
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Interacțiuni farmacocinetice ale nebivololului, respectiv zolpidemului, cu bupropiona și fluvoxamina

Doctorand: **Ana-Maria Gheldiu**

Conducător științific: **Prof.Dr. Ioan Tomuță**

CLUJ-NAPOCA 2017



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	17
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Interacțiuni farmacocinetice la nivel metabolic - aspecte generale	21
1.1. Interacțiuni medicamentoase datorate inhibiției enzimatic	22
1.2. Interacțiuni medicamentoase datorate inducției enzimatic	23
1.3. Metode de predicție ale interacțiunilor medicamentoase	25
2. Interacțiuni medicamentoase la nivel metabolic – focus pe substrat și inhibitori/inductori ai CYP2D6 și CYP3A4	27
2.1. Nebivolol ca substrat CYP2D6	27
2.1.1. Profil farmacologic, utilizare terapeutică și efecte secundare	27
2.1.2. Profil farmacocinetic	28
2.1.3. Interacțiuni farmacocinetice raportate	29
2.2. Zolpidem ca substrat CYP3A4	30
2.2.1. Profil farmacologic, utilizare terapeutică și efecte secundare	30
2.2.2. Profil farmacocinetic	30
2.2.3. Interacțiuni farmacocinetice raportate	31
2.3. Fluvoxamina ca inhibitor CYP2D6 și CYP3A4	32
2.3.1. Profil farmacologic, utilizare terapeutică și efecte secundare	32
2.3.2. Profil farmacocinetic	33
2.3.3. Interacțiuni farmacocinetice raportate	33
2.4. Bupropiona ca inhibitor CYP2D6 și inductor CYP3A4	34
2.4.1. Profil farmacologic, utilizare terapeutică și efecte secundare	34
2.4.2. Profil farmacocinetic	35
2.4.3. Interacțiuni farmacocinetice raportate	35
3. Metodologia de analiză farmacocinetică	37
3.1. Analiza farmacocinetică non-compartimentală	37
3.2. Analiza farmacocinetică compartimentală	40
CONTRIBUȚII PERSONALE	
1. Context / Obiective	45
2. Metodologie generală	47
3. Studiul 1 – Farmacocinetica nebivololului și a metabolitului său în urma administrării orale a unei doze unice de 5 mg nebivolol	55
3.1. Introducere	55
3.2. Obiective	55
3.3. Materiale și Metode	55
3.3.1. Subiecți	55
3.3.2. Design-ul studiului	56
3.3.3. Metoda bioanalitică	56
3.3.4. Analiza farmacocinetică compartimentală	56
3.4. Rezultate	63
3.5. Discuții	64
3.6. Concluzii	65
4. Studiul 2 – Evaluarea interacțiunii farmacocinetice dintre nebivolol și fluvoxamină la voluntari sănătoși	67
4.1. Introducere	67

4.2. Obiective	67
4.3. Materiale și Metode	68
4.3.1. Subiecți	68
4.3.2. Design-ul studiului	68
4.3.3. Metoda bioanalitică	68
4.3.4. Analiza fenotipului	68
4.3.5. Analiza farmacocinetică	69
4.3.6. Analiza farmacodinamică	69
4.3.7. Analiza bioechivalenței	69
4.3.8. Analiza statistică	69
4.4. Rezultate	70
4.4.1. Rezultate bioanalitice	70
4.4.2. Analiza fenotipului	71
4.4.3. Analiza farmacocinetică	71
4.4.4. Analiza farmacodinamică	73
4.4.5. Analiza bioechivalenței	76
4.4.6. Analiza statistică	76
4.5. Discuții	79
4.5.1. Analiza farmacocinetică	79
4.5.2. Analiza farmacodinamică	80
4.5.3. Analiza bioechivalenței	83
4.5.4. Analiza statistică	83
4.6. Concluzii	84
5. Studiul 3 – Evaluarea interacțiunii farmacocinetice dintre nebivolol și bupropionă la voluntari sănătoși	85
5.1. Introducere	85
5.2. Obiective	85
5.3. Materiale și Metode	86
5.3.1. Subiecți	86
5.3.2. Design-ul studiului	86
5.3.3. Metoda bioanalitică	86
5.3.4. Analiza fenotipului	86
5.3.5. Analiza farmacocinetică	87
5.3.6. Analiza farmacodinamică	87
5.3.7. Analiza bioechivalenței	87
5.3.8. Analiza statistică	87
5.4. Rezultate	87
5.4.1. Rezultate bioanalitice	87
5.4.2. Analiza fenotipului	89
5.4.3. Analiza farmacocinetică	89
5.4.4. Analiza farmacodinamică	91
5.4.5. Analiza bioechivalenței	94
5.4.6. Analiza statistică	94
5.5. Discuții	97
5.5.1. Analiza farmacocinetică	97
5.5.2. Analiza farmacodinamică	98
5.5.3. Analiza bioechivalenței	99
5.5.4. Analiza statistică	99
5.6. Concluzii	100
6. Studiul 4 – Farmacocinetica zolpidemului și a metabolitului său în urma	101

administrării orale a unei doze unice de 5 mg zolpidem

6.1. Introducere	101
6.2. Obiective	101
6.3. Materiale și Metode	102
6.3.1. Subiecți	102
6.3.2. Design-ul studiului	102
6.3.3. Metoda bioanalitică	102
6.3.4. Analiza farmacocinetică compartimentală	102
6.4. Rezultate	104
6.5. Discuții	105
6.6. Concluzii	106
7. Studiul 5 – Evaluarea interacțiunii farmacocinetice dintre zolpidem și fluvoxamină la voluntari sănătoși	107
7.1. Introducere	107
7.2. Obiective	107
7.3. Materiale și Metode	108
7.3.1. Subiecți	108
7.3.2. Design-ul studiului	108
7.3.3. Metoda bioanalitică	108
7.3.4. Analiza farmacocinetică	109
7.3.5. Analiza bioechivalenței	109
7.3.6. Analiza statistică	109
7.3.7. Evaluarea siguranței	109
7.4. Rezultate	109
7.4.1. Rezultate bioanalitice	109
7.4.2. Analiza farmacocinetică	112
7.4.3. Analiza bioechivalenței	113
7.4.4. Analiza statistică	113
7.4.5. Evaluarea siguranței	115
7.5. Discuții	116
7.5.1. Analiza farmacocinetică	116
7.5.2. Analiza bioechivalenței	118
7.5.3. Analiza statistică	118
7.5.4. Evaluarea siguranței	119
7.6. Concluzii	119
8. Studiul 6 – Evaluarea interacțiunii farmacocinetice dintre zolpidem și bupropionă la voluntari sănătoși	121
8.1. Introducere	121
8.2. Obiective	122
8.3. Materiale și Metode	122
8.3.1. Subiecți	122
8.3.2. Design-ul studiului	122
8.3.3. Metoda bioanalitică	123
8.3.4. Analiza farmacocinetică	123
8.3.5. Analiza bioechivalenței	123
8.3.6. Analiza statistică	123
8.3.7. Evaluarea siguranței	123
8.4. Rezultate	124
8.4.1. Rezultate bioanalitice	124
8.4.2. Analiza farmacocinetică	126

8.4.3. Analiza bioechivalenței	127
8.4.4. Analiza statistică	128
8.4.5. Evaluarea siguranței	130
8.5. Discuții	130
8.5.1. Analiza farmacocinetică	130
8.5.2. Analiza bioechivalenței	132
8.5.3. Analiza statistică	132
8.5.4. Evaluarea siguranței	133
8.6. Concluzii	134
9. Concluzii generale	135
10. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	137
REFERINȚE	139
ANEXE	155
Anexa 1	155
Anexa 2	156
Anexa 3	157
Anexa 4	158

CUVINTE-CHEIE

Nebivolol, zolpidem, fluvoxamină, bupropionă, interacțiuni medicamentoase farmacocinetice, inhibitor enzimatic, inductor enzimatic, studiu clinic, voluntari sănătoși, analiza farmacocinetică non-compartimentală, analiza farmacocinetică compartimentală, analiza farmacodinamică, analiza bioechivalenței, analiza statistică, evaluarea siguranței, HPLC, MS

INTRODUCERE

La ora actuală un număr foarte mare de oameni, respectiv adolescenți, adulți și în special vârstnici prezintă tulburări de somn, boli cardiovasculare și episoade depresive. Literatura științifică cuprinde o serie de investigații privind acest aspect, iar Organizația Mondială a Sănătății (OMS) subliniază importanța unei abordări adecvate atunci când aceste probleme de sănătate apar ca și comorbidități asociate, cazuri în care se impune necesitatea unor scheme terapeutice complexe, ce includ utilizarea unui număr mare de medicamente asociate (polimedicatie). Mai mult, amenințările la adresa sănătății menționate mai sus s-au dovedit a fi corelate și implică efecte negative grave, cum ar fi un risc ridicat de deces sau tentative suicidare, în cel mai rău caz.

Contextul epidemiologic global este foarte alarmant pentru aceste trei probleme de sănătate. De exemplu, bolile cardiovasculare (BCV) sunt prima cauză de deces la nivel mondial, cu o valoare estimată de 17,5 milioane de decese în fiecare an (31% din totalul deceselor globale), din care 7,4 milioane se datorează bolilor coronariene. Depresia se regăsește actualmente în viața a aproximativ 350 de milioane de oameni de toate vârstele din întreaga lume, cu o prevalență mai mare la femei decât la bărbați. Mai mult, depresia este considerată principala cauză de dizabilitate la nivel mondial. În ceea ce privește tulburările de

somn, există riscul ca acestea să devină epidemice având în vedere că 150 de milioane de adulți suferă de probleme legate de somn la nivel global. Prevalența insomniei este mai mare pentru pacienții cu BCV și depresie, dar s-a constatat că este și unul dintre factorii de risc pentru afecțiunile menționate mai sus.

Prin urmare, o privire rapidă asupra contextului epidemiologic global relevă o legătură clară și subliniază o strânsă corelație între aceste patologii. Având în vedere că aceste probleme de sănătate vin adesea în lanț, în prezent se recurge deseori la instituirea unor scheme terapeutice pluri-medicamentoase, ceea ce favorizează o creștere a incidenței interacțiunilor medicamentoase de tip farmacocinetic. Așadar, aspectele menționate anterior subliniază importanța studiilor clinice efectuate pe subiecți umani ce vor fi descrise pe larg în cadrul acestei teze.

Teza de doctorat cuprinde în cadrul primei părți, intitulată stadiul actual al cunoașterii, o sinteză a celor mai importante și recente date legate de interacțiunile medicamentoase de tip farmacocinetic ce au loc la nivelul procesului de metabolizare. De asemenea, sunt descrise premisele studiilor clinice incluse în a doua parte a lucrării, și anume, profilul farmacocinetic al fiecărui medicament studiat (nebivolol - substrat al CYP2D6, zolpidem - substrat al CYP3A4, fluvoxamina inhibitor al CYP2D6 și CYP3A4, bupropiona inhibitor al CYP2D6 și inductor al CYP3A4). Aspecte generale privind metodologia de analiză farmacocinetică sunt discutate la sfârșitul acestei secțiuni.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Studiile clinice care sunt prezentate pe larg în partea de contribuții personale a acestei teze demonstrează existența interacțiunilor farmacocinetice între nebivolol (NEB) – un agent antihipertensiv din clasa beta-blocantelor prescris pentru tratamentul BCV, zolpidem (ZOL) - un agent sedativ-hipnotic recomandat pentru tratamentul insomniei pe termen scurt și două antidepresive cu mecanisme diferite de acțiune și care posedă capacitatea de a inhiba activitatea unor izoenzyme a citocromului P450 - fluvoxamină (FLV) și respectiv, bupropionă (BUP). Studiile clinice au evaluat amploarea acestor interacțiuni farmacocinetice la nivelul metabolizării și efectul lor asupra profilurilor farmacodinamice și de siguranță ale nebivololului și zolpidemului.

S-au realizat două studii clinice deschise, nerandomizate, secvențiale pentru evaluarea interacțiunilor farmacocinetice între nebivolol-fluvoxamină, nebivolol-bupropionă (studiul clinic nr. 1) și zolpidem-fluvoxamină, zolpidem-bupropionă (studiul clinic nr. 2), design-ul acestora fiind similar. Datele experimentale obținute în perioada de referință au fost analizate suplimentar în vederea elucidării profilurilor farmacocinetice ale nebivololului, zolpidemului și a principalilor lor metaboliți analizați (4-hidroxi-nebivolol și zolpidem fenil 4-carboxilic). Studiile clinice s-au derulat în conformitate cu Principiile Declarației de la Helsinki (1964) și amendamentele în vigoare, respectiv conform Regulilor de Bună Practică Clinică. Protocolul clinic a fost avizat în prealabil de către Comisia de Etică a Universității de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca. Toți voluntarii incluși în studiile clinice au semnat formularul de consimțământ informat înainte de inițierea oricărei proceduri.

Primul studiu clinic a fost realizat pe un lot de 18 voluntari sănătoși și a fost alcătuit din 3 perioade. În prima perioadă, cea de referință, s-a administrat o doză unică de nebivolol, iar în perioada Test 1 s-a administrat fluvoxamina în doze zilnice crescătoare (50 mg/zi timp de 3 zile, 100 mg/zi pentru următoarele 3 zile), cu precizarea că în ultima zi a acestei perioade au fost administrate concomitent NEB cu FLV. În cea de-a treia perioadă de tratament s-a administrat bupropiona în doze repetate crescătoare (150 mg/zi timp de 3 zile și 300 mg/zi în următoarele 4 zile), iar în ultima zi a studiului s-au co-administrat NEB cu BUP.

Cel de-al doilea studiu clinic a fost realizat pe un lot de 20 de subiecți sănătoși și s-a axat pe zolpidem ca substanță substrat. Acesta a urmărit, în perioade diferite de studiu, influența celor două antidepresive (FLV și BUP) asupra profilului farmacocinetic al ZOL ca urmare a co-administrării acestora și consecutiv pre-tratamentului cu doze multiple crescătoare din fiecare antidepresiv. Design-ul studiului clinic a fost similar cu cel descris mai sus, în studiul clinic care a investigat interacțiunile farmacocinetice ale nebivololului. În fiecare perioadă de studiu a a studiilor clinice s-au prelevat probe de sange venos, înainte și după administrarea medicamentelor la intervale prestabilite de timp.

Pentru o mai bună înțelegere, studiile sunt prezentate în capitole distincte, secvențial, organizate ținând cont de perioada de studiu și obiectivele urmărite.

Primul studiu al tezei a urmărit elucidarea profilului farmacocinetic al nebivololului și al principalului său metabolit activ după administrarea orală a unei doze unice de 5 mg de nebivolol la 18 voluntari sănătoși. Prin utilizarea instrumentelor matematice specifice analizei farmacocinetice compartimentale, a fost determinat și descris în continuare modelul reprezentativ pentru farmacocinetica nebivololului și a metabolitului acestuia. Modelul ia în considerare conversia parțială a nebivololului în timpul absorbției. Nebivololul și 4-OH-nebivololul (4-OH-NEB, principalul metabolit activ farmacologic ce a fost analizat alături de compusul părinte) au prezentat distribuție bicompartimentală și cinetică de ordinul 1 a proceselor de eliminare. Nebivololul a fost determinat a fi 99,8% eliminat prin biotransformare la metabolit, în timp ce 0,2% este eliminat prin alte căi. Toate procesele cinetice ce descriu dispoziția nebivololului și a metabolitului său în organism urmează o cinetică de ordinul 1.

Al doilea studiu, realizat pe un lot de 18 subiecți sănătoși, descrie evaluarea interacțiunii farmacocinetice dintre nebivolol și fluvoxamină la voluntari sănătoși. Analiza datelor experimentale a arătat că tratamentul cu doze multiple de fluvoxamină a modificat farmacocinetica nebivololului și a metabolitului său activ hidroxilat într-o manieră semnificativă statistic. În urma co-administrării de FLV a crescut expunerea subiecților la NEB cu aproximativ 60% și la metabolitul hidroxilat cu circa 40%, datorită inhibării de către FLV a principalei izoenzime responsabilă de metabolizarea NEB și a 4-OH-NEB, respectiv CYP2D6. Această interacțiune nu a avut o influență majoră asupra farmacodinamicii nebivololului (evaluată prin monitorizarea parametrilor - tensiune arterială sistolică, diastolică și frecvență cardiacă), însă nu se poate emite o concluzie clară și definitivă datorită limitărilor studiului detaliate la sfârșitul capitolului în cadrul căruia a fost prezentat studiul.

Cel de-al treilea studiu, realizat pe un lot de 18 subiecți sănătoși, prezintă investigarea interacțiunii medicamentoase farmacocinetice dintre nebivolol și bupropionă. Acest studiu clinic a demonstrat că tratamentul cu doze multiple de bupropionă a influențat

considerabil farmacocinetica nebivololului și a metabolitului său activ hidroxilat, fără a avea consecințe semnificative asupra farmacodinamicii beta-blocantului. În cazul asocierii acestui antidepressiv s-a remarcat o creștere de 7.2-ori a expunerii subiecților la NEB și de circa 4-ori a expunerii la metabolitul său activ farmacologic, față de perioada de referință. Mecanismul interacțiunii este și în acest caz inhibarea izoenzimei CYP2D6 de către BUP.

Cel de-al patrulea studiu prezintă profilul farmacocinetic al zolpidemului și al metabolitului său după administrarea unei doze orale unice de 5 mg zolpidem la 20 de voluntari sănătoși. După evaluarea datelor experimentale prin metoda analizei compartimentale, a fost determinat și descris modelul reprezentativ pentru farmacocinetica zolpidemului și a metabolitului acestuia majoritar, zolpidem fenil 4-carboxilic. Modelul farmacocinetic a arătat că zolpidemul este absorbit printr-un proces cinetic de ordinul 1, timp în care acesta este parțial biotransformat la principalul său metabolit, acidul zolpidem fenil-4-carboxilic (Z4CA). Atât zolpidemul cât și Z4CA prezintă distribuție bicompartimentală și cinetică de eliminare de ordinul I. Zolpidemul este eliminat prin metabolizarea la metabolitul inactiv Z4CA în proporție de 99,6%, în timp ce restul este eliminat prin alte căi.

Al cincilea studiu a evaluat administrarea concomitentă de zolpidem și fluvoxamină la un lot de 20 voluntari sănătoși. Asocierea acestora a dus la o expunere crescută de 2.13-ori la zolpidem și la o prevalență și intensitate mai mare a efectului secundar datorat zolpidemului (somnolență diurnă). Farmacocinetica metabolitului zolpidemului (Z4CA) a fost de asemenea influențată, dar într-o măsură mai mică decât cea a compusului părinte. Rezultatul acestui studiu se datorează inhibării de către FLV a CYP3A4, principala izoenzimă implicată în metabolizarea zolpidemului..

În **al șaselea studiu**, influența bupropionei asupra farmacocineticii zolpidemului a fost evaluată pe un lot de 20 de voluntari sănătoși. Investigația a concluzionat că profilul farmacocinetic al zolpidemului co-administrat cu bupropionă a fost modificat după un pre-tratament cu inhibitorul enzimatic. Mai precis, bupropiona, datorită capacității de inductor enzimatic al CYP3A4, a accelerat metabolizarea zolpidemului administrat concomitent, ceea ce a dus la scăderea concentrațiilor plasmatice ale agentului sedativ-hipnotic cu aproximativ 35% și la concentrații plasmatice crescute ale Z4CA (cu circa 5%). Rezultatele acestui studiu au arătat că bupropiona a influențat și farmacocinetica metabolitului principal al zolpidemului (Z4CA), deși într-o măsură mai mică raportat la influența exercitată asupra compusului părinte. Datele de monitorizare a siguranței tratamentului în cadrul studiului de interacțiune ZOL-BUP (T2), mai precis evaluarea somnolenței diurne, nu au indicat existența unor potențiale consecințe clinice în urma utilizării acestei asocieri medicamentoase.

Până la efectuarea unor investigații suplimentare pentru a clarifica semnificația clinică a acestor interacțiuni farmacocinetice demonstrate pe studii cu voluntari sănătoși, trebuie recomandată precauție înainte de asocierea nebivololului și zolpidemului cu bupropiona sau fluvoxamina în practica clinică.

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI

Pentru prima dată în literatura de specialitate, s-a dovedit existența unei interacțiuni farmacocinetice între nebivolol și fluvoxamină, respectiv bupropionă. De asemenea, până în momentul realizării acestor studii clinice, nu existau informații în literatura de specialitate

referitoare la activitatea inductorie *in vivo* a bupropionei asupra izoenzimei CYP3A4 (fapt observat experimental în studiul clinic de interacțiune zolpidem-bupropionă). Referitor la investigarea interacțiunii farmacocinetice între zolpidem și fluvoxamină, elementul de noutate este evaluarea influenței co-administrării acestor două substanțe medicamentoase asupra profilului farmacocinetic al principalului metabolit al zolpidemului.

Studiile de interacțiuni medicamentoase la nivel metabolic efectuate pe voluntari sănătoși au o contribuție majoră la profilul de siguranță al tuturor medicamentelor evaluate. Rezultatele sunt importante pentru pacienții care suferă de afecțiuni cardiovasculare, tulburări de somn, precum și depresie, fie ca și comorbidități asociate, fie ca boli unice.

Un alt element de noutate îl constituie descrierea amănunțită a profilurilor farmacocinetice ale nebivololului, zolpidemului și metaboliților acestora, cu determinarea parametrilor farmacocinetici caracteristici.

PhD THESIS SUMMARY

Pharmacokinetic interactions of nebivolol and zolpidem with bupropion and fluvoxamine

PhD student: **Ana-Maria Gheldiu**

PhD supervisor: **Prof.Dr. Ioan Tomuța**

CLUJ-NAPOCA 2017



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	17
ACTUAL STATE OF KNOWLEDGE	
1. Pharmacokinetic drug-drug interactions at metabolic level - general aspects	21
1.1. Drug-drug interactions involving enzyme inhibition	22
1.2. Drug-drug interactions involving enzyme induction	23
1.3. Pharmacokinetic drug-drug interactions prediction methods	25
2. Metabolism mediated interactions – focus on substrates and inhibitors/inducers of CYP2D6 and CYP3A4	27
2.1. Nebivolol as CYP2D6 substrate	27
2.1.1. Pharmacological profile, therapeutic use and side effects	27
2.1.2. Pharmacokinetic profile	28
2.1.3. Reported pharmacokinetic interactions	29
2.2. Zolpidem as CYP3A4 substrate	30
2.2.1. Pharmacological profile, therapeutic use and side effects	30
2.2.2. Pharmacokinetic profile	30
2.2.3. Reported pharmacokinetic interactions	31
2.3. Fluvoxamine as CYP2D6 and CYP3A4 inhibitor	32
2.3.1. Pharmacological profile, therapeutic use and side effects	32
2.3.2. Pharmacokinetic profile	33
2.3.3. Reported pharmacokinetic interactions	33
2.4. Bupropion as CYP2D6 inhibitor and CYP3A4 inducer	34
2.4.1. Pharmacological profile, therapeutic use and side effects	34
2.4.2. Pharmacokinetic profile	35
2.4.3. Reported pharmacokinetic interactions	35
3. Pharmacokinetic analysis methodology	37
3.1. Pharmacokinetic non-compartmental analysis	37
3.2. Pharmacokinetic compartmental analysis	40
PERSONAL CONTRIBUTION	
1. Background/ Objectives	45
2. General methodology	47
3. Study 1 – Pharmacokinetics of nebivolol and its metabolite after single dose oral administration of 5 mg nebivolol	55
3.1. Introduction	55
3.2. Objectives	55
3.3. Materials and Methods	55
3.3.1. Subjects	55
3.3.2. Study design	56
3.3.3. Bioanalytical analysis	56
3.3.4. Pharmacokinetic compartmental analysis	56
3.4. Results	63
3.5. Discussions	64
3.6. Conclusions	65
4. Study 2 – Evaluation of the pharmacokinetic interaction between nebivolol and fluvoxamine in healthy volunteers	67
4.1. Introduction	67

4.2. Objectives	67
4.3. Materials and Methods	68
4.3.1. Subjects	68
4.3.2. Study design	68
4.3.3. Bioanalytical methods	68
4.3.4. Phenotype analysis	68
4.3.5. Pharmacokinetic analysis	69
4.3.6. Pharmacodynamic analysis	69
4.3.7. Bioequivalence analysis	69
4.3.8. Statistical analysis	69
4.4. Results	70
4.4.1. Bioanalytical results	70
4.4.2. Phenotype analysis	71
4.4.3. Pharmacokinetic analysis	71
4.4.4. Pharmacodynamic analysis	73
4.4.5. Bioequivalence analysis	76
4.4.6. Statistical analysis	76
4.5. Discussions	79
4.5.1. Pharmacokinetic analysis	79
4.5.2. Pharmacodynamic analysis	80
4.5.3. Bioequivalence analysis	83
4.5.4. Statistical analysis	83
4.6. Conclusions	84
5. Study 3 – Evaluation of the pharmacokinetic interaction between nebivolol and bupropion in healthy volunteers	85
5.1. Introduction	85
5.2. Objectives	85
5.3. Materials and Methods	86
5.3.1. Subjects	86
5.3.2. Study design	86
5.3.3. Bioanalytical methods	86
5.3.4. Phenotype analysis	86
5.3.5. Pharmacokinetic analysis	87
5.3.6. Pharmacodynamic analysis	87
5.3.7. Bioequivalence analysis	87
5.3.8. Statistical analysis	87
5.4. Results	87
5.4.1. Bioanalytical results	87
5.4.2. Phenotype analysis	89
5.4.3. Pharmacokinetic analysis	89
5.4.4. Pharmacodynamic analysis	91
5.4.5. Bioequivalence analysis	94
5.4.6. Statistical analysis	94
5.5. Discussions	97
5.5.1. Pharmacokinetic analysis	97
5.5.2. Pharmacodynamic analysis	98
5.5.3. Bioequivalence analysis	99
5.5.4. Statistical analysis	99
5.6. Conclusions	100
6. Study 4 - Pharmacokinetics of zolpidem and its metabolite after single dose	101

oral administration of 5 mg zolpidem

6.1. Introduction	101
6.2. Objectives	101
6.3. Materials and Methods	102
6.3.1. Subjects	102
6.3.2. Study design	102
6.3.3. Bioanalytical analysis	102
6.3.4. Pharmacokinetic compartmental analysis	102
6.4. Results	104
6.5. Discussions	105
6.6. Conclusions	106
7. Study 5 – Evaluation of the pharmacokinetic interaction between zolpidem and fluvoxamine in healthy volunteers	107
7.1. Introduction	107
7.2. Objectives	107
7.3. Materials and Methods	108
7.3.1. Subjects	108
7.3.2. Study design	108
7.3.3. Bioanalytical methods	108
7.3.4. Pharmacokinetic analysis	109
7.3.5. Bioequivalence analysis	109
7.3.6. Statistical analysis	109
7.3.7. Safety evaluation	109
7.4. Results	109
7.4.1. Bioanalytical results	109
7.4.2. Pharmacokinetic analysis	112
7.4.3. Bioequivalence analysis	113
7.4.4. Statistical analysis	113
7.4.5. Safety evaluation	115
7.5. Discussions	116
7.5.1. Pharmacokinetic analysis	116
7.5.2. Bioequivalence analysis	118
7.5.3. Statistical analysis	118
7.5.4. Safety evaluation	119
7.6. Conclusions	119
8. Study 6 – Evaluation of the pharmacokinetic interaction between zolpidem and bupropion in healthy volunteers	121
8.1. Introduction	121
8.2. Objectives	122
8.3. Materials and Methods	122
8.3.1. Subjects	122
8.3.2. Study design	122
8.3.3. Bioanalytical methods	123
8.3.4. Pharmacokinetic analysis	123
8.3.5. Bioequivalence analysis	123
8.3.6. Statistical analysis	123
8.3.7. Safety evaluation	123
8.4. Results	124
8.4.1. Bioanalytical results	124
8.4.2. Pharmacokinetic analysis	126

8.4.3. Bioequivalence analysis	127
8.4.4. Statistical analysis	128
8.4.5. Safety evaluation	130
8.5. Discussions	130
8.5.1. Pharmacokinetic analysis	130
8.5.2. Bioequivalence analysis	132
8.5.3. Statistical analysis	132
8.5.4. Safety evaluation	133
8.6. Conclusions	134
9. General conclusions	135
10. Originality and inovative contributions of the thesis	137
REFERENCES	139
APPENDIX	155
Appendix 1	155
Appendix 2	156
Appendix 3	157
Appendix 4	158

KEYWORDS

Nebivolol, zolpidem, fluvoxamine, bupropion, pharmacokinetic drug-drug interactions, enzymatic inhibitor, enzymatic inducer, clinical study, healthy volunteers, pharmacokinetic non-compartmental analysis, pharmacokinetic compartmental analysis, pharmacodynamic analysis, bioequivalence analysis, statistical analysis, safety evaluation, HPLC, MS

INTRODUCTION

A large majority of people, ranging from adolescents to adults and especially elderly, are diagnosed with sleep disorders, cardiovascular diseases and depression. The scientific literature abounds with a wide range of investigations on these topics and the World Health Organization (WHO) highlights the importance of an adequate approach when these conditions appear as comorbidities, which usually implies the need for using complex therapeutic schemes (polymedication). Moreover, the above mentioned health threats are proved to be strongly correlated and entail serious negative effects, such as a high risk of death or suicidal attempts as worst-case scenario.

The global epidemiological context is very alarming for these three health issues. For instance, cardiovascular diseases (CVDs) are the first cause of death worldwide with an estimated of 17.5 million deaths every year (31% of all global deaths) out of which 7.4 million are due to coronary heart diseases. Depression is currently present in the lives of approximately 350 million people of all ages all around the world and with a higher prevalence in women than in men. In addition, it is acknowledged that depression is the leading cause of disability worldwide. Sleep disorders are considered to soon become epidemic, with an estimated 150 million adults suffering of sleep disorders on a global scale. The prevalence of insomnia is higher for patients with CVD and those diagnosed with

depression and it was also found to be one of the risk factors for the above-mentioned conditions.

Therefore, a rapid insight into the actual epidemiological context suggests a clear and strong relationship between these diseases and further supports the importance of all clinical studies performed on human subjects which are comprised in the present PhD thesis. Considering that these health conditions often come in chain, multi-drug regimens are often necessary to address all comorbidities, which means that pharmacokinetic drug-drug interactions are more likely to occur.

The first part of the PhD thesis entitled *Actual state of knowledge* comprises a synthesis of the most recent data and important aspects related to metabolism-based drug-drug interactions. Furthermore, it details the premises for the clinical trials that are described in the second part of the thesis, namely the pharmacokinetic profiles of each study drug (nebivolol- substrate of CYP2D6, zolpidem- substrate of CYP3A4, fluvoxamine- inhibitor of CYP2D6 and CYP3A4, bupropion- inhibitor of CYP2D6 and inducer of CYP3A4). An overview concerning the pharmacokinetic analysis methodology is included at the end of this section.

PERSONAL CONTRIBUTION

The clinical studies which are thoroughly presented in this PhD thesis aimed to investigate the existence of a series of potential pharmacokinetic (PK) drug-drug interactions between nebivolol (NEB) - a cardiovascular agent known for his beta-adrenergic blocking properties, zolpidem (ZOL) - a sedative-hypnotic drug recommended for the short-term treatment of insomnia and two antidepressants with different mechanisms of action- fluvoxamine (FLV) and bupropion (BUP), respectively. The clinical trials evaluated the magnitude of these metabolism-based PK interactions and their consequences on the pharmacodynamic and safety profiles of nebivolol and zolpidem.

Two open-label, non-randomized, sequential clinical trials and with a similar design were conducted to evaluate the pharmacokinetic interactions between nebivolol and fluvoxamine, nebivolol and bupropion (clinical trial 1), respectively between zolpidem and fluvoxamine, zolpidem and bupropion (clinical trial 2). The experimental data obtained during the reference period were further analyzed in order to elucidate the pharmacokinetic profiles of nebivolol, zolpidem and their main metabolites (4-hydroxy-nebivolol and zolpidem phenyl-4-carboxylic acid). The clinical trials were conducted according to the Declaration of Helsinki (1964) and its amendments and Good Clinical Practice guidelines. The clinical protocol was reviewed and approved by the Ethics Committee of the University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca. All volunteers included in clinical trials signed the informed consent form prior to initiating any study procedure.

The first clinical trial was performed on a group of 18 healthy volunteers and was composed of 3 periods. In the first study period (Reference period), a single dose of nebivolol was administered. During study period Test 1, fluvoxamine was administered in increasing doses (50 mg / day for 3 days, 100 mg / day for the next 3 days) while on the last day of this period NEB was co-administered with FLV. During the third study period (Test 2), multiple doses of bupropion were administered (150 mg / day for 3 days and 300 mg / day for the next 4 days), and on the last day of this study period NEB was co-administered with BUP.

The second clinical trial was performed on a group of 20 healthy subjects and focused on zolpidem as a substrate. The influence of two antidepressants and enzymatic inhibitors (FLV and BUP) on the pharmacokinetic profile of ZOL was assessed in different study periods. The design of the clinical trial was similar to that described above, for the clinical study investigating the pharmacokinetic interactions of nebivolol. Blood samples were taken before and after medication, at different time intervals in each study period.

For a better understanding, the studies are presented in distinct chapters, organized by taking into account study period and the objectives pursued during each study.

The first study of the *Personal contribution* section aimed to elucidate the basic pharmacokinetics of nebivolol and its main active metabolite after a single oral administration of 5 mg nebivolol in 18 healthy volunteers. By using the specific mathematical tools of compartmental data analysis, the representative model for the pharmacokinetics of nebivolol and its metabolite was determined and further described. The model considers partial conversion of nebivolol during the absorption process and 1st order kinetics of absorption. Nebivolol and 4-OH-nebivolol displayed bicompartamental distribution and 1st order kinetics for the elimination processes. Nebivolol was found to be 99.8% eliminated via biotransformation to metabolites, while 0.2% drug is eliminated via other paths.

The second study describes the pharmacokinetic interaction between nebivolol and fluvoxamine in 18 healthy volunteers. The analysis of the experimental data showed that multiple-dose treatment with fluvoxamine altered the pharmacokinetics of nebivolol and its active hydroxylated metabolite in a statistical significant manner. Following co-administration of FLV, the exposure to NEB increased by about 60% and for the hydroxylated metabolite by about 40% due to the fact that FLV inhibited the activity of CYP2D6, the main isoenzyme responsible for the metabolism of NEB and 4-OH-NEB. This interaction did not have a major influence on the pharmacodynamics of nebivolol (assessed by monitoring cardiovascular parameters - systolic and diastolic blood pressure and heart rate), but a clear and definitive conclusion cannot be drawn due to the limitations of the study that were detailed at the end of the respective chapter.

The third study of the experimental part includes a drug-drug pharmacokinetic interaction study between nebivolol and bupropion performed in 18 healthy volunteers. This study demonstrated that multiple-dose pretreatment with bupropion considerably influenced the pharmacokinetics of nebivolol and its active hydroxylated metabolite, while having no significant consequences upon nebivolol pharmacodynamics. After bupropion pretreatment, the exposure to nebivolol was increased by 7.2-fold for the parent drug and 4-fold for the hydroxylated active metabolite. The mechanism of interaction is also due to the inhibition of CYP2D6 isoenzyme by BUP.

The fourth study presents the pharmacokinetic profile of zolpidem and its metabolite after a single oral administration of 5 mg zolpidem in 20 healthy volunteers. After the evaluation of experimental data by means specific to compartmental analysis, the representative model for the pharmacokinetics of zolpidem and its metabolite was assessed. The model revealed that zolpidem is absorbed by a 1st order kinetic process during which it is partially converted to its main metabolite, zolpidem phenyl-4-carboxylic acid (Z4CA). Both

zolpidem and Z4CA exhibit bicompartamental distribution and 1st order elimination kinetics. 99.6% of zolpidem dose was eliminated by biotransformation to its inactive metabolite Z4CA, whereas the rest was eliminated by other paths.

The topic of **the fifth study** from the experimental part of the thesis was the analysis of the co-administration of zolpidem and fluvoxamine in 20 healthy volunteers. Their association resulted in a 2.13-fold increased exposure to zolpidem and a higher prevalence and intensity of a side effect (daytime sleepiness). Zolpidem metabolite (Z4CA) pharmacokinetics was also influenced, but to a lesser extent than that of the parent compound. The outcome of this study is due to the CYP3A4 (the main metabolizing isoenzyme of zolpidem) enzymatic inhibition ability of FLV.

In the sixth study, the influence of bupropion upon zolpidem pharmacokinetics is described in detail. The study was conducted on 20 healthy volunteers. After a pretreatment regimen with multiple doses of bupropion, the pharmacokinetic profile of zolpidem (after co-administered with bupropion) was modified. Bupropion appeared to induce the metabolism of zolpidem, leading to 35 % lower plasma drug concentrations of the parent drug and higher plasma drug concentrations for its metabolite, zolpidem phenyl-4-carboxylic acid (Z4CA) (with approximately 5%). The outcomes of this study showed that although to a lesser extent than for zolpidem, the pharmacokinetics of Z4CA was also influenced after the aforementioned drug combination. The safety data for the ZOL-BUP (T2) interaction study, namely the assessment of diurnal drowsiness, did not hint to any potential clinical consequences in this case.

Until further investigations are performed in order to clarify the clinical significance of these already proven pharmacokinetic interactions that were seen in healthy volunteers, caution should be recommended prior to nebivolol's and zolpidem's association with either bupropion or fluvoxamine in clinical practice.

ORIGINALITY AND INOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE THESIS

For the first time in the scientific literature, a pharmacokinetic interaction between nebivolol and fluvoxamine, respectively nebivolol and bupropion was demonstrated. Until now, there was no information in the scientific literature regarding the *in vivo* induction activity of bupropion with respect to CYP3A4 isoenzyme (a fact observed in the clinical study that addressed the interaction between zolpidem and bupropion). With regard to the investigation of the pharmacokinetic interaction between zolpidem and fluvoxamine, the novelty included the evaluation of this interaction by considering the pharmacokinetic profile of the major metabolite of zolpidem (Z4CA).

These metabolism-based drug-drug interaction studies performed on healthy volunteers provide a major contribution to the safety profile of all evaluated drugs. The results are of importance especially for patients presenting cardiovascular diseases, sleep anomalies as well as depression, either as associated comorbidities or considered as sole disorders.

Another element of novelty is the detailed description of the pharmacokinetic profiles of nebivolol, zolpidem and their metabolites.