BIOFARMACEUTICA

PRIMO INCONTRO DI STUDIO

Istituto Superiore di Sanità

Roma, 5 novembre 1982

A cura di:
ELENA CIRANNI SIGNORETTI (*)

(*) Istituto Superiore di Sanità.

Ann. Ist. Super. Sanità
Vol. 18, N. 3 (1982), pp. 531-532

Introduzione al Convegno. Biofarmaceutica - Biodisponibilità - Bioequivalenza

ENRICO CINGOLANI

Laboratorio di Chimica del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Sono ormai passati più di 25 anni, da quando la Biofarmaceutica è entrata a far parte delle scienze farmaceutiche. Nata negli U.S.A., insieme alle regole sul Controllo di Qualità e alle Norme di Buona Fabbricazione dei medicamenti a seguito della introduzione nel mercato U.S.A. dei medicamenti generici, come conseguenza logica della così detta « controversia sui generici », ha dato al mondo scientifico farmaceutico la possibilità di approfondire lo studio dei fenomeni connessi con la efficacia e la sicurezza dei medicamenti stessi. La motivazione « generici e intercambiabilità » fu quindi alla base degli studi sulla Biodisponibilità, che è la sezione della biofarmaceutica che più ci interessa. Val la pena di ricordare che in Italia già da tempo, soprattutto negli anni '50 e '60, esistevano le condizioni ideali per intraprendere questi studi. Era evidente, da noi, in quegli anni, il fenomeno dei cosiddetti « prodotti pari » che aveva assunto dimensioni eccessive e abnormi anche, e non solo però, per la mancanza di qualsiasi tipo di protezione brevettuale.

A maggior ragione poi questo avrebbe potuto verificarsi da noi, considerato che proprio da ricercatori italiani era stato fatto un serio tentativo di razionalizzazione della Farmacocinetica. Se ora, dopo tutto questo tempo, noi vogliamo riaprire un dibattito su queste questioni, in relazione alla Biodisponibilità e alla Biequivalenza, è soprattutto per verificare fino a che punto questi concetti sono da noi compresi e attuati e se, soprattutto, lo sono in maniera corretta. Si dovrebbe iniziare dai termini generali e dalle loro definizioni: « Farmacocinetica, Biofarmaceutica, Biodisponibilità, Bioequivalenza, Prodotto bioequivalente, Equivalenti farmaceutici, Alternativi farmaceutici, ecc. »: si dà il caso infatti che non solo questi termini vengono usati da larghi strati scientifici e non in maniera impropria, ma che anche le applicazioni richieste non siano appropriate. La Biodisponibilità è sicuramente un fattore che limita l'efficacia dei medicamenti, ma non è certo di applicazione generale. Due prodotti genericamente equivalenti, cioè due equivalenti farmaceutici, identici per qualità e quantità di principio attivo, per forma di somministrazione e che corrispondono agli stessi requisiti di qualità, ma che possono differire per il contenuto della parte inattiva, sono sicuramente bioequivalenti, quando vengono somministrati in soluzione per via parenterale o orale. Possono presentare problemi di biodisponibilità se somministrati in forma solida per via orale, ma solo se il principio attivo ha di per sé problemi di biodisponibilità (proprietà fisiche diverse come ad es. la solubilità, la dimensione delle particelle o la struttura cristallina diversa, ad es. polimorfismo, ecc.); non li presentano però se vengono somministrati a larghe dosi o se la dose attiva non è critica. Quindi i concetti della biofarmaceutica, applicati alla biodisponibilità, ai fini del riconoscimento della bioequivalenza, vanno applicati con raziocinio, non in maniera indiscriminata. Stabilire i casi in cui è necessario applicarli o viceversa quelli in cui non lo è, è uno degli argomenti più interessanti di discussione. Cioè pervenire anche all'individuazione delle classi per le quali l'evidenza della biodisponibilità è critica, sulla base dell'importanza clinica, delle caratteristiche farmaceutiche, del rapporto fra dose o livello ematico efficace e dose tossica.

Altro argomento di dibattito è la validità, l'applicabilità e la uniformità delle metodiche *in vitro*, che sicuramente saranno da noi, come d'altronde lo sono negli altri Paesi, quelle richieste per la dimostrazione, lotto per lotto di prodotto fabbricato, della bioequivalenza. Se è vero che oramai nuovi e rapidi metodi di chimica clinica rendono gli studi *in vivo* più facilmente eseguibili, è sempre vero che il ricorso ai « volontari sani » crea sempre dei problemi. È infine evidente che si dovrà pervenire prima o poi a una lista ufficiale di prodotti intercambiabili e da qualunque parte si affronti questo argomento è necessario distinguere almeno due classi di prodotti: *a*) quelli per i quali l'evidenza della bioequivalenza non è essenziale e *b*) quelli per i quali l'evidenza della bioequivalenza è critica i quali ultimi dovrebbero essere esclusi dall'intercambiabilità, a meno che non sia dimostrata la loro bioequivalenza oltre alla loro equivalenza farmaceutica. Sulla intercambiabilità la Commissione di Farmacopea si è già pronunciata, limitandola ai soli equivalenti farmaceutici compresi in liste positive, escludendo:

a) le forme farmaceutiche diverse di uno stesso principio attivo;

b) le forme farmaceutiche derivate da tecnologie sofisticate e differenziate (ad es. le sospensioni iniettabili, le supposte, gli aerosol, le pomate, ecc.);

c) i medicamenti con accertati e noti problemi di biodisponibilità;

d) quelli soggetti a disciplina speciale.

Questi argomenti sono di grande attualità in Italia, con l'entrata in vigore della nuova disciplina sui « galenici » che in pratica introduce anche da noi il « generico » nel mercato farmaceutico, attraverso il Formulario Nazionale, allegato alla Farmacopea.

La « Biodisponibilità », innanzi tutto, va definita in termini di quantità di medicamento che raggiunge la circolazione generale e anche in termini di velocità con la quale la concentrazione massima viene raggiunta. Gli studi di biodisponibilità devono quindi rispondere a queste due questioni basilari. Se considerassimo solo la prima, cioè la quantità e quindi ad es. l'area sotto la curva, potremmo avere due prodotti che hanno la stessa biodisponibilità, ma un effetto terapeutico diverso e che cioè non sono bioequivalenti. La « Bioequivalenza » quindi richiede che due prodotti abbiano anche un profilo ematico eguale o simile. Per i medicamenti, i cui effetti sono dipendenti dalla velocità di assorbimento, è necessario che siano anche bioequivalenti per poter esplicare lo stesso effetto. Per un medicamento, con un basso indice terapeutico, la variazione sulla biodisponibilità di un equivalente farmaceutico può costituire un pericolo potenziale per il paziente. Questi sono però casi limiti. Per la maggioranza dei medicamenti (specialmente quelli somministrati in maniera cronica), differenze nella velocità di assorbimento non sembrano produrre differenze significative negli effetti clinico–farmacologici, poiché la risposta farmacologica dipende dalla concentrazione plasmatica media, cioè dalla quantità di medicamento assorbito sempreché la dose, l'intervallo fra le dosi, il volume di distribuzione, ecc. vengano mantenuti costanti. Dal punto di vista clinico solo la « Equivalenza terapeutica » è critica e solo pochi equivalenti farmaceutici vengono considerati come possibili inequivalenti terapeutici. La biodisponibilità studia solo cosa avviene, in termini quantitativi, nell'intervallo tra la somministrazione di un medicamento e il suo arrivo nel circolo sanguigno. Cosa avviene dopo è compito della farmacocinetica. La biodisponibilità, infine, non è limitata solo alla equivalenza o inequivalenza dei medicamenti, cioè al confronto di prodotti che contengono lo stesso principio attivo e che sono fabbricati da officine diverse o in diversi tempi, ma coinvolge altri fattori quali gli effetti sull'assorbimento dei prodotti, dell'età, della dieta, dello stato di salute.

Ma quali sono le cause della bioinequivalenza di un equivalente farmaceutico? Certamente sono la formulazione e i componenti della medesima, il principio attivo, stante le sue caratteristiche chimico–fisiche, oppure la sua composizione (se cioè è un alternativo, oppure no). È chiaro che in qualsiasi momento della fabbricazione di un equivalente farmaceutico si possono introdurre fattori che possono causare problemi di biodisponibilità: è sufficiente un pò più di lubrificante o un pò meno di disgregante, una forza di compressione diversa, causata anche da un sovrappeso o da un sottopeso, per modificare l'assorbimento. I problemi relativi alla normativa sulla biodisponibilità e sulla bioequivalenza sono stati ampiamente studiati in U.S.A., ove da 5 anni è in vigore un regolamento federale su questi studi con le « Guidelines » necessarie per lo svolgimento degli esperimenti necessari, sia *in vivo* che *in vitro*. Ad es. i saggi *in vivo* vengono richiesti solo quando vi sono variazioni intra–lotto o tra lotti superiori al 25 %, oppure quando si cambia formulazione, o indicazione o regime di dosi. Negli altri casi un saggio *in vitro*, come ad esempio un test di dissoluzione, stabilito sulla base di una correlazione con i saggi *in vivo*, è più che sufficiente per dimostrare la bioequivalenza di un medicamento. Per i prodotti nuovi, studi di biofarmaceutica e di farmacocinetica dovrebbero evidenziare se il prodotto presenta o no problemi di biodisponibilità e, se esistono, dimostrare in quale modo si garantisce la bioequivalenza della produzione, anche con saggi *in vitro*. Per molto tempo si è pensato che i due termini *in vitro* e « bioequivalenza » si escludessero a vicenda. Il tempo ha dimostrato la falsità di questo preconcetto. Oramai i saggi *in vitro*, certo se ben condotti e ben interpretati, ci danno la sicurezza della bioequivalenza. Nello stabilire questi saggi di riferimento le Farmacopee ci sono di grande aiuto, specialmente se prevedono anche le preparazioni, cioè i formulari. È evidente che nessuna normativa può automaticamente stabilire la bioequivalenza di tutti i prodotti sul mercato. È necessario andare per gradi sulla base di dati bibliografici e sperimentali e cioè fare un grande lavoro sperimentale che oramai nel nostro Paese si impone: è giunto cioè il momento di fare meno accademia e di concretizzare di più.

Ann. Ist. Super. Sanità
Vol. 18, N. 3 (1982), pp. 533-540

Aspetti farmacocinetici rilevanti per la biofarmaceutica

GIORGIO SEGRE

Istituto di Farmacologia, Università di Siena

La farmacocinetica si occupa tradizionalmente dello studio dei problemi connessi con: l'*assorbimento*, la *distribuzione*, le *biotrasformazioni* e l'*eliminazione* dei farmaci.

La biofarmaceutica, essendo connessa con le caratteristiche delle forme farmaceutiche, è prevalentemente rivolta ai problemi dell'assorbimento.

In questi ultimi anni si è assistito a un grande sviluppo di nuove forme « ritardo », di nuove forme di somministrazione quali certe pomate (nitroglicerina) e di quella somministrazione che è detta transdermica (cessione controllata), e in generale di nuovi « sistemi di somministrazione » (forme a cessione controllata da inserire nel sacco congiuntivale, spirali intrauterine a cessione controllata di progestinici), come pure a infusioni a velocità costante per lunghi periodi con siringhe portatili da parte del paziente (ad es. insulina, ma anche chemioterapici antitumorali).

Tuttavia si possono avere interventi di carattere biofarmaceutico, per ora iniziali, anche nei riguardi della distribuzione, ad es. con i liposomi, che danno luogo a una cinetica del farmaco da essi veicolati che risulta differente da quella del farmaco somministrato nella forma tradizionale; si tratta di interventi relativi all'organotropismo e talora al tropismo verso certi tessuti (ad es. l'apparato reticolo-endoteliale), e si può pensare a un tropismo verso determinati organuli intracellulari, raggiunti eventualmente tramite fenomeni di pinocitosi. Lo studio quantitativo di tali fenomeni può limitarsi a un semplice approccio di *farmacocinetica descrittiva*, oppure ricorrere a *modelli*, compartimentali o meno, che possono talora raggiungere un notevole livello di sofisticazione. Lo scopo dei modelli è usualmente quello di esprimere un certo numero di dati sperimentali mediante un più ristretto numero di parametri che racchiudono la maggior parte dell'informazione che è contenuta in tali dati. Tuttavia, non raramente essi svolgono anche una funzione di indirizzo e stimolo a nuove ricerche per risolvere quesiti posti dalla loro utilizzazione.

L'impiego di programmi adatti e di calcolatori digitalici risulta spesso essenziale per la risoluzione dei modelli, in particolare per quelli che presentano non-linearità più o meno rilevanti (legame alle proteine plasmatiche e tessutali, reazioni di tipo enzimatico); ma anche in caso di farmacocinetica descrittiva il loro impiego diventa utile ed economico, anche se i calcolatori da tavolo e quelli tascabili (eventualmente programmabili) possono trovare utilizzazione.

Si deve poi accennare al fatto che, se si prende in considerazione la cinetica degli effetti (che può fornire, tra l'altro, utili indicazioni relativamente all'assorbimento di un farmaco e alla sua velocità), i tempi di loro comparsa e scomparsa come indicatori della cinetica di un farmaco, e la cinetica di legame con i recettori [1], i problemi modellistici possono diventare assai complicati. Lo stesso dicasi se si devono analizzare popolazioni relativamente a un dato modello o ad uno o più parametri (ad es. biodisponibilità), nel qual caso si deve ricorrere all'analisi multivariata o a programmi ad hoc (quali ad es. il NON-MEM).

Per quanto riguarda i problemi della cinetica dell'*assorbimento* di un farmaco, campo di più particolare interesse per la biofarmaceutica in congiunzione ai metodi di studio *in vitro*, si può passare brevemente in rassegna gli aspetti di farmacocinetica descrittiva e quelli modellistici. I quesiti a cui si può dare risposta sono di diverso livello e complessità. Ci si può domandare semplicemente se il farmaco è assorbito o meno; a tale domanda, che viene posta in genere in fasi iniziali dello sviluppo e ricerca di un nuovo farmaco, si può dare risposta con uno o più prelievi plasmatici (tenuto conto della sensibilità del metodo analitico) effettuati a tempi « ben scelti ». Se si dispone poi di più punti « ben scelti », si può effettuare una valutazione cinetica; naturalmente ci si può accontentare di fare alcune constatazioni quali:

- tempo di comparsa dei primi valori determinabili del farmaco del plasma;
- tempo di picco (t_{max});
- valore del picco (x_{max});
- tempo di scomparsa dei valori determinabili, a cui si può aggiungere (se i valori sono « ben scelti ») una stima della semivita.

Se i dati sono sufficienti ed adeguati si può esprimere tali dati con una curva multiesponenziale

$$(I) \qquad x_{os}(t) = \sum_{i=1}^{n} A_i e^{-a_i t}$$

con x = concentrazione e t = tempo.

La maggior parte di tali funzioni nella pratica sono formate da 2 oppure da 3 esponenziali; si deve ricordare infatti che è difficile « vedere » due esponenziali se i loro esponenti non sono uno doppio dell'altro.

A questo punto, diventa molto importante (nella sperimentazione animale, ma, se possibile, anche nell'uomo) disporre dei dati di cinetica per via endovenosa. In tal caso, purché il sistema sia lineare, la cinetica $x_{ev}(t)$ è formata da una funzione

$$(II) \qquad x_{ev}(t) = \sum_{i=1}^{m} A_i \, e^{-a_i t}$$

con $m < n$ e con alcuni degli a_i che devono essere comuni a x_{ev} e a x_{os}, per cui in una procedura di « fitting » simultaneo di (I) e di (II) si pongono dei vincoli relativi ai valori degli a_i comuni e si ottiene direttamente la cinetica dell'assorbimento e la biodisponibilità come pure altri parametri.

Si ha in tal caso che le aree sottese da (I) e da (II) sono pari a:

$$\int_0^\infty x_{os}\, dt = \sum_{i=1}^{n} \frac{A_i'}{a_i} = AUC_{os}$$

$$\int_0^\infty x_{ev}\, dt = \sum_{i=1}^{m} \frac{A_i}{a_i} = AUC_{ev}$$

da cui la biodisponibilità risulta pari a

$$(III) \qquad F = \frac{AUC_{os}}{AUC_{ev}} .$$

Si noti in base alla (I) e alla (II) che

$$AUC_{os} = AUC_{ev} + AUC_{ass} = \sum_{i=1}^{m} \frac{A_i}{a_i} + \sum_{j=m+1}^{n} \frac{A_j}{a_j} .$$

Si può rilevare che spesso AUC è misurato (ad es. con il metodo dei trapezi) sperimentalmente dal tempo 0 al tempo dell'ultimo dato sperimentale (t_m); successivamente si ipotizza un andamento monoesponenziale della curva e che per $t > t_m$ si abbia

$$x(t) = x(t_m)\, e^{-a_n (t - t_m)},$$

$$\text{Si ha} \int_{t_m}^\infty x(t)\, dt = \frac{x(t_m)}{a_n} .$$

Se però l'ipotesi precedente non è valida, ciò può comportare considerevoli errori nella stima di AUC.

Gli errori a cui si può andare incontro con l'integrazione trapezoidale sono stati studiati da Chiou [2] e da Yeh a Kwan [3]; si devono poi correggere le dosi in modo che esse risultino pari.

Si deve rilevare che la validità di questo approccio è strettamente connesso con l'accertamento della *linearità* del sistema esaminato; ciò è fatto semplicemente con la constatazione sperimentale del *principio di sovrapposizione*, utilizzando più dosi e valutando se le cinetiche espresse da (II) e soprattutto da (I), sono tra loro proporzionali come le dosi stesse.

Tuttavia da (I) e da (II) sono ricavabili altre informazioni importanti:

– il volume (apparente) di distribuzione, V_d:

$$(IV) \qquad V_d = \frac{Dose}{x_{ev}(0)}$$

in cui $x_{ev}(0)$ è il valore ottenuto per estrapolazione mediante diagramma semilogaritmico di (II) del valore di x_{ev} per $t = 0$, per cui $x_{ev}(0) = \sum_{i=1}^{n} A_i$;

– la clearance totale del farmaco Cl:

$$(V) \qquad Cl = \frac{Dose}{AUC_{ev}} .$$

Si deve rilevare che in questo caso x è di solito espresso come concentrazione del farmaco;

$$Cl = k_{el} \cdot V_d$$

con k_{el} = costante di scomparsa (escrezione e/o biotrasformazione) del farmaco (purché la scomparsa stessa sia esprimibile mediante una sola costante).

Il valore di k_{el} potrebbe ricavarsi dall'equazione (V) sulla base della (VI):

$$(VI) \qquad k_{el} = \frac{Cl}{V_d} .$$

Tuttavia si deve rilevare che se (II) è espressa come frazione della dose e non come concentrazione, si ha

$$k_{el} = \frac{Dose}{AUC_{ev}} .$$

Il più piccolo degli a_i in (II) (sia esso a_n) e il corrispondente in (III) fornisce la semivita:

$$t_{1/2} = \frac{0{,}693}{a_n} .$$

Se si usa un programma quale il SAAM, si ha il sistema seguente nella rappresentazione usata da tale programma che usa un linguaggio orientato ai sistemi scompartimentali (Fig. 1). Si può rilevare che l'area descritta nello scompartimento 1 dalla curva AUC è pari a un quadrato in cui un lato è eguale alla conc. media ($\bar{x}$) e l'altro al tempo medio di permanenza:

$$AUC = \bar{x}\,\bar{t} \qquad ; \qquad \text{da cui } \bar{t} = \frac{AUC}{\bar{x}} .$$

$$\text{Essendo } AUC = \frac{D}{Cl} = \frac{D}{V_1} \cdot k_{10} = \frac{x_0}{k_{10}} \text{, risulta che } \bar{t} = \frac{1}{k_{10}} .$$

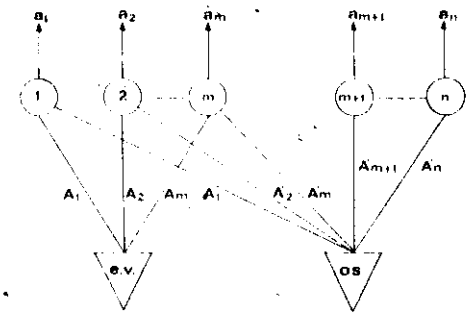


FIG. 1. – Modello di calcolo di parametri farmacocinetici secondo un programma (SAAM) basato su linguaggio orientato ai sistemi scompartimentali

Si può rilevare che la funzione

$$\text{(VII)} \qquad x_{ass}(t) = \sum_{j=m+1}^{n} A_j' e^{-a_j t}$$

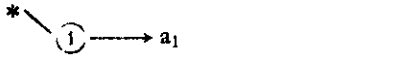
corrisponde alla funzione di assorbimento del farmaco da parte dell'apparato digerente e si deve avere $x_{ass}(0)$ e $x_{ass}(\infty)$ pari a 0.

La (VII) corrisponde alla deconvoluzione di x_{os} per x_{ev}, che, indipendentemente dalle considerazioni ora fatte, potrebbe essere valutata in misura approssimata secondo la procedura indicata da Rescigno e Segre [4].

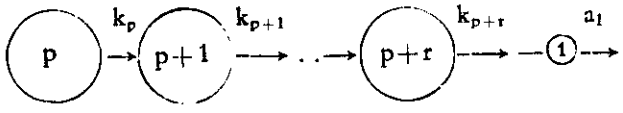
Poiché frequentemente nel caso dell'assorbimento intestinale si è in presenza di un ritardo (τ), ciò si riflette in (VII) facendole assumere la forma

$$x_{ass} = \sum_{j=m+1}^{n} A_j \, e\text{-}a_j^{\,t\,(t-\tau)}$$

che viene ottenuta mediante una traslazione della (VII) pari a τ lungo l'asse dei tempi, oppure viene valutata con apposite procedure. Così ad es. il SAAM è possibile trasformare un esponenziale, rappresentato come si è visto da



nel modo seguente



in cui $k_p = k_{p+1} = \ldots k_{p+r} = \lambda$,

e $\tau = \dfrac{(r+1)}{\lambda}$. Avendo fissato $(r+1)$, la stima del ritardo corrisponde alla stima di λ, cioè di una costante di trasferimento.

L'integrale di (VII), cioè

$$\text{(VIII)} \qquad \int_0^t x_{ass}\, dt$$

indica l'andamento temporale dell'assorbimento, cioè del passaggio dalla sede di somministrazione al plasma ed è pari ad

$$AUC_{ass} = \sum_{j=m+1}^{n} \frac{A_j}{a_j} \quad \text{(v. in precedenza).}$$

Tale integrale si presenta particolarmente interessante nel caso delle preparazioni ritardo [14].

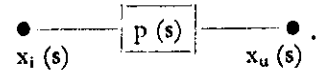
Tale integrale (VIII) equivale a

$$\int_0^t x_{ass}\, dt = \text{quantità presente nell'organismo al tempo } t + \text{quantità uscita dal tempo 0 al tempo } t$$
$$\sum_i V_i x_i(t) + Cl_{tot} \cdot t .$$

Dividendo (VIII) per AUC si ha la frazione assorbita, FA.

Per le valutazioni cinetiche precedenti si può utilizzare (sempre che il sistema sia lineare) un modello scompartimentale.

Si può infatti scomporre la cinetica per somministrazione orale nel modo seguente, in cui il simbolo •–□–• indica una scatola nera: è noto che alla scatola nera corrisponde una funzione di trasferimento p(s) data dal rapporto delle trasformate di Laplace delle funzioni di uscita $x_u(t)$ e di quella di entrata $x_i(t)$, cioè $x_u(s) = L \cdot \{x_u(t)\}$ e $x_i(s) = L\{x_i(t)\}$



Se $x_i(s) = x_o$ (dose) si ha $x_u(s) = L\{x_{ev}\} = x_o\, p(s)$.

Nel caso dell'assorbimento g.i. si ha $x'_u(s) = L\{x_{os}\} = x_o \cdot q(s) \cdot p(s)$

Si ricava $L^{-1}\{q(s)\} = x_{ass}(t)$.

Inoltre, ricordando che $\int_0^\infty x(t)\, dt = x(s)\Big|_{s=0}$,

si ottiene:

$$F = \frac{x'_u(s)\Big|_{s=0}}{x_u(s)\Big|_{s=0}}$$

Se nell'assorbimento è presente un ritardo (τ), si ha

$$q'(s) = q(s)\, e^{-s\tau} .$$

Se poi tali scatole nere sono compartimentalizzate, si ottiene un modello del tipo indicato in Fig. 2 in cui la cinetica x_{ev} corrisponde in questo caso a un modello mammillare.

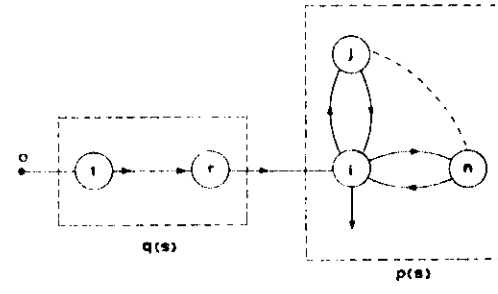


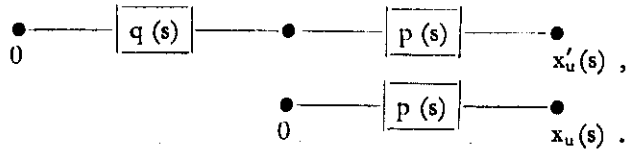
FIG. 2. – Modello di sistema scompartimentale a « scatole nere »

La soluzione di un modello scompartimentale richiede, accanto alla dimostrazione della validità del principio di sovrapposizione, l'analisi dei « gradi di libertà » del sistema, il che corrisponde all'identificabilità « strutturale » del sistema.

Essendo un sistema scompartimentale formato da scompartimenti e dalle costanti di trasferimenti che li collegano (per cui esso è rappresentabile da un grafo orientato), i gradi di libertà da risolvere sono dati dal numero di costanti di trasferimento che caratterizzano il sistema stesso. Questo numero deve essere non superiore a quello dei parametri (gli A_i e gli a_i) ottenuti da (I) e/o da (II), tenuto conto delle costanti iniziali.

Per sua natura un sistema mammillare è teoricamente risolvibile quando sia nota la cinetica dello scompartimento centrale (scomp. (i) della Fig. 2).

Se i gradi di libertà del sistema q(s) sono risolvibili, la soluzione di $L^{-1}\{q(s)\}$ è ottenibile (sempre nella rappresentazione del SAAM) risolvendo simultaneamente il simplesso



Così ad es. si ha il simplesso della Fig. 3 con i vincoli

$$\begin{cases} k_{30} = k_{50} \\ k_{34} = k_{56} \\ k_{43} = k_{65} \end{cases}$$

che permette di valutare k_{10}, k_{12} e k_{23}, che rappresentano i parametri caratteristici dell'assorbimento intestinale.

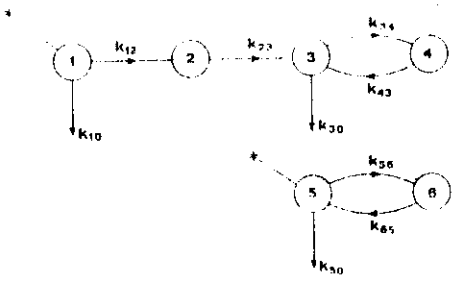


FIG. 3. – Simplesso per la valutazione di parametri dell'assorbimento intestinale secondo il programma SAAM

In tal caso $L\{x_{ass}\} = \overset{k_{12}}{\textcircled{1}\longrightarrow\textcircled{2}\longrightarrow} k_{23}$ con $\downarrow k_{10}$

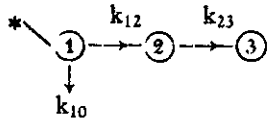
e $x_{ass}(t)$ è dato dalla funzione biesponenziale

$$x_{ass} = \frac{x_o}{k_{23} - K_1}\left(e^{-K_1 t} - e^{-k_{ss} t}\right)$$

con $K_1 = k_{10} + k_{12}$.

Si ha inoltre $F = \dfrac{k_{12}}{K_1}$.

Il valore di $\int_o^t x_{ass}\,dt$ è ottenuto dal valore dello scompartimento 3 nel modello



Se è presente un ritardo (τ), ciò non aumenta i gradi di libertà del sistema, essendo possibile determinare τ in modo indipendente (cioè dai dati sperimentali); nel sistema precedente viene incluso un ritardo, introducendo, come si è già visto, il sistema catenario della Fig. 4 con il vincolo:

$$k_{p1} = k_{p2} = \ldots\ldots = k_{pn} = \lambda$$

che può essere collocato anche tra gli scompartimenti 1 e 2 o prima dello scompartimento 1.

Si può ancora ricordare che è facile ricavare da un modello scompartimentale i valori indicati in precedenza nel caso di una farmacocinetica descrittiva, e cioè Cl e V_d.

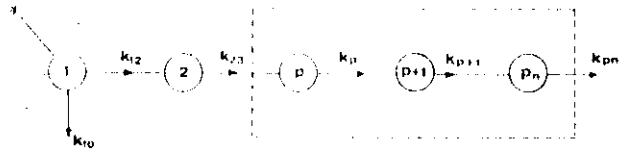


FIG. 4. – Simplesso per la valutazione di parametri dell'assorbimento intestinale secondo il programma SAAM, con ritardo

L'andamento di x_{ass} indica quanto sia impreciso valutare l'assorbimento con la « semivita » della parte ascendente di una curva quale la (I) (come viene fatto spesso).

Si può ancora sottolineare che $x_{ass}(t)\,dt$ rappresenta la velocità di assorbimento, mentre $\int_o^t x_{ass}\,dt$ può essere indicato come funzione di assorbimento o assorbimento e $\dfrac{\int_o^t x_{ass}\,dt}{AUC}$ come assorbimento frazionale.

Si noti poi che la *biodisponibilità* (F) può essere ricavata anche da altri tipi di esperimenti di assorbimento: se si determina la quota di farmaco immodificato che compare nelle urine dopo somministrazione orale e dopo somministrazione e.v., si ottiene il valore di F.

Nell'animale, per calcolare F si può determinare la frazione della dose di materiale radioattivo che si ritrova nelle urine dopo somministrazione orale ed e.v.: se non si è in presenza di ritenzione della radioattività, è sufficiente la determinazione dell'escrezione della radioattività dopo somministrazione orale. In tutti questi casi è facile utilizzare i sistemi precedenti sia a tipo indipendenti dal modello sia scompartimentali.

Nel caso di somministrazione ripetuta a intervallo di tempo pari a Θ, è noto che allo pseudo steady-state la (I) diventa

$$\text{(IX)} \qquad x_o^{ss}(t) = \sum_{i=1}^{n} \frac{A_i}{1 - e^{-a_i \Theta}} e^{-a_i t}\,.$$

Nell'intervallo corrispondente a Θ si può calcolare l'area sottesa in tale intervallo AUC_Θ e si può calcolare la concentrazione media corrispondente:

$$\bar{x}^{ss} = \frac{AUC_\Theta}{\Theta}\,.$$

Se si calcola $\bar{x}^{ss}$ per somministrazione orale, $\bar{x}^{ss}_{os}$, e per somministrazione parenterale, $\bar{x}^{ss}_{ev}$, si può calcolare

$$F = \frac{\bar{x}^{ss}_{os}}{\bar{x}^{ss}_{ev}}\,.$$

Un calcolo analogo può farsi per l'escrezione urinaria del farmaco in quel dato intervallo di tempo U^{ss}_{Θ}, per cui

$$F = \frac{U^{s}_{\Theta,os}}{U^{ss}_{\Theta,ev}} .$$

Si può notare che per ogni termine della (IX) si ha

$$\int_0^{\Theta} \frac{A_i}{1 - e^{-a_i \Theta}} e^{-a_i t} \cdot dt = \frac{A_i}{a_i}$$

per cui l'area sottesa dalla curva $x^{ss}_{os}(t)\,dt$ nell'intervallo tra 0 e Θ è pari ad AUC, per cui

$$F = \frac{\int_0^{\Theta} x^{ss}_{os}\,dt}{\int_0^{\Theta} x^{ss}_{ev}\,dt}$$

Tutte queste considerazioni valgono anche se invece di misurare la *biodisponibilità* assoluta si calcola quella *relativa*; in tal caso al posto dei valori relativi a cinetiche per somministrazione e.v. si hanno quelle relative alle cinetiche del preparato di confronto (biodisponibilità relativa).

Si può ancora notare che dalla cinetica dell'escrezione urinaria U (t) è possibile ottenere la farmacocinetica x_i (t), essendo

$$\frac{dU}{dt} = k_{io}\, x_i\,(t) .$$

k_{io} rappresentando la costante di eliminazione urinaria (da cui $V_d \cdot k_{io} = Cl_u$, la clearance urinaria).

Quindi conoscendo k_{io} e avendo dati sufficienti su U è possibile ottenere x_i (t).

Si noti poi che è possibile ottenere la biodisponibilità F senza ricorrere alla somministrazione parenterale; a tal fine è necessaria che la cleatance renale Cl_u sia perturbabile (ad es. attraverso l'acidificazione o la alcalinizzazione delle urine). Sia la clearance totale Cl e Cl_{nu} la clearance non renale; si avrà

$$Cl = Cl_u + Cl_{nu} .$$

Se per effetto della perturbazione Cl_u diventa Cl'_u, si avrà

$$Cl' = Cl'_u + Cl_{nu}$$

per cui

$$\Delta Cl = Cl - Cl' = \Delta Cl_u .$$

D'altra parte, come si è prima visto (eq. V)

$$Cl = \frac{F \cdot Dose}{AUC}$$

e

$$\Delta Cl_u = Cl - Cl' = \frac{F \cdot Dose}{AUC} - \frac{F \cdot Dose}{AUC'}$$

e quindi

$$(X) \qquad F = \frac{\Delta Cl}{Dose} \frac{AUC \cdot AUC'}{AUC' - AUC}$$

Si può infine rilevare, sempre a proposito di biodisponibilità, che una richiesta di eguale biodisponibilità relativa implica « livelli plasmatici sovrapponibili » per dosi equivalenti. Ciò corrisponde all'eguaglianza delle aree descritte da curve plasmatiche in un dato intervallo di tempo dalla preparazione in esame e da quella di confronto.

Ciò implica replicazioni di esperimenti di somministrazione per cui i vari parametri farmacocinetici (e in questo caso F) vengono valutati con le loro stime statistiche.

Di solito uno studio di biodisponibilità relativa è effettuato mediante un saggio il cui risultato (medie e varianze delle due preparazioni) è valutato secondo l'ipotesi zero della non-differenza tra le 2 preparazioni; tale ipotesi viene respinta se la differenza è significativa.

Può darsi che la significatività riguardi differenze trascurabili e quindi sia clinicamente irrilevante, ma non è qui il caso di discutere la significatività clinica.

Il vero problema è quindi di determinare la probabilità di avere una differenza importante tra le due preparazioni e non quello di avere una differenza nell'ipotesi che tale differenza non esista.

In genere la dimensione di un campione necessario a rilevare una differenza di F del 20 % (differenza abbastanza importante clinicamente) con un test della potenza dell'80 % al livello $\alpha = 0{,}05$ è molto elevata e quindi proibitiva, mentre tali studi sono condotti di solito con 10-20 soggetti.

È quindi facile incorrere nell'errore β di considerare eguali due valori di F quando in effetti non lo sono.

In questo caso si può utilizzare la formula [6]

$$\frac{\delta - (\bar{x}_A - \bar{x}_B)}{\sqrt{s^2(n_A^{-1} + n_B^{-1})}}$$

che si distribuisce come il t di Student; in essa gli indici A e B si riferiscono alle 2 preparazioni, $\bar{x}$ rappresenta la media del parametro studiato (ad es. AUC), s^2 è la stima della varianza residua quale risulta dall'analisi della varianza (ANOVA) dei dati sulle due formulazioni, e n indica il numero delle replicazioni per A e B (in genere $n_A = n_B$); δ è la differenza prefissata tra i valori delle medie di $\bar{x}$ per A e B che si considera clinicamente interessante al proposito. Nel lavoro [9] è riportato un esempio di calcolo, come pure è dato un grafico per calcolare n essendo dato s^2 in percento di x_A quando si voglia valutare una differenza del 20 % con $\alpha = 0{,}05$ e $\beta = 0{,}20$.

D'altra parte si ha

$$n \geq \frac{15{,}68\ s^2}{\delta^2} \qquad [7].$$

Con l'analisi convenzionale dai dati presentati si concluderebbe che non si ha una differenza significativa di biodisponibilità, ma la formula permette di dedurre quale è la probabilità che la vera differenza (δ) di una biodisponibilità sia superiore (in più o in meno) al valore di 20, data la differenza che è stata osservata, utilizzando ad esempio una tabella del test t di Student. Un grafico è pure disponibile per valutare l'ipotesi di una differenza unidirezionale (ad es. che B sia inferiore ad A).

Questa procedura è analoga a quella proposta da Westlake [8] (vedasi anche Shirley [9]) e discussa da

Hirtz [10], che indica come calcolare i limiti fiduciali al 95 % della media vera della preparazione allo studio.

Un ulteriore approfondimento di questo problema è stato effettuato recentemente [11] in un caso in cui 2 formulazioni sono considerate bioequivalenti se il rapporto $\Theta = \frac{\mu_A}{\mu_B}$ dei valori attesi di $\bar{x}_A$ e $\bar{x}_B$ è compreso tra determinati limiti r_1 e r_2; in base alla probabilità a posteriori (P) che tale ipotesi si verifichi, viene fornito un istogramma di P per vari valori di Θ.

Una particolare attenzione viene rivolta ai fenomeni del cosiddetto « fenomeno del primo passaggio » (*first pass effect*). In tale caso si ha una *eliminazione presistemica*, cioè che si verifica prima che il farmaco giunga allo scompartimento centrale. L'analisi di tale fenomeno comporta disegni sperimentali ad hoc, ad es. con determinazioni delle concentrazioni del farmaco nel sangue mesenterico, portale e sovraepatico (per *first pass effect* a livello intestinale o epatico), con dimostrazione di una elevata escrezione biliare del farmaco o dei suoi metaboliti. Si può ricordare, a questo proposito, che la presenza di un importante ricircolo enteroepatico è spesso evidenziato dalla presenza di un picco secondario nella cinetica plasmatica; ciò comporta modelli relativamente complessi (come ad es. nel caso della digossina).

Un criterio efficace di riconoscimento della presenza di *first pass effect* è dato dalla constatazione di una elevata escrezione urinaria del farmaco e dei suoi metaboliti (eventualmente di una quota notevole della dose radioattiva somministrata), associata a bassi livelli plasmatici dopo somministrazione orale e bassa biodisponibilità assoluta.

Si abbia un modello scompartimentale di eliminazione presistemica quale quello mammillare della Fig. 5, in cui, oltre all'eliminazione che avviene nello scompartimento centrale 1, si ha un'ulteriore eliminazione di un altro scompartimento (ad es. lo scompartimento 2, che rappresenti in tal caso il fegato).

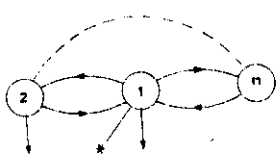


FIG. 5. – Modello scompartimentale (mammillare) con eliminazione presistemica

Si ha allora per iniezione nello scomp. 1 della dose D

$$AUC = \frac{D}{V_1\left(k_{10} + \frac{k_{12} \cdot k_{20}}{K_2}\right)} = \frac{D}{Cl}$$

($K_2 = k_{21} + k_{20}$) e la clearance totale, Cl, è pari alla clearance dello scompartimento 1 + la clearance da parte dello scompartimento 1 del materiale che passa a 2.

Se il materiale giunge in 1 somministrato nello scomp. i (Fig. 6) rappresentante l'apparato g.i., si ha

$$AUC' = \frac{D \cdot F \cdot P}{Cl}$$

con F (biodisponibilità) $= \frac{k_{i,2}}{K_i}$

$$K_i = k_{i,2} + k_{i,0}$$

e P (detto anche *first pass effect*) $= \frac{k_{21}}{K_2}$.

Inoltre $\frac{AUC'}{AUC} = F \cdot P$.

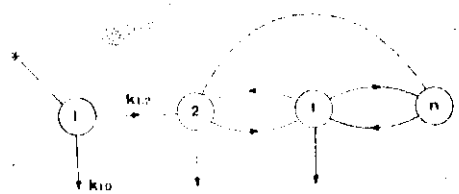


FIG. 6. – Modello scompartimentale (mammillare) di eliminazione presistemica, con somministrazione in uno scompartimento separato (apparato G.I.)

Come si vede, l'ipotesi di uscite dal sistema situate in sedi differenti dallo scompartimento centrale conduce a considerazioni interessanti (di cui la precedente è solo una delle varie prospettabili), ma che possono essere valutate con adatti disegni sperimentali.

Nella valutazione della cinetica dell'assorbimento, particolari considerazioni devono essere fatte quando il fenomeno non segue o segue parzialmente reazioni di prim'ordine. Nei riguardi dell'assorbimento, possono intervenire in modo rilevante fenomeni di saturazione, di trasporto attivo, di trasporto facilitato, di reazioni di tipo Michaelis–Menten. Così, ad es., una *preparazione a cessione controllata* può essere rappresentata da un input costante (di ordine zero) dal tempo 0 al tempo τ, seguita da una cessione di prim'ordine, cosicché tale cinetica può prendere la forma riportata nella Fig. 7. Si deve anche rilevare che, nel caso di una somministrazione a velocità costante (v) (*ordine zero*), la cinetica plasmatica nello scompartimento centrale, in cui avviene l'introduzione del farmaco, qualora la cinetica dopo l'iniezione e.v. a bolo sia data dall'eq. (II), è data da:

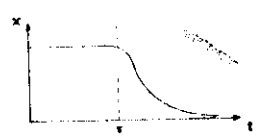


FIG. 7. – Cinetica di cessione controllata

$$x(t) = v \cdot \sum_i \int_0^t A_i e^{-a_i t} = v \cdot \sum_i \frac{A_i}{a_i}(1 - e^{-a_i t}) =$$

$$= v \cdot \left(\sum_i \frac{A_i}{a_i} - \sum_i \frac{A_i}{a_i} e^{-a_i t}\right)$$

L'asintoto $x(\infty)$ è pari a $v \cdot \sum_i \frac{A_i}{a_i} = v \cdot AUC$, mentre la curva che porta a tale asintoto contiene gli stessi esponenti che si riscontrano per somministra-

zione a bolo. Ciò è ben evidente nel caso di un solo scompartimento aperto, in cui si ha

$$x_1(t) = v \cdot \frac{A_1}{a_1}(1 - e^{-a_1 t}),$$

in cui velocità di salita di tale cinetica è caratterizzata dalla costante di eliminazione.

L'esistenza di *cinetiche non lineari* è di solito non facilmente evidenziabile, perché la cinetica con una singola dose può essere compatibile con un modello lineare; in genere sono necessarie cinetiche condotte in un campo di dosi relativamente ampio per rendere chiaramente apparente il fenomeno. Così, nel caso dell'assorbimento dell'ac. fenclozico [12], i dati graficati in modo adatto indicano una cinetica governata da un processo di tipo Michaelis-Menten.

Nel caso del fenclofenac, la cinetica appare lineare in studi a dose singola, ma per dosi ripetute si hanno livelli a steady-state nettamente inferiori a quelli previsti [13].

Si può notare a questo proposito che l'equazione

$$\text{(XI)} \qquad \frac{dx_1}{dt} = -K_1 \frac{x_1}{K_m + x_1}$$

(con $K_1 = \frac{v_{max}}{V_1}$, ove v_{max} è il flusso massimo che esce dallo scomp. 1 e con K_m = costante di Michaelis-Menten) conduce, per $x_1 \gg K_m$, all'equazione

$$\frac{dx_1}{dt} = -\frac{K_1}{K_m} \qquad \text{(ordine zero)}$$

e per $x_1 \ll K_m$, all'equazione

$$\frac{dx_1}{dt} = -\frac{K_1}{K_m} x_1 \qquad \text{(prim'ordine).}$$

Quindi, in un campo di dosi (o di concentrazioni) adatte, si passerà da reazioni di prim'ordine a reazioni di ordine zero.

Inoltre, in presenza di un assorbimento dominata da una cinetica di Michaelis-Menten, i livelli di pseudo steady-state per somministrazione multipla risulteranno minori di quelli attesi secondo la equazione (IX).

Se nel caso dell'equazione (XI) x_1 rappresenta la quantità di farmaco nello scomp. 1 ($x_1 = c \cdot V_1$, con c = concentrazione), si ottiene

$$\frac{dx_1}{dt} = -K_1 \frac{x_1}{K'_m + x_1}$$

con $K_1 = v_{max}$; $K'_m = K_m \cdot V_1$; il valore di K'_m può in tal caso essere valutato dal valore di x_1 per cui

$$\frac{dx_1}{dt} = -\frac{K_1}{2} = -\frac{v_{max}}{2}.$$

Si deve rilevare che in presenza di una cinetica di Michaelis-Menten, il sistema presenta un ulteriore grado di libertà.

Per un confronto su 6 metodi differenti di valutare i parametri di una reazione di Michaelis-Menten vedasi Tong et al. [14]. Si hanno difficoltà nello stimare tali parametri e piccole differenze nelle loro stime iniziali comportano grandi differenze nei valori finali.

La presenza di non linearità nel processo di assorbimento è evidenziato da grafici che pongono in relazione AUC con la dose, nel qual caso si hanno curve che presentano una soglia e una curvatura verso l'alto; successivamente l'andamento è rettilineo, il che indica che in tal campo di concentrazioni si è nell'ambito dei processi saturabili (e quindi di cinetiche ordine zero, eventualmente associate a processi di prim'ordine).

Esiste un aspetto connesso con la farmacocinetica dell'assorbimento che merita attenzione: quello riguardante i *tempi di permanenza* e i *tempi di trasferimento* in sistemi scompartimentali, i primi corrispondenti al tempo in cui in media il farmaco permane in un dato scompartimento e il secondo il tempo speso nel passare da uno scompartimento ad un altro o in un ricircolo [15]. A questo proposito, intervengono i vari momenti della curva della cinetica del farmaco. Il primo momento centrale (MRT) corrisponde al tempo medio di permanenza

$$MRT = \frac{\int_0^\infty t \cdot x(t)\,dt}{AUC}$$

e il secondo momento centrale corrisponde alla varianza di MRT (VRT)

$$VRT = \frac{\int_0^\infty (t - MRT)^2 \cdot x(t) \cdot dt}{AUC}.$$

Se x(t) corrisponde alla (II) o alla (III), si avrà

$$AUC = \sum \frac{A_i}{a_i}$$

$$MRT = \frac{\sum \frac{A_i}{a_i^2}}{AUC}$$

$$VRT = \frac{\sum \frac{2A_i}{a_i^3}}{(AUC - MRT^2)}.$$

Tali valori sono facilmente calcolabili quando siano noti gli A_i e gli a_i.

Assieme ad altri termini, si può ancora ricordare il tempo medio totale di permanenza in un dato scompartimento i (MRT_i) corrispondente al tempo medio speso da una particella del materiale durante tutti i suoi passaggi attraverso quel dato scompartimento

$$MRT_i = \frac{AUC}{D} = \frac{1}{k_{io}}.$$

Nel caso della somministrazione orale, il tempo medio di permanenza nello scompartimento centrale, in base al modello indicato nella Fig. 2, si ha

$$MRT_{os} = MRT_{ass} + MRT_{ev}$$

$$VRT_{os} = VRT_{ass} + VRT_{ev}.$$

Un assorbimento rapido è dato da un valore relativamente piccolo di MRT_{ass} ; un valore relativamente piccolo di VRT_{ass} indica che la maggior parte del farmaco è assorbita entro breve tempo (con scarsa dispersione dei valori).

Se l'assorbimento è caratterizzato da una sola costante di trasferimento (k_{12}) si ha

$$MRT_{ass} = \frac{1}{k_{12}}$$

$$VRT_{ass} = \left(\frac{1}{k_{12}}\right)^2$$

per cui $VRT_{ass} = MRT^2_{ass}$.

Se quest'ultima equazione non è seguita in buona misura, si deve pensare che il processo non segue il prim'ordine.

Nel caso di 2 costanti di trasferimento in serie si ha

$$MRT = \frac{1}{k_{12}} + \frac{1}{k_{23}}.$$

Si può anche calcolare la differenza di MRT e di VRT tra due preparazioni; tale valutazione presenta un vantaggio rispetto al semplice confronto di t_{max} per quanto riguarda l'assorbimento di 2 preparazioni (che è distribuito in modo non normale e quindi rende inadatto un confronto mediante il test t di Student). Inoltre, il valore di t_{max} dipende, oltre che dall'assorbimento, da altri processi farmacocinetici (quali la distribuzione e l'eliminazione), il che non avviene per l'MRT_{ass}. Un esempio di applicazione di tali formule a cinetiche per l'assorbimento orale è dato da Riegelman et al. [16].

Si deve infine rilevare che gli errori nel calcolo di MRT e VRT dovuti all'estrapolazione della curva x(t) oltre l'ultimo dato sperimentale possono essere grandi e comunque crescono al crescere del momento.

Qualora si usi per la determinazione di AUC dell'estrapolazione tra t_m (tempo dell'ultimo dato disponibile) e ∞, secondo l'ipotesi di un andamento monoesponenziale (con esponente a_n) di x(t) dopo t_m, si ha

$$\int_{t_m}^{\infty} t.\, x(t)\, dt = \frac{x(t_m)}{a_n}\left(t_m + \frac{1}{a_n}\right)$$

e

$$\int_{t_m}^{\infty} (t - MRT)^2\, x(t)\, dt = \frac{x(t_m)}{a_n}\left(t_m^2 + \frac{2\,t_m}{a_n} + \frac{2}{a_n^2}\right).$$

BIBLIOGRAFIA

1. Wan Rossum, J. M. 1982. System dynamics in pharmacokinetics. G. Bozler & J. M. Van Rossum (Ed.). *Pharmacokinetics during drug development: data analysis and evaluation techniques.* Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, pp. 232–241.
2. Chiou, W. 1978. Critical evaluation of potential error in pharmaceutic studies of using the linear trapezoidal rule method for the evaluation of the area under the plasma level-time curve. *J. Pharmacokin. Biopharm.* **6**: 539–546.
3. Yeh, K. & Kwan, K. 1978. A comparison of numerical integrating algorhythms by trapezoidal, Lagrange and spline approsimation. *J. Pharmacokin. Biopharm.* **6**: 79–98.
4. Rescigno, A. & Segre, G. 1966. *Drug and Tracer Kinetics.* Blaisdell, Waltham.
5. Weinberger, M., Hendeles, L. & Bighley, L. 1978. The relation of product formulation to absorption of oral theophylline. *New Engl. J. of Med.* **299**: 852–856.
6. Rodda, B. E. & Davis, R. L. 1980. Determinating the probability of an important difference in bioavailability. *Clin. Pharmacol. Ther.* **28**: 247–252.
7. Westlake, N. J. 1973. *In dosage form design and bioavailability.* J. Swarbrick (Ed.). Lea & Febiger, pp. 158–168.
8. Westlake, J. 1972. Use of confidence intervals in analysis of comparative bioavailability trials. *J. Pharm. Sci.* **21**: 1340–1341.
9. Shirley, E. 1976. The use of confidence intervals in biopharmaceutics. *J. Pharm. Pharmacol.* **28**: 312–313.
10. Hirtz, J. 1980. La biodisponibilité: interpretation des resultats experimentaux et prise de decision. Colloque INSERM, Evaluation des Médicaments. *INSERM.* **96**: 439–448.
11. Fluehler, H., Hirtz, J. & Moser, H. A. 1981. An aid to decision-making bioequivalence assessment. *J. Pharmacokin. Biopharm.* **9**: 235–243.
12. Glatt, D. S. 1971. Pharmacokinetics of fenclozic acid in animals and man. *J. Pharm. Sci.* **60**: 363–371.
13. Henson, R., Lloyd Jones, J. G., Michols, J. D. & Jordan, B. J. 1980. Pharmacokinetics of fenclofenac following single and multiple doses. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin.* **28**: 479–485.
14. Tong, D. D. M. & Metzler, C. M. 1980. Mathematical properties of compartment models with Michaelis-Menten type elimination. *Math. Biosci.* **48**: 293–306.
15. Segre, G. 1982. Pharmacokinetics: compartmental representation. *Pharm. Ther.* **17**: 111–127.
16. Riegelman, S. & Collier, P. 1980. The application of statistical moment theory to the evaluation of *in vivo* dissolution time and absorption time. *J. Pharmacokin. Biopharm.* **8**: 509–534.
17. Wood, J. H. & Thakker, K. M. 1982. Michaelis-Menten absorption kinetics in drugs: examples and implications. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **23**: 183–188.
18. Yamaoka, K., Nakagawa, T. & Uno, T. 1978. Statistical moments in pharmacokinetics. *J. Pharmacokin. Biopharm.* **6**: 547–558.
19. Mulln, P. W. & Foster, R. W. 1979. Comparative evaluation of six techniques for determinating the Michaelis-Menten parameters relating phenytoin dose and steady-state concentration. *J. Pharm. Pharmacol.* **31**: 100–104.

Ann. Ist. Super. Sanità
Vol. 18, N. 3 (1982), pp. 541-546

Biofarmaceutica e formulazione dei farmaci

FULVIO MARIA RICCIERI

Istituto di Chimica Farmaceutica, Università degli Studi, Roma

Malgrado la popolarità dell'argomento e le innumerevoli conferenze e convegni che si sono tenuti in questi ultimi anni, i problemi biofarmaceutici e la relativa biodisponibilità dei medicamenti, provocano ancora vivaci discussioni in termini tecnico-scientifici, ma soprattutto in termini politico-economici e normativi.

Per quanto a mia conoscenza, il termine biofarmaceutica è stato coniato e usato per la prima volta negli anni '50 nella Scuola di Farmacia dell'Università di California per indicare un nuovo corso di insegnamento. In questo corso venivano presentati criticamente i dati allora disponibili che ponevano in relazione il rilascio del principio attivo dalle forme farmaceutiche in cui era contenuto, con i fattori fisiologici e tecnologici. In realtà, alcuni principi biofarmaceutici erano in parte noti e praticati da tempo, almeno per quanto riguarda la produzione farmaceutica più qualificata. Si potrebbe addirittura affermare che il vecchio concetto di « incompatibilità » così in voga nella vecchia Farmacia Galenica, era già *ante litteram* biofarmaceutica e biodisponibilità.

Per biofarmaceutica, noi intendiamo oggi, senza dilungarci più oltre, lo studio delle relazioni tra le proprietà chimico-fisiche legate al farmaco e al prodotto farmaceutico e la biodisponibilità del farmaco stesso. Dove per biodisponibilità si intende la velocità e la quantità di farmaco nella forma attiva che raggiunge la circolazione sistemica.

Poiché, come è noto, la biodisponibilità di un farmaco ha effetti sulle sue azioni terapeutica, clinica e tossicologica, la biofarmaceutica ha assunto un'importanza che ha determinato gli incontri e le discussioni di cui si è detto, ma che soprattutto ha modificato profondamente l'approccio scientifico alla progettazione e alla preparazione di un prodotto farmaceutico. Questo infatti non è più solo una forma farmaceutica o forma di somministrazione, ma un sistema di rilascio del farmaco (sistema terapeutico), studiato in modo tale che la molecola attiva raggiunga l'obiettivo nel tempo e nella quantità necessaria e prevista e per il periodo richiesto, senza dar luogo a fenomeni indesiderati. La programmazione e la verifica della biodisponibilità di un medicamento sono oggi tra i compiti più importanti e più stimolanti del tecnico dell'industria che produce farmaci, il quale, in sede di studio della formulazione, deve analizzare tutte le variabili controllabili del sistema costituito da farmaco + eccipienti + tecnologia per ottenere un prodotto farmaceutico sicuro, efficace e riproducibile, oltre che pratico e stabile. Scegliendo accuratamente la via di somministrazione e progettando opportunamente il prodotto farmaceutico, la biodisponibilità del farmaco può essere variata, nel senso che si può ottenere un assorbimento rapidissimo e completo, uno lento e prolungato nel tempo oppure per motivi particolari, si può evitare del tutto l'assorbimento, oggi, con metodi diversi, si sta tentando di focalizzare l'effetto dei farmaci su precise zone o organi del corpo.

Per i fattori coinvolti, la biodisponibilità dei farmaci è soggetta a notevoli variazioni di livello, specie per i prodotti farmaceutici solidi destinati alla somministrazione orale e, in generale, per principi attivi per i quali è prevista una fase di assorbimento.

L'assorbimento sistemico da questi prodotti farmaceutici è un processo costituito da una successione di stadi dinamici:

- la liberazione del farmaco dalla forma farmaceutica che lo racchiude (disaggregazione e disgregazione);
- la dissoluzione del farmaco nell'ambiente acquoso circostante;
- l'assorbimento, attraverso le membrane cellulari, nella circolazione sistemica.

In questa sequenza, la velocità globale del processo, cioè la velocità con cui il farmaco raggiunge il torrente circolatorio, dopo l'assunzione è determinata dalla velocità di quello stadio che dei tre è il più lento e che si definisce comunemente *rate limiting step*.

Fondamentalmente i fattori biofarmaceutici che vengono presi in considerazione per il loro effetto sulla biodisponibilità, sono di tre tipi:

- fattori fisiologici-biochimici;
- fattori legati alle proprietà del farmaco;
- fattori legati alla forma farmaceutica.

Non è certo mia intenzione passare in rassegna tutti i fattori che hanno effetto sulla biodisponibilità. Vorrei solo evidenziarne alcuni aspetti per svolgere la mia tesi e supportare quella che è una posizione personale di fronte ai problemi biofarmaceutici.

Tralasciando i fattori fisiologici e biochimici, prendiamo in considerazione, sommariamente, quelli dipendenti dalle caratteristiche chimico-fisiche del farmaco

e della forma farmaceutica. Quelli dipendenti dal farmaco, in parte, sono legati alle proprietà necessarie per un attraversamento veloce delle membrane biologiche, coefficiente di ripartizione e costante di dissociazione ad esempio, altri invece sono da mettere in relazione con la fase precedente al passaggio della membrana biologica, quella fase che dalla forma farmaceutica iniziale porta alla presenza in soluzione della forma trasportabile del farmaco; tra questi ultimi, i più rilevanti sono la velocità di dissoluzione, la solubilità e le proprietà strettamente legate a queste, come le dimensioni delle particelle solide, il tipo di derivato del farmaco, il polimorfismo.

In questo contesto è necessario tener conto anche dei problemi di stabilità chimica del farmaco che si riflettono poi sulla sua biodisponibilità.

In numerosi casi la velocità di dissoluzione di un farmaco è strettamente legata alla velocità del suo assorbimento *in vivo*, in quanto fattore limitante del processo globale. Questo fattore interessa principalmente la somministrazione orale dei farmaci in forma di compresse, capsule o sospensioni e, solo nei casi di impianto e di sospensioni, la somministrazione parenterale.

Matematicamente il processo di dissoluzione è governato dalla espressione di Noyes–Whitney integrata da Nernst–Brunner. In tale schema, il trattamento teorico che se ne fa comunemente, prevede due fasi successive: una di dissoluzione vera e propria, legata alle caratteristiche della superficie solida, e una di diffusione attraverso uno strato di soluzione satura aderente alla superficie solida e in stretta relazione con le caratteristiche particolari di questo strato rispetto all'ambiente circostante. Come al solito queste due fasi regolano insieme il processo di dissoluzione e la più lenta è quella determinante.

Il controllo *in vitro* di questa proprietà, per i farmaci e per i prodotti farmaceutici, è previsto dalle diverse farmacopee con il così detto « test di dissoluzione » (nella farmacopea nazionale si ritrova per ora il tempo di dissoluzione relativo alla sola monografia « digossina compresse »). Questo test, che mira a valutare l'aliquota di principio attivo che va in soluzione entro un tempo stabilito, viene condotto con apparecchiature e tecniche diverse, tutte criticabili e criticate per certi aspetti. La sua validità deve essere definita caso per caso, specialmente quando si tratti di farmaci critici, per confronto con prove di biodisponibilità *in vivo*, in modo da stabilire cioè una correlazione tra i due tipi di prove *in vivo* e *in vitro*.

Lo scopo del test di dissoluzione può essere diverso:

– controllare e garantire la corrispondenza dei diversi lotti di una stessa specialità medicinale;

– confrontare la biodisponibilità di equivalenti farmaceutici provenienti da produttori diversi (specialità medicinali vs generici);

– permettere la previsione di potenziali problemi di biodisponibilità;

– seguire lo studio e la messa a punto della formulazione di un nuovo principio attivo.

Come si vede, la dissoluzione gioca un ruolo importante nella valutazione dei problemi biofarmaceutici e le specificazioni relative riportate nei codici, devono essere intese ed applicate non solo come requisiti obbligatori imposti dall'Autorità Sanitaria, ma come principi generali di buona pratica scientifica, il cui scopo è una formulazione ottimale del prodotto farmaceutico e la garanzia della sicura e costante prestazione del medicamento.

La valutazione della biodisponibilità con il test di dissoluzione *in vitro* deve essere convalidata dalla conferma dei risultati *in vivo*; questi ultimi devono essere considerati decisivi.

Nel 1974 fu condotta un'indagine su campioni commerciali di compresse da 5 mg di prednisone provenienti da trenta produttori e riguardanti in totale 69 lotti diversi. Nell'indagine venivano controllate l'uniformità di contenuto e la velocità di dissoluzione. 11 di questi lotti furono selezionati per condurre studi di biodisponibilità. La velocità di dissoluzione per questi 11 lotti di compresse variava largamente da meno del 10 % disciolto dopo un'ora per uno dei campioni, fino al 100 % dopo 10 minuti per 2 campioni. Sulla base di tali risultati, si poteva anticipare l'esistenza di differenze di biodisponibilità tra questi prodotti farmaceutici.

Successivamente ulteriori studi sulla dissoluzione sono stati condotti con apparecchi, metodi e condizioni diversi allo scopo di valutare le potenziali correlazioni con i dati *in vivo*.

Malgrado le notevoli differenze nei profili di velocità di dissoluzione tra le diverse compresse di prednisone, non fu possibile rilevare differenze significative tra i valori dell'area sotto la curva dei livelli ematici di prednisone, ottenuti con prove *in vivo*.

Ciò nonostante, fu segnalato e documentato un caso di fallimento terapeutico in due gemelli affetti da iperplasia surrenale congenita. Tale fallimento era associato con uno dei prodotti di prednisone a più bassa velocità di dissoluzione. In questo caso si può dire che la prova *in vitro*, pur se non suffragata convenientemente dal riscontro *in vivo*, aveva segnalato nettamente il rischio di bioinequivalenza dei diversi prodotti.

Le dimensioni delle particelle solide di un farmaco poco solubile, si riflettono su uno dei parametri dell'equazione relativa alla velocità di dissoluzione; esiste infatti una relazione inversa tra la superficie specifica e il diametro delle particelle.

L'area superficiale disponibile al contatto col solvente, l'ampiezza cioè dell'interfase solido–liquido è importante ai fini della dissoluzione. È noto da tempo il suo effetto sulla comparsa e l'entità dei livelli ematici ottenibili somministrando farmaci solidi per via orale, da qui il ricorso ai prodotti cosiddetti micronizzati e lo sviluppo di tecniche sempre più sofisticate per ottenerli. Nella valutazione di questo fattore, è necessario però tener conto che la micronizzazione è realmente utile quando la solubilità del farmaco è inferiore allo 0,3 % (ci sono micronizzati che permettono di ottenere gli stessi livelli ematici con il 50 % della dose); inoltre, l'aumento della superficie specifica di un solido oltre certi limiti, esalta enormemente quelle che vengono definite le proprietà superficiali. In quest'ultima evenienza, le interazioni elettrostatiche tra particelle prendono il sopravvento determinando il più delle volte la loro aggregazione e quindi la riduzione della superficie esposta. Inoltre l'esasperazione del potere adsorbente nei confronti dei gas, si oppone notevolmente alla bagnabilità del solido. Entrambi questi

effetti ostacolano la dissoluzione e la biodisponibilità, in contrasto con l'assunzione primitiva; l'aumento eccessivo dell'area superficiale può compromettere, inoltre, la stabilità del farmaco. L'uso di derivati più solubili di un farmaco (sali in luogo di un elettrolita debole) in linea di massima migliora la velocità di dissoluzione, con meccanismi diversi, tutti contemplati nella espressione della velocità di dissoluzione (solubilità all'equilibrio, proprietà dello strato diffusionale, riprecipitazione in forma finissima, ecc.). Anche in questo caso però, il risultato non è sempre e solo una migliore biodisponibilità, in quanto altri fattori possono invertire i risultati troppo semplicisticamente attesi. Non sempre una maggiore solubilità determina una migliore velocità di dissoluzione, questo perché la solubilità è solo uno dei parametri che governano la velocità di dissoluzione, la quale come si è detto, è un processo a due stadi che in certi casi può essere ostacolato dalla fase di diffusione. Spesso si ricorre all'uso di derivati del farmaco che presentano una minore solubilità e soprattutto una minore velocità di dissoluzione nei confronti della molecola attiva originale. Questa derivazione che potrebbe sembrare in certi casi un'insensata riduzione della biodisponibilità, è richiesta da motivi altrettanto importanti, quali il miglioramento della stabilità o la correzione di caratteri organolettici sgradevoli.

Quasi sempre la soluzione adottata è un compromesso tra le diverse esigenze. L'eritromicina ad esempio, instabile in ambiente acido, con una vita media nei succhi gastrici di circa due minuti, viene usata per via orale come stearato e come estolato di eritromicina, entrambi molto poco solubili nei succhi gastrici. Questi due derivati vengono però scissi nell'intestino dove l'eritromicina liberata viene rapidamente assorbita. In questo caso risulta una proporzionalità inversa tra la velocità di dissoluzione e la biodisponibilità dell'antibiotico.

Il caso dell'estere lincomicina 2-fosfato ripropone la non univocità del rapporto dissoluzione-solubilità/biodisponibilità. Questo derivato risulta meno amaro del corrispondente lincomicina alcool, in quanto il gruppo fosfato impartisce alla molecola una carica netta negativa, invece della positiva originale. Questa variazione strutturale disturba e previene l'interazione coi recettori del gusto amaro; successivamente l'enzima fosfatasi libera *in vivo* il composto attivo, senza che si abbia una alterazione del tempo relativo alla comparsa del picco di livello ematico, in confronto alla molecola originale.

Nei casi presentati, si è voluto evidenziare come la modificazione chimica del farmaco con conseguenze diverse sulla solubilità e sulla velocità di dissoluzione, non dà risultati univoci per quanto riguarda la biodisponibilità. Per motivi diversi, un aumento della solubilità può condurre ad una riduzione della biodisponibilità, come pure una riduzione di solubilità può portare ad un maggiore o uguale assorbimento.

Il *polimorfismo* è un fenomeno importante per i problemi biofarmaceutici, in quanto la sua incidenza sulla non equivalenza terapeutica di equivalenti farmaceutici per prodotti esistenti in commercio, è piuttosto elevata. Importanti classi di farmaci presentano questa proprietà; solo per dare un'idea dell'entità di questo fenomeno, basti pensare che delle sostanze organiche cristalline riportate nella Farmacopea Europea, circa il 36 % presentano casi di polimorfismo o di pseudopolimorfismo, con punte superiori nel caso dei barbiturici e di sostanze di natura steroidica.

Accanto alla differenza di reattività, stabilità e solubilità tra le singole modificazioni cristalline, ci sono di solito considerevoli differenze nella velocità di dissoluzione. In particolare, è assodato che la forma amorfa di una sostanza è più velocemente solubile della corrispondente forma cristallina; due classici esempi di tale comportamento sono quelli relativi alla novobiocina e alla insulina-zinco, che qui non hanno bisogno di essere illustrati.

Nel caso di sostanze che cristallizzano con solvente di cristallizzazione, solvati, e in particolare quando il solvente è acqua, idrati, (forme pseudopolimorfe), la solubilità e la velocità di dissoluzione possono essere sensibilmente diverse. I cristalli anidri sono più rapidamente solubili di quelli idrati, ma non per questo la scelta della modificazione più opportuna si presenta ovvia. Nel caso dell'ampicillina, si è dimostrato da tempo che la modificazione anidra ha una maggiore energia libera di quella triidrata, pertanto dovrebbe dare e dà una biodisponibilità maggiore conseguente ad un più rapido assorbimento. Ciononostante anche il triidrato è largamente usato, in quanto sulla base di una minore velocità di dissoluzione e di una più lenta fase di assorbimento può assicurare una relativamente più lunga durata dei livelli ematici.

Polimorfismo e pseudopolimorfismo pongono rilevanti problemi nei riguardi della sicurezza delle proprietà biofarmaceutiche dei prodotti farmaceutici. Le fasi metastabili, più ricche di energia libera e teoricamente più opportune per quanto concerne la biodisponibilità, tendono a trasformarsi in fasi più stabili. Esse possono dar luogo cioè a trasformazioni spontanee, talora difficilmente controllabili del tipo: da amorfo a cristallino, da cristallino metastabile a cristallino più stabile, da anidro a idrato, con conseguente spontanea alterazione della biodisponibilità e comparsa di rischi diversi conseguenti ad esempio alla formazione e crescita di cristalli. Non basta quindi individuare e preparare la forma più ricca di energia e più attiva, ma è necessario conoscerne il campo di esistenza e stabilizzare, se necessario, tale forma per evitare gli inconvenienti collegati con la transizione di fase. Le tecniche per l'analisi di questa proprietà fisica dei solidi, sono piuttosto sofisticate e complesse, la USP XX riporta monografie sull'IR, la diffrazione dei raggi X, la termocalorimetria differenziale, l'analisi termica differenziale e la termogravimetria. La farmacopea italiana VIII Ed. ricorre alla spettrofotometria IR per il controllo del limite di polimorfo A nel cloramfenicolo palmitato. A questo proposito la superiore biodisponibilità del polimorfo B sembra sia dovuta più che alla migliore solubilità, alla disposizione delle molecole nel reticolo cristallino. Dati più recenti, infatti, portano alla conclusione che l'idrolisi dell'estere abbia luogo anche in fase eterogenea per reazione tra la sostanza cristallina e l'enzima, e che la modificazione B del cloramfenicolo palmitato possieda la disposizione sterica più adatta per l'attacco dell'esterasi. Si tratterebbe, quindi, di differenze nella reattività e non nella solubilità che determinano la migliore biodisponibilità del cloramfenicolo palmitato polimorfo B. Questo fatto permette di ipotizzare casi in cui un polimorfo meno solubile, può essere il più biodisponibile.

Altri problemi biofarmaceutici sono legati a fattori relativi alla formulazione e alla scelta della via di somministrazione. Uno di tali fattori, il più importante, è rappresentato dalle interazioni dei costituenti della forma farmaceutica con il farmaco e con il sito biologico interessato all'assorbimento, interazioni che possono essere distinte in due tipi:

– interazioni casuali, il più delle volte negative sulla biodisponibilità e quindi da evitare e da correggere;

– interazioni volute, per ottenere effetti particolari, di solito una migliore prestazione del medicamento.

Molti dei problemi formulativi connessi con la stabilizzazione delle emulsioni e delle sospensioni, con la bagnabilità delle polveri e con la solubilizzazione di composti poco solubili, possono essere affrontati e risolti con l'aiuto dei tensioattivi.

Per questi motivi tali sostanze sono largamente impiegate nelle più diverse forme farmaceutiche. Contemporaneamente però, la loro presenza solleva altri problemi sulle possibili influenze che questo gruppo di sostanze può avere sulla velocità e sull'entità dell'assorbimento del farmaco. È questo un settore del quale si è occupato anche il nostro gruppo di ricerca.

I risultati ottenuti con esperienze *in vivo*, mostrano chiaramente che l'effetto dei tensioattivi sulla biodisponibilità dei farmaci non è sempre lo stesso; talora è possibile rilevare un aumento, altre volte una diminuzione dei livelli ematici di farmaco ottenuti.

Per semplificare il problema, possiamo dire che tutti gli effetti osservati, a proposito della biodisponibilità, possono essere collegati a quattro fenomeni principali, così schematizzati:

– interazione del tensioattivo col farmaco;

– interazione del tensioattivo con la forma farmaceutica;

– interazione del tensioattivo con la membrana biologica;

– interazione del tensioattivo con l'organismo vivente.

L'interazione del farmaco o dei farmaci presenti nella forma farmaceutica può avvenire con la singola molecola (monomero) del tensioattivo oppure se la concentrazione di quest'ultimo è sufficientemente elevata, con le micelle che si formano per associazione di più monomeri.

L'interazione con la forma farmaceutica va intesa come l'insieme di tutti i tipi di effetto che il tensioattivo può avere sulla liberazione del farmaco dal prodotto farmaceutico. Ad esempio, sul tempo di disaggregazione e sul successivo processo di dissoluzione. Oppure l'azione emulsionante dopo la somministrazione rettale di un farmaco in eccipiente lipofilo.

Terzo punto, l'interazione con la membrana biologica. Questa può verificarsi sulla superficie della membrana oppure al suo interno con i singoli componenti la struttura della barriera. In quest'ultimo caso è da puntualizzare che è il monomero, il solo in grado di penetrare la biomembrana e non la micella. In entrambi i casi l'effetto finale può essere un'alterazione della permeabilità della biomembrana stessa.

Il quarto e ultimo punto si riferisce alle azioni farmacologiche che alcuni tensioattivi possono esercitare in differenti siti degli organismi viventi. Essi possono ad esempio influenzare il tempo di svuotamento dello stomaco e interferire con i movimenti peristaltici dell'intestino.

Si deve pure considerare che ciascuno dei quattro tipi di interazione può avere un segno positivo o negativo, per quanto riguarda il suo effetto sulla biodisponibilità e tutti e quattro possono verificarsi contemporaneamente e interferire tra di loro. Pertanto l'effetto globale finale sarà il risultato della sommatoria dei valori relativi dei singoli fattori.

Da questa rapida presentazione si può capire quanto complesso sia il problema dell'effetto dei tensioattivi sulla biodisponibilità dei farmaci.

Un'indagine puntuale sui meccanismi dei fenomeni che sono stati osservati *in vivo*, può essere fatta solo separando tra loro i singoli meccanismi, considerandoli uno per volta, ricorrendo per questo a modelli *in vitro* semplificati.

Vorrei adesso soffermarmi sui primi tre punti dei quattro enumerati: considerando e le micelle e i monomeri di tensioattivo.

Una sostanza solida, per attraversare una biomembrana deve in linea di massima, prima passare in soluzione. Nel caso di un farmaco poco solubile, la presenza di tensioattivo in concentrazione superiore alla CMC, può migliorare la sua solubilità. Ciò nonostante, poiché le micelle (e il farmaco in esse incluso) non sono in grado come tali di attraversare la membrana, l'effetto solubilizzante risulta positivo sull'assorbimento del farmaco solo nel caso in cui l'equilibrio tra farmaco libero e farmaco in micella è sufficientemente rapido così da non essere il fattore limitante del processo di assorbimento. Solo in questo caso il *by pass* attraverso la solubilizzazione micellare porta ad un aumento della biodisponibilità per un aumento della velocità di dissoluzione, altrimenti questa inclusione in micella del principio attivo può determinare una diminuzione della velocità di assorbimento. Mentre la solubilizzazione micellare di una singola specie è stata ampiamente studiata, molto pochi sono i dati disponibili ed altri problemi sorgono, quando esiste la possibilità che un secondo solubilizzato possa essere catturato dalla micella. Questo problema non è di scarso interesse, poiché quando un tensioattivo si trova in una formulazione allo scopo di modificare l'assorbimento di un farmaco, mediante solubilizzazione micellare, può succedere che un altro composto poco solubile, diverso dal farmaco, sia presente insieme nella forma farmaceutica; pertanto esso potrà competere per la fase micellare, interferendo con la solubilizzazione e in definitiva con la velocità di assorbimento del farmaco.

In che modo un secondo solubilizzato influenza la distribuzione tra fase micella e fase acqua del farmaco?

Vediamo le conclusioni cui si è giunti, realizzando una serie di esperienze con un tensioattivo, il polisorbato 80, e ricorrendo ad alcune molecole modello quali gli acidi: benzoico, salicilico e p-ossibenzoico, poco solubili in acqua e con diversa polarità. Considerando la solubilizzazione micellare come un fenomeno di ripartizione tra fase micella ed acqua e determinando la distribuzione del composto tra le due fasi (ad esempio con metodi di dialisi all'equilibrio) si può valutare un coefficiente di ripartizione apparente per le singole sostanze sperimentate. Ora nelle stesse condizioni sperimentali, la presenza di una seconda sostanza che po-

tremmo chiamare agente disturbante, interferisce con la solubilizzazione micellare della prima; interferenza che può essere rilevata dalla variazione del valore del coefficiente di ripartizione apparente. Per quantità crescenti di agente disturbante, la quantità in micella del primo solubilizzato diminuisce, mentre aumenta la sua aliquota libera in fase acquosa, che è quella disponibile all'assorbimento.

Come spiegare questo fenomeno? Si possono fare fondamentalmente due ipotesi, la prima: competizione per lo stesso sito della micella; la seconda: variazione strutturale indotta nella micella da parte dell'agente disturbante. La prima ipotesi è da scartare, in quanto le diverse sostanze, scelte per l'esperimento, si localizzano in zone diverse della micella: in particolare, l'acido salicilico si ritrova essenzialmente nel nucleo paraffinico, mentre il p-ossibenzoico si localizza nel mantello poliossietilenico e il benzoico in posizione intermedia. La seconda ipotesi sembra la più plausibile, in quanto è stato evidenziato che questi agenti disturbanti abbassano la temperatura di intorbidamento (*cloud point*) della soluzione micellare.

Il *cloud point* è quella temperatura al di sopra della quale le unità monomeriche che costituiscono la micella non sono più capaci di rimanere aggregate ed essendo insolubili rendono torbida la soluzione. Questa temperatura di intorbidamento è quindi un indice della stabilità della micella stessa. Pertanto variazioni di *cloud point* sono da mettere in relazione con variazioni strutturali dell'aggregato. Che questa ipotesi delle variazioni strutturali indotte dall'agente disturbante sia valida, è dimostrato ulteriormente da alcune osservazioni successive.

È possibile identificare alcune sostanze, tra cui ad esempio l'acido nalidixico, che pur solubilizzate in micella, non provocano alterazioni della temperatura di intorbidamento, e quindi non inducono variazioni strutturali nella micella. Ebbene, tali sostanze, aggiunte ad una soluzione micellare di una prima, non ne alterano il coefficiente di ripartizione apparente.

Al contrario, esistono altre sostanze, come ad esempio idrocarburi saturi a catena sufficientemente lunga, che sono capaci di stabilizzare la struttura micellare e quindi la loro presenza porta ad un aumento della temperatura di intorbidamento; parallelamente anche il coefficiente di ripartizione apparente tende ad aumentare. Quest'approccio non è puramente teorico, in quanto il valore del coefficiente di ripartizione apparente è un indice della frazione di farmaco libera in soluzione e quindi capace di passare attraverso la membrana biologica.

Il terzo punto indicato nello schema iniziale è quello della interazione con la membrana biologica da parte del tensioattivo in forma monomera. Sono infatti solo i monomeri che, penetrando le strutture di una biomembrana, possono interagire con i suoi componenti. L'interazione del sodio dodecilsolfato a concentrazione inferiore a quella critica micellare, con le proteine e con complessi lipoproteici e gli effetti che da tali interazioni possono derivare, può servire da esempio.

Ancora una volta, le esperienze di cui si parla, sono state effettuate *in vitro* e con sistemi modello.

Il modello realizzato utilizzando una soluzione di sieroalbumina bovina come barriera alla diffusione del farmaco (cloramfenicolo), ha mostrato che l'interazione del tensioattivo con la proteina, può portare ad una variazione strutturale di quest'ultima dalla quale deriva un incremento della velocità di flusso del permeante.

In un esperimento analogo, utilizzando nella barriera un complesso lipoproteico (lecitina-BSA 1 : 1) si è osservato che i monomeri di sodio dodecilsolfato erano capaci di scindere il complesso nei due componenti con il risultato di una riduzione della velocità di flusso. Ancora una volta emerge come la stessa sostanza possa provocare effetti tra di loro opposti, il cui risultato sulla disponibilità del permeante dipenderà esclusivamente dai valori relativi dei due fenomeni concomitanti.

In quasi tutti i prodotti farmaceutici il solo componente rigidamente controllato dalle disposizioni normative è il principio attivo. La scelta degli altri materiali per ottenere un prodotto farmaceutico soddisfacente è del singolo produttore ed è questa variabilità nella composizione e nelle tecniche di produzione e controllo che può dar luogo ad impreviste e non programmate variazioni di biodisponibilità e ad una conseguente bioinequivalenza.

Il ricorso a misure della velocità di dissoluzione in funzione del pH, sia per il farmaco da solo che per il prodotto farmaceutico finito, può essere utile ad identificare potenziali problemi di biodisponibilità ed evitare quindi effetti collaterali non desiderati o il fallimento di una terapia. Nel 1979 si ebbe sul mercato americano il sequestro di una specialità a base di furosemide e successivamente il processo.

La FDA sulla base di dati di dissoluzione in funzione del pH, aveva previsto che la presenza di alcuni eccipienti « inerti », nel caso $CaHPO_4$, era da ritenere incompatibile col farmaco, e poteva determinare un rischio terapeutico in soggetti sofferenti di insufficienza cardiaca congestiva associata con edema polmonare. La ditta produttrice mancò di adeguarsi alle indicazioni dell'FDA; per cui una successiva segnalazione di insufficienze terapeutiche in diversi pazienti, provocò il sequestro del prodotto. Le ragioni dell'FDA si fondavano sul fatto che la furosemide, che ha un pK_a 3,8, era associata nella formulazione a notevoli quantità di $CaHPO_4$ che richiede un mezzo acido per solubilizzarsi adeguatamente. Di qui la previsione, poi avverata, che pazienti acloridrici o sofferenti di ipermotilità gastrica, potessero rischiare un insufficiente assorbimento da un prodotto farmaceutico così concepito.

Interazioni volute, relative ai componenti la formulazione, potrebbero essere illustrate dai cosiddetti « promotori dell'assorbimento ». Un esempio di questo aspetto si trova in un recente lavoro di T. Higuchi.

L'utilità della somministrazione rettale, che permette la riduzione dell'inattivazione metabolica dei farmaci suscettibili, può essere notevolmente aumentata, migliorando la velocità di assorbimento del farmaco attraverso i tessuti barriera, specie per quei farmaci che per la loro polarità e/o per l'elevato peso molecolare trovano difficoltà ad essere somministrati per tale via.

L'uso di sostanze (« adjuvants ») coadiuvanti aumenta significativamente la velocità dell'assorbimento di tali farmaci e sembra indirizzarlo verso il sistema linfatico dove la probabilità di una perdita metabolica nel fegato per l'effetto *first pass* è ridotta.

Tra le sostanze utilizzate a questo scopo troviamo il salicilato e il 5-metossisalicilato di sodio; gli esperi-

menti condotti su animali da laboratorio hanno dimostrato che l'assorbimento rettale di alcuni farmaci, e tra questi l'insulina e la teofillina, viene sensibilmente aumentato da questi coadiuvanti. In particolare una formulazione rettale di insulina otteneva una riduzione dei livelli ematici di glucosio confrontabile con quella ottenuta iniettando per via i.m. la stessa dose di ormone polipeptidico. Questi coadiuvanti aumenterebbero la permeabilità della membrana nei confronti di quei farmaci che tendono a restare associati con la fase acquosa. Il meccanismo non è ancora noto, si pensa genericamente ad effetti « idrotropici » o a interazioni con le membrane biologiche. Più probabile è un miglioramento della diffusività in membrana per accoppiamento di ioni.

Per completare questa rapida esposizione di problemi biofarmaceutici, un breve cenno al fattore « forma » e « via di somministrazione ».

È noto che le forme di somministrazione dei farmaci possono essere ordinate secondo valori relativi di biodisponibilità. Quest'ordine però è qualche volta sconvolto da casi particolari. La forma orale rivestita può essere più biodisponibile della corrispondente non rivestita; ad esempio per motivi di stabilità chimica come nel caso dell'eritromicina. Più recenti sono gli esempi di somministrazione topica che presenta vantaggi non indifferenti nei confronti di altre forme definite genericamente più disponibili:

– la trinitrina in forma di pomata ha una biodisponibilità migliore rispetto alla forma orale in quanto si evita l'effetto *first pass*, la scopolamina, applicata mediante il sistema terapeutico *transderm*, permette il controllo della nausea per un periodo prolungato senza gli inconvenienti dovuti a picchi di livello ematico troppo elevati come si hanno nella somministrazione per via parenterale.

Questa rappresentazione rapida, incompleta e per molti versi volutamente ambigua e sconcertante, dei principali fattori biofarmaceutici e dei loro effetti sulla biodisponibilità, dimostra come questo importante aspetto nella formulazione farmaceutica non possa e non debba essere affrontato superficialmente, ma, evidentemente, neppure in maniera dogmatica. Obiettivo fondamentale della formulazione è l'ottenimento della prestazione ottimale di un farmaco, obiettivo che viene perseguito osservando le specificazioni e gli standard previsti in farmacopea, ottemperando alle norme di buona fabbricazione ed eseguendo razionalmente i controlli di qualità.

Finora la farmacopea e le Autorità Sanitarie si sono occupate essenzialmente dell'equivalenza farmaceutica dei prodotti farmaceutici, con pochissime eccezioni; da qualche tempo anche i requisiti di biodisponibilità entrano negli schemi della garanzia pubblica dei medicamenti.

Un segno di questa maggiore attenzione ai problemi di cui stiamo parlando è la proposta di direttiva del consiglio CEE, intesa in generale ad aggiornare le Direttive emanate nel '65 e nel '75 in materia di specialità medicinali. Questo documento nella parte relativa alle modifiche dell'allegato alla Direttiva 75/318 CEE, riguardo ai protocolli analitici, tossico-farmacologici e clinici in materia di sperimentazione delle Specialità medicinali, prevede l'inserimento di una serie di dati relativi ai principi attivi e ai prodotti farmaceutici ai fini di garantire la biodisponibilità. Quando l'Autorità Sanitaria nazionale codificherà questa esigenza improrogabile, le specifiche per il controllo dei fattori biofarmaceutici, imposte, dovranno essere considerate non come ostacoli da superare affinché il prodotto farmaceutico raggiunga il mercato, ma dovranno essere trattate con la stessa filosofia delle Norme di Buona Fabbricazione e del Controllo Qualità, come norme cioè di buona pratica scientifica e come obiettivo da raggiungere nella qualità della produzione farmaceutica.

« Esistono sicuramente differenze di biodisponibilità tra equivalenti farmaceutici, ma altrettanto sicuramente sono state grossolanamente esagerate e presentate come grave rischio per la salute pubblica ». Questi i termini in cui si è espresso nel 1968 un rapporto ufficiale della Task Force on Prescription Drugs. Nello stesso periodo Reese ha affermato che ai fini pratici « l'equivalenza terapeutica è un fatto assodato per 3.000 medicamenti singoli e per 4.000 associazioni sul mercato, sempreché siano conformi alle specifiche previste dalla Farmacopea e prodotti secondo le Norme di Buona Fabbricazione. Le eccezioni sono riferibili forse a 50 farmaci, per i quali nelle stesse condizioni l'equivalenza di solito c'è, ma non sempre ».

Altri hanno affermato che differenze di biodisponibilità del 10–20 % sono poco significative dal punto di vista clinico.

Concludendo Biofarmaceutica e Biodisponibilità sono certamente importanti al fine della corretta formulazione e produzione dei farmaci, specie di quelli critici, quando cioè la bioinequivalenza rappresenta un rischio grave.

Si deve però restare entro i limiti di una equilibrata valutazione della loro importanza e non farne dei feticci, altrimenti in una delle future riunioni ci troveremo a parlare della biodisponibilità dei cosmetici o della biodisponibilità degli alimenti, con tutto il rispetto dovuto a questi settori merceologici.

Ann. Ist. Super. Sanità
Vol. 18, N. 3 (1982), pp. 547-550

Biodisponibilità e valutazione della bioequivalenza nel controllo di preparazioni farmaceutiche

ELENA CIRANNI SIGNORETTI

Laboratorio di Chimica del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il controllo dei medicamenti, considerato nella totalità dei suoi aspetti, costituisce uno dei fattori essenziali di una razionale politica farmaceutica. L'Istituto Superiore di Sanità, quale struttura nazionale di controllo e organo tecnico-scientifico del Servizio Sanitario Nazionale, è deputato a fornire opera di ricerca, controllo e consulenza in tema di interventi sanitari; pertanto esso costituisce, tra l'altro, il principale strumento che garantisce l'applicazione delle norme sui medicinali.

Se si tiene presente che l'obiettivo finale di un controllo pubblico è quello di garantire la qualità, l'efficacia e la sicurezza d'impiego del farmaco, si evince che il controllo dovrebbe essere effettuato durante tutti gli stadi della vita del medicamento, che vanno fino alla sua utilizzazione.

Il controllo di qualità e l'applicazione delle norme di buona fabbricazione da parte del produttore dovrebbero garantire una produzione con un elevato grado di purezza, una biodisponibilità soddisfacente ed una uniformità dei vari lotti. L'intervento dell'organo di stato non dovrebbe limitarsi quindi ad un controllo routinario per assicurare che sia stata rispettata questa qualità ma, sfruttando le conoscenze acquisite durante l'esercizio delle sue funzioni relative ai vari aspetti della situazione farmaceutica nazionale ed internazionale, dovrebbe mirare al suggerimento delle misure più idonee per il miglioramento della politica farmaceutica. Pertanto, oltre a fornire un contributo nella ricerca e nella messa a punto delle metodiche più avanzate per il controllo delle caratteristiche di qualità, deve necessariamente seguire la vita del farmaco anche dopo la produzione, fino allo stadio della sua utilizzazione. In tal modo si potrebbe constatare che molti effetti secondari o reazioni non desiderate di un determinato medicamento non sono sempre attribuibili alle modalità di preparazione e/o alla formulazione ma, ad esempio, ad una non idonea conservazione, con conseguente formazione di prodotti di alterazione, talvolta di natura tossica.

Così pure, l'interpretazione di certi rilevamenti sulla entità dei consumi talvolta può costituire un indice di abuso oppure di un uso non corretto, dovuto a criteri soggettivi di scelta dei medicamenti per mancanza di una adeguata educazione sanitaria.

Il continuo evolversi del settore relativo al farmaco, sia nel campo scientifico e tecnologico che in quello normativo ed economico, ha maturato le condizioni perché venisse accettato il nuovo indirizzo, determinato dall'introduzione dei « generici » come terapia di base. Per assicurare, anche per questa fascia di medicamenti, una buona qualità ed una uniformità di produzione è necessario prevederne il controllo della biodisponibilità, nel senso più ampio del suo significato, controllo che, di fatto, quando necessario viene autonomamente già effettuato sulle rispettive specialità medicinali dalla produzione più qualificata e responsabile. L'adozione di tale parametro, inoltre, consentirebbe di evitare che l'introduzione nel mercato di tali medicamenti, non protetti dal marchio di fabbrica, possa rappresentare un'ulteriore moltiplicazione di preparazioni simili, già esistenti in gran quantità tra le specialità medicinali. In altre parole, tale criterio è l'unico che permette la legittimazione del « generico » nei confronti della corrispondente produzione specialistica.

È compito della Commissione di Farmacopea, eventualmente con il supporto tecnico di altre strutture quali l'I.S.S., affrontare il problema della individuazione di quei farmaci per i quali è necessario determinare, secondo metodiche definite e standardizzate, la biodisponibilità ed i criteri e i limiti entro cui tali farmaci possono essere considerati tra loro bioequivalenti.

Tali obiettivi, peraltro, avrebbero già dovuto trovare attuazione, per una corretta applicazione di quanto disposto dall'art. 7 (D.P.R. 15 settembre 1979) relativo all'Accordo triennale con le farmacie. Infatti questa disposizione prevede, in casi particolari di urgenza, la dispensazione autonoma da parte del farmacista, qualora egli sia eccezionalmente sprovvisto della specialità prescritta, di un'altra di uguale composizione ed indicazione terapeutica. In altre parole, la normativa consente la dispensazione di un equivalente terapeutico, senza però esigere i corrispondenti requisiti standardizzati di bioequivalenza. Quanto detto riveste ancora di più un particolare carattere di urgenza, in vista di un probabile ampliamento del campo di applicazione del principio dell'intercambiabilità, già sancito dal citato Accordo, rispetto alle condizioni attualmente operanti.

Senza entrare ora nel merito di tale problema, vorrei solamente far notare che, per una corretta attuazione di tale norma, la Commissione di Farmacopea dovrebbe definire i criteri e le condizioni basilari che consentano di stabilire per quali farmaci oppure per quali preparazioni possa essere applicata tale sostituzione. Sulla base di questi criteri si dovrebbe quindi succes-

sivamente emanare una lista positiva di medicamenti bioequivalenti. Come è possibile però stabilire la bioequivalenza di preparazioni senza confrontarne, anche indirettamente, la biodisponibilità mediante parametri ben definiti e standardizzati? Ecco quindi evidente che, in tal caso, diventa indispensabile, per la farmacopea prevedere norme per il controllo della biodisponibilità. Tra l'altro, ciò dovrebbe essere attuato entro tempi relativamente brevi, sia considerato che tuttora è in corso la pubblicazione in Gazzetta Ufficiale di una gran parte delle monografie del Formulario Nazionale, sia tenuto conto di quanto enunciato nella proposta di modifica della direttiva CEE 75/318, che prevede per le specialità medicinali, in casi particolari, controlli relativi alla biodisponibilità.

È accezione comune per le Farmacopee prevedere saggi *in vitro* e, in particolare, saggi di dissoluzione per un controllo indiretto della biodisponibilità, non essendo possibile, per ovvie ragioni, l'introduzione dei saggi *in vivo*.

Per assicurare l'equivalenza clinica o terapeutica di prodotti pari e/o di tutti i lotti di produzione dello stesso prodotto, sarebbe necessario teoricamente misurare o l'effetto clinico di un campione rappresentativo o i livelli ematici di quei farmaci per i quali essi sono direttamente correlati con la biodisponibilità. Ciò però non è applicabile, per motivi etici e pratici, alla produzione corrente.

D'altra parte, la conoscenza dei dati clinici e dei livelli ematici significativi per l'azione clinica desiderata, determinati una volta per tutte in una preparazione campione, permette di poter utilizzare i saggi *in vitro* in modo routinario come garanzia della qualità del prodotto e della sua corrispondenza con il campione di riferimento.

Entrando più nel merito, è noto che una delle cause principali della inequivalenza delle preparazioni è rappresentata, oltre che per esempio, dalla loro instabilità e dalla natura degli eccipienti, essenzialmente dalla solubilità del corrispondente principio attivo. Pertanto è evidente che tra i saggi *in vitro* quello di dissoluzione sia il più rappresentativo. Ovviamente esso deve presentare una buona correlazione con le corrispondenti prove *in vivo*, deve essere opportunamente definito e standardizzato e confrontato con una preparazione di riferimento.

L'inclusione di tali norme in Farmacopea dovrà avvenire in modo che vengano rispettate la chiarezza e la flessibilità necessarie. Pertanto la Farmacopea dovrebbe prevedere una monografia generale sul saggio di dissoluzione nella quale siano descritte metodiche alternative, lo schema dei rispettivi procedimenti, i limiti di accettabilità, nonché alcune avvertenze sulle modalità operative quali, per esempio, quelle sul controllo della velocità di agitazione, sull'inerzia del materiale, sulle vibrazioni dell'apparecchiatura, ecc. Le indicazioni specifiche, quali tipo di apparecchiatura, eventualmente alternativo a quelli proposti nella monografia generale, mezzo di dissoluzione, velocità di agitazione, modalità di campionatura, dosaggio, ecc., nonché quelle relative ai limiti consentiti, dovrebbero figurare nelle monografie delle singole preparazioni o in altra collocazione parimenti vincolante. Tali criteri sono quelli su cui si basa il progetto di monografia generale della Farmacopea Europea, proposto dal gruppo di esperti e sottoposto all'esame della Commissione Europea per la successiva approvazione. Esso prevede due metodi alternativi, cioè quello del *paddle* e del *basket* della farmacopea americana, ricalcando anche gli schemi dei due procedimenti ed i criteri di accettabilità. A questo punto, mi sembra opportuno sottolineare che il saggio di dissoluzione, mentre da una parte può essere utilizzato dal fabbricante come garanzia interna della qualità e uniformità della sua produzione, dall'altra può costituire, come già detto, un mezzo di controllo da parte dell'autorità sanitaria. Pertanto, qualora esso sia previsto in farmacopea, il fabbricante potrà continuare ad adottare, per il controllo interno di produzione, quel metodo che avrà ritenuto più idoneo alla sua attrezzatura, purché si assicuri che il medicamento risponda ai requisiti prescritti, effettuando il saggio su un campione rappresentativo dei lotti, con quella particolare metodica che è stata indicata in farmacopea.

Allo stato attuale, i principali metodi di dissoluzione adottati dalle farmacopee sono quello del cestello rotante e quello dell'agitatore a paletta. Il primo è previsto dalla farmacopea britannica ed ambedue, come già detto, dalla U.S.P. e dal progetto europeo. Vari studi hanno dimostrato che ambedue sono soggetti a critiche e pertanto non possiamo escludere che sia previsto l'uso di metodi alternativi. Le critiche maggiori riguardano il metodo del cestello rotante soprattutto perché presenta problemi di riproducibilità. Infatti esso può risentire della vibrazione dell'asta, di una miscelazione non adeguata, dell'intrappolamento di aria nell'interno del cestello, oppure di quello del farmaco nella rete metallica.

Il metodo dell'agitatore a paletta presenta invece alcuni vantaggi quali una maggiore semplicità, una idrodinamica definita ed una facilità di standardizzazione. Infatti vari studi hanno dimostrato che esso è generalmente meno variabile e più riproducibile di quello del cestello.

Nell'applicazione di questi procedimenti, si dovrebbe comunque tenere conto di criteri generali, quali quelli suggeriti dalla Commissione di revisione della farmacopea americana. Ne cito solo alcuni a titolo esemplificativo: per esempio, il mezzo di dissoluzione dovrebbe essere preferibilmente costituito da acqua o, se necessario, da un tampone con pH compreso tra 4 ed 8 o, se del caso, da acido diluito; in esso non dovrebbe essere presente alcun enzima; il volume del mezzo non dovrebbe essere inferiore a tre volte quello necessario per ottenere una soluzione satura della quantità di sostanza presente nell'unità di dosaggio. Qualora ciò non fosse compatibile con le dimensioni dell'apparecchiatura, si dovrebbe variare la natura del mezzo stesso.

L'orientamento della Farmacopea Europea è quello di considerare il saggio di dissoluzione come elemento di valutazione della biodisponibilità del prodotto, oltre che della sua qualità e pertanto, in alcuni casi particolari, esso costituisce un requisito standard indispensabile. Ciò si verifica, come è noto, per esempio nel caso di medicamenti con basso indice terapeutico, breve emivita nel plasma, assorbimento selettivo in una limitata regione del tratto gastro-intestinale, scarsa solubilità del principio attivo, oppure qualora si evidenzi la necessità di una cessione non troppo rapida e così via.

Sulla base di queste premesse, si può presumere che l'intervento dell'autorità sanitaria in questo campo non

dovrebbe avvenire a tappeto in maniera indiscriminata, ma dovrebbe essere rivolto a quel particolare tipo di medicamento e/o a quella particolare forma farmaceutica che può presentare problemi di bioequivalenza. Ritengo quindi che probabilmente anche la Farmacopea Ufficiale seguirà questa filosofia per la scelta delle preparazioni nelle cui monografie debba essere incluso il saggio di dissoluzione.

Il problema comunque non è affatto semplice, come si può dedurre da quello che sta succedendo negli Stati Uniti.

Nel 1976 la Farmacopea americana adottò una politica a favore dell'inclusione generalizzata di un metodo standard di dissoluzione in tutte le monografie delle compresse e delle capsule. Negli anni successivi, fino al 1980, tale politica ha condotto alla individuazione ed alla standardizzazione delle apparecchiature di dissoluzione attualmente previste nella USP. Da allora ad oggi, l'orientamento della Farmacopea americana è quello di prevedere il saggio di dissoluzione per tutte le compresse e le capsule ad esclusione di quelle relative ad antiacidi, proteine, vitamine, purganti e di quelle di gelatina molle riempite di liquido, mettendo però in evidenza la necessità di diversi criteri di applicazione, a seconda della natura dei vari medicamenti. Pertanto, sono stati previsti tre casi, nei quali questi possono trovare appropriata collocazione.

Nella prima fascia rientrano, in generale, tutte le compresse e le capsule. Esse dovrebbero soddisfare ad un saggio di dissoluzione rigorosamente definito per alcuni parametri, quali la percentuale di farmaco disciolto, il tempo di dissoluzione, la natura ed il volume del mezzo.

Il secondo caso si riferisce invece a quei medicamenti che, non presentando documentati e significativi problemi di biodisponibilità, non possono soddisfare ai requisiti indicati nella prima fascia, cioè quella generale, per una serie di fattori diversi quali, ad esempio, solubilità e natura del principio attivo, natura degli eccipienti, tipo di formulazione, ecc.

Il terzo caso si riferisce, infine, a quei medicamenti che invece presentano reali problemi di biodisponibilità. Per essi, la metodica operativa ed i limiti consentiti dovrebbero essere fissati in seguito alla valutazione della loro validità, sulla base della correlazione ottenuta con le corrispondenti prove *in vivo*. Tale criterio è sostanzialmente quello che verrà adottato dalla Farmacopea Europea. Come era prevedibile, l'adozione di provvedimenti abbastanza rigidi ha portato alla ulteriore individuazione di procedure che hanno permesso, in pratica, una applicazione più flessibile delle norme stesse. Pertanto, come conseguenza di tale politica, la Farmacopea americana ha proposto un meccanismo meno vincolante per una parte di medicamenti che ricoprono una larga fetta di mercato. Si tratta, infatti, di equivalenti farmaceutici, cioè di prodotti contenenti lo stesso principio attivo nello stesso dosaggio, ma con differenze nell'andamento di dissoluzione, che non presentano però problemi particolari di bioequivalenza. Per essi la Farmacopea americana vorrebbe prevedere solo indicazioni relative alla metodica di dissoluzione, senza però entrare in merito alla definizione dei limiti che verrebbero definiti dallo stesso produttore; in particolare, ciò avverrebbe mediante indicazione in etichetta del tempo necessario per la dissoluzione del 75 % del dichiarato. Questo provvedimento eviterebbe, in sostanza, la riformulazione di una gran parte di preparazioni di larga diffusione.

Ovviamente, tale politica ha provocato un'immediata reazione, suscitando numerose critiche sia per la mancanza di flessibilità dei criteri proposti, sia per la dubbia validità scientifica di quanto previsto nel citato primo caso, cioè nel caso più generale. Vari commenti hanno rilevato, infatti, che non può essere corretta quella procedura che consenta di estendere, in modo indiscriminato, il campo di applicazione di un saggio come quello di dissoluzione che è basato su proprietà intrinseche di un determinato medicamento. Tuttavia, nonostante tali critiche, esso è stato già di fatto applicato per alcune preparazioni. Infatti, nel Suppl. 1982 alla USP XX, si riscontra l'aggiunta del saggio di dissoluzione, con i limiti previsti dal primo caso (cioè del 75 % entro 45'), in alcune monografie per le quali, precedentemente, tale saggio non era previsto.

Ho ritenuto opportuno fare questo accenno alla situazione americana, in quanto essa costituisce un termometro della complessità del problema.

Anche se la Farmacopea italiana, seguendo criteri diversi, non dovrà affrontare gli stessi problemi degli Stati Uniti, tuttavia si troverà ugualmente di fronte ad un compito estremamente complesso e delicato, nel fornire indicazioni particolari sui limiti e sulle modalità del saggio, di volta in volta, per ogni preparazione per cui esso sia richiesto. La scelta e la standardizzazione dei singoli procedimenti, nonché la definizione dei corrispondenti limiti dovrà avvenire, infatti, solo dopo un sicuro riscontro sulla validità scientifica di quanto proposto, sulla base di un ampio supporto sperimentale.

A questo proposito, mi sembra opportuno, oltre che doveroso, non ignorare le esperienze già acquisite in merito dagli operatori di questo settore nel garantire e nel controllare la loro produzione. Pertanto, anche tenuto conto del prezioso contributo fornito, in questi ultimi anni, dai tecnici dell'industria in seguito alla loro fattiva collaborazione con la Commissione di Farmacopea per la realizzazione del Formulario Nazionale, è auspicabile che anche in questo caso, possa essere adottata una procedura simile. Perciò, se mi è consentito, vorrei suggerire una proposta operativa che preveda tale collaborazione. Essa consiste nella diffusione tra gli operatori del settore, di una scheda-tipo indicante i parametri essenziali del saggio di dissoluzione, relativi alle metodiche riportate nella monografia generale, o a metodiche alternative, unitamente ad una lista positiva di preparazioni per le quali il saggio sia previsto. Ogni operatore in grado di fornire, per una o più preparazioni indicate nella lista, dati sperimentali relativi ai parametri richiesti, dovrebbe riportarli nella suddetta scheda. L'eventuale coincidenza dei dati trasmessi dalle varie fonti potrebbe già costituire un elemento immediato di valutazione del metodo. In caso diverso, le indicazioni disponibili potrebbero essere esaminate e discusse da gruppi di esperti della Commissione insieme agli autori delle singole proposte. Ciò sarebbe, in ogni caso, di estrema utilità per la struttura deputata al controllo, ai fini della successiva standardizzazione del saggio.

Per concludere, mi sembra quindi opportuno sottolineare quanto sia rilevante il problema della biodisponibilità e della bioequivalenza dei farmaci, sia per quanto concerne la loro qualità, sia, soprattutto, per quanto

riguarda la loro efficacia. È un problema reale che non si può ignorare e che va affrontato seriamente in tempi relativamente brevi. È, quindi, indispensabile la definizione e la standardizzazione di norme e di criteri che permettano una corretta applicazione del controllo della biodisponibilità da parte dell'organo di Stato, agevolando, altresì, medici e farmacisti nella valutazione della prescrizione e della distribuzione di medicamenti alternativi.

Suppongo, quindi, che in teoria tutti siano d'accordo sulla necessità che questo problema venga risolto. In pratica, personalmente ho molti dubbi che ciò possa avvenire, per la mancanza di apposite strutture di laboratorio nell'ambito dell'Istituto stesso. È quindi con molta amarezza che concludo facendo rilevare che tale necessità, manifestata da anni, a tutt'oggi non ha avuto attuazione pratica, né si intuisce la volontà di prevederne una futura realizzazione.