

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „IULIU
HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA



ANCA LUCIA POP

**INFLUENȚA FORMULĂRII UNOR COMPRIMATE CU
CEDARE PRELUNGITĂ ASUPRA CEDĂRII *IN VITRO* ȘI
A BIODISPONIBILITĂȚII FELODIPINEI**

REZUMATUL
TEZEI DE DOCTORAT

CONDUCATOR ȘTIINȚIFIC
PROF. DR. SORIN E. LEUCUȚA

2009

INTRODUCERE	3
PARTEA GENERALĂ	6
<i>Capitolul I. Blocanți de canale de calciu – actualități farmaceutice</i>	6
<i>Capitolul II. Farmacologia felodipinei</i>	18
<i>Capitolul III. Date din literatură privind studii de preformulare a comprimatelor cu felodipină</i>	22
<i>Capitolul IV. Date de formulare a comprimatelor orale cu felodipină</i>	36
<i>Capitolul V. Studii de biodisponibilitate a felodipinei din formele farmaceutice</i>	48
PARTEA EXPERIMENTALĂ. CONTRIBUȚII PERSONALE	62
<i>Capitolul I. Studii de preformulare pentru elaborarea unor comprimate orale cu cedare prelungită a felodipinei</i>	63
1.1. Introducere.....	63
1.2. Identificarea și controlul purității.....	64
1.3. Proprietăți fizico-chimice.....	74
<i>Capitolul II. Formularea comprimatelor de felodipină cu cedare prelungită</i>	85
1.1. Introducere.....	85
1.2. Variabilele procesului de formulare.....	86
1.3. Influența factorilor de formulare asupra disponibilității <i>in vitro</i> a felodipinei din comprimate experimentale.....	88
1.4. Concluzii.....	126
<i>Capitolul III. Studiul cedării <i>in vitro</i> a felodipinei din comprimate cu cedare prelungită</i>	127
3.1. Introducere.....	127
3.2. Materiale și metode.....	128
3.3. Rezultate și discuții.....	132
3.4. Concluzii.....	148
<i>Capitolul IV. Farmacocinetica dozei unice</i>	150
4.1. Introducere.....	150
4.2. Subiecți.....	150
4.3. Design-ul studiului.....	150
4.4. Metoda analitică.....	151
4.5. Concentrațiile plasmatice ale felodipinei.....	153
4.6. Analiza farmacocinetică noncompartimentală.....	160
4.7. Biodisponibilitatea relativă a felodipinei.....	169
4.8. Analiza farmacocinetică compartimentală.....	171
4.9. Farmacocinetica dozei unice administrată extravascular, model farmacocinetic bicompartimentat.....	176
4.10. Deconvoluția profilurilor plasmatice ale felodipinei și corelații <i>in vitro-vivo</i>	189
4.11. Concluzii.....	201
<i>Capitolul V. Farmacocinetica dozelor repetate</i>	203
5.1. Introducere.....	203
5.2. Subiecți.....	203
5.3. Design-ul studiului.....	203
5.4. Concentrațiile plasmatice ale felodipinei.....	204
5.5. Analiza farmacocinetică noncompartimentală a felodipinei.....	207
5.6. Biodisponibilitatea relativă a felodipinei.....	211
5.7. Concluzii.....	212
CONCLUZII GENERALE	213
REFERINȚE	218

Cuvinte cheie: felodipina, formulare, comprimate, cedare prelungită, cedare *in vitro*, metodologia de control *in vitro*, farmacocinetică, biodisponibilitate

Introducere

Tematica tezei de doctorat este ancorată într-un domeniu de actualitate al științelor farmaceutice și anume al optimizării formulării medicamentelor în scopul îmbunătățirii farmacoterapiei. Cercetarea experimentală s-a axat pe studiul formulării unor comprimate cu cedare prelungită conținând felodipină.

Ipoteza cercetării pleacă de la particularitățile farmaceutice și farmacocinetice ale substanței medicamentoase (solubilitate mică în apă, timp scurt de înjumătățire biologică) și a unor variabile tehnologice adecvate preparării unor produse farmaceutice pentru uz oral cu cedare prelungită, care la rândul lor să realizeze concentrații medicamentoase plasmatiche terapeutice pe o perioadă mai lungă de timp. În acest fel se poate realiza o reducere a fluctuațiilor nivelurilor medicamentoase plasmatiche (care apar în medicația cu doze repetate, mai ales la intervale de dozare apropiate), un răspuns terapeutic mai constant pe o perioadă mai lungă de timp și la creșterea aderenței pacienților la un tratament cu o astfel de formulare farmaceutică.

Obiectivul cercetărilor personale l-a constituit studierea influenței factorilor de formulare și a variabilelor tehnologice de preparare asupra proprietăților biofarmaceutice ale comprimatelor cu cedare prelungită a felodipinei, precum și a particularităților metodelor de control a vitezei de dizolvare *in vitro* asupra farmacocineticii și biodisponibilității.

Teza de doctorat are două părți: o parte generală și o parte cu cercetări personale, experimentale.

În partea generală se face o trecere în revistă a literaturii de specialitate referitoare la importanța blocanților de canale de calciu pentru terapie, modalitățile de prelungire a cedării unei substanțe medicamentoase din forme farmaceutice de uz oral, precum și a unor formulări de acest fel publicate în literatura de specialitate.

În partea în care sunt redată rezultatele cercetărilor proprii, se prezintă în capitole distincte dar interrelate, formularea unor comprimate cu cedare prelungită a felodipinei și factorii care pot conduce la atingerea acestui obiectiv, precum și importanța condițiilor de control a calității, și îndeosebi a cedării *in vitro*, verificate prin studii farmacocinetice la voluntari sănătoși.

Capitolul I. Studii de preformulare pentru elaborarea unor comprimate orale cu cedare prelungită a felodipinei

Pentru elaborarea unei formulări de comprimate care să respecte parametrii de calitate este nevoie de studii de preformulare care analizează în detaliu proprietățile fizice, fizico-chimice și farmaceutice ale substanței medicamentoase.

În partea de preformulare se analizează proprietățile critice ale substanței care pot influența stabilitatea, solubilitatea, interacțiunile eventuale cu substanțele auxiliare utilizate, precum și unele proprietăți farmaceutice necesare prelucrării sale în comprimate.

S-au determinat proprietățile fizice ale felodipinei în forma cristalină, s-a făcut evaluarea preliminară a felodipinei din punct de vedere al stabilității și solubilității, a influenței granulometriei asupra disponibilității farmaceutice, a comportamentului la comprimare și s-a evaluat compatibilitatea sa cu excipienții.

S-a efectuat identificarea și controlul purității felodipinei prin metoda cromatografiei de lichide de înaltă performanță (HPLC) și spectroscopie în infraroșu (I.R.). Spectrele probelor prelevate, atât pentru forma nemicronizată cât și pentru cea micronizată corespund cu specificația substanței și nu prezintă impurități.

Analiza prin microscopie optică și sortare prin cernere a felodipinei pure s-a efectuat pentru substanța medicamentoasă în două sortimente: în forma cristalină și micronizată. Felodipina forma nemicronizată a avut dimensiunea medie a particulelor de $3573,713 \pm 1412,234 \mu\text{m}$ iar felodipina forma micronizată $30,362 \pm 17,556 \mu\text{m}$. Aceste diferențe granulometrice au condus și la diferențe în densitatea aparentă a pulberii, caracterizată prin indicii Carr și Hausman, care influențează în mod diferit curgerea pulberii.

Capitolul II. Formularea comprimatelor de felodipină cu cedare prelungită

Felodipina este, alături de ceilalți compuși dihidropiridinici substituiți, o substanță cu solubilitate redusă în apă. Substanțele medicamentoase cu solubilitate scăzută în apă determină probleme de formulare datorită vitezei de dizolvare mici în medii apoase, deci și în mediul gastrointestinal. Aceasta caracteristică determină o absorbție scăzută a substanței terapeutice active având astfel o biodisponibilitate redusă după administrarea orală. Mai mult, biodisponibilitatea felodipinei scade prin efectul de prim pasaj hepatic, având o biodisponibilitate de 15%. Se leagă în proporție de 99% de proteinele plasmatică este eliminată sub formă de metaboliți, 70% urinar și restul digestiv.

Având în vedere că felodipina este un medicament din clasa blocantelor de canale de calciu cu efecte terapeutice cardiovasculare, în principal antihipertensive, dar și antianginoase, este necesar a se elabora formula ce asigură o biodisponibilitate optimă. Pentru a elabora compoziția unui astfel de medicament condiționat într-o formă farmaceutică solidă de uz oral, cazul comprimatelor, trebuie să ne asigurăm că formula va asigura un profil de absorbție caracteristic formelor farmaceutice cu cedare prelungită, spre a asigura nivelul concentrațiilor plasmatică terapeutice pe o durată de cca 10-12 ore .

Pentru formulare s-a luat în lucru o formulă de start pornind de la formula stabilită în faza de preformulare, formulă ce cuprinde substanța activă, un antioxidant, diluanți (celuloza microcristalină și lactoza), un agent de lubrifiere (stearat de magneziu), un agent de curgere (dioxid de siliciu coloidal), agent de filmare cu rol protector (hidroxipropilmetilceluloză) și cel mai important, sistemul de control al cedării ca matrița celulozică hidrofilă (hidroxipropilmetilceluloză cu diferite grade de polimerizare, respectiv vâscozități).

În procesul de optimizare a formulei au fost stabilite ca obiective determinarea oportunității utilizării felodipinei microcristaline, determinarea influenței excipienților asupra disponibilității felodipinei incluse în sistemul farmaceutic cu cedare lentă, stabilirea structurii sistemului de matriță hidrofilă pentru obținerea unui profil de cedare întârziată a felodipinei, stabilirea unor parametri tehnologici ca forța de comprimare în raport cu disponibilitatea felodipinei. Parametrul principal de control a caracteristicilor formulărilor a fost constituit de cinetica de dizolvare a felodipinei *in vitro* din sistemul farmaceutic experimental comparativ cu un produs de referință, produsul original.

Influența factorilor de formulare asupra disponibilității *in vitro* a felodipinei din comprimate experimentale s-a axat în primul rând asupra tipului și procentului de polimer formator de matriță în comprimatele cu cedare prelungită. Formula de eliberare prelungită aleasă pentru formulare este un sistem tip matriță hidrofilă de hidroxi-propilmetilceluloză (HPMC) cu diferite grade de polimerizare și diferite vâscozități.

Pentru formula cercetată s-au luat în lucru patru sorturi de HPMC pentru elaborarea unei formule cu cedare prelungită cu profile de dizolvare similare cu produsul de referință și similare în privința cedării în medii diferite și anume lauril sulfat de sodiu 1% prevăzut în monografia United States Pharmacopoeia USP, bromura de cetil trimetil amoniu (CTAB, cetrimid) 0,4% prevăzută de producătorul formulei princeps de felodipină cu eliberare prelungită, cu denumirea comercială Plendil.

Au fost elaborate formulări experimentale ce conțin proporții diferite de matriță HPMC de vâscozități diferite (vâscozitatea soluțiilor apoase de concentrație 2% măsurate la 20°C), HPMC E5 cu vâscozitate 4 – 6 mPa; HPMC E 10 MP CR cu vâscozitate 10 mPa; HPMC E 50, cu vâscozitate 40 – 60 mPa și HPMC K100 cu vâscozitate 100 mPa. Au fost testate formulările experimentale în forma comprimate filmate cu eliberare prelungită realizate în etapa de laborator comparativ cu o formulare a produsului de referință. Determinările au fost făcute la 2, 4, 6, 8, 10 și 12 ore. S-a utilizat aparatul de dizolvare (Hanson Research SR8 Plus) cu palete tip II conform prevederilor de la dizolvare (IX E. 2) – FR X, PhEur, USP24 pentru comprimate cu cedare prelungită. Mediile de dizolvare au fost soluții apoase cu pH = 6,5 conținând laurilsulfat de sodiu (LSNa) 1% sau cetrimid (CTAB) 0,4%. Determinarea cantitativă s-a efectuat spectrofotometric în U.V., cu spectrofotometru UV VIS tip Jasco V-530.

S-a constatat că prin creșterea cantității de HPMC K 100, polimer celulozic ce posedă cel mai înalt grad de vâscozitate, are loc o scădere a cedării felodipinei în mediile de dizolvare

cercetate. Cedarea felodipinei este semnificativ mai mare în mediul cu laurilsulfat de sodiu decât în cel cu cetrimid. Formularea experimentală cu 30% HPMC K100 are profilul de cedare cel mai apropiat de medicamentul de referință și profile de dizolvare similare în cele două medii de dizolvare, spre deosebire de formulările experimentale ce conțin 15% și 20% HPMC K100.

Utilizarea unor matrițe de HPMC cu grad mic de polimerizare conduce la cedarea mult mai rapidă a felodipinei din comprimate comparativ cu formula de referință. Gradul de dizolvare a felodipinei în mediul cercetat este proporțional cu tipul (vâscozitatea) și proporția de matriță HPMC.

Studiile de formulare au permis stabilirea proporțiilor corespunzătoare de polimer formator de matriță, pentru a asigura caracteristicile de cedare ale formelor cu cedare prelungită. Proporția optimă a matriței pentru formula studiată este în jurul valorii de 35% polimer hidrofil cu vâscozitate înaltă și de 65% polimer hidrofil formator de matriță de vâscozitate medie din totalul de polimer hidrogel în cadrul formulei, ce reprezintă 40% din masa formulei. La asocierea de doi polimeri HPMC în formulare, s-a constatat că prezența într-o proporție mai mare a polimerului cu grad mai mare de polimerizare respectiv vâscozitate, conduce la o micșorare a vitezei de cedare a felodipinei.

Studiul influenței granulometriei substanței medicamentoase asupra profilului de dizolvare a felodipinei din formularea de comprimate s-a făcut utilizând particule de 30 micrometri sau de 3,5 milimetri. Viteza de cedare a felodipinei din comprimatele cu particule de felodipină de 3,5 mm este mult mai lentă decât din comprimatele cu particule de 0,03 mm indiferent de mediul de dizolvare, dar cu o viteză mai mare în mediul în mediul de dizolvare cu lauril sulfat de sodiu 1% în comparație cu cetrimid 0,4% .

Determinarea influenței forței de comprimare a poansonului din mașina de comprimat asupra profilului de dizolvare a substanței active din formularea experimentală s-a realizat pe amestecuri de pulberi destinate comprimării, care au fost supuse la presiuni de comprimare diferite: 45 N și 90 N, urmărind apoi comportamentul la cedarea *in vitro* a felodipinei. Creșterea forței de comprimare conduce la o micșorare a vitezei de cedare la ambele formulări cercetate dar nesemnificativă statistic. Comprimatele preparate cu forță de comprimare 45 N au un aspect poros, sunt friabile și nu suportă etapa de filmare din procesul tehnologic ulterior. Este convenabil deci să se utilizeze forța de comprimare într-un interval de 80 – 90 N.

Cantitatea de lactoză monohidrat asociată matriței polimerice poate influența viteza de cedare a substanței medicamentoase. O cantitate crescută de lactoză determină creșterea cedării felodipinei din comprimatele cu matriță de HPMC și determină diferențe crescute de cedare în cele două medii LSNa 1% și CTAB 0,4%. Fenomenul este explicabil prin creșterea conținutului excipientului formator de pori prin dizolvare în matrița polimerului și astfel creșterea suprafeței de contact între particulele de felodipină de la interiorul matriței și solvent. Creșterea concentrației de PVP în formulare crește viteza de cedare *in vitro* . Fenomenul este posibil prin creșterea gradului de hidrofilie și prin dizolvarea mai rapidă a PVP față de polimerul principal formator de matriță.

S-a studiat și comportamentul la cedare *in vitro* a felodipinei din diferite serii ale produsului de referință, Plendil. S-a constatat că între cele patru serii industriale ale produsului de referință care s-au cercetat, există în unele cazuri diferențe în profilurile de dizolvare. Uneori factorul de similaritate f_2 este mai mic de 50 ceea ce indică diferențe mai mari de 10%. Dizolvarea felodipinei în cele 4 serii nu este similară ceea ce impune folosirea unei singure serii pe toată linia de studii de disponibilitate atât *in vivo* cât și *in vitro*.

Capitolul III. Studiul cedării *in vitro* a felodipinei din comprimate cu cedare prelungită

Felodipina este substanță medicamentoasă din clasa II a Sistemului de Clasificare Biofarmaceutică, puternic lipofilă practic insolubilă în apă. Din acest motiv studiile de dizolvare pe formulări care conțin felodipină trebuie realizat în medii de dizolvare modificate pentru a crește solubilitatea.

Obiectivul acestei cercetări a fost compararea profilului de dizolvare a unei formulări experimentale de comprimate cu cedare modificată cu felodipină, cu produsul de inovator, în diferite medii de dizolvare

Deoarece molecula felodipinei este puternic lipofilă, foarte greu solubilă în apă, nu conține grupe ionizabile solubilitatea ei nu este influențată de schimbarea pH-ului mediului de dizolvare s-a considerat ca adăugarea de tensioactivi o metodă rațională de creșterea a solubilității în vederea realizării de studii de dizolvare *in vitro*. Ca urmare ca și medii de dizolvare s-a folosit un tampon fosfat 0.05M cu pH-ul 6.8, de laurilsulfat de sodiu de diferite concentrații:

- soluție de lauril sulfat de sodiu 1.00% în tampon fosfat 0.05M, pH-ul 6.8
- soluție de lauril sulfat de sodiu 0.75% în tampon fosfat 0.05M, pH-ul 6.8
- soluție de lauril sulfat de sodiu 0.50% în tampon fosfat 0.05M, pH-ul 6.8
- soluție de lauril sulfat de sodiu 0.25% în tampon fosfat 0.05M, pH-ul 6.8

Pentru studiul comparativ al comportamentului la cedare *in vitro*, s-au utilizat comprimate experimentale obținute conform celor descrise la capitolul anterior, din care s-a ales o variantă având caracteristici de calitate și cedare *in vitro* determinate în conformitate cu prevederile oficiale. Produsul experimental a fost similar celui de referință în privința cedării în condițiile prevăzute de USP 24 în mediu cu laurilsulfat de sodiu 1%. Comprimatele s-au obținut prin comprimarea directă a amestecului de pulberi cu ajutorul unei mașini cu excentric Korsch EK 0 pe ponson lenticular cu diametrul de 8 mm. Mașina s-a reglat pentru a obține comprimate cu masa medie de 210 mg, corespunzătoare unui conținut de 10 mg/-comprimat și rezistență mecanică de minim 6 - 8 kg forță. Aceste comprimate sunt numite mai departe ca produs test sau formulare experimentală.

Produsul de referință a fost reprezentat de comprimatele Plendil.

Studiul cedării *in vitro* a felodipinei s-a realizat cu ajutorul unui aparat de dizolvare cu coșuleț, de tip PharmaTest PT-DT7. Volumul mediului de dizolvare a fost 500 ml, temperatura mediului de $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, iar viteza de agitație de 100 rpm. După 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, și 10 ore s-au prelevat 5 ml soluție, s-au filtrat iar cantitatea de felodipină dizolvată s-a determinat prin dozare HPLC. Imediat după prelevare volumul de soluție prelevată este înlocuit cu aceeași cantitate de mediu de dizolvare încălzit la 37°C

Determinarea cantitativa a felodipinei: Aparat HPLC Agilent 1100 series; Coloană cromatografică Zorbax C8, $5 \mu\text{m} \times 4.6 \times 250$; Fază mobilă: acetonitril: soluție apoasă 0.1% acid fosforic (75:25); Debit: 1.2 ml/min; Detecție UV 240nm; Timp de retenție 2.9 min. Pentru evaluarea similarității profilurilor de dizolvare s-a folosit factorul f_1 și f_2 , metode recomandate de ANM, EMEA și FDA. Cinetica de cedare a substanței medicamentoase se poate face utilizând mai multe modele, ordin zero, ordin unu, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell, Baker-Lonsdale și Higuchi. Calcularea factorului diferență f_1 și a factorului de similaritate f_2 s-a realizat utilizând o foaie de calcul validată în programul de calcul tabelar Microsoft Excel (Microsoft, SUA).

Evaluarea cineticii de cedare și calcularea parametrilor statistici în vederea selectării modelului care caracterizează cel mai bine cedarea s-a realizat utilizând modul de regresie din programul Sigma Plot 8.0.

La compararea profilelor de dizolvare cu ajutorul factorilor f_1 și f_2 în cazul studiilor realizate în medii cu concentrații apropiate de LSNa (1.00% comparativ cu 0.75%) sau (0.75% comparativ cu 0.50%) s-au găsit profiluri de dizolvare similare dacă luăm în considerare reglementările oficiale privind evaluarea similarității profilului de dizolvare cu ajutorul factorului f_2 (f_2 mai mare de 50). Dacă luăm în calcul și factorul f_1 , numai în cazul comparării profilului din 1.00% LSNa cu cel din 0.75% LSNa găsim că profilurile de dizolvare sunt similare.

În cazul în care se compară profilurile de dizolvare dintre medii cu concentrații de LSNa diferite (1.00% comparativ cu 0.50%); (1.00% comparativ cu 0.25%); (0.75% comparativ cu 0.25%) sau concentrații reduse de LSNa (0.50% comparativ cu 0.25%) profilurile de dizolvare obținute nu mai sunt similare.

Din compararea profilurilor de dizolvare a celor două produse studiate (produsul inovator și formularea experimentală) în cele patru medii de dizolvare se constată că produsele au profiluri de dizolvare similare dacă luăm în considerare factorul de similaritate f_2 . În toate cazurile factorul de similaritate f_2 a fost mai mare de 50.

În cazul în care luăm în considerare factorul de diferență f_1 , profilurile de dizolvare nu mai pot fi considerate similare, deoarece valoarea factorului de similaritate este mai mare de 15. Acest

lucru înseamnă că factorul de diferență f_1 are o putere de discriminare mult mai mare comparativ cu f_2 .

Din analiza vizuală a profilurilor de dizolvare se constată că cele mai mari diferențe, în toate mediile de dizolvare studiate sunt în ultimele 5 ore. Mai mult, cu scăderea concentrației de lauril sulfat de sodiu se observă creșterea diferențelor dintre profilurile de dizolvare la ultimii timpi de prelevare a probelor.

Din acest motiv, s-a considerat utilă evaluarea similarității profilurilor de dizolvare luând în considerare numai valorile obținute la timpii de dizolvare 5-10 ore.

Din compararea profilurilor de dizolvare a celor două produse studiate (produsul inovator și formularea experimentală) luând în considerare numai ultima parte a profilului de dizolvare (punctele de prelevare de la orele 5 - 10) se constată că produsele nu au profiluri de dizolvare similare în nici unul din mediile în care s-a studiat dizolvarea. În toate cazurile factorul de similaritate f_2 a fost mai mic de 50, iar factorul de diferență f_1 a fost mai mare de 15.

Similaritatea profilurilor de dizolvare în primele ore de dizolvare și lipsa de similaritate în ultimele ore s-ar putea datora granulometriei diferite a particulelor de felodipină. În cazul formulării experimentale s-a folosit felodipină pulbere cu granulometria medie de 3500 μm , iar produsul inovator fiind probabil realizat cu felodipină micronizată.

În primele ore de dizolvare, din ambele produse se dizolvă felodipină din particule cu granulometrie mică, ceea ce determină profiluri de dizolvare similare. După 5 ore, în cazul formulării experimentale, particulele mici au fost complet dizolvate și ca urmare are loc dizolvarea din particule cu granulometrie mare, ceea ce face ca să se obțină procente mai mici de substanță medicamentoasă dizolvată și respectiv profiluri de dizolvare nesimilare comparativ cu produsul inovator.

Cu cât concentrația de laurilsulfat de sodiu este mai mică cu atât diferența dintre procentele dizolvate la ultimele ore să fie mai mare, ceea ce înseamnă că utilizarea unui mediu de dizolvare cu o concentrație mare de lauril sulfat de sodiu (de exemplu 1%) poate duce la nivelarea diferențelor dintre cele două formulări.

Din analiza cineticii de cedare a a felodipinei din cele două produse se constată că atât în cazul produsului inovator cât și în cazul formulării experimentale cedare are loc după o cinetică de ordinul zero, dar în cazul formulării experimentale valoarea constantei de cedare reprezintă numai 82.98% din valoarea constantei de cedare obținută la produsul inovator, în cazul în care testarea s-a realizat în mediul de 1.00% LSNa și respectiv 71.21 în cazul în care testarea s-a realizat în mediul de 0.25% LSNa.

În concluzie, alegerea unui mediu de dizolvare biorelevant trebuie să se facă cu discernământ, pentru că anumite condiții de dizolvare pot să niveleze diferențele de formulare existente între produse, cu importanță asupra biodisponibilității. În cazurile cercetate, produsul experimental are o cinetică de cedare *in vitro* similară cu a produsului de referință, în mediul de dizolvare cu laurilsulfat de sodiu 1%, mediu prevazut de USP. Totuși, la scăderea concentrației de laurilsulfat de sodiu în mediul de dizolvare, se constată diminuarea vitezei de dizolvare din ambele produse, dar mult mai mult în cazul produsului experimental. Acesta reprezintă un risc de diminuare a biodisponibilității.

Capitolul IV. Farmacocinetica dozei unice

În cadrul acestui capitol a fost studiată farmacocinetica felodipinei după administrarea pe cale orală a unei doze unice de felodipină, sub forma unei formulări de referință (Plendil 10 mg, comprimate cu cedare prelungită) respectiv a unei formulări experimentale cu felodipină, 10 mg, de asemenea cu cedare prelungită, studiată și în cap. precedent.

La studiul farmacocinetic au luat parte 24 voluntari sănătoși, cu vârsta cuprinsă între 21-25 de ani. Protocolul clinic și analitic al studiului a fost aprobat de către Comitetul de Etică al Universității de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca. Înainte de începerea studiului, fiecare voluntar participant a primit informațiile referitoare la medicamentul care va fi administrat (doza, efecte terapeutice, efecte secundare), precum și la programul de administrare și prelevare a probelor sanguine. Acceptarea voluntarilor în studiu s-a făcut de către medicul investigator după ce aceștia au semnat un acord de participare și după examinarea stării lor de

sănătate. În urma examenului medical, toți voluntarii participanți la studiul farmacocinetic au fost declarați sănătoși.

Studiul s-a desfășurat în două perioade, încrucișat. Conform schemei de randomizare în fiecare perioadă celor 24 participanți la studiu le-a fost administrată alternativ, pe cale orală, câte o doză de 10 mg felodipină din cele două formulări: Plendil, formulare comercială (producător Astra) - tratament respectiv produs farmaceutic notat mai departe cu indicativul R respectiv o formulare experimentală cu cedare prelungită conținând felodipina (tratament și produs farmaceutic notat mai departe cu T). Timpul de repaus dintre perioade a fost de două săptămâni.

Pentru dozarea felodipinei din plasma umană s-a folosit cromatografia de lichide de înaltă performanță HPLC cuplată cu spectrometria de masă.

Pentru efectuarea analizei farmacocinetice noncompartimentale, a fost utilizat programul Kinetica 4.2. Au fost calculați următorii parametri farmacocinetici: concentrația maximă (C_{max}), timpul de maxim (T_{max}), aria de sub curbă totală (ASC_{tot}) și procentul ariei de sub curbă extrapolată ($\%ASC_{extra}$), aria de sub momentul curbei ($ASMC_{tot}$), constanta de viteza a eliminării (k_{el}), timpul de înjumătățire ($t_{1/2}$), timpul mediu de rezidență (TMR), clearance (Cl), volumul de distribuție în stare staționară (V_{dss}).

Parametrii farmacocinetici C_{max} respectiv T_{max} sunt indicatori ai vitezei absorbției. Comparând diferențele observate între acești doi parametri pentru cele două produse farmaceutice comparate, putem concluziona faptul că viteza absorbției este considerabil mai mică în cazul produsului experimental față de Plendil (C_{max} scade iar T_{max} crește). Totuși, mărimea absorbției (reflectată de parametrul ASC_{tot}) este comparabilă între cele două produse, fiind doar ușor mai mare în cazul produsului farmaceutic Plendil.

Pentru parametrii farmacocinetici C_{max} , $ASC(0-48)$ și ASC_{tot} a fost realizat testul de bioechivalență prin calcularea intervalului de încredere 90% a raportului valorilor medii logaritmice (ANOVA). În conformitate cu prevederile interne și internaționale, produsele s-au considerat bioechivalente dacă intervalul de încredere calculat este cuprins între valorile [0.8-1.25]. Pentru parametrul T_{max} s-a calculat diferența valorilor medii nelogaritmice dintre valorile produsului test și a celui de referință și s-a aplicat testul Friedman pentru detectarea unor diferențe semnificative.

Rezultatele testelor statistice aplicate demonstrează bio-inechivalența produsului experimental față de produsul de referință. Acest lucru se datorează biodisponibilității scăzute a felodipinei din formularea experimentală testată, principalul factor răspunzător de aceste efecte fiind viteza redusă de cedare a felodipinei din formularea experimentală.

Utilizând concentrațiile plasmatiche ale felodipinei obținute în urma experimentului farmacocinetic descris la capitolul precedent, a fost realizată analiza farmacocinetică compartimentală. Pentru efectuarea analizei farmacocinetice compartimentale, a fost utilizat programul de calculator WinNonlin (Pharsight).

La realizarea unei analize farmacocinetice compartimentale, întotdeauna se recomandă folosirea mai multor modele farmacocinetice, realizarea unei selecții și ulterior analiza datelor cu modelul cel mai bun. Selecția modelului care descrie cel mai bine farmacocinetica substanței se realizează utilizând o serie de teste statistice care exprimă cantitativ acuratețea fitării. Printre acestea, se utilizează indicii Akaike (valoare mai mică pentru o fitare mai bună).

Au fost propuse pentru analiză șase modele farmacocinetice monocompartimentale pentru felodipină, diferențele dintre ele constând în cinetica procesului de absorbție, distribuție mono- sau bicompartimentală respectiv existența sau nu a unui timp de latență până la începerea absorbției. Analizând valorile obținute, se poate spune că modelul optim care descrie farmacocinetica felodipinei din preparatul Plendil este modelul M06, care presupune existența unui timp de latență până la începerea absorbției, o cinetică de ordinul 0 pentru absorbție, și totodată o distribuție bicompartimentală a felodipinei.

Din datele prezentate reiese faptul că cea mai mare cantitate de felodipină este cedată din comprimatele cu eliberare prelungită și absorbită în primele 4.5 ore de la administrare, cu o constantă a procesului de ordinul zero, cu o valoare a constantei cinetice de aproximativ 2.22 mg felodipină pe oră (presupunând ca biodisponibilitatea absolută este egală cu unitatea). Absorbția felodipinei începe la aproximativ 0.3 ore de la administrare (20 minute). Felodipina se distribuie

în organism în două compartimente, având afinitate mai mare pentru compartimentul periferic decât pentru cel central (din valorile celor două constante de distribuție).

În cazul evaluării farmacocineticii felodipinei din produsul experimental, s-a impus construcția unor noi modele farmacocinetice la care procesul de absorbție să fie modelat astfel încât să permită fitarea profilului plasmatic al felodipinei din preparatul experimental studiat.

Din datele obținute a reieșit faptul că cedarea/absorbția felodipinei din comprimatele experimentale se face bifazic, după două procese consecutive de ordinul 1. Primul proces (notat cu A) începe practic imediat după administrare (parametru $T_{lat} = 0.001$ ore), are o constantă de viteză $K_a = 0.523$ ore⁻¹ și este responsabil de eliberarea unei fracții de 26% din felodipină din comprimat. Al doilea proces de cedare, tot de ordinul 1, apare mai târziu ($T_{lat} = 8.17$ ore), are o constantă de viteză de circa 10 ori mai mică decât procesul A, dar ca și magnitudine este preponderent, deoarece este responsabil de eliberarea unui procent de aproximativ 100% - 26% = 74% din substanță din comprimat.

Plecând de la datele plasmatice medii ale felodipinei pentru cele două formulări farmaceutice (Plendil și formularea experimentală Test), și știind pentru fiecare caz modelul farmacocinetic potrivit, este posibil să se calculeze profilul de cedare *in vivo* al felodipinei. Ulterior, profilul de cedare *in vivo* poate fi corelat cu cel *in vitro*, în încercarea de a studia dacă cedarea substanței active se face cu o viteză și mărime similară în cele două situații sau dacă testul de dizolvare *in vitro* poate fi considerat reprezentativ pentru testul biodisponibilității *in vivo*.

Deoarece s-a arătat mai sus că cele două preparate cu felodipină au cinetici ale absorbției diferite, calculele pentru aflarea profilului de cedare *in vivo* s-au efectuat separat, pentru fiecare în parte.

Deconvoluția profilului plasmatic al felodipinei, preparat Plendil, s-a făcut practic plecând de la faptul că modelul utilizat presupune existența a trei ecuații diferențiale – una pentru felodipina existentă în tubul digestiv (ținând cont de aproximarea anterioară, de fapt se referă la felodipina din forma farmaceutică); a doua ecuație diferențială corespunde compartimentului central iar ultima, compartimentului periferic. După un scurt timp de latență (0.28 ore), procesul de cedare are loc cu viteză constantă și se finalizează la aproximativ 3.8 ore (o durată totală de 3.5 ore).

Profilul de cedare a felodipinei din comprimat se află efectuând diferența dintre cantitatea inițială (10 mg) și cantitatea rămasă în comprimat la fiecare timp de prelevare.

În vederea stabilirii corelației vitro-vivo, s-a determinat, pentru fiecare curbă de cedare în parte, ecuația matematică ce descrie variația procentului de substanță cedată în funcție de timp. Pentru a corela procentele de felodipină cedate în experimentul *in vivo* cu cel *in vitro*, este necesar a extrapola valorile corespunzătoare unui experiment, la celălalt. S-au extrapolat valorile cedate *in vivo* la timpii corespunzători cedării *in vitro* (adică până la 10 ore). Perechile de valori obținute, pentru aceleași valori ale timpului (*vivo*, valori extrapolate respectiv *vitro*, valori reale), se corelează în grafic cartezian. S-a realizat cu succes corelația dintre datele *in vitro* și cele *in vivo*, pentru toate experimentele *in vitro* realizate (la toate concentrațiile de tensioactiv folosite).

Astfel, se poate spune că cedarea felodipinei *in vivo* se face de aproximativ 3 ori mai ușor decât *in vitro* când SLS este în concentrație de 1% (deoarece $1/0.3318 = 3.01$).

Dacă nivelul de tensioactiv scade, raportul de cedare a felodipinei *in vivo* față de *vitro* crește, ajungând până la aproximativ 6 în cazul concentrației de 0.25SLS ($1/0.1638 = 6.01$).

Faptul că deși există corelare vitro-vivo, cedarea felodipinei se realizează considerabil mai rapid *in vivo* se poate explica pe baza particularităților fiziologiei locale a tubului digestiv, dar și a existenței unor condiții de tip fizico-chimic mult mai complexe decât cele simulate într-un experiment *in vitro*.

Deconvoluția profilului plasmatic al felodipinei, preparat experimental, a plecat de la faptul că cinetica de cedare a felodipinei din preparatul experimental este complexă, fiind compusă din două procese elementare consecutive de ordinul 1. Calculele s-au realizat într-un mod asemănător ca la analiza și deconvoluția profilului plasmatic al preparatului Plendil.

Corelația de nivel A vitro-vivo realizată pentru produsul experimental este considerabil mai slabă decât în cazul anterior, al produsului Plendil. Acest lucru se datorează cineticii diferite și mai complexe de cedare a substanței active din produsul experimental, greu de corelat cu o

cinetică liniară de ordinul zero. Totuși, se observă o ușoară tendința de corelare vitro-vivo, în special la timpii de până la 4-5 ore.

Toate aceste concluzii relevă încă odată ceea ce se știe despre preparatele farmaceutice cu eliberare întârziată și anume că modul de preparare și compoziția pot influența semnificativ viteza sau mecanismul de cedare a substanței active, ceea ce poate duce în final la diferențe mari în eficacitatea terapeutică a produsului.

Capitolul V. Farmacocinetica dozelor repetate

Studiul s-a desfășurat în două perioade, încrucișat. În fiecare perioadă celor 24 participanți la studiu le-a fost administrată alternativ, timp de 5 zile, pe cale orală, câte o doză zilnică de 10 mg felodipină din cele două formulări: Plendil, formulare comercială (producător Astra) - tratament respectiv produs farmaceutic notat mai departe cu indicativul R respectiv o formulare experimentală cu cedare prelungită conținând felodipina (tratament și produs farmaceutic notat mai departe cu T). În total s-au realizat un număr de cinci administrări la fiecare 24 ore. Timpul de repaus dintre perioade a fost de două săptămâni. Au fost prelevate probe sanguine (5 ml, puncție venoasă) la intervalele de 1, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 și 48 ore după administrarea dozei. După centrifugarea probelor sanguine, plasma a fost separată și păstrată la -20°C până la analiză.

Analizând concentrațiile plasmatiche medicamentoase obținute se observă aceleași diferențe pronunțate între profilurile plasmatiche ale felodipinei din produsul comercial față de cel de experimental, ca și în cazul dozei unice. Totuși, în zona concentrațiilor maxime de la 4 -5 ore diferența scade față de cele observate la doza unică. Concentrația plasmatică maximă, concentrația medie, aria de sub curba la starea staționară și fluctuația concentrației au valori mai mici în cazul produsului experimental. Deși o valoare inferioară a fluctuației este în general benefică (scad efectele adverse datorate variațiilor mari de concentrații), totuși parametrii C_{\max} , concentrația medie și aria de sub curbă sunt definiții pentru viteza și mărimea absorbției substanței medicamentoase iar valorile lor considerabil mai mici pentru produsul experimental față de produsul de referință nu pot fi ignorate.

Rezultatele testelor statistice aplicate indică bio-inechivalența produsului experimental față de produsul de referință, lucru observat de altfel și după administrarea unei doze unice. Totuși, datorită fenomenului de acumulare și suprapunere a dozelor, care este mai accentuat la preparatul experimental datorită eliberării tardive a substanței active, intervalul de încredere 90% pentru cei mai mulți parametri analizați este mai îngust, la valori mai mari față de valorile din cazul dozei unice. Nu toate intervalele calculate se încadrează în limitele 0.8 - 1.25, ceea ce demonstrează bio-inechivalența celor două produse analizate.

A fost efectuat testul de bioechivalență pentru felodipină, între produsul de referință – Plendil și cel experimental. Calculele arată că atât viteza cât și mărimea absorbției sunt diferite și deci cele două produse farmaceutice echivalente în sunt bio-inechivalente lucru confirmat de același test aplicat la datele farmacocinetice corespunzătoare administrării în doza unică a substanței.

În capitolul CONCLUZII GENERALE se redau concluziile cercetărilor menționate pentru fiecare capitol în parte. Se precizează influența factorilor de formulare asupra cineticii de cedare *in vitro*, permițând alegerea celor care confera caracteristicile unui medicament cu cedare prelungită.

Utilizarea testului oficial USP de cedare *in vitro* în prezența laurilsulfatului de sodiu 1% poate masca diferențele de cedare între formulări, prin efectul de solubilizare micelară al tensioactivului. Acest fapt a fost confirmat de studiile farmacocinetice care au demonstrat o biodisponibilitate mai mică a produsului experimental față de cel de referință atât după o doză unică, cât și după doze repetate.

Cercetarea efectuată arată necesitatea și importanța cercetării minuțioase a biodisponibilității *in vitro* în mai multe condiții de testare, analiza farmacocinetică și eventual studiul clinic pilot (*in vivo*) pentru formulele medicamentelor cu cedare prelungită încă din etapa de formulare.

Lucrarea se încheie cu referințele citate în text, în număr de 248. Teza este redactată pe 219 pagini. Iconografia este reprezentată de 95 tabele și 127 figuri. Din partea experimentală s-au publicat două lucrări *in extenso* în revistele Farmacia și Clujul Medical.

CURRICULUM VITAE

1. Detalii personale

Nume: POP ANCA LUCIA

Data/locul nasterii: 08.10.1971, Baia Mare, Maramureș

Domiciliu stabil: Str Banu Antonache 52/60, Ap. 1 Bucuresti

Numele parinților : Elena și Coriolan

Date de contact: Tel. 0745 009910, e-mail: ancapop@hotmail.com

In prezent: asistent universitar Facultatea de Farmacie, UMF “Carol Davila”
Disciplina Laborator Clinic.

Experiență profesională din 1996

2. Educatie

Doctorand fara frecvență, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”, Facultatea de Farmacie, Disciplina Biofarmacie si Farmacocinetică, Cluj Napoca Octombrie 2004

Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”, Facultatea de Farmacie, Cluj Napoca, Octombrie 2000 – Septembrie 2004

Universitatea de Medicina și Farmacie „Carol Davila”, Facultatea de Medicina Generală, București Octombrie 1990 – Septembrie 1996

Colegiul Național Matematica Fizica „Gh. Șincai”, 1985 – 1989, Baia Mare, Romania

3. Specializări și competențe

1. Curs Farmacovigilență “Eudravigilence”, EMEA, Viena, Ianuarie 2007
2. Curs program biostatistică “Kinetica”, Cluj Napoca, Romania, Aprilie 2004
3. Master Farmacologie Clinică, Catedra Farmacologie, Facultatea de Medicină, UMF „Iuliu Hațieganu”s, Cluj Napoca 2002 – 2003
4. Master de comunicare si relații publice, SNSPA, 2002-2003
5. Rezidentiat Medicina de Familie – UMF “Carol Davila” Spitalul St. Pantelimon, Bucuresti Aprilie 1997 – Mai 2000;
6. Curs managementul resurselor umane în spital, Proiect Phare Bucuresti, Apr. 2000
7. Curs de Managementul Medical, Etică și Deontologie Medicală, Colegiul Medicilor Bucuresti, Bucuresti, România Mai 1999
8. Competență de Ecografie generală, Spitalul Cantacuzino, Bucuresti, Romania, Ian. 1999 – 2000
9. Curs competență de Laserterapie, Fundatia Romana Pro Laser, Bucuresti, Romania Apr. 1998
10. Curs de prim-ajutor medical specializat și resuscitare cardiorespiratorie avansata, Spitalul Clinic de Urgență, Bucuresti, Iul. 1997
11. Curs de asistență in probleme legate de infecția HIV, Asociația Romana Anti Sida, Bucuresti Iul. 1990

4. Lucrări publicate/comunicate:

Lucrări publicate în străinătate

1. Denisa Mihele, Florea Cocu, Simona Firulescu, Anca Pop, Dana Mihele, The Action of New O-Acylated Derivatives of some Prostaglandins on the Experimental Ulcers and on the Gastric Acidity on Rats, 13th Panhellenic Pharmaceutical Congress, 14-16 Mai 2007, Atena, Grecia

2. Denisa Mihele, Daniela Raiciu, Șt. Manea, Anca Pop, Research Regarding the Anti-Inflammatory Action of some Gemoderivatives, 13th Panhellenic Pharmaceutical Congress, 14-16 Mai 2007, Atena, Grecia, vol 32, 54

3. Mihele D., Cocu F., Firulescu S., Pop A., Mihele D. M., The action of new O-acylated derivatives of some prostaglandins of experimental ulcers and on the gastric acidity on rats, European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 13th Pan-Hellenic Pharmaceutical congress, 12-14 Mai 2007, vol 32, 54

4. Mihele D., Morosan E., Pop A., The determination of the antioxidant activity of a new food supplement, VIIIth National Congress of Nutrition, Varna, 2007, pg. 321-322

5. Mihele D., Pop A., Food as protective factor in prevention and therapy of diseases, VIIIth National Congress of Nutrition, Varna, 2007, pg. 318 – 320, ISBN 978-954-9336-40-5
6. Elena Morosan, Denisa Mihele, Pop Anca Lucia Research of the Antioxidant Action of a New Product of Vegetal Origin, Proceedings of the 6th International Conference of PhD Students, University Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007
7. Daniela Raiciu, Denisa Mihele, Stefan Manea, Elena Morosan, Pop Anca Lucia Research Regarding the Influence of Some Gemoderivatives on Diuresis at Rats, Proceedings of the 6th International Conference of PhD Students, University Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007
8. Pop A., Mihele Denisa, Research Regarding the Decrease of the Toxicity of Doxorubicine in the Presence of Verapamil and Ketotifen on the Animal Cell, Proceedings of the 6th International Conference of PhD Students, University Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007
9. Denisa Mihele, Daniela Raiciu, St. Manea, Anca Pop, Investigations Regarding the Cicatrizing Action of the Gels with Tamarix Gallica compared with Hippophae Rhamnoides, Proceedings of the 3rd International Seabuckthorn Association Conference, Quebec, province Quebec, Canada, 12-15 August 2007
10. Denisa Mihele, St. Manea, Anca Pop, Daniela Raiciu, Research Regarding the Gemoderivatives of Tamarix Gallica on the gastric secretory activity and motility on rats, Proceedings of the 3rd International Seabuckthorn Association Conference, Quebec, province Quebec, Canada, 12-15 August 2007
11. Raiciu A. D., Giurginca M., Mihele D., Pop A., Determining the antioxidant activity of certain gemoderivates, Planta med, Vol. 74, 995 – 1228, 2008
12. Raiciu A. D., Manea S., Vatafu M., Mihele D., Pop A., Gemoderivates with protective and regenerative action for hair, Planta med, Vol. 74, 995 – 1228, 2008
13. Mihele D., Pop A., Darmanescu D., Cocu F., Comparative studies regarding the influence of the esters and the ethamol amides of the fatty acids from the extra virgin Oleum Olivae on the experimental ulcers and on the gastric activity on rat., Planta med, ISSN 0032-0943, Vol. 74, 995 – 1228, 2008

Lucrări publicate în țară

1. Pop Anca L., VLASE L., TOMUTA I., LEUCUȚA S.E., In vitro dissolution studies of some oral dosage forms with verapamil, Ovidius" University Annals of Medical Science – Pharmacy, Volume 2, Number 8, 2004
2. Denisa Mihele, Șt. Manea, Elena Moroșan, Daniela Raiciu, Pop Anca, The Influence Of Some Gemoderivatives on Biochemical Parameters, Archives of the Balkan Medical Union nr.4, 2006
3. Denisa Mihele, Daniela Raiciu, Constantina Ioniță, Șt. Manea, Pop Anca, The determination of antimicrobial and antifungal actions of certain gemmoderivatives, Revista Farmacia Nr. 1 Ianuarie Februarie 2007
4. Denisa Mihele, Daniela Raiciu, Constantina Ioniță, Șt. Manea, Pop Anca, The determination of antimicrobial and antifungal actions of certain gemmoderivatives Revista Farmacia Nr. 1 ISSN 0014-8237, Ianuarie Februarie 2007
5. Mihele Denisa, Cerasela Elena Gird, Pop Anca, Mion Abdalah Al Borsh, Study regarding The antimicrobian and antifungic activity of the volatile Oils from the Citrus

species, Archives of Balkan Medical Union vol. 43, nr. 1, p 11-14, , ISSN 0041-6940, Celsius Publishing House, March 2008

6. Darmanescu Diana, Mihele Denisa, Moroşan Elena, Pop Anca, F. Cocu, Researches of the action of the methilic esters of the fatty acids from the Extra-virgin olive oil on the biochemical parameters on rat”, Farmacia, 2, ISSN 0014-8237 pg. 174-181, March April 2008,

7. Denisa Mihele, Dărmănescu Diana, F. Cocu, Pop Anca, Dana Mihele, Research regarding the anti-inflammatory action of the ethanol amides of the fatty acids from the extra-virgin Oleum olivae by experimental acute inflammation methods on rats, Romanian Biotechnological Letters, Vol. 13, No. 6, supplement, pp. 56 -61, 2008

8. Denisa Mihele, Dărmănescu Diana, Pop Anca, F. Cocu, Research regarding the cicatrizing action of the ethanol amides of the fatty acids from the extra-virgin Oleum Olivae, Timisoara Medical Journal, Timisoara, 2008

9. Pop Anca, Laurian Vlase, Sorin E. Leucuţa, Pharmacokinetic study of felodipine after single oral dose of slow release formulations in healthy volunteers, Farmacia, 2008, vol.LVI, 5, 474 - 482

10. Denisa Mihele, Dărmănescu Diana, F. Cocu, Anca Pop, Dana Mihele, Research regarding the antiinflammatory action of the ethanol amides of the fatty acids from the extra-virgin Oleum olivae by experimental acute inflammation methods on rats, Archives of Balkan Medical Union vol. 43, nr. 1, p 11-14, , ISSN 0041-6940, Celsius Publishing House, 2008

11. Pop Anca, I. Tomuţă, R. Iovanov, S.E. Leucuţa, Evaluarea cedarii „in vitro” a felodipinei din produsul inovator si o formulare experimentală în diferite medii de dizolvare, Clujul Medical Vol. LXXXI NR. 3, 389-394, 2008

Lucrări comunicate în țară

1. Denisa Mihele, Pop Anca Lucia, Elena Moroşan, Ruaa Aziz Jassim Researches regarding the action of the Vitis vinifera extracts on the diuresis on rat, 1st international Conference Environment–Natural sciences–Food Industry in European context ENSFI 2007 Baia Mare, November 23-24, ISBN 978-973-1729-39-8

2. Denisa Mihele, Pop Anca Lucia, Dana Mihele Researches regarding the hipolipemiant action of a new food supplement on rat, 1st international Conference Environment–Natural sciences–Food Industry in European context ENSFI 2007 Baia Mare, November 23-24, ISBN 978-973-1729-39-8

3. Denisa Mihele, Daniela Raiciu , St. Manea, Constantina Ionita, Anca Pop ”Determinarea actiunii antimicrobiene a unor gemoderivate”, al 6-lea Congres National de Medicina de Laborator cu participare internationala, al 2-lea Simpozion de Imunopatologie si Al 2-lea Congres National al Asistentilor Medicali de Laborator, 11- 13 octombrie 2007, Sibiu

4. Anca Pop, Denisa Mihele, Adina Savu “Determinarea toxicităţii acute şi cronice a doxorubicinei în prezenţa verapamilului pe celula animala si vegetala”, al 6-lea Congres National de Medicina de Laborator cu participare internationala, Al 2-lea Simpozion de Imunopatologie si Al 2-lea Congres National al Asistentilor Medicali de Laborator, 11- 13 octombrie 2007, Sibiu

5. Dan Tulbure, Florin Costandache, Elena Copaciu, Ovidiu Peneş, Anca Pop, Protocolul de Resuscitarea Cardiorespiratorie Cerebrală 2006 editia a II-a – Programul National de Prim Ajutor Medical Specializat, Romania.

6. Anca Pop, Factorii de risc cardiovascular si tratamentul cu statine, Conferinţele medicale Maramedica, Aprilie 2005, Baia Mare

7. Anca Pop, Sorin Leucuta, Laurian Vlase, Biodisponibilitatea in vitro a unor formulări standard de comprimate orale verapamil, Congresul de Farmacie, 2004
8. A. Andercou, Claudia Gherman, Anca Pop, O. Andercou, Evaluation of the efficiency of Ticlodin therapy in the patients with chronic obstructive arterial disease of the lower limbs; International Congress of Vascular Surgery, Cluj Napoca, 2003
9. Călin Pop, Cătălin Iacob, Anca Pop, Călin Man, Sauciuc Vladimir, Tratatamentul hipertensiunii arteriale ușoare și moderate prin atenolol - studiu clinic de eficacitate terapeutică – Spitalul Județean Baia Mare – 2001
10. Dan Tulbure, Florin Costandache, Elena Copaciu, Ovidiu Peneș, Anca Pop, Protocolul de Resuscitarea Cardiorespiratorie Cerebrală 1 – Programul National de Prim Ajutor Medical Specializat, Romania. 1998
11. Anca Pop Asigurarea calității în producția farmaceutică, standarde GMP, – Congresul national al Studentilor Farmacisti, Cluj Napoca, 2003
12. Voiculescu V., Anca Pop, Studii de eficacitate clinică a betablocantelor la pacientii cu ascită, Vlad Voiculescu et. al., Spitalul Clinic Fundeni Clinica de Medicina Interna, București 1998
13. Anca Pop, Anca Popescu, Edemul Cerebral in Bolile Cerebrovasculare. Corelatii clinico- tomografice. Teza de Diplomă –Institutul de Boli Cerebrovasculare, Bucuresti, Romania, 1996.

Lucrări comunicate în strainătate

1. Mihele D., Cocu F., Firulescu S., Pop A., Mihele D. M., The action of new O-acylated derivatives of some prostaglandins of experimental ulcers and on the gastric acidity on rats, European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 13th Pan-Hellenic Pharmaceutical congress, Greece, 12-14 Mai 2007, vol 32, 54 ISSN 0378 – 7966
2. Mihele D., Raiciu D., Manea St., Pop A., Research regarding the antiinflammatory action of some gemoderivatives European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 13th Pan-Hellenic Pharmaceutical congress, Greece, 12-14 Mai 2007, vol 32, 55 ISSN 0378 – 7966
3. Mihele D., Morosan E., Pop A., The determination of the antioxidant activity of a new food supplement, VIIIth National Congress of Nutrition, Varna, Bulgaria 2007, 158
4. Mihele D., Pop A., Food as protective factor in prevention and therapy of diseases, VIIIth National Congress of Nutrition, Varna, Bulgaria 2007, 157
5. Denisa Mihele, Daniela Raiciu, St. Manea, Anca Pop, Investigations Regarding the Cicatrizing Action of the Gels with Tamarix Gallica compared with Hippophae Rhamnoides, 3rd International Seabuckthorn Association Conference, Quebec, province Quebec, Canada, 12-15 August 2007
6. Denisa Mihele, St. Manea, Anca Pop, Daniela Raiciu, Research Regarding the Gemoderivatives of Tamarix Gallica on the gastric secretory activity and motility on rats, 3rd International Seabuckthorn Association Conference, Quebec, province Quebec, Canada, 12-15 August 2007
7. Elena Morosan, Denisa Mihele, Anca Lucia Pop Research of the Antioxidant Action of a New Product of Vegetal Origin, 6th International Conference of PhD Students, Unversity Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007
8. Daniela Raiciu, Denisa Mihele, Stefan Manea, Elena Morosan, Anca Lucia Pop Romania, Research Regarding the Influence of Some Gemoderivatives on Diuresis at Rats, 6th International Conference of PhD Students, Unversity Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007

9. Anca Lucia Pop, Mihele Denisa Research Regarding the Decrease of the Toxicity of Doxorubicine in the Presence of Verapamil and Ketotifen on the Animal Cell, 6th International Conference of PhD Students, Unversity Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007

10. Simona Firulescu, Denisa Mihele, Elena Morosan, Anca Pop, Florea Cocu, The influence of New O-acilated Derivatives of Some Prostaglandins on the Biochemical Parameters on Rats, 6th International Conference of PhD Students, Unversity Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007, ISBN 978-963-661--783-6, 69-75

11. Raiciu A. D., Giurginca M., Mihele D., Pop A., Determing the antioxidant activity of certain gemoderivates, 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE&SIF, , Athens, Greece, August 3-8, 2008

12. Raiciu A. D., Manea S., Vatafu M.,, Mihele D., Pop A., Gemoderivates with protective and regenerative action for hair, 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE&SIF, , Athens, Greece, August 3-8, 2008

13. Mihele D., Pop A., Darmanescu D., Cocu F., Comparative studies regarding the influence of the esters and the ethamol amides of the fatty acids from the extra virgin Oleum Olivae on the experimental ulcers and on the gastric activity on rat., 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE&SIF, , Athens, Greece, August 3-8, 2008

5.Participare la Conferinte

1.Congresul International al Studentilor, Andorra la Villa, Andorra Dec 1990

2.Simpozion – Dezvoltarea Sistemului Medical Privat in Romania, World Trade Plaza, Bucuresti, Romania Nov. 1998

3.Congresul International de Lasere Medicale, Palatul Parlamentului, Bucuresti, Sep 1998

4.Congresul National de Medicina generala/ Medicina de Familie Oct. 2000

5.Congresul National de Cardiologie pentru Medicina de Familie, Bucuresti Oct. 2002

6.Congresul National de Farmacie, Palatul Patriarhiei, Bucuresti Oct. 2003

7.Congresul National de Farmacie, Cluj Napoca 28 – 30 septembrie 2006

8.Congresul National de Medicina de Laborator, Brasov, Nov. 2006

9.Congresul National de Medicina de Laborator, Sibiu, Oct. 2007

10.13th Pan-Hellenic Pharmaceutical corgress, 12-14 Mai 2007, vol 32, 99. 0378 – 7966

11.3rd International Seabuckthorn Association Conference, Quebec, province Quebec, Canada, 12-15 August 2007

12.6th International Conference of PhD Students, Unversity Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007

13.1st international Conference Environment–Natural sciences–Food Industry in European context ENSFIBaia Mare, November 23-24, 2007

14.VIIIth National Congress Of Nutrition With International Participation

May 17 – 19, 2007, Varna, Bulgaria

15. Simpozion Farmacia astăzi, între promovare și cercetare, Timisoara, 24 – 26 sept. 2008

16.Simpozion de biotehnologie, Universitatea ”Dunărea De Jos” Galați, 2008

17. Natural products with pharmaceutical, nutraceutical, cosmetic and agrochemical interest. 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE and SIF, August 3 - 8, Athens, Greece

6. Brevete de invenție

1. Elena Morosan, Denisa Mihele, Pop Anca - Cerere brevet de invenție nr. A/00981 –14.12.2007, „Supliment nutritiv cu proprietăți antioxidante din fructe de pădure”
2. Pop Anca Lucia, Mihele Dana, Hotărâre de brevet de invenție nr. 3/307 din 28.11.2008 “Supliment alimentar cu acțiune hipolipemiantă și protectoare cardiovasculară”,
3. Pop Elena, Denisa Mihele, Pop Anca Lucia, - Cerere brevet de invenție nr. A/200800822–22.10.2008, „Supliment alimentar cu efect antihelmintic”

7. Hobby

Călătoria, computer, istoria, sport, muzica, film

8. Limbi straine:

*	citit	vorbit	scris
Engleza	5	4	4
Franceza	3	2	2
Germana	2	2	1
Italiana	3	3	1

9. Membru al unor asociații profesionale:

Colegiul Farmacistilor din Romania
Colegiul Medicilor Bucuresti
Societatea Româna de Medicină de Laborator
Uniunea Medicală Balcanică
Asociația Națională a Femeilor Medic, Bucuresti, Romania
Societatea Națională de Ecografie, Romania
Asociația Română Anti SIDA, ONG, Romania
Fundatia Română Pro Laser, Bucuresti, Romania
Programul Național de Prim Ajutor Medical Specializat, Romania

Alte aptitudini:

- Operare computer (Word, Excel, Corel, PowerPoint, Netscape, Access, etc.)
- Permis de conducere din 1995
- Aptitudini de comunicare profesională

UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY
„IULIU HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA
FACULTY OF PHARMACY



PhD Student
ANCA LUCIA POP

**THE INFLUENCE OF THE FORMULATION OF SOME
EXTENDED RELEASE TABLETS
ON THE *IN VITRO* RELEASE AND ON THE
BIODISPONIBILITY OF THE FELODIPINE**

PhD THESIS ABSTRACT

SCIENTIFIC SUPERVISOR
PROF. DR. SORIN E. LEUCUȚA

2009

SUMMARY

INTRODUCTION.....	3
GENERAL PART.....	6
<i>Chapterul I. Calcium Channel Blockers – actualities</i>	6
<i>Chapterul II. Felodipine Pharmacology</i>	18
<i>Chapterul III. Literature Data regarding Felodipine Tablets preformulation studies</i>	22
<i>Chapterul IV. Data regarding Felodipine Tablets formulation Studies</i>	36
<i>Chapterul V. Felodipine Pharmaceutical Formulations Biodisponibility studies</i>	48

EXPERIMENTAL PART. PERSONAL CONTRIBUTIONS

1.1. Introduction.....	63
1.2. Identification and purity control.....	64
1.3. Felodipine physico-chemical properties.....	74
<i>Chapterul II. Formularea comprimatelor de felodipină cu cedare prelungită</i>	85
1.1 Introduction.....	85
1.2 Formulation processes variables.....	86
1.3 The influence of the formulation factors on the <i>in vitro</i> biodisponibility of the felodipine experimental formulations.....	88
1.4 Conclusions.....	126
<i>Chapterul III. Study of In vitro felodipine release from extended release tablets</i>	127
3.1. Introduction.....	127
3.2. Materials and Methods.....	128
3.3 Results and Discussions.....	132
3.4. Conclusions.....	148
<i>Chapterul IV. Single dose Pharmacokinetics</i>	150
4.1 Introduction.....	150
4.2 Subjects.....	150
4.3 Study design.....	150
4.4 Analitical method.....	151
4.5 Felodipine plasma concentrations.....	153
4.6 Noncompartmental pharmacokinetic study.....	160
4.7 Felodipine relative biodisponibility.....	169
4.8 Compartmental pharmacokinetic study.....	171
4.9 Single dose pharmacokinetics, extravascular bicompartamental pharmacokinetic model.....	176
4.10 Felodipine plasma profiles deconvolution. <i>In vitro – in vivo</i> correlations.....	189
4.11 Conclusions.....	201
<i>Chapterul V. Multiple dose Pharmacokinetics</i>	203
5.1. Introduction.....	203
5.2. Subjects.....	203
5.3. Study design.....	203
5.4. Felodipine plasma concentrations.....	204
5.5 Felodipine noncompartmental pharmacokinetic study.....	207
5.6. Relative biodisponibility of felodipine.....	211
5.7. Conclusions.....	212
GENERAL CONCLUSIONS.....	213
REFERENCES.....	218

Keywords: felodipine, formulation, tablets, extended release, *in vitro* dissolution, *in vitro* control, pharmacokinetics, biodisponibility

Introduction

The theme of the PhD thesis is anchored in a modern field of the pharmaceutical sciences of the i.e optimization of the formulation of the drugs to improve the farmacotherapy. Experimental research has focused on the study of the formulation of extended release tablets containing felodipine.

The research hypothesis begins from the peculiarities of pharmaceutical and pharmacokinetic particularities of the medicinal substance (low water solubility, short biological half time) and some technological variables suitable for the preparation of oral extended release pharmaceutical products, which in turn to carry out the therapeutical plasma concentrations over a longer period of time.

In this way, it can be achieved a reduction in the fluctuations of the plasma drug levels (appearing in repeated doses medication, especially at close dosage intervals), a more constant therapeutic response on a longer period of time and an increased adhesion of the patients at the treatment with such a pharmaceutical form.

The objective of the personal research was the study of the influence of the formulation factors and of the technological manufacturing variables on the biopharmaceutical properties of the extended release felodipine tablets, and the peculiarity of the control methods on the *in vitro* dissolution kinetics and bioavailability.

The PhD thesis has two parts: a general part and a experimental part with the personal research.

In the general part is a review of the literature on the importance of the calcium channels blockers for therapy, how to extend the release of medicinal substances from the oral pharmaceutical forms, and some formulations of this kind published in the literature speciality.

In the part the own research results are exposed, presented in separate but interrelated chapters the formulation of the extended release felodipine tablets and the factors which may lead to this objective and also the importance of quality control, and particularly of the *in vitro* release, verified by pharmacokinetic studies in healthy volunteers.

Chapter I. Preformulation studies for the manufacturing of some extended release felodipine oral tablets

For the development of a formulation of tablets that meet the quality requirements preformulation studies are needed, that examine in detail the physical, physico-chemical and the pharmaceutical properties of the drug substance.

In the preformulation part are considered the critical properties of the substance that may affect stability, solubility, possible interactions with the auxiliary substances used, and also some pharmaceutical properties required in the processing of tablets. Were determined physical properties of felodipinei in the crystalline form, has been done the preliminary assessment of the felodipine in terms of stability and solubility, the granulometry influence over the pharmaceutical bioavailability, the compression behavior was evaluated and also its compatibility with the excipients.

Were conducted the analyses to identify and control the purity of the felodipine using high-performance liquid chromatography (HPLC) and infrared spectroscopy (IR). Spectra of samples were taken, both for the unmicronised and micronised raw felodipine corresponded to the specification of the substance and dint't presented impurities.

Analysis by optical microscopy sorting by the sifting of the pure felodipine was conducted for the two sorts of the raw felodipine: the crystalline form and micronised form. The unmicronised felodipine form had an average particle size of $3573.713 \pm 1412.234 \mu\text{m}$ and the micronised felodipine $30.362 \pm 17.556 \mu\text{m}$. These granulometric differences led to differences in the apparent density of the powder, characterized by the Carr and Hausman indexes, that influenced differently the powder flow.

Chapter II. The formulation of the extended release oral felodipine tablets

The felodipine is, along with other dihydropyridine substituted compounds, a substance with low solubility in water. Drug substances with low water solubility have formulation problems due to low dissolution rate in aqueous environments, and hence in the gastrointestinal environment. This feature results in a decreased absorption of therapeutically active substance having so a low bioavailability after oral administration. Moreover, the bioavailability of the felodipine is decreasing due to the hepatic first pass effect, with a bioavailability of 15%. It is bound up to 99% by plasma proteins and eliminated as metabolites, 70% urinary and the rest through the gastrointestinal path.

Given the fact that felodipine is a drug from the calcium channel class blockers, with cardiovascular therapeutic effects, mainly antihypertensive drugs, but also antianginal, it is necessary to develop a formula to ensure optimal bioavailability of the active substance. To prepare the composition of such a product in a solid pharmaceutical form for oral use, tablets case, we must ensure that the formula will provide a characteristic absorption profile of a extended release pharmaceutical form, to provide the therapeutic plasma concentrations over a lasting period of about 10-12 hours.

For the formulation was took into study a formula starting from the formula established at the preformulation stage, formula comprising the active substance, an antioxidant, diluents (microcrystalline cellulose and lactose), a lubrication agent (magnesium stearate), an flow agent (colloidal silica), filming agent with protective role (hydroxypropylmethylcellulose) and most importantly, the delivery control system, the hydrophilic cellulose matrix (hydroxypropyl-metilceluloză with different degrees of polymerization respectively, viscosity).

In the optimisation of the formula process were set as objectives to determine the opportunity to use microcrystalline felodipine, determining the influence of the excipients on the bioavailability of the extended release felodipine tablets, setting the structure of the hydrophilic matrix to obtain a profile of a extended release felodipine, the establishment of the technological parameters as the compression force, in relation to the felodipine bioavailability. The main control parameter of the characteristics of the felodipine release has been the the *in vitro* dissolution kinetics of the felodipine pharmaceutical experimental system compared with a reference product, the original product.

The influence of formulation factors on the availability of *in vitro* experimental tablets of the felodipine was focused primarily on the type and percentage of polymer matrix in the prolonged release tablets. Formula chosen for the extended release formulation is a hydroxy-propilmetilcellulose (HPMC) hydrophilic matrix type with different degrees of polymerization and different viscosity.

For the researched formula have been took into study four sorts of HPMC for developing a formula with extended release with similar dissolution profile with the reference and similar release in different dissolution environments namely sodium lauryl sulphate 1% referred in the United States Pharmacopoeia (USP) monograph, Bromide Cetyl trimethyl ammonium (CTAB, cetrimid) 0.4% provided by the manufacturer of the princeps extended-release felodipine formula, commercial name Plendil.

Were developed experimental formulations containing different proportions of HPMC matrix of different viscosity (viscosity of the aqueous solutions of concentration 2% measured at 20°C), viscosity HPMC E5 with 4-6 MPa; HPMC MP CR E 10 with 10 MPa viscosity, HPMC E 50, with viscosity 40 - 60 MPa and viscosity HPMC K100 with 100 MPa. Formulations were tested in the experimental film-coated extended-release tablets made in the laboratory stage, compared with a formulation of the reference product. Determinations were made at 2, 4, 6, 8, 10 and 12 hours. The dissolution apparatus type II USP was used (Hanson Research SR8 Plus) according to the dissolution Pharmacopoeial specifications (IX E. 2) - FR X PhEur, USP24, for tablets with prolonged release. Dissolution media were aqueous solutions with pH = 6.5 containing sodium lauryl sulfate (SLS) 1% or cetrimid (CTAB) 0.4%. Quantitative determination was performed in UV spectrophotometry with UV-VIS spectrophotometer type JASCO V-530.

It was found that by increasing the amount of HPMC K 100, the cellulose polymer that possesses the highest degree of viscosity, took place a decrease in the delivery of the felodipine in the investigated dissolution media. The felodipine transfer is significantly higher in the sodium lauryl sulfate dissolution media compared with cetrimide media. Experimental formulation with 30% HPMC K100 release profile is closest to the reference product and the dissolution profile similar in the two dissolution media, unlike the experimental formulations containing 15% and 20% HPMC K100.

The use of release matrixes of HPMC with low polymerization leads to more rapid transfer of the felodipine from tablets compared to the reference formulation. The degree of dissolution of the felodipine in the investigated media is in proportion with the type (viscosity) and the proportion of HPMC matrix.

Formulation studies revealed the proper proportions of the matrix forming polymer to ensure the delivery characteristics of the prolonged release forms. The optimal proportion of the matrix for the studied formula was around 35% hydrophilic polymer with high viscosity and 65% hydrophilic polymer matrix with mean viscosity of the total polymer in the hydro-gel forming polymer, which represented 40% of the formula weight. On the combination of two polymers HPMC in formulation, it was found that the presence of the polymer with higher degree of polymerisation namely viscosity in a greater proportion leads to a reduction of the felodipine release.

Study of the influence of the raw felodipine granulometry on the dissolution profile of felodipine experimental formulation was done using particles of 30 micrometers and 3.5 millimeters. The release rate of the felodipine from the tablets using 3.5 mm felodipine crystals is much slower than the tablets with 0.03 mm particles irrespective of the dissolution media, but with a higher delivery rate in the dissolution media of Sodium lauryl sulphate 1% in comparison with cetrimide 0.4%.

The determination of the influence of the compression force of the piston machine on tablet dissolution profile of the active substance in the formulation was performed on experimental mixtures of powders prepared for compressing, which were subjected to different compression pressure: 45 N and 90 N, then was tested the behavior of the *in vitro* release of the felodipine. Increased compression force leads to a decrease of delivery rate from the both investigated formulations but statistically insignificant. Tablets prepared by compression force 45 N had a porous appearance, friable, not bearing the coating stage of the later technological process. It is convenient to use the 80 - 90 N compression force of the compression machine.

The lactose monohydrate amount associated to the matrix polymer can influence the rate of delivery of the drug substance. An increased amount of lactose causes increased transfer of the felodipine from the, HPMC matrix tablets with release

differences in the two environments SLS 1% and CTAB 0.4%. The phenomenon is explained by higher content of pore former excipient dissolved in the polymer matrix and thus increase of the the surface contact between felodipine particles from the matrix, and the solvent. Increased levels of PVP in the formulation increase the *in vitro* release rate. This phenomenon is possible due to the increase of the hydrophilic degree and so the faster dissolution by the PVP against the main matrix former polymer.

Was studied also the *in vitro* release behaviour of the felodipine from different reference product series of Plendil. Was found that between the investigated four industrial series of the reference product, in some cases were differences in the dissolution profiles. Sometimes the similarity factor f_2 is less than 50 which indicate differences greater than 10% between the values. The dissolution of the felodipine in the four studied series was not similar for all the series, which requires the use of a single manufacturing series throughout the studies for *in vivo* and *in vitro* availability for the reference product.

Chapter III. Study of the in vitro release of felodipine from experimental extended release tablets

Felodipine is a drug substance in the class II of the Biopharmaceutical Classification System, BCS, strong lypofylic and practically water insoluble. Du to this fact the dissolution studies on pharmaceutical formulas that contain felodipine must be accomplished on modified dissolution medias in order to increase the solubility.

The objective of the present research was the comparison of the dissolution profile of a experimental formulation of extended release felodipine tablets with the original refference product in several dissolution environments.

Due to the fact that the felodipine molecule is strong lypophylic, being very hard water soluble, do not contains ionizing groups, its solubility is not influenced by the changing of the pH of the dissolution media, the addition of surfactants was considered a rational method of increasing the solubility to achieve dissolution studies *in vitro*. As a consequence, as dissolution media was used a phosphate tampon with 6.8 pH of sodium lauryl sulphate of different concentrations:

- sodium lauryl sulphate solution 1.00% in phosphate tampon 0.05M, pH 6.8
- sodium lauryl sulphate solution 0,75% in phosphate tampon 0.05M, pH 6.8
- sodium lauryl sulphate solution 0.50% in phosphate tampon 0.05M, pH 6.8
- sodium lauryl sulphate solution 0.25% in phosphate tampon 0.05M, pH 6.8

For the study of the comparrative behavior of the *in vitro* release, were used experimental tablets obtained as described in the previous chapter, of which has been chosen a variant with features of *in vitro* release measured in accordance with the official specifications. The experimental product was similar to the reference product regarding the regarding the release in the USP 24 monography, in media with sodium lauryl sulphate 1%. The tablets were obtained by direct compression of powder mixture using a Korsch EK 0 machine with eccentric ponson on lenticular diameter of 8 mm. The machine was adjusted to obtain tablets with the average mass of 210 mg, corresponding to a content of 10 mg / tablet and mechanical resistance of at least 6 - 8 kg force. These tablets are called forth as test or experimental forms.

The refference product used was the Plendil 10 mg extended release tablets.

The *in vitro* release study of felodipine was performed using a dissolution apparatus with basket, type PharmaTest PT-DT7. The medium dissolution volume was 500 ml, the dissolution media temperature was $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ and the agitation of the dissolution medium of 100 rpm. After 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, and 10 hours were prelevated 5 ml solution sample, filtered and the amount of dissolved felodipinã was determined by HPLC

dosing. Immediately after sampling the volume of solution taken was replaced by the same amount of dissolution medium heated to 37°C

The quantitative determination of felodipine: HPLC apparatus Agilent 1100 series; chromatography column Zorbax C8, 5 µm x 4.6 x 250, mobile phase: acetonitrile: aqueous solution 0.1% phosphoric acid (75:25), flow: 1.2 ml / min, UV detection 240nm, retention time 2.9 min. To assess similarity of dissolution profiles were used the f_1 and f_2 factor, recommended methods by the Romanian National Medicine Agency, EMEA and FDA. The kinetics of transfer of drug substance can be done using several models, zero order, first order, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell, Baker-Lonsdale and Higuchi. The calculation the f_1 difference factor and of the f_2 similarity factor was performed using a validated spreadsheet program Microsoft Excel spreadsheet (Microsoft, USA).

The evaluation of the release kinetics and the calculation of the statistical parameters to select the model that best characterizes the cession were made using the regression model of Sigma Plot 8.0 program.

On the comparison of the dissolution profiles using factors f_1 and f_2 in the studies carried out in media with closed concentrations of SLS (1.00% versus 0.75%) or (0.75% versus 0.50%) were found similar dissolution profiles that if were took into consideration the official regulations for the evaluation of dissolution profile similarity with factor f_2 (f_2 greater than 50). If we take into account the factor f_1 , only comparing the profile of 1.00% SLS at 0.75% of SLS was found that the dissolution profiles were similar.

In the case that the dissolution profiles of the medium with different concentrations of SLS were compared (1.00% versus 0.50%) (1.00% versus 0.25%) (0.75% versus 0.25%) or low concentrations of SLS (0.50% compared to 0.25%) the obtained dissolution profiles are not similar any more.

From the comparison of the dissolution profiles of the two products studied (the innovative and experimental formulation) in the four environments of dissolution is found that the dissolution profiles were similar whether we take into account the similarity factor f_2 . In all cases the similarity factor f_2 was higher than 50.

When we consider the f_1 difference factor, the dissolution profiles can not be considered similar, because the difference factor of is greater than 15. This means that the difference factor f_1 has a greater power of discrimination compared to f_2 .

On the visual analysis of the dissolution profiles is found that the biggest differences in all studied dissolution media are during the last 5 hours. Moreover, with decreased concentration of sodium lauryl sulfate are observed increasing differences between the dissolution profiles in recent times of sampling.

For this reason, it was considered useful to assess the similarity of dissolution profiles taking into account only the values obtained at the dissolution times in the time range of 5-10 hours.

Comparison of dissolution profiles of the two products studied (the innovative and the experimental formulation) taking into account only the last part of the dissolution profile (the sampling times from 5-10) finds that the products do not have similar dissolution profiles in any one of the environments in which the dissolution was studied. In all cases the similarity factor f_2 was less than 50 and the difference factor f_1 was greater than 15.

The similarity of the dissolution profiles in the early hours of dissolution and the lack of similarity in the last hour could be due to the granulometry different particles of raw felodipine. In the case of experimental felodipine formulation was used powder with an average granulometry of 3500 µm and the innovative product is probably made with micronized felodipine.

In the early hours of dissolution of both products the felodipine is dissolved from the particles with small granulometry, resulting in similar dissolution profiles. After 5 hours, in the case of experimental formulation, the small particles were completely dissolved and therefore took place further on the dissolution of large granulometry particles, resulting lower percentage dissolved drug substance and so unsimilar dissolution profiles compared with the innovative product.

The lower the concentration of sodium lauryl sulphate is the less is the difference between the percentages dissolved at the last hour is higher, which means that the use of a dissolution medium with a high concentration of sodium lauryl sulphate (eg 1%) may lead to the levelling the differences between the two formulations.

From the analysis of dissolution kinetics of the felodipine from the two products is found that in both product innovative and experimental, the dissolution rate occurs after a zero-order kinetics, but in the case of the experimental formulation the dissolution rate constant is only 82.98% of the dissolution rate constant of the innovative product, where the testing was done at the SLS 1.00% and 71.21 if the testing was done at the 0.25% SLS concentration of the dissolution media.

In conclusion, the choice of a biorelevant dissolution media must be discerning, because certain dissolution conditions can level the differences between product formulations, with the importance for the bioavailability. In the investigated cases, the experimental product has an *in vitro* release kinetics similar to the reference product in the dissolution media with sodium lauryl 1% stipulated by USP environment. However, lower concentrations of sodium lauryl in the dissolution media was find the decrease in dissolution rate of both products, but much more in the case of the experimental product. This is a risk of diminishing of the bioavailability.

Chapter IV. Single dose pharmacokinetics

In this chapter has been studied the felodipine pharmacokinetics after oral administration of a single dose of an reference formulation felodipine (Plendil 10 mg tablets with prolonged release) and an experimental formulations with felodipine, 10 mg, also with prolonged release, studied in the previous chapter.

In the pharmacokinetics study took part 24 healthy volunteers, aged 21-25 years. The clinical protocol and the analytical study was approved by the Ethics Committee of the University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca. Before the trial, each participant volunteer received information on the drug to be administered (dose, therapeutic effects, side effects), the administration schedule and blood sampling. Acceptance of volunteers in the study was done by the investigator physician after they have signed an agreement to participate and after consideration of their health. Following the medical examination, all volunteers participating in pharmacokinetics studies have been declared healthy.

The study was conducted in two periods, crossed. According to the randomization scheme in each period to the 24 participants in the study have been given alternative, orally, a dose of 10 mg felodipine of the two formulations: Plendil, commercial form (producer Astra) - pharmaceutical treatment noted in further on R and the prolonged release experimental form containing felodipine (pharmaceutical treatment and noted T). The wash out period was of two weeks. The felodipine determination in the human plasma was used the high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with mass spectrometry (MS).

For the noncompartmental pharmacokinetic analysis, was used the Kinetica 4.2 computer program. Were calculated the following pharmacokinetic parameters: maximum concentration (C_{max}), maximum concentration time (T_{max}), total area under the curve

(AUC_{tot}) and the extrapolated area under the curve ($ASC_{extra\%}$), area under the moment of the curve ($AUMC_{tot}$), constant elimination rate (k_{el}), the half-life ($t_{1/2}$), the average residence time (MRT), the clearance (Cl), the volume of distribution in steady state (V_{dss}).

The pharmacokinetic parameters C_{max} , T_{max} are indicators of the speed of absorption. Comparing the differences observed between these two parameters for the two pharmaceutical products tested, we can conclude that the absorption rate is considerably lower for the experimental product when compared with the experimental Plendil (C_{max} decreases and T_{max} increases). However, the size of absorption (reflected by the AUC_{tot}) is comparable between the two products, being only slightly higher for the pharmaceutical product Plendil.

For the pharmacokinetic parameters C_{max} , $AUC_{(0-48)}$ and AUC_{tot} was conducted the bioequivalence test by calculating the confidence interval 90% of the fraction of logarithm average values (ANOVA). In accordance with domestic and international specifications the the tested formulations were considered bioequivalent if the confidence interval is calculated between values [0.8-1.25]. For the T_{max} parameter was calculated the unlogarithmated differences between the average values of the test and reference and the Friedman test was applied for detection of significant differences.

The results of the statistical tests applied demonstrate the unequivalence of the experimental tested product compared to reference. This is due to low bioavailability of felodipine from the tested experimental formulation, the main factor responsible for this effects is the reduced speed of the felodipine release from the experimental formulation.

Using the plasma serum obtained from felodipine pharmacokinetics experiment described in the previous chapter, was done the compartmental pharmacokinetic analysis. For the compartmental pharmacokinetic analysis was used the computer program WinNonlin (Pharsight).

For a compartmental pharmacokinetic analysis is always recommended to use several pharmacokinetic models, selection of data and then the data analyse with the model. The selection of the model that best describes the pharmacokinetics of the substance is performed using a series of statistical tests which expresses quantitatively the fitting accuracy. Among them are used the Akaike indices (lower value for better fitting).

There have been proposed for analysis six mono-compartment pharmacokinetic models for felodipine, differences between them consisting of the kinetic process of absorption, mono- or bi-compartmental distribution respectively the existence or not of a latency time to the start of absorption. Analyzing the obtained values, it can be said that the model which best describes the pharmacokinetics of felodipine for the reference preparation Plendil is the M06 model, which assumes the existence of a latency time before the start of absorption, a zero order kinetic for absorption, and also a bi-compartmental distribution of the felodipine.

The presented data show that the largest quantity of felodipine is transferred from extended-release tablets and absorbed within 4.5 hours, with a constant zero-order process with a kinetic constant value of about 2.22 mg per felodipine *per* hour (assuming that the absolute bioavailability is equal to unity). The absorption of the felodipine started at approximately 0.3 hours after administration (20 minutes). The felodipine is distributed in the body into two compartments, having a greater affinity for the peripheral compartment than for the central (from the values of the two distribution constant).

In the case of the evaluation of the pharmacokinetics of the experimental felodipine, was imposed the construction of new models in pharmacokinetic process of absorption to be shaped so as to allow the fitting of the plasmatic profiles of the felodipine.

From the data obtained was revealed that the release/absorption of the felodipine from the experimental tablets is biphasic, after two consecutive processes of first order. The first process (noted A) begins practically immediately after administration (parameter latency $T_{lat} = 0,001$ hours), has a constant speed $K_a = 0,523 \text{ h}^{-1}$ and is responsible for the release of a fraction of 26% felodipine from the tablet. The second process of release, also of first order, begins later ($T_{lat} = 8.17$ hours), has a release speed constant of about 10 times lower than the A process, but as the magnitude is main because it is responsible for issuance of a percentage of approximately $100\% - 26\% = 74\%$ of the substance from the tablet.

Starting from the average plasma felodipine levels for the two pharmaceutical formulations (Plendil formulation and experimental Test formulation), and knowing in each case the fitted pharmacokinetic model, it is possible to calculate the profile of *in vivo* felodipine release. Subsequently, the *in vivo* profile transfer can be correlated with the *in vitro* release profile in an attempt to study whether the release of the active substance has a similar size and speed in both cases or if the *in vitro* dissolution test can be considered representative for the *in vivo* bioavailability test.

As was shown above that the two felodipine formulations have different absorption kinetics, the calculations for finding the *in vivo* release profile were performed separately for each part.

The deconvolution of the plasma profile of the felodipine, the reference form Plendil, was basically done based on the fact that the model used assumes the existence of three differential equations - one for existing felodipine in the digestive tract (taking into account the previous approach, actually refers to the felodipine from the pharmaceutical form), a second differential equation corresponding to the central compartment and the last, the peripheral compartment. After a short latency time (0.28 hours), the release process has a constant speed and is completed in approximately 3.8 hours (total duration 3.5 hours). The release profile of the felodipine tablets is done subtracting from the initial dose (10 mg) the amount remaining in the tablet at each sampling time.

In order to establish *vitro-vivo* correlations (IVIVC) was determined for each release curve the mathematical equation that describes the variation of the percentage of the substance released depending on time parameter. To correlate the released felodipine percentages from the *in vivo* experiment with the *in vitro* one, it is necessary to extrapolate the corresponding values of an experiment to another. Were extrapolated the *in vivo* release values to the corresponding release times *in vitro* (ie up to 10 hours). Pairs of values obtained for the same time values (*vivo* - extrapolated values respectively *vitro* - true values), were correlated on the Cartesian graph. The correlation between the *in vitro* and *in vivo* was done successfully for all *in vitro* experiments performed (at all surfactant concentrations used).

Thus, we can say that *in vivo* felodipine release is approximately 3 times more easier than *in vitro* when the SLS is the concentration of 1% (as $1/0.3318 = 3.01$).

If the surfactant level decreases, the *in vivo* release of felodipine rate reported to *vitro* felodipine release rate increase, reaching up to about 6 when the concentration of 0.25% SLS ($1/0.1638 = 6.01$).

That although there is a *vitro-vivo* correlation, the considerably more rapidly *in vivo* felodipine release can be explained on the basis of local physiologic digestive system particularities but also by the existence of some physico-chemically conditions, more complex than those simulated in a *in vitro* experiment.

The deconvolution of the plasma profile of the felodipine, experimental formulation, started from the fact that the release kinetic of the felodipine from this experimental formulation is more complex, being composed of two basic consecutive first

order processes. Calculations were performed in a similar manner to that from the analysis and deconvolution of the plasma profile of the reference formulation Plendil.

The achieved A level *vitro-vivo* correlation of the experimental formulation is considerably lower than in the previous case, for Plendil. This is due to different more complex release kinetics of the active substance in the experimental form, difficult to correlate with a linear zero order kinetics. However, there is a slight tendency of *vitro-vivo* correlation, especially at timelines of up to 4-5 hours.

All these findings show once again what is known about pharmaceutical preparations with extended release, namely that the preparation and composition can significantly influence the speed or mechanism of the release of the active substance, which can ultimately lead to large differences in therapeutic efficacy of the product .

Chapter V. Repeated dose pharmacokinetics

The study was conducted in two periods, crossed. In each period the 24 participants in the study have been alternatively administered for 5 days, orally, a daily dose of 10 mg felodipine of the two formulations: Plendil, commercial forms (producer Astra) - pharmaceutical form noted further with R and experimental forms with prolonged release containing felodipine (experimental pharmaceutical formulation treatment T). In total there have been a number of five administration every 24 hours. During the washout period was of two weeks. Were taken blood samples (5 ml, venous puncture) at intervals of 1, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 and 48 hours after administration of the dose. After centrifuging the blood samples, plasma was separated and stored at -20°C until analysis.

Investigating the drug plasma concentrations are observed the same pronounced differences between the plasma profiles of felodipine from the reference product and the experimental formulation, as in the single dose study. However, in the maximum concentration area, from the 4 -5 hours timelines the difference decreases compared to those observed in the single dose study. Peak plasma concentration, average concentration, area under the curve at the steady state and the fluctuation of the concentration has lower values in the experimental formulation case. Although a lower value of fluctuation (peak/through fraction) is generally beneficial (decrease of the adverse effects of variations due to high concentrations), however the parameters C_{max} , average concentration and area under the curve are defining for the speed and size of drug substance absorption and their values considerably lower for the experimental compared to the reference can not be ignored.

Results of statistical tests applied indicate the bio-inequivalence of the experimental formulation compared to the reference, fact also observed after the administration of a single dose. However, due to the phenomenon of accumulation and overlap of doses, which is more pronounced in the experimental preparation because of late release of the active substance, the 90% confidence for the most analysed parameters is narrower, at higher values compared to the case of single dose. Not all the calculated ranges are within the limits 0.8 - 1.25, which shows bio-inequivalence of the two analysed products.

A bioequivalence test for felodipine was conducted, between the reference - Plendil and experimental formulation. Calculations show that both size and rate of absorption are different and so the two pharmaceutical products are not bioequivalent fact confirmed by the same test applied to the pharmacokinetic data corresponding to the administration of single dose of the substance.

In the General Conclusions Chapter are rendered research findings for each chapter listed separately. It is specified the influence of formulation factors on the transfer

kinetics *in vitro*, allowing the choice of the excipients and technological parameters that give the characteristics of a product with extended release.

Using the official USP *in vitro* release test in the presence of 1% sodium lauryl sulphate may mask the differences between formulations, by the effect of micellar solubilization of the tensioactive substance. This was confirmed by the pharmacokinetic studies that have demonstrated a lower bioavailability of the experimental formulation compared to the reference formula both after the single dose and repeated doses.

The research carried out shows the need and the importance of a thorough investigation of the *in vitro* bioavailability in multiple testing conditions, of the pharmacokinetic analysis and eventually clinical pilot study analysis (*in vivo*) for drugs with extended release from the formulation stage.

The book ends with 248 references cited in the text. The thesis is written on 219 pages. The iconography is represented by 95 tables and 127 figures. From the experimental were two papers published *in extenso* in „The Pharmacy” and „Clujul Medical” pharmaceutical scientific publications.

CURRICULUM VITAE

Personal details

Name: POP ANCA LUCIA

Date, place of birth: 08.10.1971, Baia Mare, Maramures

Home address: Banu Antonache St. No. 52/60, Ap. 1 Bucharest, Sector 1, Romania

Parents Name : Elena și Coriolan

Civil status: married

Contact data: Phone 0745 009910, e-mail: ancapop@hotmail.com

Curent position:

- profesor assistant, University of Medicine and Pharmacy “Carol Davila”

Education

October 2004 – present - PhD student, University of Medicine and Pharmacy “Iuliu Hatieganu”, Faculty of Pharmacy, Biopharmacy and Pharmacokinetics Department, Cluj Napoca since

October 2000 – September 2004 - University of Medicine and Pharmacy “Iuliu Hațieganu”, Faculty of Pharmacy, Cluj Napoca, Romania

October 1990 – September 1996 - University of Medicine and Pharmacy “Carol Davila”, Faculty of Medicine, Bucharest, Romania

September 1985 – 1989 - National College of Mathematics and Physics “Gh. Șincai”, Baia Mare, Romania

Specialisations and competencies

Pharmacovigilance training “Eudravigilance”, EMEA, Viena, Ianuarie 2007

Pharmacokinetic biostatistic training „Kinetica”, Cluj Napoca, Romania, April 2004

Master in science Clinical Pharmacology, Pharmacology department, Faculty of Medicine, UMF „Iuliu Hatieganu”, Cluj Napoca 2002 – 2003

Communication and Public Relations postgraduate studies, SNSPA, 2002-2003

Family Practice Residency – UMF “Carol Davila” „St. Pantelimon” Hospital, Bucharest April 1997 – May 2000;

Human resouce management - short training, Phare Project Bucharest, April 2000

Medical praxis management; medical ethics, Bucharest College of Physicians, Bucharest, Romania, May 1999

Sonografy training, „Cantacuzino” Hospital, Bucharest, Romania, Ian. 1999 – 2000

Principles of Lasertherapy Training, „Romanian Pro Laser” Foundation, Bucharest, Romania April 1998

Advanced Life Support Training, „Floreasca” Clinical Emergency Hospital, Bucharest, July 1997

HIV Counseling Training, Romanian Anti AIDS Asociation, Bucharest July 1990

Scientific work:

Internationally published scientific papers

Denisa Mihele, Florea Cocu, Simona Firulescu, **Anca Pop**, Dana Mihele, The Action of New O-Acylated Derivatives of some Prostaglandins on the Experimental Ulcers and on the Gastric Acidity on Rats, 13th Panhellenic Pharmaceutical Congress, 14-16 Mai 2007, Atena, Grecia

Denisa Mihele, Daniela Raiciu, Șt. Manea, **Anca Pop**, Research Regarding the Anti-Inflammatory Action of some Gemoderivatives, 13th Panhellenic Pharmaceutical Congress, 14-16 Mai 2007, Atena, Grecia, vol 32, 54

Mihele D., Cocu F., Firulescu S., **Pop A.**, Mihele D. M., The action of new O-acylated derivatives of some prostaglandins of experimental ulcers and on the gastric acidity on rats, European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 13th Pan-Hellenic Pharmaceutical congress, 12-14 Mai 2007, vol 32, 54

Mihele D., Morosan E., **Pop A.**, The determination of the antioxidant activity of a new food supplement, VIIIth National Congress of Nutrition, Varna, 2007, pg. 321-322

Mihele D., **Pop A.**, Food as protective factor in prevention and therapy of diseases, VIIIth National Congress of Nutrition, Varna, 2007, pg. 318 – 320, ISBN 978-954-9336-40-5

Elena Morosan, Denisa Mihele, **Anca Lucia Pop** Research of the Antioxidant Action of a New Product of Vegetal Origin, Proceedings of the 6th International Conference of PhD Students, Unversity Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007

Daniela Raiciu, Denisa Mihele, Stefan Manea, Elena Morosan, **Anca Lucia Pop** Research Regarding the Influence of Some Gemoderivatives on Diuresis at Rats, Proceedings of the 6th International Conference of PhD Students, Unversity Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007

Anca Lucia Pop, Mihele Denisa, Research Regarding the Decrease of the Toxicity of Doxorubicine in the Presence of Verapamil and Ketotifen on the Animal Cell, Proceedings of the 6th International Conference of PhD Students, Unversity Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007

Denisa Mihele, Daniela Raiciu, St. Manea, **Anca Pop**, Investigations Regarding the Cicatrizing Action of the Gels with Tamarix Gallica compared with Hippophae Rhamnoides, Proceedings of the 3rd International Seabuckthorn Association Conference, Quebec, province Quebec, Canada, 12-15 August 2007

Denisa Mihele, St. Manea, **Anca Pop**, Daniela Raiciu, Research Regarding the Gemoderivatives of Tamarix Gallica on the gastric secretory activity and motility on rats, Proceedings of the 3rd International Seabuckthorn Association Conference, Quebec, province Quebec, Canada, 12-15 August 2007

Raiciu A. D., Giurginca M., Mihele D., **Pop A.**, Determining the antioxidant activity of certain gemoderivates, Planta med, Vol. 74, 995 – 1228, 2008

Raiciu A. D., Manea S., Vatafu M., Mihele D., **Pop A.**, Gemoderivates with protective and regenerative action for hair, Planta med, Vol. 74, 995 – 1228, 2008

Mihele D., **Pop A.**, Darmanescu D., Cocu F., Comparative studies regarding the influence of the esters and the ethamol amides of the fatty acids from the extra virgin *Oleum Olivae* on the experimental ulcers and on the gastric activity on rat., Planta med, ISSN 0032-0943, Vol. 74, 995 – 1228, 2008

Locally published scientific papers

Denisa Mihele, Șt. Manea, Elena Moroșan, Daniela Raiciu, **Anca Pop**, The Influence Of Some Gemoderivatives on Biochemical Parameters, Archives of the Balkan Medical Union nr.4, 2006

Denisa Mihele, Daniela Raiciu, Constantina Ioniță, Șt. Manea, **Anca Pop**, The determination of antimicrobial and antifungal actions of certain gemmoderivatives, Revista Farmacia Nr. 1 Ianuarie Februarie 2007

Denisa Mihele, Daniela Raiciu, Constantina Ioniță, Șt. Manea, **Anca Pop**, The determination of antimicrobial and antifungal actions of certain gemmoderivatives Revista Farmacia Nr. 1 ISSN 0014-8237, Ianuarie Februarie 2007

Mihele Denisa, Cerasela Elena Gird, **Anca Pop**, Mion Abdalah Al Borsh, Study regarding The antimicrobial and antifungic activity of the volatile Oils from the Citrus species,

- Archives of Balkan Medical Union vol. 43, nr. 1, p 11-14, , ISSN 0041-6940, Celsius Publishing House, March 2008
- Darmanescu Diana, Mihele Denisa, Moroşan Elena, **Anca Pop**, F. Cocu, Researches of the action of the methilic esters of the fatty acids from the Extra-virgin olive oil on the biochemical parameters on rat”, Farmacia, 2, ISSN 0014-8237 pg. 174-181, March April 2008,
- Denisa Mihele, Dărmănescu Diana, F. Cocu, **Anca Pop** , Dana Mihele, Research regarding the anti-inflammatory action of the ethanol amides of the fatty acids from the extra-virgin *Oleum olivae* by experimental acute inflammation methods on rats, Romanian Biotechnological Letters, Vol. 13, No. 6, supplement, pp. 56 -61, 2008
- Denisa Mihele, Dărmănescu Diana, **Anca Pop**, F. Cocu, Research regarding the cicatrizing action of the ethanol amides of the fatty acids from the extra-virgin *Oleum Olivae*, Timisoara Medical Journal, Timisoara, 2008
- Anca Pop**, Laurian Vlase, Sorin E. Leucuţa, Pharmacokinetic study of felodipine after single oral dose of slow release formulations in healthy volunteers, Farmacia, 2008, vol.LVI, 5, 474 - 482
- Denisa Mihele, Dărmănescu Diana, F. Cocu **Anca Pop**, Dana Mihele, Research regarding the antiinflammatory action of the ethanol amides of the fatty acids from the extra-virgin *Oleum olivae* by experimental acute inflammation methods on rats, Archives of Balkan Medical Union vol. 43, nr. 1, p 11-14, , ISSN 0041-6940, Celsius Publishing House, 2008
- Anca Pop**, I. Tomuţă, R. Iovanov, S.E. Leucuţa, Evaluarea cedarii „*in vitro*” a felodipinei din produsul inovator si o formulare experimentală în diferite medii de dizolvare, Clujul Medical Ian. 2009

Internationally communicated scientific papers

- Mihele D., Cocu F., Firulescu S., **Pop A.**, Mihele D. M., The action of new O-acylated derivatives of some prostaglandins of experimental ulcers and on the gastric acidity on rats, European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 13th Pan-Hellenic Pharmaceutical congress, Greece,12-14 Mai 2007, vol 32, 54 ISSN 0378 – 7966
- Mihele D., Raiciu D., Manea St., **Pop A.**, Research regarding the antiinflammatory action of some gemoderivatives European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 13th Pan-Hellenic Pharmaceutical congress, Greece,12-14 Mai 2007, vol 32, 55 ISSN 0378 – 7966
- Mihele D., Morosan E., **Pop A.**, The determination of the antioxidant activity of a new food supplement, VIIIth National Congress of Nutrition, Varna, Bulgaria 2007, 158
- Mihele D., **Pop A.**, Food as protective factor in prevention and therapy of diseases, VIIIth National Congress of Nutrition, Varna, Bulgaria 2007, 157
- Denisa Mihele, Daniela Raiciu, St. Manea, **Anca Pop**, Investigations Regarding the Cicatrizing Action of the Gels with Tamarix Gallica compared with Hippophae Rhamnoides, 3rd International Seabuckthorn Association Conference, Quebec, province Quebec, Canada, 12-15 August 2007
- Denisa Mihele, St. Manea, **Anca Pop**, Daniela Raiciu, Research Regarding the Gemoderivatives of Tamarix Gallica on the gastric secretory activity and motility on rats, 3rd International Seabuckthorn Association Conference, Quebec, province Quebec, Canada, 12-15 August 2007
- Elena Morosan, Denisa Mihele, **Anca Lucia Pop** Research of the Antioxidant Action of a New Product of Vegetal Origin, 6th International Conference of PhD Students, Unversity Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007
- Daniela Raiciu, Denisa Mihele, Stefan Manea, Elena Morosan, **Anca Lucia Pop** Romania, Research Regarding the Influence of Some Gemoderivatives on Diuresis at Rats, 6th

International Conference of PhD Students, University Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007

Anca Lucia Pop, Mihele Denisa Research Regarding the Decrease of the Toxicity of Doxorubicine in the Presence of Verapamil and Ketotifen on the Animal Cell, 6th International Conference of PhD Students, University Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007

Simona Firulescu, Denisa Mihele, Elena Morosan, **Anca Pop**, Florea Cocu, The influence of New O-acilated Derivatives of Some Prostaglandins on the Biochemical Parameters on Rats, 6th International Conference of PhD Students, University Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007, ISBN 978-963-661--783-6, 69-75

Raiciu A. D., Giurginca M., Mihele D., **Pop A.**, Determining the antioxidant activity of certain gemoderivates, 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE&SIF, , Athens, Greece, August 3-8, 2008

Raiciu A. D., Manea S., Vatafu M.,, Mihele D., **Pop A.**, Gemoderivates with protective and regenerative action for hair, 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE&SIF, , Athens, Greece, August 3-8, 2008

Mihele D., **Pop A.**, Darmanescu D., Cocu F., Comparative studies regarding the influence of the esters and the ethanol amides of the fatty acids from the extra virgin Oleum Olivae on the experimental ulcers and on the gastric activity on rat., 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE&SIF, , Athens, Greece, August 3-8, 2008

Locally Communicated scientific work

Denisa Mihele, **Anca Lucia Pop**, Elena Moroşan, Ruaa Aziz Jassim Researches regarding the action of the Vitis vinifera extracts on the diuresis on rat, 1st international Conference Environment–Natural sciences–Food Industry in European context ENSFI 2007 Baia Mare, November 23-24, ISBN 978-973-1729-39-8

Denisa Mihele, **Anca Lucia Pop**, Dana Mihele Researches regarding the hipolipemiant action of a new food supplement on rat, 1st international Conference Environment–Natural sciences–Food Industry in European context ENSFI 2007 Baia Mare, November 23-24, ISBN 978-973-1729-39-8

Denisa Mihele, Daniela Raiciu , St. Manea, Constantina Ionita, **Anca Pop** ”Determinarea actiunii antimicrobiene a unor gemoderivate”, al 6-lea Congres National de Medicină de Laborator cu participare internationala, al 2-lea Simpozion de Imunopatologie si Al 2-lea Congres National al Asistentilor Medicali de Laborator, 11- 13 octombrie 2007, Sibiu

Anca Pop, Denisa Mihele, Adina Savu “Determinarea toxicităţii acute şi cronice a doxorubicinei în prezenţa verapamilului pe celula animala si vegetala”, al 6-lea Congres National de Medicină de Laborator cu participare internationala, Al 2-lea Simpozion de Imunopatologie si Al 2-lea Congres National al Asistentilor Medicali de Laborator,11- 13 octombrie 2007, Sibiu

Dan Tulbure, Florin Costandache, Elena Copaciu, Ovidiu Peneş, **Anca Pop**, Protocolul de Resuscitarea Cardiorespiratorie Cerebrală 2006 editia a II-a – Programul National de Prim Ajutor Medical Specializat, Romania.

Anca Pop, Factorii de risc cardiovascular si tratamentul cu statine, Conferinţele medicale Maramedica, Aprilie 2005, Baia Mare

Anca Pop, Sorin Leucuta, Laurian Vlase, Biodisponibilitatea *in vitro* a unor formulări standard de comprimate orale verapamil, Congress de Pharmacy, 2004

A. Andercou, Claudia Gherman, **Anca Pop**, O. Andercou, Evaluation of the efficiency of Ticlodin therapy in the patients with chronic obstructive arterial disease of the lower limbs; International Congress of Vascular Surgery, Cluj Napoca, 2003

Călin Pop, Cătălin Iacob, **Anca Pop**, Călin Man, Sauciu Vladimir,Tratamentul hipertensiunii arteriale uşoare şi moderate prin atenolol – clinical efficacy study – County Hospital Baia Mare – 2001

Dan Tulbure, Florin Costandache, Elena Copaciu, Ovidiu Peneş, **Anca Pop**, Protocolul de Resuscitarea Cardiorespiratorie Cerebrală 1 – National Specialised First Aid program, Romania.1998

Anca Pop quality assurance in the pharmaceutical manufacturing units, Good Manufacturing Practice Standards – National Students Pharmacysts Congress, Cluj Napoca, 2003

Voiculescu V., **Pop A.** et al., Clinical efficacy of the beta blockers on ascitic patients, “Fundeni” Clinical Hospital, Internal Medicine University Clinic, Bucharest 1998

Anca Pop, Anca Popescu, Constantin Popa, Cerebral oedema in Cerebrovascular Diseases. Clinical - CT correlations. Graduation Thesis, Institute of Cerebrovascular Diseases, University of Medicine and Pharmacy “Carol Davila”, Bucharest, Romania, 1996.

Patents

Elena Morosan, Denisa Mihele, **Anca Pop** – Patent request no. A/00981 –14.12.2007, „Food supplement with antioxidant properties from forest fruits”

Pop Anca Lucia, Mihele Dana, Patent nr. 3/307 din 28.11.2008, „Food Supplement with Hipolipemic and Cardioprotective Action”.

Pop Elena, Denisa Mihele, **Pop Anca Lucia**, - Patent request no. A/200800822–22.10.2008 –14.12.2007 „Food supplement with antihelminthic properties”

Participation in conferences

International Student Congress, Andorra la Villa, Andorra, Dec 1990

Symposia – Dezvoltarea Sistemului Medical Privat in Romania, World Trade Plaza, Bucharest, Romania Nov. 1998

International Medicale Lasere Congress, Palatul Parlamentului, Bucharest, Sep 1998

National General Medicine Congress / Medicine de Familie Oct. 2000

National Cardiologie pentru Medicine de Familie Congress, Bucharest Oct. 2002

National Pharmacy Congress, Palatul Patriarhiei, Bucharest Oct. 2003

National Pharmacy Congress, Cluj Napoca 2006

Congress National Medicine de Laborator, Brasov, Nov. 2006

National Laboratory Medicine Congress, Sibiu, Oct. 2007

13th Pan-Hellenic Pharmaceutical Congress, 12-14 Mai 2007, vol 32, 99. 0378 – 7966

3rd International Seabuckthorn Association Conference, Quebec, province Quebec, Canada, 12-15 August 2007

6th International Conference of PhD Students, University Miskolc, Hungary, 12-18 August, 2007

1st international Conference Environment–Natural sciences–Food Industry in European context ENSFI Baia Mare, November 23-24, 2007

VIIIth National Congress Of Nutrition With International Participation May 17 – 19, 2007, Varna, Bulgaria

National Pharmacy Symposia, 24-26 September, Timisoara, 2008

Biotechnology Symposia, University of Biotechnology “Dun[rea de Jos” Galați, 2008

Natural Products With Pharmaceutical, Nutraceutical, Cosmetic And Agrochemical Interest.

7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE and SIF, August 3 - 8, Athens, Greece

Hobbies

Traveling, computer, history, sport, music, theatre

Foreign languages:

*	read	spoken	written
English	5	4	4
French	3	2	2
German	2	2	1

Italian 3 3 1

Member of professional associations:

Romanian College of Pharmacists
Romanian College of Physicians
Romanian Laboratory Association
Balkan Medical Union
National Association of Women Doctor, Bucharest, Romania
National Ultrasound Society, Romania
Anti AIDS Romanian Association, ONG, Romania
National Specialized First Aid Program, Romania
„Romanian Pro Laser” Foundation, Bucharest, Romania

10. Other skills:

Computer skills (Word, Excel, Corel, PowerPoint, Netscape, Access, etc.)
Clean driving licence from 1955
Professional communication skills

Date: 10. 06. 2009