

ارزیابی فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک قرص پانصد میلی گرمی متفورمین هیدروکلراید در داوطلبان سالم

محمد رضا روئینی^{۱*}، سیما صدرای^۱، یلدا حسین زاده اردکانی^۱، مریم مخبری^۱، سولماز صداقت^۱

چکیده

مقدمه: متفورمین هیدروکلراید از دسته بی گوانیدها می باشد که در درمان دیابت ملیتوس غیر وابسته به انسولین تجویز می شود. در این مطالعه ویژگی های فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک قرص پانصد میلی گرمی متفورمین در داوطلبان سالم مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش ها: قرص های پانصد میلی گرمی متفورمین هیدروکلراید آزمون و مرجع به صورت متقاطع به ۱۲ داوطلب سالم تجویز گردیدند و غلظت متفورمین در نمونه های سرمی و میزان کاهش قند خون جهت بررسی پارامترهای فارماکوکینتیک و فارماکودینامیکی محاسبه گردید.

یافته ها: بین پارامترهای سرمی متفورمین و پارامترهای مشابه حاصل از تغییرات غلظت قند خون متعاقب مصرف هر دو فرآورده ارتباط معنی داری مشاهده نشد. همچنین با افزایش سطح زیر منحنی غلظت-زمان سرمی، افزایشی در سطح زیر منحنی تغییر قند خون-زمان مشاهده نگردید. در مقایسه آماری فرآورده آزمون و مرجع از نظر غلظت های سرمی و نه از نظر داده های قند خون هم ارز بودند.

نتیجه گیری: بین تغییرات غلظت سرمی و تغییرات قند خون ارتباط موثر و معنی داری دیده نشد. غلظت متفورمین در افراد سالم باعث کاهش قند خون نمی شود. در تعدادی از داوطلبان افزایش قند خون بعد از محلول دکستروز ۲۰٪، صبحانه و نهار مشاهده نشد، در واقع شاید بتوان چنین ادعا نمود که متفورمین مانع افزایش قند خون گردیده است.

واژگان کلیدی: متفورمین هیدروکلراید، فارماکوکینتیک، فارماکودینامیک، کاهش قند خون، غلظت سرمی

۱- گروه فارماکوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* **نشانی:** گروه فارماکوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ صندوق پستی: ۶۴۵۱-۱۴۱۵۵، تلفن: ۶۶۹۵۹۰۵۶؛
نمابر: ۶۶۹۵۹۰۵۶؛ پست الکترونیک: rouini@tums.ac.ir

مقدمه

متفورمین هیدروکلراید از دسته بی گوانیدها می باشد که در درمان دیابت ملیتوس غیر وابسته به انسولین (NIDDM) زمانی که رژیم غذایی و ورزش به تنهایی مؤثر نیست تجویز می شود. همچنین متفورمین همزمان با سولفونیل اوره ها در افراد دیابت غیر وابسته به انسولین که مصرف سولفونیل اوره ها به تنهایی در کنترل قند خون آنها موفق نبوده است، نیز تجویز می گردد [۱ و ۲]. متفورمین سطح گلوکز خون را دردو حالت ناشتا و بعد از غذا در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ بدون این که تاثیری بر ترشح انسولین از سلول های بتا پانکراس داشته باشد، کاهش می دهد. به همین علت این دارو در این بیماران هیپوگلیسمی ایجاد نمی کند [۳].

متفورمین به صورت ناقص و آهسته از دستگاه گوارش جذب می گردد. فراهمی زیستی قرص ۵۰۰ میلی گرمی متفورمین هیدروکلراید در شرایط ناشتا ۴۰-۵۰٪ می باشد و غذا جذب آن را کاهش داده و به تاخیر می اندازد. میزان اتصال پروتئینی آن بسیار ناچیز می باشد و به سرعت در بافت های محیطی و مایعات بدن توزیع می یابد. متفورمین به صورت دست نخورده از طریق ادرار دفع می شود بدون این که وارد چرخه متابولیسم کبدی شود. نیمه عمر حذف پلاسمایی این دارو حدود شش ساعت گزارش شده است و در بیماران با نارسایی کلیوی این مقدار افزایش می یابد. تاکنون هیچ متابولیتی از این دارو در انسان شناسایی و یافت نشده است [۲].

اگرچه سازوکار دقیقی برای اثر متفورمین در کاهش قند خون گزارش نشده است اما در مطالعات اخیر سازوکارهای زیر پیشنهاد شده اند:

- متفورمین تولید گلوکز در کبد را از طریق کاهش گلوکونئوژنز و گلیکونئولیز کاهش می دهد.
- این دارو حساسیت به انسولین را بهبود می بخشد که این افزایش در نتیجه افزایش جذب و استفاده گلوکز و افزایش برداشت انسولین در بافت های محیطی می باشد.
- طبق مطالعات انجام شده در in-vivo بر روی سلول های موش صحرایی و انسان نشان داده است که متفورمین سبب افزایش اتصال انسولین به گیرنده می گردد.

- متفورمین جذب گلوکز از روده را کاهش می دهد [۳ و ۴].

به دلیل عدم اثبات این سازوکارها این دارو هنوز مورد مطالعه محققین می باشد. Stepensky و همکاران نشان داده اند که سازوکارهای متعدد متفورمین بر کینتیک و پاسخ فارماکولوژیک آن تاثیر می گذارد [۵].

بررسی فارماکوکینتیکی یک دارو مانند بررسی جذب، توزیع، متابولیسم و حذف آن در ارزشیابی کارایی داخل بدن و مشخص کردن راه تجویز آن موثر می باشد. اساس پذیرش فعال بودن بسیاری از داروها، مربوط به اثرات فارماکولوژیکی ایجاد شده به علت تداخل داروی آزاد و یا متابولیت های آن با یک یا چند گیرنده می باشد. بیان روند غلظتی دارو در پلاسما و یا خون با روش های فارماکوکینتیک، امکان پذیر می باشد. بررسی اثرات وابسته به غلظت های مورد نظر با استفاده از روش های فارماکودینامیک ممکن می گردد. در بررسی اثرات فارماکولوژیکی داروها، هماهنگی بین غلظت دارو (یا دوز) و اثرات فارماکولوژیکی مطلوب در طراحی و انتخاب میزان دوز مناسب داروها و در پیش بینی اثرات فارماکولوژیک دارو برای بیمار مفید می باشد. مدل های فارماکوکینتیکی و فارماکودینامیکی جهت بیان غلظت و اثر دارویی، می تواند مورد توجه قرار گیرد [۶ و ۷].

Shin Hwa Lee و همکاران به مطالعه ارتباط فارماکوکینتیک-فارماکودینامیک متفورمین در داوطلبان سالم پرداختند. در بررسی فارماکودینامیکی در نمودار دوز-پاسخ لوپ هیستریز در خلاف جهت عقربه ساعت مشاهده شده بود [۸]. در این مطالعه ویژگی های فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک دو قرص پانصد میلی گرمی متفورمین در داوطلبان سالم و پاسخ فارماکولوژیک ایجاد شده و ارتباط فارماکوکینتیک-فارماکودینامیک آن مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش ها

۱- فرآورده ها

- قرص ۵۰۰ میلی گرمی Glucophage ساخت کارخانه LiphaSante - فرانسه

طراحی و معتبر سازی شده در آزمایشگاه بیوفارماسی استفاده شد که خلاصه شرایط آن به شرح زیر است:

- ستون: [Tracere Excel CN, (5 μ x 250 mm)]
- فاز متحرک: ترکیبی از % 0.4 SLS در آب:
- استونیتریل به نسبت حجمی ۷۳ به ۲۷.
- سرعت جریان فاز متحرک: ۱/۲ میلی لیتر در دقیقه
- حجم تزریق: ۱۰۰ میکرو لیتر
- طول موج آشکارساز فرابنفش: ۲۳۴ نانومتر

۴- آماده سازی نمونه های سرمی: آماده سازی نمونه های سرمی جهت تزریق به دستگاه به روش رسوب مستقیم انجام گرفت. به ۴۰۰ میکرو لیتر از نمونه سرمی حاوی دارو، ۲۰ میکرو لیتر اسید پرکلریک غلیظ اضافه شد و بعد از تکان دادن شدید به مدت یک دقیقه، با سرعت ۱۲ هزار دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول بالایی به دستگاه HPLC تزریق و غلظت متفورمین در نمونه های سرمی تعیین گردید.

۵- محاسبه پارامترهای فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک: با مقایسه نتایج آنالیز منحنی کالیبراسیون سرمی، غلظت دارو در نمونه های خونی داوطلبان در زمان های مذکور تعیین شد. با استفاده از منحنی تغییرات غلظت خونی در برابر زمان پارامترهای فارماکوکینتیکی سرمی شامل C_{max} (حداکثر غلظت سرمی)، t_{max} (زمان رسیدن به غلظت حداکثر)، سطح زیر منحنی (AUC_{0-12})، k_e ، $t_{1/2e}$ و $t_{1/2e}$ برای هر یک از داوطلبان تعیین گردید. میزان کاهش قند خون dBSL (decrease blood sugar level) به دنبال تجویز دارو در مورد فرآورده های آزمون و مرجع محاسبه شد. همچنین از آنجا که افزایش قند خون در داوطلبان مشاهده شده بود (کمتر از ۶۰ mg/dl) جهت تعیین سطح زیر منحنی، کاهش قند خون معکوس محاسبه شد (dBSL - 60 = قند خون معکوس) و نیز پارامترهای مشابه برای داده های قند خون نیز محاسبه گردید.

۶- محاسبات آماری: در مطالعه هم ارزی زیستی جهت بررسی آماری پارامترهای مورد نظر از دو آزمون ANOVA و فاصله اطمینان (Confidence interval test) استفاده شد. در آزمون فاصله اطمینان که توسط FDA پیشنهاد شده

• قرص ۵۰۰ میلی گرمی متفورمین ساخت کارخانه پارس مینو - ایران

۲- تجویز دارو: پس از انجام آزمایش های بالینی و معاینات پزشکی، ۱۲ نفر داوطلب (۷ مرد و ۵ زن در محدوده سنی ۲۲-۳۷ سال) سالم جهت شرکت در مطالعه انتخاب شدند. جزئیات مطالعه به داوطلبان توضیح داده شده و از آنان رضایتنامه کتبی اخذ گردید. مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران قرار گرفت. داوطلبان سابقه مصرف سیگار، الکل، سابقه بیماری (قلبی - عروقی، گوارشی، کبدی، کلیوی و آلرژیک) نداشتند و از هیچ دارویی نیز استفاده نمی کردند. با رعایت کلیه شرایط تجویز دارو به داوطلبانی که به صورت تصادفی به دو گروه ۶ نفره تقسیم شده بودند، به صورت متقاطع دوتایی و دوسوکور در روز معین بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی یک قرص ۵۰۰ میلی گرمی متفورمین هیدروکلراید از فرآورده های آزمون یا مرجع همراه با ۲۵۰ میلی لیتر آب تجویز گردید. فرآورده آزمون و مرجع به ترتیب قرص ۵۰۰ میلی گرمی متفورمین ساخت کارخانه پارس مینو - ایران و قرص ۵۰۰ میلی گرمی

Glucophage ساخت کارخانه Liplha Sante فرانسه بود. داوطلبان تا دو ساعت بعد از تجویز دارو از خوردن هر نوع ماده غذایی منع شدند؛ بعد از ۳ ساعت صبحانه و بعد از ۵ ساعت ناهار صرف شد. در فاصله یک و دو ساعت بعد از تجویز دارو ۲۰ ml شربت دکستروز ۲۰٪ دریافت نمودند که با توجه به مهم بودن میزان تغییرات قند خون در مطالعه سعی شد که رژیم غذایی داوطلبان یکسان و تحت کنترل باشد. پس از یک فاصله یک هفته ای (wash out period) دوره دوم تجویز دارو آغاز و از داوطلبان نمونه های خونی (حدود ۴ میلی لیتر) در زمان های صفر ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۴، ۵، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ ساعت پس از تجویز گرفته شد. در کلیه زمان های نمونه گیری میزان قند خون تعیین و یادداشت گردید.

۳- شرایط دستگاه HPLC: از دستگاه HPLC ساخت شرکت Watters (کشور آمریکا) جهت آنالیز نمونه های سرمی و تعیین مقدار متفورمین در سرم و از روش آنالیز

فرآورده های آزمون و مرجع در دوازده داوطلب در جدول ۱ آمده است. میانگین منحنی تغییرات قند خون (dBSL) در برابر غلظت سرمی در شکل های ۱ و ۲ آمده است.

جهت بررسی همبستگی غلظت سرمی و میزان کاهش قند خون، نمودار میانگین کاهش قند خون در برابر میانگین غلظت سرمی هر فرآورده رسم گردید. r^2 (ضریب همبستگی) برای فرآورده های آزمون و مرجع به ترتیب ۰/۱۲۶۶ و ۰/۱۱۶۴ بدست آمد. لذا با در نظر گرفتن میزان r^2 ، بین غلظت های سرمی متفورمین و میزان کاهش قند خون همبستگی و ارتباط خطی مناسبی دیده نشد.

جهت بررسی همبستگی پارامترهای فارماکوکینتیک غلظت سرمی و تغییر قند خون (AUC_{0-12} ، T_{max} ، $dBSL_{max}$ ، C_{max}) ضریب رگرسیون برای هر همبستگی محاسبه گردید. اعداد حاصله بیانگر عدم وجود ارتباط معنی دار بین این پارامترها می باشد. با افزایش AUC سرمی، افزایشی در AUC dBSL مشاهده نشد. نتایج در جدول ۲ آمده است.

است، نسبت پارامترهای فارماکوکینتیک در یک فاصله اطمینان ۹۰٪ باید حداکثر تا میزان $\pm 20\%$ اختلاف داشته باشد. به بیان دیگر متوسط پارامترها بین ۰/۸ تا ۱/۲ باشد. در آزمون t سطح معنی دار بیشتر از ۰/۰۵ نشان دهنده این است که تفاوت ها میان دو فرآورده از نظر آماری معنی دار نیست.

جهت بررسی همبستگی غلظت سرمی و میزان کاهش قند خون، نمودار میانگین کاهش قند خون در برابر میانگین غلظت سرمی، سطح زیر منحنی های $AUC(0-12h)$ تغییر قند خون در برابر $AUC(0-12h)$ غلظت سرمی، $dBSL_{max}$ در برابر C_{max} سرمی و T_{max} تغییر قند خون در برابر T_{max} سرمی برای داوطلبان رسم گردید. ضریب رگرسیون برای هر فرآورده محاسبه گردید.

یافته ها

پارامترهای فارماکوکینتیک و فارماکودینامیکی بر اساس داده های غلظت سرمی و نیز داده های تغییرات قند خون

جدول ۱- پارامترهای فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک متفورمین هیدروکلراید پس از تجویز پانصد میلی گرم از فرآورده آزمون

فاصله اطمینان ۹۰٪	و مرجع		پارامتر
	مرجع	فرآورده ها	
۰/۸۰-۱/۲۰	۸۱۸۱/۳	۷۷۷۷/۴±۳۰۷۶/۲	AUC_{0-12} (ng.h/ml)
۰/۸۰-۱/۲۰	۱۵۷۰/۸±۶۰۸/۹	۱۳۶۶/۴±۶۰۶/۲	C_{max} (ng/ml)
۰/۸۰-۱/۲۰	۲/۴±۰/۸	۲/۳±۱/۱	T_{max} (h)
۰/۸۳-۱/۱۴	۰/۲۱±۰/۰۳	۰/۲۰±۰/۰۶	Ke(1/h)
۰/۹۴-۱/۵۳	۳/۳۰±۰/۵۳	۳/۹۳±۱/۸۹	$T_{1/2e}$ (h)
۱/۰۱-۱/۱۰	۶۳۶/۶۹±۱۰۹/۹۴	۶۴۳/۶۷±۸۹/۴۰	AUC_{0-12} 60dBSL (mg.h/dl)
۰/۸۲-۲/۳۰	-۸/۸۳±۷/۳۷	-۸/۳۳±۵/۶۵	$dBSL_{max}$ (mg/dl)
۰/۴۱-۱/۷۱	۴/۰۸±۳/۸۶	۲/۵۸±۲/۵۷	T_{max} (h)

* مقادیر \pm نشانگر Mean \pm SD هستند

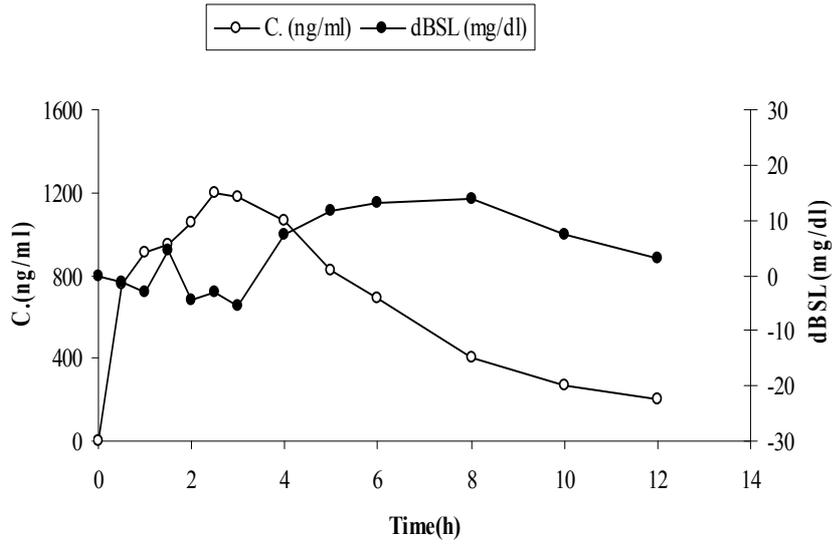
** در هیچ یک از مقایسه ها، مقادیر P معنی دار نبود ($P < 0.05$)

† فرآورده آزمون قرص ۵۰۰ میلی گرمی متفورمین ساخت کارخانه پارس مینو ایران

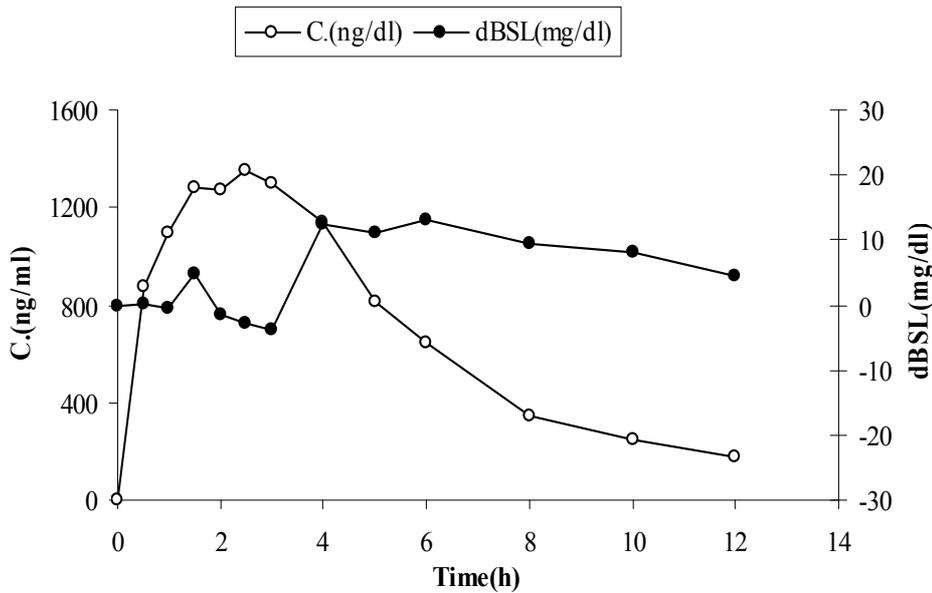
†† فرآورده مرجع: قرص ۵۰۰ میلی گرمی Glucophage ساخت کارخانه Liplha Sante فرانسه

جدول ۲- میزان ضریب همبستگی [r²] بین پارامترهای فارماکوکینتیکی غلظت سرمی و تغییر قند خون

پارامترها	فرآورده آزمون	فرآورده مرجع
60-dBSL AUC vs Serum AUC	۰/۰۵۷۳	۰/۰۱۷۹
dBSL_{max} vs Serum-C_{max}	۰/۰۰۶۵	۵E -۰۵
dBSL-T_{max} vs serum-T_{max}	۰/۰۳۸۵	۰/۰۵۸۳



شکل ۱- نمودار میانگین تغییرات قند خون و غلظت سرمی در برابر زمان بعد از تجویز فرآورده آزمون † فرآورده آزمون قرص ۵۰۰ میلی گرمی متفورمین ساخت کارخانه پارس مینو ایران



شکل ۲- نمودار میانگین تغییرات قند خون و غلظت سرمی در برابر زمان بعد از تجویز فرآورده مرجع † فرآورده مرجع: قرص ۵۰۰ میلی گرمی Glucophage ساخت کارخانه Lipha Sante فرانسه

بحث

در نمودار میانگین قند خون و dBSL کاهش قند خون تا ۳ ساعت بعد از تجویز هر دو فرآورده حدود ۵ میلی گرم بر دسی لیتر بوده که به صورت طبیعی در افراد وجود دارد بنابراین غلظت متفورمین در افراد سالم باعث کاهش قند خون نمی شود. در تعدادی از داوطلبان افزایش قند خون بعد از خوردن محلول دکستروز ۲۰٪، صبحانه و ناهار مشاهده نشد، در واقع شاید بتوان چنین ادعا نمود که متفورمین مانع افزایش قند خون گردیده است.

بر اساس نتایج بدست آمده از بررسی داده های غلظت، دو C_{max} در مورد هشت نفر در فرآورده مرجع وهفت نفر در فرآورده آزمون مشاهده می شود. طبق تحقیقات انجام شده، علت پیک دوگانه در مورد متفورمین می تواند به علت تغییرات زمان تخلیه معده و انتقال از روده کوچک می باشد. چنین پیک دو گانه ای برای داروهایی با حلالیت بالا و نفوذپذیری کم (کلاس III) محتمل بوده و در مطالعات دیگر در جمعیت های نژادی مختلف مشاهده شده است [۸].

با توجه به شکل های ۱ و ۲ می توان گفت که :

در فرآورده آزمون بعد از مصرف محلول دکستروز ۲۰٪ در ساعت ۲، افزایش دوم قند خون بسیار ناچیز (حدود ۱ میلی گرم بر دسی لیتر) بود، در مورد فرآورده مرجع بین ساعت ۲ تا ۲/۵ نه تنها افزایشی مشاهده نشد، بلکه به طور میانگین حدود ۱/۵ تا ۲/۵ میلی گرم بر دسی لیتر کاهش قند خون در ۱۲ داوطلب مشاهده گردید. البته این میزان تفاوت در مورد دو فرآورده معنی دار نمی باشد. چنین مطالعه ای پس از تجویز گلیکلازید توسط فراهانی و همکاران [۹] سبب افزایش ۱۰-۱۵ میلی گرم در دسی لیتر در قند خون داوطلبان گردیده است. این مقایسه نشان دهنده عملکرد غیرمستقیم متفورمین و ممانعت از جذب گلوکز از روده در زمان T_{max} می باشد. این نتایج در افراد سالم مشاهده شده است و در افراد بیمار نیاز به بررسی های بیشتری می باشد. با انجام آزمون ANOVA مشاهده شد که فرآورده آزمون در سطح معنی داری ۰/۰۵، میانگین پارامترهای فارماکوکینتیکی سرمی حاصل از تجویز فرآورده آزمون و مرجع با هم تفاوت ندارند. با انجام آزمون محدوده

اطمینان، مشاهده شد که به دلیل اینکه میانگین نسبت در مورد پارامترهای $AUC(0-12)$ ، C_{max} ، T_{max} ، ke محاسبه شده فرآورده آزمون در داوطلبان سالم مورد بررسی با اطمینان ۹۰ درصد در فاصله بین ۰/۸ و ۱/۲ واقع می شود، بنابراین قرص متفورمین مینو (آزمون) با قرص Glucophage ساخت کارخانه Liplha Sante (مرجع) از نظر غلظت های سرمی هم ارز زیستی بودند (جدول ۱).

پارامترهای تغییر قند خون دو فرآورده (جدول ۱) در مقایسه آماری اختلاف معنی دار نشان ندادند، ولی نسبت پارامترها با در نظر گرفتن محدوده ۹۰٪ اطمینان، پارامترها خارج از محدوده ۱۲۰-۸۰٪ قرار گرفتند. به جز نسبت پارامتر $AUC_{60-dBSL}$ که در محدوده ۱۲۰-۸۰٪ قرار داشت. لذا قرص Glucophage ساخت کارخانه Liplha Sante از نظر داده های قند خون هم ارز تلقی نمی گردند (جدول ۱).

بر اساس آنچه مورد بحث و بررسی قرار گرفت، بین پارامترهای سرمی متفورمین و پارامترهای مشابه حاصل از تغییرات غلظت قند خون متعاقب مصرف هر دو فرآورده ارتباط معنی داری مشاهده نشد و از طرفی بین تغییرات غلظت سرمی و تغییرات قند خون نیز ارتباط موثر و معنی داری دیده نشد.

عدم وجود ارتباط معنی دار بین پارامترهای غلظت سرمی و پارامترهای مشابه در تغییرات قند خون را می توان به علت عوامل موثر مختلف بر کنترل قندخون، پاسخ غیر مستقیم در کاهش قند خون متفورمین، تغییرات بین شخصی بیشتر در تغییرات قند خون و نیز عوامل محیطی موثر بر قند خون مانند فعالیت بدنی، عوامل فیزیولوژیک داوطلب و پاسخ فیزیولوژیک به محرک های محیطی دانست.

به عنوان نتیجه نهایی می توان گفت که بین پارامترهای فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک متفورمین هیچگونه ارتباط خطی یا غیر خطی مشاهده نگردید. همچنین متفورمین در داوطلبان سالم کاهش قند خون ایجاد نکرده و فقط بدنبال مصرف محلول خوراکی دکستروز مانع افزایش قابل توجه قند خون (در مقایسه با گلیکلازید) گردیده است. در مطالعه هم ارزی زیستی بر اساس داده های

سپاسگزاری

این مطالعه در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام یافته و بخشی از یک طرح تحقیقاتی است که بودجه آن توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران تامین گردیده است.

فارماکوکینتیکی و نه فارماکودینامیک (سطح زیر منحنی تغییرات قند خون) فرآورده آزمون و مرجع هم ارز شناخته شدند. می‌توان چنین ادعا نمود که اطلاعات فارماکودینامیکی در ارزیابی هم ارزی زیستی متفورمین نتیجه قابل اعتمادی بدست نمی‌دهد.

مآخذ

1. Parfitt K.[ed] Martindale: *The Complete Drug Reference*. edited by:Sean C Sweetman.32th ed.The Pharmaceutical Press, USA .1999. p.332-333.
2. McEvoy, G. K. & Livak, K.G., *AHFS Drug Information*, ASPH .Vol2. 2001. p.3032-3042
3. *Applied Therapeutics: The Clinical use of drug*.7thed. Vancouver, Washington. Vol. 2: chapter 48. 2001. p.56-58
4. Riley, M R.(ed) *Drug Facts and Comparisons*, Wolter Kluwer Company, USA, 2003. p.366-370
5. Stepensky D, Friedman M, Raz I, Hoffman A. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of the glucose-lowering effect of metformin in diabetic rats reveals first-pass pharmacodynamic effect. *Drug Metab Dispos*.2002. 30(8):861-8.
6. Shargel L. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*. 5thed. chapter 19. . 2005.p.575-611.
7. رفیعی تهرانی، مرتضی. مبادی فرمولاسیون اشکال دارویی پیوسته رهش خوراکی، دانشگاه آزاد اسلامی؛ ۱۳۷۴. ص.۳۱۵، ۲۳۷، ۲۳۱.
8. Cheng CL, Yu LX, Lee HL, Yang CY, Lue CS, Chou CH. Biowaiver extension potential to BCS Class III high solubility-low permeability drugs: bridging evidence for metformin immediate-release tablet. *Eur J Pharm Sci* 2004; 22(4):297-304.
9. فرمهینی فراهانی، مریم. "مطالعات سودمندی استفاده از تغییرات قند خون در تعیین هم ارزی زیستی". پایان نامه دکتری داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران:۱۳۸۲.ص.۸۹و۹۰و۹۹