

## TRABAJOS ORIGINALES ORIGINAL WORKS

# Evaluación biofarmacéutica de cuatro preparados comerciales de lidocaína-epinefrina, para anestesia local

*The biopharmaceutical evaluation of four commercial preparations of lidocain-epinephrine for use as local anaesthetic*

RESTREPO P<sup>1</sup>, RESTREPO M<sup>2</sup> Y HERNÁNDEZ D<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Química Farmacéutica, MsC, Farmacología. Profesora Titular Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín, AA 1226. Colombia. [drojasb@epm.net.co](mailto:drojasb@epm.net.co)

<sup>2</sup> Química Farmacéutica, MsC. Ciencias Básicas Biomédicas. Profesora Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín, AA 1226. Colombia. [mmrg@epm.net.co](mailto:mmrg@epm.net.co)

<sup>3</sup> Doctor en Medicina. Especialista en Medicina Física y Rehabilitación. Profesor Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia. Medellín, AA 1226. Colombia.

### RESUMEN

Los ensayos *in vivo* en humanos, para establecer biodisponibilidad y bioequivalencia de un producto, incluyen aquellos en los cuales el efecto fisiológico apropiado puede ser medido en función del tiempo, siempre y cuando sean aplicadas técnicas de evaluación validadas estadísticamente para seguridad, sensibilidad y reproducibilidad. Específicamente, se señalan como alternativas de valoración importantes, las referidas a productos de acción local con base en la efectividad clínica y la toxicidad.

En el presente trabajo se aplicaron conceptos farmacodinámicos para establecer la Bioequivalencia relativa entre cuatro preparados comerciales de lidocaina clorhidrato más epinefrina, utilizados como anestésicos locales en odontología y otras especialidades médicas, con marcadas diferencias entre ellos en cuanto al precio comercial. Las propiedades farmacodinámicas se basaron en el efecto sobre la sensibilidad dolorosa y el comienzo de acción. Los parámetros valorados fueron el efecto máximo alcanzado ( $E_{m\acute{a}x}$ ) - amplitud de la conducción -, Tiempo para el efecto máximo ( $T_{em\acute{a}x}$ ) y el área bajo la curva de efecto vs tiempo (AUCE).

Los productos fueron codificados como A, B, C, y D y se sometieron a los análisis fisicoquímicos requeridos según la farmacopea oficial en Colombia (USP), para establecer la equivalencia farmacéutica entre ellos. Los análisis estadísticos, aplicados a los datos de promedios de amplitud de la conducción y a las áreas bajo la curva, empleando el método de medidas repetidas para el primer caso y de bloques aleatorizados en el segundo, no mostraron diferencias significativas entre los cuatro productos, representados en el nivel de significancia, pudiéndose establecer bioequivalencia entre ellos, para el efecto anestésico local.

PALABRAS CLAVE: Bioequivalencia. Farmacodinamia. Anestesia Local. Lidocaína más Epinefrina.

### ABSTRACT

*In vivo tests on humans, to establish the bioavailability and bioequivalence of a product, include those in which the appropriate physiological effect may be measured throughout a determined period of time. Such tests may be carried out providing that statistically validated evaluation techniques are applied to ensure safety, sensitivity and reproducibility. The so-called local action products based on clinical effectiveness and toxicity are specifically indicated, as important evaluation alternatives.*

*In the present work, pharmacodynamic concepts have been applied, in order to establish the relative Bioequivalence of four commercial preparations of lidocaine hydrochloride and epinephrine, used as local anaesthetic in dentistry and other medical specialisations. Substantial differences in the retail price of the preparations were found to exist. The determination of pharmacodynamic properties was based on their effects on sensitivity to pain and the time lapse*

*required for them to produce an effect. The parameters evaluated were; maximum effect achieved ( $E_{max}$ ) - conduction amplitude - Time required for maximum effect ( $T_{ema}$ ) and the area under time vs effect curve (AUCe).*

*The products were codified as A, B, C, & D and were subjected to the required physicochemical analyses in accordance with the official Colombian pharmacopoeia (USP), in order to establish the pharmaceutical equivalence between them. The statistical analyses, applied to the data on average conduction amplitude and to the areas under the curve, using the method of repeated measurements in the former and randomised blocks in the latter, did not show significant differences among the four products, shown as the level of significance, enabling the bioequivalence to be established among them for their effect as local anaesthetic.*

KEY WORDS: Bioequivalence. Pharmacodynamics. Local Anaesthetic. Lidocain with Epinephrine.

## INTRODUCCIÓN

El concepto de calidad de un medicamento incluye la garantía de la liberación del principio activo en el sitio de acción en cantidad y con velocidad suficientes para permitir su eficacia terapéutica. En la década de los 60's Gerhard y Levy<sup>1</sup>, entre otros autores, publicaron trabajos donde se comparaba el comportamiento de diferentes preparados comerciales de medicamentos en forma sólida, con base en la cantidad y la velocidad de absorción de un principio activo común para todos. Los resultados evidenciaron diferencias significativas que fundamentaron los requerimientos regulatorios sobre biodisponibilidad y bioequivalencia de autoridades sanitarias estatales, como la Food and Drugs Administration (FDA, de los Estados Unidos de Norteamérica), y aparecen como tales desde 1962<sup>2</sup>.

La biodisponibilidad y la Bioequivalencia, propiedades de la calidad de los medicamentos, han sido definidas respectivamente como: la velocidad y extensión de la absorción de un principio terapéuticamente activo que alcanza la circulación general y la similitud de la biodisponibilidad entre dos o más productos, que contengan el mismo principio activo, cuando se administran en dosis equimolares y se estudian bajo las mismas condiciones experimentales. Frecuentemente se han utilizado como parámetros básicos para su determinación las concentraciones sanguíneas del principio activo alcanzadas después de la administración de los medicamentos; en los últimos años, se han desarrollado métodos que permiten las evaluaciones con base en las propiedades farmacodinámicas, esto es, según la intensidad o velocidad de aparición del efecto terapéutico.

Hoy día, se consideran aceptables los ensayos in vivo en humanos, en los cuales el efecto fisiológico apropiado puede ser medido en función del tiempo, siempre y cuando se apliquen técnicas validadas estadísticamente en cuanto a

## INTRODUCTION

The concept of quality in medicines includes the guarantee that its active principle is released within the area of action required, in the sufficient quantity and at the sufficient velocity to permit its therapeutic effectiveness. In the decade of the 1960's, Gerhard & Levy<sup>1</sup> among other authors, published papers which compared the behaviour of different preparations of commercial medicines in solid form, based on quantities and absorption velocities of an active principle common to all of them. The results showed significant differences and served as a basis from which the regulations on bioavailability and bioequivalence could be established by state health authorities, such as the Food and Drug Administration (FDA, United States of America). These regulations have appeared as such since 1962<sup>2</sup>.

The quality indicators of medicines Bioavailability and Bioequivalence, have been defined respectively as follows: The velocity and extension of the absorption of a therapeutically active principle which reaches the general circulation and the similarity of the bioavailability between two or more products, that contain the same active principle, when they are administered in equimolar doses and are studied under the same experimental conditions. Frequently, the determination of blood concentrations of the active principle present after the administration of a medicine has been used as a basic parameter. In more recent years, methods have been developed to enable evaluations to be made on the basis of pharmacodynamic properties, that is to say, the intensity or velocity at which the therapeutic effect appears.

Nowadays, in vivo tests on humans are considered as acceptable, in which the appropriate physiological effect can be measured in terms of time, providing that the statistically validated techniques with regard to safety, sensitivity and reproducibility are applied. Furthermore, contro-

seguridad, sensibilidad y reproducibilidad. Además, se aceptan ensayos clínicos controlados para comparar la efectividad de medicamentos con uno de referencia<sup>3</sup>. Específicamente se señala el establecimiento de la bioequivalencia de los productos de acción local con base en la efectividad clínica y la toxicidad<sup>4</sup>.

Por lo anterior, la valoración de las propiedades farmacodinámicas de los anestésicos locales pueden ser parámetros suficientes para determinar si dos o más productos, que contienen el mismo principio activo, son bioequivalentes según los resultados obtenidos con cada uno en cuanto al efecto máximo alcanzado ( $E_{\text{máx}}$ ), Tiempo para el efecto máximo ( $T_{\text{máx}}$ ) y el área bajo la curva de efecto vs tiempo (AUCE).

Las propiedades farmacodinámicas de los anestésicos locales se basan en el efecto sobre la sensibilidad dolorosa, el cual está determinado por:<sup>5</sup> el tamaño y tipo anatómico de las fibras que componen el nervio, el sitio de administración, flujo sanguíneo y vascularización, técnica para administrarlo, dosis administrada –volumen y concentración–, pH del sitio de inyección, características fisicoquímicas del anestésico –liposolubilidad, tamaño molecular, pKa– y características del sujeto. El control de las variables descritas permite la comparación entre los productos.

Cuando la lidocaína se utiliza con epinefrina como vasoconstrictor –que es la forma más usual de uso en odontología–, con el fin de retardar su absorción sanguínea, se prolonga el período de anestesia y se disminuye el riesgo de toxicidad<sup>6</sup>. Sin embargo, la inestabilidad de la epinefrina por exposición a la luz y al aire, es una característica importante a tener en cuenta en los medicamentos que contienen esta asociación, y un elemento adicional para justificar la evaluación de la eficacia de los productos.

En el presente trabajo se aplicaron los conceptos farmacodinámicos enunciados para establecer la Bioequivalencia relativa entre cuatro preparados comerciales de lidocaina clorhidrato más epinefrina, los que son utilizados para anestesia local en odontología y otras especialidades clínicas. Entre estos productos se presentan enormes diferencias en cuanto al valor comercial, sin aparente justificación, de acuerdo a las evaluaciones de calidad por métodos fisicoquímicos realizados, según lo descrito en la farmacopea oficial en Colombia (USP)<sup>7</sup>.

lled clinical tests have been accepted as a means of comparing the effectiveness of medicines against another medicine as reference<sup>3</sup>. The establishment of bioequivalence of products for local action, as a basis for the determination of clinical effectiveness and toxicity<sup>4</sup>, has already been specifically mentioned<sup>4</sup>.

From what has already been stated, the evaluation of the pharmacodynamic properties of local anaesthetics may provide sufficient parameters to determine whether two or more products, that contain the same active principle, are bioequivalent according to the results obtained from each one with regard to maximum effect reached ( $E_{\text{máx}}$ ), time lapse required to obtain maximum effect ( $T_{\text{máx}}$ ) and the area under time vs effect curve (AUCE).

The pharmacodynamic properties of local anaesthetics are based on their effect on sensitivity to pain. This is determined by the size and anatomical type of the fibres that make up the nerve, the area of administration, blood flow, and vascularisation, the administration technique used, the dosage administered –volume and concentration–, pH of the injection area, physicochemical characteristics of the anaesthetic –liposolubility, molecular size, pKa– and the characteristics of the subject. The control of the variables described will permit comparisons to be made among the products.

When lidocain is used with epinephrine as a vasoconstrictive preparation –its most commonly used application in dentistry– as a means of retarding blood absorption, the time period for which the anaesthetic is effective is prolonged and the risk of toxicity is reduced<sup>6</sup>. However, the instability of epinephrine after exposure to light and air is an important characteristic to be taken into account in medicines that contain this association, and represents an additional factor in the justification of the evaluation of the efficacy of products.

In the present work, three stated pharmacodynamic concepts were applied to establish the relative bioequivalence of four commercial preparations of lidocain hydrochloride and epinephrine used as a local anaesthetic in dentistry and in other clinical applications. In the comparison of these four products, enormous differences in price were found to exist. However, in the quality evaluations carried out using the methods described in the official Colombian pharmaco-

Para establecer Bioequivalencia entre los productos se valoró su eficacia terapéutica en 20 voluntarios sanos y según técnica descrita por Löfstrom JB<sup>8</sup> a partir del bloqueo del nervio ulnar, rama dorsal, debajo del tendón del músculo ulnar anterior.

## METODOS

El estudio se llevó a cabo en veinte voluntarios sanos del género masculino, con edades comprendidas entre 19 y 31 años. Previo a la prueba cada voluntario firmó un Acta de Consentimiento para su participación, según lo prescrito por el Comité de Ética, del Centro de Investigaciones Médicas de la Universidad.

El diseño realizado fue doble ciego, en bloques completamente aleatorizados, en el cual cada producto fue probado en cada uno de los individuos. La asignación del producto a ensayar en cada sesión fue hecha al azar. Se tomaron medidas repetidas en el tiempo y sus resultados se sometieron al análisis de varianza de un factor con cuatro niveles y a la prueba F, para comparar la variabilidad entre tratamientos y la variabilidad experimental. Para el manejo de los datos se utilizó el programa STATISTICA®, VERSIÓN 5.0, con un nivel de significancia del 5% en las diferentes pruebas.

Como anestésicos se utilizaron cuatro presentaciones comerciales de Lidocaína al 2% con epinefrina 1:80.000 para uso odontológico, en carpules de 1,8 ml.

Para comparar la eficacia terapéutica de las presentaciones farmacéuticas que contienen lidocaína al 2% con epinefrina, se tomó como indicador del efecto anestésico local, la disminución de la amplitud de la conducción nerviosa después de administrar una dosis fija del anestésico cerca al nervio ulnar en el extremo distal de los dos antebrazos de cada voluntario.

La respuesta sensitiva, relacionada con el bloqueo de la conducción nerviosa, fue evaluada en el nervio ulnar y captada en el dedo meñique mediante electrodos desechables (Teca NCS Electrode System 2000 Catalog # 2025). El nervio ulnar se localizó a veinte centímetros, proximal al electrodo activo de captación (cátodo).

La localización del nervio se hizo mediante estimulación transcutánea y luego mediante una aguja # 26 gauge para inyección de toxina botu-

poeia (USP)<sup>7</sup> no apparent justification for such differences was found to exist.

In order to establish the Bioequivalence among the products its effectiveness was evaluated in 20 healthy volunteers, in accordance with the technique described by Löfstrom JB<sup>8</sup> from the blockage of the ulnar nerve, under the dorsal branch below the tendon of the anterior ulnar muscle.

## METHODS

The study was carried out in twenty healthy male volunteers of the ages of between 19 and 31 years of age. Prior to the test, each volunteer signed a form consenting to their participation, in accordance to that prescribed by the Ethics committee at the Medical Research Centre of the University.

The test carried out was of a double blind type, in completely randomised blocks, in which each product was tested on each of the individuals. The assignment of the product to be tested in each session was carried out at random. Repeated measurements in time were taken and the results were subjected to both one factor variance analysis with four levels and to the F test, in order to compare the variability between treatments, as well as experimental variability. In the handling of the data, the STATISTICA® program, VERSION 5.0 was used in the different tests with a significance level of 5%.

Four commercial presentations of Lidocain at 2% and epinephrine 1:80.000 for odontological use were used in carpules of 1.8ml.

In order to compare the therapeutic effectiveness of the pharmaceutical presentations that contained lidocain at 2% and epinephrine, the reduction in the nerve conduction amplitude, after having administrated a fixed dose of anaesthetic near the ulnar nerve in the distal end of the forearms of each volunteer, was taken as an indicator of the effect of the local anaesthetic.

The sensitivity response, associated with the blockage of the nerve conduction, was evaluated in the ulnar nerve and gauged in the little finger with disposable electrodes (Teca NCS Electrode System 2000 Catalog # 2025). The ulnar nerve was located at twenty centimetres proximal to the active measuring electrode (cathode).

línica con cubierta de teflón, excepto en el extremo de transmisión del estímulo, con el propósito de que el estímulo solo llegara al nervio cuando estuviera cerca de él. El cable de la aguja se conectó a un estimulador que libera una onda cuadrada de 0.05, una vez cada segundo. La intensidad de la corriente se ajustó a 2 mA. La aguja se llevó hasta obtener la máxima respuesta en el músculo abductor del meñique y se retiró lentamente hasta que ésta desaparecía y nuevamente se acercaba hasta donde se comenzaba a observar la respuesta en la pantalla del electromiógrafo.

En el electromiógrafo se leyó la amplitud del potencial de acción en  $\mu\text{V}$  o mV y se calculó el tiempo que transcurrió entre el estímulo y la aparición de la respuesta o tiempo de latencia en milisegundos (mS), después del estímulo eléctrico. Las medidas se realizaron en condiciones basales de cada voluntario y posteriores a la aplicación del producto anestésico.

Los registros se obtuvieron durante dos horas de acuerdo al siguiente esquema: En los primeros 10 minutos después de administrado el anestésico cada dos minutos, luego cada minuto hasta 30 minutos, después a los 45, 75, 105 y 120 minutos respectivamente.

## MATERIALES Y EQUIPOS

- Muestras comerciales de los productos de Lidocaína al 2% con Epinefrina 1:80.000. Presentación en Cárpules, caja x 50. Cada producto se identificó, de acuerdo a un código previamente establecido, como A, B, C y D.
- Aguja BOTOX®
- Aguja y Jeringa para insulina
- Electrodo de estimulación y de captación de acero inoxidable, para electromiógrafo TOENNIS®
- Electromiógrafo TOENNIS®, con las siguientes especificaciones:
  - Sensibilidad: 20  $\mu\text{V}$
  - Intensidad del estímulo: Supramáximo de 0 a 30 mA
  - Frecuencia del estímulo: 0.1 ms
  - Rango de respuesta: 10 Hz – 2 KHz

The localisation of the nerve was carried out through transcutaneous stimulation. Subsequently a # 26 gauge needle with a teflon covering, except at the transmission end of the stimulus, was used to inject botulinic toxin in such a way, so as to ensure that the stimulus would only reach the nerve when it was near to it. The needle cable was connected to a stimulator, which released a square wave of 0.05, at a rate of one per second. The intensity of the current was adjusted to 2 mA. The needle was introduced until the maximum response in the abductor muscle of the little finger was obtained and was withdrawn slowly until it had disappeared. Subsequently, it was introduced once again to the point where the response on the electromyograph screen had first been observed.

In the electromyograph, the action potential amplitude in  $\mu\text{V}$  or mV was recorded and the time delay or latency time from the stimulus to the appearance of the response was calculated in milli-seconds (mS), after electric stimulus. The measurements were carried out for each volunteer in basal conditions after the administration of the anaesthetic product.

The recordings were obtained over a two hour period in accordance with the following time schedule: Throughout the first 10 minutes after the administration of the anaesthetic, every two minutes. Subsequently, every minute throughout the following 30 minutes, and then at 45, 75, 105 and 120 minutes respectively.

## MATERIALS AND EQUIPMENT

- Commercial samples of Lidocain products at 2% with Epinephrine 1:80.000. Presentation in Carpules, box of 50. Each product was identified through a previously established code expressed as A,B,C & D.
- BOTOX® Needles
- Needles and syringes for insulin
- Stimulus and measuring electrodes of stainless steel, for the electromyograph TOENNIS®
- TOENNIS® Electromyograph with the following specifications:
  - Sensitivity: 20  $\mu\text{V}$
  - Intensity of the stimulus: Supramaximum of 0 to 30 mA
  - Frequency of the stimulus: 0.1 ms
  - Range of response: 10 Hz – 2 KHz

## RESULTADOS

En los tiempos definidos en la metodología, para cada producto y en cada voluntario, se determinaron las medidas de amplitud ( $\mu\text{V}$ ) y periodo de latencia (ms). Los valores promedio, en todos los voluntarios, se describen para cada tiempo y con cada producto en la Tabla 1 y se grafican en la Figura 1. Los resultados del análisis de varianza se describen en la Tabla 2.

Los valores promedio de las determinaciones de la amplitud de la conducción nerviosa en cada tiempo, fueron utilizados para medir el área bajo la curva y Variación de la Amplitud vs Tiempo, correspondientes a cada producto comercial. El área fue medida según el método de los trapecios, en  $\mu\text{V} \times \text{min}$ . Tabla 3.

En la Tabla 4, se presentan los resultados del análisis de varianza correspondiente a las medidas de las áreas bajo la curva de Amplitud vs Tiempo de los productos A, B, C y D.

En la tabla 5, se describen los valores integrales entre 0 y 120 minutos de las áreas bajo la curva para cada producto en estudio.

Para determinar la constante de velocidad a la cual se disminuyó la conducción nerviosa ( $K_e$ ), se elaboraron gráficas con los valores correspondientes al logaritmo natural del valor promedio de la amplitud en cada tiempo, para cada producto. En cada caso se determinó la pendiente de la recta ( $m$ ), obtenida como constante de velocidad ( $K_e$ ), según la ecuación  $Y = Y_0 \cdot e^{mX}$ . Los resultados se describen en la Tabla 6.

## RESULTS

At the times previously defined in the methods, the values for amplitude ( $\mu\text{V}$ ) and latency times (ms) were determined for each product and volunteer. The average values for all of the volunteers are shown for each time and with each product in Table 1, and in graphic form in Figure 1. The results of the variance analysis are shown in Table 2.

The average values for the determination of nerve conduction amplitude at each time, were used to measure the area under the curve and the Amplitude time Variation that corresponded to each commercial product. The area was measured in accordance with the trapezium method in  $\mu\text{V} \times \text{min}$ . Table 3:

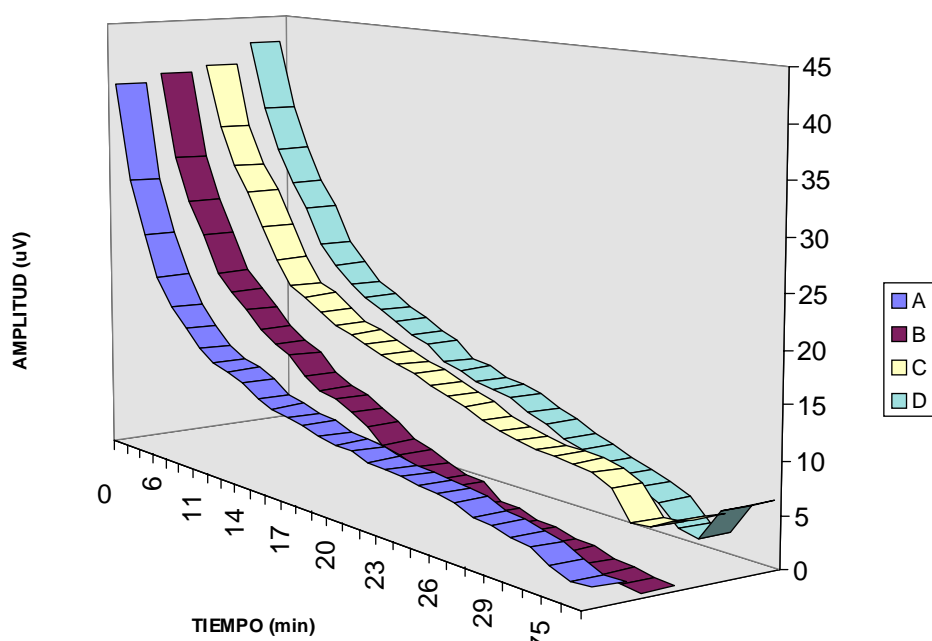
In Table 4, the results of the variance analysis corresponding to the measurements of the areas under the Amplitude vs Time curve are presented for products A, B, C & D.

In Table 5, the integral values between 0 & 120 minutes of the areas under the curve are described for each product studied.

In order to determine the velocity constant at which nerve conduction was reduced ( $K_e$ ), graphs were produced with values corresponding to the natural logarithm of the average value of amplitude at each time and for each product. In each case the slope of the straight line ( $m$ ) was determined, obtained as velocity constant ( $K_e$ ), in accordance with the equation  $Y = Y_0 \cdot e^{mX}$ . The results are described in Table 6.

**TABLA 1.** Valor promedio de la amplitud de la conducción nerviosa en los voluntarios, para cada tiempo con los productos A, B, C, D

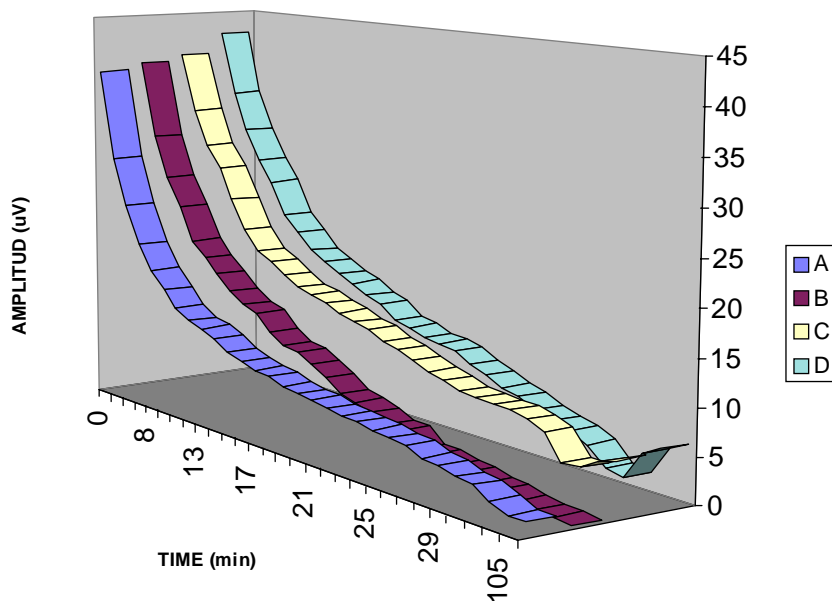
Tiempo (minutos)	A Promedio ( $\mu\text{V}$ )	B Promedio ( $\mu\text{V}$ )	C Promedio ( $\mu\text{V}$ )	D Promedio ( $\mu\text{V}$ )
0	38.60	39.33	40.04	42.36
2	28.49	30.60	33.54	35.23
4	23.1	26.08	29.54	31.05
6	18.97	22.85	27.09	27.63
8	16.07	19.15	23.65	25.28
11	14.22	17.52	20.42	21.71
11	12.5	15.97	18.05	19.8
12	11.45	14.39	17.32	18.03
13	11.01	13.25	16.01	17.12
14	10.24	12.60	15.04	16.08
15	9.21	10.92	14.58	15.37
16	8.67	9.81	13.99	14.34
17	8.16	9.44	13.35	13.77
18	7.93	8.63	12.69	12.36
19	7.34	7.64	12.30	11.96
20	7.07	6.35	11.47	11.27
21	6.92	5.83	11.00	10.99
22	6.38	5.18	10.39	10.66
23	6.16	4.45	9.49	9.67
24	6.02	4.33	9.03	9.04
25	5.76	3.04	8.48	8.03
26	5.49	2.90	8.18	7.55
27	5.28	2.34	8.09	6.72
28	4.50	2.26	7.98	6.07
29	4.36	1.70	7.60	5.53
30	3.80	1.62	6.74	4.63
45	3.50	1.12	4.13	2.72
75	2.49	0.85	4.23	2.46
105	1.75	0.62	5.39	5.45
120	1.78	0.49	6.09	6.52

**FIGURA 1.** Promedio de la amplitud de la conducción nerviosa para los cuatro productos, en los 120 minutos

**TABLE 1.** Average value of nerve conduction amplitude in volunteers at each time for products A, B, C & D

Time (minutes)	Average (μV)	Average (μV)	Average (μV)	Average (μV)
	A	B	C	D
0	38.60	39.33	40.04	42.36
2	28.49	30.60	33.54	35.23
4	23.1	26.08	29.54	31.05
6	18.97	22.85	27.09	27.63
8	16.07	19.15	23.65	25.28
11	14.22	17.52	20.42	21.71
11	12.5	15.97	18.05	19.8
12	11.45	14.39	17.32	18.03
13	11.01	13.25	16.01	17.12
14	10.24	12.60	15.04	16.08
15	9.21	10.92	14.58	15.37
16	8.67	9.81	13.99	14.34
17	8.16	9.44	13.35	13.77
18	7.93	8.63	12.69	12.36
19	7.34	7.64	12.30	11.96
20	7.07	6.35	11.47	11.27
21	6.92	5.83	11.00	10.99
22	6.38	5.18	10.39	10.66
23	6.16	4.45	9.49	9.67
24	6.02	4.33	9.03	9.04
25	5.76	3.04	8.48	8.03
26	5.49	2.90	8.18	7.55
27	5.28	2.34	8.09	6.72
28	4.50	2.26	7.98	6.07
29	4.36	1.70	7.60	5.53
30	3.80	1.62	6.74	4.63
45	3.50	1.12	4.13	2.72
75	2.49	0.85	4.23	2.46
105	1.75	0.62	5.39	5.45
120	1.78	0.49	6.09	6.52

**FIGURE 1.** Average nerve conduction amplitude for the four products, over a time period of 120 minutes





**TABLA 2.** Análisis de varianza de medidas repetidas, de la amplitud de la conducción nerviosa en los 20 voluntarios y en los 120 minutos

Fuente de variación	Grados de libertad del efecto	Media cuadrática del efecto	Grados de libertad del error	Media cuadrática del error	Cociente F	Nivel de Significan p
Producto	3	3266.335	57	2095.37	1.5588	<b>0.2093</b>
Tiempo	29	6644.650	551	51.098	130.036	0.00000
Interacción	87	29.492	1653	25.184	1.1699	0.1403

**TABLE 2.** Variance analysis of repeated measurements of nerve conduction amplitude in 20 volunteers over the 120 minute test period

Variation source	Degree of liberation of effect	Average Squared effect	Degree of liberation of effect	Average squared error	Quotient F	Significance level p
Product	3	3266.335	57	2095.37	1.5588	<b>0.2093</b>
Time	29	6644.650	551	51.098	130.036	0.00000
Interaction	87	29.492	1653	25.184	1.1699	0.1403

**TABLA 3.** Áreas bajo la curva de amplitud vs. tiempo, de los valores promedios de conducción nerviosa vs tiempo en los voluntarios con los productos A, B, C, D

Producto	A		B		C		D	
Método	Trapezio	Integral	Trapezio	Integral	Trapezio	Integral	Trapezio	Integral
Áreas $\mu\text{V} \times \text{min}$	615.21	616.00	485.28	486.87	608.24	611.04	650.14	675.54

**TABLE 3.** Areas under the amplitude vs. time curve of the average values for nerve conduction vs. time in volunteers for products A, B, C & D

Product	A		B		C		D	
Method	Trapezium	Integral	Trapezium	Integral	Trapezium	Integral	Trapezium	Integral
Areas $\mu\text{V} \times \text{min}$	615.21	616.00	485.28	486.87	608.24	611.04	650.14	675.54

**TABLA 4.** Análisis de varianza de las áreas bajo la curva de amplitud de la conducción nerviosa vs tiempo, en los 20 voluntarios

Fuente de variación	Grados de libertad del efecto	Media cuadrática del efecto	Grados de libertad del error	Media cuadrática del error	Cociente F	Nivel de Significan p
Producto	3	150058.7	57	300629.8	0.4991	<b>0.6843</b>
Sujetos	19	760210.4	57	300629.8	2.528	0.0036

**TABLE 4.** Variance analysis of the areas under the curve of nerve conduction amplitude vs. time in 20 volunteers

Variation source	Degree of liberty of the effect	Average Squared effect	Degree of liberty of error	Average squared error	Quotient F	Significance level p
Product	3	150058.7	57	300629.8	0.4991	<b>0.6843</b>
Subjects	19	760210.4	57	300629.8	2.528	0.0036

**TABLA 5.** Relaciones de las áreas bajo la curva, de la amplitud de la conducción nerviosa vs tiempo, para los productos A, B y D con respecto al producto C

Producto	A	B	C	D
Relación	100.81%	79.67%	100%	110.56%

**TABLE 5.** Comparison of the areas under the curve of nerve conduction amplitude vs. time among the products tested products A, B & D compared with product C

Product	A	B	C	D
Relative value	100.81%	79.67%	100%	110.56%

**TABLA 6.** Constantes de velocidad de bloqueo nervioso en los voluntarios, para los cuatro productos

Producto	A	B	C	D
Constante (Ke) (min <sup>-1</sup> )	0.068	0.105	0.057	0.067

**TABLE 6.** Velocity constants of nerve blockage in volunteers for the four products tested

Product	A	B	C	D
Constant (Ke) (min <sup>-1</sup> )	0.068	0.105	0.057	0.067

## DISCUSIÓN

- En los resultados descritos en la Tabla 1, se observa que para el tiempo 0, los valores promedio de la amplitud de la conducción en los voluntarios no muestran diferencias significativas (ningún caso muestra una diferencia mayor de 4  $\mu\text{V}$ ), esto explica que las condiciones basales presentan un comportamiento similar en todos los individuos, al momento de estudiar cada producto. Por lo tanto, a partir del momento de la administración de los medicamentos, se espera que las variaciones que se presenten sean secundarias al efecto de estos y las diferencias entre ellas, sean debidas a las diferencias en la eficacia de los mismos.
- Algunos voluntarios mostraron respuestas diferentes a la mayoría con determinados productos y en tiempos definidos, demostrándose la variabilidad biológica. Ejemplo de ello ocurrió con el voluntario 5 y el producto C. este voluntario recuperó la sensibilidad durante el tiempo de prueba. De igual forma, se presentó la excepción en el comportamiento

## DISCUSSION

- In the results described in Table 1, it can be observed that at zero time, the average values of conduction amplitude in the volunteers did not show significant differences (no case gave a greater difference than 4  $\mu\text{V}$ ). This reveals that the basal conditions present a similar behaviour in all individuals on commencement of the study for each product. Therefore, from the moment that the medicines are administered, the variations found should be secondary effects and the differences among them should be attributable to the differences in efficacy among them.
- Some volunteers showed different responses to the majority, to determined products, and at determined times, thus showing a biological variability. Such a case was observed to occur with volunteer number 5 and product C, where this volunteer regained sensitivity during the test time. Equally, an exception in the behaviour of volunteer 16 was observed with products C and D, who regained conduction during the test period.

- del voluntario 16 con los productos C y D, cuando recuperó la conducción, durante el periodo de prueba.
- Los análisis estadísticos aplicados a los datos de promedios de amplitud de la conducción nerviosa para cada tiempo y a los cálculos de áreas bajo la curva, para comparar los cuatro productos empleando el método de medidas repetidas para el primer caso y de bloques aleatorizados en el segundo, no mostraron diferencias significativas entre los cuatro productos, representados en el nivel de significancia, para el efecto anestésico. Tabla 2 Y Tabla 4
  - En el análisis comparativo de las áreas bajo la curva de conducción nerviosa vs tiempo, de los productos A, B y D con respecto a C, el producto B presentó un valor cercano al límite inferior de aceptación, para establecer Bioequivalencia. Tabla 3
  - Los valores de las áreas bajo la curva, en los cuatro productos comerciales en estudio, se encontraron entre los límites de diferencias aceptables, lo que es apoyado a su vez por los datos de velocidad de bloqueo nervioso: Tabla 5 y Tabla 6  

$$80 \% < \Phi < 120\%.$$
  - El producto D, presentó una relación mayor, al 100% con respecto al área bajo la curva del estándar C, lo que se relaciona con la mayor cantidad de principio activo por unidad de volumen con respecto a éste último, detectado en los análisis fisicoquímicos previos realizados a los productos.
  - La comparación de las áreas bajo la curva de los productos A, B, y D, con relación al producto seleccionado como estándar C, para todos los voluntarios, se encontraron entre los límites de Bioequivalencia.
  - Todos los productos mostraron respuestas consistentes durante el tiempo de evaluación, lo que ratifica el valor de esta metodología para evaluar las propiedades farmacodinámicas de los anestésicos locales como indicadores de Bioequivalencia entre productos comerciales que los contengan. Figura 1
- The statistical analysis applied to the average nerve conduction amplitude values at each time and to the calculation of the areas under the curve, used to compare the four products through the repeated measurements method in the first case and randomised blocks in the second, did not show significant differences among the four products, represented at significance level for anaesthetic effect. Table 2 & Table 4
  - In the comparative analysis of the areas under the nerve conduction curve vs. time of products A, B and D with respect to C, product B presented a value close to the lower limit of acceptance, in order to establish Bioequivalence. Table 3
  - The values of the areas under the curve, in the four commercial products under study, were found to fall within acceptable limits of difference. This was supported at the same time by the data for the blockage of nerve velocity. Table 5 & Table 6  

$$80 \% < \Phi < 120\%.$$
  - Product D, presented a greater relationship, at 100% with respect to the area under the curve of the standard C. This is associated with a higher quantity of active principle per unit volume with respect to the latter, detected in the physicochemical analyses that were previously carried out on the products.
  - The comparison of the areas under the curve of products A, B & D, with respect to product C selected as standard, were found to fall within the limits of Bioequivalence for all volunteers.
  - All of the products showed consistent responses during evaluation time, and consequently, ratify the validity of the methodology for the evaluation of the pharmacodynamic properties of the local anaesthetics as indicators of Bioequivalence, among the commercial products that contain them. Figure 1

## CONCLUSIONES

- El estudio farmacodinámico, para establecer Bioequivalencia entre productos comerciales

## CONCLUSIONS

- The pharmacodynamic study used to establish Bioequivalence among commercial products of lidocain with epinephrine, based on the assessment of nerve blockage efficacy in healthy volunteers is a good alternative to the measurements of concentration of active principle

- de lidocaína más epinefrina, con base en la medida de la eficacia del bloqueo nervioso en voluntarios sanos, es una buena alternativa a las medidas de concentración del principio activo en un fluido biológico, especialmente en este tipo de productos de los cuales no se espera un efecto sistémico, como medida de su eficacia farmacológica.
- Los equipos, materiales y registros utilizados para este estudio, son de amplio uso en clínica para los análisis diagnósticos electromiográficos, con sensibilidad y reproducibilidad aceptables; por tanto, las pruebas, con base en este tipo de técnicas, para la evaluación de la calidad de medicamentos anestésicos locales, orientadas a la demostración de Biodisponibilidad y Bioequivalencia, pueden llevarse a cabo con costos racionales y asequibles, y mínimos riesgos para los voluntarios participantes, comparados con los requerimientos para el desarrollo y validación de técnicas analíticas de alta complejidad, en cuanto a recurso humano, tiempo, equipos, materiales, riesgo ambiental y reactivos.
  - La valoración de la Biodisponibilidad o la Bioequivalencia de los anestésicos locales disponibles en el mercado, mediante una técnica validada y de fácil aplicación, como la presentada en este estudio, facilita la toma de decisiones durante el proceso de selección y adquisición de medicamentos en los servicios farmacéuticos institucionales y demás entidades encargadas del suministro de los mismos.
  - Es indispensable avanzar en el desarrollo y validación de técnicas farmacodinámicas, basadas en la medida de eficacia farmacológica y terapéutica de los medicamentos, para proveer a los organismos estatales y a los servicios farmacéuticos institucionales de herramientas útiles en la definición y el aseguramiento de la calidad de estos insumos para la salud.
- in a biological fluid. This is especially true in this type of product in which a systemic effect would not be expected as a measurement of its pharmacological effectiveness.
- The equipment, materials and recording methods used in this study, are widely used in clinical practises for electromyographic diagnosis analyses, with acceptable sensitivity and reproducibility. Consequently, for the determination of Bioavailability and Bioequivalence, the quality evaluation of local anaesthetic tests based on this type of technique may be carried out at rational and affordable costs and at minimum risk to the volunteers taking part, in comparison with the development and validation of other highly complex analytical techniques, involving human resources, time, equipment, materials, environmental risk and reactivities.
  - The evaluation of Bioavailability or Bioequivalence of local anaesthetics available on the market, through an easily applied and validated technique as presented in this study, serves as a basis from which decisions may be taken during the selection and acquisition process of medicines in institutional pharmaceutical services, as well as for other entities responsible for their supply.
  - It is essential to continue the development and validation of pharmacodynamic techniques, based on the assessment of pharmacological and therapeutic effectiveness of medicines, in order to provide state organisations and institutional pharmaceutical services useful tools for the definition and quality assurance of these medical supplies.

**BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAPHY**

1. LEVY, G. Comparison of dissolution and Absortion rates of Differents Comercial Aspirin tablets. J. Pharm. Sci. 50:388-392
2. WELLING, Peter G. et al. Pharmaceutical Bioequivalence. Marcel Dekker. 1991.349 ss
3. SHARGEL, L and Yu, A. Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, Thir edition.1985. 201 ss
4. Ibid 2, ACTA Waxman-Hatch de 1984.
5. CATTERAL, E and MacKie, K: en Goodman and Gilman. The Pharmacological Basis of Therapeutics, Nineth. Vol I, McGraw-Hill. 1996. p 333.
6. FOYE William. principles of Medicinal Chemistry. Third Edition. 1989. p 320
7. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. THE NATIONAL FORMULARY. U S P 23 NF 18. 1995
8. LÔFSTROM, JB Ulnar nerve blockade for the evaluation of local anaesthetic Agents. Britthis Journal of Anaesthesia. Vol 47, 1975.