



Clopidogrel

75 mg



**Estudio de
Bioequivalencia**



Tecnoquímicas



MEDICAMENTOS
TOTALMENTE CONFIABLES

Clopidogrel

75 mg



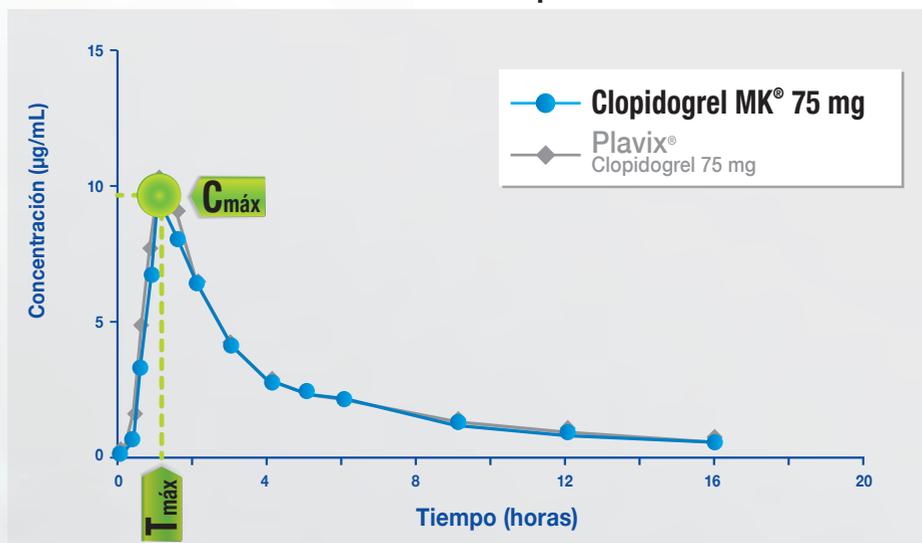
Estudio de Bioequivalencia Farmacocinética realizado por el CIDEIM*

► Certifica que Clopidogrel MK[®] es Bioequivalente con el producto Referente.

Promedio de los Parámetros Farmacocinéticos obtenidos

Producto	AUC _(0-t)	C _{máx}	T _{máx}	AUC _(0-∞)
Clopidogrel MK [®] 75 mg	32,72	9,82	1,0	36,04
Plavix [®] 75 mg	34,40	10,86	1,0	37,92

Curvas de Biodisponibilidad



Promedio de la concentración de Clopidogrel µg/mL en el tiempo.

* CIDEIM (Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas): Institución autorizada por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) en Colombia, para el desarrollo y ejecución de estudios clínicos y biofarmacéuticos en humanos.

Indicación:

Antiagregante plaquetario. Tratamiento de los síndromes coronarios agudos: angina inestable, infarto agudo del miocardio, pacientes con postangioplastia más "stent". También es usado en la enfermedad cerebrovascular y en la enfermedad arterial periférica.

Presentación:

Clopidogrel MK 75 mg caja x 10 tabletas recubiertas

Bioequivalencia farmacocinética y del efecto antiplaquetario de dos formulaciones de Clopidogrel en voluntarios sanos: Estudio cruzado, abierto, una dosis, dos secuencias, dos periodos.

Palacios Mauricio*; Rojas Gómez Ricardo; Pérez Guzmán Milena; Pérez Flores Mauricio^a; Restrepo Valencia Piedad.

Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM)

Resumen

Clopidogrel es un profármaco que tiene variabilidad genética en su metabolismo. Existe controversia sobre la forma más adecuada para evaluar la Bioequivalencia de formulaciones nuevas.

Objetivo: Evaluar la Biodisponibilidad y Bioequivalencia farmacocinética y farmacodinámica entre dos formulaciones de Clopidogrel en voluntarios colombianos.

Método: Se desarrolló y validó un método para cuantificar ácido carboxílico de Clopidogrel (metabolito inactivo del Clopidogrel) con HPLC-UV; y con él, se evaluaron los parámetros farmacocinéticos AUC_{0-16} , $AUC_{0-\infty}$ y $C_{m\acute{a}x}$ en 18 voluntarios sanos con un diseño cruzado, abierto, aleatorizado, dos periodos, dos secuencias, con una dosis de 300 mg (4 tabletas de 75 mg) de cada formulación de Clopidogrel. Adicionalmente, se compararon los parámetros farmacodinámicos $E_{m\acute{a}x}$ y $AUEC_{0-2}$ del efecto antiagregante del Clopidogrel, obtenidos a partir de la cuantificación del tiempo de obturación con el método INNOVANCE® PFA P2Y.

Resultados: 18 voluntarios terminaron todas las fases del estudio sin eventos adversos de importancia relacionados con los medicamentos. Con el método cromatográfico desarrollado se cuantificó el ácido carboxílico de Clopidogrel en plasma y se determinaron los parámetros farmacocinéticos que se encontraron en los intervalos IC90% de los radios AUC_{0-16} , $AUC_{0-\infty}$ y $C_{m\acute{a}x}$. El IC90% del $E_{m\acute{a}x}$ y el $AUEC_{0-2}$ y $E_{m\acute{a}x}$ del tiempo de obturación se estimaron entre los parámetros 0,8-1,25.

Conclusión: Las dos formulaciones de Clopidogrel son Bioequivalentes farmacocinética y farmacodinámicamente.

Palabras clave:

Receptor plaquetario P2Y₁₂, Antagonista receptor ADP, Bioequivalencia, Clopidogrel, Farmacodinamia, Farmacocinética, Agregometría, Test de función plaquetaria.

*Correspondencia al autor:

E-mail: mauricio.palacios@correounivalle.edu.co (Palacios M), rrojas@cideim.org.co (Rojas R), mauricioperez@cideim.org.co (Pérez M), milena_perez@cideim.org.co (Pérez Guzmán M)

INTRODUCCIÓN

Clopidogrel es un profármaco que se presenta en diferentes formas de cristales de la misma sustancia; se absorbe rápidamente hasta un 50% y se metaboliza ampliamente en el hígado, principalmente en el derivado de ácido carboxílico inactivo por la isoenzimas CYP3A4 y CYP2B6, y en menor medida por el CYP1A2, CYP1A1 y CYP2C19. El metabolito activo es un derivado de tiol que es demasiado inestable para cuantificar en plasma. Clopidogrel y el derivado carboxílico tienen una alta unión a proteínas y se excretan por orina y heces. Tiene una vida media de 7-8 horas.^{1,2}

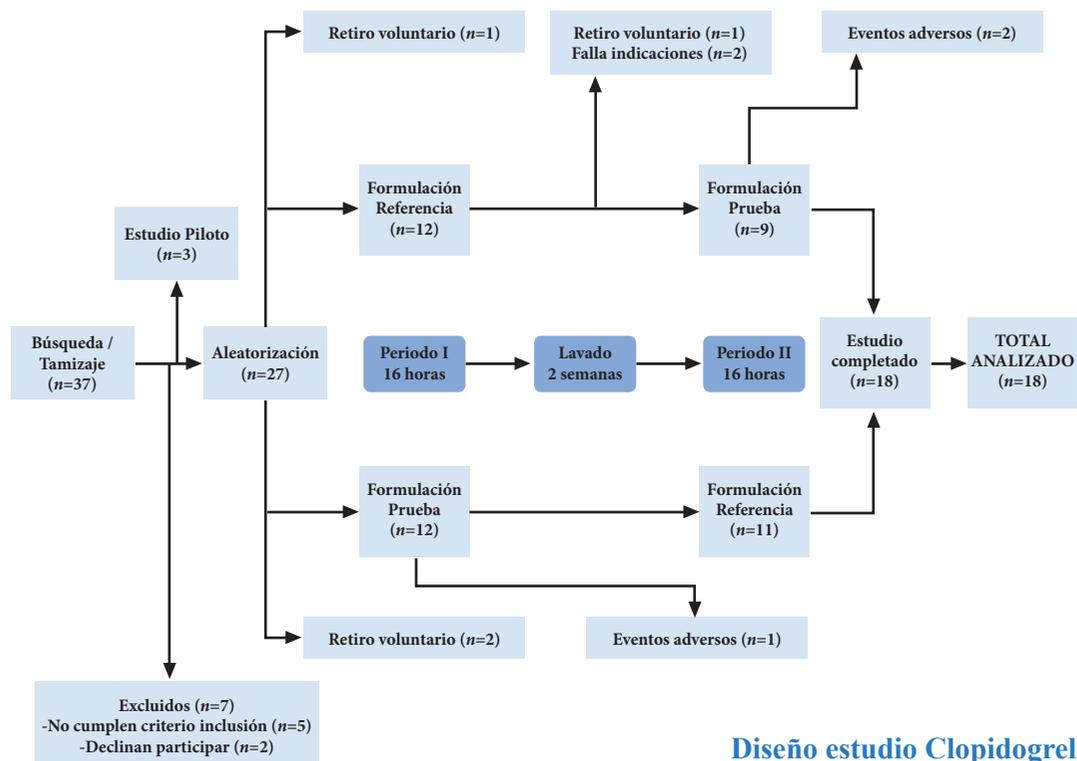
El efecto antiplaquetario del Clopidogrel se deriva de la inhibición del receptor purinérgico P2Y12 en la superficie de las plaquetas. Este receptor está acoplado a una proteína G inhibitoria (Gi) que se activa con la unión de la adenosin difosfato (ADP). La activación de las Proteínas Gi reducen la producción de AMPc al inhibir a la adenilato ciclasa. El AMPc es un factor muy importante para la activación de protein-quinasas que terminan con la fosforilación de la fosfoproteína estimulada por vasodilatadores (Siglas VASP en inglés). La fosforilación de VASP es crucial para la inhibición del receptor GIIb/IIa que también se encuentra en la superficie de las plaquetas y es un potente agregador plaquetario.

El Clopidogrel se une de manera irreversible al receptor P2Y12 por lo que evita el descenso de los niveles citoplasmáticos de AMPc y la consecuente activación del receptor GIIb/IIa.

Clínicamente, se indica combinado con ácido acetilsalicílico, o en monoterapia cuando los pacientes son alérgicos a este último para la reducción de los eventos aterotrombóticos como el infarto agudo del miocardio, enfermedad cerebrovascular (ACV) isquémica o muerte vascular en el tratamiento de los síndromes coronarios agudos y en la prevención de eventos aterotrombóticos y tromboembólicos en pacientes con fibrilación auricular.^{4,5}

La variabilidad para inducir su efecto farmacológico ha llevado a que se describa una posible resistencia al Clopidogrel.⁶ Adicionalmente, el polimorfismo genético del sistema CYP2C19 se ha relacionado con diferentes proporciones de producción del metabolito activo y, consecuentemente, con la respuesta terapéutica.^{7,8} Por estas razones, se justifica la evaluación farmacocinética y farmacodinámica de los desarrollos genéricos de Clopidogrel. El presente estudio se diseñó para ensayar y comparar la farmacocinética, los efectos farmacodinámicos y el perfil de seguridad de la formulación de Prueba Clopidogrel MK® 75 mg tabletas, del laboratorio Tecnoquímicas S.A., versus la formulación de Referencia Plavix® 75 mg tabletas, de Sanofi – Aventis de Colombia S.A.

FIGURA 1. Diseño del estudio. Disposición de los sujetos en el estudio de Bioequivalencia de Clopidogrel



MÉTODO

Se desarrolló y validó el análisis cuantitativo de Clopidogrel ácido carboxílico (Clopidogrel AC) en muestras de plasma humano.

Reactivos y químicos

El ácido carboxílico de Clopidogrel fue obtenido de Synfine Research (Cat. SF9431 Lot. S-1343-160A1 FW 307,80 g/mol Potencia 99,9%) y el metilparabeno (Lot 100439345 FW 174,04 g/mol Potencia 100%) se suministró por Tecnoquímicas S.A.; el acetonitrilo y el metanol grado HPLC se obtuvieron de Fisher Scientific®. Todos los reactivos que se utilizaron fueron grado analítico y las soluciones y buffers se prepararon usando agua purificada con un sistema Milli-Q® (Milli-pore Simplicity JBRSMPI06).

Condiciones cromatográficas

Se utilizó un sistema cromatográfico UHPLC LaChrom Ultra Hitachi (LCU) con detector UV con arreglo de diodos. La columna analítica fue Poroshell 120 EC-18, 3,0 x 75 mm, 2,7 µm de Agilent®. La fase móvil consistió en una mezcla de buffer fosfato de potasio dibásico 0,02 M a pH 5,0 y acetonitrilo (77 : 23 v/v) en modo isocrático. La columna se utilizó a una temperatura de 35°C y la fase móvil fue filtrada, desgasificada y bombeada a un flujo de 0,7mL/min. La determinación se realizó a 220 nm para Clopidogrel AC y 256 nm para metilparabeno.

Preparación de las muestras

Las muestras de plasma conservadas a $-75 \pm 5^\circ\text{C}$ en viales de polipropileno fueron descongeladas a temperatura ambiente y homogenizadas en vortex durante 10 segundos. A 250 µL de plasma le fueron adicionados 50 µL del estándar interno metilparabeno (20 µg/mL) y 700 µL de metanol para la extracción del principio activo y la precipitación de las proteínas plasmáticas. Las muestras fueron agitadas en vortex durante 15 segundos y centrifugadas durante 10 minutos a 10000 rpm a temperatura ambiente. La fase orgánica fue filtrada con membranas de 0,22 µm y 5 µL de la muestra fue inyectada en el equipo para su análisis.

Validación del método

La linealidad del método fue demostrada mediante la realización de dos curvas de calibración con 10 estándares de Clopidogrel AC en plasma humano en blanco, utilizando metilparabeno como estándar interno. Se realizaron 5 preparaciones independientes de cada concentración en el rango de 0,0 a 5,0 mg/mL y cada estándar fue analizado por triplicado.

La especificidad del método fue verificada usando 6 muestras diferentes de plasma sin aditivos que no fueron expuestos a Clopidogrel AC. La recuperación del principio activo se calculó comparando las áreas de los picos cromatográficos de 3 estándares de diferente concentración preparados 5 veces cada uno en plasma (2, 6, 10 µg/mL), con los mismos estándares no extraídos preparados en agua grado HPLC. El límite inferior de cuantificación (LLOQ) corresponde a la menor concentración de analito que puede cuantificarse con el método de trabajo. Experimentalmente se realizó a partir de la ecuación de la recta de la linealidad del método mediante una extrapolación de la respuesta a concentración cero.

La precisión del método se determinó en 10 concentraciones de Clopidogrel AC en plasma, con metilparabeno como estándar interno, realizando 5 preparaciones independientes de cada concentración y se realizaron determinaciones de cada una por triplicado. La precisión intermedia se determinó realizando un análisis de 6 muestras de concentración conocida de Clopidogrel AC en plasma, con metilparabeno como estándar interno, por dos analistas en diferentes días, usando las mismas condiciones instrumentales.

La estabilidad de Clopidogrel AC en plasma se determinó por triplicado en 3 concentraciones (0,5; 2 y 5 µg/mL) al comparar muestras frescas con muestras que se mantuvieron en el automuestreador por 24 horas, muestras congeladas durante 24, 48 y 96 horas y muestras que se sometieron a 3 ciclos de congelamiento-descongelamiento de 24 horas. La estabilidad a largo plazo se determinó después de 15, 30, 60 y 90 días de ser guardadas a $-75 \pm 5^\circ\text{C}$. Antes de realizar el ensayo clínico, los dos medicamentos fueron analizados en su perfil fisicoquímico sin encontrar diferencias significativas entre ellos.

Voluntarios

Sólo voluntarios sanos hombres colombianos entre 18 y 35 años, con un índice de masa corporal entre 20 y 30 kg/m² fueron reclutados y evaluados para ser incluidos en el estudio. Previa comprensión del estudio y su aceptación a participar, se les realizó una historia clínica completa y se evaluaron las pruebas de función hepática, renal y metabólicas (glicemia, creatinina, alanino aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, bilirrubinas, nitrógeno uréico, TSH, fosfatasa alcalina y perfil lipídico). También se realizaron análisis completo de hemograma y pruebas de coagulación. Ninguno era fumador ni tenían antecedentes de alcoholismo, farmacodependencia o alergias a medicamentos. También se excluyeron los siguientes casos: personas que estaban recibiendo un producto de investigación o que habían participado en un estudio de investigación de

medicamentos dentro de los 180 días anteriores a la primera dosis de la administración de la medicación de estudio y los sujetos que habían donado sangre dentro de los 90 días antes de recibir la primera dosis de la medicación del estudio.

Para disminuir la variabilidad asociada a factores externos, se recomendó limitar el ejercicio y la dieta rica en grasas o fibra, y se prohibió el consumo de bebidas alcohólicas, metilxantinas, plantas medicinales y suplementos dietarios.

Diseño del estudio y protocolo clínico

Se realizó un ensayo clínico de diseño cruzado, aleatorizado, abierto, de dosis única, en ayunas, de 2 periodos, 2 secuencias, con un período de lavado de 15 días. En cada periodo los voluntarios recibieron 4 tabletas de la formulación de Prueba (Clopidogrel MK® 75 mg tabletas, del laboratorio Tecnoquímicas S.A.) o la formulación de Referencia (Plavix® 75 mg tabletas de Sanofi – Aventis de Colombia S.A.). Los participantes fueron asignados con un sistema de codificación al azar a cualquiera de las secuencias (grupo de Referencia o grupo de Prueba) en una proporción 1:1. por el programa Aleatorizador CIDEIM, diseñado por la Unidad de Bioestadística y Epidemiología de la Institución. El protocolo clínico para estudios en humanos fue revisado y aceptado por el Comité Institucional de Ética para la Investigación en Humanos del CIDEIM, de conformidad con las disposiciones de la Declaración de Helsinki (World Medical Association General Assembly, Seoul 2008), las directrices de Buenas Prácticas Clínicas (1996) y la legislación del país para la investigación farmacológica en humanos. A todos los voluntarios se les explicaron el objetivo del estudio y los riesgos asociados por parte del grupo investigador, y todos ellos firmaron el consentimiento informado antes de comenzar su participación. El Comité de Ética observó el cumplimiento del protocolo con los participantes durante todo el tiempo del estudio.

Tolerabilidad

Los voluntarios fueron hospitalizados durante 17 horas a partir de una hora antes de la administración del medicamento; se vigiló la aparición de eventos adversos mediante la información directa de los sujetos, las evaluaciones definidas en el protocolo y la observación del médico del estudio. Todos los eventos fueron registrados y calificados en cuanto a su intensidad (leves, moderados, severos) y su relación con el fármaco del estudio (remoto, poco probable, probable, posible, definida). La atención de cualquier evento adverso y/o posible retiro del estudio se garantizó durante el periodo de hospitalización y la observación ambulatoria en los siguientes 7 días.

Colección de muestras y procesamiento

En tubos con heparina sódica se colectaron 10 mL de sangre antes de ingerir el medicamento y 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12 y 16 horas después de la administración del medicamento. Una parte del volumen de cada una de las 7 primeras muestras fue dedicada a la valoración Farmacodinámica en la prueba de agregometría [AP]. Del volumen restante, se separó el plasma y fue dividido en 3 alicuotas y se conservó -80 °C hasta el momento del análisis.

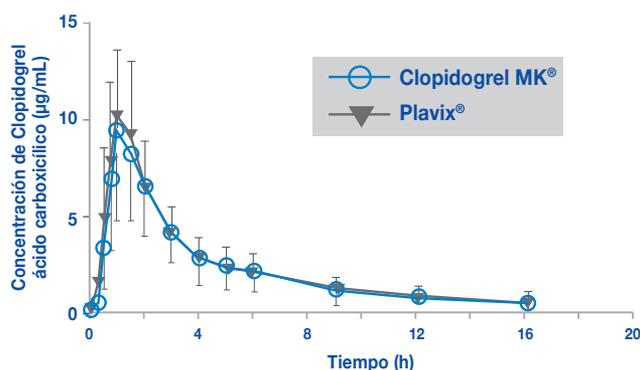
Farmacocinética

Los parámetros farmacocinéticos de Clopidogrel AC fueron calculados con el programa Winnonlin PK Software, versión 5.3 de Pharsight: el Área bajo la curva de la concentración de Clopidogrel AC en plasma vs. Tiempo desde el tiempo cero hasta las 16 horas (AUC_{0-16}) fue calculado por el método trapezoidal lineal; el Área bajo la curva de la concentración de Clopidogrel AC en plasma vs. Tiempo desde el tiempo cero al infinito ($AUC_{0-\infty}$) se obtuvo de la suma del AUC_{0-16} y el área extrapolada dada por el cociente de la última concentración medida y la constante de eliminación (k_e). Los valores de la Concentración máxima plasmática ($C_{máx}$) se determinaron de los datos de concentración-tiempo para cada individuo.

TABLA 1. Comparación de los IC 90% de los radios de los parámetros farmacocinéticos de las dos formulaciones (Prueba/Referencia) de Clopidogrel 75 mg tabletas en 18 voluntarios sanos.

	Media (SD)	Std. Error	IC 90% de media
90% $C_{máx}$ T/R	1,015 [0,5031]	0,1186	0,8089 - 1,222
AUC_{0-16} T/R	0,9825 [0,2473]	0,0583	0,8811 - 1,084
AUC_{0-8} T/R	0,9627 [0,2979]	0,07023	0,8406 - 1,085

FIGURA 2. Curva de Concentración promedio (SD) – tiempo de Clopidogrel después de la administración de una dosis de 300 mg de la formulación de Prueba (Clopidogrel MK® 75 mg Tablet del laboratorio Tecnoquímicas S.A.) y de Referencia (Plavix® 75 mg Tablet de Sanofi – Aventis de Colombia S.A.).



Evaluación del efecto antiagregante del Clopidogrel

Para estudiar el efecto farmacodinámico del Clopidogrel se utilizó el método INNOVANCE® PFA P2Y9, que consiste en la medición del tiempo para ocluir un canal de 100 µm de diámetro (Tiempo de oclusión) por la formación de un trombo luego de adicionarle ADP (20 µg), prostaglandina E1 (5 ng) y cloruro de calcio (459 µg) a una muestra de 800 µL de sangre anticoagulada con citrato trisódico (0,129M). Este ensayo es altamente específico para tienopiridinas (Clopidogrel, prasugrel y ticlopidina)¹⁰. Cada muestra se evaluó por duplicado y se consideró el promedio como el valor del efecto. Con base en los resultados se calculó el efecto máximo y tiempo para el efecto máximo. El siguiente modelo matemático sigmoideo simple, que incluye la observación del efecto AP en el tiempo cero, fue aplicado a la proyección de las propiedades farmacodinámicas con cada medicamento, con base en el porcentaje del tiempo de oclusión (TO). [PK/PD/NCA Analysis, PD Model 102 in WinNonlin®. Professional versión 5.3, 1998 - 2009], modelo matemáticamente expresado como:

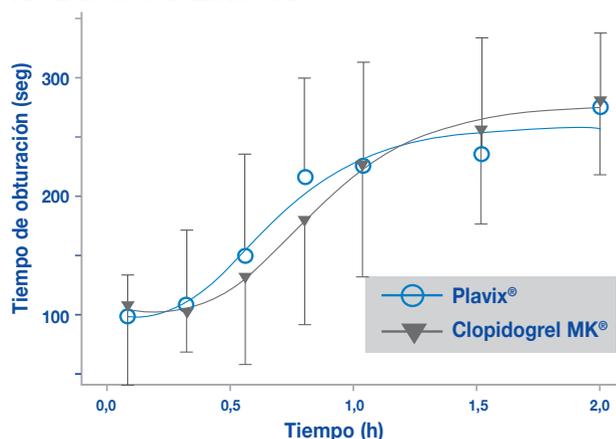
E_{\max} : máximo tiempo de obturación obtenido en las muestras de los voluntarios con cada producto.

$AUEC_{0-2}$: Area bajo la curva desde el tiempo cero hasta el E_{\max} .

TABLA 2. IC 90% del Punto estimado basado en la transformación logarítmica de los parámetros (porcentaje [SD]), para la inhibición de la agregación plaquetaria de las dos formulaciones de Clopidogrel en 18 voluntarios sanos.

Parámetro	Promedio de inhibición		Punto estimado %	IC 90%
	Prueba, seg	Referencia, seg		
$E_{\max 0-2}$	91,11[20,03]	95,02 [16,45]	1,015	0,8521 - 1,179
$AUEC_{0-2}$	120,0 [42,36]	118,7[39,63]	1,066	0,9519 - 1,18

FIGURA 3. Curva de Tiempo de obturación promedio [SD] – tiempo de Clopidogrel después de la administración de una dosis de 300 mg de la formulación de Prueba Clopidogrel MK® 75 mg tabletas del laboratorio Tecnoquímicas S.A. y de Referencia Plavix® 300 mg tabletas de Sanofi – Aventis de Colombia S.A.



Análisis estadístico

Para validar la normalidad de los datos farmacocinéticos y farmacodinámicos se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk. Se evaluó el efecto de sujeto, tratamiento (secuencia) y periodo de tiempo mediante análisis de varianza (ANOVA) de dos vías. Se estableció la Bioequivalencia, estimando el promedio y los intervalos de confianza 90% (CIs) de las diferencias relativas entre las transformaciones logarítmicas de los parámetros de las formulaciones de prueba y de referencia en cada sujeto. La Bioequivalencia entre las dos formulaciones fue aceptada si el CI 90% de los datos E_{\max} , $AUEC_{0-2}$, C_{\max} , AUC_{0-16} y $AUC_{0-\infty}$ se encontraban entre el rango 0,80-1,25. Los cálculos estadísticos se realizaron con el programa SPSS 15.0 Statistical Analysis Software (SPSS, Chicago,IL, USA).

RESULTADOS

Desarrollo y validación del método bioanalítico

Se desarrolló un método analítico para cuantificar Clopidogrel AC en plasma basado en HPLC-UV. Las principales características del desarrollo son las siguientes: el tiempo de retención de Clopidogrel AC fue de 1,7 minutos, el límite inferior de detección de 0,01 µg/mL y el de cuantificación 0,03 µg/mL con una desviación estándar menor al 7%. El método fue lineal dentro del rango evaluado ($y = 0,5347x - 0,0235$, $r^2=0,9999$).

La precisión del sistema mostró un coeficiente de variación de 1,83%, la precisión del método de 1,83% y la precisión intermedia de 1,14%, por lo cual el método es preciso bajo las condiciones utilizadas.

El porcentaje de desviación promedio se calculó en 1,78% de la concentración experimental con respecto de la concentración real, lo que califica el método como exacto. El porcentaje de recuperación fue del 102% y las estabilidades pospreparativas, Short Term, Long Term, tras congelamiento y descongelamiento demostró que las muestras no se alteran durante el almacenamiento hasta por 90 días a $-75 \pm 5^\circ\text{C}$.

Ensayo clínico y seguridad de los voluntarios

18 voluntarios terminaron todas las fases del estudio y fueron incluidos en los análisis farmacocinéticos y farmacodinámicos. Se excluyeron del análisis los voluntarios que completaron el muestreo para el estudio farmacodinámico, pero no cumplieron con todo el cronograma del estudio farmacocinético. Los promedios [SD] de las características antropométricas fueron: edad, 23,5 [4,23] años; peso, 75,11 [13,11] kg; estatura, 174,4 [7,09] cm e IMC, 24,6 [0,03].

Durante el primer periodo del estudio, 3 personas no asistieron a la clínica ni dieron explicación, por lo que se

consideró que se trató de retiro del consentimiento para participar. Un voluntario presentó diarrea y vómito 2 horas después de la administración del medicamento, que mejoró con hidratación y metoclopramida. Se consideró retirarlo del estudio. El evento fue calificado como leve y poco probable de relación con el medicamento.

En el segundo periodo, un voluntario se retiró del estudio antes de la administración del medicamento y 2 sujetos fueron retirados por no cumplir las indicaciones del médico (embriaguez). 2 voluntarios refirieron cefalea entre 3 y 5 horas posteriores a la administración del medicamento de prueba. Uno de ellos no mejoró con las medidas analgésicas y se retiró del estudio para recibir analgésicos parenterales. Un sujeto presentaba síntomas de resfriado que empeoraron durante el transcurso del día y se retiró del estudio. Este evento fue calificado como no relacionado y de intensidad leve. Figura 1.

Análisis Farmacocinético

El promedio [SD] de la concentración plasmática de Clopidogrel AC después de la administración de una dosis única de 300 mg (cuatro tabletas de 75 mg) a 18 voluntarios colombianos hombres se muestra en la Figura 2. Los parámetros farmacocinéticos se presentan en la Tabla 1. El $C_{\text{máx}}$ promedio [SD] de los valores de las formulaciones de Prueba y Referencia fueron 9,82 [3,46] $\mu\text{g/mL}$ y 10,86 [3,97] $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. La extensión de la absorción medida y proyectada (AUC_{0-16} y $AUC_{0-\infty}$) se determinó en 32,72 [11,42] y 36,04 [13,67] en la formulación de Prueba; y 34,4 [11,42] y 37,92 [14,05] en la formulación de Referencia; la vida media del Clopidogrel AC fue de 3,53 h (Prueba) y 4,06 h (Referencia). No se encontró efecto de periodo, tratamiento ni secuencia en el resultado con el diseño experimental propuesto.

El intervalo de confianza de los radios (Prueba vs. Referencia) para las transformaciones logarítmicas (logaritmo natural) de AUC_{0-16} , $AUC_{0-\infty}$ y $C_{\text{máx}}$ se encuentran entre los parámetros que establecen Bioequivalencia.

Análisis Farmacodinámico

Los resultados de la capacidad de inhibir la agregación plaquetaria son presentados en la Figura 3. No hay diferencias significativas entre los IC 90% de los puntos estimados de los datos transformados del $E_{\text{máx}}$ y el $AUEC_{0-2}$. Estos resultados presentaron distribución normal y no se afectaron por la secuencia, el periodo ni los sujetos. Tabla 2.

DISCUSIÓN

Existe controversia sobre la aceptación de un patrón único para establecer la Bioequivalencia del Clopidogrel puesto que al metabolizarse rápidamente es difícil su cuantificación. Se ha utilizado la medición del metabolito inactivo Clopidogrel ácido carboxílico. Algunos autores consideran de mayor valor la medición de la molécula original de Clopidogrel porque se evita la interferencia del metabolismo de primer paso y existen algunas metodologías cromatográficas que pueden cuantificar las mínimas concentraciones de Clopidogrel en sangre periférica,¹² mientras que el argumento contrario considera que el metabolismo del primer paso es una variable clínica a la que se exponen al usar Clopidogrel terapéuticamente.¹³

En el presente estudio se desarrolló y validó una metodología para medir ácido carboxílico de Clopidogrel por HPLC-UV que demostró sensibilidad, especificidad y precisión adecuadas para ensayos de Bioequivalencia en plasma humano; y con él se comprobó la Bioequivalencia farmacocinética en los IC 90% de los radios de los parámetros AUC_{0-16} , $AUC_{0-\infty}$ y $C_{\text{máx}}$.

Adicionalmente, se valoró el efecto del principio activo con una metodología y diseño diferentes a estudios farmacodinámicos previos con Clopidogrel porque se cuantificó el efecto tras una dosis única del medicamento. El efecto máximo se logró antes de las 2 horas en las 2 formulaciones sin diferencias significativas y con IC 90% de los puntos estimados de la transformación logarítmica de los promedios de las 2 formulaciones entre 0,8 y 1,25 en el diseño de muestras pareadas, con lo que se establece la Bioequivalencia farmacodinámica y se demuestra el uso de estas pruebas en estudios de Bioequivalencia. Aunque se describe una mayor variabilidad en la respuesta farmacodinámica intersujeto, que conduce a demandar un número mayor de voluntarios expuestos,¹¹ en este estudio cada dato se obtuvo por triplicado y se promedió para cada tiempo en cada sujeto, lo cual pudo disminuir esta variabilidad en el análisis de la acción del medicamento. Adicionalmente, el método INNOVANCE® PFA P2Y permite identificar sujetos con resistencia al Clopidogrel,¹⁴ que en este caso, no se observó en ningún voluntario.

Las dificultades para realizar análisis farmacodinámicos con este método se dan por la necesidad de la cuantificación del tiempo de obturación ya que corresponde a un volumen grande de muestras a procesar y pudiese existir efecto de periodo o secuencia. El análisis de ANOVA no mostró interferencia de estas variables del diseño en el resultado final de los datos.

CONCLUSIONES

Con base en lo anterior, se considera que la formulación de Prueba Clopidogrel MK® 75 mg tabletas, del laboratorio Tecnoquímicas S.A., y la formulación de Referencia Plavix® 75 mg tabletas, de Sanofi – Aventis de Colombia S.A., son Bioequivalentes farmacocinética y farmacodinámicamente.

DECLARACIÓN CONFLICTO DE INTERESES

Los autores manifiestan no tener conflicto de intereses con el patrocinador y que sus ingresos corresponden a la labor de investigación y docencia.

Este trabajo se realizó con el patrocinio del laboratorio Tecnoquímicas S.A., fabricante del producto de Prueba Clopidogrel MK® 75 mg tabletas.

REFERENCIAS

1. Caplain H, Donat F, Gaud C, Necciari J. Pharmacokinetics of clopidogrel. *Semin Thromb Hemost* 1999;25 Suppl 2:25-8.
2. Mullangi R, Srinivas NR. Clopidogrel: review of bioanalytical methods, pharmacokinetics/pharmacodynamics, and update on recent trends in drug-drug interaction studies. *Biomed Chromatogr* 2009;23:26-41.
3. Weber AA, Reimann S, Schror K. Specific inhibition of ADP-induced platelet aggregation by clopidogrel in vitro. *Br J Pharmacol* 1999;126:415-20.
4. Huber K. Clopidogrel in coronary artery disease: update 2012. *Adv Cardiol* 2012;47:31-8.
5. Keil C, Huber R, Bode W, Than ME. Cloning, expression, crystallization and initial crystallographic analysis of the C-terminal domain of the amyloid precursor protein APP. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2004;60:1614-7.
6. Uchiyama S. Clopidogrel resistance: identifying and overcoming a barrier to effective antiplatelet treatment. *Cardiovasc Ther* 2011;29:e100-11.
7. Karazniewicz-Lada M, Danielak D, Glowka F. Genetic and nongenetic factors affecting the response to clopidogrel therapy. *Expert Opin Pharmacother* 2012;13:663-83.
8. Cuisset T, Morange PE, Alessi MC. Recent advances in the pharmacogenetics of clopidogrel. *Hum Genet* 2012;131:653-64.
9. Koessler J, Kobsar AL, Rajkovic MS, et al. The new INNOVANCE® PFA P2Y cartridge is sensitive to the detection of the P₂Y(1)(2) receptor inhibition. *Platelets* 2011;22:20-7.
10. Tsantes A, Ikonomidis I, Papadakis I, et al. Evaluation of the role of the new INNOVANCE® PFA P₂Y test cartridge in detection of clopidogrel resistance. *Platelets* 2012;23:481-9.
11. Li S. Pharmacodynamic bioequivalence testing. *J Clin Pharm Ther* 2012;37:497-8.
12. Setiawati A. The importance of bioequivalence study: focus on clopidogrel. *Med J Indones* 2011;20:149-53.
13. Srinivas NR. Considerations for metabolite pharmacokinetic data in bioavailability/bioequivalence assessments. Overview of the recent trends. *Arzneimittelforschung* 2009;59:155-65.
14. Jang J, Lim J, Chang K, et al. A comparison of INNOVANCE® PFA P₂Y and VerifyNow P₂Y₁₂ assay for the assessment of clopidogrel resistance in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *J Clin Lab Anal* 2012;26:262-6.

Estudio de Bioequivalencia Farmacodinámica realizado por el CIDEIM¹

Ensayo *ex vivo* en sangre

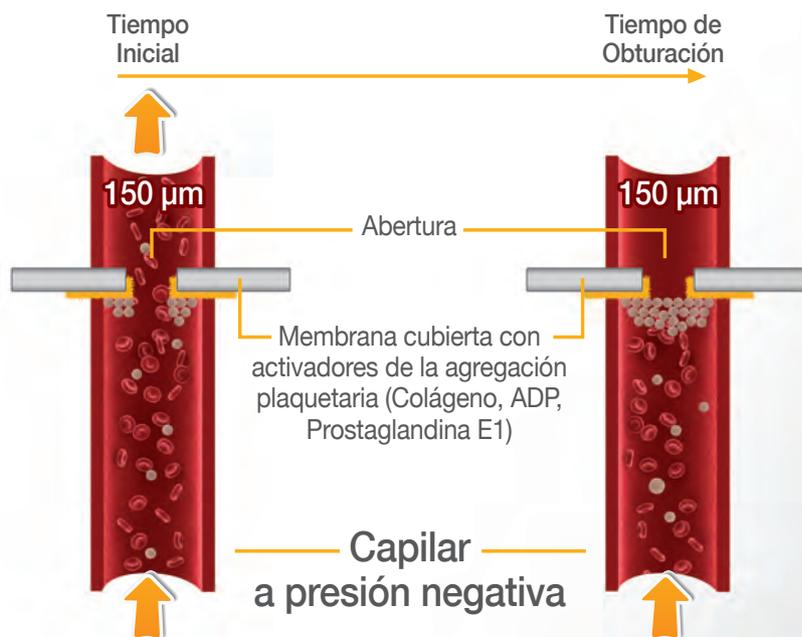
Sistema Innovance® PFA P2Y¹

La prueba mide el tiempo de obturación (TO) de la abertura en un capilar simulado, detectando el bloqueo del receptor **ADP** plaquetario.

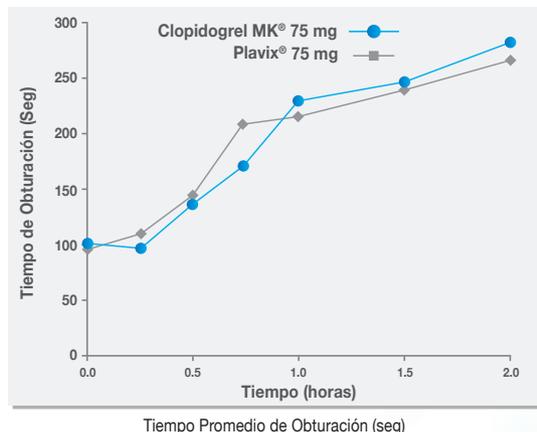
TO = Tiempo requerido para la formación de un trombo en la abertura de la membrana.

Es un indicador de eficacia para el bloqueo de la agregación plaquetaria (AP).

1. Koessler, J., Kobsar, Anna L., Schafer, A., Rajkovic, M., et al. The new Innovance® PFA P2Y cartridge is sensitive to the detection of the P2Y₁₂ receptor inhibition. Platelets. February 2011; 22(1): 20-27



Igual efecto antiplaquetario que el innovador²



Parámetro	Porcentaje de Inhibición Plaquetaria		Punto estimado (%)	IC 90%
	Clopidogrel MK®	Plavix®		
$E_{m\acute{a}x}^{0-2}$	91.11 [20.03]	95.02 [16.45]	1.015	0,8521 - 1.179
$AUEC_{0-2}$	120.0 [42.36]	118.7 [39.63]	1.066	0.9519 - 1.18

$E_{m\acute{a}x}$: Máximo tiempo de duración obtenido
AUEC: Área bajo la curva desde el tiempo cero hasta el $E_{m\acute{a}x}$

No hay diferencias significativas entre los IC 90% de los puntos estimados de los datos transformados del $E_{m\acute{a}x}$ y el $AUEC_{0-2}$. Estos resultados presentaron distribución normal y no se afectaron por la secuencia, el periodo ni los sujetos.

Los resultados que valoran la antiagregación plaquetaria demuestran un comportamiento similar de ambos productos respecto al Tiempo de Obturación y se correlaciona con la concentración del Medicamento en Sangre (AUC), donde se informa una relación lineal en más del 99% de los resultados.

2. Restrepo, Piedad, Echeverri, Daniel, Alborno, Luis, Pérez, Milena. Estudio de Bioequivalencia entre "Clopidogrel MK/Clopidogrel TG®" 75 mg tabletas, de Tecnoquímicas S.A. versus "Plavix®" 75 mg tabletas, de Sanofi - Aventis de Colombia S.A., utilizando medidas Farmacodinámicas: Inhibición de la Agregación Plaquetaria. Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas. Noviembre 2011.



Tecnoquímicas



**MEDICAMENTOS
TOTALMENTE CONFIABLES**

Material de uso exclusivo para la Fuerza de Promoción y Ventas MK, no va dirigido al consumidor.
Para mayor información línea gratuita **01 8000 52 33 39** o visite nuestra página web
www.tecnoquimicas.com



Tecnoquímicas