

Estudio de bioequivalencia de una formulación genérica de tabletas recubiertas de imatinib mesilato por 400 mg *versus* Glivec®: un estudio comparativo, aleatorizado, abierto, de dosis única, en ayunas, de dos períodos, en dos secuencias cruzadas en voluntarios sanos colombianos

Bioequivalence study of a generic formulation of imatinib mesylate 400 mg film-coated tablets versus Glivec®: a randomized open-label trial, single-dose, fasting, two-period, two-sequence crossover comparison in healthy Colombian volunteers

► Mauricio Vargas¹, Carlos Bustamante¹

¹ Unidad de Investigación Clínica y Farmacológica, Facultad de Medicina, Universidad de La Sabana (Bogotá, Colombia).

Resumen

Objetivo: Comparar la biodisponibilidad de dos formulaciones farmacéuticas del mismo principio activo, imatinib, con el fin de establecer si son bioequivalentes, a la luz de la reglamentación expedida por la FDA.

Metodología: El estudio se realizó siguiendo las normas de buenas prácticas clínicas. Se trata de un estudio aleatorizado, abierto, de dosis única, en ayunas, de dos períodos, dos secuencias cruzadas completas y ocho días como período de lavado en población colombiana. Para el análisis cuantitativo de las muestras plasmáticas, se efectuó la validación de un método de cromatografía líquida de alta eficiencia con un detector ultravioleta.

Resultados: Los voluntarios fueron de raza mestiza de la población colombiana, con una edad promedio de 25 años, entre 18 y 40 años, y con un IMC promedio de 22 kg/m², entre 19,0 y 24,9 kg/m². Se obtuvieron los siguientes valores para los parámetros de valoración: C_{máx} 1437,2 ng/ml para el producto de prueba y 1435,9 ng/ml para el producto de referencia, con un t_{máx} de 3,4 horas para el producto prueba y 3,2 horas para el producto de referencia. El ABC_{0-t} del producto de prueba fue 20431,5 ng.h/ml y del producto de referencia, 19338,0 ng.h/ml. El ABC Inf del producto de prueba fue 21296,5 ng.h/ml y del producto de referencia, 20816,9 ng.h/ml. El ratio para el parámetro ABC_{0-t} fue de 107,2 (IC 90% 93,5-123,0), para ABC_{0-inf} ratio de 102,9 (IC 90% 91,4-115,8) y para C_{máx} ratio de 100,2 (IC 90% 90,3-111,2).

Conclusión: Los dos productos comparados (Imatin® de laboratorios Procaps y Glivec® del laboratorio Novartis) son bioequivalentes y, por lo tanto, se pueden considerar intercambiables, según lo establecen las normas de la FDA.

Palabras clave: Voluntarios humanos, farmacocinética, biodisponibilidad, bioequivalencia, imatinib.

Abstract

Objective: To compare bioavailability of two different imatinib pharmaceutical formulations to establish bioequivalency, according to FDA regulation.

Methods: A single-dose, randomized open-label trial was performed, fasting, in two periods and two complete cross sequences with an 8-day washout period. All the study subjects were from Colombia. Imatinib blood levels were measured from plasma samples using high-efficiency liquid chromatography (HPLC) with an UV-light detector.

Results: Healthy volunteers representative of Colombian population and racial types were included with a mean age of 25 years (range 18-40) and a mean body mass index (BMI) of 22 kg/m² (range 19-24,9). Test product C_{max}, T_{max} and AUC (0-t) were 1437,2 ng/ml, 3,4 hours and 20431,5 ng.h/ml. Meanwhile reference product C_{max}, T_{max} and AUC Inf was 1435,9 ng/ml, 3,4 hours and 21296,5 ng.h/ml, respectively. Test/reference product ratios for C_{max}, AUC (0-t) and AUC (0-inf) were 1,002 (CI 90% 0,903-1,112), 1,072 (CI 90% 0,935-1,230) and 1,029 (CI 90% 0,914-1,158), respectively.

Conclusion: Test product (Imatin®, Procaps) and reference product (Glivec®, Novartis) are bioequivalente according to FDA-established regulation.

Key words: Human volunteers, pharmacokinetics, bioavailability, bioequivalence, imatinib.

DATOS DE CONTACTO

Correspondencia: Mauricio Vargas Malagón, MD, MSc. **Dirección:** Carrera 69 N° 80-45 Of. 401. **Teléfono:** +571 861 5555 exts. 54205 o 313.

Correo electrónico: mauricio.vargas@unisabana.edu.co o mvm722000@yahoo.es

Correspondencia: Carlos Bustamante, MD, MSc. **Dirección:** Campus Universitario, Universidad de La Sabana, Edificio H Of. C861.

Teléfono: +571 861 5555 ext. 23309 o 313 807 8414. **Correo electrónico:** carlos.bustamante@unisabana.edu.co

Fecha de recepción: 22 de febrero del 2013. **Fecha de aprobación:** 1° de marzo del 2013.

Declaración de conflictos de interés: Los laboratorios Procaps contrataron los servicios de la Unidad de Investigación Clínica y Farmacológica de la Universidad de La Sabana para llevar a cabo el presente estudio.

Introducción

El imatinib mesilato, 4-[(4-methyl-1-piperazinyl)methyl]-N-[4-[1-3]-methyl-3-[[4-(3-pyridinyl)-2-pyrimidinyl]amino]-phenyl]benzamidemethanesulfonate, es un agente anticáncer que actúa por inhibición selectiva de una tirosina quinasa. Ha sido aprobado para uso en leucemia mieloide crónica BCR/ABL-positiva y tumores del estroma gastrointestinal^{1,2}.

Es un medicamento sintético que pertenece al grupo 2-phenylamino-pyrimidine (PAP). Después de la administración oral de una cápsula de 400 mg de imatinib, exhibe una concentración máxima (C_{máx}) a las 2-4 horas posdosificación. El tiempo de vida media de eliminación del imatinib (IM) y su metabolito activo, N-desmethylimatinib (M1), es de aproximadamente 18 y 40 h, respectivamente. El IM es completamente absorbido (98%) luego de la administración oral, lo cual indica alta solubilidad, alta permeabilidad y bajo porcentaje de extracción hepática. Los alimentos no tienen un impacto relevante en la velocidad o extensión de su biodisponibilidad. La absorción se ve drásticamente afectada por la administración con alimentos ricos en grasas, evidenciando un 11% de reducción en la C_{máx}, una prolongación de 1,5 h en el t_{máx} y una disminución del 7,4% en el ABC³⁻⁵.

Este es un estudio farmacocinético abierto en voluntarios sanos, con asignación aleatorizada, de dosis única, dos períodos, dos secuencias, tendiente a evaluar la biodisponibilidad relativa de dos formulaciones de imatinib presentadas en forma de tabletas de 400 mg para administración peroral.

El imatinib es un fármaco útil en el tratamiento de los pacientes que padecen leucemia mieloide crónica (LMC), un síndrome mieloproliferativo crónico de naturaleza clonal, que resulta en un excesivo número de células mieloides en todos los estadios de maduración⁷.

Dado que los sistemas de salud del mundo cuentan con presupuestos limitados, la introducción de medicamentos genéricos favorece el tener medicinas de menor costo, puesto que son fármacos que no requirieron de altas inversiones para su desarrollo, y, al demostrar que son bioequivalentes, podrían convertirse en alternativas farmacéuticas del medicamento original.

Objetivo del estudio

Comparar la biodisponibilidad de dos formulaciones de imatinib, con el fin de establecer si son bioequivalentes, según los lineamientos de la FDA.

Condiciones éticas

El estudio se hizo cumpliendo las normas de buena práctica clínica y de acuerdo con las normas internacionales de investigación en seres humanos⁸⁻¹³. Se obtuvo la aprobación del protocolo por el Comité de Ética en Investigación Clínica (CEIC) de la Facultad de Medicina de la Universidad de La Sabana, y se llevó a cabo una charla a los voluntarios, que tuvo por finalidad explicar en detalle la investigación y, en general, toda la información que ellos requirieron para decidir libremente su participación en ella y firmar el consentimiento informado.

Medicamentos del estudio

Productos en estudio

Medicamento de prueba: Imatin®[®], imatinib para administración oral que contiene 400 mg, importado y distribuido en Colombia por laboratorios Procaps, quien suministró el fármaco, ya que aún no se encuentra en el mercado colombiano. El número de lote es IMT1202BC, fabricado en enero del 2012, con fecha de expiración de diciembre del 2013.

1. Medicamento de referencia

Glivec®[®], imatinib para administración oral que contiene 400 mg, fabricado y distribuido en Colombia por Novartis. El número de lote es Z0072, fabricado en diciembre del 2011, con fecha de expiración de noviembre del 2013. Este medicamento fue adquirido en una farmacia particular de la ciudad de Bogotá.

2. Sujetos

Participaron 24 sujetos sanos, 12 varones y 12 mujeres, de raza mestiza; todos no fumadores y mayores de edad. Todos fueron declarados sanos por el médico del estudio, según los resultados de la historia clínica, el examen físico y las pruebas de laboratorio (hematología, bioquímica y análisis de orina). Además, todos fueron negativos para VIH, hepatitis B y hepatitis C; adicionalmente, tuvieron electrocardiogramas normales y, en el caso de las mujeres, prueba de embarazo negativa.

Muchos estudios, publicados en la literatura, se llevaron a cabo por Novartis (originador de Glivec®) en sujetos sanos, con el fin de evaluar el metabolismo y la eliminación del imatinib¹⁴, la bioequivalencia del imatinib con diferentes formas de dosificación (tales como comprimidos y cápsulas)^{15,16} y las interacciones entre el imatinib y otros compuestos (como ketoconazol y rifampicina)^{17,18}. También, hay un estudio efectuado en varones sanos voluntarios, en Uruguay, para evaluar la bioequivalencia de una formulación de ensayo y Glivec®¹⁹. Por lo tanto, voluntarios sanos fueron incluidos en este análisis.

Desarrollo del estudio

Esta investigación se realizó en el área de estudios biofarmacéuticos de la Clínica Universidad de La Sabana; los sujetos fueron asignados aleatoriamente en cuanto a tratamiento y secuencia, mediante un programa de números aleatorios de Excel; se administró dosis única por período; el laboratorio analítico se mantuvo ciego.

En cada período, los voluntarios recibieron una dosis única de imatinib en tabletas de 400 mg; dicha administración fue por vía oral, con aproximadamente 200 ml de agua. Se brindó alimentación igual a todos los voluntarios la noche anterior a la administración del medicamento, manteniendo así un ayuno por espacio de 10 horas; luego de ello, se dio la dosis correspondiente a cada voluntario. Dos horas después de administrado el medicamento, se sirvió desayuno a los voluntarios. Los sujetos permanecieron acostados decúbito lateral derecho²⁰ durante las primeras dos horas luego de la administración del fármaco. En cada período de estudio, se recogieron, mediante punción venosa con Vacutainers en tubo seco, muestras de sangre (7 ml), iniciando justo antes de la administración del medicamento (0 horas), mientras que las demás muestras se extrajeron a las 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 y 48 horas posteriores a la administración del fármaco^{1,2}. Las administraciones del segundo período se separaron por ocho días a fin de lograr la eliminación total del analito cuantificado imatinib, la cual se garantiza cuando, antes de administrar el medicamento, se cuantifica la concentración plasmática del imatinib para el segundo período. En todos los voluntarios se encontró una concentración plasmática de 0,0 ng/ml.

Todos los eventos adversos que se produjeron durante el estudio, independientemente de la gravedad

o de la relación con el medicamento estudiado, se documentaron en los formularios de recogida de datos.

Tratamiento de las muestras

Las muestras de plasma de imatinib se analizaron empleando un método validado de HPLC y detección ultravioleta. El método analítico²¹⁻²⁶ cumple con las siguientes normas regulatorias: el límite de detección es de 15,5 ng/ml y el límite de cuantificación de 50,0 ng/ml, suficientes para realizar una curva de calibración en un rango más amplio hacia concentraciones menores. Los errores relativos porcentuales en la exactitud intra e interensayo se encontraron por debajo del 15% para las concentraciones baja, media y alta. Así mismo, la precisión intra e interensayo expresada como CV (%) estuvo por debajo del 15% para las concentraciones estudiadas. Los promedios de recuperación de los tres experimentos fueron buenos y similares a diferentes concentraciones, lo que demuestra que el proceso de extracción es bastante uniforme con el sistema desarrollado.

En el proceso de extracción del imatinib, se consiguió optimizar el método, obteniéndose un porcentaje de recuperación del 99,9%, con un %CV del 3,1%. Las soluciones patrón mostraron ser estables por al menos tres días a temperatura ambiente y a 4°C, arrojando coeficientes de variación entre el 0,3 y 2,6%.

Los resultados de los cálculos del %CV de las soluciones patrón dejadas en el automuestreador durante tres días están entre el 0,3 y 1,1%, y los %CV para las muestras dejadas en el automuestreador durante tres días de imatinib en suero están entre el 1,4 y 5,2%, demostrando un buen comportamiento.

En el caso del proceso de congelación/descongelación para las tres concentraciones analizadas (150 ng/ml, 1000 ng/ml y 1800 ng/ml), las recuperaciones relativas con respecto al basal (%) van desde el 91,8 al 102,4%, resultados que indican la estabilidad del imatinib en suero, por al menos tres ciclos de congelación/descongelación, cuando es almacenado a -20°C.

Análisis farmacocinético y estadístico

Un modelo no compartimental se utilizó para determinar los parámetros farmacocinéticos del imatinib usando el programa WinNonlin 5,3 (Pharsight Corporation, Cary USA).

La concentración máxima (C_{máx}) y el tiempo para alcanzarla (t_{máx}) se obtuvieron directamente a partir

de los resultados de las concentraciones plasmáticas, tal como lo recomienda actualmente la FDA⁶.

El ABC_{0-inf} se calculó mediante la suma de las ABC parciales: a) ABC_{0-t} , entre el tiempo cero y el último tiempo con concentraciones detectables, calculada mediante la regla trapezoidal; y b) ABC_{0-inf} calculada como el cociente C_t/K , siendo C_t la última concentración detectable y K la pendiente negativa de la recta obtenida mediante regresión lineal a partir de los puntos correspondientes a la fase de eliminación del fármaco. Para determinar el número de puntos utilizados en el cálculo de K, WinNonlin comienza la regresión a partir de los últimos tres puntos detectables, calculando R^2 ajustado al número de puntos añadiendo en cada paso un cuarto, quinto... punto. Se estima entonces la pendiente de la recta de eliminación con los puntos que proporcionen el R^2 ajustado más alto por medio de una regresión lineal del logaritmo natural de las concentraciones^{6,27}.

La constante de eliminación (K), la vida media ($t_{1/2}$), el aclaramiento (Cl) y el tiempo de residencia medio (MRT), ajustados a la biodisponibilidad, se calculan tras realizar el análisis no compartimental. El volumen de distribución (V_d), ajustado a la biodisponibilidad (F), se obtiene a partir de la pendiente de la recta de regresión (K) mediante la expresión $V_d/F = Cl/K$ ^{6,27}.

El análisis estadístico consistió en un estudio comparativo de los parámetros de biodisponibilidad ABC_{0-t} y $C_{máx}$, previa transformación logarítmica, mediante un análisis de la varianza, aplicando los intervalos de confianza al 90%. El rango teórico de bioequivalencia aceptado para ABC_{0-t} y $C_{máx}$ fue del 80-125%, tal como recomienda la normativa de bioequivalencia⁶.

Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos: producto de referencia versus producto prueba

	Referencia	SD	Prueba	SD
Ke (1/h)	0,06	0,01	0,05	0,01
Tmáx (h)	3,2	0,6	3,4	0,8
Cmáx (ng/ml)	1435,9	551,3	1437,2	560,5
ABC0-t (h*ng/ml)	19338,0	9266,7	20431,5	8833,3
ABC0-inf (h*ng/ml)	20816,9	8517,6	21296,5	8355,7
Vida media (h)	13,5	5,3	13,8	2,5

Tabla 2. Comparación de los resultados con los estándares de bioequivalencia

		Intrasujeto CV%	Geo LSM		Ratio% ref.	IC estándar 90% (prueba/referencia)	
			Referencia	Prueba			
Ln (Cmáx)	ng/ml	21	1334,8	1337,8	100,2	90,3	111,2
Ln (ABC _{0-t})	h*ng/ml	28	17203,3	18447,6	107,2	93,5	123,0
Ln (ABC _{0-inf})	h*ng/ml	24	19118,2	19665,0	102,9	91,4	115,8

Resultados

El estudio de bioequivalencia se realizó en 24 voluntarios sanos. Ninguno de los voluntarios fue retirado del análisis. Las características demográficas media (SD) para el grupo incluido en el estudio las siguientes [media (desviación estándar)]: la edad de 25 años (7); peso, 61,5 (9,2) kg; altura, 167,5 (8,5) cm; y el IMC, 22,0 (1,9) kg/m².

La $C_{máx}$, $T_{máx}$, AUC_{0-t} y AUC_{0-inf} para imatinib 400 mg, producto de referencia Glivec® del laboratorio Novartis y el producto de prueba, Imatin®, de laboratorios Procaps, fue similar en voluntarios sanos. Las relaciones LSM eran muy estrechas, con coeficiente de variación intrasujeto (21%) para $C_{máx}$, (28%) para AUC_{0-t} y (24%) AUC_{0-inf} (tablas 1 y 2). Las medias de la concentración plasmática en función del tiempo (farmacocinética) para cada formulación estudiada fueron superpuestas en la figura 1. Los parámetros medios $C_{máx}$, $T_{máx}$, AUC_{0-t} y AUC_{0-inf} fueron muy similares para ambas formulaciones en los 24 voluntarios que terminaron el estudio. No hubo ningún evento adverso significativo que pudiera afectar el perfil farmacocinético. En la tabla 3, se exponen las reacciones adversas a los medicamentos del estudio.

Las proporciones de LSM y de los intervalos de confianza del 90% para los parámetros farmacocinéticos

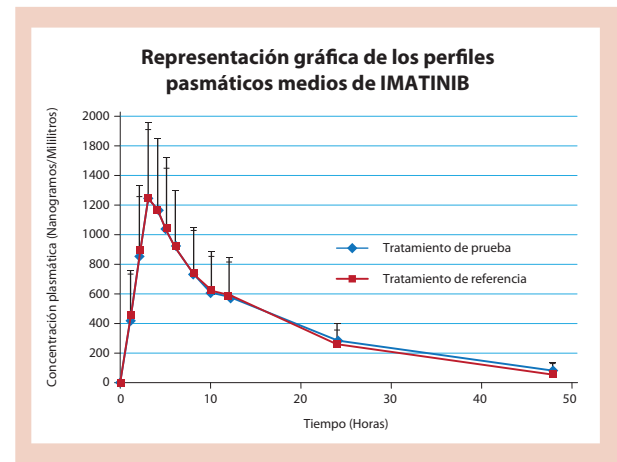


Figura 1. Representación gráfica de los perfiles plasmáticos medios de las dos formulaciones de imatinib estudiadas.

Tabla 3. Reacciones adversas presentadas en los períodos de tratamiento por producto

Reacción adversa	Período 1		Período 2	
	Referencia %	Prueba %	Referencia %	Prueba %
Asintomáticos	8,3	20,8	37,5	16,7
Náuseas	25	20,8	0	12,5
Pirosis	8,3	4,2	0	16,7
Mareos	20,8	12,5	0	4,2
Cefalea	8,3	8,3	0	0
Taquicardia	8,3	0	4,2	8,3
Emesis	4,2	0	0	4,2
Dolor abdominal	0	0	4,2	4,2
Diarrea	0	0	4,2	0

($C_{m\acute{a}x}$, AUC_{0-t} y AUC_{0-inf}) de Imatin® tabletas de 400 mg en comparación con Glivec® 400 mg estaban dentro del rango del 80 al 125% de aceptación de la FDA para los medicamentos genéricos, lo que indica que los fármacos estudiados son bioequivalentes. La farmacocinética de las formulaciones ensayadas fue la misma y los voluntarios sanos toleraron bien la dosis administrada de imatinib sin observarse efectos secundarios importantes.

Discusión

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la bioequivalencia de dos formulaciones de imatinib 400 mg. Como se muestra en la figura 1, se presentan curvas de la representación gráfica de las medias de las concentraciones plasmáticas versus el tiempo, estas son superponibles. Por otra parte, las medias de ABC_{0-inf} , ABC_{0-t} y $C_{m\acute{a}x}$ no fueron significativamente diferentes y los intervalos de confianza del 90% de las proporciones (prueba/referencia) están dentro de los márgenes establecidos por las entidades reguladoras (tabla 2). Por lo tanto, de acuerdo con los requisitos de la FDA para solicitar la bioequivalencia, estas dos formulaciones de imatinib cumplen la reglamentación para los criterios medidos de ABC_{0-inf} , ABC_{0-t} y $C_{m\acute{a}x}$.

Los valores de $C_{m\acute{a}x}$ [media (desviación estándar)] encontrados por Nikolova y colaboradores, 1606 (647) ng/ml, y por Jawhari y colaboradores, 1760 ng/ml test y 1779 ng/ml, fueron similares a la concentración hallada en este estudio, $C_{m\acute{a}x}$ referencia 1435 (551) ng/ml.

Los valores para AUC [media (desviación estándar)] $_{0-inf}$ h*ng/ml encontrados en los artículos Nikolova y colaboradores¹⁶ fueron (SD) 25.464 (11.246) h*ng/ml, y Jawhari y colaboradores²⁸, AUC_{0-inf} 31.912 h*ng/ml test y 32.270 h*ng/ml referencia, lo que es similar a la concentración hallada en este estudio, AUC_{0-inf}

referencia 20.816 (8.517) h*ng/ml y prueba 21.296 (8.355) h*ng/ml.

El de Nikolova y colaboradores¹⁶ corresponde a un ensayo abierto de un solo centro, aleatorizado, cruzado, en el que se les administró 400 mg de imatinib a 33 voluntarios sanos como única dosis, en forma de comprimido recubierto con película de seguridad; el muestreo se realizó hasta las 96 horas después de la administración de la dosis única.

El de Jawhari y colaboradores²⁸ es un ensayo abierto de un solo centro, aleatorizado, cruzado completo, en 22 voluntarios sanos, de los que se retiró 1, quedando 21; a ellos se les administró 400 mg de imatinib en tableta. El muestreo se llevó a cabo hasta las 72 horas luego de la administración de la dosis única.

El tiempo de muestreo usado para nuestro estudio fue de 48 horas y con ello logramos obtener el ABC_{0-t} superior al 80%, como lo sugiere la guía de la FDA⁶; esto se evidencia en la diferencia de ABC_{0-t} versus ABC_{0-inf} .

Los métodos analíticos usados por Nikolova y colaboradores¹⁶, y Jawhari y colaboradores²⁸ fueron HPLC masa/masas, y, en nuestro estudio, como en el de Parrillo-Campiglia¹⁹, se utilizó HPLC detector ultravioleta. El método cromatográfico empleado en el presente estudio es robusto, discriminativo, y mostró límites de detección de 15,5 ng/ml y límite inferior de cuantificación de 50 ng/ml; aunque algo mayor, corresponde a una validación de un método bioanalítico para la cuantificación de imatinib en suero humano, que presenta resultados satisfactorios y, por ello, se considera que el método es selectivo, exacto y preciso, y que posee un excelente porcentaje de recuperación. Igualmente, el imatinib demuestra buena estabilidad bajo las condiciones del laboratorio analítico e instrumental.

Por lo tanto, las diferencias, entre este estudio y los antes mencionados, en los resultados de las ABC pueden estar asociadas con problemas etnofarmacológicos. La población incluida en este análisis fue de origen mestizo, sin embargo, los hábitos alimenticios en Colombia son distintos de los de Europa. A pesar de que los participantes eran estrictamente controlados en cuanto a la dieta y a otros hábitos durante la fase clínica de la investigación, no fue posible el control más allá de ese intervalo de tiempo.

Es importante tener en cuenta que, debido al diseño de nuestro ensayo (es decir, aleatorizado, cruzado), las diferencias encontradas para imatinib en relación

con otros autores no afectan nuestras conclusiones de bioequivalencia de las formulaciones estudiadas.

Se debe tener precaución al interpretar los eventos adversos en este estudio, dadas las limitaciones del diseño. El efecto de los alimentos sobre la biodisponibilidad no se ha investigado en este análisis, no obstante, otros estudios^{14,15,18} de interacción con imatinib han demostrado que la absorción se ve mínimamente influida por los alimentos. Por último, como esta investigación incluyó a voluntarios sanos, se mantiene la incertidumbre teórica sobre la generalización de estos resultados en los pacientes.

Conclusiones

Basándose en los resultados estadísticos, se puede concluir que ambos productos estudiados, Glivec® (producto referencia) e Imatin® (producto prueba), cumplen con los requisitos regulatorios para denominarlos bioequivalentes. De acuerdo con lo anterior, el producto de prueba puede considerarse intercambiable con la referencia. Ambos medicamentos fueron bien tolerados y ambos pueden ser considerados igualmente eficaces e intercambiables en práctica médica basada en el efecto farmacocinético.

Referencias

1. Miura M, Takahashi N, Sawada K. Quantitative determination of imatinib in human plasma with high-performance liquid chromatography and ultraviolet detection. *J Chromatogr Sci.* 2011;49(5):412-5.
2. Hillberg P. Development of a quantitative chromatographic method for the determination of imatinib and its main metabolite in human plasma. Department of Physics, Chemistry and Biology, Linköping University; 2009.
3. Roth O, Spreux-Varoquaux O, Bouchet S, Rousselot P, Castaigne S, Rigaudeau S, et al. Imatinib assay by HPLC with photodiode-array UV detection in plasma from patients with chronic myeloid leukemia: Comparison with LC-MS/MS. *Clin Chim Acta.* 2010;411(3-4):140-6.
4. Golabchifar AA, Rouini MR, Shafaghi B, Rezaee S, Foroumadi A, Khoshayand MR. Optimization of the simultaneous determination of imatinib and its major metabolite, CGP74588, in human plasma by a rapid HPLC method using D-optimal experimental design. *Talanta.* 2011;85(5):2320-9.
5. Davies A, Hayes AK, Knight K, Watmough SJ, Pirmohamed M, Clark RE. Simultaneous determination of nilotinib, imatinib and its main metabolite (CGP-74588) in human plasma by ultra-violet high performance liquid chromatography. *Leuk Res.* 2010;34(6):702-7.
6. Food and Drugs Administration. Guidance for industry statistical approaches to establishing bioequivalence. 2009.
7. Harrison TR. Oncología y hematología. Principios de medicina interna. Chile: McGraw-Hill Interamericana; 2006.
8. Food and Drug Administration. Guidance for industry. Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products. General considerations. 2010.
9. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. London; 2001.
10. Guía de biodisponibilidad y de bioequivalencia de medicamentos del 2001. Resolución 1400 (24 de agosto del 2001).
11. Normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud de 1993. Resolución 8430 (4 de octubre de 1993).
12. Establece la obligatoriedad de implementar el correspondiente programa de farmacovigilancia para todos los titulares de registro sanitario de medicamentos y productos fitoterapéuticos del 2004. Resolución 9455 (28 de mayo del 2004).
13. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos 2000. 52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, octubre del 2000).
14. Gschwind HP, Pfaar U, Waldmeier F, Zollinger M, Sayer C, Zbinden P, et al. Metabolism and disposition of imatinib mesylate in healthy volunteers. *Drug Metab Dispos.* 2005;33(10):1503-12.
15. Peng B, Dutreix C, Mehring G, Hayes MJ, Ben-Am M, Seiberling M, et al. Absolute bioavailability of imatinib (Glivec) orally versus intravenous infusion. *J Clin Pharmacol.* 2004;44(2):158-62.
16. Nikolova Z, Peng B, Hubert M, Sieberling M, Keller U, HO YY, et al. Bioequivalence, safety, and tolerability of imatinib tablets compared with capsules. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2004;53(5):433-8.
17. Dutreix C, Peng B, Mehring G, Hayes M, Capdeville R, Pokorny R, et al. Pharmacokinetic interaction between ketoconazole and imatinib mesylate (Glivec) in healthy subjects. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2004;54(4):290-4.
18. Bolton AE, Peng B, Hubert M, Krebs-Brown A, Capdeville R, Keller U, et al. Effect of rifampicin on the pharmacokinetics of imatinib mesylate (Gleevec, STI571) in healthy subjects. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2004;53(2):102-6.
19. Parrillo-Campiglia S, Ercoli MC, Umpierrez O, Rodríguez P, Márquez S, Guarneri C, et al. Bioequivalence of two film-coated tablets of imatinib mesylate 400 mg: a randomized, open-label, single-dose, fasting, two-period, two-sequence crossover comparison in healthy male South American volunteers. *Clin Ther.* 2009;31(10):2224-32.
20. Queckenberg C, Fuhr U. Influence of posture on pharmacokinetics. *Eur J Clin Pharmacol.* 2009;65(2):109-19.
21. D'Avolio A, Simiele M, De Francia S, Ariaudo A, Baietto L, Cusato J, et al. HPLC-MS method for the simultaneous quantification of the antileukemia drugs imatinib, dasatinib and nilotinib in human peripheral blood mononuclear cell (PBMC). *J Pharm Biomed Anal.* 2012;59:109-16.

22. Velpandian T, Mathur R, Agarwal NK, Arora B, Kumar L, Gupta SK. Development and validation of a simple liquid chromatographic method with ultraviolet detection for the determination of imatinib in biological samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004;804(2):431-4.
23. Widmer N, Béguin A, Rochat B, Buclin T, Kovacsovic T, Duchosal MA, et al. Determination of imatinib (Gleevec) in human plasma by solid-phase extraction-liquid chromatography-ultraviolet absorbance detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004;803(2):285-92.
24. Awidi A, Salem II, Najib N, Mefleh R, Tarawneh B. Determination of imatinib plasma levels in patients with chronic myeloid leukemia by high performance liquid chromatography-ultraviolet detection and liquid chromatography-tandem mass spectrometry: methods' comparison. *Leuk Res.* 2010;34(6):714-7.
25. Tan KL, Ankathil R, Gan SH. Method development and validation for the simultaneous determination of imatinib mesylate and N-desmethyl imatinib using rapid resolution high performance liquid chromatography coupled with UV-detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2011;879(30):3583-91.
26. Martins DH, Wagner SC, Dos Santos TV, Lizot Lde L, Antunes MV, Capra M, et al. Monitoring imatinib plasma concentrations in chronic myeloid leukemia. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2011;33(4):302-6.
27. Wagner JG. *Biopharmaceutics and relevant pharmacokinetics.* 1st ed. Hamilton, IL: Drug Intelligence Publications; 1971. p. 12, 17.
28. Jawhari D, Al Swisi M, Ghannam M. Bioavailability of a new generic formulation of imatinib mesylate 400 mg tablets versus Glivec in healthy male adult volunteers. *J Bioequiv Availab.* 2011;3:161-4.