

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL FARMACIE**

***DEZVOLTAREA ȘI EVALUAREA IN VITRO A UNOR  
PREPARATE FARMACEUTICE SEMISOLIDE TOPICE  
ȘI CORELAȚIA IN VITRO-IN VIVO***

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:  
PROF. UNIV. DR. LUPULIASA DUMITRU**

**Student-doctorand:  
MÎNEA ALINA**

**2024**

## Cuprins

<b>Introducere</b>	<b>11</b>
<b>I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b>	<b>15</b>
<b>1. Aspecte biofarmaceutice ale formelor dozate semisolide pentru aplicarea topică</b>	<b>15</b>
<b>1.1. Procese de cedare și absorbție a unei substanțe active dintr-o formulare farmaceutică semisolidă topică</b>	<b>15</b>
<b>1.1.1. Difuzia prin transport pasiv</b>	<b>17</b>
<b>1.1.2. Difuzia prin transport activ</b>	<b>18</b>
<b>1.2. Factorii care influențează absorbția cutanată</b>	<b>18</b>
<b>1.3. Posibilități de modificare a absorbției percutanate</b>	<b>19</b>
<b>2. Prevederile ghidurilor pentru industrie emise de către autoritățile de reglementare în domeniul medicamentului privind formele farmaceutice semisolide</b>	<b>20</b>
<b>2.1. Prevederi ale ghidurilor FDA și EMA în ceea ce privește testul de cedare in vitro din forme farmaceutice semisolide. Aplicații oficiale</b>	<b>21</b>
<b>2.1.1. Prevederi ale ghidului SUPAC-SS de evaluare a variațiilor post-autorizare specific produselor semisolide topice</b>	<b>21</b>
<b>2.1.2. Prevederi ale ghidurilor preliminare FDA privind formele dozate semisolide pentru acțiune topică</b>	<b>24</b>
<b>2.1.3. Prevederi ale ghidului preliminar al EMA asupra calității și echivalenței produselor topice</b>	<b>27</b>
<b>2.1.4. Aplicații oficiale ale testelor de cedare in vitro asupra formelor farmaceutice semisolide topice. Corelația in vitro - in vivo</b>	<b>29</b>
<b>2.2. Sistemul de clasificare biofarmaceutică a formelor farmaceutice topice (TCS - Topical Drug Classification System)</b>	<b>32</b>
<b>2.3. Bioechivalența produselor topice dermatologice. Metode de evaluare a bioechivalenței</b>	<b>37</b>
<b>2.3.1. Studiile clinice</b>	<b>38</b>
<b>2.3.2. Testul vasoconstricției</b>	<b>38</b>

2.3.3. Studiile farmacocinetice și procedurile de tip bioderogare („biowaiver”)	38
2.3.4. Metodele alternative	38
<b>II. CONTRIBUȚII PERSONALE</b>	<b>40</b>
3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale	40
4. Dezvoltarea și validarea metodei de cedare <i>in vitro</i> adaptată particularităților cremei conținând aciclovir 5%	46
4.1. Introducere	46
4.2. Materiale și metode	48
4.2.1. Descrierea produselor testate	48
4.2.2. Evaluarea microstructurală a produsului referință	49
4.2.3. Dezvoltarea metodei de cedare <i>in vitro</i>	49
4.2.4. Descrierea metodei de cedare <i>in vitro</i>	50
4.2.5. Analiza cantitativă a aciclovirului în probele prelevate	53
4.2.6. Evaluarea similarității <i>in vitro</i>	53
4.3. Rezultate	53
4.3.1. Dezvoltarea și validarea metodei de cedare <i>in vitro</i> pentru aciclovir din forme farmaceutice semisolide topice de tip cremă	53
4.3.2. Compararea performanțelor <i>in vitro</i> și a variabilității inter-șarjă pentru produsul referință	58
4.4. Discuții	63
4.5. Concluzii	66
5. Implementarea metodei de cedare <i>in vitro</i> în studiul produselor multisursă. Analiza relației Q1-IVRT	68
5.1. Introducere	68
5.2. Materiale și metode	69
5.2.1. Metodologia de testare a profilelor de cedare <i>in vitro</i>	69
5.2.2. Descrierea produselor testate	70
5.2.3. Analiza componentelor principale utilizând datele calitative privind compoziția	71
5.3. Rezultate	73
5.4. Discuții	83
5.5. Concluzii	86

<b>6. Dezvoltarea și formularea cremelor conținând aciclovir 5%. Studiul relației dintre compoziție, microstructură și performanță <i>in vitro</i></b>	<b>88</b>
<b>6.1. Introducere</b>	<b>88</b>
<b>6.2. Materiale și metode</b>	<b>90</b>
<b>6.2.1. Descrierea compoziției și preparării formulărilor experimentale de aciclovir 5% cremă</b>	<b>90</b>
<b>6.2.2. Teste de control al calității fizico-chimice și microbiologice</b>	<b>95</b>
<b>6.2.3. Studii de stabilitate</b>	<b>95</b>
<b>6.2.4. Caracterizarea Q3 prin microscopie optică</b>	<b>96</b>
<b>6.2.5. Confirmarea non-similarității Q2 prin utilizarea calorimetriei cu scanare diferențială (DSC)</b>	<b>97</b>
<b>6.2.6. Metodologia de testare a profilelor de cedare <i>in vitro</i></b>	<b>98</b>
<b>6.2.7. Evaluarea reologică</b>	<b>99</b>
<b>6.3. Rezultate</b>	<b>100</b>
<b>6.3.1. Calitatea și stabilitatea formulărilor dezvoltate</b>	<b>100</b>
<b>6.3.2. Analiza structurii interne și rezultatele evaluărilor DSC</b>	<b>102</b>
<b>6.3.3. Evaluarea microstructurală și a performanțelor <i>in vitro</i></b>	<b>106</b>
<b>6.4. Discuții</b>	<b>115</b>
<b>6.5. Concluzii</b>	<b>119</b>
<b>7. Concluzii și contribuții personale</b>	<b>121</b>
<b>Bibliografie</b>	<b>125</b>
<b>Anexe</b>	<b>138</b>

## Introducere

Propunerea unui sistem de clasificare util în analiza comparativă a produselor semisolide topice, referință și formulări experimentale, viitoare generice a reprezentat o abordare nouă, facilitând procedurile de evaluare și autorizare (eng. *Topical drug Classification System*, TCS; Shah VP et al, 2015, 2016). Parametrii biofarmaceutici solubilitate și permeabilitate, pe care se bazează sistemul de clasificare abreviat BCS (eng. *Biopharmaceutics Classification System*), au fost înlocuiți cu grade de similaritate pentru compoziție (calitativă și cantitativă, Q1 și Q2), respectiv pentru microstructură (Q3). Altfel spus, elementul central este rezultatul unei comparații, nu caracteristicile substanței active. Dacă pentru analiza similarității Q1/Q2 sunt necesare abordări de tip inginerie inversă, pentru evaluarea unui posibil impact al aranjamentului intern al matricei semisolide s-a propus utilizarea IVRT.

Procedurile de bioderogare pot fi aplicate doar în cazurile în care performanțele *in vitro* sunt similare (clasele TCS 1 și 3), iar diferențele de compoziție pot fi acceptate numai în urma prezentării unor argumente științifice solide privind lipsa influenței asupra permeației și penetrării prin bariera biologică (clasa TCS 3).

**Alegerea temei de cercetare** a fost determinată de evoluția testelor de performanță *in vitro* de la analize ale variațiilor la componente cheie ale procedurilor de bioderogare, pe de-o parte, și de necesitatea validării principiilor de clasificare specifice sistemului TCS, pe de altă parte.

**Importanța temei și a planului experimental** este dată de extinderea continuă a domeniului de aplicare a metodologiilor IVRT, de la contextul bine definit al variațiilor (abreviate SUPAC în ghidurile FDA, eng. *Scale Up Post Approval Changes*; FDA, 1997) la comparări ale produselor multisursă având un vehicul simplu (amestec de două componente bine definite și ușor de caracterizat din punct de vedere fizico-chimic) sau complex (de exemplu, sisteme de tip emulsie cu dizolvare parțială a entității active și distribuție specifică între fazele internă și continuă). Chiar dacă studiile *in vitro* folosind membrane artificiale reprezintă o simplificare extremă a contextului biologic, elucidarea interrelațiilor care determină viteza de cedare reprezintă o oportunitate de dezvoltare și autorizare rapidă a alternativelor generice, prin evitarea studiilor cu obiective clinice.

**Noutatea temei** este integrarea principiilor de clasificare TCS, care permit o flexibilitate mai mare în selecția compoziției calitative și cantitative pentru un produs generic, invalidând cerințele stricte ale similarității Q1 și Q2 și folosind cedarea *in vitro* ca instrument central în analiza diferențelor microstructurale. Abordarea este de actualitate

din două puncte de vedere: i) caracteristicile clasei TCS 1 coincid cu recomandările autorităților de reglementare în domeniu de reducere a riscurilor biofarmaceutice pentru formele farmaceutice semisolide generice prin asigurarea triadei de similaritate Q1-Q2-Q3; ii) acceptarea graduală a unor diferențe mai mari de 5-10% între cantitățile de excipienți din componența matricei semisolide, corespunzător clasei TCS 3. Faptul că ipoteza emisă în 2015 este confirmată de ghidurile emise în intervalul 2018 - 2022 (EMA, 2018; US-FDA, 2022a; 2022b; 2022c), chiar fără menționarea explicită a TCS, demonstrează **actualitatea temei de cercetare**.

**Ipoteza de cercetare** a fost că, prin dezvoltare și validare adecvată, metodologiile IVRT pot avea un caracter discriminatoriu și predictiv adecvat pentru evaluarea rapidă, reproductibilă și (bio)relevantă a formulărilor semisolide topice. În realitate, aceasta este ipoteza centrală a sistemului de clasificare TCS. Non-similaritatea performanțelor *in vitro* poate semnala non-echivalența terapeutică, iar echivalența vitezelor de cedare *in vitro* poate asigura absența diferențelor clinic semnificative între două produse multisursă.

**Obiectivele științifice** stabilite în cadrul temei de cercetare au fost: i) alegerea adecvată a dispozitivelor experimentale compendiale (cu design și caracteristici hidrodinamice cunoscute); ii) selecția parametrilor experimentali optimi pentru asigurarea conformității cu cerințele modelului difuzional Higuchi și considerând specificul cremelor conținând aciclovir 5%; iii) demonstrarea sensibilității, selectivității și specificității metodei IVRT; iv) validarea extinsă prin analiza unor formulări cu variații cunoscute de compoziție; v) verificarea caracterului discriminatoriu prin aplicarea metodologiei în studiul variabilității inter-șarjă a produsului referință și a diferențelor de performanță pentru produse generice multisursă; vi) dezvoltarea unui grup de formulări care să ilustreze diferite clase TCS și validitatea principiilor sale științifice; vii) analiza relațiilor viteză de cedare *in vitro* - caracteristici microstructurale și estimarea consecințelor asupra performanțelor *in vitro* pentru formulările experimentale dezvoltate.

**Abordarea metodologică** a fost selectată pe baza recomandărilor disponibile în două documente fundamentale pentru domeniul în care se încadrează tema de cercetare: ghidul de evaluare a variațiilor emis de către FDA în anul 1997 (SUPAC-SS) și capitolul compendial 1724 dedicat testelor de performanță pentru produse semisolide, publicat inițial în al doilea supliment al Farmacopeei Statelor Unite (USP, 2013).

Alegerea celulelor verticale de difuzie s-a bazat pe numărul mare de dispozitive individuale de testare disponibile, ceea ce a asigurat un control adecvat al variabilității experimentale. Au fost aplicate criteriile actuale de selecție a mediului receptor și a

interfețelor membranare artificiale, astfel încât viteza de cedare să reprezinte un atribut critic de calitate.

Metodologia dezvoltată a fost aplicată pentru analiza comparativă a performanțelor *in vitro* pentru două grupuri de formulări. Primul grup a fost constituit din produse semisolide multisursă echivalente farmaceutic, formulări generice și referințe oficiale din Statele Unite ale Americii și Europa. A fost demonstrat caracterul discriminatoriu al IVRT pentru diferențele de compoziție calitativă, chiar în absența informațiilor detaliate cu privire la compoziția cantitativă.

Analiza componentului principal (eng. *Principal Component Analysis, ACP*) a confirmat caracterul non-inert al unor excipienți prin impactul major asupra similarității comportamentului *in vitro*.

Planul experimental având **caracter interdisciplinar** a fost implementat prin colaborarea mai multor grupuri de lucru, partenere în cadrul proiectului de validare a sistemului de clasificare TCS. Formulările experimentale au fost fabricate prin respectarea regulilor de bună practică de fabricație în cadrul unui producător de medicamente local. Colaborarea cu acesta a permis și efectuarea controlului de calitate și a studiilor de stabilitate în timp real și condiții accelerate. Acordurile de colaborare ale Centrului de Științele Medicamentului cu reprezentanți ai industriei farmaceutice europene au permis extinderea eșantionului de produse multisursă analizate și consultări privind relevanța și caracterul aplicativ al cercetărilor. Nu în ultimul rând grupul de cercetători implicați în validarea sistemului TCS a inclus experți în domeniu și membri ai PQRI, care au revizuit periodic rezultatele prezentate în continuare.

**Cercetările** efectuate sunt în prezent **continuate** prin includerea în planul experimental a mai multor tipuri de forme farmaceutice, conținând substanțe medicamentoase cu diferențe structurale, de proprietăți fizico-chimice, de doză și de căi de administrare. Paradoxal, **una din limitările cercetărilor efectuate** este simplitatea protocoalelor experimentale și a abordărilor propuse, pornind de la validitatea principiilor TCS.

#### **Capitolul 4. Dezvoltarea și validarea metodei de cedare *in vitro* adaptată particularităților cremei conținând aciclovir 5%**

A fost dezvoltată o metodă de cedare *in vitro* specifică formulărilor semisolide topice de tip cremă conținând aciclovir 5%. Selecția dispozitivelor experimentale de tip celule verticale de difuzie s-a realizat prin evaluarea unor produse autorizate și utilizarea echipamentelor descrise în capitolul 1724 al farmacopeei Statelor Unite ale Americii.

Studiile preliminare au avut în vedere variabilitatea datelor experimentale, identificarea surselor de eroare și sensibilitatea față de factorii microstructurali.

Etapă de dezvoltare a inclus determinarea solubilității aciclovirului, a stabilității pe durata testelor și a potențialului de adsorbție pe interfețe membranare hidrofile. Pentru validarea metodologiei au fost preparate formulări experimentale a căror compoziție a fost aleasă în funcție de prevederile ghidurilor în vigoare (variații de concentrație a substanței active și a excipienților, inerti sau non-inerti conform dihotomiei TCS). Evaluări suplimentare au fost efectuate prin testarea produsului referință, analizându-se caracterul discriminatoriu față de variațiile de compoziție ale formulării autorizate, dar și consistența inter-șarjă a performanțelor *in vitro*.

Metoda IVRT a fost sensibilă, selectivă și specifică, conform criteriilor de validare disponibile în prezent. S-a demonstrat o dependență liniară între concentrația teoretică a aciclovirului (25-100 mg/g) și viteza de cedare *in vitro* sau cantitățile cumulate cedate la finalul intervalului de testare. Valorile coeficienților de corelație au fost mai mari prin considerarea parametrului radical din concentrație, confirmându-se astfel starea de agregare a analitului, parțial suspendat în matricea semisolidă. Studiul a confirmat caracterul discriminatoriu în raport cu impactul microstructural al unui excipient non-inert.

Creșterea concentrației de propilenglicol, cunoscut promotor al penetrării și permeației aciclovirului după administrarea locală la nivelul pielii, a generat o rezistență difuzională crescută, urmare a modificării interacțiunilor din matrice.

Non-similaritatea Q1 constatată pentru produsul referință înregistrat în Statele Unite ale Americii și Europa a indus profile de cedare *in vitro* distincte. S-a demonstrat că absența a trei excipienți antrenează modificări de microstructură, acestea fiind sursa diferențelor de viteză de difuzie. Nu în ultimul rând, pentru aceeași compoziție calitativă, a fost observată o reproductibilitate remarcabilă performanțelor *in vitro* (consistență inter-șarjă).

#### **Capitolul 5. Implementarea metodei de cedare *in vitro* în studiul produselor multisursă. Analiza relației Q1-IVRT**

Următoarea etapă a planului experimental a fost aplicarea metodei IVRT dezvoltată și validată anterior pentru evaluarea unui set de produse semisolide topice multisursă de tip cremă conținând aciclovir 5%. Unul dintre scopuri a fost analiza relației dintre similaritatea Q1 și performanțele *in vitro*, chiar în absența datelor privind compoziția cantitativă. Rezultatele obținute au fost publicate integral în articolul cu titlul: Are European marketed acyclovir 5% cream products similar? Comparison with EU and US reference product,

publicat în revista Drug Development and Industrial Pharmacy (2021:47(6): 990-1000, (Miron DS, 2021a).

Metodologia IVRT dezvoltată și validată anterior a fost aplicată pentru evaluarea comparativă a unui grup de 22 de produse multisursă de tip cremă, conținând aciclovir 5%.

Similaritatea performanțelor a fost analizată prin aplicarea procedurilor și criteriilor recomandate în ghidul SUPAC-SS (1997) al autorității americane US-FDA. Datele disponibile referitoare la compoziția calitativă au fost inventariate și raportate la cele specifice produselor referință. S-a realizat și o grupare a componentelor prin considerarea influenței potențiale asupra solubilității substanței active, aranjamentului microstructural sau permeabilității prin interfața biologică, ca o transpunere a clasificării inert – non-inert specifice TCS.

Au fost aplicate proceduri specifice analizei componentelor principale, care au confirmat caracterul discriminatoriu al testelor de cedare *in vitro*. Relația Q1-IVRT, demonstrează atât în cazul unei clasificări dihotomice (care consideră prezența sau absența unui excipient), dar și prin gruparea excipienților în categorii pe baza rolului structural sau funcțional, validează ipoteza TCS și permite extinderea limitelor de aplicare a opțiunilor *in vitro* de demonstrare a bioechivalenței, fără creșterea riscurilor de non-similaritate terapeutică.

Extinderea limitelor de definire a similarității Q1-Q2 și menținerea criteriilor de evaluare comparativă a performanțelor *in vitro*, chiar în condițiile unei simplificări extreme a contextului de utilizare *in vivo* (doză pseudoinfinită, condiții sink și ocluzive, membrană artificială inertă), poate facilita dezvoltarea produselor generice și poate reduce costurile terapiei, cu garantarea accesului la servicii de sănătate.

## **Capitolul 6. Dezvoltarea și formularea cremelor conținând aciclovir 5%. Studiul relației dintre compoziție, microstructură și performanță in vitro**

Acest ultim capitol descrie dezvoltarea unor formulări semisolide topice de tip cremă conținând aciclovir 5%, prin integrarea datelor experimentale și utilizarea abordărilor metodologice descrise anterior. Reprezintă un exemplu de selecție a compoziției calitative și cantitative, a metodei de preparare și a surselor de materii prime, folosind ca instrument de decizie similaritatea sau diferențele de performanță *in vitro* analizate prin intermediul IVRT. Au fost aplicate principiile specifice sistemului de clasificare a medicamentelor topice (TCS; Shah VP et al, 2015; 2016) și s-au considerat cele trei niveluri de variație descrise de ghidul SUPAC-SS (SUPAC-SS, 1997) pentru predicția posibilelor consecințe *in vivo*. Etapele parcurse au permis elucidarea influenței fiecărui factor și înțelegerea

modului în care matricea semisolidă joacă rolul de vehicul farmaceutic pentru administrarea locală la nivelul pielii.

Rezultatele au fost publicate integral în articolul cu titlul: Rheological and in vitro release measurements of manufactured acyclovir 5% creams: confirming sensitivity of the in vitro release, în jurnalul academic *Pharmaceutical Development and Technology* 2021;26(7): 779-787, <https://doi.org/10.1080/10837450.2021.1945625> (Miron DS et al, 2021b).

Pe baza relațiilor dintre compoziția calitativă a cremelor conținând aciclovir 5% și profilele de cedare in vitro, inclusiv prin considerarea rezultatelor procedurilor de tip ACP, au fost dezvoltate și preparate formulări experimentale ilustrând cele trei niveluri de variație descrise de ghidul SUPAC-SS și cele patru clase ale sistemului TCS. Folosind o formă farmaceutică standard (autorizată), modificată prin adăugarea unui excipient critic (propilenglicol), au fost aplicate diferite variații controlate de compoziție calitativă sau cantitativă și de parametri ai procesului de fabricație. Cremele rezultate au fost incluse în trei subgrupuri, comparate succesiv cu referința internă.

A fost aplicată o serie de teste fizico-chimice pentru evaluarea calității, a profilului de stabilitate și a caracteristicilor microstructurale (determinarea tipului de sistem dispers, a stării de agregare a substanței medicamentoase, a morfologiei și dimensiunii particulelor suspendate).

Pentru studiul comportamentului reologic au fost utilizate analize oscilatorii și rotaționale, efectuate la două temperaturi relevante pentru stocarea produselor, respectiv pentru aplicarea locală la nivelul pielii. Suplimentar, a fost aplicată o procedură de determinare a influenței încălzirii graduale asupra răspunsului vâscoelastic specific matricilor semisolide.

Rezultatele obținute au confirmat caracterul discriminatoriu al profilelor de cedare in vitro față de similaritatea sau diferențele Q1-Q2-Q3. Modificarea parametrilor procesului de preparare a avut un impact structural redus. Comportamentul reologic al celor patru formulări experimentale a fost similar, cu valori ale parametrilor caracteristici regiunii liniare vâscoelastice și tensiuni de curgere comparabile. Au fost observate diferențe ale ariilor de sub curbă specifice testului de tixotropie, direct proporționale cu viteza de cedare in vitro.

Parametrii de calitate ai materiilor prime au avut o influență semnificativă, generând non-similaritatea performanțelor in vitro. Utilizarea unor surse alternative pentru excipienți inerți sau non-inerți a fost ilustrat contextul clasei 2 TCS, în care similaritatea Q1-Q2 nu

permite aplicarea procedurilor de bioderogare. Diferențele microstructurale, semnalate de metodologia discriminatorie IVRT, induc riscuri majore de non-bioechivalență.

Variațiile controlate ale compoziției cantitative au confirmat ipoteza formulată anterior conform căreia IVRT poate fi o metodologie sensibilă, selectivă și specifică în raport cu excipienții care influențează permeabilitatea. Datele experimentale au demonstrat că cedarea *in vitro* poate să reflecte modificarea interacțiunilor din interiorul matricei semisolide generate de propilenglicol. S-a observat o relație de inversă proporționalitate între tensiunea de curgere (estimator al capacității de etalare, care scade prin creșterea concentrației acestui excipient critic de la 10 la 40%) și viteza de cedare *in vitro*.

## **7. Concluzii și contribuții personale**

### **Concluzii**

Planul experimental al lucrării a fost proiectat în baza principiilor sistemului de clasificare a medicamentelor topice (*Topical drug Classification System*, TCS), conform căreia o metodologie de cedare *in vitro*, dezvoltată și validată adecvat, poate să devină un instrument util în evaluarea și autorizarea acestui tip de formă farmaceutică specială, singur sau în asociere cu alte teste comparative fizico-chimice sau microstructurale. Similaritatea performanțelor *in vitro* permite aplicarea procedurilor de bioderogare, prin caracterizarea diferențelor existente între o referință și un produs generic și estimarea corectă a potențialelor consecințe clinice.

Selecția modelului de dispozitiv experimental a fost precedată de studii preliminare în care au fost comparate mai multe tipuri de celule de difuzie, conforme cu descrierile disponibile în capitolele compendiale. Evaluarea rezultatelor a ținut cont de reproductibilitatea datelor experimentale și de sensibilitatea față de diferențe cunoscute ale compoziției calitative între două medicamente autorizate în baza studiilor comparative cu obiective clinice. Diferențele de geometrie și de parametri hidrodinamici au influențat valorile vitezelor de cedare *in vitro*, fără modificarea caracterului discriminator. Opțiunea pentru celulele verticale de difuzie a fost justificată de existența unor rapoarte în literatura de specialitate care confirmau fezabilitatea dezvoltării unor relații *in vitro in vivo*, de experiența dobândită în cadrul Centrului de Științele Medicamentului (inclusiv în procesul de validare a TCS) și disponibilitatea unui număr mare de posturi individuale de testare.

Parametrii operaționali au fost adaptați la caracteristicile produselor semisolide topice conținând aciclovir 5%, prin determinarea solubilității substanței medicamentoase, a profilului de stabilitate în mediu receptor de tip hidro-alcoolic și a inerției sau lipsei potențialului de adsorbție a unor membrane artificiale inerte. Pentru validarea metodologiei

s-au preparat formulări experimentale pilot, reprezentând concentrația țintă și variații de 50 și 200% ale conținutului teoretic de entitate activă. Acestea au fost utilizate pentru demonstrarea sensibilității, specificității și selectivității metodologiei IVRT (a caracterului discriminator în raport cu doza). Studii complementare au demonstrat robustețea și reproductibilitatea. Validarea extinsă a inclus două etape. În primul rând, au fost implementate variații controlate ale compoziției cantitative (minore pentru alcoolul cetilstearyl, ca excipient inert, sau majore, pentru propilenglicol, ca excipient non-inert, cunoscut promotor al absorbției percutane). Rezultatele au demonstrat relații complexe între natura și cantitatea acestor componente, aranjamentul intern al matricilor semisolide generate și performanțele *in vitro*. Testarea produsului referință disponibil în două compoziții non-similare Q1, dar echivalente terapeutic, a fost considerată ca o dovadă a selectivității suplimentare sau a sensibilității microstructurale. Totodată, a fost demonstrată o reproductibilitate inter-șarjă remarcabilă a produsului referință autorizat pe piața europeană, prin studiul a cinci loturi cu diferențe considerabile de vârstă.

Metodologia IVRT dezvoltată și validată conform criteriilor recomandate de ghidurile în vigoare a fost aplicată pe un grup de produse multisursă de tip cremă conținând aciclovir 5%. Studiul a permis utilizarea unor proceduri de tip analiză a componentelor principale, în care similaritatea sau diferența Q1 a fost corelată cu rezultatul analizei comparative a performanțelor *in vitro*. Gruparea excipienților pe baza impactului potențial asupra proprietăților vehiculului farmaceutic sau a permeabilității prin bariera biologică a confirmat validitatea principiilor de clasificare TCS. Componentele considerate inerte au impact limitat asupra penetrării și permeației prin piele, însă pot influența semnificativ structura internă a matricei, răspunsul acesteia la factori externi (stres mecanic, modificări de temperatură) și, consecutiv, profilele de difuzie prin membrane artificiale inerte. Pe de altă parte, excipienții non-inerți au rol diferit în funcție de context. În cadrul formulărilor topice se pot manifesta ca agenți solubilizanți, pot modifica distribuția între fazele componente ale unui sistem dispers și pot influența intensitatea și chiar natura interacțiunilor care determină comportamentul specific semisolid. Rezultatele obținute au confirmat sensibilitatea metodologiei IVRT pentru acest tip de influențe. Biorelevanța profilelor de cedare *in vitro* nu este invalidată de utilizarea unei membrane inerte.

Relațiile dintre compoziție (calitativă și cantitativă), comportament reologic și performanțele *in vitro* au fost analizate în contextul dezvoltării și preparării unor formulări experimentale de tip cremă conținând aciclovir 5%. Studiile efectuate au permis evaluarea

impactului unor variații controlate, corelate cu cele trei niveluri descrise de ghidul SUPAC-SS și ilustrând diferite clase ale sistemului TCS. Protocolul poate fi aplicat pentru alegerea unei formulări optime în cadrul procesului de cercetare dezvoltare, după identificarea adecvată și caracterizarea detaliată a unei referințe.

Avantajele abordărilor metodologice propuse derivă din demonstrarea unor relații sau corelații Q1-Q2-Q3-IVRT. Datele experimentale sunt argumente în favoarea extinderii graduale a limitelor de aplicare a opțiunilor *in vitro* de demonstrare a bioechivalenței, în cadrul cărora elementul central este un test simplu, reproductibil și (bio)relevant. Impactul procedurilor de bioderogare asupra industriei farmaceutice poate fi major, nu doar din perspectiva autorizării produselor generice. Se poate estima că optimizarea oricărei formulări semisolide topice autorizate este limitată de cadrul actual de reglementare potrivit căruia complexitatea produselor și reactivitatea barierei biologice justifică utilizarea studiilor clinice ca metodă standard de demonstrare a siguranței și eficacității. Astfel, principalul dezavantaj al abordărilor bazate pe sistemul TCS este atitudinea conservatoare a autorităților, reticența acestora de a accepta evaluarea unei interacțiuni complexe prin intermediul unui test simplu.

Evaluarea relației dintre compoziție și performanța *in vitro*, respectiv creșterea acurateții predicțiilor realizate prin intermediul procedurilor ACP, face necesară extinderea acestui plan experimental prin includerea în viitor a mai multor tipuri de entități active, cu diferențe de proprietăți fizico-chimice și de concentrație, condiționate în mai multe tipuri de forme farmaceutice și pentru care să fie disponibile informații referitoare la compoziția cantitativă sau chiar procedura de autorizare.

### **Contribuții personale**

O primă contribuție personală a fost propunerea și aplicarea unor criterii suplimentare de validare a metodologiei IVRT (Capitolul 4). Demonstrarea sensibilității, specificității și selectivității față de concentrația teoretică a aciclovirului în matricea semisolidă a fost însoțită de studiul influenței variațiilor de compoziție cantitativă aplicate pentru două categorii distincte de excipienți. Caracterul discriminatoriu al metodologiei a fost verificat prin evaluarea produsului referință, pentru care prezența sau absența a trei componente antrenează diferențe microstructurale. Lucrarea a identificat și caracterizat adecvat cele două surse ale non-similarității performanțelor *in vitro*, cunoscute raportate anterior în literatura de specialitate.

O altă contribuție personală semnificativă este aplicarea metodologiei IVRT validate anterior în studiul comparativ al unui eșantion extins de produse multisursă (Capitolul 5).

Inventarierea informațiilor disponibile referitoare la compoziția calitativă a fost urmată de propunerea unui sistem dihotomic și a unei grupări a componentelor în baza rolului structural și funcțional al acestora, specific clasificării TCS. Cele două abordări au permis aplicarea unor proceduri de tip ACP, prin intermediul cărora a fost demonstrată relația dintre similaritatea Q1 și echivalența IVRT.

Lucrarea propune un nou model de integrare a relațiilor și corelațiilor Q1-Q2-Q3-IVRT în dezvoltarea și prepararea unor formulări experimentale de tip cremă conținând aciclovir 5% (Capitolul 6). Metodologia de cedare *in vitro* poate să detecteze, prin sensibilitatea față de diferențele de microstructură, influența promotorilor de absorbție, deși folosește o interfață non-reactivă, având caracteristici reproductibile și complet diferită față de membranele biologice.

Nu în ultimul rând, rezultatele obținute demonstrează validitatea principiilor de clasificare a medicamentelor topice, confirmă rolul central al testelor de cedare *in vitro* și susțin extinderea cadrului actual de aplicare.

## Bibliografie

Amidon GL, Lennernäs H, Shah VP, and Crison JR. A Theoretical Basis For a Biopharmaceutics Drug Classification: The Correlation of In Vitro Drug Product Dissolution and In Vivo Bioavailability. *Pharm Res*, 1995, 12: 413-420.

Cardot JM, Beyssac E, Alric M. Vitro–In Vivo Correlation: Importance of Dissolution in IVIVC. *Dissolution Technologies*. Februarie 2007, 14:15-19.

Cardot JM, Garrait G, Beyssac E. 2015. Use of IVIVC to optimize generic development. *Dissolution Technol*. 22(2):44–48, 2015.

Chang RK, Raw A, Lionberger R, Yu L. Generic development of topical dermatologic products: formulation development, process development, and testing of topical dermatologic products. *AAPS J* 2013a;15(1):41-52.

Chang RK, Raw A, Lionberger R, Yu L. Generic development of topical dermatologic products, Part II: quality by design for topical semisolid products. *AAPS J*. 2013b;15(3):674-83. doi: 10.1208/s12248-013-9472-8.

Ciolan DF, **Mînea A\***, Andrieș AA, Nicoară AC, Rădulescu FȘ, Miron DS. The influence of compendial cells design and experimental setup on the in-vitro similarity of ketoconazole topical creams. **\*autor de corespondență**. *Farmacia*, 2015a, JCR® Impact Factor – 1.162 (2015); 63(6):865-871;

[https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/2015-06-art-13-Ciolan\\_Dragos\\_865-871.pdf](https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/2015-06-art-13-Ciolan_Dragos_865-871.pdf)

Ciolan DF, **Mînea A\***, Lupuleasa D, Stănescu A, Nicoară AC, Rădulescu FȘ, Miron DS. Correlated evaluations of in vitro release profiles and structural parameters for topical semisolid dosage forms containing metronidazole. **\*autor de corespondență**. *Studia Universitatis Vasile Goldiș Arad, Seria Științele Vieții - Ranking and Indexing: Index Copernicus Value: 107.99 (2019), CNCSIS B+ (code 820)-2015b; 25(3):145-150;*

<https://www.studiauniversitatis.ro/2014/11/17/university-of-medicine-and-pharmacy-carol-davila-bucharest-faculty-of-pharmacy-no6-traian-vuia-st-020956-bucharest-romania-1department-of-pharmaceutical-chemistry-2department-of-pharmaceutical-technol/>

EMA, 2018. Ghidul preliminar EMA privind calitatea și echivalența produselor topice. CHMP/QWP/708282/2018 (*Draft guideline on quality and equivalence of topical products*), Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), 18 October 2018. <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-quality->

[equivalence-topical-products\\_en.pdf](#)

Kamal NS, Krishnaiah YSR, Xu X, et al. Identification of critical formulation parameters affecting the in vitro release, permeation, and rheological properties of the acyclovir topical cream. *Int J Pharm.* 2020;590:119914.

Krishnaiah YS, Xu X, Rahman Z, Yang Y, Katragadda U, Lionberger R, Peters J.R, Uhl K, Khan MA. Development of performance matrix for generic product equivalence of acyclovir topical creams. *Int. J. Pharm.* 2014;475(1–2):110–122.

Miron DS, Rădulescu FS, Benfeldt E, Shah VP, Voicu VA. In vitro and in vivo evaluation of three metronidazole topical products. *Pharm Dev Technol.*, 19, 194-199, 2014.

Miron DS, Rădulescu FȘ, Voicu VA, **Mînea A**, Cardot JM, Shah VP. Are european marketed acyclovir 5% cream products similar? Comparison with EU and US reference product. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, Volume 47, 2021a - Issue 6, Pages 990-1000, 3.4 (2022) Impact Factor.

<https://doi.org/10.1080/03639045.2021.1957921>

Miron DS, Rădulescu FȘ, Voicu VA, **Mînea A**, Cardot JM, Shah VP. Rheological and in vitro release measurements of manufactured acyclovir 5% creams: confirming sensitivity of the in vitro release. *Pharmaceutical Development and Technology*, Volume 26, 2021b - Issue 7, Pages 779-787, 3.4 (2022) Impact Factor.

<https://doi.org/10.1080/10837450.2021.1945625>

Noyes AA, Whitney WR. The rate of solution of solid substances in their own solutions. *J. Am. Chem. Soc.* 19, 930–934, 1897.

Shah VP, Yacobi A, Rădulescu FȘ, Miron DS, Lane ME. A science based approach to topical drug classification system (TCS). *International Journal of Pharmaceutics*, 491, 2015, 21–25.

Shah VP, Rădulescu FȘ, Miron DS, Yacobi A. Commonality between BCS and TCS. *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 509, Issues 1–2, 25 July 2016, Pages 35-40.

Shah VP, Miron DS, Rădulescu FȘ, Cardot JM, Maibach HI. In vitro release test (IVRT): Principles and applications, *International Journal of Pharmaceutics*. volume 626, October 2022, page 122159.

SUPAC-SS, 1997. Ghidul SUPAC pentru produse medicamentoase semisolid nesterile (*Guidance for industry, Nonsterile Semisolid Dosage Forms, Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing and Controls; In vitro release testing and In vivo Bioequivalence Documentation*); US Department of Health and Human

Services, FDA Administration for Drug Evaluation and Research, mai 1997. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/supac-ss-nonsterile-semisolid-dosage-forms-scale-and-post-approval-changes-chemistry-manufacturing>

Tiffner KI, Kanfer I, Augustin T, Raml R, Raney S, Sinner F. A comprehensive approach to qualify and validate the essential parameters of an in vitro release test (IVRT) method for acyclovir cream, 5%. *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 535, Issues 1–2, 15 January 2018, Pages 217-227.

Trottet L, Owen H, Holme P, et al. Are all aciclovir cream formulations bioequivalent? *Int J Pharm.* 2005;304(1–2): 63–71.

US-FDA, 2016. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Ghidul preliminar specific aciclovir cremă (*Draft guidance on acyclovir cream*), 2014, revizuit în Decembrie 2016.

US-FDA, 2022a. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research, Ghidul preliminar specific testului de cedare in vitro (*In Vitro Release Test Studies for Topical Drug Products Submitted in ANDAs*), octombrie 2022. Available at: [Draft Guidance for Industry: In Vitro Release Test Studies for Topical Drug Products Submitted in ANDAs \(fda.gov\)](#)

US-FDA, 2022b. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research, Ghidul preliminar specific testului de permeație in vitro (*In Vitro Permeation Test Studies for Topical Drug Products Submitted in ANDAs*), octombrie 2022. Available at: [Draft Guidance: In Vitro Permeation Test Studies for Topical Drug Products Submitted in ANDAs \(fda.gov\)](#)

US-FDA, 2022c. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research, Ghidul preliminar specific caracterizării fizico-chimice și structural a formelor farmaceutice topice (*Physicochemical and Structural (Q3) Characterization of Topical Drug Products Submitted in ANDAs*), octombrie 2022. Available at: [Physicochemical and Structural \(Q3\) Characterization of Topical Drug Products Submitted in ANDAs \(fda.gov\)](#)

USP, 2023. United States Pharmacopoeia - National Formulary (USP), 2023. Capitolul <1724> *Medicamente semisolide – Teste de performanță revizuit (Chapter <1724> Semisolid Drug Products - Performance Tests)*, revised in 2023, United States Pharmacopoeial Convention, Rockville, MD 20852.

Volontè P, Musazzi UM, Arnaboldi L, Ortenzi MA, Casiraghi A, Cilirzo F,

Minghetti P. Equivalence assessment of creams with quali-quantitative differences in light of the EMA and FDA regulatory framework. *Eur J Pharm Sci.* 2024 Apr 1;195:106726.

Yacobi A, Shah VP, Bashaw ED, Benfeldt E, Davit B, Ganes D, Ghosh T, Kanfer I, Kasting GB, Katz L, Lionberger R, Lu GW, Maibach HI, Pershing LK, Rackley RJ, Raw A, Shukla CG, Thakker K, Wagner N, Zovko E, Lane ME. Current challenges in bioequivalence, quality, and novel assessment technologies for topical products. *Pharm Res.* 2014 Apr;31(4):837-46.

## Lista lucrărilor publicate

Ciolan DF, **Mînea A\***, Andrieș AA, Nicoară AC, Rădulescu FȘ, Miron DS. The influence of compendial cells design and experimental setup on the in-vitro similarity of ketoconazole topical creams. **\*autor de corespondență**. Farmacia 2015, JCR® Impact Factor – 1.162 (2015); 63(6):865-871.

[https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/2015-06-art-13-Ciolan\\_Dragos\\_865-871.pdf](https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/2015-06-art-13-Ciolan_Dragos_865-871.pdf)

Ciolan DF, **Mînea A\***, Lupuleasa D, Stănescu A, Nicoară AC, Rădulescu FȘ, Miron DS. Correlated evaluations of in vitro release profiles and structural parameters for topical semisolid dosage forms containing metronidazole. **\*autor de corespondență**. Studia Universitatis Vasile Goldiș Arad, Seria Științele Vieții - Ranking and Indexing: Index Copernicus Value: 107.99 (2019), CNCSIS B+ (code 820)-2015; 25(3):145-150.

<https://www.studiauniversitatis.ro/2014/11/17/university-of-medicine-and-pharmacy-carol-davila-bucharest-faculty-of-pharmacy-no6-traian-vuia-st-020956-bucharest-romania-1department-of-pharmaceutical-chemistry-2department-of-pharmaceutical-technol/>

Miron DS, Rădulescu FȘ, Voicu VA, **Mînea A**, Cardot JM, Shah VP. Are european marketed acyclovir 5% cream products similar? Comparison with EU and US reference product. Drug Development and Industrial Pharmacy, Volume 47, 2021 - Issue 6, Pages 990-1000, 3.4 (2022) Impact Factor.

<https://doi.org/10.1080/03639045.2021.1957921>

Miron DS, Rădulescu FȘ, Voicu VA, **Mînea A**, Cardot JM, Shah VP. Rheological and in vitro release measurements of manufactured acyclovir 5% creams: confirming sensitivity of the in vitro release. Pharmaceutical Development and Technology, Volume 26, 2021 - Issue 7, Pages 779-787, 3.4 (2022) Impact Factor.

<https://doi.org/10.1080/10837450.2021.1945625>