryshme të metforminës që qarkullojnë në tregun farmaceutik shqiptar.

Është vërejtur se në buferin fosfat me pH 6.8 disolucioni i metforminës nga të gjitha tabletat ishte më shumë se 85% në 30 min dhe faktori i ngjashmërisë f_2 për Metforminen dhe Siofor-in, krahasuar me inovatorin Glucophage, ishte më i madh se 50 (Figura 20; tabela 39 dhe tabela 44). Në një situatë të tillë, te tre formulimet e analizuara janë në përputhje me specifikimet farmakopeale në pH 6.8 dhe prova mbështet konkluzionin se tabletat Metformine dhe Siofor 850 mg janë bioekuivalente me inovatorin Glucophage.

Gjatë provës të disolucionit të tabletave me çlirim të shpejtë metforminë 850 mg, u vërejt që tabletat paraqitën një disolucion të ulët në buferat me pH 1.2 dhe pH 4.5 krahasuar me buferin fosfat në pH 6.8. Bazuar në këto konsiderata, ndikimi i surfaktantit në vetitë e disolucionit të barit u vlerësua nga shtimi i një sasive të vogël të LSN (0.01%) në dy buferat jofarmakopealë. Gjithashtu disolucioni i tabletave rritej nga shtimi i numrit të rrotullimeve për minutë.

Në studimin tonë gjatë zhvillimit të metodës u zgjodhën përqëndrime të ndryshme të LSN (0.01%; 0.05%; 0.1%). U vërejt se përqëndrimi më i përshtatshëm i LSN ishte 0.01%. Ndër të tjera u shtua shumë pak numri i rrotullimeve për minutë në rastin e dy buferave jofarmakopealë. Vlera më e përshtatshme e numrit të rrotullimeve për minutë ishte 150 rpm. Studim të ngjashëm të tabletave të metforminës e ka kryer Desai (165) i cili realizoi shtimin e LSN në përqëndrimet 0.01% dhe 0.1%. Në përqëndrime të vogla 0.01% u vërejt një rritje e efektit të disolucionit të tabletave metforminë krahasuar me kontrollin. Në përqëndrimin 0.1% të LSN ndodhte një rritje e përqëndrimit të çiftëzuesve jonikë hidrofobikë dhe më tej formoheshin kripëra.

Në buferin me pH 1.2 dhe në buferin acetat me pH 4.5 (ku secili bufer përmban 0.01% LSN, dhe numri i rrotullimeve është 150 rpm), duket qartë se tabletat Metformine, por jo Siofor, kanë vlerën e disolucionit më të madhe se tabletat Glucophage, me faktor ngjashmërie f_2 më të vogël se 50 (Figura 22 e 24; tabelat 41 e 43). Në dy pH jofarmakopeale tabletat Metformine paraqitën një çlirim të barit mbi 85% në 15 minuta, por me një vlerë $f_2 < 50$, e cila i devijoi kriteret e propozuara nga OBSH.

Demonstrimi i bioekuivalencës in vivo midis tabletave Metformine dhe Glucophage konfirmon rezultatet e përfutuara nga prova e disolucionit in vitro (bufer fosfat në pH 6.8). Megjithatë, arsyeja pse tabletat Metformine 850 mg (prodhim i Profarma Sh.a) tregojnë një profil disolucioni të ndryshëm në buferat jo farmakopealë (edhe pse janë bioekuivalente in vivo me tabletat Glucophage), kërkon një interpretim të kujdesshëm për barnat e klasës III.

Demonstrimi i bioekuivalencës in vivo midis tabletave Metformine dhe Glucophage konfirmon rezultatet e përfuara nga prova e disolucioni in vitro (bufer fosfat në pH 6.8). Megjithatë, arsyeja pse tabletat Metformine 850 mg (prodhim i Profarma Sh.a) tregojnë një profil disolucioni të ndryshëm në buferat jo farmakopealë (edhe pse janë bioekuivalente in vivo me tabletat Glucophage), kërkon një interpretim të kujdesshëm, ashtu si për të gjithë barnat e klasës III.

Së pari, në këtë studim është përdorur një metodë disolucioni shumë diskriminative, e cila mundëson identifikimin edhe të diferencave të vogla të lidhura me formulimin dhe që ndikojnë në shpejtësinë e çlirimit të lëndës vepruese.

Së dyti, nga pikëpamja klinike, koha e qëndrimit të metforminës në stomak është rreth 1 orë. Sasia e metforminës së përthithur në stomak, falë tretshmërisë së saj të ulët në yndyra, është shumë e vogël. Për këtë arsye, diferencat in vitro në rastin e disolucioni në pH 1.2 dhe 4.5 (që koinçidojnë me pH në stomak dhe në dalje të tij) nuk reflektohet in vivo. Diferencat e mundshme në përqendrimin e lëndës vepruese të çliruar në stomak shihen plotësisht kur masa e barit shkon drejt zorrës (jejunum). Metformina përthithet në zorrë dhe në një situatë të tillë, prova klinike mbështet konkluzionin se mungesa e diferencave in vitro (pH 6.8) reflektohet në mungesë të diferencave in vivo. Në rastin e metforminës, është demonstruar që forma farmaceutike e lëngët është bioekuivalente me tabletën me çlirim të menjëhershëm që disolvohet plotësisht brenda 1 orë (148). Nga profilet e disolucioni vihet re që tabletat Metformine, Siofor dhe Glucophage treten plotësisht brenda 1 ore. Cheng dhe bashkëpunëtorët e tij (96) deklaruan se në qoftë se një formë farmaceutike disolvohet shpejt, biodisponibiliteti i lëndës vepruese nuk do të ndikohet nga disolucioni dhe, në këtë rast, ekziston mundësia për biowaiver (mënjanohet nevoja për provat e BD/BE) të Klasës së III, në bazë të profilit të disolucioni in vitro.

9. PËRFUNDIME

1. Studimi ynë, përmes aplikimit të përjasjeve shkencore dhe statistikore ndërkombëtarisht të pranuar, demonstroi që produktet mjekësore Metformine tableta 850 mg, prodhim i Profarma Sh.A dhe Glucophage® tableta 850 mg, prodhim i Merck Santé S.A.S. janë bioekuivalentë.
2. Biodisponibilitet e ngjashëm për produktet Metformine tableta 850 mg dhe Glucophage® tableta 850 mg demonstroi si për parametrat farmakokinetikë plazmatikë, ashtu edhe për ato urinarë.
3. Prova farmakopeale e disolucionit in vitro (pH 6.8, 100 rpm) e parashikon plotësisht bioekuivalencën in vivo midis tabletave Metformine dhe Glucophage. Mungesa e bioekuivalencës in vitro në provat e disolucionit të krahasuar në pH jo-farmakopealë (pH 1.2 dhe 4.5 me 0.01% LSN dhe 150 rpm) nuk reflektohet në mungesë të bioekuivalencës in vivo.
4. Tabletat Glucophage dhe Metformine tolerohen mirë nga vullnetaret. Nuk janë vërejtur efekte të padëshiruara.
5. Në këto kushte gjithashtu mund të konkludohet që produktet mjekësore Metformine tableta 850 mg, prodhim i Profarma Sh.A dhe Glucophage® tableta 850 mg, prodhim i Merck Santé S.A.S. janë të shkëmbyeshëm edhe nga pikëpamja terapeutike.

10. REKOMANDIME

1. Bazuar në rezultatet e marra nga studimi, rezulton që tableta Metformine 850 mg prodhim i Profarma Sh.A është bioekuivalente me tabletën Glucophage 850 mg, prodhim i Merck Santé S.A.S.
Kostot e këtyre produkteve mjekësore janë përkatësisht 2.5 lek/tab dhe 10.4 lek/tab. Në bazë të kriterëve farmakoekonomike, në kushtet e një bioekuivalence të demonstruar, ky studim lejon të rekomandohet që produkti Metformine 850 mg Profarma, i cili është aktualisht në listën e barnave të rimbursueshme, të ketë prioritet në përshkrim nga ana e mjekëve, si dhe në zëvendësimin ndërmjet xhenerikëve nga ana e farmacistëve. Për një konsum vjetor prej 9 milionë tableta, vlera financiare e kursyer nuk është e parëndësishme.
2. Studimet e bioekuivalencës, si studimet kryesore që demonstrojnë shkëmbyeshmërinë terapeutike, këshillohen të bëhen edhe për produkte mjekësore të tjera të rëndësishme të listës së rimbursimit, ku ka dyshime për cilësinë apo mundësi për të kursyer vlera financiare.

11. SHTOJCA 1

11.1 Karakteristikat e popullatës

11.1.1 Kriteret e përfshirjes

- Vullnetarë meshkuj dhe femra nga 18-55 vjeç, fizikisht dhe mendërisht të shëndetshëm, të konfirmuar nga intervista mjekësore, ekzaminimi klinik dhe provat laboratorike.
- Të mos kenë shmangie të theksuara nga gjatësia dhe pesha e popullatës normale.
- Treguesi i masës trupore (TMT) midis 18,50-30 kg/m² dhe pesha e trupit jo më pak se 45 kg.
- Të gatshëm për të dhënë pëlqimin e informuar me shkrim dhe në përputhje me kërkesat e studimit.
- Subjekte të aftë për të bashkëpunuar dhe të disponueshëm për të përfunduar studimin.
- Mospërdorimi i alkoolit prej të paktën 3 ditësh nga fillimi i studimit.

11.1.2 Kriteret e përjashtimit

- Subjekte të paaftë për të kuptuar pëlqimin e informimit.
- Historia e çdo procedure të madhe kirurgjike në 3 muajt e fundit.
- Historia e diabetit, tuberkulozit dhe hipertensionit sistemik.
- Historia sugjestive e sistemit kardiak, endokrin, gastrointestinal, respirator, mëlçisë, veshkave, neurologjike, metabolike, sistemet psikiatrike ose hematologjike, e gjykuar të jetë klinikisht e rëndësishme.
- Historia e sëmundjes disfagia.
- Historia e ndonjë çrregullimi mjekësor që është me rëndësi sipas mendimit të investigatorit.
- Përdorim kronik të alkoolit prej më shumë se 2 njësi në ditë për 6 muajt e fundit ose konsumim i alkoolit në 48 orë të fundit të studimit.
- Historia e duhanit 9 ose më shumë cigare në ditë dhe / ose konsumin e duhanit gjatë studimit.
- Historia e ndonjë abuzimi të ndonjë droge në 12 muajt e fundit.
- Historia e marrjes së barit të studimit për çfarëdolloj arsye në 7 ditët e fundit.
- Historia e mbindjeshmërisë ndaj metforminës dhe eksipientëve të tjerë në formulim.
- Histori alergjike ndaj perimeve dhe/ose lëndëve ushqimore dhe /ose shfaqje të tjera sugjestive të reaksioneve të mbindjeshmërisë.
- Histori e tashme ose e kaluar e marrjes së barnave, të cilat potencialisht përndryshojnë kinetikën/dinamikën e barit të studimit ose ndonjë bari tjetër që gjykohet të jetë klinikisht i rëndësishëm nga investiguesi.
- Pjesëmarrësit të cilët kanë shmangie të theksuara nga dieta dhe zakonet normale të ngrënies.
- Konsumi i grejppfrutit / produkteve të tij brenda 10 ditë para fillimit të studimit.

- Marrja e çdo të bari me recetë ose pa recete brenda 7 ditëve përpara fillimit të studimit dhe/ose marrja e ndonjë bari në të kaluarën që mund të ndikojnë në kinetikën apo dinamikën e barit në vëzhgimin e studiuesit.
- Subjektet me vlera klinike të rëndësishme jonormale të parametrave laboratorike.
- Subjektet që kanë marrë pjesë në ndonjë studim tjetër klinik gjatë 3 muajve të fundit.
- Zhvillimi i një ngjarje të padurueshme negative gjatë pjesëmarrjes, të përcaktuar nga studiuesi dhe/ose subjekti.
- Zhvillimi i një sëmundjeje interkurente apo gjendje për të cilën subjekti kërkon barna shoqëruese, të cilat mund të ndërhyjnë në kinetikën e barit të studimit.
- Zbulimi se subjekti ka hyrë në studim për të shkelur protokollin ose ndodhja e një shkelje të rëndësishme të protokollit gjatë studimit.
- Studiuesi kërkon tërheqjen e subjektit nga prova në të mirë të shëndetit të tij.
- Të dhënat, të cilat nuk shfaqen para fillimit të provës, bëhen të dukshme dhe ngrenë shqetësimin për sigurinë e barit të studimit, pra vazhdimësia mund të paraqesë risk potencial për çdo subjekt të veçantë.
- Pas marrjes së barit të studimit, nëse subjekti vjell barin brenda 4 orësh, ai do të tërhiqet nga studimi.
- Nëse subjekti është jo bashkëpunues dhe/ose i padisiplinuar.

12. SHTOJCA 2

12.1 Miratimi nga Komiteti i Etikës

**REPUBLIKA E SHQIPËRISË
MINISTRIA E SHËNDËTËSISË
KOMITETI KOMBËTAR I ETIKËS MJEKËSORE**

Nr. Prot. 080

Tiranë, më 06/11/2014

Komiteti Kombëtar i Etikës Mjekësore, pasi vlerësoi kërkesën dhe dokumentacionin e paraqitur nga Znj. Eva Troja në cilësinë e investigatorit kryesor të studimit me titull: **“Studimet farmakokinetike në vlerësimin e ekuivalencës terapeutike të metforminës të prodhimit të vendit krahasuar me Glucophage-in dhe Siofor-in”** vëren se janë përmbushur të gjitha kushtet për lëshimin e miratimit të këtij studimi.

MIRATIM

I jepet miratimi porositesit të studimit me temë: **“Studimet farmakokinetike në vlerësimin e ekuivalencës terapeutike të metforminës të prodhimit të vendit krahasuar me Glucophage-in dhe Siofor-in”** për fillimin e studimit, sipas kushteve të paraqitura në protokollin përkatës.

1. Miratimi sipas pikës 1 përfshin:

- **Lloji i studimit:** Studim bioekuivalence in vivo, i hapur, i rastësishëm, me dy periudha, i kryqëzuar, dozë e vetme.
- **Investigatori kryesor :** Znj. Eva Troja
- **Sponsor:** Fakulteti i Mjekësisë, Departamenti i Lëndëve Biomjekësore dhe Eksperimentale
- **Numri i subjekteve:** 20 individë vullnetarë të shëndoshë
- **Vendi i studimit:** Laboratori i Farmakologjisë klinike, Katedra e Farmakologjisë

2. Udhëzohet porositesit të studimit që në përfundim të studimit të njoftojë me shkrim KKEM, si dhe të paraqesë një raport me rezultatet e studimit.

3. Komiteti Kombëtar i Etikës Mjekësore duke dhënë miratimin gjithashtu rezervon të drejtën që pas informimit paraprak të investigatorit kryesor, të mund të inspektojë/monitrojë studimin në të gjithë hallkat e tij.

1

ARSYETIMI

Më 14/10/2014, Znj. Eva Troja në cilësinë e investigatorit kryesor të studimit bioekuivalence in vivo me temë “**Studimet farmakokinetike në vlerësimin e ekuivalencës terapeutike të metforminës të prodhimit të vendit krahasuar me Glucophage-in dhe Siofor-in**” paraqiti kërkesën dhe dokumentacionin përkatës për miratimin e këtij studimi.

Në mbledhjen e Komitetit Kombëtar të Etikës Mjekësore të mbajtur më datë 04/11/2014 është shqyrtuar kërkesa për studimin e sipërpërmendur dhe materialet e bashkëngjitura dhe u dha mendimi pozitiv për fillimin e mbjedhjes së të dhënave në kuadër të këtij studimi.

Komiteti Kombëtar i Etikës Mjekësore konstatoi se janë përmbushur të gjitha kushtet për lëshimin e miratimit të studimit “**Studimet farmakokinetike në vlerësimin e ekuivalencës terapeutike të metforminës të prodhimit të vendit krahasuar me Glucophage-in dhe Siofor-in**”

Në mbledhjen e Komitetit Kombëtar të Etikës Mjekësore të mbajtur më datë 04/11/2014 ishin të pranishëm sa më poshtë:

Emër Mbiemër	Pozicioni	Profesioni	Punësimi aktual
Gene Sulçebe	Kryetar	Imunolog	Shef i Laboratorit të Imunologjisë në QSUT
Ledina Mandia	Zv. kryetar	Juriste	Juriste
Artan Goda	Anetar	Kardiolog	Shef i Shërbimit I të Kardiologjisë në QSUT
Myftar Barbullushi	Anetar	Nefrolog	Shërbimi i Nefrologjisë QSUT
Mentor Petrela	Anetar	Neurokirurg	Shef i Shërbimit të Neurokirurgjisë në QSUT
Alfred Pritanji	Anetar	Alergolog	Shërbimi i Alergologjisë QSUT
Leonard Deda	Anetar	Farmakolog	Kryetar i Komisionit të Nomenklaturës së Barnave
Enver Roshi	Anetar	Epidemiolog	Instituti i Shëndetit Publik
Petrit Bare	Anetar	Kardiolog	Shef i Shërbimit II të Kardiologjisë në QSUT

Për Komitetin Kombëtar të Etikës Mjekësore

Kryetari
Prof. Gene Sulçebe

13. SHTOJCA 3

13.1 Informimi dhe miratimi nga subjektet për pjesëmarrjen në studim

Subjektet (vullnetarët) u informuan përmes këtij formulari vijues:

<<< **MIRATIM NGA VULLNETARËT PËR PJESËMARRJE NË STUDIM KLINIK**

Emri i Vullnetarit: _____

Titulli i Studimit (Protokollit): “Studim farmakokinetik në vlerësimin e barasvlershmërisë biologjike të metforminës të prodhimit të vendit krahasuar me dy përgatesa importi (Glucophage dhe Siofor)”.

Studiuesi Kryesor: Eva Troja

Juve ju kërkohet që të merrni pjesë në një studim shkencor. Në mënyrë që të gjykoni drejt nëse dëshironi ose jo të jeni pjesë e këtij studimi, ju duhet të kuptoni të gjitha rreziqet dhe përfitimet e mundshme. Ky proces njihet si miratim pas informimit (Konsent i Informuar). Ky formular miratimi jep informacion të hollësishëm rreth këtij studimi, i cili do të diskutohet me ju. Kur ju ta keni kuptuar studimin, do t’ju kërkohet që ta firmosni këtë formular nëse dëshironi të merrni pjesë në studim.

I. NATYRA DHE KOHËZGJATJA E PROCEDURAVE

Çfarë synon ky studim?

Studimi krahason dy prodhime të metforminës në formën e tabletave, të prodhuara nga dy kompani farmaceutike të ndryshme. Në këtë rast krahasohet farmakokinetika e tyre (përqëndrimet plazmatike).

Çfarë është Metformina?

Tabletat e klorhidratit të metforminës, si monoterapi, përdoret si një zëvendësuese për dietën dhe stërvitjen për të përmirësuar kontrollin glicemik në të sëmurët me diabet tip 2. Metformina indikohet në të sëmurët e moshës 10 vjeçare dhe më të vjetër. Trajtimi fillon me një dozë 500 mg 3 herë në ditë ose një tabletë 850 mg 2 herë në ditë. Maksimumi i dozës janë 3 tableta 850 mg në ditë.

Në këtë studim ju do të merrni një dozë të vetme të Metforminës (850 mg) në formën e tabletës në secilën nga fazat e studimit. Studimi do të ketë dy faza të tilla të ndara.

Çfarë ndodh në studim?

Ky studim do të ketë dy faza të ndara nga një periudhë prej të paktën 7 ditësh. Ju do të merrni 850 mg metforminë në secilën periudhë të studimit, pra gjithsej 1700 mg gjatë gjithë studimit.

Përse ju konsideroheni si vullnetar i mundshëm për këtë studim?

Në mënyrë që studimi të jetë i vlefshëm sipas parametrave ndërkombëtare, studimet e këtij lloji zbatohen tek vullnetarët e shëndetshëm.

Çfarë do të bëhet me të dhënat e grumbulluara nga ky studim ?

Të dhënat e dala nga ky studim do të analizohen për të nxjerrë përfundime mbi mundësinë e përdorimit të krahasimeve farmakokinetike për të vlerësuar barasvlershmërinë biologjike të produkteve të ndryshme farmaceutike në rastin tonë të antidiabetikëve. Ky studim bëhet në kuadër të programit të doktoraturave në Farmakologji në Fakultetin e Mjekësisë, Universiteti i Tiranës.

Tabela e orareve të studimit

Dita	Marrja e medikamentit	Marrja e mostrës së gjakut	Marrja e mostrës së urinës	Qëndrimi në ambientet e studimit
Dita e parë e studimit	Ora 8 ⁰⁰	Gjatë ditës merren 14 mostra gjaku.	Gjatë ditës merren 5 mostra urine.	Marrja e fundit në 22 ⁰⁰ . Qëndrohet në mjedisin e studimit deri në marrjen e urinës dhe marrjen e fundit (14-të) të gjakut.
Dita e dytë e studimit	-	-	Merret 1 mostër urine e 12 orëve të dyta pas marrjes së barit të ditës së parë.	Marrja e fundit e urinës në orën 8 ⁰⁰
Dita e tretë e studimit (të paktën 7 ditë pas të parës)	Ora 8 ⁰⁰	Gjatë ditës merren 14 mostra gjaku.	Gjatë ditës merren 5 mostra urine.	Marrja e fundit në 22 ⁰⁰ Qëndrohet në mjedisin e studimit deri në marrjen e urinës dhe marrjen e fundit (14-të) të gjakut.
Dita e katërt e studimit	-	-	Merret 1 mostër urine e 12 orëve të dyta pas marrjes së barit të ditës së tretë.	Marrja e fundit e urinës në orën 8 ⁰⁰

- Juve do t'iu telefonohet në orën 18⁰⁰ një ditë para studimit për të konfirmuar edhe një herë gatishmërinë tuaj për pjesëmarrje në studim.
- Ditën e parë dhe të tretë të studimit ju do të qëndroni në klinikë nën mbikëqyrje nga ora 8⁰⁰ deri në 22⁰⁰. Gjatë kësaj kohe do të merren 14 mostra gjaku dhe 5 mostra urine. Gjaku do të merret me anë të një kateteri intravenoz, i cili do të vendoset para marrjes së mostrës së parë dhe do të hiqet pas marrjes së mostrës së 14-të.
- Rreth orës 8⁰⁰ të ditës së parë dhe të tretë të studimit juve do t'iu jepet bari së bashku me 240 ml ujë të pijshëm natyror. Ju duhet të mos hani (me përjashtim të ujit) që 10 orë përpara marrjes së barit dhe 4 orë pas marrjes së barit. Pra ngrënia fillon në orën 12⁰⁰ të ditës së parë dhe të tretë. Ditën e parë dhe të tretë të studimit ju do të jeni të lirë që të largoheni nga mjediset ku kryhet studimi në orën 22⁰⁰.
- Ju nuk mund të largoheni nga mjediset e studimit për çfarëdo arsyeje gjatë studimit. Nëse ju duhet të largoheni nga mjediset e studimit domosdoshmërisht, atëherë përjashtoheni menjëherë nga studimi.
- Juve do t'ju kërkohet që të riktheheni në mjediset ku kryhet studimi në orën 8⁰⁰ të ditës së dytë dhe të katërt të studimit që t'ju merret edhe mostra e fundit e urinës.
- Sasia e përgjithshme e gjakut që do t'iu merret është përafërsisht 112 ml, ose më pak se gjysma e sasisë së gjakut që merret në rast dhurimi.
- Ju nuk do të lejoheni të pini pije alkoolike, çaj, kafe, koka-kola, çokollatë dhe kakao 24 orë përpara ditës së parë dhe të tretë të studimit.
- Ju nuk do lejoheni të merrni ndonjë bar të përshkruar nga mjeku apo të blerë në farmaci, përgjatë dy javëve përpara studimit si dhe gjatë tij.

II. RREZIQET DHE PËRFITIMET Ë MUNDSHME

Ky studim është një projekt kërkimor dhe si rrjedhojë nuk ka ndonjë përfitim të drejtpërdrejtë për ju apo vullnetarët e tjerë.

Përgjithësisht metformina tolerohet mirë dhe efektet e padëshirueshme të saj janë shumë të rralla.

Efektet e padëshirueshme më të zakonshme pas marrjes së një doze të vetme metforminë janë kryesisht gastrointestinale si: të përziera, të vjella, diarre, konstipacion, dhembje koke.

Këto efekte, nëse ndodhin, zakonisht janë të lehta dhe zhduken sapo bari të jetë jashtëqitur.

Ju mund të ndjeni pak djegie përreth vendit të kateterit, (të vendosur në parakrah për të marrë mostrat e gjakut), por kjo qetësohet brenda pak ditësh. Ekziston një mundësi e vogël që të ndodhi inflamacion dhe/ose infeksion, por do të merren të gjitha masat që të mos ndodhi asnjë ndërlikim. Një tretësinë heparine shumë e holluar do të përdoret për të

parandaluar mpiksjen e gjakut në kateterin venoz të vënë në parakrah. Në raste shumë të rralla është vënë re që mund të shkaktojë pakësim të pllakëzave të gjakut (të cilat janë të rëndësishme në mpiksjen dhe ndalimin e hemorragjisë). Por kjo është jashtëzakonisht e rrallë, veçanërisht kur përdoren doza të vogla heparine si në rastin e studimit tonë. Juve mund t'iu ndodhi reaksion alergjik në lëkurë nga leukoplasti që përdoret përreth vendit të kateterit, por kjo ndodh shumë rrallë.

III. KUSHTET

Pjesëmarrja juaj është vullnetare dhe ju mund të tërhiqeni nga studimi në çdo çast dhe për çfarëdo arsyeje.

Ju do të merrni pjesë në studim vetëm nëse studiuesi kryesor deklaron që ju jeni i përshtatshëm pasi të keni kryer ekzaminimet e nevojshme mjekësore.

DHËNIA E MIRATIMIT

Projekti kërkimor dhe procedurat e trajtimit që e bashkëshoqërojnë janë sqaruar plotësisht. Unë e kam pasur mundësinë që të bëj pyetje që kanë të bëjnë me të gjitha aspektet e studimit dhe procedurat që ai përfshin. Jam i ndërgjegjshëm që pjesëmarrja është vullnetare dhe që mund të tërhiqem nga marrëveshja në çdo kohë. Firma e hedhur nga unë në këtë marrëveshje nuk më detyron mua që të marr pjesë në studim, pasi unë kam në dispozicion dhe të paktën 6 ditë për ta rigjykuar vendimin tim. Të dhënat e mia që do të përdoren në këtë studim do të ruhen në mënyrë të përshtatshme dhe konfidenciale. Autoritetet rregullatore mund të inspektojnë të dhënat e mia në çdo kohë. Po ashtu, mjeku im i familjes do të informohet mbi pjesëmarrjen time.

Ky studim mund të kryhet vetëm pas lejes të dhënë nga Komiteti Kombëtar i Etikës. Studimi do t'i përmbahet Deklaratës së Helsinkit (1964) (Amendamentit të Afrikës Jugore 1996).

Vë në dijeni që unë e kuptoj përmbajtjen e kësaj marrëveshje dhe si subjekt, i miratoj pa asnjë shtrëngim procedurat që do të ndiqen sipas kësaj marrëveshje. Unë kam marrë një kopje të kësaj marrëveshje që ta ruaj për veten time. Unë e kam të qartë se nëse kam ndonjë pyetje në lidhje me këtë studim, mund të kontaktoj me Komitetin Kombëtar të Etikës.

Deklaroj që unë i kam treguar studiuesit kryesor për të gjitha barnat (me apo pa recetë) që kam marrë 28 ditët e fundit, dhe nëse po marr apo kam ndërmend të marr ditët e ardhshme.

Unë e kuptoj që do të më kërkohet të rikthehem brenda 14 ditëve pas përfundimit të studimit për të bërë ekzaminimet e nevojshme mjekësore. Këto ekzaminime përfshijnë kuadrin e gjakut, transaminazat dhe bilirubinemia.

Nëse unë largohem ose më largojnë nga studimi, unë e kuptoj që edhe në këtë rast do të më kërkohet të bëj ekzaminimin mjekësor të pas studimit.

Jam dakord të bashkëpunoj me studiuesin, dhe t'iu përshtatem udhëzimeve dhe kufizimeve të kërkuara nga ai përpara, gjatë dhe pas studimit. Unë do ti tregoj atij menjëherë nëse kam ndonjë shqetësim apo simptomë të papritur ose të pazakontë.

Jam dakord që mjeku im i familjes mund të kontaktohet për të dhënë ndonjë informacion që mund të ndikojë në pjesëmarrjen time në këtë studim klinik.

Në mënyrë që të jem i sigurtë gjatë pjesëmarrjes në këtë studim, gjaku im do t'ju nënshtrohet analizave rutinë hematologjike dhe biokimike, dhe në rast dyshimi për hepatit B dhe C. Në rast se do të rezultoj pozitiv për hepatit B ose C, do t'i drejtohem një specialisti për konsultë të mëtejshme. Të gjitha rezultatet do të ruhen në mënyrë të plotë konfidenciale.

Unë jam i gatshëm që të ha të gjitha ushqimet që do të jepen si pjesë e dietës së studimit. Deklaroj që nuk kam kërkesa të veçanta dietetike.

Të dhënat që do të mblidhen gjatë këtij studimi do të jenë konfidenciale dhe unë do të kem akses të tyre në çdo kohë që do të dëshiroj. Të dhënat e studimit do të jenë të disponueshme nga autoritetet e ndryshme rregullatore dhe Komiteti Kombëtar i Etikës.

Pasi të keni lexuar të gjithë formularin e marrëveshjes (Konsentin e Informuar), nëse nuk keni ndonjë pyetje tjetër rreth dhënies së miratimit, ju lutemi nënshkruani poshtë:

Vullnetari _____

Data _____

Studiuesi kryesor (Informuesi): Eva Troja

Data _____))>>

14. REFERENCAT

1. Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med.* 2002. 137(1):25–33.
2. Hundal RS, Krssak M, Dufour S, Laurent D, Lebon V, Chandramouli V, Inzucchi SE, Schumann WC, Petersen KF, Landau BR, Shulman GI. Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2000. 49(12): 2063-9.
3. Miller RA, Chu Q, Xie J, Foretz M, Viollet B, Birnbaum MJ.. Biguanides suppress hepatic glucagon signalling by decreasing production of cyclic AMP. *Nature.* 2013; 494(7436): 256–60.
4. Bailey CJ, Turner RC. Metformin. *N Engl J Med.* 1996. 334(9): 574–9.
5. Dunn CJ, Peters DH. Metformin. A review of its pharmacological properties and therapeutic use in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Drugs.* 1995. 49(5): 721–49.
6. Hundal RS, Inzucchi SE (2003). Metformin: new understandings, new uses. *Drugs.* 2003. 63(18): 1879–94.
7. Tucker GT, Casey C, Phillips PJ, Connor H, Ward JD, Woods HF. Metformin kinetics in healthy subjects and in patients with diabetes mellitus. *Br J Clin Pharmacol* 1981; 12: 235-46.
8. Bennett WL, Maruthur NM, Singh S, Segal JB, Wilson LM, Chatterjee R, Marinopoulos SS, Pahan MA, Ranasinghe P, Block L, Nicholson WK, Hutfless S, Bass EB, Bolen S. Comparative effectiveness and safety of medications for type 2 diabetes: an update including new drugs and 2-drug combinations. *Annals of Internal Medicine.* 2011; 154(9):602-13.
9. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, Peters AL, Tsapas A, Wender R, Matthews DR; American Diabetes Association (ADA); European Association for the Study of Diabetes (EASD). Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care.* 2012; 35(6): 1364–79.
10. Lilly M, Godwin M. Treating prediabetes with metformin: systematic review and meta-analysis. *Canadian Family Physician.* 2009. 55(4):363–9.
11. Tang T, Lord JM, Norman RJ, Yasmin E, Balen AH. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2009. (4):CD003053.
12. Nicholson W, Bolen S, Witkop CT, Neale D, Wilson L, Bass E. Benefits and risks of oral diabetes agents compared with insulin in women with gestational diabetes: a systematic review. *Obstet Gynecol.* 2009. 113(1):193–205.
13. Kitwitee P, Limwattananon S, Limwattananon C, Waleekachonlert O, Ratanachotpanich T, Phimphilai M, Nguyen TV, Pongchaiyakul C. Metformin for the treatment of gestational diabetes: An updated meta-analysis. *Diabetes research and clinical practice.* 2015. 109(3):521-32.

14. Cheung NW. The management of gestational diabetes. *Vasc Health Risk Manag.* 2009; 5(1):153–64.
15. Sivalingam VN, Myers J, Nicholas S, Balen AH, Crosbie EJ. Metformin in reproductive health, pregnancy and gynaecological cancer: established and emerging indications. *Human Reproduction Update.* 2014. 20(6): 853–868.
16. Bolen S, Feldman L, Vassy J, Wilson L, Yeh HC, Marinopoulos S, Wiley C, Selvin E, Wilson R, Bass EB, Brancati FL. Systematic review: comparative effectiveness and safety of oral medications for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med.* 2007. 147(6):386–99.
17. Dell'Aglio DM, Perino LJ, Kazzi Z, Abramson J, Schwartz MD, Morgan BW. Acute metformin overdose: examining serum pH, lactate level, and metformin concentrations in survivors versus nonsurvivors: a systematic review of the literature. *Ann Emerg Med.* 2009; 54(6):818–23.
18. Lacher M, Hermanns-Clausen M, Haeffner K, Brandis M, Pohl M. Severe metformin intoxication with lactic acidosis in an adolescent. *Eur J Pediatr.* 2005; 164(6):362–5.
19. Andrès E, Noel E, Goichot B. Metformin-associated vitamin B12 deficiency. *Arch Intern Med.* 2002; 162(19):2251–2.
20. Gilligan M. Metformin and vitamin B12 deficiency. *Arch Intern Med.* 2002; 162(4):484–5.
21. Spiller HA, Weber JA, Winter ML, Klein-Schwartz W, Hofman M, Gorman SE, Stork CM, Krenzelok EP. Multicenter case series of pediatric metformin ingestion. *Ann Pharmacother.* 2000; 34(12):1385–8.
22. Forrester MB. Adult metformin ingestions reported to Texas poison control centers, 2000–2006. *Hum Exp Toxicol.* 2008; 27(7):575–83.
23. Suchard JR, Grotsky TA. Fatal metformin overdose presenting with progressive hyperglycemia. *West J Emerg Med.* 2008; 9(3):160–4.
24. Gjedde S, Christiansen A, Pedersen SB, Rungby J. Survival following a metformin overdose of 63 g: a case report. *Pharmacol Toxicol.* 2003; 93(2):98–9.
25. Nisse P, Mathieu-Nolf M, Deveaux M, Forceville X, Combes A. A fatal case of metformin poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol.* 2003; 41(7):1035–6.
26. Teale KF, Devine A, Stewart H, Harper NJ. The management of metformin overdose. *Anaesthesia.* 1998; 53(7):698–701.
27. Somogyi A, Stockley C, Keal J, Rolan P, Bochner F. Reduction of metformin renal tubular secretion by cimetidine in man. *Br J Clin Pharmacol.* 1987; 23(5):545–51.
28. Bristol-Myers Squibb. U.S. Food and Drug Administration. Glucophage (metformin hydrochloride tablets) Label Information; 2008 [Retrieved 2009-12-08].
29. Jayasagar G, Krishna Kumar M, Chandrasekhar K, Madhusudan Rao C, Madhusudan Rao Y. Effect of cephalixin on the pharmacokinetics of metformin in healthy human volunteers. *Drug Metabol Drug Interact.* 2002; 19(1):41–8.
30. Understanding generic drugs. US Food and Drug Administration, Silver Spring, 2012. <http://www.fda.gov/Drugs/ResourcesForYou/Consumers/BuyingUsingMedicineSafely/UnderstandingGenericDrugs/default.htm>. Accessed 5 Apr 2013.

31. Davit B, Braddy AC, Conner DP, Yu LX. International Guidelines for Bioequivalence of Systemically Available Orally Administered Generic Drug Products: A Survey of Similarities and Differences. *AAPS J.* 2013. 15(4): 974–990.
32. Multisource (generic) pharmaceutical products; guidelines on registration requirements to establish interchangeability. Annex 7, WHO Technical Report Series, 937, World Health Organization, 2006. http://www.who.int/prequal/info_general/documents/TRS937/WHO_TRS_937_eng.pdf#page=359. Accessed 5 Apr 2013.
33. Mastan S, Latha TB, Ajay S. The basic regulatory considerations and prospects for conducting bioavailability/bioequivalence studies—an overview. *Comp Eff Res.* 2011;1:1–25.
34. Kanfer I. Introduction. In: Kanfer I, Shargel L, editors. *Generic drug product development, international regulatory requirements for bioequivalence*. New York: Informa Healthcare; 2010. pp. 1–16.
35. Electronic orange book. US Food and Drug Administration, Silver Spring. 2012. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/UCM071436.pdf>. Accessed 5 Apr 2013.
36. World Health Organization (2005). *Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability*. Working document QAS/04.093/Rev.4. Geneva, WHO.
37. US Government Printing Office. *Federal Food Drugs and Cosmetic Act. Drugs and devices. Chapter 9, Section 355(j)(8)(B)(i). Title 21 United States Code.* 2011
38. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. FDA. Center for Drug Evaluation and Research. *Guidance for industry: bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products-general considerations*. Rockville: FDA, 2003. p.1-26.
Available at:
<<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070124.pdf>>. Accessed on: 12 Ag 2014.
39. Nightingale SL (FDA Associate Commissioner for Health Affairs). *Therapeutic equivalence of generic drugs—letter to health practitioners*. January 28, 1998.
40. *Guideline on the investigation of bioequivalence*. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), European Medicines Agency (EMA) 2010. Pages 1-27
41. EMEA. *Guideline on bioanalytical method validation*. 2011. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf
42. Midha KK, Rawson MJ, Hubbard JW. The role of metabolites in bioequivalence. *Pharm Res.* 2004;21:1331–44
43. Chen M-L, Lesko L, Williams RL. Measures of exposure versus measures of rate and extent of absorption. *Clin Pharmacokinet.* 2001;40:565–572.
44. Rani S, Pargal A. Bioequivalence: An overview of statistical concepts. *Indian Journal of Pharmacology*, 2004. 36(4): 209-216.

45. Liu, J. P. & Weng, C.S. (1993). Evaluation of parametric and nonparametric two one-sided tests procedures for assessing bioequivalence of average bioavailability. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, 3: 85-102.
46. Lindley, D.V. (1998). Decision Analysis and Bioequivalence Trials. *Statistical Science*, 13:136–141.
47. Schuirmann, D.J.A. (1987). Comparison of the Two One-Sided Tests Procedure and the Power Approach for Assessing the Equivalence of Average Bioavailability. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 15,657–680.
48. Hauschke, D., Steinijans, V.W., Diletti, E. & Burke, M. (1992). Sample Size Determination for Bioequivalence Assessment Using a Multiplicative Model. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 20, 557–561.
49. Berger, R. L. & Hsu, J. C., (1996). Bioequivalence Trials, Intersection-Union Tests and Equivalence Confidence Tests. *Statistical Science* 11(4): 283-319.
50. Phillips, K.F. (1990). Power of the Two-One Sided Tests Procedure in Bioequivalence study. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 18, 137-144.
51. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). Note for guidance: Investigation of bioavailability and bioequivalence 2009. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003519.pdf
52. Liu JP, Chow SC. Sample size determination for the two one-sided tests procedure in bioequivalence. *J Pharmacokinet Biopharm* 1992;20:101-4.
53. Diletti E, Hauschke D, Steinijans VW. Sample size determination for bioequivalence assessment by means of confidence intervals. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1991;29:1-8.
54. Shah, V.P. et al (2000). Workshop Report. *Pharmaceutical Research*,17:1551-1557.
55. Tothfalusi, L., Endrenyi, L., Midha, K.K., Rawson M.J. and Hubbard, J.W. (2001). Evaluation of the Bioequivalence of Highly-Variable Drugs and Drug Products. *Pharm. Res.*, 18 (6):728-733.
56. Tothfalusi, L and Endrenyi, L (2003). Limits for the Scaled Average Bioequivalence of Highly Variable Drugs and Drug Products. *Pharm. Res.* 20 (3):382-389.
57. BCS Database. Drug delivery foundation. Website <http://www.ddfint.org/about-bcs/> (accessed june 30, 2016).
58. Wagh MP, Patel JS. Biopharmaceutical classification system: scientific basis for biowaiver extensions. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2010;2:12-19.
59. Löbenberg R, Amidon GL. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. *Eur J Pharm Biopharm.* 2000 ; 50(1):3-12.
60. Verbeeck RK, Musuamba FT. The revised EMA guideline for the investigation of bioequivalence for immediate release oral formulations with systemic action. *J Pharm Pharm Sci.* 2012; 15(3):376-88.
61. WHO Prequalification Team – Medicines (PQTm), General notes on Biopharmaceutics Classification System (BCS)-based biowaiver applications;

- WHO Guidance Document; World Health Organisation: Geneva, Switzerland, 2014.
62. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System; Guidance for Industry; U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) May 2015.
 63. WHO Expert Committee on specifications for pharmaceutical preparations, fortieth report; WHO technical report series, No.937; World Health Organisation: Geneva, Switzerland, 2006.
 64. Gray VA, Brown CK, Dressman JB, Leeson J. 2001. A new general chapter on dissolution. *Pharm Forum* **27**:3432–3439.
 65. Wang Q, Fotaki N, Mao Y, “Biorelevant Dissolution: Methodology and Application in Drug Development”, *Dissolution Technologies*, August 2009, 6-12.
 66. “USP In Vitro and In Vivo Evaluation of dosage Forms General Chapter <1088>”, 2014, United States Pharmacopoeia and National Formulary, United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 37 th Edition, 834-843.
 67. “USP<1092> The dissolution procedure: Development and Validation”, 2004, *Pharmacopoeial Forum*, 32(1), 851-863.
 68. Hofer JD, Gray VA. 2003. Examination of selection of immediate release dissolution acceptance criteria. *Pharm Forum* 29:334–340.
 69. Tsong, Y., Hammerstrom, T., 1996. Statistical assessment of mean differences between two dissolution data sets. *Drug Inf. J.* 30, 1105–1112.
 70. Costa P., Lobo J.M.S. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur.J.Pharm.Sci.* 2001, 13 (2), 123-133.
 71. Moore, J.W., Flanner, H.H., 1996. Mathematical comparison of dissolution profiles. *Pharm. Technol.* 20(6), 64–74.
 72. Rescigno, A., 1992. Bioequivalence. *Pharm. Res.* 9, 925–928.
 73. Guideline on the investigation of bioequivalence; CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1; Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), European Medicines Agency: London, 2010.
 74. Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms; Guidance for industry; U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), U.S. Government printing office: Washington, DC, 1997.
 75. Eva Troja, Leonard Deda, Gëzim Boçari. “Ion-Pair HPLC method for the quantification of Metformin in human plasma and its application to a Pharmacokinetic Study”. *British Journal of Pharmaceutical Research (BJPR, open access)* 2016, Vol.9 (4), page 1-9 ; ISSN: 2231-2919
 76. Eva Troja, Leonard Deda, Gëzim Boçari. “Ion-pair HPLC method for the quantification of metformin in human urine”. *Journal of Applied Bioanalysis (JAB, open access)*. 2016, Vol.2 No.1, p. 16-24. ISSN:2405-710X
 77. International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Guideline for good clinical practice E6(R1) dated 10 June 1996.

- https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6_R1_Guideline.pdf
78. Guidance for industry- statistical approaches to establishing bioequivalence, FDA, CDER, January 2001.
 79. Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence. EMEA, CPMP; July 2001
 80. World Medical Association Declaration Of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects
Adopted by the 18th WMA General Assembly Helsinki, Finland, June 1964
and amended by the:
29th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 1975
35th WMA General Assembly, Venice, Italy, October 1983
41st WMA General Assembly, Hong Kong, September 1989
48th WMA General Assembly, Somerset West, Republic of South Africa, October 1996
52nd WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000
53rd WMA General Assembly, Washington DC, USA, October 2002
55th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 2004
59th WMA General Assembly, Seoul, Republic of Korea, October 2008
64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October 2013
 81. Gabrielsson J, Weiner D. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis, Concepts and Applications. 4th ed. Stockholm, Sweden: Swedish Pharmaceutical Press; 2007.
 82. Cawello W, Bökens H, Nickel B, Andreas JO, Halabi A. Tolerability, pharmacokinetics, and bioequivalence of the tablet and syrup formulations of lacosamide in plasma, saliva and urine: Saliva as a surrogate of pharmacokinetics in the central compartment. *Epilepsia*, 2013;54(1):81-8.
 83. Shargel L and Yu A (1999). *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*, 4th ed., Appleton & Lange, Stamford, pp.154-163.
 84. Otoom S, Hasan M, Najib N. Comparative bioavailability of two cefadroxil products using serum and urine data in healthy human volunteers. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2004; 31(7):433-7.
 85. Portolés A, Prieto E, Calvo A, Laredo L, Fernández N, Vargas E. Truncated area under the urinary excretion rate curve in the evaluation of alendronate bioequivalence after a single dose in healthy volunteers. *Arzneimittelforschung.* 2009; 59(8):397-402.
 86. Arancibia A. Calidad biofarmacêutica. Estudios in vitro e in vivo. *Acta Farm. Bonaer.* 1991; 10(2):123-133.
 87. US. Pharmacopoeia National Formulary. 2014. USP 37 NF 32. Vol 1. Pp 1444.
 88. US. Pharmacopoeia National Formulary. 2014. USP 37 NF 32. Vol 1. Metformin HCl tablets monograph. Pages 3730-32.
 89. International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceutical for human use. Validation of analytical procedures: text and methodology, Q2(R1); ICH Harmonised tripartite guideline: Geneva, Switzerland, 2005.

90. <1225> Validation of compendial methods. In The United States Pharmacopeia and National Formulary USP 37-NF 32; The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 2014.
91. Meredith P. "Bioequivalence and other unresolved issues in generic drug substitution", *Clin. Ther.* 2003; 25 (11): 2875–90.
92. Grahnen A. Design of bioavailability studies. *Pharm Int* 1984; 5: 100–103.
93. Westlake WJ. Bioavailability, bioequivalence of pharmaceutical formulations. In: *Biopharmaceutical Statistics for Drug Development*. Peace KE (ed), Marcel Dekker: New York, 1988; 329–352.
94. Chow CS, Liu JP. Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies. Marcel Dekker: New York, 1992.
95. Sprenger K., Nickerson D., O'Connell A.M, Morrison BW. Quality by Design in Clinical Trials: A Collaborative Pilot With FDA. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*. 2012; 47(2):161-166.
96. Cheng C.L., Yu L.X., et al. "Biowaiver extension potential to BCS Class III high solubility-low permeability drugs: bridging evidence for metformin immediate-release tablet", *Eur J Pharm Sci*. 2004; 22(4): 297-304.
97. Dimitrijevic D, Shaw AJ, Florence AT. Effects of some non-ionic surfactants on transepithelial permeability in Caco-2 cells. *J Pharm Pharmacol* 1999; 52(2):157-62.
98. Nicklin P, Keates AC, Page T, Bailey CJ. Transfer of metformin across monolayers of human intestinal Caco-2 cells and across rat intestine. *Int J Pharm* 1996; 128(1-2):155-62.
99. Amini H, Ahmadiani A, Gazerani P. Determination of metformin in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*. 2005;824:319–22.
100. Cheng and Chou. Determination of metformin in human plasma by high-performance liquid chromatography with spectrophotometric detection, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 2001;762(1):51–8.
101. Yuen and Peh. Simple high-performance liquid chromatographic method for the determination of metformin in human plasma. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1998;710:243–6.
102. Chhetri HP, Thapa P, Schepdael AV. Simple HPLC-UV method for the quantification of metformin in human plasma with one step protein precipitation. *Saudi Pharm J*. 2014;22:483–7.
103. Gabr RQ, Padwal RS, Brocks DR. Determination of metformin in human plasma and urine by high performance liquid chromatography using small sample volume and conventional octadecyl silane column. *Pharm. Pharm. Sci*. 2010;13:486–94.
104. Ranetti MC, Ionescu M, Hinescu L, Ionică E, Anuța V, Ranetti AE, Stecoza CE, Mircioiu C. Validation of a HPLC method for the simultaneous analysis of metformin and gliclazide in human plasma. *Farmacia*. 2009; 57:728–35.
105. Wanjari MM, There AW, Tajne MR., Chopde CT, Umathe SN. Rapid and Simple RPHPLC Method for the Estimation of Metformin in Rat Plasma. *Indian J Pharm Sci*. 2008;70:198–202.

106. AbuRuz S, Millership J, McElnay J. The development and validation of liquid chromatography method for the simultaneous determination of metformin and glipizide, gliclazide, glibenclamide or glimiperide in plasma. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2005; 817:277–86.
107. AbuRuz S, Millership J, McElnay J. Determination of metformin in plasma using a new ion pair solid phase extraction technique and ion pair liquid chromatography. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2003; 798:203–9.
108. ZarghiA, ForoutanS.M, ShafaatiA, KhoddamA. Rapid determination of metformin in human plasma using ion-pair HPLC, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2003;31:197–200.
109. Keal J, Somogyi A. Rapid and sensitive high-performance liquid chromatographic assay for metformin in plasma and urine using ion-pair extraction techniques. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.* 1986;378:503-8
110. Benzi L, Marchetti P, Cecchetti P, Navalesi R. Determination of metformin and phenformin in human plasma and urine by reversed-phase high-performance liquid chromatography *J. Chromatogr.* 1986;375:184-9.
111. PortaV, SchrammSG, KanoEK, KoonoEE, ArmandoYP, FukudaK, Serra CH. HPLC-UV determination of metformin in human plasma for application in pharmacokinetics and bioequivalence studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2008;46:143–7.
112. Yardimci C, Ozaltin N, Gurlek A. Simultaneous determination of rosiglitazone and metformin in plasma by gradient liquid chromatography with UV detection. *Talanta.* 2007;72:1416–22.
113. Huupponen R, Ojala-Karlsson P, Rouru J, Koulu M. Determination of Metformin in plasma by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.* 1992;583:270-3.
114. Bonfigli AR, Manfrini S, Gregorio F, Testa R, Testa I, De Sio G, Coppa G. Determination of plasma metformin by a new cation-exchange HPLC technique. *The Drug Monit.* 1999;21:330-4.
115. Vesterqvist O, Nabbie F, Swanson B. Determination of metformin in plasma by high-performance liquid chromatography after ultrafiltration. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1998;716:299-304.
116. Charles BG, Jacobsen NW, Ravenscroft PJ. Rapid liquid-chromatographic determination of metformin in plasma and urine. *Clin Chem.* 1981;27:434-6.
117. Chhetri HP, Thapa P, Schepdael AV. Simple HPLC-UV method for the quantification of metformin in human plasma with one step protein precipitation. *Saudi Pharm J.* 2014;22:483–7.
118. David, V., Barcutean .C,Sora. I, Medvedovici. A, *Rev. Roum. de Chim.* 50 (2005) 269–276.
119. Tache F, David V, Ferca A and Medvedovici A (2001). HPLC-DAD determination of Metformin in human plasma using derivatization with p-nitrobenzoyl chloride in a biphasic system. *Microchem. J.*, 2001; 68(1):13.
120. Tũma. Large volume sample stacking for rapid and sensitive determination of antidiabetic drug metformin in human urine and serum by capillary

- electrophoresis with contactless conductivity detection. *J. Chromatogr. A.* 1345, 207–211 (2014).
121. Skrzypek S, Mirceski V, Ciesielski W, Sokołowski A, Zakrzewski R. Direct determination of metformin in urine by adsorptive catalytic square-wave voltammetry. *J. Pharm. Biomed. Analysis* 45, 275–281(2007).
 122. El-Gindy A, Nassar MW, El-Abasawy NM, Attia KA, Al-Shabrawi M. Optimization and Validation of an RP-HPLC Method for Direct Determination of Metformin Hydrochloride in Human Urine and in a Dosage Form. *J. AOAC Int.* 93(6), 1821-8 (2010).
 123. Tong R, Qi X, Ding L, Song Q. Analysis of urine excretion of metformin-glipizide tablet after oral administration in healthy human. *Tianjin Med. J.* 40(1), 7-11 (2012).
 124. Zhang X, Wang X, Vernikovskaya DI, Fokina VM, Nanovskaya TN, Hankins GD, Ahmed MS. Quantitative determination of metformin, glyburide and its metabolites in plasma and urine of pregnant patients by LC-MS/MS. *Biomed. Chromatogr.* 29(4), 560-569 (2015).
 125. Matin SB, Karam JH, Forshan PH. Simple electron capture gas chromatographic method for the determination of oral hypoglycemic biguanides in biological fluids. *Anal Chem.* 47(3), 545–548 (1975).
 126. Ross MSF. Determination of metformin in biological fluids by derivatization followed by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 133, 408-411 (1977).
 127. Lennard M.S, Casey C, Tucker G.T and Woods H.F. Determination of metformin in biological samples. *Br J Clin Pharmacol.* 6(2), 183–185 (1978).
 128. Alamgir M, Hayat A, Majidano A.A and Khuhawaret M.Y. Spectrophotometric Determination of Metformin in Pharmaceutical Preparations, Serum and Urine using Benzoin as Derivatizing Reagent. *J. Chem. Soc. Pakistan.* 36(2), 344-349 (2014).
 129. Deng B, Shi A, Kang Y and Li L. Determination of metformin hydrochloride using precolumn derivatization with acetaldehyde and capillary electrophoresis coupled with electrochemiluminescence. *Luminescence.* 26(6), 592–597 (2011).
 130. Tahara K, Yonemoto A, Yoshiyama Y, Nakamura T, Aizawa M, Fujita Y and Nishikawa T. Determination of antihyperglycemic biguanides in serum and urine using an ion-pair solid-phase extraction technique followed by HPLC-UV on a pentafluorophenylpropyl column and on an octadecyl column. *Biomed. Chromatogr.* 20, 1200–1205 (2006).
 131. Nielsen F, Christensen Mette M. H and Brøsen K. Quantitation of metformin in human plasma and urine by hydrophilic interaction liquid chromatography and application to a pharmacokinetic study. *Ther. Drug Monitor.* 36(2), 211–217 (2014).
 132. Liu Y, Huang L, Wang J, Ding C, Xu Sh, Sun F, Feng S. Simultaneous Determination of Three Diabetic Drugs in Urine by High Performance Liquid Chromatography. *J. Instr. Analysis, Fenxi Ceshi Xuebao.* 30(3), 293-297 (2011).
 133. Holguin G, Cuesta F, Archbold R, Restrepo M, Parra S, Pena L, Montoya B, Rios JC, Toro VE, Ruiz A. Bioavailability and pharmacokinetic comparison of

- two formulations of metformin 850 mg tablets in healthy Colombian volunteers. *Colombia Medica*. 2011; 42:81-7.
134. Bhavesh D, Chetan G, Bhat KM, Shivprakash. Estimation of pharmacokinetics of metformin in human volunteers. *Indian J.Pharm. Educ. Res.* 2007; 41(2).
 135. Bristol-Myers Squibb. U.S. Food and Drug Administration. Glucophage (metformin hydrochloride tablets) Label Information; August 27, 2008 [Retrieved 2009-12-08].
 136. He YL, Paladini S, Sabia H, Campestrini J, Zhang Y, Leon S, Ligueros-Saylan M, Jarugula V. Bioequivalence of vildagliptin/metformin fixed-dose combination tablets and a free combination of vildagliptin and metformin in healthy subjects. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2008; 46(5):259-67.
 137. Madan PL (2000). *Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*, 1st ed., Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd., New Delhi, pp.406-494.
 138. Ayesha Rashid, Mahmood Ahmad, Muhammad Usman Minhas, Ijaz Javed Hassan and Muhammad Zubair Malik. Pharmacokinetic studies of metformin and glibenclamide in normal human volunteers. *Pak. J. Pharm. Sci.*, January 2014. Vol.27(1):153-159
 139. G. Gopi, M. Manikandan, D. Nirmala Roja, S.Thirumurugu, K.Kannan, D.C.Arumainayagam, R.Manavalan. Pharmacokinetic Evaluation of Metformin Hydrochloride with Stevias in Human Volunteers. *J. Pharm. Sci. & Res.* 2012. Vol.4(1):1676-1680.
 140. Najib N, Idkaidek N, Beshtawi M, Bader M, Admour I, Alam SM, Zaman Q, Dham R. Bioequivalence evaluation of two brands of metformin 500 mg tablets (Dialon & Glucophage)--in healthy human volunteers. *Biopharm Drug Dispos.* 2002 Oct; 23(7):301-6.
 141. Sandra Lucía Montoya-Eguía, Lourdes Garza-Ocañas, Christian Tadeo Badillo-Castañeda, Eduardo Tamez-de la O, Teresa Zanatta-Calderón, Marco Vinicio Gómez-Meza, Humberto Garza-Ulloa. Comparative Pharmacokinetic Study Among 3 Metformin Formulations in Healthy Mexican Volunteers: A Single-Dose, Randomized, Open-Label, 3-Period Crossover Study. *Current Therapeutic Research* (2015). 77: 18–23.
 142. Chen L, Zhou Z, Shen M, Ma A. Simultaneous determination and pharmacokinetic study of metformin and rosiglitazone in human plasma by HPLC-ESI-MS. *J Chromatogr Sci.* 2011 Feb; 49(2):94-100.
 143. Wagenlehner FM, Kinzig-Schippers M, Sörgel F, Weidner W, Naber KG. Concentration in plasma, urinary excretion and bactericidal activity of levofloxacin(500mg) versus ciprofloxacin (500mg) in healthy volunteers receiving a single oral dose. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2006; 28 (6):551-559.
 144. Tubic M, Wagner D, Spahn-Langguth H, Weiler C, Wanitschke R, Böcher WO, Langguth P. Effects of controlled-release on the pharmacokinetics and absorption characteristics of a compound undergoing intestinal efflux in humans. *Eur J Pharm Sci.* 2006;29(3-4):231-9.
 145. Shah S.A.; Rathod I.S.; Savale S.S.; Patel D.B. Determination of bioequivalence of lomefloxacin tablets using urinary excretion data. *J. Pharm. Biomed. Analysis.* 2002;30(4):1319-1329.

146. Pillai G, Ellard GA, Smith PJ, Fourie PB. The potential use of urinary excretion data for assessing the relative bioavailability of rifampicin in fixed dose combination anti-tuberculosis formulations. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2001. 5(8):691-695.
147. Serra CHR, Storpirtis S, Gonçalves JE. Excreção urinária de fármacos. In: STORPIRTIS, S.; GAI, M. N. ; GONÇALVES, J. E.; CAMPOS, D. R. C. (Eds.) *Farmacocinética básica e aplicada*. São Paulo: GuanabaraKoogan, 2011. p. 50-57.
148. Sambol NC, Brookes LG, Chiang J, Goodman AM, Lin ET, Liu CY, & Benet LZ. Food intake and dosage level, but not tablet vs solution dosage form, affect the absorption of metformin HCl in man. *Brit. J. Clin. Pharm.* 1996.42: 510–512.
149. Marathe, P.H, Wen, Y, Norton J, Greene D.S, Barbhैया, R.H, & Wilding I.R. Effect of altered gastric emptying and gastrointestinal motility on metformin absorption. *Brit. J. Clin. Pharm.* 50, 325–332 (2000).
150. Amidon G.L., Lennernas H., Shah V.P., Crison J.R., “A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability”, *Pharm. Res.* 12, 1995. pp 413–20.
151. Qureshi SA, Shabnam J. Cause of high variability in drug dissolution testing and its impact on setting tolerances. *Euro J Pharm Sci* 2001; 12(3):271–276.
152. Yuksel N, Kanik AE and Baykara T (2000). Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA-based, model-dependent and independent methods. *Int. J. Pharm.*, 209: 57-67.
153. Dumont ML, Berry MR, Nickerson B. Probability of passing dissolution acceptance criteria for an immediate release tablet. *J Pharm Biomed Anal* 2007; 44(1):79-84.
154. Proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate release, solid oral dosage forms; Working document QAS/04.109/Rev 1; World Health Organisation: Geneva, 2006.
155. Takizawa Y, Kishimoto H, Nakagawa M, Sakamoto N, Tobe Y, Furuya T, Tomita M, Hayashi M. Effects of pharmaceutical excipients on membrane permeability in rat small intestine. *Int.J. Pharm.* 2013,453 (2),363-370.
156. Rege BD, Yu LX, Hussain AS, Polli JE. Effect of common excipients on Caco-2 transport of low-permeability drugs. *J Pharm Sci.* 2001 ; 90(11):1776-86.
157. Panakanti R, Narang AS. Impact of excipient interactions on drug bioavailability from solid dosage forms. *Pharm Res.* 2012 Oct;29(10):2639-59. doi: 10.1007/s11095-012-0767-8. Epub 2012 May 19.
158. Rege BD, Kao JP, Polli JE. Effects of nonionic surfactants on membrane transporters in Caco-2 cell monolayers. *Eur J Pharm Sci.* 2002 Sep;16(4-5):237-46.
159. Goole J, Lindley DJ, Roth W, Carl SM, Amighi K, Kauffmann JM, Knipp GT. The effects of excipients on transporter mediated absorption. *Int J Pharm.* 2010 Jun 30;393(1-2):17-31. doi: 10.1016/j.ijpharm.2010.04.019. Epub 2010 Apr 24.
160. Cornaire G, Woodley J, Hermann P, Cloarec A, Arellano C, Houin G. Impact of excipients on the absorption of P-glycoprotein substrates in vitro and in vivo. *Int J Pharm.* 2004 Jun 18;278(1):119-31.

161. Schulze JD, Peters EE, Vickers AW, Staton JS, Coffin MD, Parsons GE, Basit AW. Excipient effects on gastrointestinal transit and drug absorption in beagle dogs. *Int J Pharm.* 2005 Aug 26;300(1-2):67-75.
162. Aburub A, Risley DS, Mishra D. A critical evaluation of fasted state simulating gastric fluid (FaSSGF) that contain sodium lauryl sulfate and proposal for modified recipe. *Int J Pharm.* 2008; 347:16–22.
163. Dressman JB, Vertzoni M, Goumas K, Reppas C. Estimating drug solubility in the gastrointestinal tract. *Adv Drug Deliv Rev.* 2007; 59(7):591-602.
164. FIP guidelines for dissolution testing of solid oral products. *Pharm. Ind.* 1995; 57(5): 362-369.
165. Desai D, Wong B, Huang Y, Ye Q, Tang D, Guo H, Huang M, Timmins P. Surfactant-mediated dissolution of metformin hydrochloride tablets: wetting effects versus ionpairs diffusivity. *J Pharm Sci.* 2014; 103(3):920-6. doi: 10.1002/jps.23852.

ABSTRAKTI

Objektivat: Qëllimi i këtij studimi është vlerësimi i shkëmbyeshmërisë terapeutike të produktit xhenerik të prodhimit të vendit (tabletë metformine 850 mg) me ishpatentën (tabletë Glucophage 850 mg) mbështetur në normativat rregullatore të SHBA dhe Bashkimit European.

Metodat: Të dhënat e ekspozimit sistemik dhe urinar u morën nga 20 vullnetarë të shëndetshëm meshkuj dhe femra pas përdorimit të një doze të vetme 850 mg metforminë. Studimi ishte i hapur, i rastësishëm, me një dozë të vetme, me dy periudha, i kryqëzuar dhe me një javë shpëlarje. Studimi u krye në Qendrën Spitalore Universitare "Nënë Tereza", Tiranë, Shqipëri, pas marrjes së miratimit nga Komiteti Kombëtar i Etikës. Mostrat e gjakut u mblodhën në 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 dhe 14 orë pas administrimit të barit kurse një sasi e përgjithshme prej 7 mostrash urine janë mbledhur nga secili subjekt në 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 orë pas administrimit të barit. Përqëndrimet plazmatike dhe urinare u matën duke përdorur një metodë të validuar RP-HPLC me UV-DAD e aftë për të përcaktuar metforminën në plazmë dhe urinë përkatësisht në intervalet 50-2000 ng/mL dhe 62.5-2000 µg/mL. Parametrat farmakokinetikë të tillë si C_{max}, AUC₀₋₁₄, AUC_{0-∞}, T_{max}, D_{uc}, D_{u∞}, (dD_u/dt)_{max} u analizuan duke përdorur metodën jokompartimentale me software STATA 13 (StataCorp LLC, Texas, USA). Kampionet e provës së disolucionit, në të tre pH e ndryshme u mblodhën gjatë 60 min duke përdorur aparatin USP II (metoda me shportë) për tabletat Glucophage, Siofor dhe Metformin 850 mg. Analiza e metforminës u krye në spektrofotometër UVVis në 233 nm. Profilet e disolucionit u krahasuan duke përdorur dy parametrat e një modeli të pavarur: faktori i diferencës (f1) dhe faktori i ngjashmërisë (f2).

Rezultatet: Përdorimi i një tablete 850 mg Metformine e prodhimit vendas dhe Glucophage® ka rezultuar në ekspozime sistemike të krahasueshme të metforminës, e përcaktuar nga parametrat plazmatike dhe urinare. Pas analizës ANOVA nuk u vërejtën diferenca sinjifikative në sekuencë, trajtim dhe periudhë (p>0.05). Vlerat point estimates për AUC₀₋₁₄, AUC_{0-∞}, C_{max}, D_{cum0-24}, D_{cum0-∞}, (dD_u/dt)_{max} ishin respektivisht 99.3%, 99.1%, 102.7%, 103.5%, 100.6%, 103.2%. Intervalet me 90% konfidencë u përfshinë brënda kufijve të pranimit të bioekuivalencës 80%-125%. Në pH 6.8, tabletat Metformine dhe Siofor përmbushën vlerat e f1 dhe f2. Në pH 1.2 dhe 4.5 me 0.01% SLS dhe 150 rpm, tabletat Siofor përmbushen vlerat e f1 dhe f2. Në dy pH jofarmakopeale tabletat Metformine paraqitën një çlirim të barit > 85% në 15 minuta, por me një vlerë f2<50, e cila i devijoi kritereve të propozuara nga OBSH.

Përfundimet: Studimi ynë tregon që tableta Metformine 850 mg, prodhim i Profarma Sh.A është bioekuivalente me tabletën Glucophage® 850 mg, prodhim i Merck Santé S.A.S. Krahasimi i parametrave farmakokinetikë plazmatikë dhe urinare vë në dukje biodisponibilitet të ngjashëm të metforminës për formulimet Glucophage dhe Metformine 850 mg. Prova farmakopeale e disolucionit in vitro (pH 6.8, 100 rpm) e parashikon plotësisht bioekuivalencën in vivo midis tabletave Metformine dhe Glucophage. Të dy produktet u toleruan mirë dhe nuk u raportua asnjë efekt anësor. Në

këto kushte mund të konkludohet se produkti Metformine 850 mg i prodhimit vendas është i shkëmbyeshëm nga ana terapeutike me produktin Glucophage.

Fjalët kyçe: metforminë HCl, RP-HPLC, profil disolucioni, farmakokinetikë, bioekuivalencë.

ABSTRACT

Objectives: The purpose of this study is to evaluate the therapeutic interchangeability of the local generic product, metformin tablet 850 mg, with the ex-patent (Glucophage tablet 850 mg) based on the US and European regulatory criteria.

Methods: Systemic and urinary exposure data were obtained from 20 healthy male and female volunteers after the use of single-dose 850 mg metformin. This was an open study, randomized, single - dose, two periods, two-way crossover design with one week wash-out period. The study was conducted at the Mother Teresa University Hospital Center, Tirana, Albania, after obtaining the approval from the National Ethics Committee. Blood samples were collected at 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 and 14 hours after administration of the drug and a total of 7 urine samples were collected from each subject at 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 hours after administration of the drug. Plasma and urinary concentrations were measured using a validated RP-HPLC method with UV-DAD, capable of determining metformin in plasma and urine at intervals of 50-2000 ng/mL and 62.5-2000 µg/mL, respectively. Plasma and urinary pharmacokinetic parameters such as C_{max} , AUC_{0-14} , $AUC_{0-\infty}$, T_{max} , D_{uc} , $D_{u\infty}$ and $(dD_u/dt)_{max}$ were analyzed using the non-compartmental method with STATA 13 software (StataCorp LLC, Texas, USA). Furthermore dissolution test samples, of three different pH media, were collected during 60 min using the USP II apparatus (basket method) for Glucophage, Siofor and Metformin 850 mg tablets. Metformin analysis was performed on the UVVis spectrophotometer at 233 nm. The dissolution profiles were compared using the two parameters of an independent model: the factor of difference (f1) and the factor of similarity (f2).

Results: The administration of locally produced Metformin 850 mg tablet and Glucophage® 850 mg tablet resulted in comparable average systemic metformin exposures, determined by plasma and urinary parameters. After the ANOVA analysis no significant differences were observed in the sequence, treatment and period ($p > 0.05$). The point estimates for AUC_{0-14} , $AUC_{0-\infty}$, C_{max} , $D_{cum0-24}$, $D_{cum0-\infty}$, $(dD_u/dt)_{max}$ were 99.3%, 99.1%, 102.7%, 103.5%, 100.6%, 103.2%, respectively. 90% confidence intervals for all measured and calculated parameters were included within the limits of bioequivalence acceptance 80% -125%. At pH 6.8, Metformin and Siofor tablets met the values of f1 and f2. At pH 1.2 and 4.5 with 0.01% SLS and 150 rpm, Siofor tablets meet the values of f1 and f2. In two non-pharmacopoeia pH, metformin tablets showed a release drug of > 85% over 15 minutes, but with a value of f2 <50, which deviates from the WHO proposed criteria.

Conclusions: Our study shows that Metformin 850 mg tablets, manufactured by Profarma Sh.A. is bioequivalent to the Glucophage® 850 mg tablet, manufactured by Merck Santé S.A.S. Comparisons of plasma and urinary pharmacokinetic parameters show similar bioavailability of metformin for Metformin 850 mg and Glucophage formulations. Dissolution test of pharmacopoeia (pH 6.8, 100 rpm) completely predicts the in vivo bioequivalence between Metformin and Glucophage tablets. Both products were well tolerated and no ADR were reported. Under these conditions it can be concluded that Metformin 850 mg tablet, manufactured by Profarma Sh.A., is therapeutically interchangeable with Glucophage® 850 mg tablet.

Key words: metformin HCl, RP-HPLC, dissolution profile, pharmacokinetics, bioequivalence.