

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

Chimia Fizică a medicamentului și Biofarmacie

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**CERCETAREA ȘI DEZVOLTAREA UNOR FORME
FARMACEUTICE SOLIDE PE BAZA DE MEBENDAZOL**

Conducător de doctorat:

Prof. Univ. Dr. CONSTANTIN MIRCIOIU

Student-doctorand:

FIRAS GHAFIL ABBAS

2017

Cuprins

I. Contribuții personale	3
1. Creșterea biodisponibilității mebendazolului.	4
1.1. Influența croscarmelozelor asupra ratei de dizolvare, extinderii și mecanismului în mediul gastric simulat	4
1.1.1. Rezultate	4
1.1.2. Discuție	5
1.1.2.1. Modelarea cineticii eliberării	5
1.1.2.2. Modelul de eliberare rădăcină pătrată	6
1.2. Influența croscarmelozelor asupra ratei de dizolvare, extinderii și mecanismului în mediul intestinal simulat	8
1.2.1. Rezultate	8
1.2.1.1. Cinetica de eliberare în FaSSIF	8
1.2.2. Discuție	9
1.2.2.1. Modelarea cineticii eliberării	10
1.3. Imbunătățirea solubilității și biodisponibilității mebendazolului prin formulare sub formă de dispersii solide	12
1.3.1. Obținerea dispersiilor solide	12
1.3.2. Evaluarea cineticii de cedare în vitro a mebendazolului din dispersii solide	12
1.3.3. Rezultate și discuții	12
1.3.3.1. Influența raportului substanță activă: polimer asupra cineticii de cedare a mebendazolului	12
1.3.3.2. Influența conținutului în croscarmeloză sodică asupra profilului cinetic al mebendazolului din comprimatele conținând dispersii solide ale acestuia	14
1.3.3.3. Influența diametrului mediu al particulelor dispersiei solide asupra profilului cinetic al mebendazolului	16
1.3.3.4. Cinetica de eliberare in vitro	17
1.4. Metoda cantitativa de cuantificare a mebendazolului din forme farmaceutice	18
1.4.1. Prepararea soluțiilor standard	18
1.4.2. Rezultate	18
2. Concluziile	20
Bibliografie	23

I. Contribuții personale

Ipoteze de lucru:

Ipoteza de baza este ca atat solubilitatea cat si cinetica de cedare in mediu apos si in medii simuland mediile gastrice si intestinal poate fi modificata prin compozitia, structura si proprietatile formularii farmaceutice.

Obiective:

- Formularea unor comprimate care sa asigure o solubilitate crescuta a mebendazolului.
- Studiul proprietatilor fizicochimice si functionale ale comprimatelor realizate.
- Modelarea cineticilor de eliberare si predictia privind comportamentul in vivo (dizolvare, absorbtie, farmacocinetica).

Mebendazolul se caracterizează prin solubilitate redusă și variabilitate ridicată. Din acest motiv dizolvarea sa este foarte variabila. Cresterea solubilitatii sale se presupune ca va reduce variabilitatea dizolvării si va creste biodisponibilitatea la viermi si deci efectul. Abordările formulelor trebuie să-și mărească solubilitatea în apă, necesară pentru creșterea biodisponibilității mebendazolului și îmbunătățirea acțiunii sale farmacologice.

In o serie de articole recente, autorii prezinta ca metoda de crestere a solubilitatii si activitatii farmacodinamice utilizarea modificarea substantei active prin transformarea in sare,sau prin formularea ca dispersii solide ,Alti autori au propus formuări cu eliberare rapida pentru cresterea activitatii, activitate pe care au masurat-o in vitro, pe rame. O alta solutie, propusa mai recent este formularea mebendazolului ca microparticule redispersabile de OH propilceluloza.

Metodologia generală a cercetării:

Experimente, analize date, modelari, and corelari:

- Incercari de obtinere a unor noi formulari de tablete cu mebendazol pe baza de croscarmeloza excipient pentru realizarea de forme orale direct compresibile si dispersa solida.
- Dezvoltarea unei metode analitice de determinare a mebendazolului in solutie.
- Determinari privind cineticii de eliberare a mebendazolului in medii de dizolvare simuland conditiile fiziologice in stomac si in intestine conditii
- Analiza dependentei cineticii de cedare de concentratiile de croscarmeloza.
- Determinari fizico-chimice pentru caracterizarea formularilor obtinute.
- Corelarea cineticilor de dizolvare cu date de farmacocinetica publicate in literatura.
- Analiza tuturor datelor pentru definirea formularilor cu proprietati biofarmaceutice si farmacocinetice optime.

1. Creșterea biodisponibilității mebendazolului.

1.1. Influența croscarmelozelor asupra ratei de dizolvare, extinderii și mecanismului în mediul gastric simulat

Scopul lucrării este de a prezenta o cercetare privind dezvoltarea formulilor de mebendazol conținând diferite concentrații de Ludiflash ca liant și dezintegrare și croscarmeloză ca superdezintegrant, a fost în concentrații 1%, 2%, 3%, 4% și 5%. testând dizolvarea in vitro a comprimatelor rezultate și estimarea mecanismului de cinetică a eliberării utilizând dispozitivul USP 2 (metoda cu palete), în mediu acid conținând (0,1 N HCl) cu adăugare de lauril sulfat de sodiu 1% [HCl + SLS]. Pentru analiza mebendazolului a fost elaborată și validată o metodă HPLC cu detectare UV.

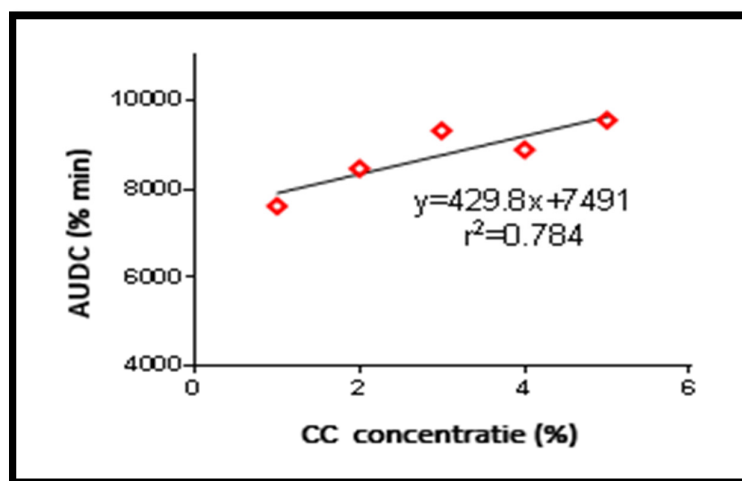
1.1.1. Rezultate

Oricare ar fi compoziția comprimatelor, eliberarea a fost caracterizată prin două faze principale diferite: pre- și post-dezintegrare. În prima fază a experimentului de dizolvare, comprimatele au fost umflate cu apă, dublându-le volumul.

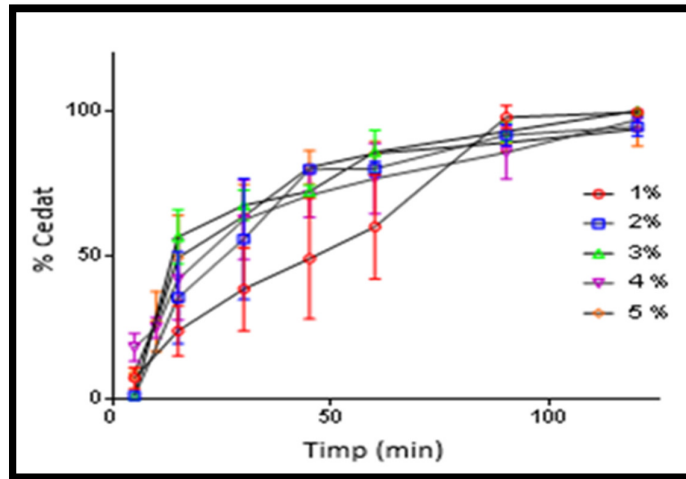
După acest interval de timp a apărut dezintegrarea în multe particule, vizibile la analiza vizuală directă.

Limita de eliberare, definită ca aria de sub curba de dizolvare (AUDC), a crescut aproximativ liniar ca urmare a creșterii concentrației de croscarmeloză, așa cum se poate vedea în figura 1.1.

În concluzie, eliberarea în HCl și lauril sulfat de sodiu 1%. este completă într-un interval de 2-3 ore și crește liniar cu concentrația de croscarmeloză (Figură 1.2).



Figură 1.1. Zonele sub curbele de dizolvare medii corespunzătoare concentrațiilor croscarmeloza diferite



Figură 1.2. Curbe medii de dizolvare pentru concentrația de 5 croscarmeloză.

1.1.2. Discuție

Ludiflash (BASF) care accelerează dezintegrarea. Reticularea reduce solubilitatea în apă, permițând totodată materialului să se umfle (ca un burete) într-o rețea hidrofilă formată și să absoarbă de mai multe ori greutatea sa în apă. Ca rezultat, oferă caracteristici superioare de dizolvare și dezintegrare a medicamentului, îmbunătățind astfel biodisponibilitatea ulterioară a formulilor prin aducerea ingredientelor active într-un contact mai bun cu fluidele corporale.

După umflare, se formează o rețea tridimensională de polimer hidrofilic reticulat, care devine un hidrogel care conține trei domenii diferite: „sticlă” (în cea mai mare parte hidrogel), „cauciuc dur” (proporție semnificativă de apă și hidrogel) și „cauciuc moale” (în cea mai mare parte apă).

Mai târziu, în faza a doua, comprimatele s-au dezintegrat și o nouă eliberare a avut loc pe o suprafață mult mai mare, adică suprafața totală a particulelor rezultate din dezintegrare.

1.1.2.1. Modelarea cineticii eliberării

Mebendazolul se dizolvă concomitent în apă și difuzează printr-un strat limită din rețeaua solidă a comprimatului. Deoarece solubilitatea mebendazolului este scăzută, se poate presupune că, la peretele canalului, concentrația ajunge la saturație sau chiar suprasaturație.

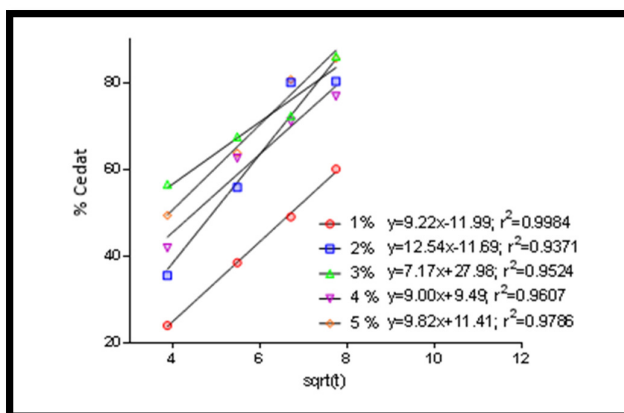
În timpul umflarea comprimatului, pot fi luate în considerare cel puțin trei procese diferite de difuzie:

- a) Difuzia mebendazolului de la suprafața comprimatului la mediul de dizolvare.
- b) dizolvarea mebendazolului din peretele canalului în apă (o difuzie scurtă).
- c) Difuzia în apă de-a lungul canalului și difuzia de la canal la mediul înconjurător (difuzia prelungită).

Condițiile inițiale și limită diferă pentru cele trei domenii de difuzie. Apa din canale este foarte diferită de apa amestecată continuu de pe suprafața comprimatului.

1.1.2.2. Modelul de eliberare rădăcină pătrată

Dependența cantității de mebendazol eliberată pe rădăcina pătrată a timpului este prezentă grafic în Figura 1.3.



Figură 1.3. Dependența liniară a procentului de mebendazol eliberat pe rădăcina pătrată a timpului.

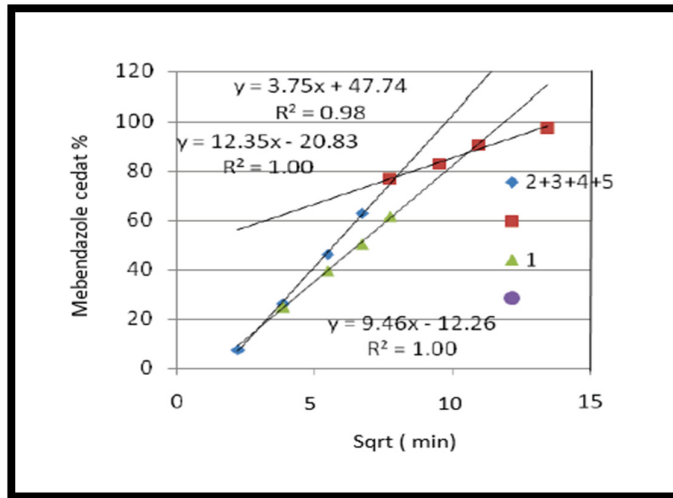
Corelația liniară este excelentă, dar este important să se facă unele observații. În primul rând, trebuie remarcat faptul că reprezentarea datelor începe de la 5 minute în cazul formulei F1 și de la 15 minute în cazul celorlalte formule. Aceste perioade corespund primei faze, când mediul de eliberare intră și umflă comprimatele, dar eliberarea nu este încă semnificativă.

A doua observație este că modelul descrie, de obicei, eliberarea a 60-70% din substanța activă. După această eliberare controlată prin difuzie apar alte procese legate de dispariția structurii comprimatelor sau a altor formulări. Faza de difuzie a durat, în cazul tuturor formulărilor, cu excepția F1, chiar și cu 80-90% eliberare de mebendazol.

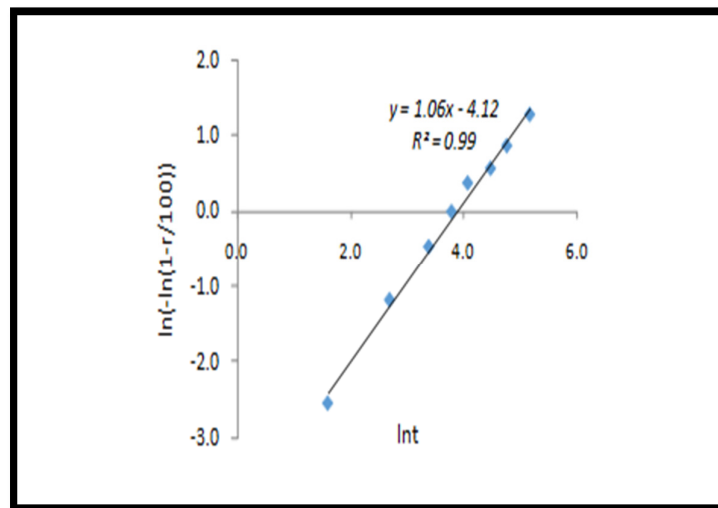
Deoarece curbele de eliberare corespundătoare concentrațiilor 2, 3, 4 și 5% s-au dovedit a fi similare, legea rădăcinii pătrate a Higuchi a fost testată și pentru media acestor curbe. Apoi, deoarece observarea transformării comprimatelor în timpul eliberării a evidențiat o fază de pre-dezintegrare și o fază post-dezintegrare, a fost testată o potrivire bifazică liniară și pentru curba medie. S-au obținut două corelații liniare excelente între cantitatea eliberată și rădăcina pătrată a timpului la intervalele 5 min - 45 min și 45 min - 180 min. Curba 1 ar putea fi potrivită cu legea rădăcinii pătrate numai în 5 min - 45 min.

În concluzie, croscarmeloza are efectul creșterii eliberării mebendazolului din comprimate. Deoarece în condiții similare a fost obținută o biodisponibilitate orală crescută măsurată prin cantitatea de medicament absorbit [AUC și C (max)] după solubilizarea prin complexarea cu povidonă, este de presupus că efectul croscarmelozei observat in vitro implică o creștere a biodisponibilității mebendazolului in-vivo.

Rata și gradul de eliberare au crescut cu concentrația de croscarmeloză. Mecanismul de eliberare a fost controlat prin difuzie, aplicarea legii Higuchi fiind excelentă atât în fazele pre și post dezintegrare. Modelele Peppas și Weibull s-au dovedit a fi aplicabile.



Figură 1.4. Aplicarea modelului Higuchi pentru descrierea cineticii de eliberare pentru curbele corespunzătoare F1 și media curbelor F2-F5 (Figură 1.5).



Figură 1.5. Aplicarea funcției de distribuție Weibull în descrierea datelor de eliberare, media curbelor F2 - F5.

1.2. Influența croscarmelozelor asupra ratei de dizolvare, extinderii și mecanismului în mediul intestinal simulat

Obiectivul principal al acestei cercetări a fost dezvoltarea de comprimate cu viteză și grad de eliberare crescut al mebendazolului în intestin pentru a îmbunătăți biodisponibilitatea și profilul farmacocinetic. O mai bună înțelegere a mecanismului de eliberare din comprimatele experimentale a fost considerată un aspect esențial al obținerii de formule de mebendazol optimizate.

S-au preparat trei formule de mebendazol diferite (F1-F3), diferența constând în concentrația croscarmeloză : 1% pentru F1, 2% pentru F2 și 3% pentru F3.

mebendazolului a fost elaborată și validată o metodă HPLC-UV. Biodisponibilitatea a fost estimată prin cinetica de eliberare in vitro utilizând dispozitivul 2 USP, în fluid intestinal simulat de stare de repaus alimentar (FaSSIF).

1.2.1. Rezultate

Pentru toate concentrațiile de croscarmeloza , cinetica de eliberare a mebendazolului din formulările experimentale a fost caracterizată prin două faze diferite: pre- și post-dezintegrare. În prima fază a experimentului de dizolvare, comprimatele au fost umflate de mediul de dizolvare până la aproximativ două ori volumul inițial, urmată de faza de dezintegrare.

Deoarece solubilitatea mebendazolului scade semnificativ cu creșterea pH-ului, se poate considera o posibilă precipitare a mebendazolului în intestin și, în consecință, o biorelevanță crescută a cineticii de eliberare in vitro în mediul intestinal simulat comparativ cu USP compendial în testul de dizolvare in vitro, folosind ca mediu 0,1 N HCl conținând 1% lauril sulfat de sodiu.

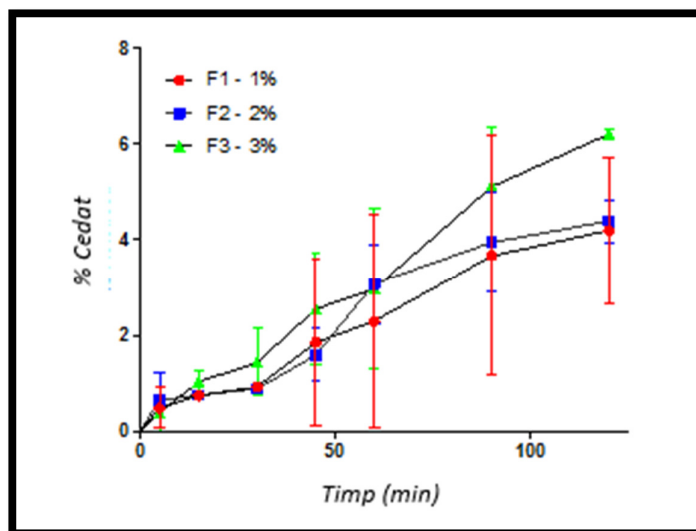
1.2.1.1. Cinetica de eliberare în FaSSIF

Umflarea comprimatelor de către FaSSIF a fost un proces lent (mult mai lent decât procesul similar în mediu acid). După acest interval de timp, a apărut dezintegrarea în multe particule cu diametru mare, care a persistat timp de cel puțin 1 oră.

O altă examinare a arătat că numai o mică parte din mebendazol a fost dizolvată în două ore, iar diferența dintre curbele extreme de dizolvare a fost mai puțin de 7% din conținutul de mebendazol.

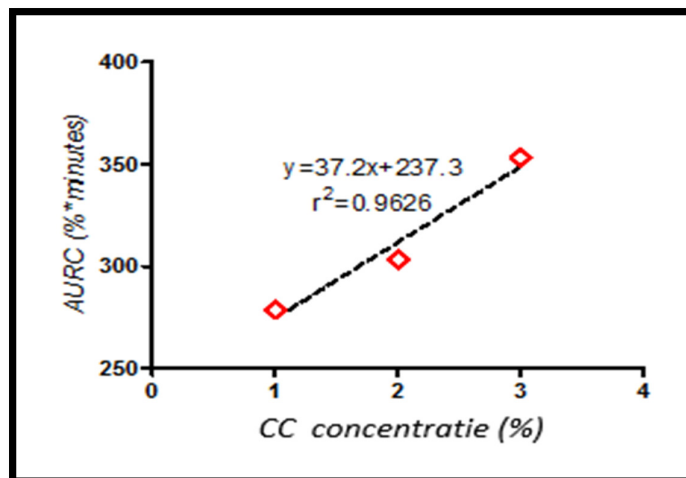
Toate curbele(F1-F3) prezintă două porțiuni distincte: o eliberare foarte lentă timp de 30 de minute urmată de o accelerare. În vecinătatea punctului de 30 de minute există o schimbare bruscă a ratei și posibil a mecanismului. Ținând cont de ceea ce a fost observat global prin analiza vizuală, această schimbare este cel mai probabil asociată cu dezintegrarea comprimatelor.

În mediu FaSSIF, cantitatea eliberată de mebendazol încorporată în comprimate în decurs de două ore a fost redusă, reprezentând mai puțin de 6% (Figură 2.6)



Figură 2.6. Curbe medii de eliberare în FaSSIF pentru F1, F2 și F3.

Analizând AURC, se observă apariția unei dependențe liniare a eliberării de concentrația de croscarmeloză. Astfel că efectul croscarmeloză există și crește cu concentrația croscarmeloză, dar nu este un efect mare (Figură 2.7).



Figură 2.7 . Dependența AURC de concentrația croscarmeloză.

1.2.2. Discuție

Ludiflash (BASF) care accelerează dezintegrarea. Reticularea crește umflarea matricei și absoarbe de multe ori greutatea sa în apă.

După faza de umflare, se formează o rețea tridimensională de polimer hidrofilic reticulat, care devine ulterior un higrogel care conține trei domenii diferite: „sticlă” (în cea

mai mare parte hidrogel), „cauciuc dur” (proporție semnificativă de apă și hidrogel) și „cauciuc moale” (în cea mai mare parte apă).

Mai târziu, în faza finală, o nouă eliberare a avut loc pe o suprafață mult mai mare, adică suprafața totală a particulelor rezultate din dezintegrare.

După cum s-a menționat mai sus înainte de faza de dezintegrare, concomitent cu umflarea, apare eroziunea suprafeței comprimatului. În faza de eroziune rezistența la difuzie în stratul limită este mai mare decât cea după dezintegrare, rezultând o ușoară creștere a ratei de eliberare a mebendazolului.

1.2.2.1. Modelarea cineticii eliberării

Modelul consideră că partea din față a solventului se mișcă încet în interiorul comprimatului determinând apariția unei rețele de canale de apă. Formulele conțin atât polimeri solubili cât și insolubili. În consecință, o umflare mult mai mare a polimerului insolubil are loc după dizolvarea parțială a polimerilor și a medicamentului. Se formează foarte repede pori, canale de apă sau chiar cavități mari pline de lichid prin care medicamentul se difuzează foarte rapid.

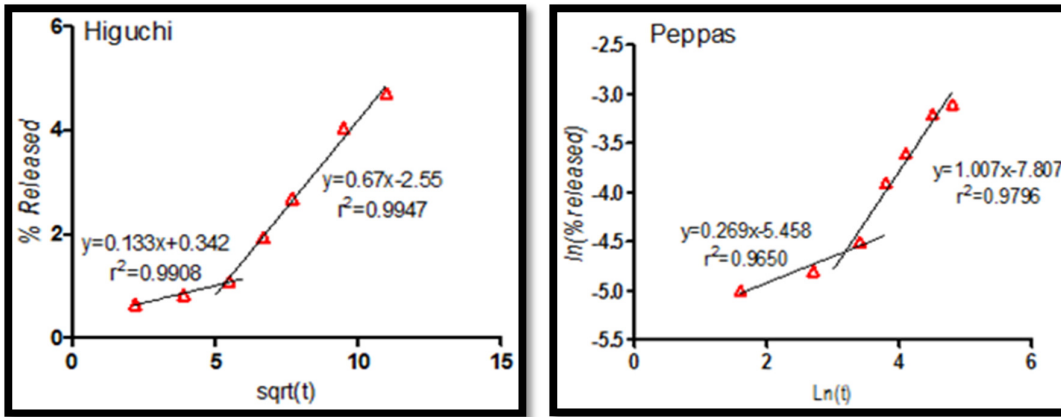
Mebendazolul se dizolvă concomitent în apă și difuzează printr-un strat limită din rețeaua solidă a comprimatului. Deoarece solubilitatea mebendazolului este scăzută, se poate presupune că, la peretele canalului, concentrația ajunge la saturație sau chiar suprasaturație.

În timpul umflării comprimatului se iau în considerare cel puțin trei procese diferite de difuzie:

- a)** difuzia mebendazolului de la suprafața comprimatului la mediul de dizolvare.
- b)** dizolvarea mebendazolului din peretele canalului în apă (o difuzie scurtă).
- c)** difuzia în apă de-a lungul canalului și difuzia de la canal la mediul înconjurător (difuzia îndelungată).

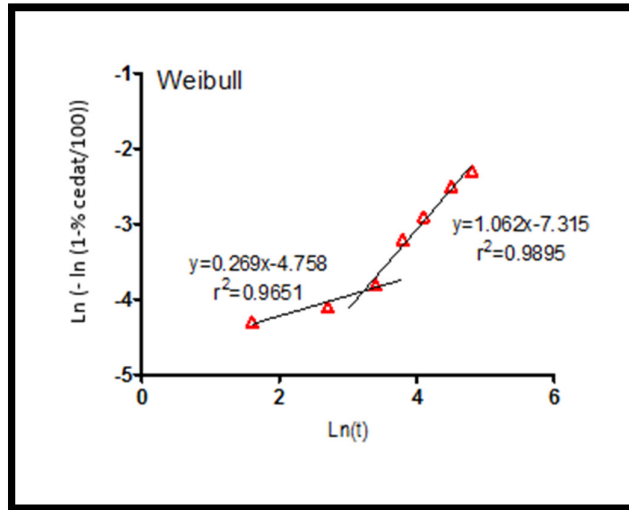
Dizolvarea ar putea fi descrisă de legea lui Higuchi și de legea lui Peppas în ambele umflături fază și post-eroziune-dezintegrare, sugerând o eliberare controlată prin difuzie.

Atât rata cât și gradul de eliberare au crescut cu concentrația de croscarmeloză care prezintă o biodisponibilitate mai bună a mebendazolului din comprimatele care conțin croscarmeloză.



Figură 2.8. Modelarea în două faze a eliberării mebendazolului.

Modelul Weibull a fost aplicat în mod suplimentar așa cum în figura 2.9.



Figură 2.9. Modelarea bifazică Weibull a eliberării mebendazolului (date medii).

1.3. Îmbunătățirea solubilității și biodisponibilității mebendazolului prin formulare sub formă de dispersii solide

1.3.1. Obținerea dispersiilor solide

Prepararea dispersiilor solide de mebendazol (PEG 4000) în diferite rapoarte masice (1:1; 1:2.5) s-a realizat utilizând metoda “în topitură”.

Masa solidă de dispersiilor solide obținută a fost marunțită prin triturare, clasată. Fracțiunile cu diametrul 1-1.5 mm precum și <1 mm au fost reținute și utilizate în formulările ulterioare.

Au fost formulate și evaluate 4 formulări diferite de comprimate conținând mebendazolul sub forma de dispersii solide în PEG 4000.

Testele de cedare in vitro au fost realizate atât în medii simulând conținutul gastric (HCl 0.1N conținând 1% lauril sulfat de sodiu), precum și în medii intestinale simulate. Dat fiind solubilitatea scăzută a mebendazolului, precum și importanța agenților tensioactivi de la nivel intestinal asupra biodisponibilității medicamentelor greu solubile, s-a optat pentru utilizarea unui mediu biorelevant (Fasted State Simulated Intestinal Fluid – FaSSIF)..

1.3.2. Evaluarea cineticii de cedare în vitro a mebendazolului din dispersii solide

Studiul cedării în vitro al mebendazolului din comprimatele experimentale conținând 100 mg substanță activă sub formă de dispersie solidă în PEG 4000 au fost efectuate aparatură USP (cu palete).

The samples were quantitatively analyzed using the HPLC method. All tests were performed in triplicate. The obtained kinetic profiles allowed the study of several formulation variables on the bioavailability of mebendazole. Profilele cinetice obținute au permis studiul mai multor variabile de formulare asupra biodisponibilității mebendazolului.

1.3.3. Rezultate și discuții

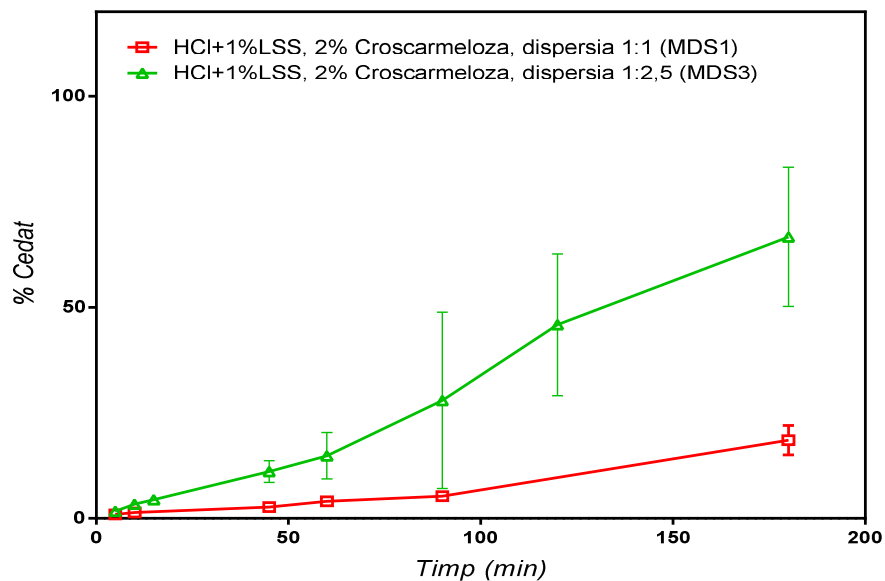
1.3.3.1. Influența raportului substanță activă: polimer asupra cineticii de cedare a mebendazolului

Pentru a studia raportul optim substanță activă: polimer asupra cineticii de cedare a mebendazolului, au fost evaluate 2 rapoarte diferite, respective 1:1 și respectiv 1:2.5.

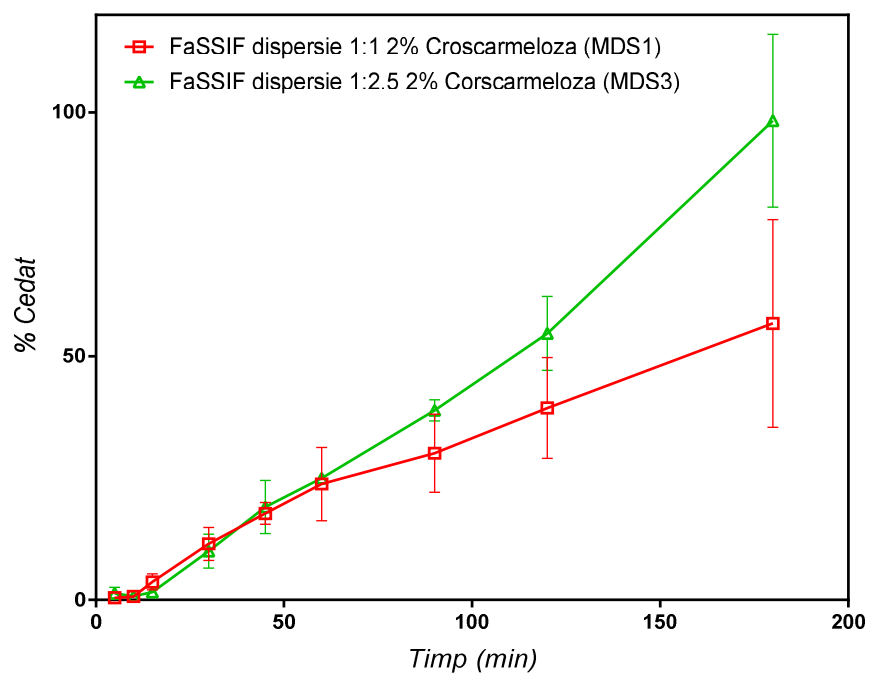
O primă observație este că impactul formulării mebendazolului sub formă de dispersii solide este evident. Pe de o parte, prezența PEG-ului 4000 ca și excipient într-o proporție destul de mare conduce la o scădere a vitezei cu care mebendazolul este cedat la nivel gastric, în comparație cu comprimatele obținute prin comprimare directă. Higroscopicitatea marcată a PEG-urilor și proprietățile lor plasticizante au împiedicat dezagregarea rapidă a comprimatelor în HCl, conducând la o cedare mai lentă a mebendazolului.

Dat fiind însă faptul că locul acțiunii/absorbției mebendazolului nu este la nivel gastric, ci intestinal, precum și faptul că acesta are tendința de a precipita la trecerea de la nivel

gastric la nivel intestinal (având structură de bază slabă), cedarea mai lentă la nivel gastric nu are impact negativ asupra biodisponibilității produsului, ba din contră, poate anula parțial tendința acestuia de precipitare.



Figură 3.10. Influența raportului mebendazol:PEG 4000 asupra cedării substanței active din comprimate în condiții gastrice simulate (medie±SD).



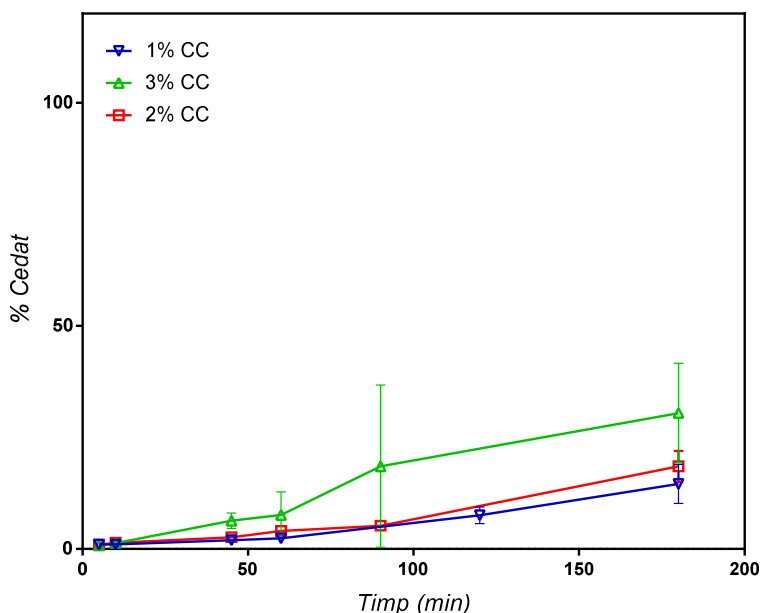
Figură 3.11. Influența raportului mebendazol:PEG 4000 asupra cedării substanței active din comprimate în condiții intestinale (FaSSIF) (medie±SD).

O primă îmbunătățire evidentă datorată formulării sub formă de dispersii solide apare la cedarea în mediul intestinal, când mebendazolul este cedat în procent de aproximativ 60% în 3 ore din dispersia 1:1, și complet din dispersia 1:2.5 (față de doar 6% cât au cedat cel mai mult comprimatele convenționale). De remarcat faptul că în comprimatele convenționale, la aproximativ 6% substanță dizolvată, curbele deja au căpatat aspect de curbe de saturație, prin urmare îmbunătățirea solubilității mebendazolului ca urmare a incorporării sale în dispersiile solide este semnificativă.

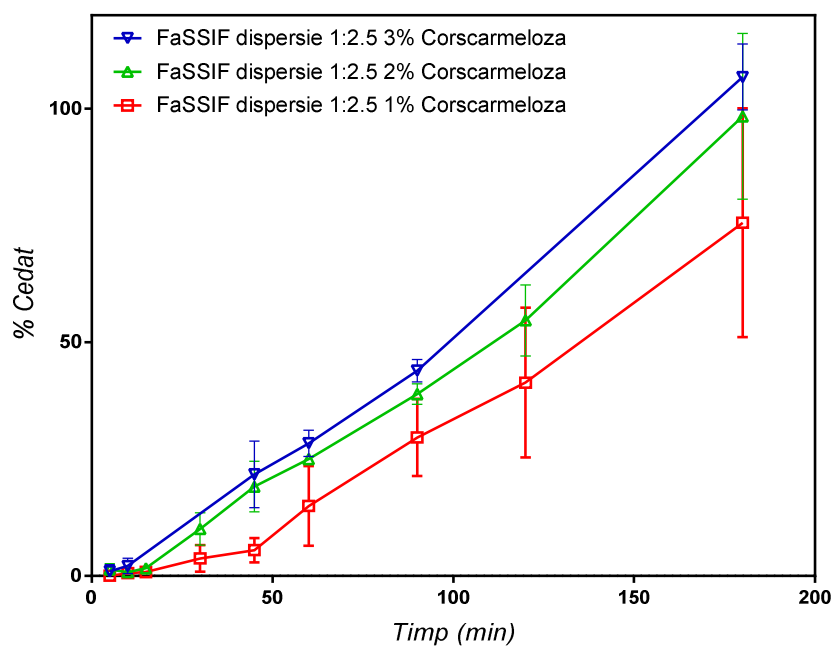
1.3.3.2. Influența conținutului în croscarmeloză sodică asupra profilului cinetic al mebendazolului din comprimatele conținând dispersii solide ale acestuia

Pentru a studia influența conținutului în croscarmeloză asupra profilului cinetic al mebendazolului din comprimatele conținând dispersii solide ale acestuia, au fost preparate 3 formulări diferite utilizând dispersia solidă Mebendazol:PEG 4000 1:2.5, cu 1%, 2% și respectiv 3% croscarmeloză sodică.

Pentru cele 3 formulări evaluate, au fost studiate profilele de cedare atât în mediu gastric, cât și în mediu intestinal simulat.

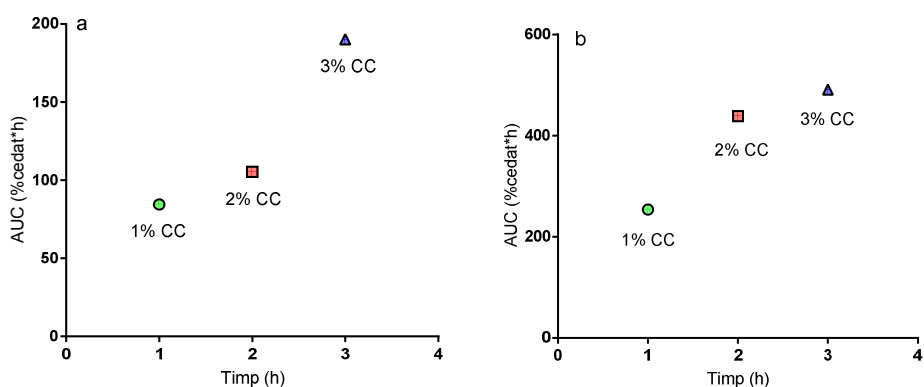


Figură 3.12 Influența conținutului în croscarmeloză sodică asupra profilului cinetic al mebendazolului din comprimatele conținând dispersii solide ale acestuia în condiții gastrice simulate (medie±SD).



Figură 3.13. Influența conținutului în croscarmeloză sodică asupra profilului cinetic al mebendazolului din comprimatele conținând dispersii solide ale acestuia în condiții intestinale simulate (medie \pm SD).

Atât în mediul gastric cât și în cel intestinal s-a înregistrat o creștere a procentului de mebendazol cedat cu creșterea procentului de croscarmeloză sodică (Figura 3.14).

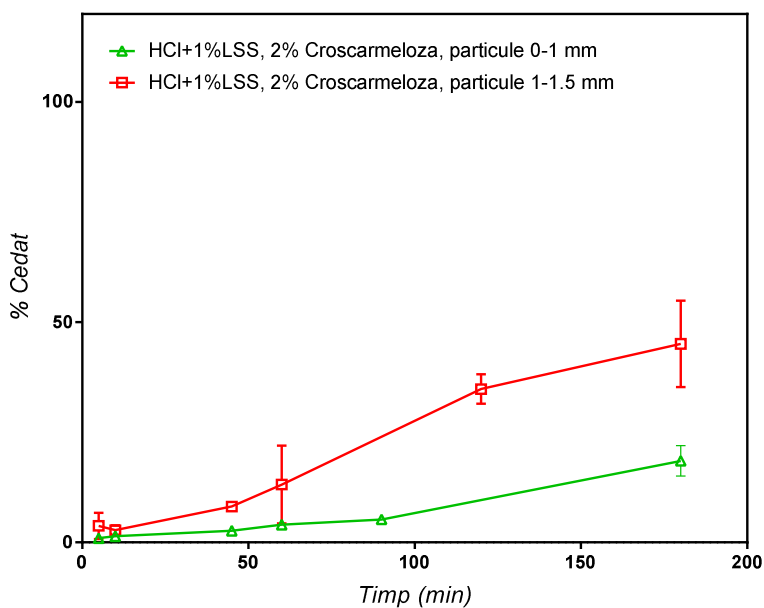


Figură 1.41. Dependența ariei de sub curba de dizolvare de procentul de croscarmeloza sodică din formulare pentru cedarea în mediu gastric (a) și intestinal (b).

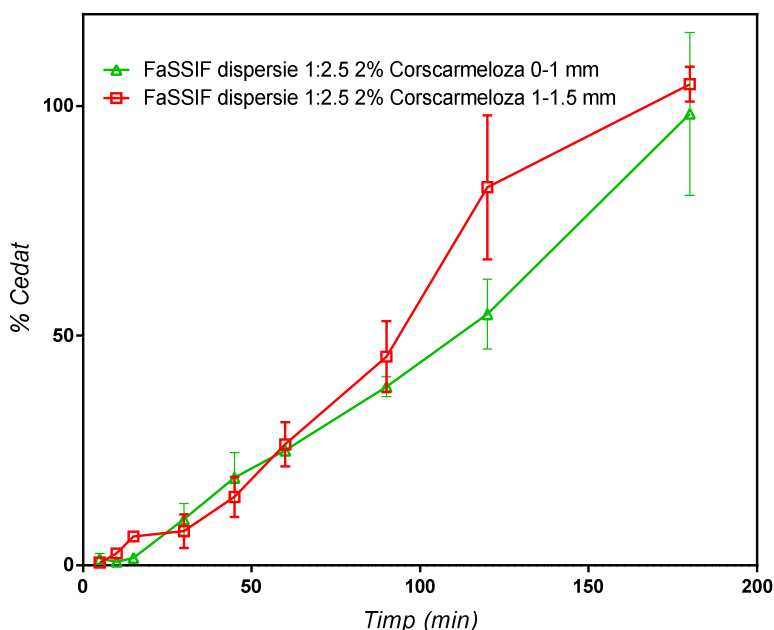
1.3.3.3. Influența diametrului mediu al particulelor dispersiei solide asupra profilului cinetic al mebendazolului

Pentru a studia influența diametrului mediu al particulelor dispersiei solide asupra profilului cinetic al mebendazolului din comprimatele obținute, au fost preparate două loturi diferite din formularea MSD3. Primul a fost preparat utilizând dispersie solidă Mebendazol:PEG 4000 cu diametrul particulelor <1 mm iar cel de-al doilea lot utilizând fracțiunea 1-1.5 mm a aceleiași dispersii.

Pentru ambele formulări evaluate, au fost studiate profilele de cedare atât în mediu gastric, cât și în mediu intestinal simulat.



Figură 3.15 Influența diametrului particulelor dispersiei solide mebendazol: PEG4000 asupra cedării substanței active din comprimate în condiții gastrice simulate (medie±SD).



Figură 3.16. Influența raportului mebendazol: PEG 4000 asupra cedării substanței active din comprimate în condiții intestinale simulate (medie±SD).

1.3.3.4. Cinetica de eliberare in vitro

Eliberarea cinetică a mebendazolului în formulările de dispersie solidă permite înțelegerea mecanismului de eliberare a mebendazolului în sistemul proiectat, precum și disponibilitatea pentru absorbția orală.

Fitarea merge foarte bine cu modelul Noyes – Whitney (cinetica de ordinal 1) și cu modelul Higuchi, după un time-lag. În mod normal, dacă merge modelul Higuchi, trebuie să meargă și modelul Peppas, cu $n=1/2$. Altfel modelul Peppas merge straniu: nu apare un time-lag, și par a fi două faze liniare.

Tot surprinzător și inexplicabil nu merge foarte bine modelul Weibul, model foarte general, presupunând o evoluție în trepte, conditionate fiecare de precedentele, după o aceeași lege și care, de obicei funcționează excelent în toate cazurile în care nu apar complicații. Comportamentul este asemănător cu cel în cazul Peppas. Ca explicații a acestor comportări avem existent două fenomene consecutive: umflarea datorită patrunderii solventului în matrice și dezagregarea comprimatului.

Fitarea foarte bună cu modelul Noyes – Whitney și buna cu modelul Higuchi semnifică faptul că, indiferent de forma și integritatea comprimatelor, eliberarea este controlată de difuzie. Modelul Higuchi se referă la o difuzie în stratul de solvent intern iar modelul Noyes – Whitney la o difuzie într-un strat de difuzie extern, în mediul de dizolvare. Ca o particularitate comună însă, solubilitatea redusă a mebendazolului presupune că la interfața de cedare, concentrația sa este una de saturare și deci în ambele cazuri avem o cedare de tip radical, dintr-un rezervor infinit.

1.4. Metoda cantitativa de cuantificare a mebendazolului din forme farmaceutice

Mai multe substanțe și echipamente au fost utilizate pentru a efectua determinările experimentale

1.4.1. Prepararea soluțiilor standard

Pentru fiecare compus de interes a fost construită o curbă de calibrare în domeniul 1.25-40 $\mu\text{g/mL}$, conținând 6 nivele de concentrații.

Pentru evaluarea preciziei și exactității metodei cromatografice au fost preparate, (utilizând o soluție stoc preparată separat de cea utilizată pentru obținerea standardelor de calibrare) soluții standard trei nivele intermediare de concentrații față de cele utilizate pentru construirea curbei de calibrare (probe de control).

Validarea metodei lichid cromatografice

Metoda cromatografică a fost validată în conformitate cu reglementările ICH. Au fost evaluate: selectivitatea, domeniul de linearitate, limita de cuantificare și limita de detecție, precizia (repetabilitate și precizie intermediară), precum și exactitatea metodei. De asemenea, a fost evaluată stabilitatea soluțiilor de mebendazol atât la frigider cât și la temperatura camerei.

A fost verificată linearitatea metodei pe intervalul 0.25-40 $\mu\text{g/mL}$ (prin evaluarea coeficientului de corelație r , cât și prin evaluarea deviației fiecărui punct experimental față de curba de calibrare calculată).

Pentru evaluarea exactității și preciziei metodei cromatografice, probele de control au fost injectate succesiv de cinci ori în sistemul cromatografic, evaluându-se atât %RSD (ca măsură a preciziei) cât și deviația între concentrația calculată utilizând curba de calibrare corespunzătoare și concentrația reală din probe (ca măsură a exactității metodei).

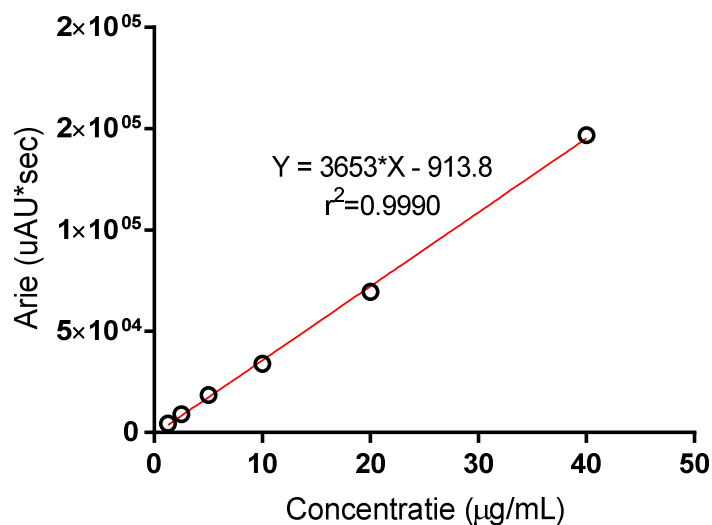
Limita de cuantificare a fost evaluată ca fiind valoarea corespunzătoare unui raport semnal/zgomot de fond (S/N) de 10:1, în timp ce pentru estimarea limitei de detecție a fost considerat un raport S/N de 3:1.

1.4.2. Rezultate

Validarea metodei HPLC pentru determinarea cantitativă a mebendazol

Metoda a fost lineară pe domeniul de concentrații 1.25-40 $\mu\text{g/mL}$, ($r^2 = 0.9990$) (figură 4.17). Fiecare dintre cele 6 soluții standard utilizate pentru a obține curba etalon a fost analizată în triplicat.

Limita de cuantificare, evaluată ca fiind valoarea corespunzătoare unui raport semnal/zgomot de fond (S/N) de 10:1 a fost de 0.272 $\mu\text{g/mL}$, în timp ce limita de detecție (corespunzând raportului S/N de 3:1), a fost de 0.091 $\mu\text{g/mL}$.



Figură 4.17. Curba de calibrare pentru mebendazol

Evaluarea preciziei metodei a condus la valori ale coeficientului de variație (RSD%) între 0.48 și 0.88 %. Deviația (%) între valorile experimentale și cele nominale ale concentrației mebendazolului în probele de control a fost < 1% pentru toate cele 3 probe de control analizate. Aceste rezultate au demonstrat exactitatea și precizia metodei cromatografice de dozare cantitativă a mebendazolului.

Metoda a fost aplicată pentru multiple determinări care au presupus determinarea cantitativă a mebendazolului: determinarea conținutului de mebendazol al din comprimatelor obținute prin comprimare directă și respectiv al celor conținând dispersii solide cu mebendazol, evaluarea uniformității conținutului pentru ambele tipuri de comprimate, dar și pentru a evalua cinetica de cedare in vitro a mebendazolului din cele două tipuri de comprimate în medii gastrice și intestinale simulate. O serie de cromatograme reprezentative pentru aceste determinările realizate.

2. Concluziile

2.1. Concluzii parțiale

Influența croscarmelozelor asupra ratei de dizolvare, extinderii și mecanismului în mediul gastric simulat.

Formulările cu mebendazol ca substanță activă, cu Ludiflash ca dezintegrator și croscarmeloză ca super-dezintegratori sunt fezabile ca și comprimate, cu caracteristici care respectă specificațiile compendiale. Comprimatele experimentale au corespuns în ceea ce privește uniformitatea greutatei, duritatea, friabilitatea, conținutul de medicament, timpul de dezintegrare și proprietățile de dizolvare.

Eliberarea mebendazolului a crescut aproximativ liniar prin adăugarea de croscarmeloză. Creșterea zonei sub curbele de eliberare în funcție de concentrația de croscarmeloză ca măsură a efectului a fost liniară.

Eliberarea mebendazolului din comprimate în mediu acid conținând (0,1 N HCl) cu adăugare de lauril sulfat de sodiu 1% [HCl + SLS] a urmat un curs de două faze: o eliberare lentă în primele 10-15 minute în timpul umflării matricei polimerice și o eliberare mai rapidă din particulele rezultate după dezintegrare.

În ambele faze, în ciuda umflării și a difuzării concomitente spre și în interiorul canalelor, precum și a difuziei la interfețele cu mediul de eliberare în condiții inițiale și limită foarte diferite, eliberarea a fost descrisă foarte bine prin legile rădăcinii pătrate, atât în faza pre- cât și post-dezintegrare.

Aplicarea legii Peppas în cazul intermediar între difuzie și mecanismul controlat prin umflare nu a îmbunătățit potrivirea în comparație cu potrivirea legii rădăcinii pătrate.

Ca de obicei în experimentul de eliberare, aplicarea unei funcții de distribuție mai generale Waloddi Weibull conduce la o curbă teoretică unică care descrie toate datele, dar această funcție este mai puțin discriminatorie în ceea ce privește mecanismul de eliberare. Este de subliniat faptul că valoarea obținută - 1 pentru β parametru sugerează un mecanism preponderent, dar complex, controlat prin difuzie.

Influența croscarmelozelor asupra ratei de dizolvare, extinderii și mecanismului în mediul intestinal simulat.

În timp ce eliberarea mebendazolului în FaSSIF a crescut prin adăugarea de croscarmelloza. Creșterea zonei sub curbele de eliberare în funcție de concentrația de croscarmeloză ca măsură a efectului a fost liniară. Cu toate acestea, dizolvarea mebendazolului în mediul de dizolvare a fost limitată la aproximativ 5% din concentrația disponibilă de mebendazol, ca urmare a saturației mediului de dizolvare, sugerând că solubilitatea este într-adevăr responsabilă pentru biodisponibilitatea scăzută a mebendazolului.

Eliberarea mebendazolului din comprimate a urmat un curs de două faze: o eliberare lentă în primele 30 de minute în timpul umflării și o eroziune a matricei polimerice însoțită de eliberarea mai rapidă din particulele rezultate după dezintegrare.

În ambele faze, în ciuda umflării concomitente spre interiorul canalelor, precum și a difuziei la interfețele cu mediul de eliberare în condiții inițiale și limită foarte diferite, eliberarea a fost descrisă foarte bine prin legile rădăcinii pătrate, atât în faza pre- cât și post-dezintegrare.

Aplicarea legii Peppas în cazul intermediar între difuzie și mecanismul controlat prin umflare nu a îmbunătățit potrivirea în comparație cu potrivirea legii rădăcinii pătrate. Neobișnuită în experimentele de eliberare, aplicarea unei funcții de distribuție mai variate Waloddi Weibull conduce la două curbe teoretice care descriu diferite datele în cele două faze. Valorile obținute pentru β au sugerat un mecanism și mai complex decât difuzarea și eroziunea.

Îmbunătățirea solubilității și biodisponibilității mebendazolului prin formulare sub formă de dispersii solide

Impactul formulării mebendazolului sub formă de dispersii solide cu PEG 4000 este evident. Au fost studiate profilele de cedare atât în mediu gastric, cât și în mediu intestinal simulat. PEG-urile au o higroscopicitate marcată și proprietăți de plasticizare care împiedică dezintegrarea rapidă a tabletelor în HCl, conducând la o eliberare lentă a mebendazolului.

Creșterea procentului de croscarmeloză sodică duce la creșterea procentului de mebendazol eliberat atât în mediul gastric, cât și în cel intestinal.

Rezultatele experimentale sugerează faptul că utilizarea în formulare a unor particule de dispersie cu dimensiuni mai mari favorizează dizolvarea mebendazolului, în special în mediul gastric. Acest aspect, aparent surprinzător, se poate explica prin faptul că, particulele mai mici au condus la obținerea unei pulberi mai compacte, și respective la comprimate cu viteză de dezagregare mai mică, în timp ce utilizarea particulelor de dispersie ceva mai mari au favorizat dezagregarea comprimatului, și implicit dizolvarea mebendazolului.

Raportul dintre mebendazol: polimer 1: 1 și respectiv 1: 2,5 a fost evaluat. Nu s-au utilizat rapoarte mai mari, deoarece, pentru a obține tablete conținând 100 mg de echivalenți mebendazol, astfel de dispersii ar necesita tablete de masă foarte mari și ar conține cantități mari de PEG 4000, nepotrivite pentru unele formulări cu eliberare rapidă.

2.2. Concluzii generale

1. Formulările dezvoltate cu mebendazol ca substanță activă, cu Ludiflash ca dezintegrator și croscarmeloză ca super-dezintegrator au permis un proces tehnologic de comprimare directă stabil. Comprimatele rezultate au avut caracteristici care respectă specificațiile compendiale.

2. Eliberarea mebendazolului din comprimate în mediu acid conținând (0,1 N HCl) cu adăugare de lauril sulfat de sodiu 1% [HCl + SLS] a fost completă după două ore, deci

depasind cu mult solubilitatea mebendazolului si creind posibilitatea precipitarii acestuia la trecerea in intestin..

3. Eliberarea a crescut aproximativ liniar prin adăugarea de croscarmeloză in intervalul 1 – 5 % , dar concentratia de 5 % pare totusi o valoare de saturatie astfel incat o crestere si mai mare a concentratiei sale nu ar duce la o crestere semnificativa a cedarii

4. Dat fiind compozitia comprimatelor cedarea a decurs in doua faze: pre dezagregare si postdezagregare. In ambele faze cinetica de cedare a urmat legea radicalului, deci procesul determinant de viteza a fost difuzia, procesul de umflare fiind mai putin determinant.

5. In FaSSIF eliberarea mebendazolului a crescut prin adăugarea de croscarmelloza, creșterea ariei de sub curbele de eliberare în funcție de concentrația de croscarmeloză ca măsură a efectului a fost liniară. Cu toate acestea, dizolvarea mebendazolului în mediul de dizolvare a fost limitată la aproximativ 5% din concentrația disponibilă de mebendazol, ca urmare a saturației mediului de dizolvare, sugerând că solubilitatea este într-adevăr responsabilă pentru biodisponibilitatea scăzută a mebendazolului.

6. Comprimatele pe baza de dispersii solide mebendazol in PEG s-au realizat in proportiile 1: 1 și respectiv 1: 2,5. Nu s-au utilizat rapoarte mai mari, deoarece, pentru a obține tablete conținând 100 mg mebendazol, astfel de dispersii ar necesita tablete de masă foarte mari și ar conține cantități mari de PEG 4000, nepotrivite pentru unele formulări cu eliberare rapidă.

7. PEG-ul a dus la o scădere a vitezei cu care mebendazolul este cedat la nivel gastric, în comparație cu comprimatele obținute prin comprimare directă. Dat fiind însă faptul că locul acțiunii/absorbției mebendazolului nu este la nivel gastric, ci intestinal, precum și faptul ca acesta are tendința de a precipita la trecerea de la nivel gastric la nivel intestinal (având structură de bază slabă), cedarea mai lentă la nivel gastric nu are impact negativ asupra biodisponibilității produsului, ba din contră, poate anula parțial tendința acestuia de precipitare.

8. O îmbunătățire evidentă datorată formulării sub formă de dispersii solide apare la cedarea în mediul intestinal, când mebendazolul este cedat in procent de aproximativ 60% în 3 ore din dispersia 1:1, și complet din dispersia 1:2.5 (față de doar 6% cât au cedat cel mai mult comprimatele convenționale). De remarcat faptul că in comprimatele convenționale, la aproximativ 6% substanță dizolvată, curbele deja au căpatat aspect de curbe de saturație, prin urmare îmbunătățirea solubilității mebendazolului ca urmare a incorporării sale în dispersiile solide este semnificativă.

Bibliografie

1. Yalkowsky SH, He Y, Jain P. Mebendazole solubility: Handbook of Aqueous Solubility Data. CRC Press. Second edition, 2010; 1087.
2. Pinto LC, Soares BM, Pinheiro JD, Riggins GJ, Assumpção PP, Burbano RM, Montenegro RC. The anthelmintic drug mebendazole inhibits growth, migration and invasion in gastric cancer cell model. *Toxicology in vitro*. 2015 Dec 31;29(8):2038-44.
3. Crank J. *The Mathematics of Diffusion*. 2 ed. Oxford Clarendon Press; 1975.
4. Hopfenberg HB, Hsu KC. Swelling-controlled, constant rate delivery systems. *Polym. Eng. Sci.* 1978; 18(15): 1186-91.
5. Peppas NA, Segot-Chicq S. Les dispositifs a liberation controlee pour la delivrance des principes actifs medicamenteux. III. Modelisation des mecanismes diffusionnels. *STP-Pharma* 1985; 1: 208-16.
6. Bakhouya-Sabbahi N, Bouzon J, Vergnaud JM. Absorption of liquid by a sphere with radial diffusion and finite surface coefficient of matter transfer and subsequent change in dimension. *Polym. Compos.* 1994; 2(105).
7. Chiou WL, Riegelman S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1971 Sep 1;60(9):1281-302.
8. Brazel CS, Peppas NA. Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers. *Polymer* 1999; 40(12): 3383-98.
9. Dawson M, Watson TR. The effect of dose form on the bioavailability of mebendazole in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1985; 19: 87-90.
10. Davidson III GWR, Peppas NA. Solute and penetrant diffusion in swellable polymers: V. Relaxation-controlled transport in P(HEMA-co-MMA) copolymers. *J. Cont. Rel.* 1986; 3(1-4): 243-58.
11. Klier J, Peppas NA. Solute and penetrant diffusion in swellable polymers: VIII. Influence of the swelling interface number on solute concentration profiles and release. *J. Cont. Rel.* 1988; 7(1): 61-8.
12. Higuchi T., Mechanism of drug release from an acrylic polymer wax matrix tablets. *J. Pharm Sci.* 1961; 50:874.
13. Korsmeyer RW, Lustig SR, Peppas NA. Solute and penetrant diffusion in swellable polymers. I. Mathematical modeling. *J. Polym. Sci. B: Polym. Phys.* 1986; 24(2): 395-408.
14. Lustig SR, Peppas NA. Solute and penetrant diffusion in swellable polymers. VII. A free volume-based model with mechanical relaxation. *J. Appl. Polym. Sci.* 1987; 33(2): 533-49.
16. Alfrey T, Gurnee EF, Lloyd WG. Diffusion in glassy polymers. *J. Polym. Sci. , Polym Symp* 1966; 12(1):249-261.

17. Peppas NA. Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers. *Pharm. Acta Helv.* 1985; 60(4): 110-1.
18. Colombo P, Bettini R, Massimo G, Catellani PL, Santi P, Peppas NA. Drug diffusion front movement is important in drug release control from swellable matrix tablets. *J. Pharm. Sci.* 1995; 84(8):991-7.
19. Weibull W., A statistical distribution function of wide applications. *J Appl Mechanics*, 1951; 18(3):293.
20. Li Y, Sun DJ, MA D. The pharmacokinetics and relative bioavailability of mebendazole peppets after oral administration. *Chin. J. Hosp. Pharm* 1999, 19:649–651.
21. Pereira LM. Fractal pharmacokinetics. *Computational and mathematical methods in medicine.* 2010 ;11(2):161-84..
22. Rinaki E, Valsami G, Macheras P. The power law can describe the ‘entire’ drug release curve from HPMC-based matrix tablets: a hypothesis. *Int. J. pharm.* 2003;255(1):199-207.
23. Bunde A, Havlin S, Nossal R, Stanley HE, Weiss GH. On controlled diffusion-limited drug release from a leaky matrix. *J. Chem. Phys.* 1985;83(11):5909-13.
24. Leuenberger H, Rohera BD, Haas C. Percolation theory—a novel approach to solid dosage form design. *Int. J. Pharm.* 1987;38(1-3):109-15.
25. Ritger PL, Peppas NA. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *J. Cont. Rel.* 1987; 5(1): 23-36.
26. Siepmann J, Peppas NA. Mathematical modeling of controlled drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001; 48(2-3): 137-8.
27. Kosmidis K, Argyrakis P, Macheras P. A reappraisal of drug release laws using Monte Carlo simulations: the prevalence of the Weibull function. *Pharm. res.* 2003 ;20(7):988-95.
28. Noyes AA, Whitney WR. The rate of solution of solid substances in their own solutions. *J. Am. Chem .Soc.* 1897; 19(12): 930-4.
29. Papadopoulou V, Kosmidis K, Vlachou M, Macheras P. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. *Int J Pharm* 2006; 309(1-2): 44-50.
30. Macheras P, Dokoumetzidis A. On the heterogeneity of drug dissolution and release. *Pharm. res.* 2000;17(2):108-12.

Lista publicațiilor

I. **Firas Ghafil**, Valentina Anuța, Iulian Sârbu, Corina Dalia Toderescu, Ion Mircioiu. Creșterea biodisponibilității mebendazolului I. Influența croscarmelozelor asupra ratei de dizolvare, extinderii și mecanismului în mediul gastric simulat. *Studia Universitatis „Vasile Goldiș”*, *Seria Științele Vieții*. 27 (1), 2017, 69-78.

<http://www.studiauniversitatis.ro/pdf/27-%202017/27-%201-%202017/10-%20SUVG%2027-%20F.G.-%2069-78.pdf>

II. **Firas Ghafil**, Valentina Anuța, Iulian Sârbu, Corina Dalia Toderescu, Ion Mircioiu. Creșterea biodisponibilității mebendazolului II. Influența croscarmelozelor asupra ratei de dizolvare, extinderii și mecanismului în mediul intestinal simulat. *Studia Universitatis „Vasile Goldiș”*, *Seria Științele Vieții*. 27 (1), 2017, 39-46.

<http://www.studiauniversitatis.ro/pdf/27-%202017/27-%201-%202017/6-%20SUVG-%20F.G.-%2039-46.pdf>