

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"CAROL DAVILA" - BUCUREȘTI
FACULTATEA DE FARMACIE

TEZĂ DE DOCTORAT

CERCETĂRI PRIVIND DEZVOLTAREA ȘI ANALIZA UNOR FORME SOLIDE CONȚINÂND
AMIODARONĂ

REZUMAT

Coordonator științific:
PROF. UNIV. DR. CONSTANTIN MIRCIOIU

Doctorand:
Maytham Razaq Shlegm

-2021-

CUPRINS

I.	INTRODUCERE.....	4
II.	PARTEA TEORETICĂ.....	7
	II.1. Amiodarona.....	8
	II.1.1. Proprietăți fizico-chimice.....	8
	II.1.2. Proprietăți biofarmaceutice și farmacocinetice.....	9
	II.1.3. Farmacocinetica amiodaronei.....	11
	II.2. Tehnici pentru îmbunătățirea biodisponibilității medicamentelor BCS clasa II.....	14
	II.2.1. Factori care afectează solubilitatea.....	14
	II.2.2. Biodisponibilitatea.....	15
	II.2.3. Tehnici de îmbunătățire a solubilității.....	16
	II.2.4. Sisteme de dispersie solidă.....	23
	II.3. Extrudarea la cald.....	26
	II.3.1. Utilizări în industria farmaceutică.....	26
	II.3.2. Avantajele și dezavantajele extrudării la cald.....	26
	II.4. Corelații <i>in vitro-in vivo</i> (IVIVC).....	29
	II.4.1. Definiții.....	30
	II.4.2. Considerații în dezvoltarea IVIVC.....	31
	II.4.2.1. Proprietăți fizico-chimice.....	31
	II.4.2.2. Proprietăți biofarmaceutice.....	32
	II.4.2.1. Proprietăți fiziologice.....	32
	II.4.3. Nivelurile de corelație ale IVIVC.....	33
III.	PARTEA DE CONTRIBUȚII PERSONALE.....	35
	III.1. Dezvoltarea unor comprimate pe bază de dispersii solide cu amiodaronă.....	36
	III.1.1. Prepararea dispersiilor solide în matrici de polimeri, pentru creșterea disponibilității substanței active.....	36
	III.1.2. Caracterizarea dispersiilor solide cu amiodaronă.....	41

III.1.3. Formularea comprimatelor.....	66
III.1.4. Caracterizarea fizico-chimică a comprimatelor.....	77
III.1.5. Determinarea cineticii de eliberare din comprimate și din sânge.....	80
III.2. Analiza variabilității datelor de farmacocinetică a amiodaronei într-un studiu de bioechivalență.....	87
III.2.1. Evaluarea farmacocineticii amiodaronei și a desetilamiodaronei.....	87
III.2.2. Evaluarea globală, structurală a mulțimii curbelor individuale.....	91
III.2.3. Variabilitatea postprandială.....	93
III.3. Estimarea cineticii de cedare <i>in vivo</i> a amiodaronei din analiza farmacocineticii desetilamiodaronei.....	99
III.3.1. Datele clinice și experimentale. Definirea problemei.....	100
III.3.2. Modelarea matematică a datelor <i>in vitro</i> și <i>in vivo</i>	102
III.3.3. Determinarea fracției de apariție a metabolitului -FRM, scalarea timpului, corelarea FRD-FRM	107
III.4. Corelarea <i>in vitro-in vivo</i> (IVIVC) pentru perioada de absorbție/distribuție a amiodaronei	114
III.4.1. Evaluarea fracției absorbite a amiodaronei din curbele de concentrație plasmatică trunchiate	115
III.4.2. Corelarea fracție dizolvată – fracție absorbită	124
III.4.3. Modelarea dependenței fracției absorbite de timp	125
III.5. Analiza toxicității complexului amiodaronă-β-ciclodextrina	133
IV. CONCLUZII	144
V. REFERINȚE	149
VI. ANEXE	165

I. INTRODUCERE

Cercetările experimentale din cadrul tezei se referă la forme farmaceutice solide cu amiodaronă, medicamente ce implică în primul rând o mare variabilitate a efectului și o mare serie de efecte adverse. Cauza principală a tuturor problemelor amiodaronei este coeficientul său de partiție octanol /apă foarte ridicat ($\log P = 7,2$), de aici derivând rând pe rând:

- eliberarea lentă și incompletă în tractul gastrointestinal,
- precipitarea în intestin,
- metabolizarea rapidă și extensivă,
- distribuția aproape completă și acumularea în țesutul gras și în alte compartimente profunde, cum ar fi mușchiul cardiac,
- circulația entrohepatică, eliminarea în bilă, revenirea foarte lentă din depozite în sânge și de aici un timp de înjumătățire de ordinul zecilor de zile,
- o cuplare farmacocinetică-farmacodinamică foarte complexă și foarte dependentă de timp, etc.

Nu în ultimul rând, variabilitatea foarte mare a efectului este însoțită și de o variabilitate foarte mare a efectelor adverse.

O prima abordare spre rezolvarea acestor probleme vine dinspre tehnologia farmaceutică și constă în multe metode de creștere a solubilității amiodaronei, a creșterii gradului și vitezei de eliberare *in vivo*. Formele farmaceutice realizate trebuie caracterizate și trebuie să fie stabile tehnologic și fizico-chimic. Mai departe însă, această creștere nu rezolvă neapărat toate problemele, deoarece o creștere prea mare duce la precipitarea amiodaronei în intestin și la o variabilitate necontrolată a absorbției și farmacocineticii.

Deoarece nu avem acces experimental la cedarea *in vitro* trebuie urmărită o corelare între datele de cedare *in vitro* și datele de farmacocinetică *in vivo*. Aceasta înseamnă cercetări *in vitro* și cercetări de farmacocinetică atât în ceea ce privește amiodaronă, cât și metabolitul activ desetilamiodaronă, presupunând analiza și modelarea datelor, analiza statistică a variabilității datelor farmacocinetice și, în final, elaborarea unor metode de cercetare a corelărilor.

Dificultatea cea mai mare nu este la capitolul știință, ci la cel de morală. Este etic să se facă studii exinse mult în timp din cauza timpului de înjumătățire a amiodaronei de ordinul zecilor de zile, pe un număr foarte mare de

subiecți din cauza variabilității foarte mari a parametrilor farmacocinetici și multiplicare cu numărul de variante de formulări? În plus, se pune problema cheltuielilor foarte mari de timp și bani.

O soluție, măcar ca metodă de screening prealabil, aplicată în această lucrare, este analiza datelor din studiile de bioechivalență, analiză ce se poate extinde mult mai mult decât estimarea bioechivalenței, de exemplu la caracterizarea variabilității farmacocineticii și chiar la corelări *in vitro* – *in vivo*. Nu numai că se poate acest lucru, dar este și o datorie morală de valorificare a acestor date.

Domeniul bioechivalenței medicamentelor, domeniu de o importanță deosebită în contextul necesității imperioase a reducerii cheltuielilor de sănătate și a asigurării dezideratului major privind asigurarea accesului la tratamente medicamentoase și pentru țările mai sarace și pentru populațiile defavorizate chiar din țări bogate. Deci, studii de bioechivalență sunt multe, date sunt foarte multe și folosirea lor nu aduce decât foleose. Această metodă a fost aplicată în prezenta teză.

Componentele principale ale cercetarilor matematice și statistice în cadrul lucrării sunt legate de o problemă a prezentului în evaluarea farmacocineticii compușilor activi (medicamentul părinte și metaboliții săi), cu trimitere, într-o perspectivă mai largă, la modelarea farmacocinetică-farmacodinamică și la un obiectiv îndepărtat, dar probabil realizabil în viitor și anume medicina personalizată pe baza parametrilor farmacocinetici individuali.

Obiectivul principal al cercetarilor de acest tip, realizate în cadrul tezei, a fost acela de a contribui la o mai bună înțelegere a surselor de variabilitate ce afectează răspunsul individual la tratamentul cu amiodaronă și a ierarhiei efectului acestora, a determinării factorilor cu adevărat critici. Medicii vorbesc de inter-variabilitate – care poate fi genetic determinate, farmaciștii vorbesc despre intra-variabilitate, care ESTE IGNORATĂ și care este determinată în mod esențial de solubilitate și permeabilitate.

Urmărirea simultană a farmacocineticii amiodaronei și a metabolitului activ este efectiv o performanță. Un astfel de studiu, evident, nu se poate face de către un singur cercetător, nefiind nici etic, nici moral și nici legal. Cercetările din cadrul tezei sunt deci numai o componentă.

II. PARTEA DE CONTRIBUȚII PERSONALE

III.1. DEZVOLTAREA UNOR COMPRIMATE PE BAZĂ DE DISPERSII SOLIDE CU AMIODARONĂ

III.1.1. Prepararea dispersiilor solide în matrici de polimeri, pentru creșterea disponibilității substanței active

Obiectivele acestei prime etape a studiului au fost următoarele:

- obținerea de dispersii solide de Amiodaronă Clorhidrat în matrici de polimeri, pentru creșterea disponibilității substanței active
- caracterizarea din punct de vedere fizico-chimic a dispersiilor solide utilizând metodele convenționale specifice descrise în literatura de specialitate.

III.1.1.1. Motivarea studiului întreprins

Pentru obținerea de dispersii solide de Amiodaronă Clorhidrat în matrici de polimeri, în prezentul studiu s-au preparat diferite amestecuri de substanță activă în raport 1:2 cu polimeri solubili precum: PEG 1500, PEG 4000; PEG 8000, Soluplus; Koliphor 188; și amestecuri între aceștia pentru a determina tipul/ tipurile de polimeri și influența amestecului unui polimer cu altul în biodisponibilitatea substanței active.

III.1.1.2. Materiale și metode

Materiale

Amiodarona Clorhidrat și restul de excipienți au fost primite prin donație de la Fabrica de Medicamente Labormed Pharma S.A. Pentru cântărirea substanțelor am folosit o balanțe Mettler Toledo și Kern Germania (cu sensibilitate 0.01 mg).

Metode

Prepararea dispersiilor solide

Prepararea dispersiilor solide de Amiodaronă Clorhidrat în matrici de polimeri

Pentru prepararea amestecurilor fizice s-au cântărit substanțele, pe balanța electronică cu 2 zecimale Kern, corespunzător rapoartelor molare menționate și detaliate în tabelul de mai jos.

Pe rând, componentele (polimerii, urmași de substanțele active) au fost amestecate, timp de 15-20 minute, într-un recipient de sticlă borosilicat pe un încălzitor electric termostatat la o temperatură de 90-120°C a încălzitorului. Pentru o mai bună estimare a temperaturii din amestec s-a folosit în loc de baghete din sticlă, vârful unor termometre digitale cu sensibilitate de 0,1 °C. S-a menținut temperatura în amestec cu atenție în jurul valorii de 85-90 °C.

După solubilizarea substanței active în matrița topită de polimeri/amestecuri de polimeri, s-a turnat dispersia pe un suport cerat și a fost introdus pentru 1h la o temperatură de 0-8 °C până când amestecul s-a solidificat.

Imediat după scoaterea amestecurilor din camera frigorifică, amestecurile au fost macinate cu ajutorul unui macinator mecanic cu cuțit la o turație de 10000RPM.

S-a avut grijă ca macinarea să fie rapidă, timpul de remanență a dispersiilor în măcinare a fost mic, pentru evitarea încălzirii rotorului și topirea superficială a granulelor în incinta de măcinare.

Granulele obținute au fost trecute printr-o sită de 1mm, iar refuzul a fost recalibrat, până când toată dispersia solidă calibrată a trecut prin sita de 1mm.

În tabelele următoare sunt prezentate formulele dispersiilor solide și parametrii de lucru folosiți pentru obținerea lor:

Tabelul 4. Formula și parametrii de lucru ai formulei F2.1

Amiodarona Dispersie Solidă		Formula 2.1				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă
1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	Peg 4000	100.00	20.00	20.00		
Total dispersie		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00
Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)					90°C	Alb opac

Tabelul 5. Formula și parametrii de lucru ai formulei F2.2

Amiodarona Dispersie Solida		Formula 2.2				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă
1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	Peg 8000 (Rotipuran)	100.00	20.00	20.00		
Total comprimat		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00
Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)					90°C	Alb opac

Tabelul 6. Formula și parametrii de lucru ai formulei F2.3

Amiodarona Dispersie Solida		Formula 2.3				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă
1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	Polaxamer 188 (Kolliphor P188)	50.00	10.00	10.00		
3	Peg 4000 (Rotipuran)	50.00	10.00	10.00		
Total comprimat		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00
Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)					90°C	Alb opac

Tabelul 7. Formula și parametrii de lucru ai formulei F2.4

Amiodarona Dispersie Solida		Formula 2.4				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă
1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	Polaxamer 188 (Kolliphor P188)	50.00	10.00	10.00		
3	Peg 8000 (Rotipuran)	50.00	10.00	10.00		
Total comprimat		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00
Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)					90°C	Alb opac

Tabelul 8. Formula și parametrii de lucru ai formulei F2.5

Amiodarona Dispersie Solida		Formula 2.5				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă
1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	Polaxamer 188 (Kolliphor P188)	100.00	20.00	20.00		
Total comprimat		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00
Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)					90°C	Alb opac

Tabelul 9. Formula și parametrii de lucru ai formulei F2.6

Amiodarona Dispersie Solida		Formula 2.6				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă
1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	PEG 1500 (Rotipuran)	100.00	20.00	20.00		
Total comprimat		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00
Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)					90°C	Alb opac

Tabelul 10. Formula și parametrii de lucru ai formulei F3.1

Amiodarona Dispersie Solida		Formula 3.1				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă
1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	Soluplus (BASF)	50.00	10.00	10.00		
3	Peg 1500 (Rotipuran)	50.00	10.00	10.00		
Total comprimat		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00

Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)	100°C	Alb opac
--	-------	----------

Tabelul 11. Formula și parametrii de lucru ai formulei F3.2

Amiodarona Dispersie Solida		Formula 3.2				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă
1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	Soluplus (BASF)	25.00	5.00	5.00		
3	Peg 1500 (Rotipuran)	75.00	15.00	15.00		
Total comprimat		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00
Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)					120°C	Alb opac

Tabelul 12. Formula și parametrii de lucru ai formulei F3.3

Amiodarona Dispersie Solida		Formula 3.3				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă
1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	Soluplus (BASF)	25.00	5.00	5.00		
3	Peg 4000 (Rotipuran)	75.00	15.00	15.00		
Total comprimat		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00
Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)					110°C	Alb opac

Tabelul 13. Formula și parametrii de lucru ai formulei F3.4

Amiodarona Dispersie Solida		Formula 3.4				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă
1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	Soluplus (BASF)	25.00	5.00	5.00		
3	Peg 8000 (Rotipuran)	75.00	15.00	15.00		
Total comprimat		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00
Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)					130°C	Alb opac

Tabelul 14. Formula și parametrii de lucru ai formulei F3.5

Amiodarona Dispersie Solida		Formula 3.5				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă

1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	Soluplus (BASF)	25.00	5.00	5.00		
3	Polaxamer 188 (Kolliphor P188)	75.00	15.00	15.00		
Total comprimat		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00
Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)					110°C	Alb opac

Tabelul 15. Formula și parametrii de lucru ai formulei F3.6

Amiodarona Dispersie Solida		Formula 3.6				
Nr.	Ingrediente	Cantitate mg/cpr	Cantitate %	Cantitate probă	Cantitate probă teoretică	Cantitate probă efectivă
1	Amiodarona HCL	50.00	10.00	10.00	30.00	20.00
2	Soluplus (BASF)	100.00	20.00	20.00		
Total comprimat		150.00	30.00	30.00	30.00	20.00
Parametrii de lucru (temperatura măsurată în topitură °C/ aspectul dispersiei)					140°C	Brun

Din cauza temperaturii prea mari necesare topirii celor 2 componente din formula F3.6, o colorație brună a apărut în amestec și un fum înecăcios a început să fie detectat. S-a decis oprirea acestui experiment, iar formula nu a mai fost folosită mai departe în formularea de dispersii solide și s-a ales pentru încercare prin extrudare la cald într-un extrudor cu șurub.

III.1.1.3. Rezultate și discuții

Toate dispersiile solide obținute, au fost măcinate cu ușurință. Au rezultat granule uniforme ca aspect, cu densitate ridicată și aspect uniform. Comparativ cu substanța activă care are o natură purvelurentă, granulele obținute au un aspect lucios, cu o granulație optimă.

III.1.1.4. Concluzii

Prin simpla evaluare vizuală nu este posibilă caracterizarea corespunzătoare a granulelor obținute.

În continuare, dispersiile solide obținute sub formă de granule au fost supuse controlului calitativ prin următoarele metode: microscopie, granulometrie, densitate aparentă și tasată.

III.1.2. Caracterizarea dispersiilor solide cu amiodaronă

III.1.2.2. Caracterizarea dispersiilor solide prin microscopie optica folosind lumina reflectata

III.1.2.1.1. Motivarea studiului întreprins

Câteva particularități de interes pot fi oferite prin efectuarea microscopiei.

În vederea evaluării morfologiei microscopice de la suprafața complexilor și a dimensiunilor aproximative ale acestora am efectuat microscopia optică cu lumină incidentă (reflectată).

Microscopia este o metodă mai mult calitativă folosită pentru a studia aspectul structural al materiilor prime.

III.1.2.1.2. Materiale și metode

Pentru analiza omogenității amestecului s-au observat probe de substanță activă și amestec final cu ajutorul unui Microscop Motic Phantera echipat cu lumină reflectată.

III.1.2.1.3. Rezultate și discuții

Pentru observarea cristalelor s-a ales folosirea unei iluminări tangențiale. Astfel cristalele și caracterizarea substanțelor și amestecurilor de pulberi au fost mai ușor de efectuat.

În figurile de mai jos se pot observa imaginile mărite ale granulelor măcinate de dispersii solide. S-a căutat observarea fenomenului de co-topire sau solubilizare în topitură a substanței active în matricea de polimer/polimeri.

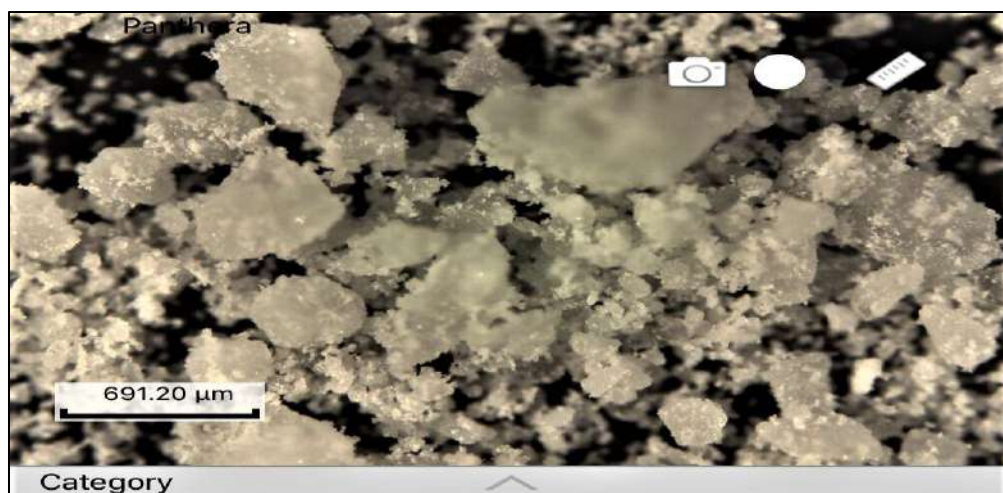


Figura 4. Captura imaginii microscopice a dispersiei solide cu formula F.2.1



Figura 5. Captura imaginii microscopice a dispersiei solide cu formula F.2.2

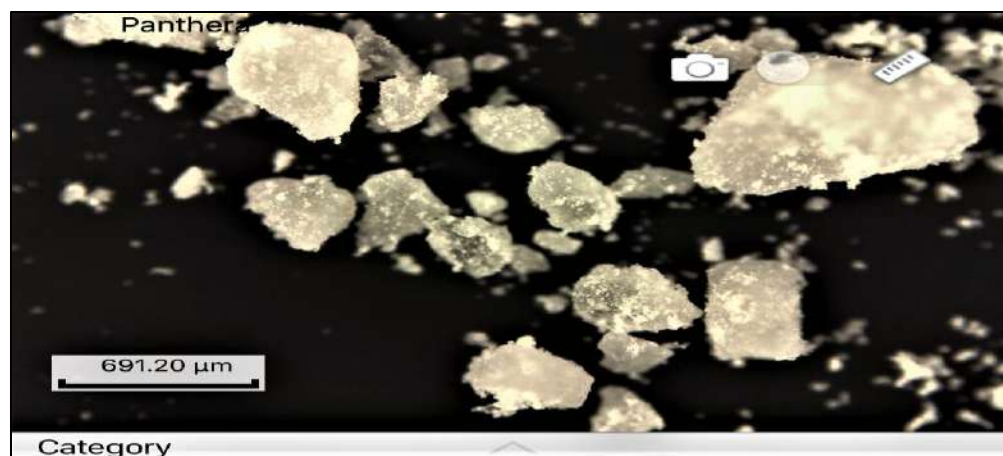


Figura 6. Captura imaginii microscopice a dispersiei solide cu formula F.2.3

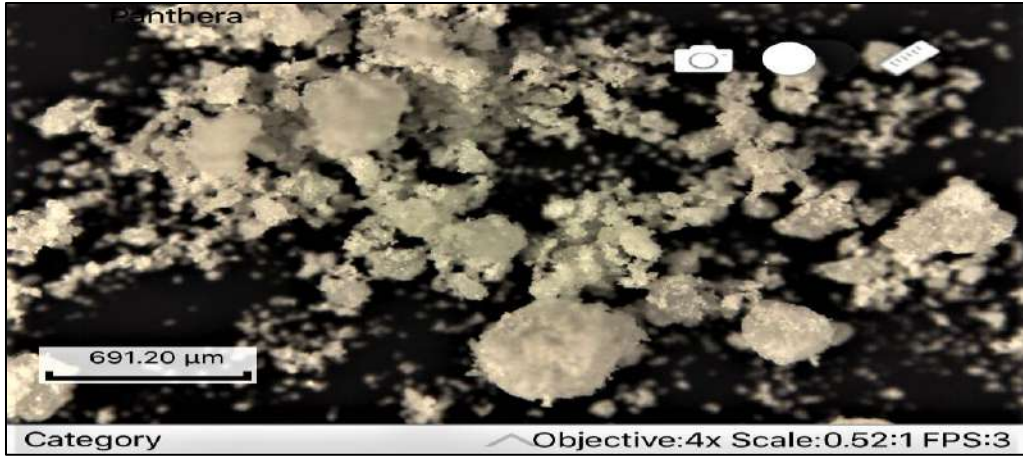


Figura 7. Captura imaginii microscopice a dispersiei solide cu formula F.2.4



Figura 8. Captura imaginii microscopice a dispersiei solide cu formula F.2.5



Figura 9. Captura imaginii microscopice a dispersiei solide cu formula F.2.6

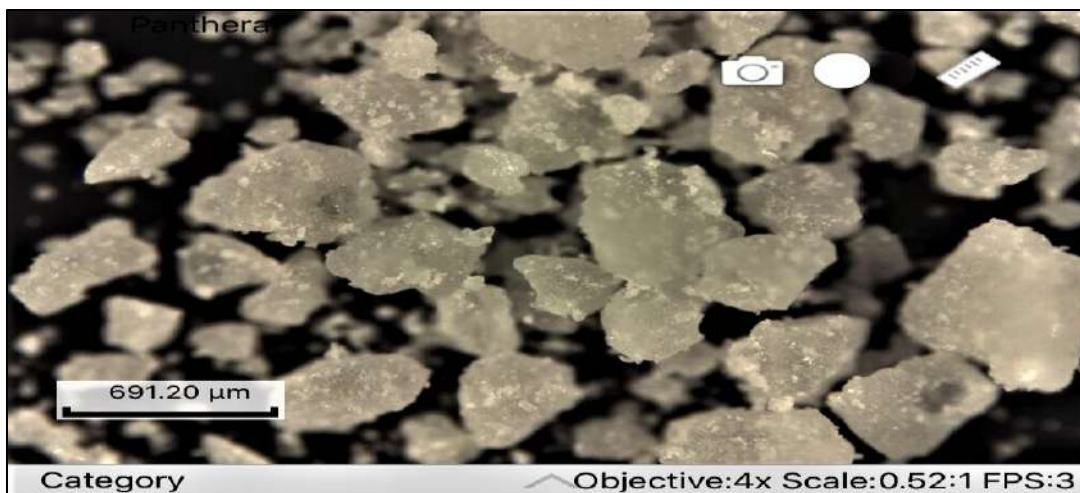


Figura 10. Captura imaginii microscopice a dispersiei solide cu formula F.3.1

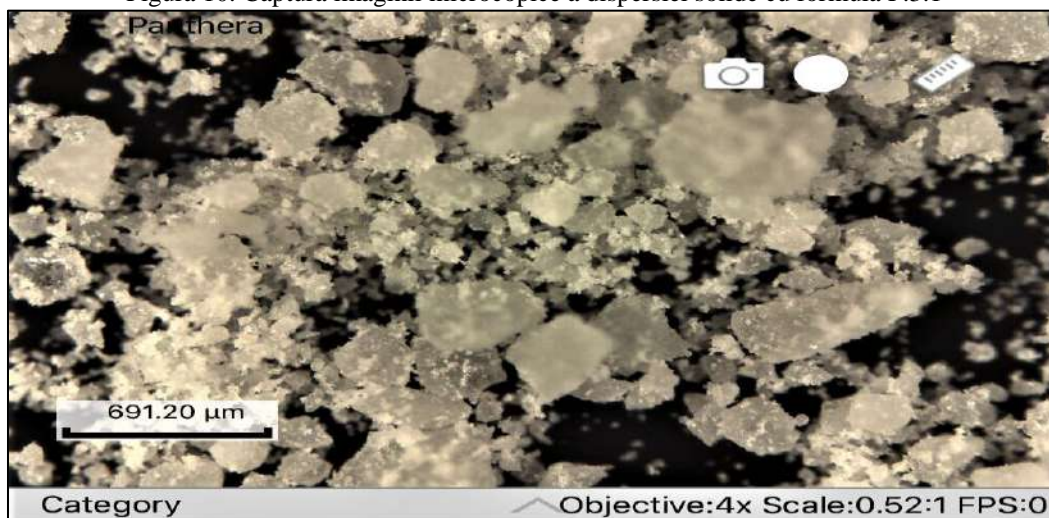


Figura 11. Captura imaginii microscopice a dispersiei solide cu formula F.3.2

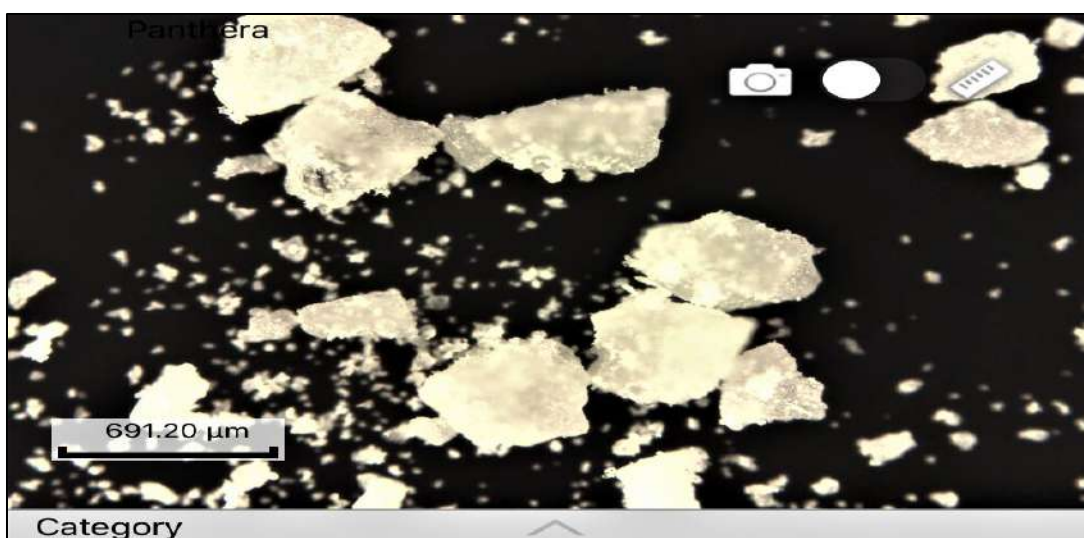


Figura 12. Captura imaginii microscopice a dispersiei solide cu formula F.3.3

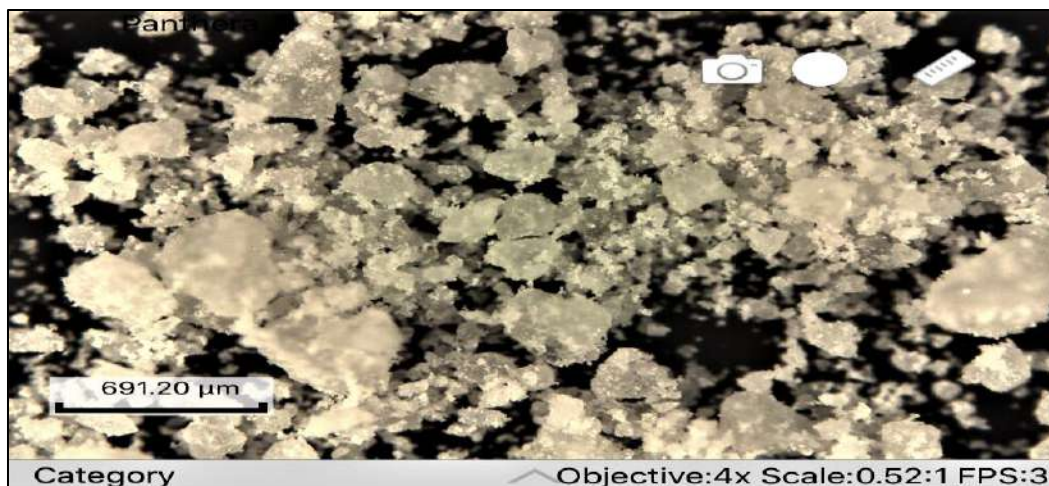


Figura 13. Captura imaginii microscopice a dispersiei solide cu formula F.3.4



Figura 14. Captura imaginii microscopice a dispersiei solide cu formula F.3.5

III.1.2.14. Concluzii

În urma evaluării morfologiei dispersiilor solide obținute, utilizând microscopia optică cu iluminare tangențială, prin comparație cu substanțele ca atare și cu simplele lor amestecuri fizice, s-a evidențiat o modificare semnificativă în forma, dimensiunea și structura sistemelor binare. Cristalele sunt translucide, uniforme, ceea ce conduce la concluzia că fenomenul de dispersare a amidaronei în matricile de polimeri a avut loc cu succes.

III.1.2.2. Caracterizarea dispersiilor solide prin determinarea caracteristicilor volumetriche

III.1.2.2.1. Motivarea studiului întreprins

Pentru a se aprecia comportarea unui material în procesul de comprimare se recomandă și studiul comportării materialului la un proces mecanic de tasare. Volumul inițial și volumul după tasare dă indicații asupra proprietății pulberilor de a-și diminua volumul sub acțiunea unei forțe mecanice, și proprietatea substanței de a ocupa spațiile libere din structura sa netasată. Cu cât volumele sunt asemănătoare, cu atât se poate spune că substanța s-a aranjat în spațiul constrâns de cilindru cât mai bine posibil, rezultând concluzia că avem de-a face cu o curgere bună a substanței, însă poate indica o lipsă de compresibilitate a pulberii.

Dacă facem analogia cu bilele de rulment, acestea își vor ocupa aproape imediat volumul inițial și nu va diferi cu mult față de cel tasat, însă la comprimare, aceste bile nu vor avea cum să creeze legături între ele și nu vor face un tot unitar.

Dacă am avea, pe de alta parte, granule asemănătoare cu un pachet de cuie de fier, volumele inițiale și cele după tasare vor diferi corespunzător, vor avea o curgere proastă, dar la comprimare vor crea punți mecanice și vor crea un solid unitar.

III.1.2.2.2. Materiale și metode

Un parametru care poate da indicații asupra curgerii și compresibilității materialelor este indicele Hausner, obținut din raportul între densitatea la tasare și densitatea aparentă a pulberii. O valoare ridicată a acestui indice desemnează un caracter coeziv accentuat al pulberii și o diminuare a curgerii libere.

O altă măsură a compresibilității este indicele Carr, care se calculează tot din valorile densităților inițiale și după tasare a materialului.

Densitatea aparentă sau masa volumetrică reprezintă o caracteristică volumetrică importantă pentru reologia pulberilor, alături de volumul aparent, volumul porilor și porozitatea. Acest lucru este prezentat în tabelul următor.

Tabelul 16. Relația între compresibilitatea procentuală (indicele Carr) și curgere

Indicele Carr	Curgerea
5 – 10 %	Excellent - Excelentă (curgerea liberă a granulelor)
10 – 15 %	Good - Bună (curgerea liberă a granulelor pulverulente)
15 – 20 %	Fair - Medie (granule pulverulente)
20 – 25 %	Passable - Slabă (pulberi foarte fluide)
25 – 30 %	Poor-Foarte slabă (pulberi coezive fluide)
35 - 38 %	Very poor - Extrem de slabă (pulberi coezive)
> 40 %	Very very poor – Extrem extrem de slabă (pulberi foarte coezive)

Densitatea aparentă caracterizează gradul de împachetare sau de tasare al unei pulberi și schimbările survenite în volumul său prin consolidare, fiind în același timp și un indicator al capacității de comprimare al acesteia.

Densitatea în vrac se determină prin măsurarea volumului ocupat de o masă cunoscută de pulbere turnată într-un cilindru gradat.

Densitatea după tasare se determină provocând tasarea unui eșantion de pulbere aflat într-un cilindru gradat. După citirea volumului inițial, cilindrul este supus unor șocuri mecanice și se continuă citirile până când schimbările de volum observate sunt minime.

Pentru determinări s-a utilizat dispozitivul de tasare mecanică ERWEKA SVM 12.

Modul de lucru:

- în cilindrii gradați și uscați ai aparatului s-au introdus 20g din pulberea compusă de analizat;
- se fixează cilindrii în suport;
- se citește volumul aparent netasat V_0 , estimat cu precizie de 1 ml;
- se provoacă 10, 500 și 1250 de tasări mecanice și se citesc volumele corespunzătoare V_{10} , V_{500} , V_{1250} , estimate cu precizie de 1 ml;
- dacă diferența între V_{500} și V_{1250} este mai mare de 2 ml, proba se supune din nou la alte 1250 de șocuri (total 2500 tasări), și se citește volumul rezultat (V_{2500});
- se efectuează 5 determinări pentru fiecare pulbere și se calculează media.

Exprimarea rezultatelor:

- a) Volume aparente
 - volumul aparent înainte de tasare sau volumul bulk (V_0);
 - volumul aparent după tasare sau volumul tasat (V_f): V_{1250} , sau V_{2500}
- b) Capacitatea de tasare
 - se calculează diferența $V_{10} - V_{500}$
- c) Densități aparente sau mase volumetrică aparente
 - densitatea aparentă înainte de tasare sau densitatea produsului în vrac (g/cm^3);
 $\rho_0 = m/V_0$
 - densitatea aparentă după tasare sau densitatea produsului tasat (g/cm^3)
 $\rho_f = m/V_{1250}$ sau m/V_{2500}
- d) Raportul Hausner (RH)
 $RH = \rho_f / \rho_0$
- e) Indicele Carr (compresibilitatea %)

$$IC = \rho_f - \rho_0 / \rho_f \times 100$$

III.1.2.2.3. Rezultate și discuții

Rezultatele obținute sunt redată în tabelele următoare:

Tabelul 17. Determinarea densităților și a indicilor de compresibilitate și de curgere a dispersiilor solide după măcinare pentru formulele F2.1-F2.6

III.1.2.2.4. Concluzii

În ambele cazuri ale pulberilor compuse studiate, scăderea volumelor este mai accentuată în timpul primelor 500 de tasări, apoi modificările sunt neînsemnate. Analizând rezultatele obținute, atât valorile raportului Hausner, cât și cele ale indicelui Carr, acestea indică faptul că ambele tipuri de dispersii studiate au o comportare asemănătoare, cu o curgere medie spre foarte bună.

Formulele de dispersii solide cu PEG ca ingredient majoritar prezintă o curgere superioară celor combinate cu soluplus, indicând probabil o mai mare coezine a granulelor în cazul celor din urmă.

III.1.2.3. Determinarea mărimii particulelor

III.1.2.3.1. Motivarea studiului întreprins

Dimensiunea particulelor reprezintă o proprietate esențială a pulberilor, care influențează calitatea farmaceutică și terapeutică a produselor finite.

Pulberile cu dimensiune mică a particulelor prezintă suprafața de contact mărită, compresibilitate mare, o mai mare rată de dizolvare datorită suprafeței, însă o curge deficitară. În practică se urmărește un compromis între aceste aspecte.

III.1.2.3.2. Materiale și metode

Metoda cernerii și a sortării

Principiul măsurării se bazează pe trecerea pulberilor sau a granulelor prin ochiurile unei site (cernere) sau pe separarea fracțiunilor de particule cu o serie de site suprapuse în ordinea descrescătoare a mărimii ochiurilor (sortare). Se lucrează de obicei cu materiale uscate, dar se poate lucra și în mediu umed, atunci când pulberile se aglomerează în timpul cernerii.

Cernerea se efectuează prin agitare, care se face în plan orizontal (liniar sau prin rotire) sau în plan vertical, care este mai eficientă. Se poate folosi și cernerea cu ajutorul unui curent de aer.

Analiza granulometrică a pulberilor compuse și clasarea după mărime s-a efectuat prin metoda cernerii prin agitare mecanică, cu ajutorul aparatului Cisa Sieve Shaker produs de Cisa Cedacteria Industrial, Spania.

1. Bara mobilă pentru reglarea înălțimii coloanei de site,
2. Bare verticale de susținere a barei mobile,
3. Dispozitiv de prindere pe bara mobilă,
4. Coloană de site (max8),
5. Platformă de vibrare,
6. Sistemul de control al aparatului,
7. Picior din cauciuc pentru reglarea înălțimi aparatului.

Principiul metodei

Metoda constă în trecerea materialului prin agitare mecanică, printr-un set de site cu mărimi cunoscute, așezate una sub alta, în ordinea crescătoare a gradului de finețe.

Descrierea echipamentului utilizat:

- set de 8 site de oțel inoxidabil, cu înălțimea de 50 mm și diametrul de 100 mm, standardizate 80 μm – 1,18 mm;
- capacitatea maximă a aparatului: 8 site cu înălțimea de 55 mm sau 16 site cu înălțimea de 25mm;
- greutatea maximă a coloanei de site, inclusiv materialul de cernut: 6,50 kg;
- sistemul de susținere a coloanei de site: două bare verticale de oțel care susțin o bară orizontală din aluminiu prevăzută cu cleme de fixare pentru ajustarea coloanei de site;
- tipul de mișcare: tridimensională, constând într-o combinație între mișcarea verticală cu amplitudinea variabilă, și cea de rotație a materialului de cernut pe toată suprafața sitei;
- sistemul de control:
→ amplitudinea: 5-20 (15 nivele de intensitate)

→ timp: 0-99 minute;

- sisteme de cernere: uscată și umedă;

- nivel de zgomot (fără site și cu amplitudine maximă): <66 dBA.

Tehnica de lucru:

- se cântărește proba și se transferă pe prima sită a setului de site selecționat;
- se acoperă ansamblul cu capac și se pune aparatul în funcțiune;

S-a folosit un ansamblu format din următoarele site:

- Capac Superior
- sita de 710 μm
- sita de 425 μm
- sita de 250 μm
- sita de 180 μm
- Capac Inferior

- după trecerea timpului programat, se cântăresc fracțiunile rămase pe fiecare sită și în recipientul de colectare de la baza ansamblului.

Condițiile experimentale ale testului:

- masa de material luat în lucru: 20g;
- timpul de cernere: 3 minute;
- amplitudinea: 2.5mm;
- condițiile mediului: temperatura și umiditatea camerei.

Se calculează procentajul de produs rămas pe fiecare sită, conform relației:

$g\% = \text{masa de material rămas pe sită} / \text{masa totală de material} \times 100$

III.1.2.3.3. Rezultate și discuții

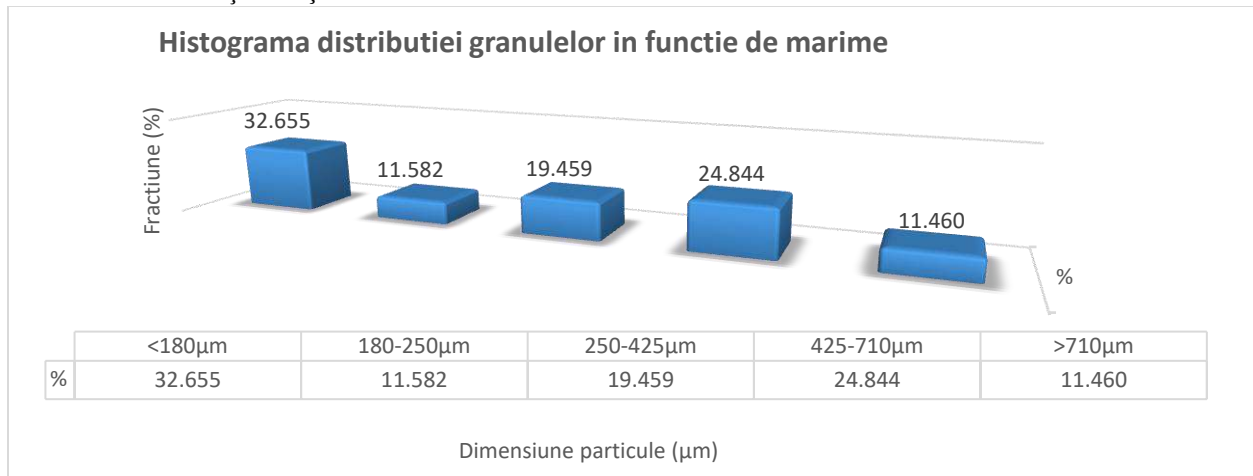


Figura 17. Histograma distribuției granulometrice a dispersei solide cu formula F2.1

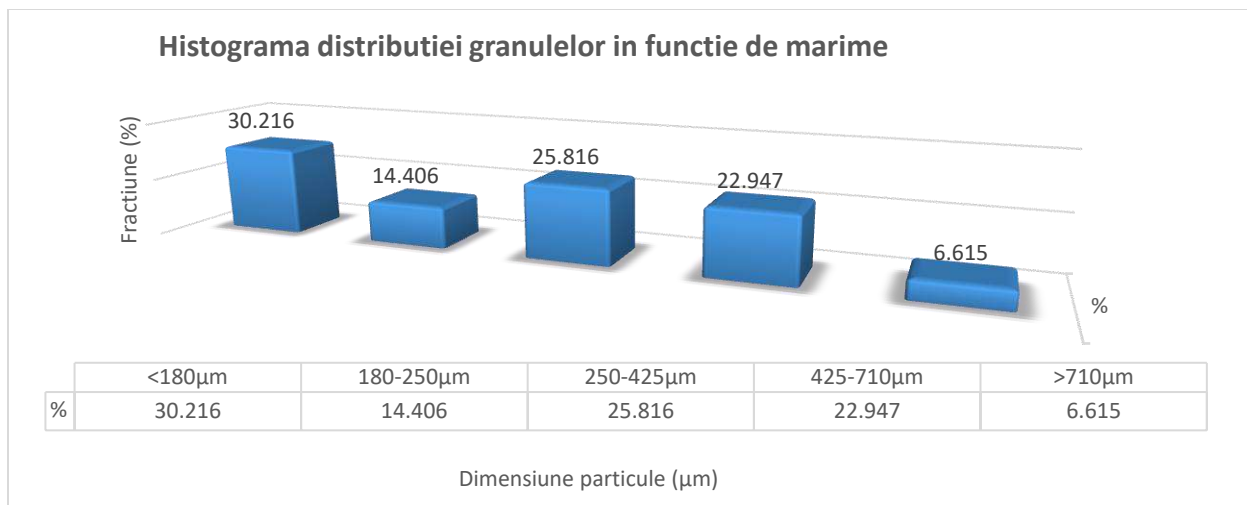


Figura 18. Histogramele distributiei granulometrice a dispersei solide cu formula F2.2

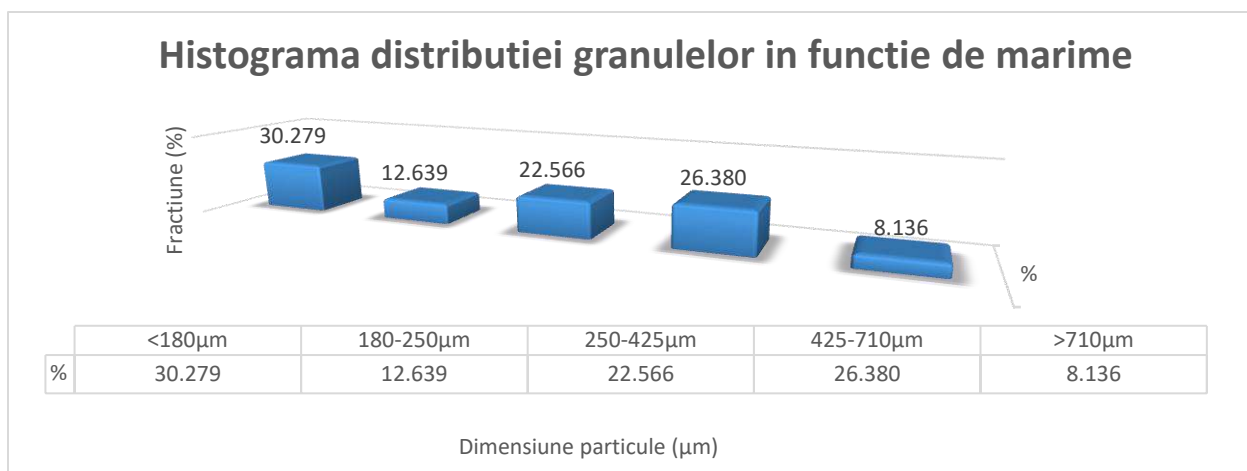


Figura 20. Histogramele distributiei granulometrice a dispersei solide cu formula F2.4

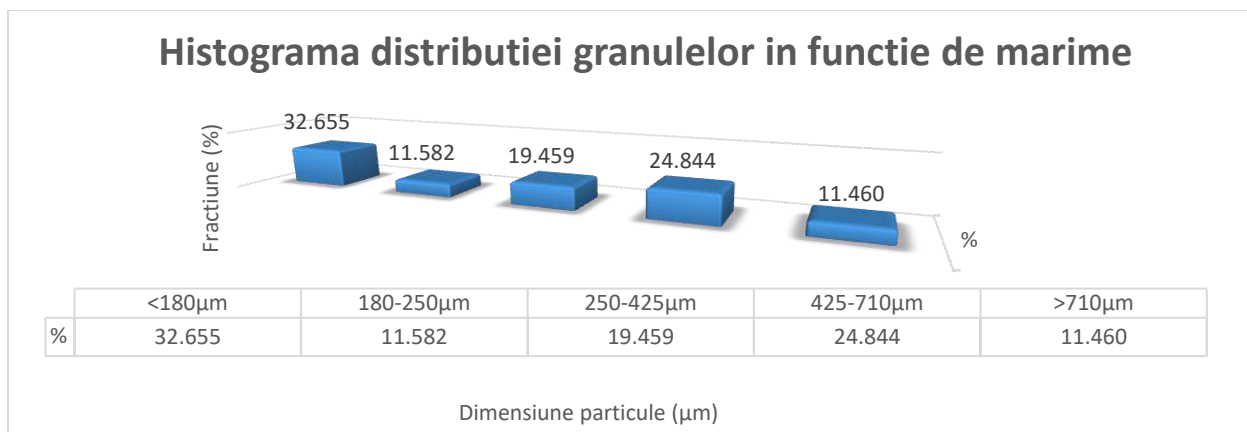


Figura 21. Histogramele distributiei granulometrice a dispersei solide cu formula F2.5

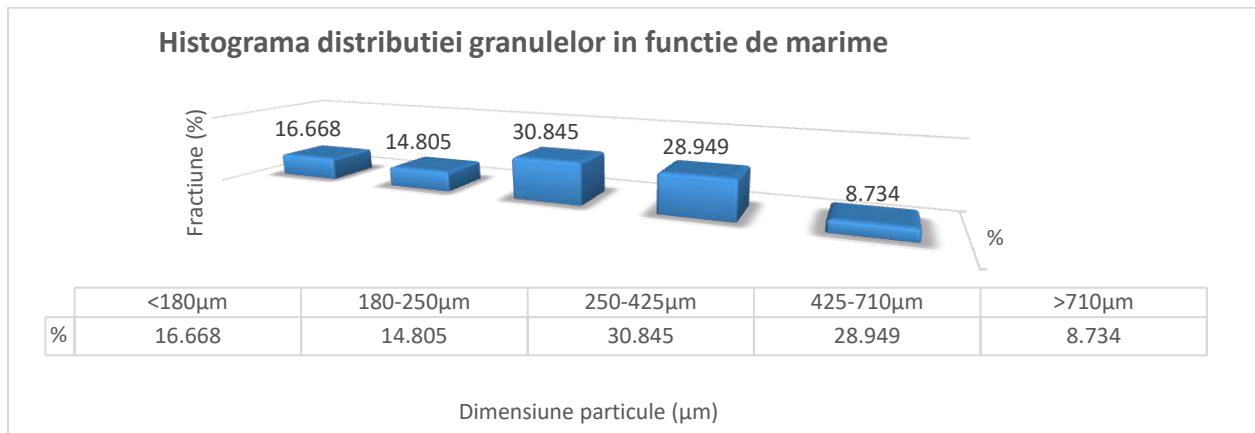


Figura 22. Histogramele distributiei granulometrice a dispersei solide cu formula F2.6

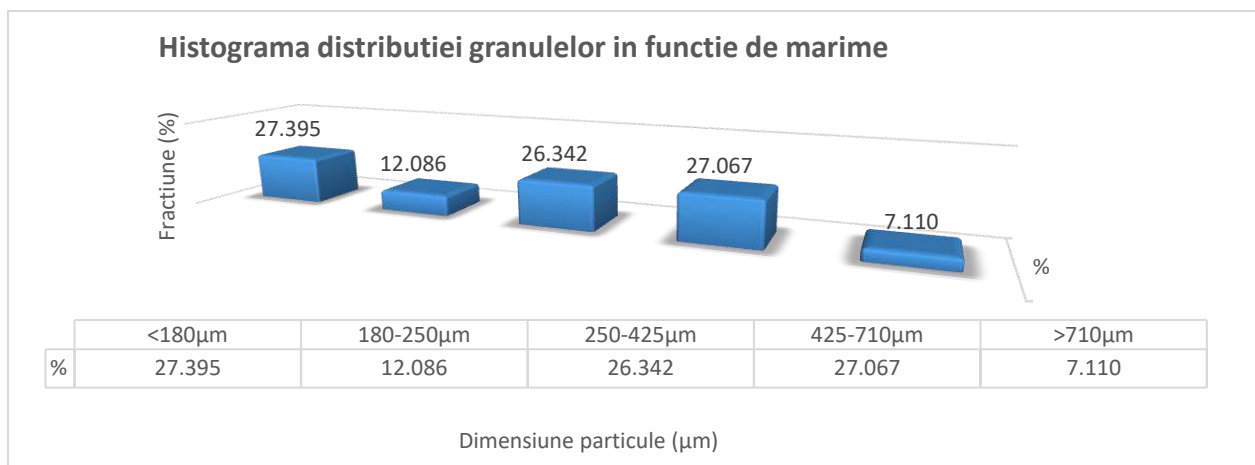


Figura 23. Histograma distributiei granulometrice a dispersei solide cu formula F3.1

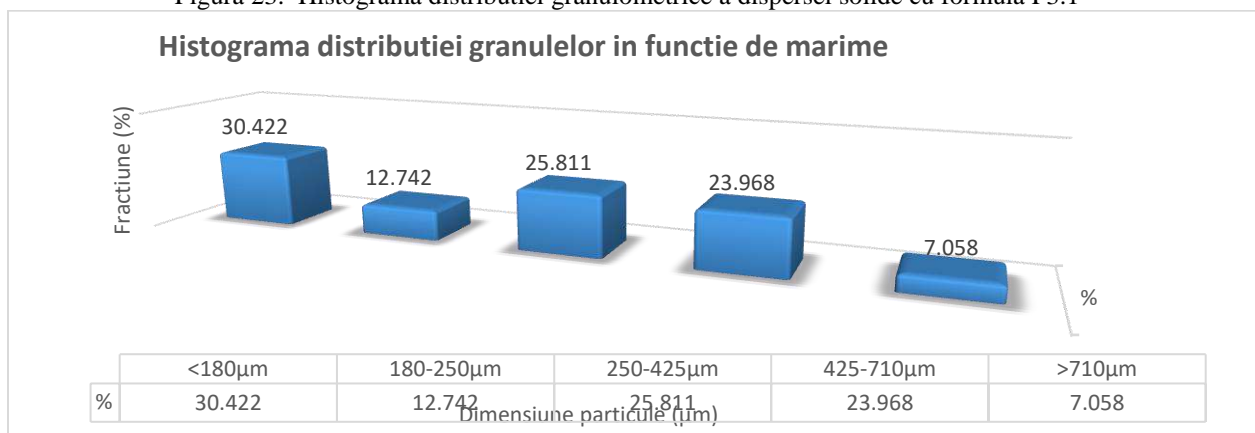


Figura 24. Histograma distributiei granulometrice a dispersei solide cu formula F3.2

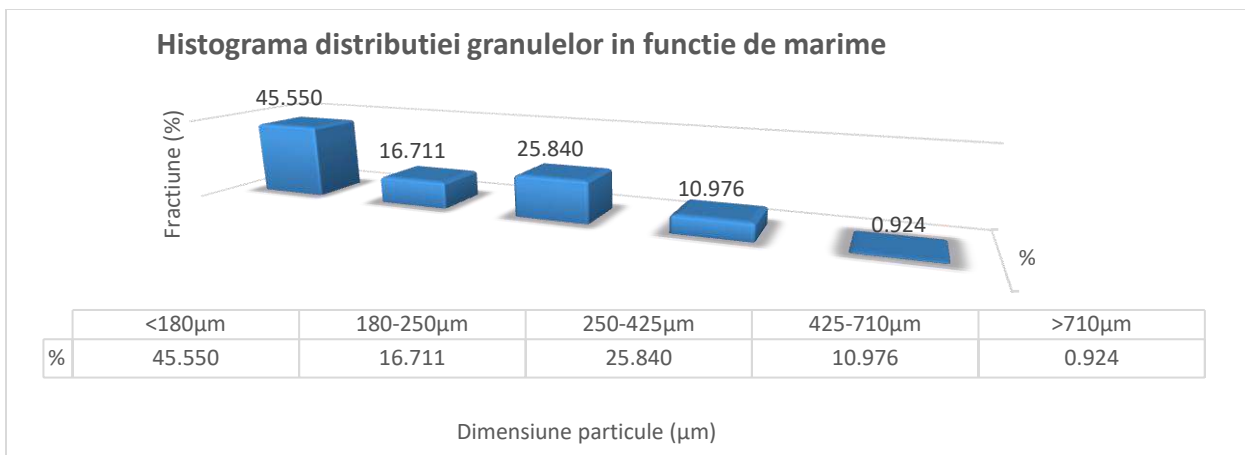


Figura 25. Histograma distributiei granulometrice a dispersei solide cu formula F3.3

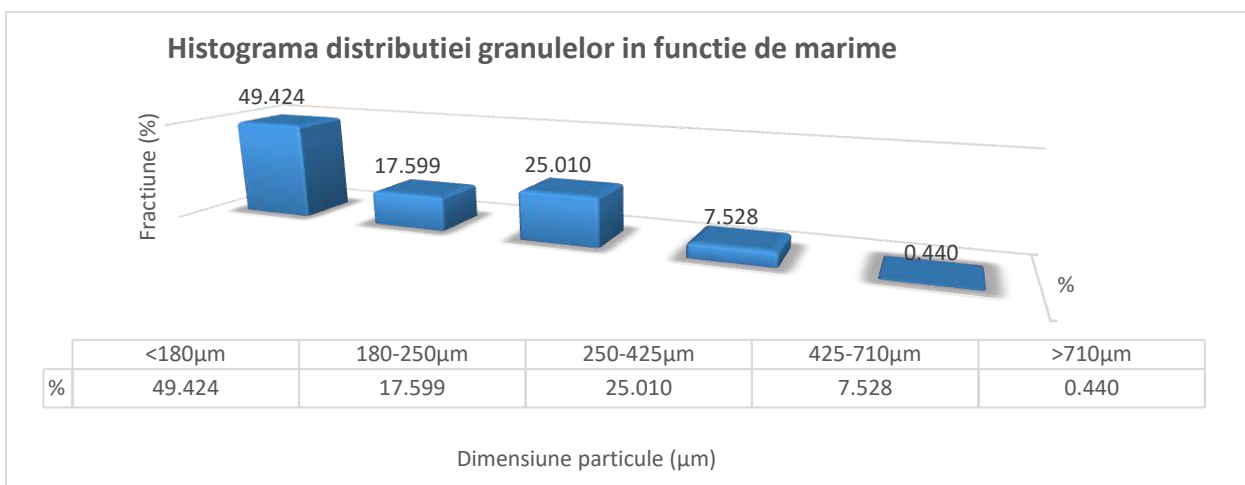


Figura 26. Histograma distributiei granulometrice a dispersei solide cu formula F3.4

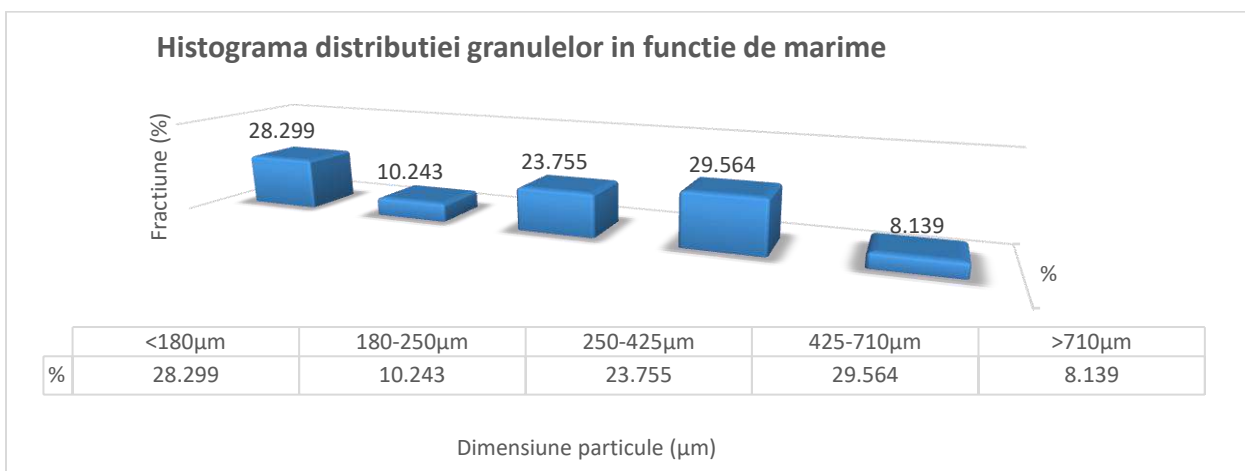


Figura 27. Histograma distributiei granulometrice a dispersei solide cu formula F3.5

III.1.2.3.4. Concluzii

Din analiza histogramei se constată că în formulele de dispersii solide după măcinare, distribuția dimensiunii particulelor este uniformă. Toate formulele au particule fine sub 180 μm peste 20% ceea ce va garanta o compresibilitate bună și un profil de dizolvare marit, iar faptul că nicio formulă nu prezintă particule fine peste 50% din compoziție indică faptul că vom avea o curgere adecvată a acestor granule.

III.1.3. Formularea comprimatelor

Obiectivele acestei etape a studiului au fost următoarele:

- amestecarea dispersiilor solide de amiodarona cu excipienții pentru comprimarea directă
- stabilirea caracteristicilor de curgere a pulberilor complexe.

Preformularea, sau cunoașterea materiilor prime ce se vor utiliza, este prima etapă în realizarea unui nou medicament. În cadrul preformulării, dispersiile solide de amiodaronă ce vor constitui ingredientele active ale unor comprimate cu administrare orală.

Dispersiile obținute sub forma unor granulate au fost omogenizate timp de 10 minute în vase de polipropilenă împreună cu excipienții pentru comprimarea directă, urmate de lubrifierea amestecurilor cu stearat de magneziu pentru încă 5 minute, într-un dispozitiv rotativ cu o viteză de 14 rpm.

Pulberile astfel compuse au fost apoi analizate și s-au determinat proprietățile fizice ale amestecului de pulberi ce urmează a fi comprimat, caracterizându-i gradul de finețe, proprietățile de curgere și densitatea acestora.

III.1.3.1. Prepararea amestecului de pulbere ce urmează a fi comprimat

III.1.3.1.1. Motivarea studiului întreprins

Proprietățile fizico-chimice ale particulelor (cum sunt: formă, mărime, densitate, greutate), precum și cele mecanice (elasitate, plasticitate, fragilitate) influențează comportamentul comprimatelor în timpul procesului de comprimare și ulterior ca medicamente.

În prezentul studiu s-au preparat diferite amestecuri de substanță activă în raport 1:2 cu polimeri solubili precum: PEG 1500, PEG 4000; PEG 8000, Soluplus; Koliphor 188; și amestecuri între aceștia pentru a determina tipul/ tipurile de polimeri și influența amestecului unui polimer cu altul în biodisponibilitatea substanței active.

III.1.3.1.2. Materiale și metode

Excipienții de comprimare au fost selectați astfel încât să asigure o compactibilitate bună și o dezagregare superioară. Astfel amestecurile au fost diluate cu celuloză microcristalină de tip 102 și au fost omogenizate cu superdezagregantul Amidon de Sodiu Glicolat Tip-A.

Deoarece dispersiile solide sunt cunoscute cu tendință de lipire pe suprafețele poansoanelor, s-a decis folosirea unui stearat de magneziu cu o suprafață mare de contact, Peter Greven Ligamed MF-2V. Excipienții au fost selectați astfel încât în urma comprimării să obținem comprimate ce conțin 50 mg amiodarona clorhidrat/comprimit.

III.1.3.1.3. Rezultate și discuții

Toate formulele cu excepția amestecului 1:2 Amiodarona cu Soluplus, au putut fi preparate cu tehnica SD. Formula cu amestecul 1:2 Amiodarona cu Soluplus nu a putut fi preparat deoarece temperatura în care cele 2 sunt în stare de topitură depășește temperatura de degradare a unuia dintre cei doi compuși, cu colorarea topiturii și degajarea unui fum înțepător și înecacios. Acest tip de amestec a putut fi preparat doar cu ajutorul extrudării la cald cu șurub.

III.1.3.1.4. Concluzii

S-au obținut amestecuri de pulberi, corespunzător ingredientului activ conținut prin amestecarea cu un excipient superdezagregant direct compresibil (amidon glicolatul de sodiu) un diluant (celuloza microcristalină) un lubrifiant (stearatul de magneziu), având aspecte corespunzătoare și asemănătoare, ce au fost supuse, în continuare, testării caracteristicilor de curgere, în vederea stabilirii formulărilor finale de fabricație a comprimatelor.

III.1.3.2. Stabilirea caracteristicilor fizice de curgere ale amestecurilor de pulberi ce urmează a fi comprimate

III.1.3.2.1. Motivarea studiului întreprins

Unul dintre obiectivele esențiale pentru realizarea comprimatelor îl constituie asigurarea curgerii libere a materialului, ceea ce determină la rândul ei :

- încărcarea uniformă a dispozitivelor de alimentare a mașinilor de comprimat din palniile de e conținând pulberea în vrac;
- umplerea într-un mod reproductibil a matriței mașinilor de comprimat pentru a asigura uniformitatea masei și a proprietăților fizico-mecanice ale comprimatelor;
- evitarea încorporării aerului în patul pulberii și prin aceasta evitarea fenomenelor nedorite care pot apărea la prepararea comprimatelor, cum ar fi decaparea sau laminarea;
- evitarea formării de particule fine în masa pulberii, care ar putea duce la creșterea fenomenelor de frecare cu pereții matriței, împiedicând buna lubrifiere.

III.1.3.2.2. Materiale și metode

Pentru determinări s-a utilizat dispozitivul de tasare mecanică ERWEKA SVM 12

Determinările s-au efectuat după metoda prezentată în capitolele anterioare

Obiectivele acestei etape a studiului au fost următoarele:

- Formularea unor comprimate pentru administrare orală ce au ca ingredient activ dispersia solidă de Amiodaronă clorhidrat cu un conținut de 50 mg Amiodaronă Clorhidrat/ comprimat;
- Obținerea de comprimate prin metoda comprimării directe;
- Controlul calitativ specific al comprimatelor preparate, efectuat conform prevederilor descrise în Farmacopea Europeană și literatura de specialitate.

III.1.3.1. Obținerea comprimatelor conținând dispersii solide de Amiodaronă Clorhidrat

III.1.3.1.1. Motivarea studiului întreprins

Scopul acestei cercetări este acela de a realiza o formulare adecvată care să ducă la obținerea unor comprimate corespunzătoare, în care ingredientele active să fie stabile și să fie cedate într-un timp optim.

Alegerea excipienților s-a făcut atât din considerente tehnologice cât și cu scopul de a obține un produs finit cu dezagregare și dizolvare bună, astfel încât să fie eficient terapeutic.

III.1.3.1.2. Materiale și metode

În urma datelor obținute prin efectuarea preformulării asupra materiilor prime, determinând proprietățile fizice ale acestora, s-a constatat că dispersiile solide pot fi prelucrate în comprimate prin comprimare directă.

Fazele procesului de fabricație parcurse sunt următoarele:

Figura 28. Schema de flux a realizării comprimatelor cu Amiodaronă Clorhidrat

Formulele finale preparate pentru transformarea în comprimate sunt prezentate în tabelele următoare:

Comprimarea amestecurilor lubrificate:

Pentru obținerea de comprimate s-a folosit o mașină de comprimat cu excentric Erweka EK-O.

Comprimarea este un proces în care un anumit număr de particule solide sunt supuse unor forțe opuse dirijate de la exterior către interior în urma cărora amestecul își micșorează volumul și se transformă într-un tot compact care ia forma matriței în care s-a efectuat comprimarea.

Părțile principale ale mașinii de comprimat sunt: o matriță în care se introduce materialul de comprimat și două poansonuri care exercită presiunea realizând comprimatul.

La mașina de comprimat cu excentric pâlnia de umplere este mobilă, iar matrița este fixă și lucrează în cinci timpi:

- 1 -umplerea spațiului gol al matriței prin alunecarea pâlniei cu materialul de comprimat
- 2 -retragerea pâlniei și pornirea poansonului superior în jos.
- 3 -comprimarea materialului de către poansonul de sus.
- La primii trei timpi, poansonul de jos stă nemiscat în poziția cea mai inferioară.
- 4 -ridicarea poansonului de sus și împingerea comprimatului de către poansonul de jos până la nivelul mesei pe care aluneca pâlnia.
- 5 -împingerea comprimatului de către sabotul pâlniei distribuitoare și reîntoarcerea bruscă a poansonului de jos în poziția inițială inferioară.

Mod de lucru:

După fixarea și racordarea la rețea a mașinii se montează pâlnia de umplere și matrița pentru tableta de presat, care se transportă în stare demontată.

Operația de montare sau schimbare a poansonului trebuie făcută des în funcție de tableta dorită. Prima dată se îndepartează pâlnia de umplere. După desfacerea șurubului poansonul superior se poate extrage.

Tot așa, placa matriței se poate ridica după îndepărtarea celor trei șuruburi cu cap hexagonal ce se găsesc în partea inferioară a plăcii matriței. După slăbirea șurubului de strângere se poate scoate contrapoansonul.

Montarea sculelor se face în ordine inversă. Prima dată trebuie introdus poansonul inferior fără a se strânge. După aceea placa împreună cu matrița se așează și se introduc cele trei șuruburi care de asemenea nu se strâng. Apoi se strânge poansonul superior și se strânge cu șurubul. Prin rotirea manuală atentă a volanului poansonului superior se lasă să intre în matriță din placa slăbită. Poansonul superior rămâne în matriță și se fixează atent masa mașinii cu cele trei șuruburi, după care se strânge și șurubul de fixare a contrapoansonului. Șuruburile plăcii nu se strâng cu forța pentru a nu o deforma, împiedicând astfel așezarea bună a pâlniei de umplere.

Dozarea înseamnă reglarea greutății produsului presat și se obține prin reglarea manetei de reglaj a adâncimii poansonului inferior cu mâna spre (+) sau minus (-) după ce în prealabil s-a slăbit șurubul cu maner. Aceasta reglare de dozare se realizează cu o mică ridicare a contra-poansonului, cu această piuliță de reglare a adâncimii de umplere nu mai este strâns în poziția de bază a contrapoansonului.

Reglarea presiunii, adică durezza produsului presat se obține prin rotirea melcului spre plus (+) sau minus (-). Înainte de rotirea melcului se slăbește șurubul, iar după reglare se strânge.

După reglarea prin rotirea manuală se verifică dacă poansonul superior nu atinge pâlnia de umplere, la îndepărtarea tabletelor presate să nu lovească colțul centru-poansonului. Prin ridicarea piuliței rotunde superioare, slăbindu-se în prealabil șurubul de fixare, contrapoansonul se ridică puțin și prin șurubul de reglare în adâncime, rotit la stânga contrapoansonul se mai poate ridica.

Întrucât contrapoansonul are un umăr, lovitura pe partea inferioară a matriței trebuie să fie neînsemnată, așa că la rotirea volantei să nu se simtă rezistență.

Dacă toate reglajele sunt corecte și se rotește roata manuală fără rezistența nenormală, înseamnă, că presa se rotește mai departe, fără material cu ușurință, umplut cu material apare o rezistență în timpul presării și o ușoară rezistență la expulzarea tabletelor. Dacă presiunea de scoatere a tabletelor este mare cauza poate constitui pregătirea necorespunzătoare a materialului și eventualele adâncituri în lăcașul de presare a matriței. Aceste adâncituri pot apare după o durată mare de utilizare. Aceste matrițe trebuiesc recondiționate.

Dacă mașina nu se poate roti manual, presiunea este reglată la o valoare prea mare și totuși rezistența tabletelor este insuficientă, forța de legătură din materialul de presat este necorespunzătoare.

III.1.3.1.3. Rezultate și discuții

În urma comprimării pulberii conținând dispersii solide de amidarona clorhidrat s-au obținut comprimate neacoperite ce prezintă caracteristici asemănătoare, de culoare alb- alb cenușiu, având formă de discuri plate, cu structură compactă și omogenă, cu suprafețe netede și uniforme, margini intacte și diametrul de $12 \pm 0,1$.

III.1.3.1.4. Concluzii

Ambele formulări conținând dispersii solide de amidarona clorhidrat, propuse, au permis operația de comprimare directă pentru transformarea acestora în comprimate cu aspect corespunzător, uniforme, cu suprafață netedă și margini intacte.

III.1.4. Caracterizarea fizico-chimică a comprimatelor

III.1.4.1. Controlul cantitativ și calitativ al comprimatelor conținând dispersii solide de amidarona clorhidrat

În continuare, ambele tipuri de comprimate obținute au fost supuse controlului cantitativ și calitativ, determinând:

- înălțimea comprimatelor;
- uniformitatea masei;
- rezistența mecanică.

III.1.4.1.1. Motivarea studiului întreprins

Determinarea înălțimii comprimatelor este un test neoficial, dar care corelat cu celelalte teste mecanice, oferă informații despre tipul de deformare care se produce în patul de pulberi în momentul comprimării. Coroborat cu distanța dintre poansonii în momentul comprimării indică dacă transformările au fost de natură plastică sau elastică. Uniformitatea masei este un studiu care are ca scop verificarea limitei unei valori determinate, în sensul că masa unei probe nu trebuie să depășească decât într-un anumit procent valoarea medie a sa. Majoritatea farmacopeelor prevăd cerințe stricte privind acest parametru

III.1.4.1.2. Materiale și metode

Pentru determinarea parametrilor farmacotehnici s-a folosit o combină automată Erweka TBH-3o
Cate 10 comprimate din fiecare formulă au fost măsurate automat pentru parametrii: masă, rezistență la rupere,

III.1.4.1.3. Rezultate și discuții

Rezultatele analizei farmacotehnice generate de combina Erweka TBH 30 sunt prezentate în figurile următoare:

III.1.5. Determinarea cineticii de eliberare a amiodaronei din comprimate si din sange

Instrumente

Analizele au fost efectuate cu ajutorul următoarelor echipamente:

Cromatograf de lichid de înaltă performanță pentru ape

Structura sistemului:

Controlor Waters 600E

Pompă Waters HPLC 600E

Prelevator automat de probe Waters 712 WISP

Detector de absorbantă tunabil Waters 486 UV-VIS

Centrifugă Hettich Universal (D-7200)

Balanță analitică Mettler AE 200

Baie cu ultrasunete Branson 1510

Coloanele HPLC

Separările au fost efectuate folosind o coloană de fază inversată:

Microsorb MV 100-5 C18 (Varian) 150 x 4.6 mm, silicagel modificat chimic octadecil ca fază staționară, dimensiune particule 5 μm; dimensiune por 100 Å; complet plafonat.

Nr. serie 243112; Nr. Cat: R0086200D5

Coloană de protecție: ODS TR-015326

Metoda de preparare a probelor

Procedura finală de preparare a probelor pentru izolarea și concentrația de amiodaronă și metabolitul său din probele de plasmă constă în următorii pași:

- Din probele de plasmă se transferă un volum de 1000 μl de plasmă într-un flacon de testare de 10 ml.
- Se adaugă 50 μl de soluție metanolică de fenofibrat cu o concentrație de 20,0 μg/ml pentru fiecare probă de plasmă de 1000 μl prelevată în analiză. Se amestecă 0.5 minute.
- Se adaugă 500 μl de soluție tampon de fosfat (pH 4.5) pentru fiecare probă de plasmă de 1000 μl prelevată în analiză. Se amestecă 0.5 minute.
- Se adaugă 4 ml de terț-butilmetil eter și se închide bine
- Se amestecă timp de 15 minute în agitatorul orizontal
- Se transferă proba într-o fiolă cu fund conic. Se așteaptă 1 minut pentru separarea fazelor.
- Se ia o alicotă de 3 ml din stratul organic într-o fiolă cu fund scurt.
- Se evaporă până la uscare la 40°C sub fluxul N₂
- Se ia din nou reziduul solid cu faza mobilă de 200 μl într-o fiolă de injecție adecvată pentru suportul pentru prelevatorul automat de recoltare probe HPLC.
- Se injectează o alicotă de 100 μl în coloana cromatografică

Procedura de determinare cantitativă a Amiodaronei în probele de plasmă

Descriere:

Analizele au fost împărțite în 10 serii analitice care urmează să fie efectuate fără oprirea sistemului cromatografic. O curbă de calibrare a fost analizată la începutul fiecărei secvențe; o serie de Controlul calității a fost efectuată la fiecare 46 de injecții cu probe reale.

Concentrațiile din probele reale au fost estimate pe curbele de regresie obținute din datele probelor de calibrare obținute în aceeași ordine. S-au efectuat calcule pe zonele de varf Amiodarone și Desetil-amiodarone normalizate la suprafețele standard interne folosind o ecuație de regresie liniară.

Criterii de acceptare

Pentru a accepta datele analitice, au fost verificați următorii parametri în fiecare ciclu de analiză:

- Etalonarea cu un coeficient de corelație >0,99
- Cel puțin patru din șase standarde diferite de zero trebuie să fie în limita a + 15% din valoarea lor nominală(+ 20 % pentru LLOQ)
- Cel puțin două treimi din Controlul calității măsurat, în fiecare secvență trebuie să se încadreze în ± 15% din valoarea lor nominală.

Cinetica de eliberare a amidaronei din comprimate

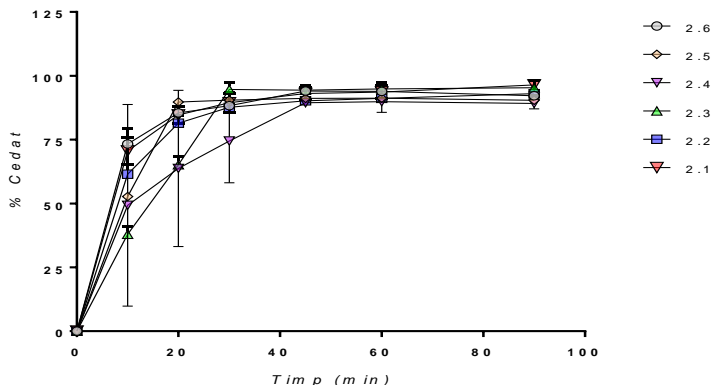


Figura 33. Cedarea din comprimate pe baza de dispersii cu PEG si Polaxamer

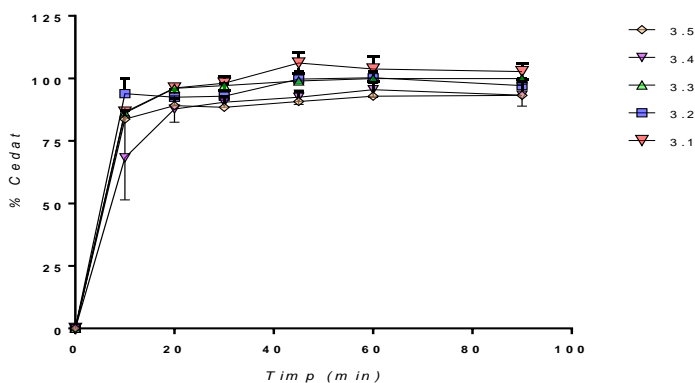


Figura 34. Cedarea din comprimate pe baza de Dispersii cu PEG si Soluplus

Poloxamerii sunt copolimeri tribloc neionici compuși dintr-un lanț central hidrofobic polioxipropilena (poli(propilene oxide)) flancată de două lanțuri hidrofilice de polioxietilenă (poli(etilene oxid)). Miezul agregatelor alcătuit din blocuri insolubile (polioxipropilene) în timp ce partea solubila (polioxietilena) formează învelișul micelilor.

Soluplus® este polivinil caprolactam-polivinil acetat-polietilene glicol copolimer solubilizant polimeric cu structură amfifilică, utilizat în special pentru formarea de soluții solide.

În prezentul studiu amestecurilor de polimeri, dizolvarea tuturor a fost foarte bună. Ar părea că poloxamerii sunt mai solubili decât Soluplus și ar fi de așteptat o dizolvare mai rapidă în prezența lor, ceea ce nu se întâmplă. Dizolvarea a fost cea mai lentă în prezența de Polaxamer (2.3. și 2.4.) și PEG, dar în prezența numai de Polaxamer (2.5.), s-a dizolvat mai repede decât în 2.3. și 2.4.

În prezența de Soluplus, dizolvarea a fost cea mai lentă în cazul în care s-a asociat și polaxamer.

III.2. ANALIZA VARIABILITĂȚII DATELOR DE FARMACOCINETICĂ A AMIODARONEI ÎNTR-UN STUDIU DE BIOECHIVALENȚĂ

III.2.1. Evaluarea farmacocineticii amiodaronei și a desetilamiodaronei

Rezultate

Evaluarea uzuală a bioechivalenței se realizează în ceea ce privește nivelurile medii ale plasmelor și parametrii farmaco-kinetici. După cum se poate observa în Figura 35 (reprezentare comună în studiile de bioechivalență), nivelurile medii de plasmă și concentrațiile maxime medii ale formulilor comparate au fost foarte apropiate unele de altele. Trebuie remarcat faptul că, de obicei, concentrația maximă, în cazul amiodaronei, este o fluctuație, o "zonă de concentrații maxime", care este, de regulă, consecința reacțiilor metabolice caracteristice la medicamentele lipofile [71,72,73] care duc la circulația enterohepatică, cu efect de perturbare a estimării bioechivalenței [74,75] și cu implicații clinice [76].

Dar dincolo de acest prim aspect, trebuie să căutăm variabilitatea, deoarece este foarte important pentru un anumit pacient dacă se află în partea superioară sau inferioară a grupului de nivel de plasmă, deoarece efectele terapeutice și toxice depind de concentrațiile medicamentului. Prin urmare, este necesar să se cunoască bine principalele aspecte ale variabilității în determinarea raportului beneficiu/risc al medicamentului.

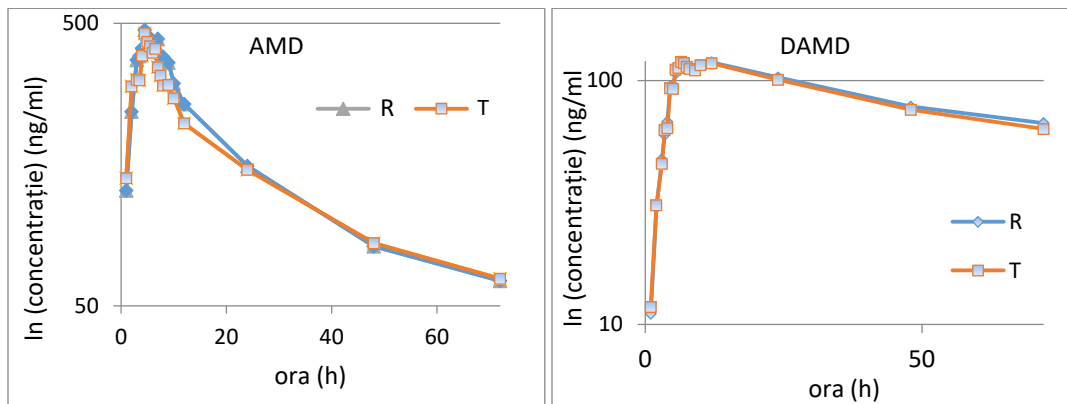


Figura 35. Concentrațiile de AMD și dAMD în intervalul de timp 0 – 72 ore

Într-o a doua etapă, se adaugă o caracterizare a variabilității, utilizând deviațiile standard ale populațiilor de concentrații corespunzătoare diferitelor puncte temporale, după cum se poate observa în Figura 36.

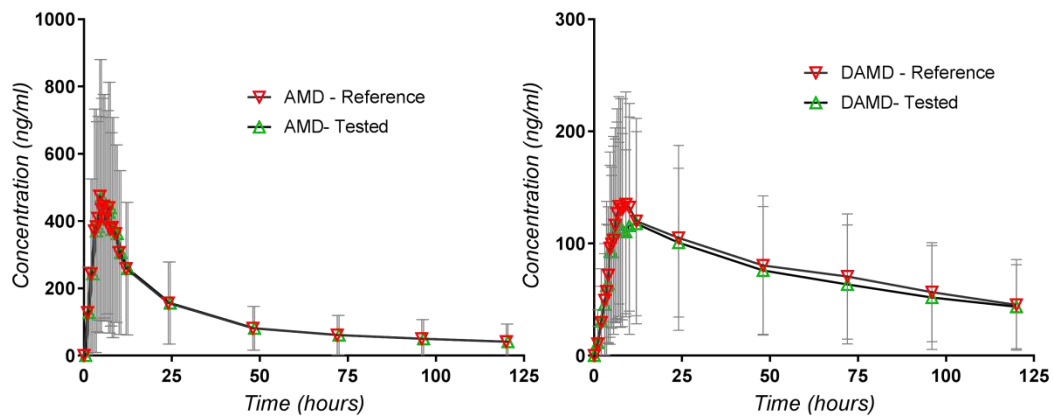


Figura 36. Concentrațiile plasmatice ale AMD și dAMD

III.2.2. Evaluarea globală, structurală a mulțimii curbelor individuale

Variabilitatea între subiecți, sugerată de deviațiile standard, este uriașă atât pentru medicamentul sursă, cât și pentru metabolit. Acesta este, probabil, cel mai important aspect al riscului de efecte secundare. Ceea ce nu este evidențiat de această reprezentare, altfel comună în alte lucrări decât cele legate de bioechivalență, sunt unele fenomene foarte semnificative care pot influența concluziile evaluărilor statistice [75,77]: Prezența valorilor aberante și/sau împărțirea datelor în unele grupuri diferite, diferite întâzieri de absorbție etc. Aceste caracteristici pot fi observate după examinarea setului tuturor curbelor individuale, din păcate, un tip de reprezentare care lipsește în lucrările legate de studiile de bioechivalență.

În studiile BE, următoarele pot apărea ca valori aberante: puncte, set de puncte în zona concentrațiilor maxime, curbe farmaco-kinetice întregi, perechi de curbe corespunzătoare aceluiași subiect, subiecți, parametri farmaco-kinetici [78], etc. Parametrii farmaco-kinetici aberanți care influențează decizia privind BE sunt cei pentru care indicii lor corespunzători unui anumit subiect sunt aberanți comparativ cu intervalele de încredere pentru acești parametri. Acești factori farmaco-kinetici aberanți pot avea cauze bio-analitice, fiziologice și fizico-chimice.

Examinarea Figurii 37 a arătat o variabilitate imensă în Cmax, Tmax și ASC în cazul metabolitului. Examinarea curbelor întregi (de la 0 la 120 ore) sugerează o posibilă partiție a curbelor în două grupe: Una cu niveluri mai scăzute de concentrație și un grup de curbe cu valori mari. Pe de altă parte, cea mai mare curbă de concentrație pare a fi o curbă aberantă.

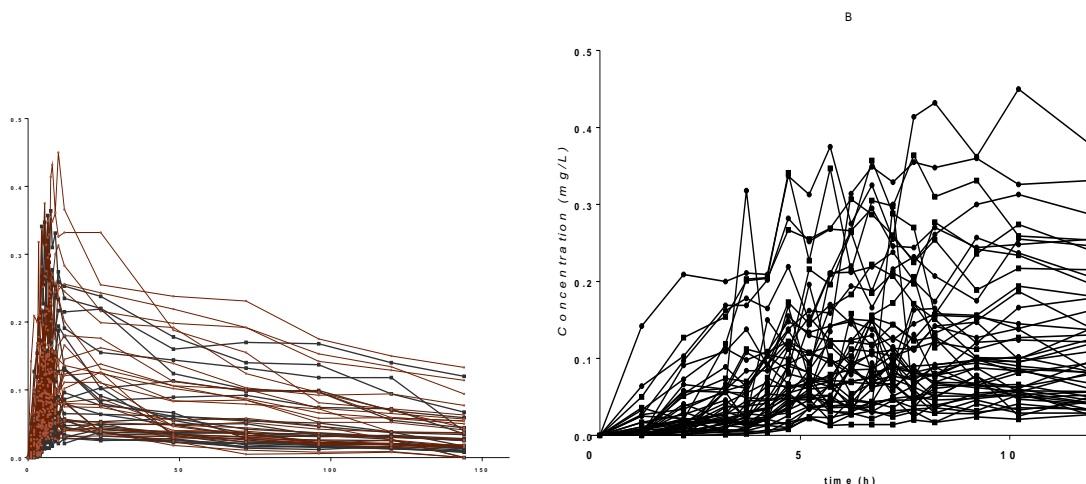


Figura 37. Nivelurile plasmatic individuale ale concentrațiilor dAMD

Evaluarea statistică a variabilității parametrilor farmaco-kinetici

Concentrații maxime de AMD. Variabilitatea între subiecți, măsurată prin coeficientul de variație (CV) a fost practic aceeași, 48% pentru medicamentul testat și 54% pentru medicamentul de referință. S-a observat o amplitudine mare a variabilității, în intervalul 136 - 1082 ng / ml pentru medicamentul testat și 168 - 1190 ng / ml pentru medicamentul de referință. Nu este posibil să se determine variabilitatea intra-subiect într-un studiu BE în absența administrării medicamentului duplicat, dar, deoarece produsele au fost bioechivalente și calculul ANOVA a relevat absența unor efecte semnificative statistice de secvență și perioadă, aceasta poate fi aproximată cu diferența de perioadă măsurată (care include intra-variabilitatea, efectele de formulare și efectele de perioadă). Valoarea intravariabilității estimate în acest fel este de fapt comasată între cea a medicamentului de referință și a medicamentului testat.

Concentrațiile maxime de metaboliti. Împărțirea în două grupuri a fost și mai evidentă în cazul metabolitului. Existau clase distincte, dar exista și o diferență semnificativă între ele:

- concentrații mai mici de 50 ng / ml,
- unele (5 din 24 curbe) concentrații mai mari de 125 ng / ml.

Variabilitatea AUC_{0-T} . Variabilitatea a fost ridicată în cazul AMD ($CV = 46\%$) și foarte ridicată în cazul metabolitului (125%), cu diferențe ne semnificative între formulele de referință și cele testate. Gama de valori a fost imensă: 4000 - 24000 ng / ml * h pentru AMD și 200 - 8000 pentru dAMD.

Variabilitatea $AUC_{0-\infty}$.

Variabilitatea a fost chiar mai mare decât cea a AUC_{0-T} .

Concluzii

1. Farmaco-kinetica AMD este foarte complexă și foarte variabilă, implicând provocări în dezvoltarea regimurilor terapeutice generale și individuale.
2. Mii de date obținute din studii de bioechivalență pot fi și trebuie evaluate în studii farmacodinamice și terapeutice ulterioare.
3. Pe lângă rezultatele medii obișnuite și deviațiile standard, este util să se estimeze intervalele de valori, valorile aberante ale oscilațiilor de viteză și gruparea datelor.
4. În toate studiile de bioechivalență, evaluarea datelor privind concentrațiile standard interne poate furniza informații privind efectele aportului alimentar standard asupra randamentului de extracție a plasmei.

III.3. ESTIMAREA CINETICII DE CEDARE *IN VIVO* A AMIODARONEI DIN ANALIZA

Model farmacocinetic pentru dizolvarea, absorbția, metabolizarea AMD, formarea și eliminarea DAMD

Amiodarona, fiind un medicament lipofil ($\log P = 7,24$), are un metabolism substanțial, fiind clasificată drept compuși de clasă 2 BDDCS (Sistemul de clasificare a eliminării medicamentelor biofarmaceutice) [105].

Ipoteza acestei analize, prezentată într-o lucrare anterioară de către autori [104], a fost că, dacă se poate presupune că absorbția și metabolismul sunt rapide, apariția metabolitului în plasmă $FRM(t)$ ar putea fi considerată o estimare a absorbției medicament părinte din intestin $FRA(t_i)$. Pe baza acestei ipoteze, ar fi de așteptat o corelație între dizolvarea *in vitro* și farmacocinetica *in vivo* a metabolizilor și acest lucru a fost într-adevăr găsit în cazul diltiazemului.

Deoarece farmacocinetica a fost măsurată după o singură doză, revenirea din „compartimentul adânc”, unde se acumulează în timp, a fost neglijată.

Mai mult, deoarece metabolizii apar în același timp cu AMD plasmatică, metabolismul este considerat un proces rapid.

În consecință, cea mai lentă etapă, determinanta a ratei totale pentru lanțul de cinetică care duce la apariția metabolitului în plasmă rămâne cinetica de eliberare a medicamentului părinte în tractul gastro-intestinal.

Din nou, deoarece AMD este lipofilă, rata de transfer din sânge în compartimentul lipidic este mai mare decât cea a transportului invers, întoarcerea AMD în sânge poate fi neglijată, iar transferul din sânge în lipide va deveni o componentă pentru eliminarea medicamentului principal.

Într-un model simplificat cu un singur compartiment pentru DAMD, luăm în considerare doar două procese, corespunzătoare apariției metabolitului în sânge și eliminării sale totale.

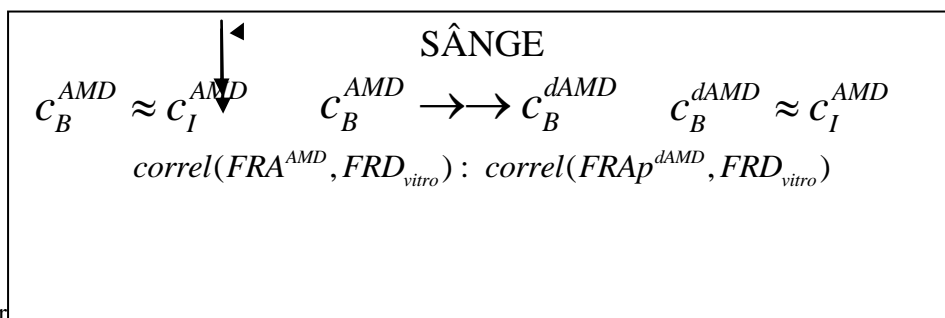


Figura 3. Model farmacocinetic pentru dizolvarea, absorbția, metabolizarea AMD, formarea și eliminarea DAMD.

unde C_I^{AMD} este concentrația tabletei, C_B^{AMD} și C_B^{dAMD} acestea fiind respectiv concentrațiile medicamentului parinte și a metabolitului în compartimentul de sânge,

→ reprezintă un proces lent → un proces rapid, FRA^{AMD} este fracția de absorbție a AMD, $FRAp^{dAMD}$ este fracția pentru apariția dAMD în sânge, FRD fracția pentru disoluție, corelație – *correl.*

Calculul fracției de apariție a DAMD în plasmă

O ecuație de tip Wagner – Nelson modificată [104] a fost aplicată pentru calcularea „fracțiunii de apariție” în plasmă a metabolitului ($FRAp$):

$$FRAp(t_i) = FRA^{dAMD} = \frac{c_B^{dAMD}(t_i) + \int_0^{t_i} k_e^{dAMD} c_B^{dAMD} dt}{\int_0^{\infty} k_e^m c_m dt} = \frac{c_m(t_i) + k_e^m [AUC - M]_{0-t_i}}{k_e^m [AUC - M]_{0-\infty}}$$

unde, FRA^{dAMD} , fracția medicamentului metabolizat la un moment dat t_i ; $c_m(t_i)$, concentrația plasmatică a metabolitului la timp t_i ; k_e^m , constanta aparentă a ratei de eliminare a metabolitului și $AUC - M$ aria sub niveluri plasmatică de metabolit.

Constanta ratei de eliminare a fost estimată într-o abordare necompartimentală (regresie liniară a ultimelor puncte ale datelor transformate logaritmice).

Modelul ar putea fi de fapt mult mai general. În cazul compușilor supuși metabolismului extins (compuși BDDCS clasa 1 și clasa 2), deoarece rata absorbției și metabolismului este de obicei ridicată, rata apariției metabolitilor în plasmă este determinată de rata și amploarea eliberării medicamentului părinte din formularea farmaceutică.

Rezultate și discuții

Dizolvarea in vitro a amiodaronei

Deoarece Amiodarona este lipofilă (logP 7.24) [106], dizolvarea sa în apă este foarte mică, astfel încât a fost necesar să se adauge agenți activi de suprafață în mediul de dizolvare. FDA recomandă lauril sulfat de sodiu (SLS) 1% sau Tween 80 1%. (accessdata.fda). În experimentul nostru, dizolvarea AMD a fost rapidă, într-o oră fiind completă în toate cazurile. Profilurile individuale de dizolvare a amiodaronei sunt prezentate în Figura 43a

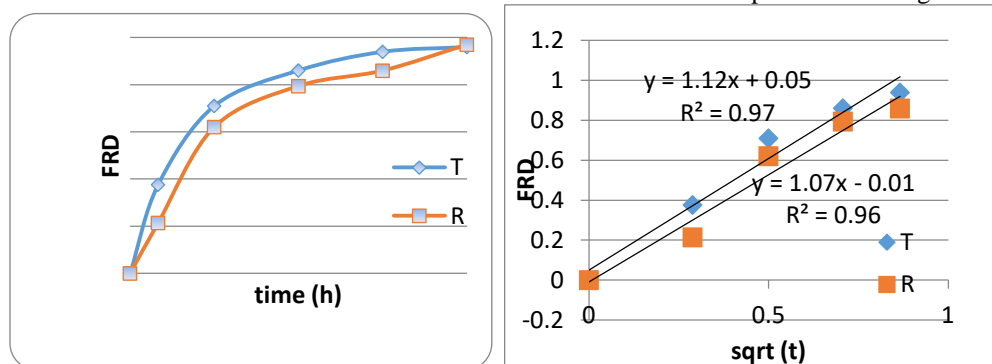


Figura 43. Datele de eliberare in vitro ale AMD și modelarea utilizând legea pătrată

Modelarea eliberării in vitro

Dizolvarea este forțată prin adăugarea în mediul de eliberare a unei concentrații mari de surfactant, care este un test bun pentru controlul calității, dar dizolvarea în prezența unor concentrații mari de agenți activi de suprafață nu este biorelevantă [107].

Modelarea cineticii de eliberare a fost realizată utilizând atât modelul de rădăcină pătrată, cât și modelul legii puterii. Se pare că ambele modele funcționează suficient de bine. Coeficientul de corelație a fost cu câteva mai mare în cazul legii puterii, dar numărul de puncte aproximat de legea rădăcinii pătrate este mai mare (figura 43).

Farmacocinetica AMD și DAMD

Curbele de farmacocinetică individuale pentru AMD și curbele medii pentru AMD și dAMD, pentru referință (R) și formularea testată (T) sunt prezentate în figura 44.

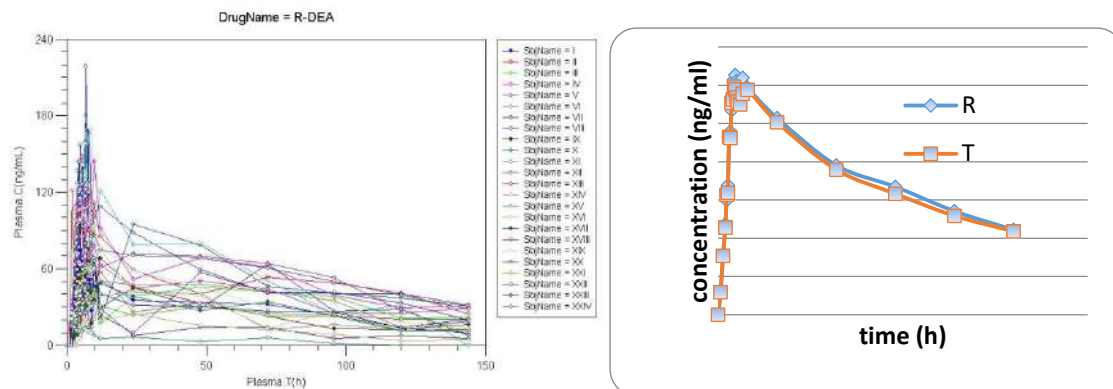


Figura 43. Nivelurile plasmatice ale dAMD

Există o mare variabilitate a concentrațiilor între subiecți de la 12 ore, dar, în același timp, este de remarcat faptul că cozile curbelor sunt aproximativ paralele, sugerând un model comun pentru eliminare la toți subiecții.

AMD are absorbție și, prin urmare, biodisponibilitatea este imprevizibilă. [108].

Într-o primă fază apare o scădere rapidă a nivelului plasmatic, lipidele și compartimentul profund devenind depozite atât pentru AMD, cât și pentru DAMD. Mai târziu, ambii se întorc în compartimentul central și apare un timp de înjumătățire prin eliminare terminal lung și variabil [82].

III.3.3. Determinarea fracției de apariție a metabolitului -FRM, scalarea timpului, corelarea FRD-FRM

Calculul fracției de dizolvare / absorbție *in vivo* în funcție de timp prin deconvoluția nivelurilor plasmatice de dAMD

Deoarece, în ciuda variabilității lor ridicate, pornind de la ASC și Cmax, formulările s-au dovedit a fi bioechivalente, s-a efectuat o primă analiză asupra întregului set de date din studiu (comun, de referință și testat, 48 de curbe).

Pentru aplicarea bilanțului de masă de tip Wagner-Nelson în calculul fracției de medicament absorbite și, în cazul nostru, a fracției de AMD dizolvată *in vivo*, s-au estimat constantele de eliminare pentru AMD și dAMD.

Timpul de înjumătățire nu a fost bine definit în cazul AMD, rezultatul depinzând de intervalul selectat pe coada curbelor de nivel plasmatic. S-au obținut trei valori foarte diferite: 7 h în intervalul 7 - 12 h, 23 h în intervalul 12 - 48 h și 77 h în intervalul 48 - 120 h. În prospectul medicamentului de referință AMD este raportată o pauză de 53 de zile. Această evoluție în mai multe etape este rezultatul absorbției, metabolizării, distribuției în lipide și circulației entero-hepatice, precum și întoarcerii înapoi a AMD în compartimentul central din acumulările din compartimentele lipidice și profunde.

Evaluarea comparativă *in vitro* și *in vivo* a trei formulări de tablete de amiodaronă la subiecți sănătoși a fost raportată anterior de Emami [109]. El a luat în considerare ultimul timp de eșantionare pentru dizolvarea *in vitro*, 120 de minute și punctele de timp *in vivo* de până la 18 ore. El a aplicat o scalare a timpului, urmând recomandarea FDA: „Scalarea în timp poate fi utilizată atâta timp cât factorul de scalare a timpului este același pentru toate formulările”. Concluzia sa a fost că „nu s-a realizat o corelație punct-la-punct acceptabilă și fiabilă” și a concluzionat că datele de dizolvare ar putea fi utilizate numai pentru controlul calității de rutină și în curs al formulărilor de tablete de amiodaronă.

În cazul dAMD, după cum se poate vedea în figura 44a, curbele sunt foarte fine și eliminarea pare a fi bine descrisă ca monoexponențială. În intervalul 7 - 120 h, logaritmul concentrației a fost excelent corelat liniar cu timpul (figura 44b), dovedind într-adevăr un comportament monoexponențial și a fost adevărat să se calculeze jumătatea timpului de DAMD, obținându-se o valoare de 70 h.

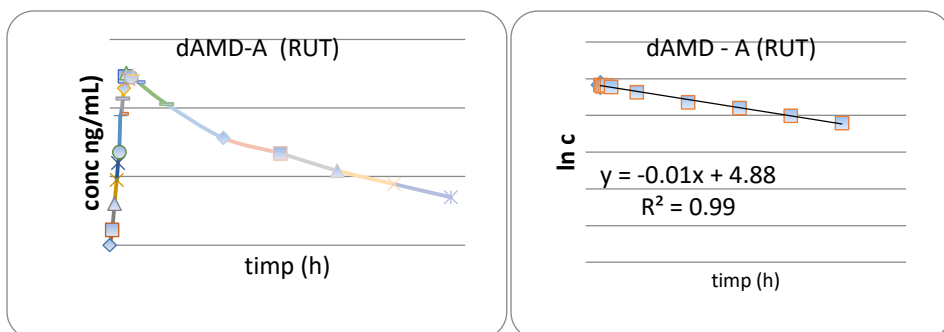


Figura 44. Partea de eliminare a curbelor de nivel plasmatic: a, reprezentare liniară, b, reprezentare logaritmică

Introducând această valoare în formula de deconvoluție propusă și făcând calculul, după cum se poate vedea în figura 44a, s-a obținut „fracția de absorbție” standard: o funcție lină de creștere continuă cu o porțiune de saturație, la valoarea limită 1. Aceasta este o rezultat bun deoarece, în cazul AMD, curba a avut mai multe minime și chiar maxime mai mari de 1.

Deoarece modelul farmacocinetic presupune că apariția DAMD în plasmă este egală cu eliberarea AMD *in vivo*, ar putea fi de așteptat o dependență FRAP de timp similară cu modelul cineticii de dizolvare *in vitro*. O examinare cu ochiul liber sugerează un model liniar.

S-a obținut o potrivire bună a FRA și în funcție de rădăcina pătrată a timpului.

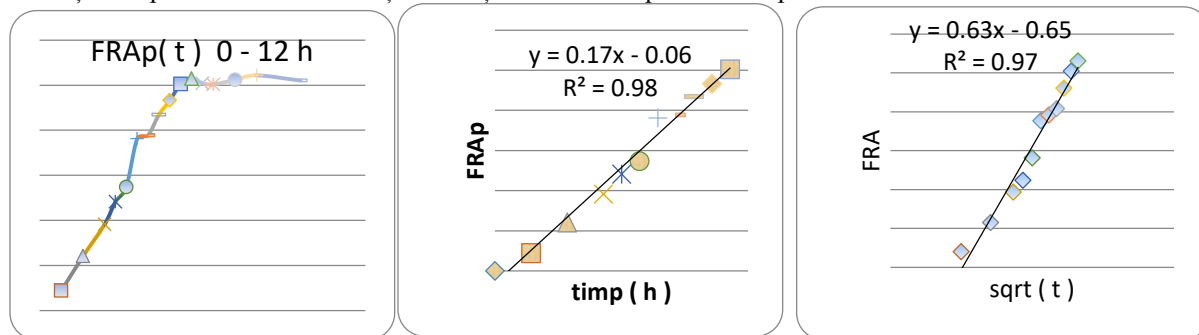


Figura 45. Dependența FRAP (t) de timp (a, b) și rădăcina pătrată a timpului (c)

Corelația liniară este puțin mai bună, dar, timpul mic de întârziere a apărut în rădăcina pătrată a scalei de timp, este un rezultat demn de adevăr, deoarece absorbția și metabolismul nu sunt instantanee.

Scalarea timpului de dizolvare in vitro - in vivo

În condițiile modelului, apariția metabolitului în plasmă este corelată cu dizolvarea *in vivo*. Pentru a corela fracțiunea de dizolvare *in vitro* cu apariția *in vivo* a metabolitului, s-a efectuat o scalare a timpului. Timpul în intervalul 0 - 60 minute corespunzător dizolvării *in vitro*, a fost transformat în timpul t^* în intervalul 0 - 7h, corespunzător apariției metabolitului în plasmă și considerat a fi timpul de dizolvare *in vivo*.

Scalarea de tipul „factor constant” nu a condus la o corelație între fracția dizolvată FRD (t^*) și fracția de apariție a DAMD în plasmă pentru datele comune R și T, așa cum se poate vedea în figura 46a.

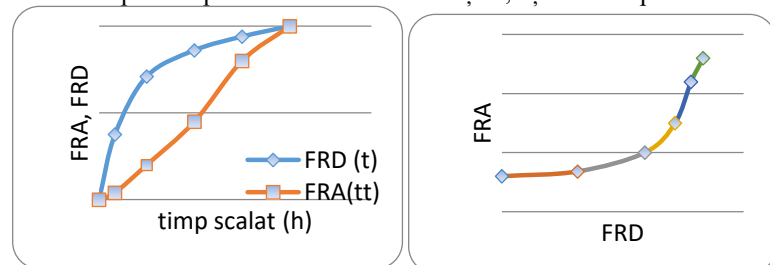


Figura 46 a. FRA și FRD în funcție de timp scalat folosind un factor b constant. Dependența FRA de FRD

O dependență exponențială a FRA de FRD este dificil de interpretat. De obicei, se dorește o dependență liniară.

Alternativ, a fost utilizat de exemplu pentru factorul de transformare a timpului, raportul T50% dizolvare *in vivo* / T50% dizolvare *in vitro* [110]. În cazul nostru, acest lucru ar da un factor de aproximativ 10, care este prea mult, deoarece la șapte ore FRA atinge valoarea 1. O astfel de abordare este impusă atunci când valoarea 1 este atinsă

asimptotic, nu brusc, ca în cazul nostru. Dar, în urma complexității eliberării *in vivo* și a absorbției, o astfel de abordare rămâne o aproximare aproximativă, care lasă deoparte o mulțime de informații deduse din profilurile de dizolvare și nivelurile sanguine. Aceasta este o caracteristică comună și a altor metode propuse, bazate pe analiza momentelor statistice [111].

Problema inversă a fost de a găsi, dacă este posibil, o transformare a timpului care duce la o dependență liniară între FRA (t^*) și FRD (t^*).

Transformarea a fost efectuată așa cum se poate vedea în figura 47. Timpul t a fost transformat în timpul t^* , pentru care $FRA(t^*) = FRD(t^*)$.

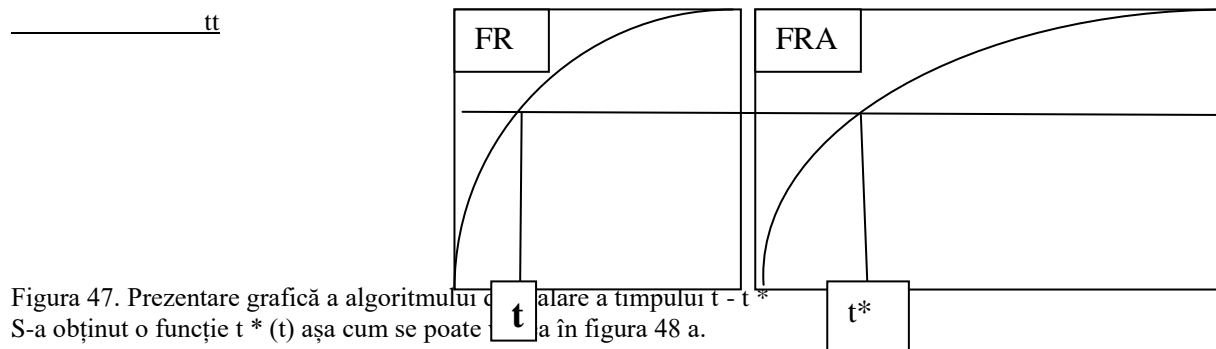


Figura 47. Prezentare grafică a algoritmului de transformare a timpului t în t^* . S-a obținut o funcție $t^*(t)$ așa cum se poate vedea în figura 48 a.

Scalarea timpului

În tractul gastrointestinal (GI), în absența LSS, dizolvarea AMD are loc cu o rată mult mai mică decât *in vitro*. În urma solubilității scăzute a AMD și a volumului mic de lichide GI, dizolvarea are încă un alt motiv pentru a fi lentă și limitată. Eliberarea este influențată de secreția de săruri biliare și lecitină.

În aceste condiții, scalarea timpului este o procedură dificilă, dar necesară.

Aplicarea unui factor constant, aceeași pentru toate formulările este o metodă ideală. Din păcate, este de așteptat ca, în diferite segmente ale tractului gastrointestinal, influența asupra ratei de dizolvare să fie diferită și aplicarea unui singur factor să fie o aproximare prea mare [112,113,114].

Găsirea unei funcții uniforme pentru a descrie efectul asupra ratei este extrem de dorită. Legea rădăcinii pătrate sa dovedit a fi aplicabilă în toate formulările evaluate. Această funcție are o rezonanță mult mai mecanicistă. Aplicat de obicei în descrierea cineticii de eliberare, dovedit aplicabil în tabletele AMD în ambele experimente, reprezintă de fapt un fenomen mai general: eliberarea din rezervoare infinite, asemănătoare cu termostatele din teoria transferului de căldură [104].

Corelația dintre dizolvarea *in vitro* a AMD și apariția DEAMD în plasmă

Corelarea dizolvării unui medicament cu farmacocinetica unuia dintre metabolizii săi a fost recent propusă [104] ca o analiză suplimentară sau alternativă la corelațiile *in vitro in vivo* obișnuite, într-o serie de cazuri ca de exemplu: când medicamentul părinte este, de fapt, un promedicament, atunci când nivelurile sale plasmatiche sunt foarte scăzute, atunci când metabolitul are un efect terapeutic semnificativ. Corelația a fost făcută între fracțiunea de dizolvare *in vitro* și fracția de apariție *in vivo* a DEAMD.

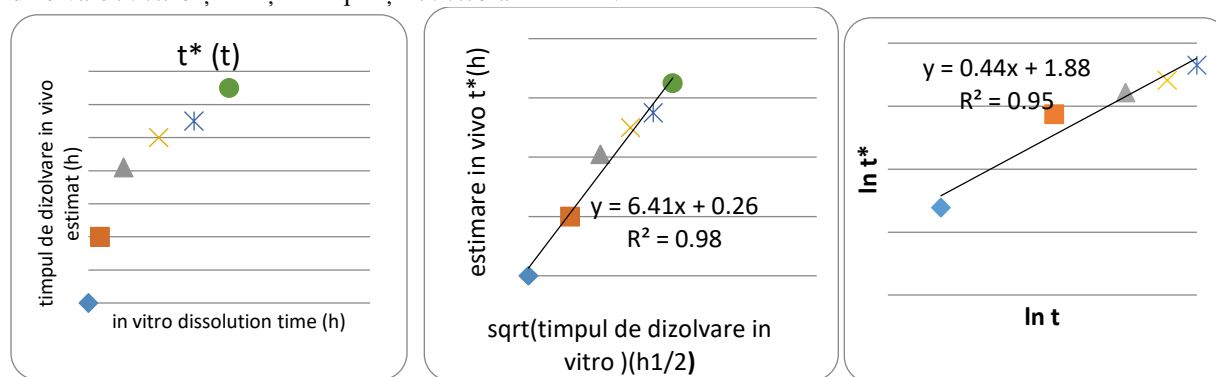


Figura 48. Dependența t^* de t (a), dependența liniară $\ln - \ln$ (b), a rădăcinii pătrate a t (c).

Dimpotrivă, dependența t^* de rădăcina pătrată a lui t (fig 48 c) și dependența liniară $\ln t - \ln t^*$ sunt mai fiabile

Validarea modelului

În primul rând, trebuie să se acorde o atenție specială în cazul comparării diferitelor studii de bioechivalență [115]. Un ultim aspect important în evaluarea rezultatelor comparării diferitelor formulări este că dependența trebuie să fie de același tip dacă formulările nu diferă prea mult.

Pentru validarea rezultatelor, sa efectuat analiza prezentată mai sus pentru referință și medicamentul testat separat și sa comparat dependențele t^* (t) și modelele de rădăcină pătrată adaptate. În ambele cazuri, timpul scalat pentru dizolvarea *in vivo* t^* (t) a depins aproximativ liniar de rădăcina pătrată a timpului, așa cum se poate vedea în figura 49. Mult mai mult, pantele liniilor de regresie erau foarte apropiate, liniile fiind aproximativ paralele.

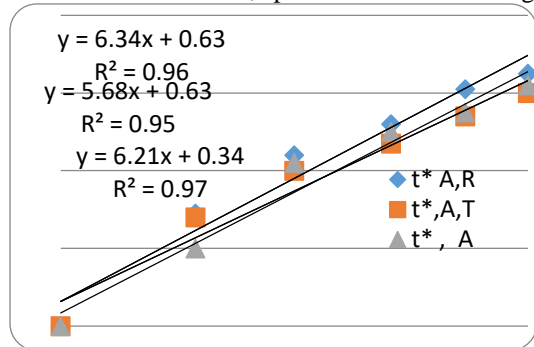


Figura 49. Timpul scalat pentru dizolvare

Concluzii

Estimarea dizolvării *in vivo* prin deconvoluția farmacocineticii nu este posibilă în cazul medicamentelor cu durată lungă de viață și în special pentru AMD, deoarece nivelurile plasmatice sunt semnificativ crescute mult timp după sfârșitul absorbției. Restricționarea analizei la o parte a intervalului de timp, similar cu evaluarea cu succes a bioechivalenței, este o posibilă soluție de încercat.

În cazul medicamentelor lipofile, datorită dizolvării lente, absorbției rapide și metabolismului rapid, farmacocinetica atât a medicamentului părinte, cât și a metabolizilor înainte de revenirea medicamentului din alte compartimente din sânge, este determinată în principal de cinetica eliberării în intestin din formularea farmaceutică.

Pentru medicamentele lipofile cu durată lungă de viață, așa cum s-a arătat pentru AMD, este posibilă estimarea fracției de absorbție a medicamentului de bază din farmacocinetica mai simplă a metabolitului, caz în care este posibilă calcularea unei constante de eliminare.

Similitudinea dintre dizolvarea *in vitro* și modelul de dizolvare estimat *in vivo*, precum și dependența similară a timpului scalat de timpul *in vitro* în cazul formulărilor bioechivalente pot fi considerate ca o validare a abordării modelului metabolitului de corelație *in vitro - in vivo*.

II.4. CORELAREA *IN VITRO- IN VIVO* (IVIVC) PENTRU PERIOADA DE ABSORBȚIE/DISTRIBUȚIE A AMIODARONEI

O corelație punct-la-punct acceptabilă și fiabilă între dizolvarea *in vitro* și farmacocinetica *in vivo* (IVIVC) nu a fost atinsă până acum pentru amiodaronă din cauza solubilității sale foarte scăzute în absența surfactanților și a farmacocineticii sale complexe ridicate, care nu permite calculul unei eliminări finale constante bine definite.

În această lucrare, a fost testată o corelație bazată pe restricția intervalelor de măsurare și a analizei statistice doar pentru o parte din curbe, o așa-numită analiză a curbei trunchiate, aplicată în mare măsură în studiile de bioechivalență care implică medicamente de lungă durată.

Dizolvarea amiodaronei a fost determinată folosind metoda compendială în prezența a 1% laurilsulfat de sodiu. Datele farmacocinetice ale amiodaronei și ale metabolitului său activ dezetilamiodaronă au fost obținute într-un studiu de bioechivalență de 120 de ore la 24 de voluntari sănătoși.

S-a constatat că eliminarea a fost aproximată ca suma a trei exponențiale în intervalul 7 - 120 h și cu o sumă de două exponențiale în intervalul de timp 7 - 48 h. În intervalul 7 - 12 h, corespondența cu o singură exponențială a fost excelentă. În consecință, analiza IVIVC a fost trunchiată în decurs de 12 ore de la administrarea amiodaronei.

Fracția absorbită a fost calculată utilizând o formulă Wagner Nelson modificată pentru nivelurile plasmatice în intervalul 0 - 120 h, nivelurile fiind trunchiate la 48 h și respectiv 12 h. Rezultatele au fost fiabile numai în cazul trunchierii la 12 ore. Pentru intervale mai lungi, fracțiile calculate au fost lipsite de sens, cu unele valori mai mari de 1.

Deoarece dizolvarea a fost completă în decurs de o oră și absorbția estimată *in vivo* pare să dureze 4,5 ore, pentru a determina natura corelațiilor dintre eliberarea *in vivo* și *in vitro*, timpul de dizolvare *in vitro* t^* a fost redus la timpul t^* , estimat pentru eliberare *in vivo*.

În plus față de graficele Levy, a fost utilizată o funcție de eliberare a rădăcinii pătrate inversă pentru a obține timpul *in vivo* al procentului absorbit egal cu procentul dizolvat *in vitro*.

Cel mai potrivit model pentru dependența lui t^* de t a fost legea rădăcinii pătrate. Ca o validare a rezultatului, sa considerat că liniile de regresie care aproximează t^* (t) în cazul medicamentului de referință și al medicamentului testat erau foarte apropiate, iar aria dintre linii a fost 5% din aria de sub linia corespunzătoare medicamentului de referință.

III.4.1. Evaluarea fracției absorbite a amiodaronei din curbele de concentrație plasmatică trunchiate

Curbele trunchiate în evaluarea bioechivalenței medicamentelor de lungă durată

Două formulări medicamentoase sunt bioechivalente dacă au aceeași viteză și grad de eliberare a substanțelor active *in vivo*, astfel încât să asigure aceeași absorbție și arii similare sub curbele nivelurilor plasmaticice (ASC). Deoarece absorbția nu durează mai mult de 72 de ore, nu are sens să mergi mai departe de această dată. Pe de altă parte, acest lucru vine în contradicție cu cerința ca aria sub curbă de la 0 la ultimul punct măsurat, AUC_{0-T} , să fie de cel puțin 90% din aria totală $AUC_{0-\infty}$. O primă abordare pentru depășirea problemelor, pornind de la considerații practice și etice, a fost restricționarea intervalelor de măsurare și a analizei statistice doar la o parte din curbe, așa-numita analiză bazată pe arii trunchiate.

Bioechivalența medicamentelor de lungă durată cu eliberare imediată în condiții de experimente trunchiate la 48 și 24 de ore, a fost studiat de mulți cercetători [116,117,118,119] și s-a constatat că astfel de trunchieri nu schimbă decizia stabilită prin analiza întregului set de date. S-a ajuns la concluzia că evaluarea bioechivalenței medicamentelor cu jumătate de viață lungă nu ar fi afectată negativ prin limitarea duratei investigației și, în consecință, prin utilizarea AUC trunchiate la 48 de ore sau la 24 de ore.

Restricția la 72 de ore a fost în cele din urmă acceptată de autoritățile de reglementare [120,121,122,123,124,125].

O analiză recentă a 24 de medicamente cu viață lungă a evidențiat faptul că chiar și un interval de 12 ore este foarte sensibil și adecvat atunci când se determină dacă două formulări sunt bioechivalente [126].

Aspectul principal este că intervalul până la care AUC trunchiată trebuie să includă finalizarea fazei de distribuție [127].

Corelații in vitro–in vivo

Dificultăți în modelarea și precizarea farmacocineticii medicamentelor de lungă durată apar și în corelații *in vitro-in vivo* (IVIVC). IVIVC sunt corelații între datele de dizolvare *in vitro* și cinetica de eliberare estimată *in vivo* prin deconvoluția datelor farmacocinetice. Corelația este bună și chiar liniară, de exemplu, în cazul multor formulări cu eliberare prelungită, dar Farmacopeea Statelor Unite (USP) și Administrația Alimentelor și Medicamentelor (FDA) acceptă atât modele liniare, cât și neliniare pentru modelarea IVIVC-urilor [128,129]. Au fost propuse modele foarte complexe în caz de neliniaritate [98,99,130], dar cu cât numărul parametrilor modelului este mai mare, cu atât algoritmi de potrivire sunt mai instabili [73,75].

Autoritățile recomandă cu tărie [131,132] stabilirea corelațiilor IVIVC, deoarece sunt foarte utile în dezvoltarea și controlul formulărilor [133,134], deși în practică poate apărea mari dificultăți [63].

Amiodaronă IVIVC

Proiectarea cineticii dizolvării AMD este utilă în gestionarea eliberării și absorbției *in vivo*, pentru a reduce variabilitatea ridicată a farmacocineticii. IVIVC întâmpină mari dificultăți din cauza solubilității slabe a AMD în mediile de eliberare și în lichidul intestinal.

Deoarece Amiodarona este lipofilă ($\log P$ 7.24), dizolvarea sa în apă este foarte mică, astfel încât este necesar să se adauge agenți activi de suprafață în mediul de dizolvare. FDA recomandă lauril sulfat de sodiu (SLS) 1% sau Tween 80 1%.

Pentru a crește eliberarea *in vitro*, la mediul de eliberare se adaugă cantități mari de surfactanți, în principal compuși utilizați ca emulsificatori și surfactanți și 1% laurilsulfat de sodiu. Eliberarea este forțată să fie completă într-o oră, dar apar dificultăți în corelație cu farmacocinetica, deoarece în prima oră absorbția este practic nesemnificativă.

Această lucrare caută corelații de tip A pentru amiodaronă, în condiții de trunchiere a farmacocineticii, similar cu ceea ce se realizează cu succes în dovedirea bioechivalenței acestor medicamente și prin scalarea timpului de dizolvare *in vitro* la un timp estimat de dizolvare *in vivo*.

Materiale și metode

Dizolvarea in vitro

Studiile de dizolvare a comprimatelor de 200 mg Amiodarone au fost efectuate folosind un aparat de dizolvare USP 2 (DT 800 Erweka GmbH, Heusenstamm, Germania) la 100 rpm. Mediul de dizolvare (laurilsulfat de sodiu 10g / l în apă ultrapură, 1000 ml) a fost menținut la $37 \pm 0,5$ °C. Alicote de $5 \pm 0,1$ mL au fost colectate la 5, 15, 30, 45 și 60 min și ulterior înlocuite cu un volum egal de mediu. Probele au fost filtrate printr-un filtru 0.45 μm Teflon®, iar concentrațiile medicamentului au fost determinate prin măsurarea absorbției fiecărei probe la 242 nm pe un spectrofotometru UV-VIS V-530 (JASCO Ltd., Tokio, Japonia). Concentrațiile de amiodaronă au fost calculate din curbe de calibrare liniare. Datele privind dizolvarea pentru fiecare compus sunt raportate ca valori medii de 6 replici și s-a calculat coeficientul de variație.

Rezultate

Dizolvarea in vitro a amiodaronei

Profilurile de dizolvare a amiodaronei au prezentat o variabilitate semnificativă, dar distribuția lor în spațiu a fost foarte omogenă (figura 50a). Variabilitatea a fost în esență o intravariabilitate. Curbele medii corespunzătoare medicamentului de referință și testat au fost similare (factor $F_2 > 50$). În consecință, pentru corelațiile cu absorbția estimată s-a utilizat media totală a curbelor de dizolvare (Fig 50b).

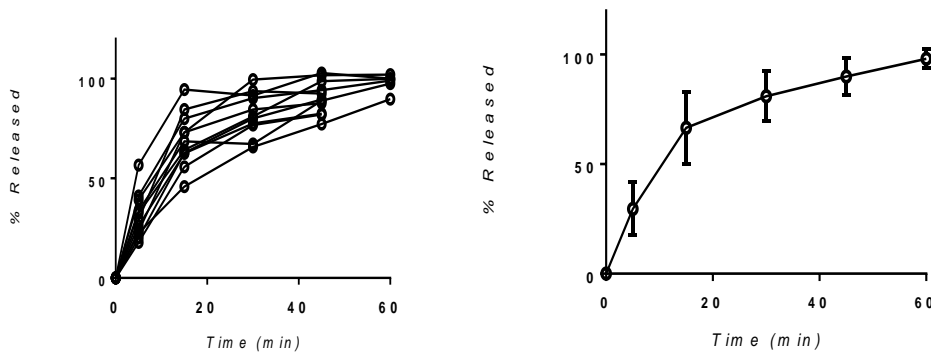


Figura 50. Curbele de dizolvare a AMD in vitro. A. Toate curbele, B. curba medie

Modelarea datelor cinetice de eliberare in vitro

Datele de dizolvare *in vitro* au fost modelate folosind legea rădăcinii pătrate, legea puterii și modelul Noyes Whitney, utilizate în forme liniarizate. În analiza performanțelor modelelor s-au comparat proprietățile fizico-chimice și structura sistemelor de eliberare cu condițiile inițiale și limită ale ecuațiilor asociate cu modelele [86] și coeficientul de corelație.

După cum se poate vedea în figura 51, atât legea puterii, cât și modelele lui Noyes Whitney au lăsat un punct departe de linia de regresie. Modelul rădăcinii pătrate pare să descrie bine cinetica de eliberare în întregul domeniu de timp. Rezultatul este remarcabil, deoarece de obicei acest model este aplicabil pentru eliberarea a 60 - 70% din componenta activă.

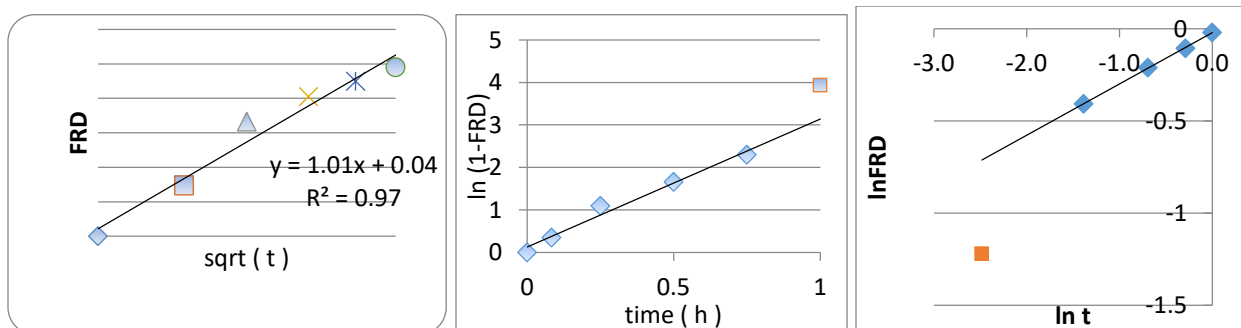


Figura 51. Adaptarea cineticii de eliberare prin modele liniarizate. A. modelul rădăcinii pătrate, modelul B. Noyes Whitney C. Modelul legii puterii

Modelul Noyes-Whitney implică eliberarea substanței active într-un strat limită la interfața dintre formulare și solvent. Legea puterii presupune că eliberarea are loc în solventul care intră în formulare. În ceea ce privește legea rădăcinii pătrate, aceasta poate fi expresia a două modele diferite: eliberarea în stare staționară a solventului care spală formulă strat cu strat sau eliberarea în afara formulării matricei care funcționează ca un rezervor infinit. Faptul că Noyes Whitney pare să se potrivească mai bine cu datele (figura 51b) decât legea puterii (figura 51c) este un argument pentru eliberarea dintr-un rezervor ca model care conduce la legea rădăcinii pătrate.

Acesta poate fi scris aproximativ prin $FRD(t) = \sqrt{t}$. Pe de altă parte, nu este exclus un comportament în două faze, pre și post-dezagregare și, în consecință, o aplicare a modelului în doi pași [79], după cum se poate vedea în figura 52.

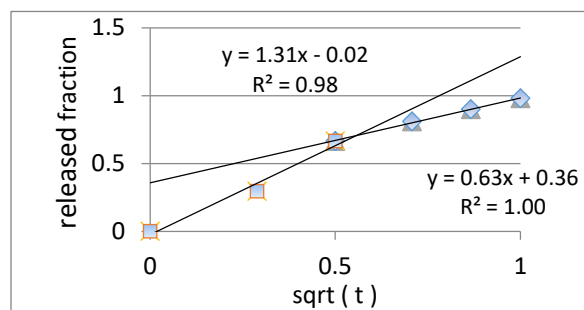


Figura 52. Modelarea în doi pași a cineticii de eliberare a AMD utilizând modelul rădăcinii pătrate

Rezultate farmacocinetice

Curbele nivelurilor plasmatice medii pentru intervalul 0 - 120 h sunt prezentate în Figura 53. Este de remarcat că există o variabilitate ridicată a concentrațiilor începând de la 12 h, dar este, în același timp, de observat că și cozile sunt aproximativ paralele. După cum sugerează graficul (Figura 54), formulările sunt bioechivalente.

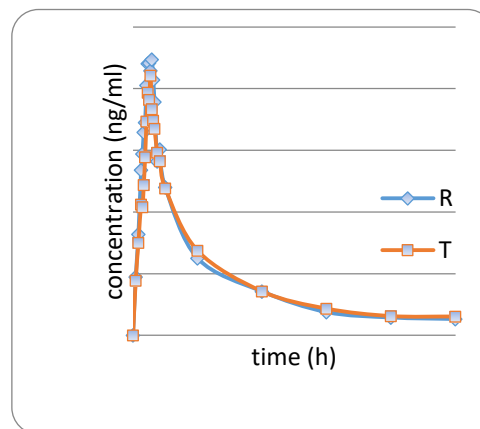
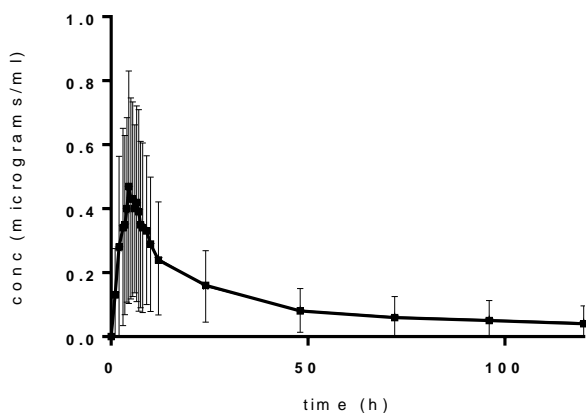


Figura 53. Nivelurile plasmatice medii ale medicamentului de referință AMD (n = 24). Figura 54 Nivelurile medii plasmatice de referință și medicamentul testat

Analiza farmacocineticii AMD

Modelarea fiabilă a farmacocineticii AMD trebuie să includă cel puțin două compartimente. Dimpotrivă, pentru analiza limitată la interval de 0 - 12 ore, un model monocompartmental a reprezentat o bună aproximare a nivelurilor plasmatice.

În această lucrare am fost interesați de nivelurile plasmatice în timpul fazei inițiale, de absorbție și mai puțin de nivelurile de AMD în compartimentul lipidic, de concentrația metabolizilor și de circulația enterohepatică. În aceste condiții a fost considerat doar compartimentul central, de unde eliminarea aparentă este de fapt eliminarea totală (distribuție, metabolism, eliminare renală etc.). Revenirea AMD din compartimentul lipidic sau prin reabsorbție sunt procese care intră ulterior în acțiune.

Analiza părții de eliminare a curbelor nivelurilor plasmatice a fost efectuată și pe întreaga durată 0 - 120 h și date trunchiate până la intervale de timp 0 - 48 și 0 - 12 h, căutând o corelație liniară bună a datelor transformate logaritmic pentru a defini o constantă aparentă de eliminare finală.

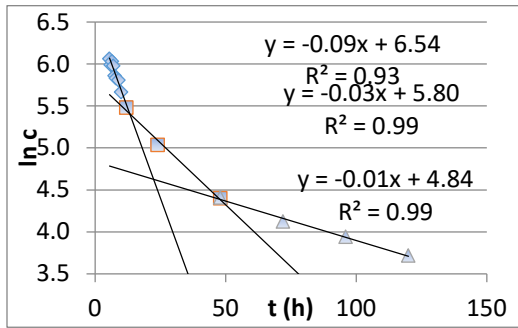


Figura 55. Trei pași exponențiali consecutivi pentru eliminarea AMD

Din figura 55 este clar că eliminarea a avut loc în cel puțin trei etape: o scădere rapidă exponențială în intervalul de 7 - 12 h, alta exponențială, dar cu o rată diminuată, în 12 h - 48 h și o altă eliminare, dar mai lentă, în intervalul de timp de 48 - 120 h. Deci, acea analiză a trebuit trunchiată la primul interval, unde definiția unei constante de eliminare este consecventă.

Estimarea fracției de dizolvare-absorbție in vivo

Dacă se poate defini constanta de eliminare, estimarea fracției de absorbție în funcție de timp a fost efectuată prin deconvoluția farmacocineticii *in vivo*. S-a verificat aplicarea formulei de tip Wagner Nelson [137].

$$FRA(t_i) = \frac{c(t_i) + \int_0^{t_i} k_e^T c dt}{\int_0^\infty k_e^T c dt} = \frac{c(t_i) + k_e^T AUC_{0-t_i}}{k_e^T AUC_{0-\infty}^T}$$

unde, $FRA(t_i)$, fracția de medicament absorbită la momentul t_i , $c(t_i)$, concentrația de plasmă a medicamentului principal la momentul t_i ; k_e^T , rata de eliminare constantă calculată de la partea finală a curbelor nivelului de plasmă și până la ultima parte a intervalului $0 - T$; AUC_{0-t_i} , aria indicând curba de concentrare-timp pentru AMD de la momentul 0 la t_i ; $AUC_{0-\infty}^T$ - aria indicând curba de concentrare-timp pentru AMD extrapolată prin utilizarea concentrației la momentul T și constanta de eliminare

$$AUC_{T-\infty} = \frac{c(T)}{k_e^T}$$

Fracția absorbită a fost calculată utilizând o formulă de tip Wagner Nelson pentru nivelurile plasmatice în intervalul 0 - 120 h, nivelurile trunchiate la 48 h și respectiv la 12 h. Formula a fost adaptată pentru fiecare interval așa cum este prezentat de exemplu pentru intervalul 0 - 12h

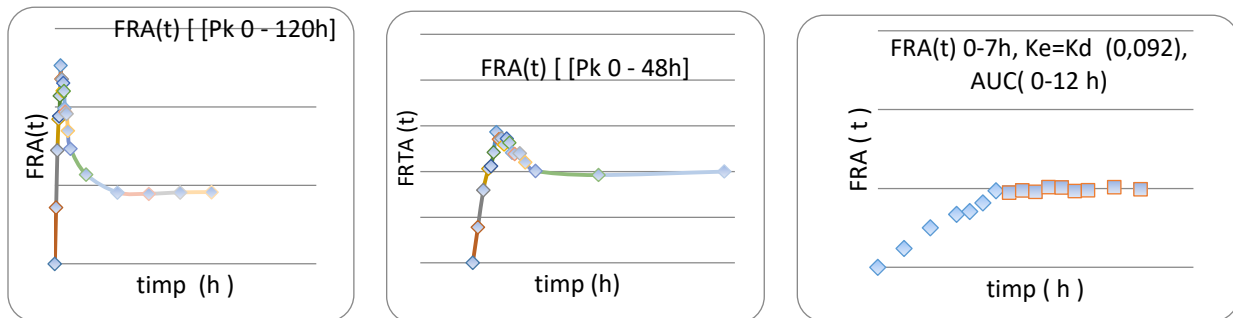


Figura 56. FRA calculat pe baza k_e și AUC din intervalul de timp întreg sau restricționat: a. 0-120h, b. 0-48h, c. 0-12h

$$FRA_{0-12h}(t_i) = \frac{c(t_i) + \int_0^{t_i} k_e^{7-12h} c(t) dt}{\int_0^{12h} k_e^{12-72h} c(t) dt + c(12h) / k_e^{12-72h}} = \frac{c(t_i) + k_e^{7-12h} AUC_{0-t_i}}{k_e^{7-12h} AUC_{0-12h} + c(12h) / k_e^{7-12h}}$$

După cum se poate vedea în figura 56, rezultatele au fost fiabile numai în cazul trunchierii la 12 ore. Pentru intervale mai mari, fracțiile calculate au fost lipsite de sens, cu valori mai mari decât una.

Modelarea funcției FRA (t)

Deoarece amiodarona este lipofilă, absorbția sa este rapidă și se așteaptă ca cinetica FRA (t) să fie determinată prin dizolvarea *in vivo*. Dizolvarea *in vivo* este de fapt mult mai lentă decât dizolvarea *in vitro* efectuată folosind metoda compendială, care este una forțată. Cu toate acestea, este de așteptat ca cele două procese să urmeze același model. În consecință, s-a căutat o modelare a rădăcinii pătrate a FRA (t). După eliminarea primului punct, corespunzător concentrației de 1 oră, ajustarea pentru toate celelalte puncte a fost excelentă. Astfel, la un comportament diferit *in vitro* în 15 minute inițiale decât în restul intervalului de timp (fig.57), a corespuns un prim pas singular, de o oră, dizolvării *in vivo*.

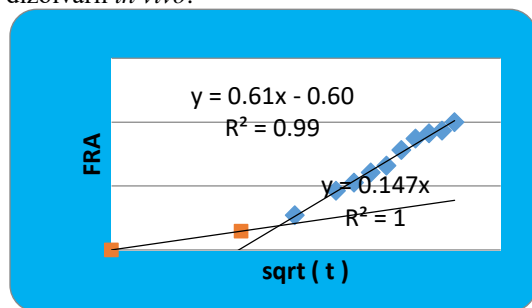


Figura 57. Frația absorbită în funcție de rădăcina pătrată a timpului

III.4.2. Corelarea fracție dizolvată – fracție absorbită

Estimarea timpului de absorbție *in vivo*. Scalarea timpului

Din moment ce se aștepta ca dependența de timp a proceselor de dizolvare *in vitro* și *in vivo* nu sunt identice, s-a efectuat o reducere a timpului.

Dizolvarea *in vitro* a fost completă într-o oră și absorbția estimată *in vivo* pare să dureze 4,5 ore. În consecință, pentru a verifica natura corelațiilor dintre eliberarea *in vivo* și *in vitro*, timpul de dizolvare *in vitro* t, a fost expandat la un timp estimat t*, de eliberare *in vivo*. S-a considerat că absorbția, deoarece AMD este lipofilă, începe foarte rapid și $T_{start}=0$. Tmax a fost considerat, egal cu valoarea saturației FRA (t), ca fiind de 4,5 ore. În aceste condiții t

* este proporțional cu timpul de dizolvare *in vitro* $t^* = 4,5 t$.

Cu $t^*=4,5t$, FRD și FRA apar corelate, după cum se poate vedea în figura 58, însă nu liniare.

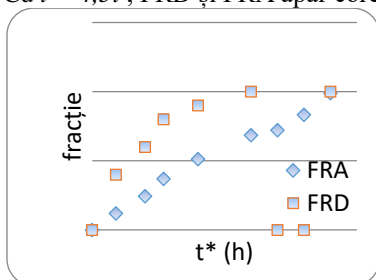


Figura 58. Frațiuni eliberată *in vitro* și *in vivo*, în funcție de timpul scalat t*

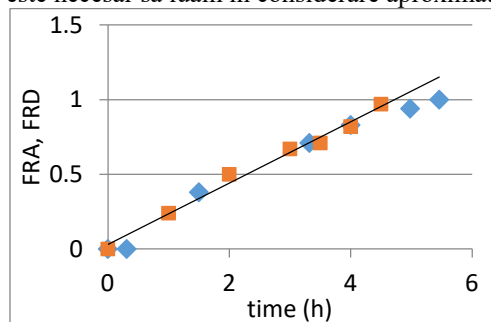
Scalare indusă de corelație

A doua metodă de scalare a fost scalarea indusă de corelație pornind de la impunerea unei corelații bune între eliberarea expandată *in vitro* în funcție de absorbția t*, FRD (t*) și *in vivo*, de fapt ideea graficului Levy [101].

A fost transformat timpul t, pentru dizolvarea *in vitro*, în timpul t* folosind formula $t^* = FRA^{-1}(FRD(t))$. Aceasta este de fapt o generalizare a graficului Levy care a identificat timpii legați de același rezultat de eliberare, de exemplu, dizolvarea și fracția de absorbție. În cazul graficelor Levy, insuficiența informațiilor este o reală dificultate într-o astfel de scalare directă a timpului datorită numărului mic de puncte de eșantionare disponibile pentru potrivirea nivelurilor similare de fracții absorbite și dizolvate, cu efecte asupra calității și stabilității IVIVC.

III.4.3. Modelarea dependenței fracției absorbite de timp

De când s-a stabilit că $FRA = a + b\sqrt{t^*}$, pentru un punct experimental $FRD_k = FRA_k$, $t_k^* = ((FRD_k - a) / b)^2$. Scalarea indusă prin corelație impune o relație liniară 1:1, mai exact, o curbă egală cu unu și interceptează la 0, precum se poate vedea că s-a obținut (figura 60), însă problema este că, pentru compararea unor formulări diferite, este necesar să luăm în considerare aproximativ aceeași funcție de corelare.



t t

Figura 60. FRD(t^*) și FRA (t^*) după scalarea temporală

În cazul acestui tip de corelație, mai semnificativă este natura funcției de scalare $t^*(t)$

Modelarea dependenței timpului scalat t^* față de timpul de dizolvare *in vitro* - t

Ca modele de scalare a timpului, a fost considerată o potrivire neliniară, de tip ln-ln și un model de rădăcină pătrată.

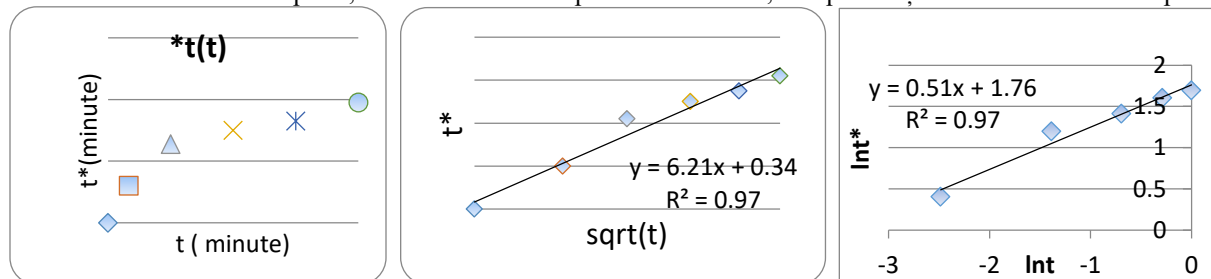


Figura 61. Dependența de t^* : (a) la t , (b) la rădăcina pătrată a t , și (c) dependența $\ln t^* - \ln t$ liniară

Dependența t^* de rădăcina pătrată a t (figura 61b) și $\ln t$ liniar - $\ln t^*$ (figura 61 c) dependența par a fi fiabilă. Dependența de rădăcina pătrată a timpului, similară cu ceea ce s-a discutat în urma modelării dizolvării *in vitro*, ar putea fi un model alternativ în doi pași liniari. Modificarea pH-ului, peristaltismului și agitației rezultate, ar putea explica o modificare a stării fizice a tabletei și o corelație liniară bifazică *in vivo*.

Validarea modelului

Același calcul și analiză prezentate mai sus au fost aplicate în studiu separat, pentru media R și pentru media T. În ambele cazuri, timpul scalat pentru dizolvarea *in vivo* t^* , depindea aproximativ liniar de rădăcina pătrată a timpului și, rezultatul mai semnificativ, pantele liniilor de regresie erau foarte apropiate. În ambele cazuri, timpul scalat pentru dizolvarea *in vivo* t^* a depins aproximativ liniar de rădăcina pătrată a timpului, așa cum se poate vedea în figura 62.

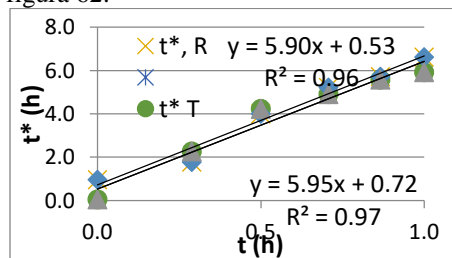


Figura 62. Adaptarea liniară a dependenței între timpul estimat pentru dizolvarea in vivo t^* și timpul pentru dizolvarea in vitro t

Dacă considerăm că o linie dreaptă este dată de valorile prezise și cealaltă descrie valorile observate, diferența dintre două valori t^* corespunzătoare unui anumit timp t poate fi utilizată în definirea performanței modelului.

Calitatea de potrivire a curbei de validare încrucișată a fost determinată de eroarea medie de predicție (MPE) definită similar ca în evaluarea bioechivalenței, ca zonă între curbe împărțită la aria sub curba de referință:

$$MPE = - \frac{\int_0^{T_d} |(a_R + b_R t) - (a_T + b_T t)| dt}{\int_0^{T_d} (a_R + b_R t) dt} = 5,5 \%$$

unde R și T se referă la valorile observate (testate) și respectiv la valorile prezente (de referință) și T_d până la sfârșitul intervalului de timp pentru evaluarea dizolvării in vitro.

Discuții

Eliberare in vitro

O primă discuție ar trebui să fie despre metoda de dizolvare aplicată. PH-ul acid al mediului, viteza de rotație de 100 rpm și adăugarea de laurilsulfat de sodiu la o concentrație foarte mare (1%) înseamnă un test de dizolvare forțată, cu biorelevanță scăzută, dar acesta este testul oficial recomandat de USP, încă în uz (USP 2019) și, în consecință, a trebuit să fie aplicat în studiul de bioechivalență.

Recent, alți autori au folosit într-o cercetare pentru dezvoltarea de noi formulări bazate pe complexe ciclodextrină-amiodaronă, ca mediu de dizolvare o soluție de pH 1,2 (HCl 0,1 N ca fluid gastric simulat) pentru primele 2 ore și apoi o soluție de pH 6,8 (tampon fosfat) ca fluid intestinal simulat pentru următoarele 10 ore și o viteză de rotație de 50 rpm. [138]. O metodă similară cu a noastră a fost în esență aceeași metodă de compendiu, dar la 50 rpm [139]. O evaluare comparativă a trei formulări diferite de tablete de amiodaronă a fost, de asemenea, efectuată în prezența SLS 1%, dar la pH = 5,0 [109].

O cercetare privind îmbunătățirea solubilității și a ratei de dizolvare prin tehnica de dispersie solidă a evaluat dizolvarea AMD la trei valori ale pH-ului, inclusiv acidul pH 1,2, acetat tampon pH 4,5 și tampon fosfat 6,8 [140].

Ceea ce este clar este că niciun autor nu a căutat o metodă biorelevantă, de fapt aproape toți cercetătorii fiind interesați de formulări noi, cu o cinetică de eliberare îmbunătățită.

Amiodarona este slab solubilă, dar, după excipienții hidrofilii în formularea tabletelor și prezența laurilsulfatului de sodiu în mediu de dizolvare, eliberarea sa este rapidă și completă.

Atât modelele cu rădăcină pătrată, cât și modelele legii puterii, au sugerat o eliberare în doi pași: un prim pas „cu efect rapid” și un al doilea, mai lent și bine adaptat de ambele modele. Este posibil să se aplice criteriile statistice și de informare pentru stabilirea „modelului cel mai bun”, dar este, de asemenea, clar că o astfel de clasificare nu are șanse să fie semnificativă statistic.

S-a constatat că dizolvarea cristalelor de amiodaronă este un proces în doi pași [141] o dizolvare în câteva minute (5-10) urmată de o dizolvare lentă și limitată (mai puțin de 10%). Un articol [138] a propus modelul legii puterii, iar Emami a considerat un model de eliberare cinetică de prim ordin, dar, de regulă, autorii au evitat să facă o modelare a eliberării.

Modelul farmacocinetic controlat prin dizolvarea AMD

Deoarece AMD este lipofilă ($\log P = 7,24$), rata constantă de transfer din sânge în compartimentul lipidic este mai mare decât cea a transportului invers. În faza de absorbție-distribuție, revenirea AMD în sânge ar putea fi neglijată, iar transferul din sânge în lipide va deveni o componentă a constantei ratei de eliminare totală a medicamentului principal (Figura 63).

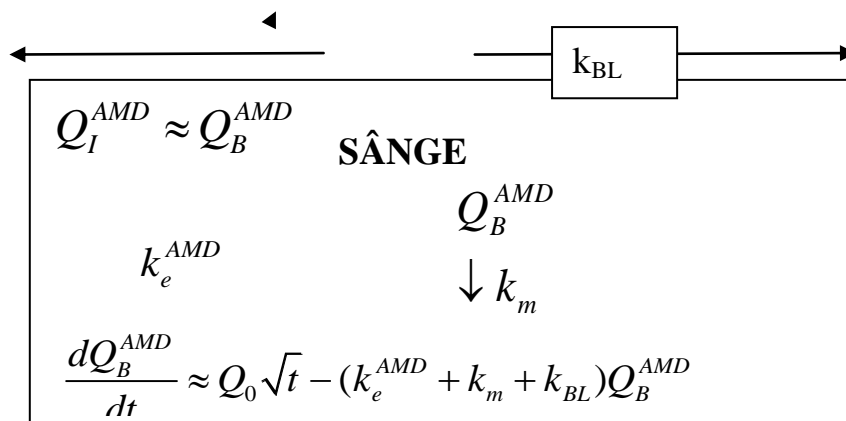


Figura 63. Model compartimental simplificat care descrie farmacocinetica AMD

unde Q_I^{AMD} este cantitatea de AMD în formularea tabletei, k_d^{vivo} fiind constanta de dizolvare din intestin, k_e reprezintă suma constantelor de eliminare prin transfer în compartimentul lipidelor și în diverse rute de eliminare.

Scalarea timpului liniar

În tractul tractului gastrointestinal (GI), în absența LSS, dizolvarea AMD are loc cu o rată mult mai mică decât in vitro. După solubilitatea scăzută a AMD și volumul mic de lichide GI, dizolvarea este lentă și limitată. Eliberarea este influențată direct de alimente [89], precum și de secreția indusă de săruri biliare și lecitină asociată cu aportul de alimente [81]. În aceste condiții, scalarea în timp este o procedură dificilă, dar necesară pentru efectuarea corelației in vitro in vivo, dar FDA recomandă: „Scalarea în timp poate fi utilizată atât timp cât factorul de scalare a timpului este același pentru toate formulările”. [128]

Aplicarea unui factor de scalare, aceeași pentru toate formulările este o metodă ideală. Din păcate, este de așteptat ca în diferite segmente ale tractului GI, influența asupra ratei de dizolvare să fie diferită de la formulare la formulare. În aceste condiții, aplicarea unui singur factor ar putea fi o aproximare aproximativă [121].

Cu scalarea proporțională, în cazul AMD, FRD și FRA păreau a fi corelate, dar nu liniar. A fost propusă o formulă mai generală decât proporționalitatea [142] sub forma unei relații liniare

$$t_{vivo} = a + bt_{vitro}$$

ceea ce înseamnă introducerea unui nou parametru, care este, de fapt, decalajul de timp. O corelație în doi pași, utilizată de aceiași autori pentru a-și modela datele experimentale, este din nou un model mai complex, definit de trei parametri: cele două pante și timpul de schimbare a funcției de corelație.

Scalare indusă prin corelație

Identificarea momentelor în care FRD (tk) = FRA (tk), așa cum a propus Levy, a furnizat doar câteva puncte de corelații și a fost dificil să se analizeze un model privind scalarea timpului.

În cazul în care dizolvarea poate fi descrisă ca fiind acceptabilă de o funcție care este soluția unui model, corespondența dintre timpul in vitro pentru obținerea unei fracțiuni date de eliberare / absorbție și timpul in vitro pentru eliberarea aceleiași fracții poate fi stabilită la nivel global în loc de local potrivire, cu funcția care descrie dizolvarea in vivo FRA (t*):

$FD(t_k) = FRA(t_k^*)$. Deoarece acest lucru poate fi scris în formă $t_k^* = FRA^{-1}(FD(t_k))$ regula se numește „metoda funcției de eliberare inversă”.

În identificarea rezultatelor experimentale in vitro și a cineticii de eliberare in vivo folosind modele matematice pentru găsirea unei scalări de timp in vitro in vivo adecvate (ivivts), Cardot [143] a folosit funcția Weibull. Această funcție prezintă avantajul că descrie de obicei foarte bine datele de eliberare, dar este un model cu doi parametri și este empirică. Modelul Weibull consideră evoluția foarte generală în mai multe etape cu probabilități egale de transfer între etape și nu are nicio presupunere cu privire la structura sistemului farmaceutic și mecanismul de eliberare.

Funcția rădăcinii pătrate

Găsirea unei funcții uniforme pentru a descrie scalarea este un obiectiv dorit. Dacă FRA (t) părea a fi o funcție de putere sau rădăcină pătrată, funcția de scalare t* (t) părea a fi mai degrabă o lege a rădăcinii pătrate. Acesta este un rezultat așteptat în contextul aplicabilității legii rădăcinii pătrate pentru eliberarea in vitro, deși comportamentul în două etape este mai puțin frecvent pentru procesele in vivo. Este posibilă și o dependență liniară între $\ln t^*$ și $\ln t$, dar mai puțin probabilă.

Legea rădăcinii pătrate s-a dovedit a fi aplicabilă în ambele formulări evaluate. Această funcție are o rezonanță mecanicistă. De obicei aplicat în descrierea cineticii de eliberare, dovedită aplicabilă în tabletele AMD în toate experimentele noastre, este de fapt un fenomen mai general: eliberarea din tancuri infinite, similară cu eliberarea din termostate în teoria transferului de căldură [103].

În cazul carbamazepinei, după potrivirea fracțiilor egale *in vitro* și *in vivo*, sa constatat o dependență liniară aproximativă între timpul *in vivo* și timpul *in vitro* [144].

Recent, în cazul formulărilor de telmisartan, aplicând aceeași metodă Levy și pentru timpii de eșantionare care nu se potrivesc, factorul de normalizare fiind estimat ca media timpului de eșantionare anterior și următor, autorii au propus două relații liniare și o ecuație de ordinul doi pentru a evita discontinuități de timp [145].

Pentru AMD, primele corelații *in vitro* - *in vivo* au fost încercate de Emami, dar, ca o consecință a farmacocineticii foarte complexe, rezultatele au fost fiabile doar pentru corelațiile de tip B și tip C.

Validarea

De obicei, corelațiile *in vivo* sunt aplicate pentru a compara trei formulări semnificativ diferite. În studiile de bioechivalență, formulările de referință și testate sunt de obicei foarte apropiate. Deci, poate fi testat dacă există același tip de corelație pentru ambele formulări, în cazul nostru, de exemplu, funcția rădăcină pătrată și distanța dintre timpii redimensionați, în ceea ce privește aria sub curbe.

O corelație care implică mai mult de două formulări ar putea fi efectuată în urma comparării diferitelor studii de bioechivalență, dar ținând cont de dificultățile care apar în comparațiile studiilor clinice efectuate pe loturi diferite de subiecți [108].

În studiul nostru am fost interesați de posibilitatea depășirii dificultății de a defini un interval de timp adecvat în care absorbția este contaminată cât mai puțin posibil de circulația enterohepatică și de revenirea în sânge a AMD din lipide și din compartimentul profund și, în consecință, pentru a găsi o metodă de estimare a corelației *in vivo* tip A.

Concluzii

Corelațiile directe ale dizolvării *in vitro* cu absorbția *in vivo* pentru medicamentele cu acțiune îndelungată nu sunt fezabile, deoarece nivelurile plasmatică sunt semnificativ crescute pentru o lungă perioadă de timp după ce absorbția este completă. În aceste condiții, trunchierea curbilor de nivel plasmatic este o soluție similară cu analiza bioechivalenței aceluiași medicamente, care este de fapt o măsură a gradului de absorbție.

Logaritmul nivelurilor plasmatică AMD după T_{max} , a evidențiat trei domenii liniare, legate de preponderența diferitelor procese de eliminare în faze succesive: 7 - 12h, 12 - 48 h și 48 - 72 h. Intervalul de timp 7-12 ore a fost considerat ca fiind corespunzător fazei înainte de revenirea AMD din compartimentul profund și circulația enterohepatică. Intervalul a fost definit ca fază de distribuție-absorbție.

Calculul FRA (t) utilizând o formulă de tip Nelson - Wagner este adecvat în prima „fază dominantă de absorbție”, atunci când modelarea farmacocinetică a nivelurilor plasmatică medii ale AMD a sugerat un comportament pseudo un compartimental, FRA calculat a crescut proporțional cu rădăcina pătrată a timpului în intervalul 0 - 5h, când a atins valoarea 1.

Corelația compendiului „dizolvare forțată” *in vitro* cu absorbția *in vivo* calculată a fost posibilă prin scalarea timpului de dizolvare de la o oră *in vitro* la aproximativ 5 ore. Un grafic Levy bazat pe o funcție de eliberare inversă, transformă corelația dintre fracțiunile de dizolvare în corelație între timpii de dizolvare, un surogat complet al abordării clasice *IVIVC*.

O dependență de rădăcină pătrată între timpul *in vitro* și cea estimată *in vivo* este posibilă în legătură cu același model de eliberare *in vitro* în tabletele AMD. Pentru formulări strâns legate, în ceea ce privește compozițiile și farmacocinetica (bioechivalentă), un model de scalare de timp în timp foarte rădăcină pătrată a funcționat pentru AMD și ar putea fi o regulă mai generală.

III.5. ANALIZA TOXICITĂȚII COMPLEXULUI AMIODARONĂ- β -CICLODEXTRINĂ

Rezultate

Toxicitatea acută a AMD, a AMD / HP- β -CD, a matricei de control AMD (Fc) și a matricei AMD / HP- β -CD (F)

Semnele vitale

În întreaga perioadă de studiu, nu au fost observate semne clinice neobișnuite la șoarecii care au primit 175 mg / kg greutate corporală de AMD, respectiv AMD / HP- β -CD, Fc și F. Tabelul 49 rezumă unele răspunsuri comportamentale ale șoarecilor din primele 30 minute și oră în primele 6 ore după administrarea unei doze unice de substanțe administrate. S-a observat o scădere a sensibilității și activității, tremurului și convulsiilor la 690 mg / kg b.w., în prima oră, urmată de deces în cazul AMD, respectiv AMD / HP- β -CD. Câteva animale (3 din 4) au prezentat ușoare simptome după doza de 275 mg / kg pentru AMD / HP- β -CD și au murit la 6 ore după administrarea substanței. Pentru complexe de incluziune matriceale, s-a observat o scădere a sensibilității și activității, tremurului și convulsiilor la 1090 mg / kg corp, în prima oră, urmată de deces pentru Fc și F10.

Valorile dozei letale medii (DL50) ale AMD, respectiv AMD / HP- β -CD, utilizând procedura spre "în sus și spre în jos" au fost determinate a fi 289,4 mg / kg pentru AMD și 298,3 mg / kg pentru AMD / HP- β -CD. Pentru formulările matriceale, valorile DL50 au fost de 347,5 mg / kg pentru Fc și 455,6 mg / kg pentru F10.

Evaluarea histopatologică

Necropsia a fost efectuată la toate animalele la scurt timp după moarte. Organele interne (ficat, rinichi, plămâni și inimă) au fost examinate pentru modificări macroscopice induse de AMD, respectiv AMD / HP- β -CD și colectate pentru a efectua analize histopatologice (Fig. 64 și 65). Nu s-au observat modificări macroscopice.

Examenul histopatologic al fragmentelor de ficat și rinichi la animalele cărora li s-au administrat doze toxice de 690 mg / kg de AMD au evidențiat aspecte sugestive ale hepatotoxicității induse de medicamente (Fig. 64A, 64C), comparativ cu dozele de 440 mg / kg de AMD (Fig. 64B, 64D). În rinichi, există modificări tipice induse de 690 mg / kg de AMD (Fig. 64E, 64G) comparativ cu dozele de 440 mg / kg de AMD (Fig. 64F, 64H).

Discuții

Studiul nostru a constatat că AMD / HP- β -CD are o toxicitate acută similară cu AMD pură după administrarea parenterală la șoareci: 289,4 mg / kg pentru AMD și 298,3 mg / kg pentru AMD / HP- β -CD. Doze similare ale acestor compuși au produs un grad echivalent de toxicitate acută numai pentru AMD, respectiv AMD / HP- β -CD. Pentru formulările pe bază de matrice, valorile LD50 au fost de 347,5 mg / kg pentru Fc și 455,6 mg / kg pentru F10. Matricea KOL și CHT a indus diferențe mari în solubilitate și eliberarea controlată a AMD: DL50 este cu 1,5 mai mare atunci când AMD este complexată cu HP- β -CD și este inclusă în matricea F10 decât pentru AMD pur. Aceste formulări sunt considerate moderat toxice (doză cuprinsă între 50 mg / kg - 500 mg / kg), conform scalei Hodge și Sterner pentru evaluarea toxicității cu ajutorul DL50 [157], F10 fiind mai aproape de limita ușor toxică. Amiodarona este dificil de administrat datorită domeniului său toxic-terapeutic îngust, având indice terapeutic mic [158]. În studiul nostru, administrarea intraperitoneală a AMD a avut rezultate comparabile cu alte studii de toxicitate acută cu Amiodaronă: LD50 de 294,0 mg / kg greutate corporală la șoareci femele după administrare intravenoasă [159]. Formularea pe bază de matrice a crescut solubilitatea și a modificat eliberarea substanței din formulare.

Hidroxiopropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD) este extrem de biocompatibilă și farmacologic inactivă, prin urmare a fost considerat un material sigur pentru a îmbunătăți solubilitatea și biodisponibilitatea AMD [160]. O formulare complexă de ciclodextrină care conține un medicament bine cunoscut folosit de multă vreme este considerată un „super generic”, superior în performanță, în comparație cu alte produse care conțin aceeași substanță activă cunoscută. În cazul administrării orale, studiile farmacocinetice au arătat că complexele medicament / ciclodextrină au Tmax mai scurt, Cmax mai mare și valori mai mari ale ASC ca urmare a biodisponibilității crescute. Studiile farmacodinamice au arătat că majoritatea complexelor de medicamente / ciclodextrină de pe piață aparțin acestor medicamente super generice care au un efect terapeutic mai mare și mai rapid [152]. Un studiu recent farmacocinetic efectuat la șobolani după administrarea intravenoasă a bolusului a arătat că includerea HP- β -CD în soluția substanței administrate a îmbunătățit compatibilitatea sângelui [161]. Polisorbata 80 (Tween 80), un agent tensioactiv neionic, este considerat netoxic, fiind utilizat ca aditiv, ca emulgator, ca dispersant sau ca stabilizator în diferite tipuri de alimente, preparate farmaceutice sau produse cosmetice [162,163].

Pe de altă parte, Amiodarona are un raport terapeutic îngust și este considerat un medicament cu doză critică, prin urmare, creșterea solubilității și eliberarea controlată a AMD pentru a reduce doza de medicament activ în noua formulare super-generică de ciclodextrină a fost considerată o idee evidentă. În experimentul nostru, LD50, bazat pe procedura de sus și jos, a fost de 289,4 mg / kg pentru AMD, similar valorilor LD50 din literatura de specialitate [159] și 298,3 mg / kg pentru noul complex de ciclodextrină de incluziune HP- β -CD, ceea ce înseamnă că AMD iar complexul său, HP- β -CD, avea un grad echivalent de toxicitate. Administrarea unei doze unice de 440 mg / kg și de 690 mg / kg de AMD clasică sau a noii noastre formulări HP- β -CD a produs efecte toxice echivalente la șoareci: ambele au provocat simptome complexe, cum ar fi modificări ale respirației, agitație, ritm cardiac crescut, convulsii, tremurături, cianoză, căderi, defecație, urinare și piloerecție. La șoareci, atât AMD, cât și HP- β -CD și formulările matriciale au determinat leziuni de toxicitate hepatică și renală, similare cu cele raportate în literatură după doze mari de AMD. Aceste efecte nu au fost observate în formulările matriciale Fc și F10. La om, sindromul de toxicitate acută indusă de AMD este neobișnuit, se manifestă cu insuficiență hepatică și renală acută [164]. Manifestările sistemului nervos central au fost descrise în literatură atunci când au fost administrate doze toxice de AMD. În literatură, cazurile de afectare pulmonară, de ex. edem pulmonar acut, au fost raportate după administrarea dozelor toxice de AMD la om [165].

Concluzii

Studiul nostru de toxicitate acută cu doză unică a arătat că aceeași cantitate de AMD a fost echitoxică cu HP- β -CD, după administrarea intraperitoneală, dozele letale (DL50) ale acestor forme farmaceutice le-au inclus în categoria 3 de toxicitate (substanțe moderat toxice). Pentru formulările bazate pe matrice, LD50 a condus mai sus la ideea unei

administrări mai sigure, deoarece matricea KOL și CHT a indus diferențe mari în solubilitate și a eliberat controlat AMD. LD50 este cu 1,5 mai mare pentru AMD / HP-β-CD inclus într-o matrice bazată pe KOL și CHT comparativ cu AMD pur, administrată pe aceeași cale.

IV. CONCLUZII GENERALE

1. Formularea comprimatelor pe baza de dispersii solide și testarea dizolvării

Pentru substanțele active lipofile, cum este amiodarona, se pune problema eliberării reduse din forma farmaceutică în mediu intestinal, unde solubilitatea lor este mică. În aceste condiții producătorii recurg la diverse metodologii de creștere a solubilității și de amplificare a eliberării, în principal prin complexare cu polimeri și asociere cu tensioactivi, care împreună se comportă ca vectori către locul absorbției, și care măresc transferul interfacial.

O primă problemă care apare este aceea că această eliberare crescută poate duce la precipitarea substanței active în intestin, de unde o mare variabilitate în absorbție și în concentrațiile în sânge. Deci curba de eliberare trebuie să fie situată într-un anumit interval în spațiul timp-concentrație.

Întrucât nu avem acces experimental la procesele din intestine, rezultatul tehnologiilor de formulare aplicate îl putem obține numai după administrare și măsurarea farmacocineticii principiului activ, ceea ce implică costuri mari de timp și de bani, suferințe și riscuri pentru subiecții studiilor clinice implicate.

Alternativa testării *in vitro* a eliberării din formele farmaceutice este tot timpul aplicabilă pentru a reduce numărul de experimente *in vivo*. Aici apare problema alegerii testului *in vitro* astfel încât el să fie “biorelevant”, adică să ofere o cât de cât predicție privind rezultatele *in vivo*. Aici apare din nou însă nevoia de a valida prin experimente de farmacocinetică, caracterul predictiv al metodei. O complicație majoră este însă faptul că testele de dizolvare ce s-au folosit la aprobarea înregistrării majorității medicamentelor au fost teste orientate spre controlul reproductibilității producției. În cazul medicamentelor lipofile mediul de dizolvare conține concentrații mari de tensioactivi, sunt teste forțate, care au o biorelevanță foarte scăzută. În cazul particular al amiodaronei, testul recomandat de USP implică un mediu de dizolvare conținând 1% lauril sulfat de sodiu (LSS) și din acest motiv, diferențele între cineticele de dizolvare ale formulărilor pe bază de dispersii solide și folosind excipienți dezagreganți, au fost destul de mici pentru a putea trage concluzii pertinente.

2. Modelarea farmacocineticii amiodaronei și a metabolitului său activ, desetilamiodarona

Farmacocinetica amiodaronei este foarte complexă și foarte variabilă din același motiv al lipofilității sale foarte mari. Dincolo de variabilitatea eliberării din formele farmaceutice, apare o metabolizare extensivă, iarăși variabilă, o distribuție aproape completă în compartimentul lipidic și alte compartimente profunde, o secreție în bilă și o reabsorbție prin circulația enterohepatică. Cedarea din compartimentele profunde duce la un timp de înjumătățire „pe etape”.

Reprezentarea logaritmului concentrației AMD în funcție de timp a pus în evidență o dependență liniară în trepte, corespunzând predominanței a câte o singură exponențială. S-a constatat că eliminarea a fost aproximată ca suma a trei exponențiale în intervalul 7 - 120 h și cu o sumă de două exponențiale în intervalul de timp 7 - 48 h. În intervalul 7 - 12 h, corespondența cu o singură exponențială a fost excelentă.

Farmacocinetica metabolitului este și ea complicată dar, reprezentarea logaritmică a pus în evidență, pornind de la timpul concentrației maxime, a unei singure exponențiale. Fenomenul este cu mult mai general, fiind caracteristic se pare tuturor metabolitelor, a căror farmacocinetică urmează în esență un model monocompartimental.

3. IVIVC pe baza metabolitelor

Estimarea dizolvării *in vivo* prin deconvoluția farmacocineticii nu este posibilă în cazul medicamentelor cu durată lungă de viață și în special pentru AMD, deoarece nivelurile plasmatiche sunt semnificativ crescute mult timp după sfârșitul absorbției. Restricționarea analizei la o parte a intervalului de timp, similar cu evaluarea cu succes a bioechivalenței aceluiași medicamente, este o posibilă soluție de încercat.

În cazul medicamentelor lipofile, datorită dizolvării lente, absorbției rapide și metabolismului rapid, farmacocinetica atât a medicamentului părinte, cât și a metabolitelor înainte de revenirea medicamentului din alte compartimente din sânge, este determinată în principal de cinetica eliberării în intestin din formularea farmaceutică.

Pentru medicamentele lipofile cu durată lungă de viață, așa cum s-a arătat pentru AMD, este posibilă estimarea fracției de absorbție a medicamentului de bază din farmacocinetica mai simplă a metabolitului, în cazul caruia este posibilă calcularea unei constante de eliminare.

Similitudinea dintre dizolvarea *in vitro* și modelul de dizolvare estimat *in vivo*, precum și dependența similară a timpului scalat de timpul *in vitro* în cazul formulărilor bioechivalente pot fi considerate ca o validare a folosirii metabolitului în modelul de corelație *in vitro* - *in vivo*.

4. Corelarea *in vitro-in vivo* (ivive) restrânsă la perioada de absorbție/distribuție

Corelațiile directe ale dizolvării *in vitro* cu absorbția *in vivo* pentru medicamentele cu acțiune îndelungată nu sunt fezabile, deoarece nivelurile plasmatice sunt semnificativ crescute pentru o lungă perioadă de timp după ce absorbția este completă. În aceste condiții, trunchierea curbelor de nivel plasmatic este o soluție similară cu analiza trunchiata a bioechivalenței aceluiași medicamente, care este de fapt o măsură a gradului de absorbție.

Calculul FRA (t) utilizând o formulă de tip Nelson - Wagner este adecvat în prima „fază dominantă de absorbție”, atunci când modelarea farmacocinetică a nivelurilor plasmatice medii.

În consecință, analiza IVIVC într-un interval trunchiat de la administrare, folosind formula Wagner-Nelson modificată, permite calculul unei fracții de absorbție ca funcție de timp, verosimilă.

Metoda se poate extinde probabil la practic toate medicamentele lipofile.

5. Scalarea timpului *in vitro* la timpul *in vivo*

Corelația între- „dizolvarea forțată” *in vitro* cu absorbția *in vivo* estimată, a fost posibilă prin scalarea timpului de dizolvare în cazul AMD de la o oră *in vitro* la aproximativ 5 ore *in vivo*. Un grafic Levy bazat pe o funcție de eliberare inversă, a transformat corelația dintre fracțiunile de dizolvare în corelație între timpii de dizolvare, un surrogat complet al abordării clasice IVIVC.

O dependență de rădăcină pătrată între timpul de dizolvare *in vitro* și cel estimat *in vivo* este posibilă în legătură cu aplicare aceluiași model de eliberare *in vitro* din tabletele AMD. Pentru formulări similare în ceea ce privește compozițiile și farmacocinetica (bioechivalentă), un model de scalare timp- timp tip rădăcină pătrată a funcționat în cazul AMD și ar putea fi o regulă mai generală.

6. Valorificarea datelor din studiile de bioechivalență

Mii de date obținute din studii de bioechivalență pot fi și trebuie evaluate în studii farmacodinamice și terapeutice ulterioare.

Pe lângă rezultatele medii obișnuite și deviațiile standard, este util să se estimeze intervalele de valori, valorile aberante ale raporturilor parametrilor și gruparea datelor.

În toate studiile de bioechivalență, evaluarea datelor privind concentrațiile standardului intern poate furniza informații privind efectele aportului alimentar standard asupra randamentului de extracție a plasmei.