

Badanie biorównoważności leków dermatologicznych – draft wytycznych EMA

Bioequivalence study for dermatological drugs – EMA draft guideline

Edyta Szalek

Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Leki stosowane miejscowo odgrywają istotną rolę w farmakoterapii chorób skóry ze względu na ograniczenie działania ogólnoustrojowego substancji leczniczej, a zwiększenie jej efektu farmakologicznego w miejscu zmienionym chorobowo. Działanie terapeutyczne leków dermatologicznych w dużym stopniu determinuje rodzaj podłoża oraz zastosowane substancje pomocnicze, dlatego zamiana jednego preparatu na inny powinna być zawsze uzasadniona. Nowe wytyczne Europejskiej Agencji Leków (ang. *European Medicines Agency*; EMA), dotyczące badań biorównoważności leków stosowanych miejscowo, podkreślają złożoność tej grupy preparatów, jak również utrudnienia związane z oceną stężeń substancji leczniczej w tkance docelowej, jaką jest skóra. Propozycja nowych wytycznych została opublikowana przez EMA jako *Draft guideline on quality and equivalence of topical products*. Wśród proponowanych badań porównawczych wymienia się zarówno testy *in vitro* oraz *in vivo*. Badania *in vitro* obejmują testy uwalniania (ang. *in vitro release test*; IVRT) i przenikania przez skórę (ang. *in vitro skin permeation test*; IVPT), natomiast badania *in vivo* – uwzględniają w ocenie porównawczej końcowe punkty kliniczne, farmakokinetyczne, farmakodynamiczne bądź dermatofarmakokinetyczne. Według wielu autorów proponowane badania posiadają jednak pewne ograniczenia, dlatego nadal poszukuje się uniwersalnego i wiarygodnego testu w celu porównania leku generycznego i oryginalnego do podania miejscowego. Badania *in vivo*, przeprowadzone na kilkuset pacjentach, z oceną klinicznych punktów końcowych i z użyciem *placebo*, wydają się najbardziej wiarygodne, jednak są bardzo kosztowne i czasochłonne, dlatego ocena dermatologicznych leków generycznych opiera się najczęściej o badania *in vitro*. Co więcej, część generycznych preparatów stosowanych miejscowo podlega też procedurze *biowaiver*, co oznacza odstępianie od wykonywania badań biorównoważności. Brak badań w warunkach *in vivo*, a szczególnie badań z udziałem pacjentów, dla generycznych leków stosowanych miejscowo, rodzi pewne wątpliwości co do porównywalnej skuteczności z lekiem oryginalnym, zwłaszcza przy występujących różnicach w składzie substancji pomocniczych. (*Farm Współ* 2019; 12: 142-150)

Słowa kluczowe: biorównoważność, lek generyczny, leki dermatologiczne stosowane miejscowo

Abstract

Topical medications play a significant role in the pharmacotherapy of skin diseases because they limit the systemic effect of the therapeutic substance and increase its pharmacological effect at the site of the lesion. The therapeutic effect of dermatological drugs is largely determined by the type of the substrate and auxiliary substances used. Therefore, the conversion of one preparation to another should always be justified. The guidelines of the European Medicines Agency (EMA) concerning tests on the bioequivalence of topical medications emphasize the complexity of this group of preparations as well as difficulties assessing the concentration of the therapeutic substance in the target tissue, i.e. in the skin. The EMA has published a proposal for new guidelines in *Draft Guideline on Quality and Equivalence of Topical Products*. The proposed comparative research involves both *in vitro* and *in vivo* tests. The first tests include *in vitro* release tests (IVRT) and *in vitro* skin permeation tests (IVPT). *In vivo* tests allow for clinical, pharmacokinetic, pharmacodynamic and dermatopharmacokinetic endpoints in comparative assessment. However, many authors see some limitations of the proposed tests. Therefore, a universal and reliable test is still being sought to compare generic and original drugs for topical administration. Although *in vivo* tests

on several hundred patients, which involve the assessment of clinical endpoints and the use of *placebo*, seem to be the most reliable, they are very expensive and time-consuming. Therefore, *in vitro* tests are usually used to assess generic dermatological drugs. Moreover, a part of generic topical medications is subject to the biowaiver procedure, which means that no bioequivalence tests will be conducted. Due to the lack of *in vivo* tests on generic topical medications, especially tests on patients, it is doubtful whether their efficacy is comparable to the original drug, especially due to differences in the composition of excipients. (*Farm Współ* 2019; 12: 142-150)

Keywords: *bioequivalence, generic drug, topical dermatological drugs*

Leki generyczne, zwane także odtwórczymi, w Polsce stanowią aktualnie ok. 80% wszystkich dostępnych preparatów [1]. Definicje leku generycznego według różnych agencji rejestracyjnych są zbliżone, jednak wykazują pewne różnice (Tabela 1). Zgodnie z definicją Europejskiej Agencji Leków (EMA ang. *European Medicines Agency*) **lek generyczny** zawiera tą samą substancję czynną, w tej samej dawce i jest stosowany w terapii tej samej choroby lub chorób [2]. Lek ten musi być wyprodukowany zgodnie z zasadami i standardami GMP (Dobrá Praktyką Wytwarzania; ang. *Good Manufacturing Practice*). Lek generyczny może różnić się od produktu referencyjnego kształtem, wielkością, kolorem i może zawierać inne substancje pomocnicze, pod warunkiem, że nie wpływają one na jego działanie [2]. Zdarza się, że lek generyczny występuje w postaci innej soli, ale modyfikacja ta nie może obniżyć jego stabilności oraz wpływać na aktywność farmakologiczną. Rejestracja takiego leku odtwórczego jest jednak rozważana przez odpowiedni Urząd Rejestracyjny (np. EMA) pod kątem dodatkowych badań [2]. W Polsce proces rejestracji leków przeprowadza Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, a ostateczną decyzję w sprawie dopuszczenia do obrotu

konkretnego produktu leczniczego podejmuje Prezes Urzędu [3]. Proces dopuszczenia leku do obrotu w Unii Europejskiej (UE) może odbywać się w oparciu o:

- procedurę zcentralizowaną, realizowaną przez EMA, w której pozwolenie dopuszczenia leku do obrotu jest udzielane we wszystkich krajach członkowskich UE,
- procedurę wzajemnego uznania, opierającą się na uznaniu tylko przez zainteresowane państwa członkowskie pozwolenia wydanego przez inne państwo członkowskie,
- procedurę zdecentralizowaną, w której wydanie pozwolenia dla określonego leku odbywa się w tym samym czasie w więcej niż jednym kraju członkowskim,
- procedurę narodową - pozwolenie dopuszczenia leku do obrotu jest udzielane tylko w jednym kraju członkowskim UE [4].

Jest też szereg preparatów leczniczych, które – zgodnie z regulacjami FDA (2010) i EMA (2015) – nie podlegają badaniom biorównoważności w warunkach *in vivo* [5-7]. Odstąpienie od badań u ochotników lub pacjentów (ang. *biowaiver*) jest możliwe m.in. w przypadku leków należących do klasy I lub III Systemu Klasyfikacji Biofarmaceutycznej BCS (ang.

Tabela I. Definicje leku generycznego według różnych agencji rejestracyjnych

Table I. The definitions of generic drug according to various regulatory agencies

Definicja	Źródło
Produkt farmaceutyczny, który może być stosowany wymiennie z produktem referencyjnym używanym w badaniach biorównoważności, zwykle produkowany bez licencji udzielonej przez wytwórcę leku oryginalnego i wprowadzony do obrotu po wygaśnięciu patentu lub innych praw wyłącznych;	WHO
Lek, który zawiera tą samą substancję czynną, w tej samej dawce i jest stosowany w terapii tej samej choroby lub chorób;	EMA
Produkt leczniczy posiadający taki sam skład jakościowy i ilościowy substancji czynnych, taką samą postać farmaceutyczną jak referencyjny produkt leczniczy i którego biorównoważność wobec referencyjnego produktu leczniczego została potwierdzona odpowiednimi badaniami biodostępności;	Prawo Farmaceutyczne z 06.09.2001 r. z późn. zm.
Produkt leczniczy zawierający taką samą substancję czynną, w takiej samej dawce i w takiej samej postaci jak lek innowacyjny	FDA

WHO – Światowa Organizacja Zdrowia; EMA – Europejska Agencja Leków; FDA – Agencja ds. Żywności i Leków

Biopharmaceutics Classification System), pod warunkiem, że lek generyczny i oryginalny są doustnymi postaciami o uwalnianiu natychmiastowym (> 85% w ciągu 15 min w płynie o pH 1,2; 4,5; 6,8) lub bardzo szybkim (> 85% w ciągu 30 min w płynie o pH 1,2; 4,5; 6,8) (Tabela II) [8,9]. Odstąpienie od wykonywania badań biorównoważności jest także możliwe w przypadku niektórych roztworów do podania doustnego, pozajelitowego lub gdy dany związek jest gazem wziewnym. Zwolnienie z badań biorównoważności dotyczy też leków o tzw. ugruntowanym zastosowaniu medycznym (ang. *well established use*). Rejestracja takich leków generycznych odbywa się tylko w oparciu o badania *in vitro*, co niekiedy generuje wątpliwości.

Tabela II. System Klasyfikacji Biofarmaceutycznej (BCS)

Table II. Biopharmaceutics Classification System (BCS)

Klasa I	Klasa I
Dobra rozpuszczalność <u>Dobre wchłanianie</u>	Mała rozpuszczalność <u>Dobre wchłanianie</u>
Klasa I	Klasa I
Dobra rozpuszczalność <u>Słabe wchłanianie</u>	Mała rozpuszczalność <u>Słabe wchłanianie</u>

Istnieje także pojęcie **leku hybrydowego**, który jest podobny do „leku referencyjnego”, zawiera tę samą substancję czynną, ale może być dostępny w innych dawkach, czy postaci farmaceutycznej, ponadto może różnić się drogą podania i w niewielkim stopniu wskazaniami, dlatego w celu rejestracji leku hybrydowego muszą zostać przedłożone w odpowiednim urzędzie rejestracyjnym wyniki badań klinicznych u pacjentów [2,10].

Rejestracja produktu oryginalnego jest poprzedzona żmudnymi badaniami przedklinicznymi, a następnie wieloletnimi i kosztownymi badaniami klinicznymi faz 0-IV, (Tabela III). Proces ten średnio trwa 10-12 lat [11]. Warto podkreślić, że na około 10 000 nowych związków tylko ok. 1 000 jest testowana na zwierzętach, z czego ok. 10 trafia do badań z udziałem ludzi. Co więcej, aktualnie wszystkie rejestrowane w Unii Europejskiej nowe leki powinny być przebadane u pacjentów pediatrycznych, chyba że lek jest stosowany tylko u osób dorosłych lub jest niebezpieczny dla dzieci. W przypadku jednak większości leków firma powinna opracować plan badań pediatrycznych (PIP; ang. *Paediatric Investigation Plan*) [12].

Rejestracja produktu odtwórczego trwa przeważnie tylko 2-5 lat i odbywa się poprzez badania jakościowe, uproszczone badanie kliniczne lub jedynie badanie *in vitro*, wymaga więc zdecydowanie mniejszych nakładów finansowych, ponieważ nie ma wymagań co do konieczności prowadzenia badań przedklinicznych i klinicznych. Uproszczenie tych badań wynika z faktu znajomości substancji leczniczej, która jest stosowana w postaci leku innowacyjnego przez kilka lat, co wynika z jego ochrony patentowej, trwającej najczęściej 10-20 lat, z możliwością przedłużenia o 5 lat w ramach dodatkowych świadectw ochronnych (ang. *Supplementary Protection Certificates*) [13].

W większości przypadków, doustny lek odtwórczy jest dopuszczony do rejestracji po przeprowadzeniu **badania biorównoważności** (ang. *bioequivalence study*), zgodnie z wytyczną EMA z 2010 roku [15]. Cenne informacje dotyczące tych badań są zamieszczone także w dokumencie opracowanym przez grupę roboczą do spraw farmakokinetyki (ang. *Pharmacokinetics Working Party*), działającej w ramach naukowego komitetu doradczego Europejskiej Agencji Leków – CHMP (ang. *Committee for Medicinal Products for Human Use*) [16]. Wątpliwości dotyczące procesu rejestracji leków są także skrótowo omawiane w ramach aktywności Grupy koordynacyjnej CMDh (ang. *Co-ordination Group for Mutual Recognition and Decentralized Procedure Human – CMDh*), ustanowionej w dyrektywie 2004/27/WE w dokumencie: *CMDh Pytania i Odpowiedzi* [17]. Informacje o badaniach nad nowymi lekami, kierowane do pacjentów, są zrozumiale omawiane na stronach Europejskiej Akademii Pacjentów (EUPATI; ang. *European Patients Academy on Therapeutic Innovation*) [4].

Złotym standardem badania biorównoważności jest badanie krzyżowe po jednorazowym podaniu leku na czczo, na grupie zdrowych ochotników. Alternatywnie, leki generyczny i oryginalny mogą być porównane w układzie równoległym lub z powtórzeniem. Co ważne, w ostatnich wytycznych EMA pojawiła się informacja, iż badanie biorównoważności może być wykonane w dwóch etapach. Pierwszy etap, wykonany na 12 ochotnikach, może być badaniem pilotażowym, które posłuży do ustalenia ostatecznej liczby ochotników. Nowością jest możliwość połączenia wyników z dodatkowej puli ochotników, w przypadku wcześniejszego niewykazania biorównoważności. Ochotnicy, to najczęściej osoby zdrowe, w wieku 18-55 lat, z BMI w zakresie 18,5-30,0 kg/m² [14].

Tabela III. Charakterystyka faz 0-IV badania klinicznego [14]

Table III. The characteristic of 0-IV phases of clinical trials [14]

faza	charakterystyka	liczebność grupy
0	- badanie z mikrodawkami leku, zwykle znakowanymi izotopem promieniotwórczym, w celu rozpoznania dystrybucji leku w organizmie - lek podany jest w dawce wynoszącej ok. 1/50 dawki wywołującej 10% śmiertelność u myszy	10-15 ochotników
I	- ustalenie tolerancji i bezpieczeństwa przyszłego leku - zebranie danych dot. farmakokinetyki leku - wyznaczenie bezpiecznej dawki - pozyskanie wstępnych informacji dot. najczęstszych działań niepożądanych leku	20-100 ochotników (rzadko pacjentów)
II	- uzyskanie informacji dotyczących m.in. skuteczności i bezpieczeństwa (profil działań niepożądanych) leku - w badaniu stosuje się wiele grup porównawczych - klasyfikacja pacjentów odbywa się według rygorystycznych kryteriów włączenia i wyłączenia	kilkuset pacjentów
III	- potwierdzenie skuteczności i bezpieczeństwa leku w większej populacji pacjentów - grupy chorych są bardziej zróżnicowane	kilka tysięcy chorych
IV	- badania są wykonywane po rejestracji produktu leczniczego	

Stężenia leku są oznaczane najczęściej we krwi, rzadziej w moczu. Analizie poddawane powinny być stężenia leku macierzystego, niezależnie czy jest to prolek, czy też nie [8]. Nie ma zatem potrzeby analizowania stężeń metabolitu/ów, nawet jeśli wykazują aktywność farmakologiczną. Według obowiązującej wytycznej [15] badanie biorównoważności sprowadza się najczęściej do analizy **pierwszorządowych farmakokinetycznych punktów końcowych**, takich jak:

- AUC_t – pole powierzchni pod krzywą zmian stężenia substancji leczniczej we krwi w zależności od czasu (ang. *area under the curve*), obliczone od zera do czasu ostatniego pomiaru stężenia leku we krwi (w przypadku leków o długiej eliminacji przyjmuje się AUC_{72h}),
- C_{max} (ang. *maximum concentration*) – stężenie maksymalne leku.

Czas wystąpienia stężenia maksymalnego – t_{max} najczęściej nie wymaga oceny statystycznej. Analizę median t_{max} uwzględnia się w przypadku preparatów, dla których czas wystąpienia działania jest istotny klinicznie [15]. Inne parametry farmakokinetyczne, wymagające oceny porównawczej, w zależności od typu badania przedstawiono w Tabeli IV.

Zakres akceptacji, najczęściej stosowany w badaniach biorównoważności, wynosi przy 90% przedziale ufności dla stosunków zlogarytmowanych wartości AUC i C_{max} : 80-125%. Inne zakresy akceptacji, przedstawione w wytycznej CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1/Corr**, podsumowano w Tabeli V.

Tabela IV. Farmakokinetyczne punkty końcowe stosowane w ocenie biorównoważności leków [15]

Table IV. The pharmacokinetic endpoints used in bioequivalence study [15]

Typ badania	Parametry farmakokinetyczne
Badanie po podaniu jednorazowym z użyciem danych z krwi	- AUC_t lub AUC_{72h} - C_{max}
Badanie po podaniu jednorazowym z użyciem danych z moczu	- Ae_{0-t} - R_{max}
Badanie w stanie stacjonarnym	- AUC_{0-t} - $C_{max,ss}$

Tabela V. Zakresy akceptacji dla ocenianych parametrów farmakokinetycznych (AUC_t , C_{max}) w badaniach biorównoważności [15]Table V. The acceptance interval for estimated pharmacokinetic parameters (AUC_t , C_{max}) in bioequivalence study [15]

Leki	Zakres akceptacji dla stosunku średnich geometrycznych C_{max} i AUC_t z 90% przedziałem ufności
leki standardowe	- C_{max} : 80 - 125% - AUC_t : 80 - 125%
leki o wysokiej zmienności	- C_{max} : 69,84 - 143,19% - AUC_t : 80 - 125%
leki o wąskim indeksie terapeutycznym	- C_{max} : 90,00 - 111,11% - AUC_t : 90,00 - 111,11%

Ze względu na dopuszczalne różnice między preparatem generycznym i oryginalnym pod względem zakresu akceptacji dla parametrów AUC i C_{max} oraz składu substancji pomocniczych, może dojść do takiej sytuacji, że pacjent będzie odczuwał różnicę w działaniu obu leków. Istnieje szereg artykułów, które przytaczają przykłady badań wykazujących brak równoważności stosowanych leków generycznych wobec leków oryginalnych [18-20]. Dotyczy to m.in. leków przeciwpadaczkowych, psychotropowych, immunosupresyjnych, antyarytmicznych, czy lewotyroksyny [14]. Konsekwencją takich badań był m.in. zakaz zamiany leków przeciwpadaczkowych bez zgody lekarza prowadzącego, wydany przez Amerykańską Akademię Neurologiczną (AAN; ang. *American Academy of Neurology*), czy zakaz duńskiej agencji rejestracyjnej dotyczący substytucji preparatów zawierających np. cyklosporynę, czy tyroksynę [14,21]. Ze względu na takie doniesienia należy zwrócić szczególną uwagę na skuteczność kliniczną produktów odtwórczych.

Nieco inne zasady procesu rejestracji odtwórczych produktów leczniczych dotyczą leków stosowanych miejscowo. **Bardzo często dla tej grupy leków generycznych nie ma niestety wykonanych badań w warunkach *in vivo*. Prowadzone są głównie badania *in vitro*, ponadto część leków stosowanych miejscowo podlega też, opisanej powyżej, procedurze *biowaiver*.** Brak badań klinicznych dla np. generycznych preparatów okulistycznych przyczynia się do pojawiających w piśmiennictwie przypadków ich nieskuteczności bądź działań niepożądanych, co sygnalizują w swojej publikacji z 2018 roku: Dominika Nowakowska i Robert Rejda [1]. Autorzy podkreślają, że różnice w składzie substancji pomocniczych, do których należą środki konserwujące i zagęszczające, przeciwutleniacze, regulatory pH, bufory i regulatory toniczności, ale także konstrukcja pojemnika dozującego, wpływającego na wielkość kropli z lekiem, będą ostatecznie rzutować na skuteczność leków okulistycznych. Dla przykładu, w badaniu Narayanaswamy i wsp., które było badaniem zaślepionym, randomizowanym, wykonanym w układzie krzyżowym, wykazano mniejszą skuteczność generycznego produktu przeciwjaskrowego z latanoprostem w porównaniu do leku oryginalnego [22]. Natomiast Flach wykazuje, że większość powikłań rogówkowych u pacjentów była zgłaszana po okulistycznym preparacie generycznym z diklofenakiem [23].

Propozycja nowych, ale jeszcze nieobowiązujących, wytycznych regulujących badania biorównoważności leków stosowanych miejscowo została opublikowana przez EMA jako *Draft guideline on quality and equivalence of topical products* [24]. Koniec konsultacji tego dokumentu został ustalony na 30 czerwca 2019 roku. Mają one zastąpić dość ogólne, obowiązujące wytyczne EMA z 1995 roku [25]. W nowych wytycznych podkreśla się złożoność i różnorodność tych preparatów, dlatego proponuje się kilka badań porównawczych dla leku oryginalnego i generycznego (Tabela VI).

Tabela VI. Metody oceny biorównoważności preparatów do stosowania miejscowego [26]

Table VI. Methods for assessing the bioequivalence of topical drug products [26]

Metody oceny biorównoważności preparatów do stosowania miejscowego	
<i>in vitro</i>	test uwalniania
	test przenikania przez skórę
<i>in vivo</i>	badania kliniczne
	badania farmakokinetyczne (ocena stężeń leku we krwi)
	badania farmakodynamiczne
	metoda <i>tape stripping</i>

Miejscowe środki lecznicze stanowią bardzo zróżnicowaną grupę, do której należą: leki dermatologiczne (maści, kremy, żele), proszki i aerozole do inhalacji, krople do nosa, krople do oczu, postaci leku do podania doodbytniczego, dopochwowego. W przeciwieństwie do leków doustnych, w przypadku leków niedziałających układowo nie proponuje się złotego standardu badania biorównoważności. W poniższym opracowaniu przedstawiono badania biorównoważności *in vivo* i *in vitro*, przede wszystkim dla leków dermatologicznych, opisane w nowym projekcie wytycznych EMA.

Badania *in vitro*

Badanie uwalniania (ang. *in vitro release test*; IVRT). Jednym z ważniejszych badań określających jakość produktu leczniczego jest badanie dostępności farmaceutycznej, która oznacza ilość substancji leczniczej uwolnionej z postaci leku i rozpuszczonej w otaczającym płynie oraz szybkość, z jaką ten proces zachodzi. Badanie to można potraktować jako wyjściowe do oceny biorównoważności dwóch preparatów, a w

niektórych sytuacjach będzie ono jedynym badaniem porównawczym. Zastosowanie odpowiednich metod matematycznych i statystycznych umożliwi ocenę profili uwalniania leku, które obrazują kumulatywny wzrost ilości substancji w czasie [14]. Do oceny profili uwalniania leku z preparatu generycznego i oryginalnego wykorzystywane są obliczone wartości parametrów: szybkość uwalniania (R) oraz ilość uwolnionej substancji (A). Zakres akceptacji, przy 90% przedziale ufności, wynosi dla stosunków wartości średnich R i A: 90-111% [24].

Test przenikania (ang. *in vitro skin permeation test*; IVPT) polega na ocenie szybkości uwalniania i penetracji leku do sztucznych błon lub do ludzkiej skóry (np. pobranej ze zwłok). Pozyskanie takiego materiału, w wystarczającej ilości, nie jest jednak łatwe. W raporcie z badania biorównoważności z użyciem skóry należy dokładnie określić sposób jej przygotowania, czas przechowywania, grubość, a także określić obszar ludzkiego ciała. Próbki skóry powinny pochodzić od minimum 12 dawców. Nie wykorzystuje się skóry z tatuażami, zmienionej chorobowo, a także owłosionej. W trakcie wykonywania testu przenikania temperatura na powierzchni skóry powinna być utrzymywana na stałym poziomie $32 \pm 1^\circ\text{C}$, a medium receptorowym powinien być odpowiedni bufor, który nie narusza integralności skóry. Badanie wykonuje się dla leku generycznego, oryginalnego (komparatora) oraz próby kontrolnej (ang. *negative control*). Próbki płynu receptorowego powinny być pobierane do 24 h, a jeśli badanie trwa dłużej należy potwierdzić brak uszkodzeń skóry. Rekomendowana dawka leku aplikowanego na skórę powinna wynosić $2-15 \text{ mg/cm}^2$. Badanie powinno podlegać randomizacji, a opakowania dla porównywanych trzech formułacji powinny być identyczne. Istotną kwestią jest także określenie stabilności leku w użytym płynie receptorowym. Najważniejsze parametry, które podlegają ocenie statystycznej w badaniu IVPT to:

- maksymalna szybkość absorpcji - J_{max}
- całkowita ilość leku przenikająca skórę - A_{total} .

Zakres akceptacji dla powyższych parametrów wynosi 80-125% (przy przyjęciu 90% przedziałów ufności), a tylko w uzasadnionych przypadkach: 69,84 - 143,19% [24].

Badania *in vivo*

Badania kliniczne, wykonane u pacjentów, są bardzo kosztowne i czasochłonne, dlatego najczęściej

wyberane są metody *in vitro* do oceny biorównoważności dla leków dermatologicznych. Co istotne, badanie powinno być randomizowane, zaślepione, z układem równoległym, z użyciem *placebo* i przeprowadzone u ponad 500-600 pacjentów. Badania te opierają się na ocenie klinicznych punktów końcowych, które są bardzo zróżnicowane w zależności od choroby, preparatu, substancji leczniczej, czy schematu dawkowania. Ocena może mieć charakter dychotomiczny, czyli uwzględniać punkty typu: wyleczenie lub niepowodzenie terapii, ale też może być bardziej złożona, np. poprzez użycie odpowiedniej skali opisującej daną zmianę chorobową. Przy dychotomicznych punktach końcowych przyjmuje się różnicę $\pm 0,2$ między preparatem generycznym a oryginalnym. W klinicznym badaniu biorównoważności ocenie podlega zarówno skuteczność, jak i bezpieczeństwo leku [27].

Badania farmakokinetyczne (PK), które obejmują ocenę stężeń leku we krwi, są wymagane w celu potwierdzenia bezpieczeństwa produktów dermatologicznych oraz wykazania, że nie wchłaniają się przez skórę bądź, że ekspozycja ta jest minimalna i nie wiąże się z wystąpieniem działań niepożądanych. I tak np. w przypadku maści z takrolimusem *Protopic 0,1%* oraz *Protopic 0,03%* czytamy w charakterystyce produktu leczniczego, że „po jednorazowym lub wielokrotnym zastosowaniu takrolimusu w postaci maści ekspozycja układowa na takrolimus jest niewielka lub nie występuje [28,29]. W przypadku leków stosowanych miejscowo, które mają wchłaniać się do krwi (np. żel z diklofenakiem, plastry z lidokainą), badania farmakokinetyczne są obligatoryjne, a zakres akceptacji dla oznaczanych parametrów PK wynosi 80-125% przy 90% przedziałach ufności [27].

Badania farmakodynamiczne. Oznaczenie parametrów farmakodynamicznych w przypadku leków stosowanych miejscowo realizuje się tylko dla nielicznej grupy preparatów. Najlepiej opisany jest efekt zblednięcia skóry (ang. *skin blanching test*; *vasoconstriction assay for corticosteroids*) po aplikacji maści/kremlu zawierających glikokortykosteroid (GKS). Test ten został zatwierdzony już w 1995 roku przez FDA [30]. Zgodnie z wytycznymi FDA, jak również EMA, badanie to może być wykorzystane do oceny porównawczej leku dermatologicznego z GKS, generycznego i oryginalnego. Ochotnicy zakwalifikowani do badania biorównoważności („*detectors*”) muszą pozytywnie reagować na GKS, a wazokonstrykcja powinna być u nich dobrze widoczna. Taką weryfikację przepro-

wadza się w badaniu pilotażowym. We właściwym badaniu biorównoważności maści/kremlu z GKS na skórę przedramienia ochotnika nanoszone są próbki preparatu badanego/komparatora/podłoża. Ocenę wazokonstrykcji wykonuje się przed aplikacją i do 24 h po usunięciu preparatu. Na podstawie kilku pomiarów wazokonstrykcji, wykonanych najczęściej przy użyciu chromometru, oblicza się AUEC jako pole powierzchni pod krzywą zależności efektu w czasie (ang. *area under the effect curve*). Kryterium akceptacji w badaniach biorównoważności dla tego parametru wynosi 80-125% (przy 90% przedziałach ufności) [27,31].

Tape-stripping (*stratum corneum sampling*) jest metodą badania *in vivo* polegającą na zastosowaniu taśmy adhezyjnej i usuwaniu warstwy rogowej skóry (*stratum corneum*) z przedramienia ochotnika w różnych punktach czasowych po aplikacji preparatów dermatologicznych. W próbkach zebranego materiału oznacza się ilość leku przenikającego przez kolejne warstwy naskórka. Na podstawie tych pomiarów można określić proces wchłaniania i eliminacji substancji leczniczej oraz wykonać podstawowe obliczenia dermatofarmakokinetyczne (DPK). Metodę tą można stosować w przypadku leków, które są zdolne do przejścia do warstwy rogowej skóry. Metoda ta nie ma natomiast zastosowania w przypadku substancji leczniczych, które mają być stosowane na skórę uszkodzoną (np. w oparzeniach, ranach otwartych) czy na skórę wcześniaków [24]. Co ciekawe, metoda DPK jest znana od wielu lat i była rekomendowana przez FDA już w latach 90-tych do badań biorównoważności leków dermatologicznych. W wytycznych FDA z 1998 roku zakresy akceptacji wynosiły 80-125% dla AUC i 70-143% dla C_{max} . W kolejnych latach wycofano się z badań DPK ze względu na pojawiające się wątpliwości co do dokładności tej metody [27,32]. Przygotowany aktualnie draft wytycznych EMA obejmuje jednak badanie biorównoważności tą techniką [24]. Badanie powinno być wykonane na minimum 12 zdrowych ochotnikach, chociaż ostateczną liczbę osób ustala się w oparciu o badanie pilotażowe. Nie uwzględnia się ochotników, u których stwierdza się m.in. tatuaże, czy miejsca zmienione chorobowo. Integralność skóry ochotnika powinna być potwierdzona np. pomiarem transepidermalnej utraty wody w skórze (TEWL; ang. *Transepidermal Water Loss*), bądź inną techniką. U każdego ochotnika powinien być zaaplikowany lek generyczny i komparator, w dawce wynikającej z charakterystyki produktu leczniczego, ale też z badania

pilotażowego. Na jednym przedramieniu umieszczone są analizowane próbki w celu wyznaczenia fazy wchłaniania (ang. *uptake samples*), na drugim – w celu określenia fazy eliminacji (ang. *clearance samples*). Ostatecznej ocenie porównawczej poddane są dwa parametry, które oznaczają masę leku z fazy pierwszej (M_{uptake}) i z fazy II ($M_{clearance}$). EMA w *Draft guideline on quality and equivalence of topical products* proponuje kryteria akceptacji dla obu parametrów M_{uptake} i $M_{clearance}$ 80-125% (przy 90% przedziałach ufności), a w przypadku leków o dużej zmienności, jeśli jest to klinicznie uzasadnione i bezpieczne, szerszy zakres: 69,84-143,19% [24].

Liczne artykuły podkreślają ograniczenia powyższych metod, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Nową, przyszłościową techniką, która jeszcze może być wykorzystana do monitorowania stężenia substancji leczniczej w żywej tkance (*in vivo*) może być mikrodializa [32]. Jeszcze nowszym trendem, zyskującym aprobatę regulatorów, są wirtualne badania BE (*in silico*). Wśród preparatów stosowanych miejscowo są także takie, które są zwolnione z badań biorównoważności, podlegają procedurze *biowaiver*, która jest uznawana przez urzędy rejestracyjne w Europie, Stanach Zjednoczonych, Australii, Kanady i innych [27]. Dotyczy to przede wszystkim roztworów, które zawierają tą samą substancję aktywną (API) oraz te same substancje pomocnicze. Niektóre agencje dopuszczają niewielkie różnice w składzie substancji pomocniczych, jednak nie powinny one rzutować na wchłanianie API. Akceptowanie tych różnic musi być jednak bardzo ostrożne, bowiem w przypadku leków stosowanych miejscowo na skórę szereg czynników determinuje ich skuteczność, ale i wskazania. Należą do nich rodzaj podłoża oraz substancje pomocnicze. Wybór leku działającego miejscowo w niewłaściwym podłożu może doprowadzić do niepowodzenia leczenia. Podłoża kremowe np. z glikokortykosteroidami (GKS) są wskazane do leczenia aktywnego stanu zapalnego, także z wysiękiem, natomiast podłoża maściowe z GKS gwarantują lepszą penetrację leku w głąb skóry i sprawdzają się w terapii ognisk hiperkeratotycznych z objawami zliszajowacenia [33]. Podłoża maściowe zapobiegają utracie wody przez parowanie, co w konsekwencji zwiększa nawodnienie skóry i poprawia wchłanianie leku do głębszych warstw skóry [34]. Kluczowe znaczenie w efektywności i bezpieczeństwie preparatów stosowanych miejscowo mają także substancje pomocnicze. Usunięcie np. białego wosku pszczelego

Tabela VII. Przykłady działań niepożądanych związanych z nadmiernym wchłanianiem leku przez skórę u niemowląt i dzieci [34,36,37]

Table VII. Examples of adverse effects after excessive dermal absorption in infants and children [34,36,37]

Lek stosowany miejscowo	Działanie niepożądane wynikające z nadmiernego wchłaniania przez skórę u niemowląt i dzieci
Kortykosteroidy	Zahamowanie czynności nadnerczy, upośledzenie wzrostu
Sól srebrowa sulfadiazyny	Hiperbilirubinemia
Mleczan amonu	Kwasica mleczanowa
Kwas salicylowy	Objawy zatrucia

z podłoży leków dermatologicznych pozwoliło zredukować działanie alergizujące tych leków. Niektóre substancje pomocnicze pozwalają zwiększyć penetrację GKS w głąb skóry. Należą do nich np. kwas acetylosalicylowy (działanie keratolityczne), kliochnol (działanie antyseptyczne), czy dziegieć (działanie zmiękczające) [33]. Można zatem stwierdzić, że w odniesieniu do leków stosowanych miejscowo ich działanie w dużym stopniu determinuje rodzaj użytego podłoża, jak i substancji pomocniczych. Dobór odpowiedniej postaci leku o działaniu miejscowym ma szczególne znaczenie w terapii pacjentów pediatrycznych, u których wartość stosunku powierzchni skóry do masy ciała jest istotnie większa niż u osób dorosłych, co zwiększa ryzyko wchłonięcia większej dawki leku. Takie zagrożenie występuje m.in. u wcześniaków, dzieci z rybią łuską, uogólnionym atopowym zapaleniem skóry, czy też skórę zmienioną wypryskowo [34]. Przykłady zagrożeń związanych z nadmiernym wchłanianiem leku przez skórę u niemowląt i dzieci przedstawiono w tabeli VII. Ze względu na zmiany zachodzące w skórze u osób

starszych, takie jak: zwiększona przeshnaskórkowa utrata wody, zmniejszona elastyczność i ukrwienie skóry, można spodziewać się zmniejszonego wchłaniania leków o charakterze hydrofilnym, chociaż brak jest szczegółowych badań potwierdzających kliniczne znaczenie tych zmian [35]. Świadomość konsekwencji stosowania leków dermatologicznych różniących się składem powinna zatem prowadzić do ostrożności podczas konwersji jednego preparatu na inny.

Konflikt interesów / Conflict of interest
Współpraca z firmą LEO Pharma Sp. z o.o.

Adres do korespondencji / Correspondence address

✉ Edyta Szalek
Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji
UM w Poznaniu
ul. Św. Marii Magdaleny 14; 61-052 Poznań
☎ (+48 61) 668 78 53
✉ szalekedyta@wp.pl

Piśmiennictwo / References

- Nowakowska D, Rejdak R. Leki oryginalne i generyczne w okulistyce - bezpieczeństwo i skuteczność terapii. *Ophthalmology J.* 2018;3(1):1-7.
- EMA/393905/2006 Rev. 2 (2012). Pytania i odpowiedzi na temat leków generycznych.
- <http://www.urpl.gov.pl/pl/produkty-lecznicze/zagadnienia-rejestracyjne/nowa-rejestracja>
- <https://www.eupati.eu/pl/organy-nadzoru/wnioski-o-wydanie-pozwolenia-na-dopuszczenie-do-obrotu/>
- EMA/CHMP/ICH/493213/2018. ICH guideline M9 on biopharmaceutics classification system based biowaivers.
- US Food and Drug Administration. Draft guidance for industry, dissolution testing and specification criteria for immediate-release solid oral dosage forms containing BCS class 1 and class 3 drugs. 2015. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM456594.pdf>. Accessed 3 Dec 2015.
- Davit BM, Kanfer I, Tsang YCh, et al. BCS Biowaivers: Similarities and Differences Among EMA, FDA, and WHO Requirements. *AAPS J.* 2016 May;18(3):612-8.
- Bogiel M. Znowelizowana wytyczna European Medicines Agency na temat badań równoważności biologicznej. *CHEMIK.* 2011;65(2): 115-20.
- Proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms. WHO Technical Report Series. 2006;937.
- <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/marketing-authorisation/generic-hybrid-medicines>
- <https://medycynaipasje.com.pl/a2184/Co-warto-wiedziec-o-lekach-generycznych-.html>
- <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/paediatric-medicines/paediatric-investigation-plans>

13. https://ec.europa.eu/growth/industry/intellectual-property/patents/supplementary-protection-certificates_en
14. Brodniewicz T. Badania kliniczne. Warszawa: CeDeWu; 2015.
15. Guideline on the investigation of bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1/Corr**.
16. Questions & Answers: positions on specific questions addressed to the Pharmacokinetics Working Party (PKWP). EMA/618604/2008 Rev. 13.
17. https://www.hma.eu/fileadmin/dateien/Human_Medicines/CMD_h_/Questions_Answers/CMDh_272_2012_Rev04_2019_01_clean_-_Q_A_on_generics.pdf
18. LeLorier J, Duh MS, Paradis PE, et al. Clinical consequences of generic substitution of lamotrigine for patients with epilepsy. *Neurology*. 2008 May 27;70(22 Pt 2):2179-86.
19. Stetz SA. Lower phenytoin serum levels in persons switched from brand to generic phenytoin. *Neurology*. 2005 Aug 23;65(4):657-8.
20. Van Ameringen M, Mancini C, Patterson B, et al. Symptom relapse following switch from Celexa to generic citalopram: an anxiety disorders case series. *J Psychopharmacol*. 2007 Jul;21(5):472-6.
21. Lewek P, Kardas P. Leki generyczne: korzyści i ryzyko wynikające z zamiany. *Medycyna po Dyplomie*. 2011;20(12):48-53.
22. Narayanaswamy A, Neog A, Baskaran M, et al. A randomized, crossover, open label pilot study to evaluate the efficacy and safety of Xalatan in comparison with generic Latanoprost (Latanoprost) in subjects with primary open angle glaucoma or ocular hypertension. *Indian J Ophthalmol*. 2007 Mar-Apr;55(2):127-31.
23. Flach A. Topically applied nonsteroidal anti-inflammatory drugs and corneal problems: an interim review and comment. *Ophthalmology*. 2000;107(7):1224-6.
24. CHMP/QWP/708282/2018. Draft guideline on quality and equivalence of topical products.
25. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products: NOTE FOR GUIDANCE ON THE CLINICAL REQUIREMENTS FOR LOCALLY APPLIED, LOCALLY ACTING PRODUCTS CONTAINING KNOWN CONSTITUENTS. CPMP/EWP/239/95 final.
26. Leal LB, Cordery SF, Delgado-Charro MB, et al. Bioequivalence Methodologies for Topical Drug Products: In Vitro and Ex Vivo Studies with a Corticosteroid and an Anti-Fungal Drug. *Pharm Res*. 2017 Apr;34(4):730-7.
27. Braddy AC, Davit BM, Stier EM, et al. Survey of international regulatory bioequivalence recommendations for approval of generic topical dermatological drug products. *AAPS J*. 2015 Jan;17(1):121-33.
28. Protopic 0,1% maść. Charakterystyka produktu leczniczego.
29. Protopic 0,03% maść. Charakterystyka produktu leczniczego.
30. FDA Guidance for Industry: Topical Dermatologic Corticosteroids: in vivo bioequivalence 2 June 1995.
31. Questions and answer on guideline title: clinical investigation of corticosteroids intended for use on the skin. Doc. Ref. CHMP/EWP/21441/2006.
32. Raney SG, Franz TJ, Lehman PA, et al. Pharmacokinetics-Based Approaches for Bioequivalence Evaluation of Topical Dermatological Drug Products. *Clin Pharmacokinet*. 2015 Nov;54(11):1095-106.
33. Kaszuba A, Pastuszka M, Kaszuba A. Miejscowe glikokortykosteroidy w leczeniu chorób skóry - zalecane standardy postępowania. *Family Medicine Forum*. 2009;3(5):347-58.
34. Zasady stosowania leków działających miejscowo w leczeniu chorób skóry u dzieci. <https://www.mp.pl/artykuly/13075,zasady-stosowania-lekow-dzialajacych-miejscowo-w-leczeniu-chorob-skory-u-dzieci>.
35. Kaestli LZ, Wasilewski-Rasca AF, Bonnabry P, et al. Use of transdermal drug formulations in the elderly. *Drugs Aging*. 2008;25(4):269-80.
36. Dhar S, Seth J, Parikh D. Systemic Side-Effects of Topical Corticosteroids. *Indian J Dermatol*. 2014 Sep-Oct;59(5):460-4.
37. https://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out170_en.pdf