
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Farmacocinetica și biodisponibilitatea dapagliflozinului

Doctorand: **Oroian Monica**

Conducător științific: Prof.dr. **Laurian Vlase**

CLUJ-NAPOCA 2021



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	15
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Gestionarea diabetului	19
1.1. Diabetul zaharat - aspecte generale	19
1.2. Clasificarea diabetului zaharat	19
1.3. Prevalența diabetului zaharat	20
1.4. Factori de risc	21
1.5. Prevenirea	22
1.6. Diagnosticul și tratamentul	23
1.7. Impactul economic al diabetului zaharat	25
1.8. Complicațiile diabetului	26
2. Dapagliflozin	27
2. 1. Inhibitorii co-transportorului 2 sodiu-glucoza	27
2. 2. Farmacodinamia și mecanismul de acțiune	27
2. 3. Contraindicații, atenționări speciale și precauții la utilizare	28
2.3.1. Insuficiența renală	28
2.3.2. Depleția volemică și hipotensiunea	28
2.3.3. Cetoacidoza diabetică	29
2.3.4. Pacienți vârstnici	29
2. 4. Evenimente adverse	29
2.4.1. Hipoglicemia	29
2.4.2. Infecții genitale și ale tractului urinar	30
2.4.3. Alte reacții adverse	30
2. 5. Proprietăți farmacocinetice	30
2.5.1. Absorbție, distribuție, metabolizare și eliminare	30
2.5.2. Liniaritate/non-liniaritate	30
2.5.3. Effectul alimentelor	31
2.5.4. Categoriile speciale de pacienți	31
2.5.4.1. Insuficiența renală	31
2.5.4.2. Insuficiența hepatică	31
2.6. Interacțiuni farmacocinetice	31
2.6.1. Interacțiuni medicamentoase	31
2.6.2. Interacțiuni medicament-stil de viață	32
3. Biodisponibilitatea și bioechivalența	33
4. Analiza farmacocinetică	39
4.1. Analiza farmacocinetică noncompartimentală	39
4.2. Analiza farmacocinetică compartimentală	42
CONTRIBUȚII PERSONALE	
1. Context / Obiective	47
2. Metodologie generală	49
2.1. Design-ul studiului	49
2.2. Dimensiunea eșantionului	50
2.3. Criterii de includere pentru subiecți	51
2.4. Administrarea medicamentelor	53

2.5. Standardizarea studiilor	53
2.6. Siguranță	53
2.7. Prelevarea și procesarea probelor de sânge	54
2.8. Analiza farmacocinetica și statistica	55
3. Studiul 1.-Biodisponibilitatea relativă a două formulări cu 10 mg Dapagliflozin evaluate în condiții de repaus alimentar într-un studiu randomizat încrucișat pe subiecți Caucazieni sănătoși	57
3.1. Introducere	57
3.2. Obiective	57
3.3. Materiale și Metode	57
3.3.1. Subiecți	57
3.3.2. Design-ul studiului	57
3.3.3. Metoda bioanalitică	58
3.3.4. Analiza farmacocinetica și statistica	58
3.4. Rezultate	59
3.5. Discuții	80
3.6. Concluzii	80
4. Studiul 2.- Bioechivalența a două formulări cu dapagliflozin 10 mg în condiții post-prandiale într-un studiu randomizat, încrucișat la subiecți sănătoși caucazieni	81
4.1. Introducere	81
4.2. Obiective	81
4.3. Materiale și Metode	81
4.3.1. Subiecți	81
4.3.2. Design-ul studiului	81
4.3.3. Metoda bioanalitică	82
4.3.4. Analiza farmacocinetică și statistică	82
4.4. Rezultate	83
4.5. Discuții	103
4.6. Concluzii	103
5. Studiul 3.-Efectul alimentelor asupra farmacocineticii comprimatelor cu eliberare imediată cu dapagliflozin 10 mg la voluntari sănătoși caucazieni	105
5.1. Introducere	105
5.2. Obiective	105
5.3. Materiale și Metode	105
5.3.1. Analiza farmacocinetică și statistică	105
5.3.2. Evaluarea siguranței	106
5.4. Rezultate	106
5.4.1. Subiecți	106
5.4.2. Analiza farmacocinetica	107
5.4.3. Analiza statistica	110
5.4.4. Evaluarea siguranței	111
5.5. Discuții	112
5.6. Concluzii	113

6. Studiul 4.-Farmacocinetica dapagliflozinului după administrarea orală în doză unică a unui comprimat cu eliberare imediată cu dapagliflozin 10 mg	115
6.1. Introducere	115
6.2. Obiective	116
6.3. Materiale și Metode	116
6.3.1. Subiecti	116
6.3.2. Design-ul studiului	117
6.3.3. Metoda bioanalitica	117
6.3.4. Analiza farmacocinetica compartimentala	117
6.4. Rezultate	122
6.5. Discuții	131
6.6. Concluzii	132
9. Concluzii generale	133
10. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	135
REFERINȚE	137

CUVINTE-CHEIE

Dapagliflozin, analiza farmacocinetică compartimentală, analiza farmacocinetică non-compartimentală, diabet zaharat, analiza bioechivalenței, studiu clinic, subiecți sănătoși, efectul alimentelor, biodisponibilitate, analiza statistică, siguranța clinică, impact economic, medicamente generice – de revazut diacriticile în textul în limba română

INTRODUCERE

Diabetul este considerat de specialiști una dintre cele mai problematice boli cronice, deoarece afectează toate categoriile de pacienți, de la copii, tineri sau adulți până la vârstnici. În ciuda eforturilor depuse de autorități și medici în implementarea unor programe speciale pentru acești pacienți, incidența diabetului zaharat de tip 1 și 2 este în continuă creștere datorită urbanizării, dietei și stilului de viață, îmbătrânirii populației sau altor patologii asociate. Prin urmare, această afecțiune cronică este asociată cu multe alte complicații care pot reduce calitatea vieții pacienților sau pot crește rata mortalității.

Dezvoltarea de noi tratamente pentru îmbunătățirea sănătății pacienților prin controlul bolii este una dintre cele mai importante părți ale industriei farmaceutice. Totuși, costurile pentru diferite tratamente pot fi o problemă pentru mulți pacienți și familiile lor și astfel accesul la un tratament cu aceleași rezultate eficiente, dar la un preț mai mic, este obiectivul industriei medicamentelor generice.

Inhibitorii SGLT2 reprezintă o clasă de medicamente care previn reabsorbția glucozei din tubul proximal renal, rezultând excreția de glucoză în urină, fapt ce conduce la scăderea nivelului de glucoză din sânge. Dapagliflozin este unul dintre reprezentanții acestei clase terapeutice, fiind utilizat atât în tratamentul diabetului zaharat de tip 1 ca adjuvant în tratamentul cu insulină, cât și în tratamentul diabetului zaharat de tip 2 la pacienții la care administrarea de metformin nu este posibilă datorită intoleranței. Dapagliflozin îmbunătățește nivelul glicemiei atât *a jeun* cât și post-prandial, iar acțiunea sa se observă încă de la prima doză administrată și se menține pe durata a 24 de ore, astfel încât poate fi administrat o singură dată pe zi.

Teza de doctorat cuprinde în prima parte intitulată *Stadiul actual al cunoașterii*, o sinteză a informațiilor din literatura de specialitate cu privire la principalele subiecte abordate în cadrul cercetării. Primul capitol prezintă informații referitoare la aspectele generale ale diabetului zaharat, clasificarea acestuia, prevalența, factorii de risc, metodele de prevenție, diagnostic și tratament, complicațiile diabetului, respectiv impactul economic al acestei patologii. În continuare, teza urmărește o descriere a dapagliflozinului cuprinzând informații referitoare la farmacodinamia și mecanismul de acțiune al acestuia precum și informații legate de contraindicații, precauții la utilizare, efecte adverse, proprietăți și interacțiuni farmacocinetice ale acestuia. Următoarele două capitole prezintă aspecte referitoare la studiile de biodisponibilitate și bioechivalență alături de cele mai importante cerințe de reglementare pentru efectuarea acestora și

metodele de analiza farmacocinetică utilizate pentru determinarea principalilor parametri.

CONTRIBUȚII PERSONALE

S-a dezvoltat o nouă formulare generică cu eliberare imediată ce conține 10 mg dapagliflozin de către Sun Pharmaceutical Industries Limited, India. Scopul cercetării a fost de a evalua biodisponibilitatea produsului atât în condiții de repaus alimentar, cât și în condiții post-prandiale, de a descrie efectul alimentelor asupra biodisponibilității moleculei și de a determina modelul farmacocinetic care descrie cel mai bine dispoziția dapagliflozinului în organism.

În primul studiu al secțiunii *Contribuții personale* sunt prezentate rezultatele unui studiu clinic de bioechivalență în condiții de repaus alimentar. Studiul a fost încrucișat, randomizat, cu două perioade și două tratamente și s-a comparat biodisponibilitatea noului produs dezvoltat (test) cu produsul disponibil pe piață (referință). După obținerea concentrațiilor plasmatice de dapagliflozin din plasmă, s-au evaluat principalii parametri farmacocinetici utilizând analiza noncompartimentală, iar valorile medii obținute au fost similare pentru cele două produse comparate. Pentru analiza statistică efectuată s-a utilizat testul ANOVA pentru C_{max} , AUC_{0-t} și $AUC_{0-\infty}$. Raportul mediilor produsului test și referință și intervalele de încredere de 90% s-au încadrat în intervalul stabilit de bioechivalență de 80.00-125.00%.

Cel de-al doilea studiu realizat a fost de bioechivalență în condiții post-prandiale. Pentru desfășurarea studiului s-a utilizat același design, respectiv aceeași metodologie. Rezultatele obținute pentru parametrii farmacocinetici calculați pentru ambele produse au avut valori medii similare. Astfel, criteriile de bioechivalență au fost îndeplinite pentru cele două produse comparate în condiții post-prandiale.

Evenimentele adverse au fost monitorizate pe tot parcursul studiilor, deși evaluarea siguranței nu a fost un obiectiv al acestora. S-a concluzionat că produsele au fost în general bine tolerate de către subiecți.

În conformitate cu cerințele de reglementare în vigoare și având în vedere rezultatele celor două studii clinice desfășurate în condiții de repaus alimentar și post-prandiale se poate concluziona că produsul testat este bioechivalent și interschimbabil în terapie cu produsul de referință.

Al treilea studiu al secțiunii *Contribuții personale* compară administrarea celor două produse în condiții de repaus alimentar și post-prandial la subiecți sănătoși. Parametrii farmacocinetici au fost evaluați comparând rezultatele obținute în cele două condiții și a fost evaluat profilul plasmatic mediu în funcție de timp. Rezultatele au arătat că nu există diferențe semnificative în administrarea fără sau cu alimente a formulării cu eliberare imediată cu dapagliflozin 10 mg, iar profilurile plasmatice obținute susțin concluzia bioechivalenței celor două produse farmaceutice.

Obiectivul celui **de-al patrulea studiu** descris în secțiunea de *Contribuții personale* a fost de a determina modelul farmacocinetic care descrie cel mai bine dispoziția dapagliflozinului cedat dintr-o formulare cu eliberare imediată, după administrarea unei singure doze. Prin utilizarea unei metode de analiză farmacocinetică compartimentală, a fost determinat și descris modelul cel mai reprezentativ dintre cele 10 modele evaluate (M1-M10). S-a dovedit că modelul M8 fitează cel mai bine datele experimentale și s-a concluzionat că farmacocinetica dapagliflozinului se caracterizează printr-un proces de absorbție de ordinul 0 și este eliminat din organism printr-un proces cinetic de ordinul I.

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI

Cea mai inovatoare contribuție a tezei este caracterizarea farmacocinetică a noii formulări generice cu eliberare imediată conținând 10 mg dapagliflozin, dezvoltată de Sun Pharmaceutical Industries Limited, India.

Profilurile farmacocinetice ale testului și ale produsului de referință au fost evaluate conform cerințelor de reglementare în timpul desfășurării celor două studii clinice pe subiecți umani sănătoși.

Cele două produse testate s-au dovedit a fi bioechivalente după administrarea unei doze orale unice în condiții de repaus alimentar și post-prandial. În fiecare studiu au fost incluși subiecți umani sănătoși adulți, conform procedurilor de screening definite în protocoalele aprobate de către Agenția Națională a Medicamentelor și Dispozitivelor Medicale din România, respectiv de Comisia Națională de Bioetică. Medicamentele de investigație clinică au fost sigure, iar evenimentele adverse raportate în timpul ambelor studii au fost bine tolerate și nu au pus în pericol sănătatea subiecților.

Cele două studii clinice au fost realizate respectând toate reglementările aplicabile și care au făcut posibilă aprobarea medicamentului testat pe piața SUA, de către SUA-FDA.

Studiul efectului alimentelor a arătat că ingestia de alimente nu influențează farmacocinetica dapagliflozinului, astfel încât mărimea absorbției nu este afectată. Prin urmare, produsul testat poate fi administrat pacienților indiferent de masă, ceea ce reprezintă un beneficiu important pentru pacienții diabetici, deoarece aceștia trebuie să fie foarte atenți la dieta și la programul meselor pe parcursul zilei pentru un control mai bun al glicemiei.

Ultimul studiu, în care au fost evaluate modelele farmacocinetice, a demonstrat că după administrarea comprimatului cu eliberare imediată dapagliflozin urmează un proces de absorbție de ordinul 0. Eliminarea substanței din organism urmează un proces cinetic de ordinul 1. De asemenea, s-a observat că dapagliflozinul prezintă distribuție bi-compartimentală.

Studiile de bioechivalență realizate și prezentate în teza de față contribuie la îmbunătățirea sănătății oamenilor prin introducerea constantă pe piață a produselor

generice, disponibile la prețuri mai mici, ceea ce sporește accesibilitatea la tratamentul corect pentru un număr mult mai mare de pacienți.

Aprobarea pe piață a produsului nou dezvoltat cu dapagliflozin ajută pacienții diagnosticați cu diabet zaharat, de tip 1 sau de tip 2, să aibă acces la un tratament adecvat și astfel să crească calitatea vieții acestora printr-un regim de administrare facil.

PhD THESIS SUMMARY

Pharmacokinetics and bioavailability of dapagliflozin

PhD student **Monica Oroian**

PhD supervisor Prof.dr. **Laurian Vlase**

CLUJ-NAPOCA 2021



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	15
ACTUAL STATE OF KNOWLEDGE	
1. Managing diabetes	19
1.1. Diabetes mellitus-General aspects	19
1.2. Classification of diabetes	19
1.3. Prevalence of diabetes	20
1.4. Risk factors	21
1.5. Prevention	22
1.6. Diagnosis and treatment	23
1.7. Economic impact of diabetes	25
1.8. Diabetes complications	26
2. Dapagliflozin	27
2.1. Sodium glucose co-transporter 2 inhibitors	27
2.2. Pharmacodynamics and mechanism of action	27
2.3. Contraindications, special warnings and precautions for use	28
2.3.1. Renal impairment	28
2.3.2. Volume depletion and hypotension	28
2.3.3. Diabetic ketoacidosis	29
2.3.4. Elderly patients	29
2.4. Adverse events	29
2.4.1. Hypoglycaemia	29
2.4.2. Genital and urinary tract infections	30
2.4.3. Other adverse events	30
2.5. Pharmacokinetic properties	30
2.5.1. Absorption, distribution, biotransformation and elimination	30
2.5.2. Linearity/non-linearity	30
2.5.3. Effect of food	31
2.5.4. Special populations	31
2.5.4.1. Renal impairment	31
2.5.4.2. Hepatic impairment	31
2.6. Pharmacokinetic Interactions	31
2.6.1. Drug-drug interactions	31

2.6.2. Drug-lifestyle interactions	32
3. Bioavailability and bioequivalence	33
4. Pharmacokinetic analysis	39
4.4. Results	83
4.5. Discussions	103
4.6. Conclusions	103
5. Study 3. The food effect on the pharmacokinetics of Dapagliflozin 10 mg immediate release tablet in healthy Caucasian volunteers	105
5.1. Introduction	105
5.2. Objectives	105
5.3. Materials and Methods	105
5.3.1. Pharmacokinetics and statistical analysis	105
5.3.2. Safety evaluation	106
5.4. Results	106
5.4.1. Subjects	106
5.4.2. Pharmacokinetic analysis	107
5.4.3. Statistical analysis	110
5.4.4. Safety evaluation	111
5.5. Discussions	112
5.6. Conclusions	113
6. Study 4. Pharmacokinetics of dapagliflozin after single dose oral administration of Dapagliflozin 10 mg immediate release tablet	115
6.1. Introduction	115
6.2. Objective	116
6.3. Materials and methods	116
6.3.1. Subjects	116
6.3.2. Study design	117
6.3.3. Bioanalytical analysis	117
6.3.4. Pharmacokinetic compartmental analysis	117
6.4. Results	122
6.5. Discussions	131
6.6. Conclusions	132
7. General conclusions	133

8. Originality and innovative contributions of the thesis	135
REFERENCES	137

KEYWORDS

Dapagliflozin, pharmacokinetic compartmental analysis, pharmacokinetic non-compartmental analysis, Diabetes mellitus, bioequivalence, clinical study, healthy subjects, food effect, bioavailability, statistical analysis, clinical safety, economic impact, generic drugs

INTRODUCTION

Diabetes is considered by specialists to be one of the most problematic chronic diseases, because it affects all categories of patients, from children, young people, or adults to the elderly. Despite the efforts of authorities and doctors in implementing special programs for these patients, the incidence of type 1 and type 2 diabetes is constantly increasing due to urbanization, diet and lifestyle, population aging or other associated pathologies. Therefore, this chronic condition is associated with many other complications that can reduce the life quality of patients or increase the mortality rate.

The development of new treatments to improve patients' health through disease control is one of the most important parts of the pharmaceutical industry. However, the costs for different treatments can be a problem for many patients and their families and thus access to treatment with the same effective results, but at a lower price, is the goal of the generic drug industry.

SGLT2 inhibitors are a class of drugs that prevent the reabsorption of glucose from the proximal renal tube, resulting in the excretion of glucose in the urine, leading to lower blood glucose levels. Dapagliflozin is one of the representatives of this therapeutic class, being used in the treatment of type 1 diabetes, as an adjunct in insulin treatment, and in the treatment of type 2 diabetes, in patients for whom metformin is not recommended due to intolerance. Dapagliflozin improves both fasting and fed blood glucose levels; its action is observed from the first dose and is maintained for 24 hours, therefore it can be administered only once a day.

The thesis includes in the first part entitled *The actual state of knowledge*, a synthesis of the information from scientific literature on the main topics addressed during the research. The first chapter presents information on the general aspects of diabetes, its classification, prevalence, risk factors, methods of prevention, diagnosis and treatment, complications of diabetes, and the economic impact of this disease. The following chapter is a description of dapagliflozin, summarizing information on its pharmacodynamics and mechanism of action, as well as information on its contraindications, precautions for use, adverse effects, properties, and pharmacokinetic interactions. The next two chapters present data on bioavailability and bioequivalence studies, along with the most important regulatory requirements for their performance and the methods of pharmacokinetic analysis used to determine the main parameters.

PERSONAL CONTRIBUTION

A new generic immediate release formulation containing 10 mg of dapagliflozin was developed by Sun Pharmaceutical Industries Limited, India. The aim of the research was to evaluate the bioavailability of the product, in both fasting and fed conditions, to describe the effect of food on the bioavailability of the molecule, and to determine the pharmacokinetic profile that best describes the availability of dapagliflozin in the body.

In the first study of the *Personal Contributions* section, are presented the results of a clinical study of bioequivalence under fasting conditions. The study design was cross-over, randomized, with two periods and two treatments, and compared the bioavailability of the newly developed product (test) with the product available on the market (reference). After obtaining plasma concentrations of dapagliflozin from plasma samples, the main pharmacokinetic parameters were evaluated using noncompartmental analysis, and the mean values obtained were similar for the two products compared. The ANOVA test was used for the statistical analysis performed for the pharmacokinetic parameters C_{max} , AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$. The ratio of the averages of the test and reference product and the confidence intervals of 90% were within the established range of bioequivalence of 80.00-125.00%.

The second study was a bioequivalence study performed under fed conditions. The same study design and methodology were used as for the first clinical trial. The results obtained for the pharmacokinetic parameters C_{max} , AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ calculated for both products had similar mean values. Thus, the bioequivalence criteria were met for the two products compared under fed conditions.

Adverse events were monitored throughout the studies, although safety assessment was not an objective. It was concluded that the products were generally well tolerated by the subjects.

In accordance with the regulatory requirements in force and considering the results of the two studies under fasting and fed conditions, it can be concluded that the test product is bioequivalent and interchangeable with the reference product.

The third study from the *Personal Contributions* section compared the administration of the two products under fasting and fed conditions to healthy subjects. Pharmacokinetic parameters were evaluated by comparing the results obtained under both conditions and the mean plasma concentration was evaluated over time. The results showed that there were no significant differences in the administration of the immediate-release formulation with dapagliflozin 10 mg, with or without food, and the profiles obtained support the conclusion of bioequivalence for the two pharmaceutical forms.

The objective of the fourth study described in the *Personal Contributions* section was to determine the pharmacokinetic model for dapagliflozin released from an immediate-release formulation, after a single oral dose. By using a pharmacokinetic compartmental analysis method, the most representative model was determined and described. The M8 model was found to best fit the experimental data and it was

concluded that the pharmacokinetics of dapagliflozin is characterized by a 0-order absorption process and is eliminated from the body following a 1st-order kinetic process.

ORIGINALITY AND INOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE THESIS

The most innovative contribution of the thesis is the pharmacokinetic characterization of the new generic immediate release formulation containing 10 mg dapagliflozin, developed by Sun Pharmaceutical Industries Limited, India.

The pharmacokinetic profiles of test and reference products were evaluated according to regulatory requirements during two clinical trials in healthy human subjects.

The two products tested were found to be bioequivalent after administration of a single oral dose, under fasting and postprandial conditions. In each study, healthy adult human subjects were included, according to screening procedures defined in the protocols approved by the National Agency for Medicines and Medical Devices in Romania, respectively by the National Bioethics Commission. Clinical investigation drugs were safe and adverse events reported during both studies were well tolerated and not severe.

The two clinical trials were conducted in compliance with all applicable regulations that made it possible for the US-FDA to approve the tested drug on the US market.

The food effect study showed that food intake does not influence the pharmacokinetics of dapagliflozin, so the extent of absorption is not affected. Therefore, the new generic product can be administered to patients, regardless of food intake, which is an important benefit for diabetic patients as they have to be very careful about their diet and meal schedule during the day, for better control of glycemia.

The last study, in which pharmacokinetic models were evaluated, showed that after administration of the immediate-release tablet dapagliflozin follows an absorption process of zero-order. Elimination of the substance from the body follows a kinetic process of 1st order. Moreover, distribution of dapagliflozin was bi-compartmental.

Bioequivalence studies help to improve people's health by constantly bringing generic products to market at lower prices, which increases accessibility to the correct treatment for a much larger number of patients.

The market approval of the newly developed product with dapagliflozin helps patients diagnosed with either type 1 or type 2 diabetes to have access to appropriate treatment and timely health care, increasing their life quality through an easy administration regimen.