

## Notas de farmacología: estudios de disolución de medicamentos del sistema nervioso central

### Autores

#### **Ismael Olmos**

Químico farmacéutico. Jefe de Dpto. de Farmacia Hospital Vilardebó. Estudiante de doctorado del Dpto. de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Química, Udelar.

#### **Marta Vázquez**

Química farmacéutica. Doctora en Química. Profesora encargada del Área de Biofarmacia y Terapéutica del Dpto. de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Química, Udelar. Encargada de la Unidad de Monitoreo de Medicamentos del Hospital de Clínicas, Udelar.

#### **Cecilia Maldonado**

Química farmacéutica. Doctora en Química. Asistente del Dpto. de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Química, Udelar.

#### **Pietro Fagiolino**

Químico farmacéutico. Doctor en Química. Profesor director del Centro de Evaluación de Biodisponibilidad y Bioequivalencia de Medicamentos. Director del Dpto. de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Química, Udelar.

#### **Laura Magallanes**

Química farmacéutica. Ayudante del Dpto. de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Química, Udelar.

#### **Gustavo Giachetto**

Médico pediatra, especialista en farmacología y terapéutica. Profesor de Clínica Pediátrica, Facultad de Medicina, Udelar.

### Resumen

*El propósito de los estudios in vitro es comparar las características de liberación del principio activo contenido en una forma farmacéutica sólida oral mediante la cantidad, o porcentaje de la dosis, disuelta en función del tiempo en condiciones controladas y validadas. Se realizó una comparación de disolución in vitro de flunitrazepam (Rohypnol®, Somnidual® e Inervon®) y de lamotrigina (Lamictal® y Epilepax®). Para los perfiles de disolución de flunitrazepam, una de las marcas comerciales tuvo un perfil de disolución muy diferente a las otras dos marcas. Para el caso de lamotrigina no existió diferencia para aquellos pH que se consideran fundamentales para la disolución del comprimido en el tracto gastrointestinal. Los resultados obtenidos de los estudios in vitro son simplemente orientadores, permiten tan solo guiar la puesta en marcha del ensayo de bioequivalencia entre el test evaluado in vitro y la referencia utilizada en el mismo ensayo. No obstante, estos resultados pueden constituirse en un elemento de apoyo a la presunción de bioinequivalencia como causa de un evento adverso (ineficacia o toxicidad) detectado en los programas de farmacovigilancia actualmente en marcha.*

### Palabras clave

Lamotrigina  
Flunitrazepam  
Estudios de disolución in vitro

### Summary

*The purpose of in vitro dissolution studies is to compare the release characteristics of the active ingredient contained in a solid oral dosage form by the amount or percentage of dose dissolved throughout time under controlled and validated conditions.*

*In vitro dissolution studies of flunitrazepam (Rohypnol®, Somnidual® and Inervon®) and lamotrigine (Lamictal® and Epilepax®) were performed. Dissolution profiles of flunitrazepam showed dissimilar dissolution for one drug product. In the case of lamotrigine, no differences were observed for those pHs that are essential for dissolution of the tablet in the gastrointestinal tract.*

*The results obtained in vitro constitute just a guide for the implementation of bioequivalence studies between the test assessed in vitro and the reference used in the same assay. What is more, in vitro studies can become a useful tool for bioinequivalence presumption as the cause of an adverse effect (inefficacy/toxicity) detected in the pharmacovigilance programs currently taking place.*

### Key words

Lamotrigine  
Flunitrazepam  
In vitro dissolution studies

## Introducción

El propósito de los estudios *in vitro* es comparar las características de liberación del principio activo contenido en una forma farmacéutica sólida oral mediante la cantidad, o porcentaje de la dosis, disuelta en función del tiempo en condiciones controladas y validadas. Se comparan las cinéticas (velocidades) de disolución *in vitro* del medicamento T con la del R en tres medios de disolución con diferentes valores de pH que simulan el tracto gastrointestinal: pH 1,2, 4,5 y 6,8.<sup>1</sup>

Los estudios de disolución *in vitro* juegan un rol clave en la comprensión del fenómeno de biodisponibilidad relativa, dado que la disolución es la primera etapa que debe transitar un medicamento luego de ingerido. Esta condicionará las posteriores etapas de permeación y metabolización presistémica del fármaco, y subsecuente absorción hacia el medio interno.

El decreto N.º 12/007<sup>2</sup> admite como prueba de la equivalencia biofarmacéutica (intercambiabilidad) el ensayo de disolución *in vitro* para algunos medicamentos que contienen determinados fármacos. Otros medicamentos solo pueden demostrar la bioequivalencia mediante ensayos *in vivo*, y en estos la disolución *in vitro* no es subrogante. No obstante, los estudios *in vitro* dan una orientación del comportamiento biofarmacéutico de las distintas marcas comerciales, comparándolas con el medicamento original.

El Centro de Evaluación de Biodisponibilidad y Bioequivalencia de Medicamentos (CEBIOBE), inaugurado en el año 2009, surge del esfuerzo conjunto de la Universidad de la República (Facultad de Química y Facultad de Medicina, UdelAR) y la Administración de Servicios de Salud del Estado (ASSE). El CEBIOBE reúne el personal técnico calificado y la infraestructura necesaria para el desarrollo de los estudios de intercambiabilidad, lo que potencia la investigación nacional vinculada al medicamento y la vigilancia poscomercialización.<sup>3</sup>

El Departamento de Farmacia del Hospital Vilardebó (ASSE) recibió dos tipos de notifica-

ciones de problemas de efectividad: 1) con una de las marcas comerciales de flunitrazepam y 2) con una marca comercial de lamotrigina. Esto motivó la realización de un estudio de comparación del perfil de disolución *in vitro* de diferentes marcas comerciales de flunitrazepam y lamotrigina.

## Objetivo

Comparar mediante estudios de disolución *in vitro* los perfiles de fármaco disuelto a lo largo del tiempo de diferentes marcas comerciales que contienen flunitrazepam y lamotrigina.

## Material y método

Se compararon los perfiles de disolución *in vitro* de tres medicamentos de liberación inmediata que contienen flunitrazepam como principio activo (Rohypnol®, Inervon® y Somnidual®), y dos medicamentos de liberación inmediata que contienen lamotrigina (Lamictal® y Epilepax®). Ambos estudios fueron llevados a cabo en el CEBIOBE.

Para el caso de flunitrazepam se tomó como referencia (R) Rohypnol® 1 mg. Los medicamentos testados (T) fueron Somnidual® 2 mg e Inervon® 2 mg.

Para la lamotrigina, la referencia (R) fue Lamictal® 200 mg. Se testeó Epilepax® 100 mg (T).

*Descripción del ensayo de disolución.* Se siguió las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) recogidas en el Decreto de Intercambiabilidad N.º 12/007.<sup>2,4</sup>

*Equipo de disolución.* Aparato 2 de la USP (paletas giratorias), marca Distek, modelo 2100C, configurado con bomba peristáltica Agilent modelo 89092EO, para 6 vasos de disolución. Velocidad de giro: 75 rpm. Volumen: 900 mL en cada vaso de disolución. Medios de disolución: 1) HCl/KCl pH 1,2; 2) tampón acetato, pH 4,5; 3) tampón fosfato pH 6,8.

Tiempos de muestreo para flunitrazepam: 10, 20, 30, 40 y 60 minutos y para lamotrigina: 5, 10, 15, 20, 30 y 40 minutos. Temperatura:  $37.0 \pm 0.5$  °C. Para flunitrazepam se colocaron por separado 1 o 2 comprimidos según la marca comercial (2 comprimidos de Rhoypnol® 1 mg, 1 comprimido de Somnidual® 2 mg y 1 comprimido de Inervon® 2 mg), en cada uno de los 6 vasos. Para lamotrigina por separado se colocó 2 comprimidos de Epilepax® 100 mg y un comprimido de Lamictal® 200 mg.

*Equipo para dosificación de muestras.* Cromatógrafo líquido de alta eficacia (HPLC), marca Dionex Ultimate 3000 Series, con columna: Phenomenex Luna, C18 (150 x 4.60 mm, 5 $\mu$ i). Condiciones cromatográficas para flunitrazepam: fase móvil constituida por tampón fosfato 45 mM pH 3,0/acetronitrilo (60/40); flujo: 1.5 mL/min; longitud de onda: 220 nm; temperatura de horno de columna: 37.0 °C; volumen de inyección: 20  $\mu$ L.

*Condiciones cromatográficas para lamotrigina.* Fase móvil constituida por buffer fosfato de sodio 0.5 M/acetronitrilo (80/40); flujo: 1.0 mL/min; longitud de onda: 277 nm; temperatura de horno de columna: 40.0 °C; volumen de inyección: 20  $\mu$ L.

*Evaluación de los perfiles de disolución.* Para evaluar los perfiles de disolución se de-

terminó el factor de similitud ( $f_2$ ) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$F = 50 \cdot \log \left[ \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^{i=n} [R_t - T_t]^2}{n}}} \right]$$

En esta ecuación  $R_t$  y  $T_t$  son los porcentajes acumulados de principio activo disuelto en cada uno de los tiempos seleccionados de  $R$  y de  $T$ , respectivamente. Se considera que los medicamentos tienen un perfil similar de disolución cuando  $f_2$  es mayor a 50.<sup>1</sup>

## Resultados

### Comparación *in vitro* de flunitrazepam

Las figuras 1, 2 y 3 muestran los perfiles de disolución de las tres marcas comerciales de medicamentos que contienen flunitrazepam (Rohypnol®, Inervon®, Somnidual®) a pH 1,2, 4,5 y 6,8, respectivamente. A pH 4,5 y 6,8  $f_2$  fue menor a 50 para Somnidual®.

Figura 1 | Perfil de disolución de tres marcas comerciales de medicamentos que contienen flunitrazepam a pH=1,2

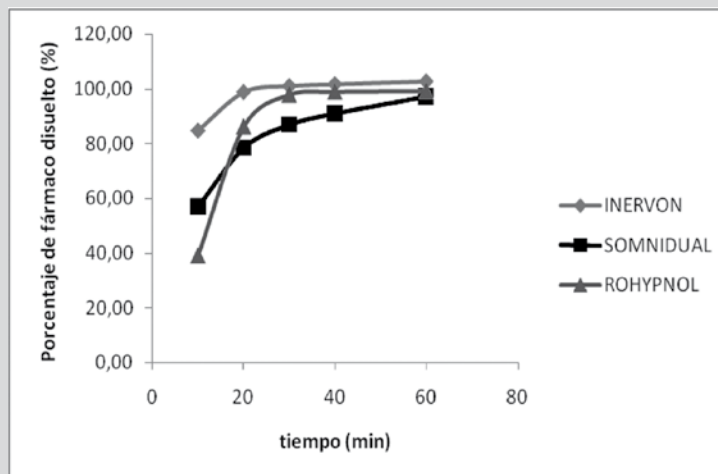


Figura 2 | Perfil de disolución de tres marcas comerciales de medicamentos que contienen flunitrazepam a pH=4,5

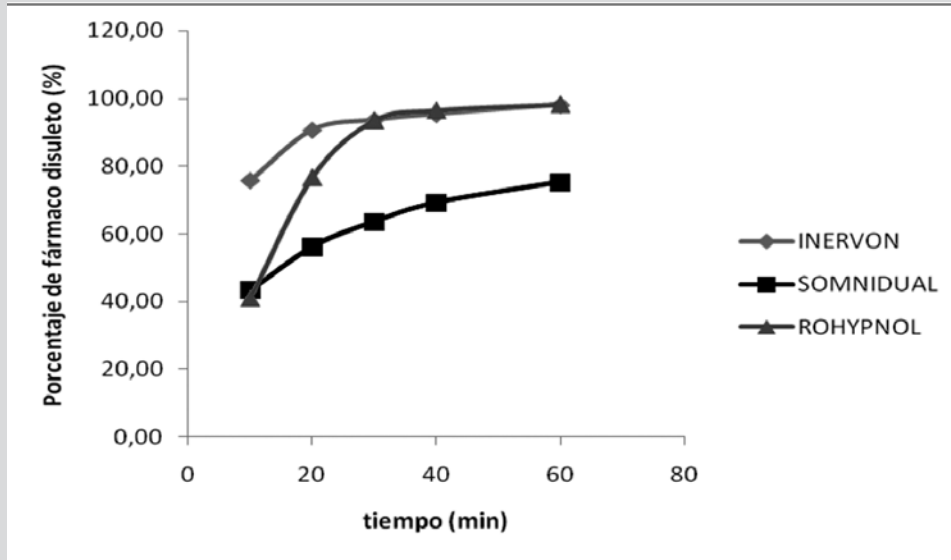
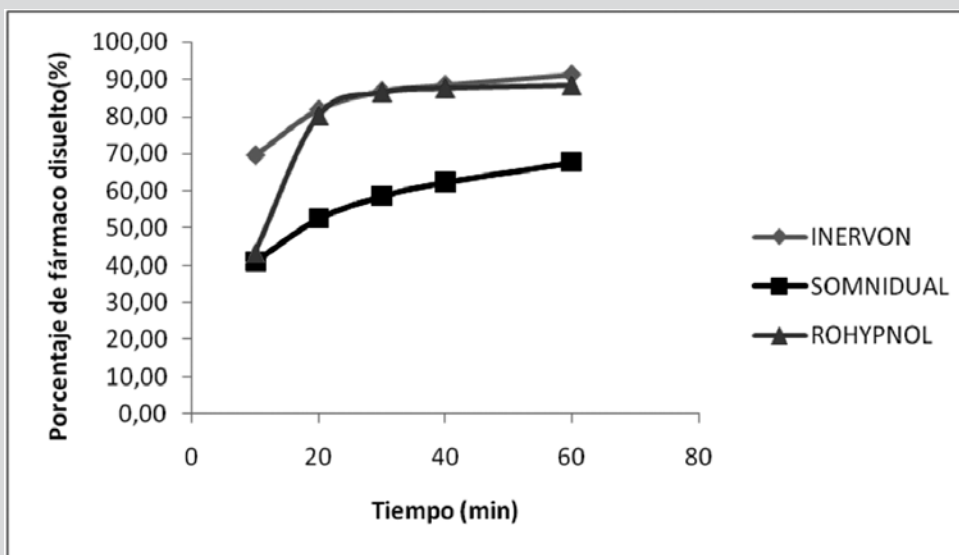


Figura 3 | Perfil de disolución de tres marcas comerciales de medicamentos que contienen flunitrazepam a pH=6,8



### Comparación *in vitro* de lamotrigina

Las figuras 4, 5 y 6 muestran los perfiles de disolución de dos marcas comerciales de medicamentos que contienen lamotrigina a pH 1,2, 4,5 y 6,8, respectivamente. A pH 6,8  $f_2$  fue menor a 50 para Epilepax®.

Figura 4 | Disolución de lamotrigina a pH=1,2. Test: Epilepax® y Referencia: Lamictal®

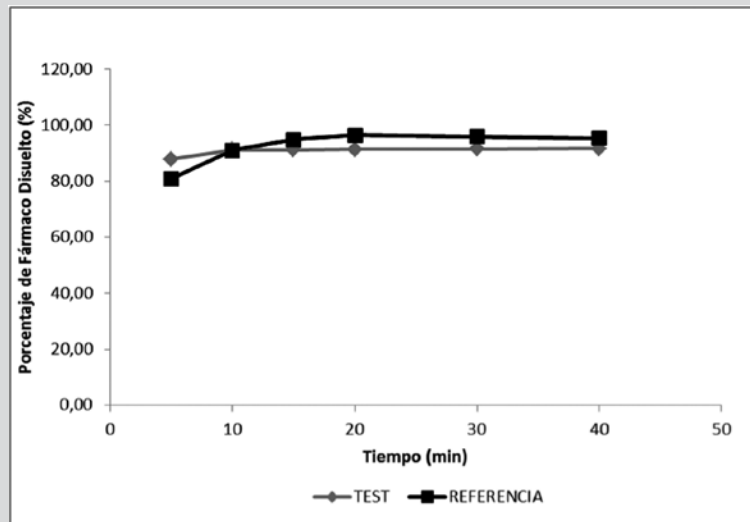


Figura 5 | Disolución de lamotrigina a pH=4,5. Test: Epilepax® Referencia: Lamictal®

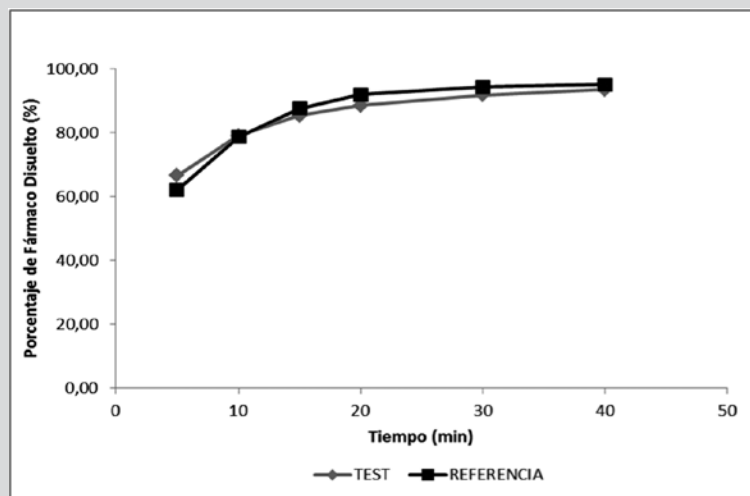
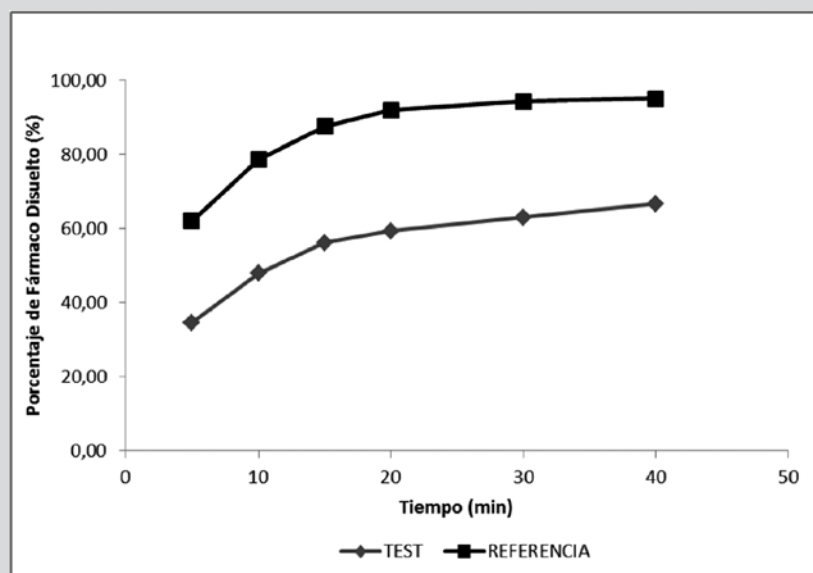


Figura 6 | Disolución de lamotrigina a pH=6,8. Test: Epilepax® Referencia: Lamictal®



## Discusión

El presente constituye uno de los primeros estudios en Uruguay que analiza el comportamiento de disolución de diferentes marcas comerciales de medicamentos que contienen principios activos con efectos en el sistema nervioso central, ante la eventual falta de efectividad reportada por integrantes del sector médico.

Flunitrazepam y lamotrigina se comercializan en el mercado farmacéutico uruguayo en diferentes marcas comerciales. Todas ellas han sido registradas por el MSP. Sin embargo, ninguna había sido sometida a estudios de bioequivalencia o intercambiabilidad.

El estudio de disolución *in vitro* de las tres marcas de flunitrazepam mostró que el comportamiento de Somnidual® es diferente a las otras dos marcas analizadas. Su perfil de disolución fue significativamente menor a pH 4,5 y 6,8. Este comportamiento diferente podría presumir una menor velocidad de absorción y menor biodisponibilidad por vía oral. Este hecho podría tener relevancia clínica en

la medida que no se alcance la concentración mínima eficaz. Asimismo, el perfil de absorción incide en las características del efecto hipnótico. Si un paciente presenta dificultad para conciliar el sueño requerirá de un fármaco con escasa latencia de acción, que alcance rápidamente la concentración plasmática pico. Estos hallazgos justifican la necesidad de evaluar la equivalencia biofarmacéutica *in vivo* para determinar la intercambiabilidad clínica de Somnidual®.

Los problemas de efectividad clínica con flunitrazepam, referidos por algunos de los profesionales del Hospital Vilardebó, requirieron un análisis individualizado. La complejidad de la población tratada con estos medicamentos impidió extraer conclusiones definitivas. Sin embargo, es posible que a los múltiples factores que modifican la respuesta terapéutica antes analizados se sumen los problemas de intercambiabilidad o bioequivalencia de los diferentes medicamentos. Si bien no se dispone de notificaciones de eventos adversos con la marca Inervon®, es de presumir que la más rápida disolución ocurrida en los primeros 20

minutos de los tres medios de disolución no implique un serio riesgo de toxicidad.

Para el caso de lamotrigina los datos obtenidos en los estudios de disolución mostraron comportamiento similar de ambas marcas a pH 1,2 y 4,5. Sin embargo, a un pH más neutro (pH 6,8) mostró un comportamiento diferente. Es posible que esta diferencia no impacte en la respuesta terapéutica, ya que es poco probable alcanzar ese pH a nivel gástrico, aun con la administración concomitante de inhibidores de la secreción ácida. Las disoluciones suficientemente rápidas a pH ácido (gástrico y duodenal) harían improbable que se requiriera más trayecto por el tracto digestivo para finalizar completamente la disolución del fármaco y quedar totalmente disponible para la absorción. Por consiguiente, es altamente probable que la disolución *in vivo* se complete de manera similar por las dos marcas, y desde ellas se logre la misma biodisponibilidad del fármaco.

## Conclusiones

Se observó que una marca comercial de flunitrazepam tiene un perfil de disolución más lento que la referencia del mercado. Para el caso de lamotrigina, los estudios de disolución no mostraron una diferencia significativa entre las marcas comerciales a los pH 1,2 y 4,5, que se entienden relevantes para la biodisponibilidad de este fármaco, aun cuando se mantenga vigente a nivel regulatorio la exigibilidad de equivalencias en los tres medios de disolución.

Los resultados obtenidos *in vitro* son simplemente orientadores, permiten tan solo guiar prospectivamente la puesta en marcha del ensayo de bioequivalencia entre el medicamento test evaluado *in vitro* y la referencia utilizada en el mismo ensayo. No obstante, pueden constituir un elemento de presunción de bioinequivalencia como causa de falta de efectividad o efectos adversos e integrar programas de farmacovigilancia.

## Referencias bibliográficas

1. United States Department of Health and Human Services, FDA, CDER. Guidance for Industry. Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-released solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. Disponible en: <<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070246.pdf>>. (Consulta: setiembre 2013.)
2. Decreto N.º 12/2007. Recomendaciones técnicas para la realización de estudios de bioequivalencia. Montevideo, Uruguay 12 de enero de 2007. Disponible en: <[http://archivo.presidencia.gub.uy/\\_Web/decretos/2007/01/266\\_15%2009%202006\\_00001.pdf](http://archivo.presidencia.gub.uy/_Web/decretos/2007/01/266_15%2009%202006_00001.pdf)>. (Consulta: setiembre 2013.)
3. Decreto N.º 261/009. Reglamentación de los centros y de los estudios de biodisponibilidad comparativa y/o bioequivalencia "in vivo" de medicamentos. Montevideo, Uruguay, 2009. Disponible en: <[http://archivo.presidencia.gub.uy/\\_web/decretos/2009/06/ASUNTO74.pdf](http://archivo.presidencia.gub.uy/_web/decretos/2009/06/ASUNTO74.pdf)>. (Consulta: setiembre 2013.)
4. WHO. Multisource (Generic) pharmaceuticals products: Guidelines on registration requirements to establish interchangeability. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, Fortieth Report. Geneva, World Health Organization, 2006. Technical Report Series, N.º 937. Annex 7:347-390.