

UTILIZACIÓN DE LA GRANULACIÓN POR FUSIÓN EN LA OBTENCIÓN DE COMPRIMIDOS MATRICIALES DE LIBERACIÓN MODIFICADA

Lourdes Ochoa Díaz de Monasterioguren
Laboratorio de Farmacia y Tecnología Farmacéutica.



eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

Vitoria-Gasteiz 2011

UTILIZACIÓN DE LA GRANULACIÓN POR FUSIÓN EN LA OBTENCIÓN DE COMPRIMIDOS MATRICIALES DE LIBERACIÓN MODIFICADA

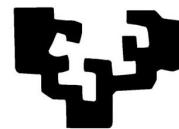
LOURDES OCHOA DÍAZ DE MONASTERIOGUREN

Laboratorio de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea

Facultad de Farmacia, Vitoria-Gasteiz, 2011

eman ta zabal zazu



UPV EHU

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar el desarrollo de una tesis doctoral es inevitable pensar que este camino hubiese sido imposible sin la participación de personas que han facilitado las cosas para que este trabajo llegue a un feliz término. Por ello, aunque estas líneas no puedan compensar todo lo que cada una de ellas ha aportado a esta etapa de mi vida, es para mí importante expresarles mi más sincero agradecimiento.

En primer lugar quiero dar las gracias a mis padres, Ricardo y Ascen, por su cariño, por su confianza en mis decisiones no siempre compartidas, por su paciencia en los momentos difíciles y por el sacrificio y esfuerzo realizado para que pudiéramos tener todo lo que necesitábamos. A mis hermanos Jose Mari y Javi, porque sin entender muy bien qué es lo que hago, nunca habéis dejado de apoyarme.

Gracias también al resto de mi familia: abuelos, tíos, primos, cuñadas y sobrinos por vuestro cariño y apoyo que tanto me han ayudado, y por todas las alegrías compartidas. Gracias tía Ana, por acogerme durante tantos años de estudios y trabajo, por estar siempre pendiente y por enseñarme cómo la constancia y el esfuerzo pueden dar su recompensa.

Quisiera agradecer a mis directores Jose Luis Pedraz Muñoz y Manoli Igartua Olaetxea el haber aceptado la dirección de la tesis y su disposición a enseñarme cuando lo he necesitado. El esfuerzo realizado para orientarme en el trabajo y facilitarme los medios suficientes para llevar a cabo las actividades propuestas ha posibilitado el desarrollo de esta tesis y mi formación como investigadora. No quisiera olvidar a Rosa Hernández, a la que debo agradecer el haberme inculcado los primeros conocimientos y las ganas de aprender sobre la tecnología farmacéutica, y que me llevaron a realizar el doctorado en este departamento.

Marian y Alicia, gracias por vuestra implicación en una gran parte de este trabajo. Gracias Alicia por tu ayuda, por todo lo que me has enseñado a lo largo de estos años, y por ser un ejemplo a seguir en el

trabajo diario. Marian, tus continuos consejos, ánimos, ayuda y amistad han hecho que no deje de avanzar en todo este tiempo. Gracias por todo lo que me has aportado profesionalmente, pero sobre todo personalmente.

Ana y Leire, si algo valoro del lugar de trabajo es la posibilidad de que surjan buenas amistades, y eso es lo que he conseguido con vosotras. Hemos vivido muchos momentos a lo largo de estos años en los que hemos compartido alegrías y penas, y espero que nuestra amistad se siga manteniendo con el paso del tiempo.

Arantxa, Noe y Zuri, gracias por estar siempre dispuestas a ayudarme y enseñarme, por vuestros consejos y largas horas compartidas codo con codo que hicieron el trabajo más agradable y divertido.

Sara, Elena, Ainhoa, Diego y Amaia, con los que he compartido largas horas en todo este tiempo. Todos habéis aportado algo en innumerables aspectos en esos largos cafés, sobremesas, lecciones informáticas, visitas a la azotea, etc. que hicieron más agradable el día a día.

También quiero dar las gracias al resto de personas del departamento y de la UDF con las que coincidí a lo largo de este tiempo, que me ayudaron en el trabajo diario y de las que aprendí a trabajar en equipo y a seguir una forma de trabajo que actualmente sigo empleando.

No puedo olvidar da las gracias a todos mis amig@s que han estado a mi lado todos estos años interesándose por mi trabajo y en los que me he apoyado cuando lo he necesitado. Quiero dar las gracias en especial a:

Andere, porque has estado continuamente apoyándome y animándome a seguir mis ilusiones y a luchar por lo que quiero para lograr recorrer mi camino. Gracias por todo lo que me has aportado a lo largo de estos años, que me ha ayudado a ser la persona que soy y me ha servido para alcanzar esta meta, tanto personal como profesional. Tenemos un paseíto pendiente.

Silvia, Arantza Durán y Arantza Hernández, gracias por todos los años de amistad que tantos buenos momentos nos han dado y gracias por

vuestro apoyo moral e interés mostrado a lo largo de este camino que de alguna manera habéis recorrido conmigo.

Por último, quisiera hacer mención a mis compañeros de trabajo de Granada, lugar en el que llevo los tres últimos años, y que día a día están a mi lado haciendo el trabajo más llevadero y llenando los días de buenos momentos. Gracias Ibon por confiar en mí y darme la oportunidad de continuar mi labor profesional en este nuevo proyecto. Quiero dar las gracias a Amparo, por ayudarme en los comienzos en Granada lejos de mi familia y mis amigos, y en especial a Gema, por estar a mi lado cuando lo he necesitado, por animarme continuamente y ayudarme en esta recta final, por darme su amistad y en definitiva por aportarme todo lo que aquí no tenía.

Muchas gracias a todos

Eskerrik asko guztioi

Me lo contaron y lo olvidé,
lo vi y lo entendí,
lo hice y lo aprendí.

Confucio

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. Formulaciones orales de liberación modificada	3
I. Introducción	5
II. Factores a considerar en el desarrollo de formas farmacéuticas orales de liberación modificada	8
III. Clasificación de las formas farmacéuticas orales de liberación modificada	11
IV. Sistemas matriciales o monolíticos	15
V. Sistemas matriciales de Hidroxipropilmetilcelulosa	17
• Características de la Hidroxipropilmetilcelulosa	17
• Mecanismo de liberación	19
• Factores que influyen en la liberación	23
VI. Evaluación <i>In vitro</i> / <i>In vivo</i> de formas farmacéuticas orales de liberación modificada	25
• Evaluación <i>in vitro</i>	26
• Evaluación <i>in vivo</i>	29
• Correlación <i>In vitro</i> / <i>In vivo</i>	31
2. Granulación por fusión en granulador–mezclador de alta velocidad	37
I. Introducción	39
II. ¿Qué es la granulación por fusión?	42
• Equipos	45
III. Granulación por fusión en granulador–mezclador de alta velocidad	47
• Influencia del agente aglutinante	50
• Influencia de otros excipientes de la formulación	53
• Influencia de algunas variables del proceso	58
IV. Conclusiones	59

OBJETIVOS	61
------------------	-----------

DESARROLLO EXPERIMENTAL	65
--------------------------------	-----------

Preparation of sustained release hydrophilic matrices by melt granulation in a high-shear mixer **67**

Abstract	69
1. Introduction	70
2. Materials and methods	71
2.1. Materials	71
2.2. Granulation	72
2.3. Granule characterization	72
2.4. Manufacture of tablets	73
2.5. <i>In vitro</i> dissolution studies	74
2.6. Dissolution kinetic	74
2.7. Gel texture análisis	75
3. Results and discusión	76
3.1. Differential Scanning Calorimety studies	76
3.2. Particle size and flow properties	77
3.3. Drug release profiles	78
3.4. Gel texture analysis	82
4. Conclusions	89
References	89

In vivo evaluation of two new sustained release formulations elaborated by one-step melt granulation: Level A *in vitro*-*in vivo* correlation **93**

Abstract summary	95
1. Introduction	96
2. Materials and methods	98
2.1. Materials	98
2.2. Preparation of hydrophilic matrix tablets	98
2.3. <i>In vitro</i> dissolution studies	100
2.4. <i>In vivo</i> study	101
2.5. HPLC determination of theophylline in plasma	102

2.6.	Pharmacokinetic analysis	103
2.7.	Statistical analysis	104
3.	Results and discusión	104
3.1.	<i>In vitro</i> dissolution studies	104
3.2.	<i>In vivo</i> study	109
3.3.	IVIV correlation development	111
4.	Conclusions	113
	References	114

Novel extended-release formulation of lovastatin by one-step

melt granulation: <i>in vitro</i>-<i>in vivo</i> evaluation	119
Abstract summary	121
1. Introduction	122
2. Materials and methods	125
2.1. Materials	125
2.2. Preparation of hydrophilic matrices	125
2.3. <i>In vitro</i> dissolution studies	126
2.4. <i>In vivo</i> study	128
2.5. LC/MS/MS determination of lovastatin and lovastatin acid in plasma	129
2.6. Analytical procedure of plasma samples	130
2.7. Pharmacokinetic analysis	131
2.8. Statistical analysis	131
3. Results and discusión	132
3.1. <i>In vitro</i> dissolution study	132
3.2. <i>In vivo</i> study	135
4. Conclusions	143
References	144

DISCUSIÓN	149
Diseño y optimización de los componentes de la formulación	154
Evaluación <i>in vivo</i> de las formulaciones de teofilina, correlación <i>in vitro-in vivo</i>	160
Desarrollo de una nueva formulación de lovastatina de liberación modificada	165
CONCLUSIONES	175
BIBLIOGRAFÍA	181

INTRODUCCIÓN

1. FORMULACIONES ORALES DE LIBERACIÓN MODIFICADA

I. INTRODUCCIÓN

Las formas farmacéuticas orales constituyen actualmente la forma de administración más segura y de elección para la mayoría de los fármacos^{1,2} siendo la vía oral la forma más utilizada de administración sistémica de medicamentos. Ello es debido a las múltiples posibilidades que ofrece el diseño de las formas de dosificación orales y a su mayor aceptación por parte del paciente, siendo además mínimos los efectos adversos en el lugar de administración. Por estas razones, en los estudios preliminares de investigación y desarrollo de una nueva forma farmacéutica, se tiende siempre a buscar la posibilidad de utilizar la vía oral.

Asimismo, las formas farmacéuticas orales son las más empleadas como formas de liberación modificada. Una forma farmacéutica oral convencional libera el principio activo en el tracto gastrointestinal (GI) en un periodo corto de tiempo. Si se modifica la velocidad, el lugar o el momento de liberación del principio activo tras su administración, nos encontramos ante una forma de dosificación de liberación modificada. La United States Pharmacopeia (USP) define las formas farmacéuticas de liberación modificada como aquellas en las que: *“la velocidad, forma y/o lugar de liberación del principio activo son elegidos para conseguir*

1 **Rocca, J.G. and Park, K.** Oral drug delivery: prospects and challenges. *Drug Del. Technol.* 4(4): 52–57 (2004).

2 **Charman, S.A. and Charman, W.N.** Oral modified release delivery systems, in: M. J. Rathbone, J. Hadgraft, and M. S. Roberts (Eds.), *Modified-Release Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, New York, (2002), pp. 1–10.

objetivos terapéuticos, que no ofrecen las formas farmacéuticas convencionales”.

El mantenimiento de un nivel constante de fármaco en sangre y en los tejidos durante largos periodos de tiempo es un objetivo deseable en el tratamiento de numerosas enfermedades, que se ha podido conseguir con el desarrollo de las formas farmacéuticas orales de liberación modificada.

Las ventajas que ofrecen estas formas farmacéuticas están resumidas en la Tabla 1.

Ventajas	Razones
Ventajas terapéuticas	<p>Disminución de las fluctuaciones en las concentraciones del principio activo en plasma.</p> <p>Mantenimiento de niveles plásmaticos constantes de principio activo durante largos periodos de tiempo.</p> <p>Idealmente simulan una perfusión intravenosa de fármaco.</p>
Disminución de los efectos secundarios y mejor tolerancia	<p>Los niveles plasmáticos de fármaco se mantienen en un intervalo terapéutico sin grandes fluctuaciones.</p> <p>El AUC de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo es comparable al AUC de formas farmacéuticas de liberación inmediata en dosis múltiple.</p> <p>Esto disminuye el riesgo de efectos secundarios al alejarnos del límite superior del margen terapéutico.</p>
Mejor cumplimiento del paciente	<p>Las formas farmacéuticas orales son las más comunes y aceptadas por los pacientes, y una reducción en la frecuencia de administración mejoraría el cumplimiento.</p>
Disminución del gasto farmacéutico	<p>El coste total de las terapias con formulaciones de liberación modificada es comparable o inferior al de las formas de liberación inmediata. La disminución de efectos secundarios también contribuye a reducir el gasto total en los tratamientos.</p>

Tabla 1. Ventajas de los sistemas orales de liberación modificada (Adaptada de referencia Das y col.)

Uno de los inconvenientes de las formas farmacéuticas orales de liberación modificada es el riesgo de “dose dumping” *in vivo* (liberación prematura y exagerada del fármaco en el organismo debido a factores externos a la formulación, y que puede producir efectos adversos). Sin embargo, la evaluación

de los factores biológicos, físico-químicos y físico-mecánicos han permitido reducir este riesgo³.

II. FACTORES A CONSIDERAR EN EL DESARROLLO DE FORMAS FARMACÉUTICAS ORALES DE LIBERACIÓN MODIFICADA

Los principales factores a tener en cuenta en el desarrollo de las formas farmacéuticas orales de liberación modificada son los siguientes:

1. Factores biológicos

- Absorción
- Distribución
- Metabolismo (efecto de primer paso hepático)
- Eliminación

2. Factores físico-químicos del fármaco

- Solubilidad y grado de ionización
- Estabilidad
- Coeficiente de reparto
- Relación PK/PD

Dentro de estos factores, son destacables las consideraciones recogidas en la Tabla 2.

³ **Rajabi-Siahboomi, A.R.** An overview of current oral modified release technologies. Pharma. Tech. (2003).

Absorción	<p>El factor limitante debe ser la velocidad de disolución del principio activo en lugar de la velocidad de absorción. Es deseable tener:</p> $V_{\text{disolución}} < V_{\text{absorción}}$ <p>Asumimos que el tránsito GI es de 8–12h y la velocidad de absorción es constante a lo largo de todo el intestino delgado.</p>
Metabolismo	<p>Debido a la importancia de mantener niveles terapéuticos de fármaco en plasma, no son candidatos adecuados para estas formas farmacéuticas:</p> <ul style="list-style-type: none"> –Principios activos inductores o inhibidores de la síntesis enzimática –Principios activos con importante efecto de primer paso
Eliminación	<p>Semivida:</p> <p>Son preferibles semividas cortas. Sin embargo semividas muy cortas (<2h) requieren cantidades elevadas de principio activo.</p> <p>Semividas excesivamente largas no son convenientes (>8h).</p>
Solubilidad	<p>La solubilidad del fármaco es un parámetro importante ya que determinará su mecanismo de liberación, influenciando así en la elección del resto de excipientes de la formulación.</p>
Estabilidad	<p>Los fármacos administrados por vía oral pueden sufrir hidrólisis ácido–base y/o degradación enzimática. Se recomienda que aquellos fármacos que sean inestables en el tracto gastrointestinal sean administrados por una ruta alternativa.</p>

Tabla 2. Factores a considerar en el desarrollo de formas farmacéuticas orales de liberación modificada.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, durante los últimos años los avances en el área de las formas orales de liberación modificada se han orientado principalmente al desarrollo de tecnologías que permitan:

1. Incrementar el tiempo de liberación del fármaco mediante:

- Combinación del principio activo con excipientes que retrasen o controlen su liberación formando un núcleo matricial.

- Recubrimiento del núcleo que contiene el principio activo de manera que se modifique la liberación del fármaco.
2. Retrasar la liberación del principio activo durante un periodo de tiempo aplicando por lo general un recubrimiento entérico.

Para ello se ha producido una mejora y optimización de los equipos empleados en la fabricación y recubrimiento de estas formas farmacéuticas (ej: lecho fluido, granulador mezclador de alta velocidad, extrusor-esferonizador) así como un aumento en el desarrollo de polímeros tanto naturales como sintéticos, biodegradables y biocompatibles empleados en estos sistemas de liberación modificada⁴.

Estas tecnologías pueden utilizarse tanto para el desarrollo y formulación de formas farmacéuticas orales de liberación modificada como los comprimidos matriciales, así como para otras más novedosas como son los sistemas multiparticulares (ej: pellets, gránulos, mini-tablets). Estos sistemas multiparticulares pueden presentar ciertas ventajas sobre los comprimidos matriciales en cuanto a características de dispersión, tiempos de tránsito a lo largo del tracto GI más reproducibles y menor riesgo potencial de producir irritaciones gástricas⁵. *Kenyon y col.*⁶ por ejemplo, demostraron que el posible

4 **Rhodes, C.T. and Porter, S.C.** Coatings for controlled release delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24: 1139–1154 (1998).

5 **Das, N.G. and Das, S.K.** Controlled-Release of Oral Dosage Forms. *Formulation, Fill & Finish.* (2003).

efecto de los alimentos sobre las formulaciones de liberación modificada es menor con estos sistemas multiparticulares. Sin embargo, los procesos de elaboración de estos sistemas continúan siendo más complicados que la elaboración de matrices debido a la gran cantidad de variables y procesos que hay que controlar para optimizar una formulación.

III. CLASIFICACIÓN DE FORMAS FARMACÉUTICAS ORALES DE LIBERACIÓN MODIFICADA

La terminología utilizada para definir las formas farmacéuticas de liberación modificada ha sido extensamente revisada en la bibliografía^{7,8,9}. De hecho, estas formas farmacéuticas se pueden clasificar teniendo en cuenta distintos criterios como el tipo o mecanismo de liberación.

1. Clasificación en función del tipo de liberación¹⁰:

- **Formas orales de liberación controlada:** el principio activo se libera escalonadamente en el tiempo (la velocidad de liberación es

6 **Kenyon, C.J., Hooper, G., Tierney, D., Butler, J., Devane, J. and Wilding, I.R.** The effect of food on the gastrointestinal transit and systemic absorption of naproxen from a novel sustained release formulation. *J. Control. Rel.* 34 (1):31–36 (1995).

7 **Berner, B. and Dinh, S.** Fundamental concepts in controlled release, in: Kydonieus, A. (Ed), *Treatise on Controlled Drug Delivery: Fundamentals, Optimization and Applications*, Marcel Dekker, New York, (1992).

8 **Robinson, J.R. and Lee, V.H.L.** (Eds) *Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications*. Marcel Dekker, New York, (1987).

9 **Lastres García, J.L.** Nuevos sistemas orales de liberación modificada. *Schironia* (2002).

10 Modified-release preparations. *MeReC Bulletin* 11: 13–16 (2000).

limitante en el proceso de absorción), alargando el efecto terapéutico. Se clasifican a su vez en:

- *Formas de acción sostenida o controlada*: La velocidad de liberación del fármaco es constante (cinética de liberación de orden cero) con el objeto de conseguir una velocidad de absorción constante y disminuir la fluctuación de los niveles plasmáticos (Ej: bombas osmóticas).
 - *Formas de acción prolongada*: El principio activo se libera inicialmente en una proporción suficiente para comenzar su acción, y a continuación se libera de forma lenta a una velocidad no necesariamente constante. De esta manera, se mantiene la concentración eficaz durante más tiempo que con las formas de liberación inmediata (Ej: sistemas matriciales, pellets, minitablets etc).
- **Formas orales de liberación retardada** son aquellas en las que la liberación del fármaco no se inicia inmediatamente después de la administración, pero no se prolonga el efecto terapéutico (Ej: formas gastrorresistentes).

La Figura 1 nos muestra los perfiles plasmáticos teóricos que se obtendrían con las distintas formulaciones

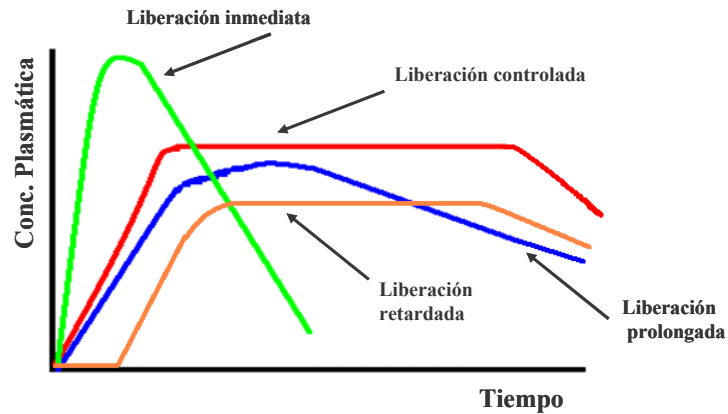


Figura 1. Perfil plasmático teórico obtenido con distintas formulaciones orales según el tipo de liberación

2. Clasificación en función del mecanismo de liberación del principio activo^{11,12}:

- **Sistemas de difusión controlada:** son aquellos en los que el proceso que controla la liberación es el transporte por difusión del fármaco disuelto en los poros o en la fase sólida (normalmente un polímero) del sistema matricial. Dependiendo de donde tenga lugar la difusión del fármaco, estos sistemas se dividen en:
 - *Sistemas matriciales o monolíticos:* la difusión se produce a través de los poros formados en la matriz.

¹¹ **Gupta, P.K. and Robinson, J.R.** Oral controlled release delivery, In: Kydoneus, A. (Ed). Treatise on Controlled Drug Delivery: Fundamentals, Optimization, Applications. Marcel Dekker, New York, (1992).

¹² **Venkatraman, S., Davar N., Chester, A. and Kleiner, L.** An overview of controlled release systems, In: Wise, D.L. (Ed). Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology. Marcel Dekker, New York, (2000).

- *Sistemas reservorio o de membrana*: la difusión se produce a través de una membrana o película que rodea el sistema matricial.
- **Sistemas de disolución controlada**: son aquellos en los que la liberación del principio activo está controlada por la velocidad de disolución del fármaco en los fluidos gastrointestinales.
- **Sistemas osmóticos**: En estos sistemas la liberación se controla gracias a una membrana semipermeable que permite el paso del agua desde el exterior del sistema a un núcleo osmótico que ejerce presión empujando al principio activo al exterior del sistema.
- **Sistemas gastrorresistentes**: son sistemas de liberación retardada que presentan una cubierta entérica que les permite resistir la acción del jugo gástrico y comenzar a liberar el principio activo en el fluido intestinal.
- **Otros sistemas** (tiempo dependientes, liberación dirigida, geometría modificada, pH independientes, sist. de densidad modificada etc).

A continuación se describirán más detalladamente los sistemas matriciales o monolíticos por tratarse del tipo de formulación que se desarrollará en este trabajo experimental.

IV. SISTEMAS MATRICIALES O MONOLÍTICOS

Los sistemas matriciales son las formas farmacéuticas más empleadas en el desarrollo de sistemas orales de liberación modificada debido a su simplicidad y facilidad de elaboración¹³.

Tal y como se muestra en la Figura 2, un sistema matricial es aquél constituido por una dispersión uniforme del principio activo en una matriz polimérica. Así, en la matriz, que es una red formada por canalículos de distinto calibre, se halla disperso el principio activo. La red formada por excipientes crea un soporte poroso similar a una esponja. El soporte constituye el denominado “esqueleto de la matriz” y los poros estarían ocupados por el fármaco. Estas matrices contienen una dosis de medicamento que se libera progresivamente por difusión y/o erosión lenta tras la penetración de los líquidos digestivos en los canalículos del soporte poroso.

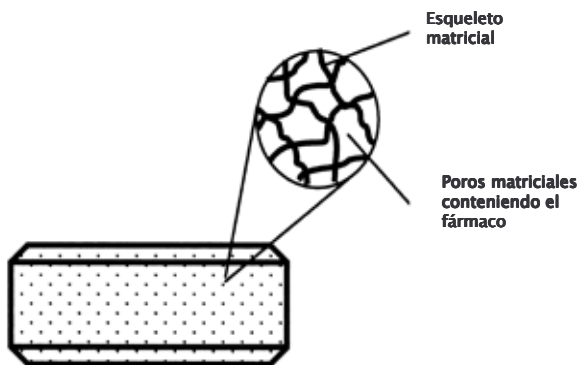


Figura 2. Esquema de un sistema matricial

¹³ Charman, S.A. and Charman, W.N. Oral Modified Release Delivery Systems. In: Swarbrick, J. (Ed). Modified Release Drug Delivery Technology. Marcel Dekker, New York, (2003).

Existen tres tipos de matrices dependiendo de la naturaleza del polímero que las constituye:

- **Matrices inertes:** constituidas por polímeros que tras la compresión dan lugar a un esqueleto poroso no digerible e insoluble en los fluidos gástricos.
- **Matrices lipófilas:** el fármaco se encuentra dispersado en un material hidrófobo (ej: grasas, glicéridos, alcoholes grasos etc.)
- **Matrices hidrófilas:** elaboradas con agentes gelificantes que se hidratan progresivamente al entrar en contacto con los fluidos gástricos, controlando así la liberación del principio activo.

El desarrollo de las matrices hidrófilas ha experimentado un gran avance por la existencia de una gran variedad de excipientes con elevada capacidad gelificante que dan lugar a la rápida formación de una barrera de gel capaz de controlar la penetración del agua y la liberación del principio activo^{14,15}. Entre ellos los más utilizados son los que se describen a continuación:

- **Polímeros no celulósicos naturales o semisintéticos.**

Se trata de productos naturales de origen vegetal que se utilizan como tales o una vez sometidos a un proceso de síntesis. Dentro de este grupo se incluyen agar-agar, alginatos, almidones modificados, quitosanos etc.

14 **Ford, J.L., Rubinstein, M.H. and Hogan, J.E.** Formulation of sustained release promethazine hydrochloride tablets using hydroxypropylcellulose matrices. *Int. J. Pharm.* 24: 327-332 (1985).

15 **Dhopeswarkar, V. and Zatz, J.L.** Evaluation of Xanthan Gum in the Preparation of Sustained-Release Matrix Tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 19: 999-1017 (1993).

➤ **Derivados del ácido acrílico.**

Dentro de este amplio grupo de polímeros cabe destacar los carbómeros. Su carácter iónico hace que el pH del medio ejerza un efecto muy notable sobre su gelificación.

➤ **Derivados de la celulosa.**

Son el grupo de excipientes más utilizado en tecnología farmacéutica debido en gran medida a la abundancia con que se presentan en la naturaleza. Además, los numerosos derivados obtenidos mediante procesos de semisíntesis abarcan una amplia gama de propiedades para controlar la liberación del principio activo. Dentro de este grupo están las hidrocelulosas, ésteres y éteres de celulosas y oxixelulosas, siendo los éteres de celulosa los derivados que más se emplean en la elaboración de matrices hidrófilas. Concretamente la hidroxipropilmetilcelulosa, cuya estructura, mecanismo de liberación y factores que influyen en la liberación se describen a continuación, es uno de los excipientes seleccionados para el desarrollo de formulaciones de liberación modificada en esta memoria experimental.

V. SISTEMAS MATRICIALES DE HIDROXIPROPILMETILCELULOSA

Características de la Hidroxipropilmetilcelulosa

La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), cuya estructura se recoge en la Figura 3, es el éter de celulosa más utilizado¹⁶. Esto es debido a que presenta buenas

16 **Melia, C.D.** Hydrophilic matrix sustained release systems based on polysaccharide carriers. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 8: 395–421 (1991).

propiedades de compresión, buenas características de hinchamiento, permite incorporar cantidades elevadas de principio activo y no presenta toxicidad^{17,18,19}.

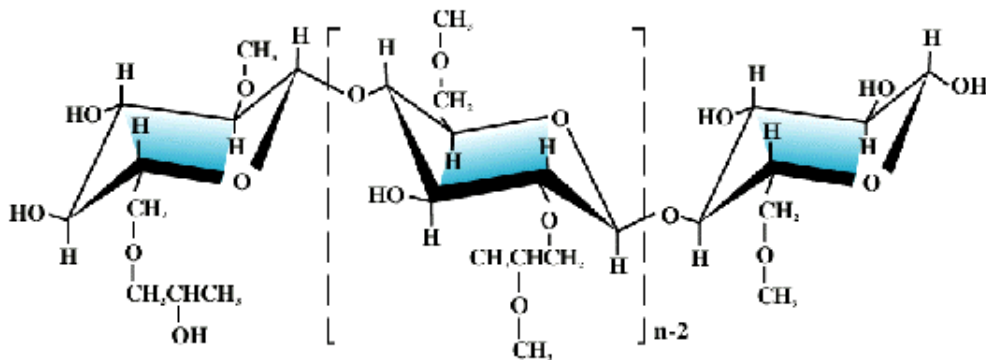


Figura 3. Estructura de la hidroxipropilmetilcelulosa

Existen diferentes tipos de HPMC en función del grado de sustitución de los grupos metoxilo e hidroxipropilo presentes en las unidades de glucosa anhidra, cuyas diferencias dan lugar a polímeros con diferentes grados de viscosidad.

En tecnología farmacéutica la HPMC se emplea tanto para formulaciones orales como tópicas. En los productos administrados por vía oral se utiliza

17 Alderman, D.A. A review of cellulose ether in hydrophilic matrices for oral controlled release dosage forms. *Int. J. Pharm. Tech. Prod. Mfr.* 5: 1-9 (1984).

18 Tahara, K., Yamamoto, K. and Nishihata, T. Overall Mechanism Behind Matrix Sustained-Release Tablets Prepared with Hydroxypropyl Methylcellulose-2910. *J. Control. Rel.* 35: 59-66 (1995).

19 Rodríguez, C.F., Bruneau, J., Barra, D. and Doelker, E. Hydrophilic cellulose derivatives as drug delivery carriers: influence of substitution type on the properties of compressed matrix tablets, In: Wise, D.L. (Ed). *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. Marcel Dekker, New York, (2000).

principalmente como aglutinante, agente de recubrimiento y para controlar la liberación en formulaciones de liberación modificada.

Mecanismo de liberación

En las matrices elaboradas con HPMC, cuando el polímero entra en contacto con el medio acuoso, tiene lugar una rápida hidratación y relajación de las cadenas que lo conforman para dar lugar a una capa viscosa y gelatinosa en la superficie del comprimido²⁰. Tal y como se muestra en la Figura 4, en un sistema matricial en contacto con el medio acuoso se pueden distinguir 3 zonas con diferentes frentes de acción^{21,22}:

- **Frente de hinchamiento:** Delimita la zona más interna en la que el agua todavía no ha penetrado (zona 1). Representa la frontera entre el polímero seco (cristalino) y la capa de gel (zonas 2 y 3)
- **Frente de difusión:** Es el límite entre la zona sólida (zona 2) y la zona donde está el fármaco disuelto (zona 3). Aquí es donde comienza la disolución del fármaco que va difundiendo de forma radial hacia el frente de erosión.

20 **Rajabi-Siahboomi, A.R., Melia, C.D., Davies, M.C., Bowtell, R.W., McJury, M. et al.** Imaging the internal structure of the gel layer in hydrophilic matrix systems by NMR imaging. *J. Pharm. Pharmacol. Suppl.* 44: 1062 (1992).

21 **Colombo, P., Santi, P., Bettini, R., Brazel, C.S. and Peppas, N.A.** Drug release from swelling-controlled systems. In: Wise, D.L. (Ed). *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. Marcel Dekker, New York, (2000).

22 **Kiil, S. and Dam-Johansen, K.** Controlled drug delivery from swellable hydroxypropylmethylcellulose matrices: model-based analysis of observed radial front movements. *J. Control. Rel.* 90: 1-21 (2003).

- **Frente de erosión:** Es el límite entre la superficie de la matriz y el medio de disolución. Las matrices formadas por HPMC se van erosionando debido al prolongado contacto con el medio de disolución.

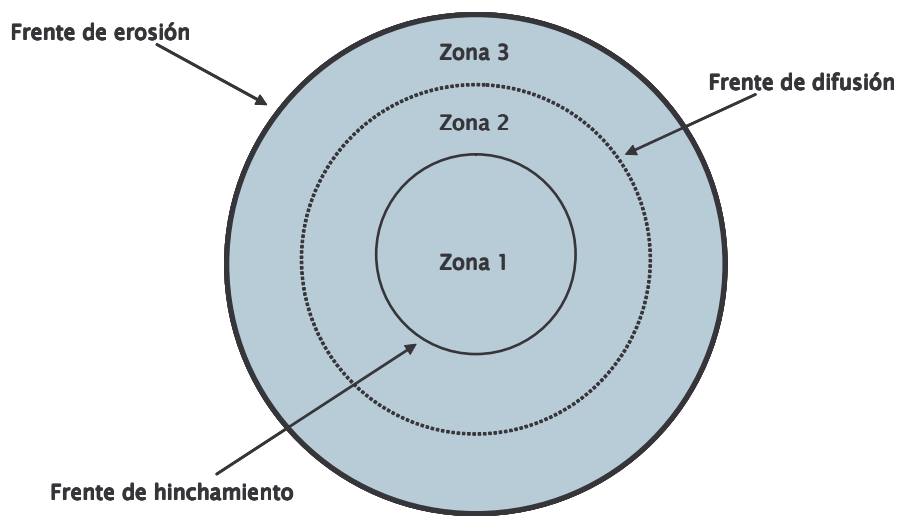


Figura 4. Representación de las diferentes zonas y frentes que se forman en el proceso de hidratación de una matriz hidrófila (Kill y col. J.Control.Rel. 90 (1) 2003).

Para una determinada matriz de HPMC en un medio de disolución concreto, los movimientos relativos de los tres frentes estarán condicionados por la concentración y viscosidad del polímero y por las propiedades físico-químicas del fármaco.

La liberación del principio activo a partir de estos sistemas matriciales hidrófilos se puede producir por lo tanto por dos mecanismos que pueden ser simultáneos^{23,24}:

- a) Erosión de las capas más externas del gel.
- b) Disolución del principio activo en el medio y difusión a través de la barrera de gel.

Como se observa en la Figura 5, el predominio de uno u otro mecanismo está directamente relacionado con la capacidad del polímero para dar lugar a geles consistentes y con la solubilidad del principio activo. Si la barrera de gel es muy débil o la solubilidad del fármaco muy reducida, la liberación se producirá principalmente por erosión superficial, con lo que se obtendrán perfiles característicos de cinética de orden cero. Sin embargo, si el fármaco es de solubilidad moderada o muy hidrosoluble, la difusión será el principal mecanismo de liberación^{25,26}.

23 **Peppas, N.A.** Analysis of fickian and nonfickian drug release from polymers. *Pharm. Acta Helvetiae*. 60: 110–111 (1985).

24 **Siepmann, J. and Peppas, N.A.** Modelling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Adv. Drug Deliv. Rev.* 48: 139–157 (2001).

25 **Ford, J.L., Rubinstein, M.H., McCaul, F., Hogan, J.E. and Edgar, J.E.** Importance of drug type, tablet shape and added diluents on drug release kinetics from HPMC matrix tablets. *Int. J. Pharm.* 57: 75–85 (1987).

26 **Skoug, J.W., Mikelsons, M.V., Vigneron, C.N. and Stemm, N.L.** Qualitative evaluation of the mechanism of release of matrix sustained release dosage forms by measurement of polymer release. *J. Control. Rel.* 27: 227–245 (1993).

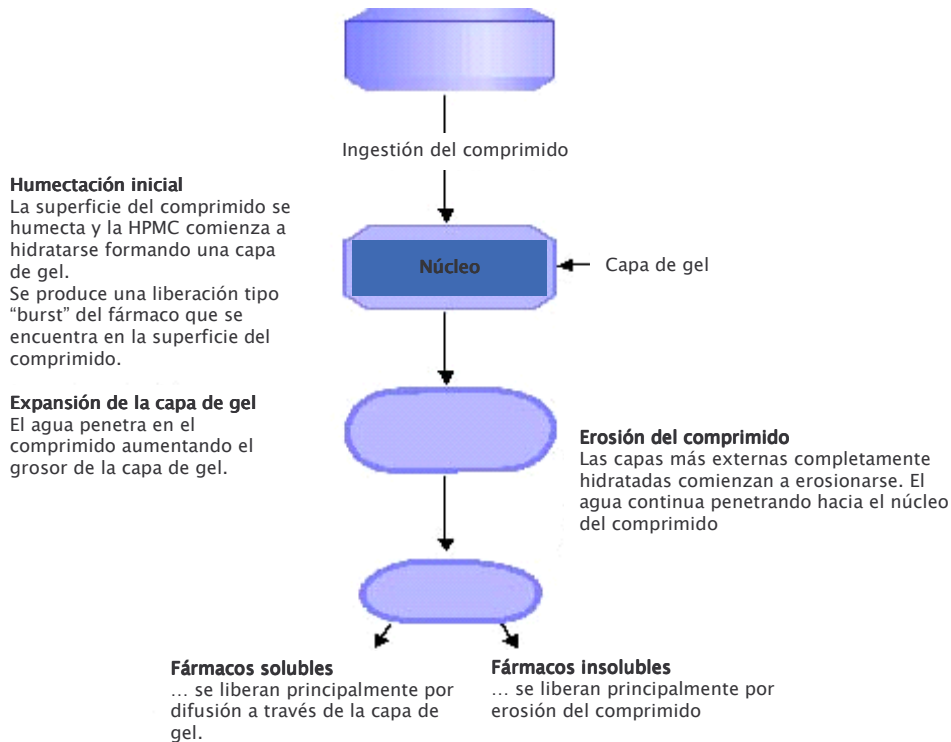


Figura 5. Liberación del principio activo a partir de un sistema matricial hidrófilo de HPMC.

En el caso de que la liberación del fármaco se produzca por difusión, se pueden distinguir tres etapas en el proceso²⁷:

1. En la fase inicial, el agua disuelve el principio activo que se encuentra en la superficie, lo que provoca su liberación inmediata (efecto *Burst*), y penetra a través de los poros en la matriz, produciéndose la gelificación del polímero. En esta etapa la velocidad de penetración depende de la porosidad del sistema.

²⁷ Doelker, E. Water swollen cellulose derivative in pharmacy, In: Peppas, N.A. (Ed). Hydrogels in medicine and pharmacy. Vol. 2 CRC Boca Raton. Florida, (1980).

2. En la segunda etapa o fase estacionaria, el frente de agua penetra de forma continua en el sistema, al tiempo que se produce la expansión de la capa de gel. La liberación está controlada por el proceso de difusión y no por el de disolución del principio activo.
3. El periodo de agotamiento comienza cuando el frente ha alcanzado el núcleo del sistema y la concentración del principio activo ha caído por debajo del valor de solubilidad. Esta etapa final se caracteriza por una reducción de la velocidad de liberación.

En cualquier caso, lo más habitual es que la liberación del fármaco se produzca por una combinación de los dos mecanismos, difusión y erosión de la capa de gel^{28,29}.

Factores que influyen en la liberación

Las interacciones entre el medio acuoso, polímero, excipientes y fármaco, así como la solubilidad del fármaco son los principales factores que determinan la liberación del principio activo a partir de las matrices hidrófilas elaboradas con HPMC³⁰, aunque diversos autores han estudiado la influencia de otros factores que pueden afectar a la liberación del principio activo a partir de estas matrices.

28 **Alderman, D.A.** A review of cellulose ether in hydrophilic matrices for oral controlled release dosage forms. *Int. J. Pharm. Tech. Prod. Mfr.* 5: 1-9 (1984).

29 **Gao, P., Nixon, P.R. and Skoug, J.W.** Diffusion in HPMC gels II. Prediction of drug release rates from hydrophilic matrix extended-release dosage forms. *Pharm. Res.* 12: 965-971 (1995).

30 **Bettini, R., Catellani, P.L., Santi, P., Massimo, G., Peppas, N.A. and Colombo, P.** Translocation of drug particles in HPMC matrix gel layer: effect of drug solubility and influence on release rate. *J. Control. Rel.* 70: 383-391 (2001).

*Velasco y col.*³¹ comprobaron que la proporción fármaco/HPMC y el tamaño de partícula del fármaco y de la HPMC pueden influir en la liberación del principio activo. Asimismo, observaron que la fuerza de compresión no afectaba a la liberación en este tipo de matrices. *Mitchell y col.*³² *Shah y col.*³³ y *Fu y col.*³⁴ estudiaron la influencia de la concentración de polímero y fármaco en la forma farmacéutica, y otros autores como *Sung y col.*³⁵ *Cheong y col.*³⁶ y *Tahara y col.*³⁷ comprobaron la influencia del grado de viscosidad de la HPMC. En cuanto a las condiciones fisiológicas, las variaciones del pH a lo largo del tracto GI no afectan a la hidratación y formación de la capa de gel de la HPMC. Sin embargo, el pH del

31 **Velasco, M.V., Ford, J.L., Rowe, P. and Rajabi-Siahboomi, A.R.** The influence of drug: HPMC ratio, drug and polymer particle size and compression force on the release of diclofenac sodium from HPMC tablets. *J. Control. Rel.* 57: 75–85 (1999).

32 **Mitchell, K., Ford, J.L., Armstrong, D.J., Elliott, P.N.C., Rostron, C. and Hogan, J.E.** The Influence of Concentration on the Release of Drugs from Gels and Matrices Containing Methocel(R). *Int. J. Pharm.* 100: 155–163 (1993).

33 **Shah, N., Zhang, G.H., Apelian, V., Zeng, F.W., Infeld, M.H. and Malick, A.W.** Prediction of Drug–Release from Hydroxypropyl Methylcellulose Matrices – Effect of Polymer Concentration. *Pharm. Res.* 10: 1693–1695 (1993).

34 **Fu, X.C., Wang, G.P., Liang, W.Q., and Chow, M.S.S.** Prediction of drug release from HPMC matrices: effect of physicochemical properties of drug and polymer concentration. *J. Control. Rel.* 95: 209–216 (2004).

35 **Sung, K.C., Nixon, P.R., Skoug, J.W., Ju, T.R., Gao, P., Topp, E.M. and Patel, M.V.** Effect of formulation variables on drug and polymer release from HPMC–based matrix tablets. *Int. J. Pharm.* 142: 53–60 (1996).

36 **Tahara, K., Yamamoto, K. and Nishihata, T.** Overall Mechanism Behind Matrix Sustained–Release Tablets Prepared with Hydroxypropyl Methylcellulose–2910. *J. Control. Rel.* 35: 59–66 (1995).

37 **Cheong, L.W.S., Heng, P.W.S. and Wong, L.F.** Relationship between Polymer Viscosity and Drug Release from a Matrix System. *Pharm. Res.* 9: 1510–1514 (1992).

medio si que puede afectar a la liberación del principio activo ya que puede influir en su solubilidad³⁸.

V. EVALUACIÓN *IN VITRO*-*IN VIVO* DE FORMAS FARMACÉUTICAS ORALES DE LIBERACIÓN MODIFICADA

La correlación entre los datos obtenidos *in vitro* con los resultados de los estudios *in vivo* (IVIVC) se emplea habitualmente en el desarrollo farmacéutico por un lado, para disminuir el tiempo de desarrollo de una nueva forma farmacéutica y por otro, para optimizar las formulaciones³⁹. Una buena correlación es una herramienta adecuada para predecir resultados *in vivo* a partir de los datos obtenidos *in vitro*⁴⁰. Además, la IVIVC se puede emplear como exención para estudios de bioequivalencia y permite disminuir el número de ensayos clínicos en el proceso de optimización de la forma farmacéutica^{41,42}.

38 **Velasco, M.V., Ford, J.L. and Rajabi-Siahboomi, A.R.** The effect of media on the dissolution properties of matrices containing different substitution types of Methocel. *Pharm. Pharmacol. Communications* 4(8): 377-383 (1998).

39 **Skelly, J., Amidon, G. et al.** Testing and correlation for oral controlled/modified release dosage forms. *Pharm. Res.* 7: 975-982 (1990).

40 **Uppoor, V.R.** Regulatory perspectives on *in vitro* (dissolution)/*in vivo* (bioavailability) correlations. *J. Control. Rel.* 72: 127-132 (2001).

41 **Food and Drug Administration:** Guidance for Industry. Extended Release Solid Oral Dosage Forms: Development, Evaluation and application of *In Vitro/In Vivo* Correlations. US Department of Health and Human Services. Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD (1997).

42 **EMA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products).** Note for Guidance on modified release oral and transdermal dosage forms: Section II (Pharmacokinetic and clinical evaluation) CPMP/QWP/280/96 (1999).

Evaluación *in vitro*

Durante el desarrollo de las formas farmacéuticas orales de liberación modificada, la caracterización de la liberación del fármaco es la más importante de las evaluaciones *in vitro* ya que la absorción *in vivo* vendrá determinada entre otros factores por su cinética de liberación. La liberación del fármaco se caracteriza mediante estudios de disolución en los que hay que tener en cuenta que el mecanismo de liberación es un parámetro que puede variar dependiendo de las condiciones en las que se realice dicho ensayo de disolución. Esto es debido a que la liberación del fármaco puede modificarse por factores como el tipo de aparato, el medio de disolución, velocidad de agitación, temperatura etc.

Los ensayos de disolución *in vitro* están descritos en la USP y en la Farmacopea Europea. Las condiciones recomendadas para los test de disolución de las formas farmacéuticas orales de liberación modificada están descritas en la Tabla 3.

Equipo de disolución	Paletas (Tipo I) Cestillos (Tipo II) Cilindros recíprocos (Tipo III) Celdas de flujo continuo (Tipo IV)
Medio de disolución	Tampones para todo el intervalo de pH fisiológico (1-1,5; 4-4,5; 6-6,8; 7-7,5) Fluido gastro/intestinal simulado Soluciones con gradiente de pH: 1,2; 2,1; 5,5; 6,5; 6,8; 7,4 Agua
Volumen del medio de disolución	El suficiente para mantener condiciones "sink": la dosis total se debería disolver en <33% del volumen del medio de disolución
Agitación	Diferentes velocidades de agitación incluyendo las condiciones standard (50 rpm)
Tiempos de muestreo	Mínimo 3 tiempos de muestreo (1-2h, t_{50} y t_{80}) Muestras tempranas para cuantificar una posible liberación prematura: 1, 2, 4h y cada 2h hasta el 80% del fármaco liberado
Nº de unidades	12
Temperatura	$37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$

Tabla 3. Condiciones recomendadas para los test de disolución de las formas farmacéuticas orales de liberación modificada

Estos test de disolución vienen descritos así mismo en la guía de la *Food and Drug Administration* (FDA) y la *European Agency for the Evaluation of Medicinal Products* (EMA)^{43,44}.

A la hora de considerar los resultados obtenidos en estos estudios de disolución debe tenerse en cuenta que no existe ningún método *in vitro* que pueda predecir con exactitud el comportamiento de la formulación *in vivo*, ya que la liberación y absorción del fármaco dependen de otros factores además de la disolución como son el tiempo de tránsito GI, permeabilidad y solubilidad del principio activo, el contenido luminal, el metabolismo etc.

A pesar de ello, la disolución es un paso crítico y esencial para el desarrollo de este tipo de formulaciones y hoy en día son diversos los autores que estudian el desarrollo de medios de disolución que simulan lo más posible el contenido del tracto GI tanto en condiciones de ayunas como en presencia de alimentos, con el fin de poder predecir mejor su comportamiento *in vivo*^{45,46,47,48,49,50}. El empleo de

43 **Food and Drug Administration**: Guidance for Industry. Modified release Solid Oral Dosage Forms: Scale up and postapproval changes: Chemistry, manufacturing and controls; *In vitro* release testing and *In vivo* bioequivalence documentation. US Department of Health and Human Services. Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD (1997)

44 **EMA** (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products). Note for Guidance on development pharmaceuticals. CPMP/QWP/155/96 London (1998).

45 **Galia, E., Nicolaidis, E., Horter, D., Lobenberg, R., Reppas, C. and Dressman, J.B.** Evaluation of various dissolution media for predicting *in vivo* performance of class I and II drugs. *Pharm. Res.* 15: 698–705 (1998).

46 **Wei, H. and Lobenberg, R.** Biorelevant dissolution media as a predictive tool for glyburide a class II drug. *Eur. J. Pharm. Sci.* 29: 45–52 (2006).

47 **Lobenberg, R., Kramer, J., Shah, V.P., Amidon, G.L. and Dressman, J.B.** Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Dissolution behavior of glibenclamide. *Pharm. Res.* 17: 439–444 (2000).

estos medios conocidos como medios de disolución bio-relevantes (BDM) es muy útil en el desarrollo de nuevas formulaciones ya que son los más representativos de las condiciones fisiológicas *in vivo*, (secreciones enzimáticas y biliares) si bien no representan el verdadero impacto de los alimentos en la liberación y absorción del fármaco⁵¹. El principal inconveniente de estos medios bio-relevantes es su elevado coste y el largo trabajo que requiere su preparación.

Evaluación *in vivo*

Los estudios *in vivo* durante el desarrollo de nuevas formulaciones se realizan en modelos animales para obtener información básica sobre las características farmacocinéticas del fármaco. La selección de un buen modelo animal para el estudio de la absorción oral del principio activo a partir de formas farmacéuticas orales de liberación modificada es difícil debido a las diferencias anatómicas y fisiológicas del tracto GI entre las distintas especies y los humanos. Estas diferencias deben ser consideradas para una correcta interpretación de los

48 Nicolaidis, E., Symillides, M., Dressman, J.B. and Reppas, C. Biorelevant dissolution testing to predict the plasma profile of lipophilic drugs after oral administration. *Pharm. Res.* 18: 380–388 (2001).

49 Dressman, J.B., Vertzoni, M., Goumas, K. and Reppas, C. Estimating drug solubility in the gastrointestinal tract. *Adv. Drug Del. Rev.* 59: 591–602 (2007).

50 Lue, B.M., Nielsen, F.S., Magnussen, T., Schou, H.M., Kristensen, K., Jacobsen, L.O. and Mullertz, A. Using biorelevant dissolution to obtain IVIVC of solid dosage forms containing a poorly-soluble model compound. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69: 648–657 (2008).

51 Cardot, J.M., Beyssac, E. and Alric, M. *In vitro-in vivo* correlation: Importance of dissolution in IVIVC. *Dissolution Technologies* 14: 15–19 (2007).

resultados obtenidos y su posible y adecuada extrapolación a los humanos⁵². Durante los últimos años, el perro ha sido el modelo más empleado para el estudio de la absorción oral de fármacos debido a las similitudes entre la anatomía y fisiología de su estómago y las regiones altas del tracto GI con las de los humanos^{50,53,54}. Sin embargo, en el caso de formas farmacéuticas orales de liberación modificada hay que tener en cuenta las diferencias fisiológicas entre estas dos especies (perro y humano). Entre ellas cabe destacar la mayor concentración de sales biliares y el menor tiempo de tránsito GI que tienen los perros, que podría afectar a la absorción dependiendo de la naturaleza del principio activo^{55,56,57}. Otro modelo animal más adecuado para este tipo de formulaciones serían los primates no humanos. Sin embargo, los estudios en estos animales están más limitados tanto por su coste como por los periodos de

52 **Grassi, M., Grassi, G., Lapasin, R., and Colombo, I.** Gastrointestinal Tract, Understanding Drug Release and Absorption Mechanisms. A Physical and Mathematical Approach, Taylor & Francis, pp. 29–68. (2006)

53 **Dressman, J.B. and Yamada, K.** Animal models for oral drug absorption, In: Welling, P.G., Tse, F.L. and Dighe, S. (Eds). Pharmaceutical bioequivalence, Marcel Dekker, New York, (1991).

54 **Persson, E.M., Gustafsson, A.S., Carlsson, A.S., Nilsson, R.G., Knutson, L. et al.** The effects of food on the dissolution of poorly soluble drugs in human and in model small intestinal fluids. *Pharm. Res.* 22: 2141–2151 (2005).

55 **Davis, B. and Morris, T.** Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm. Res.* 10: 1093–1098 (1993).

56 **Akimoto, M., Nagahata, N., Furuya, A., Fukushima, K., Higuchi, S. and Suwa, T.** Gastric pH profiles of beagle dogs and their use as an alternative to human testing. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 49: 99–102 2000.

57 **Kostewicz, E.S., Carlsson, A.S., Hanisch, G., Nilsson, R.G., Lofgren, L. and Abrahamsson, B.** Comparison of dog and human intestinal fluid and its impact on solubility estimations (PO-166). *Eur. J. Pharm. Sci.* 17S (2002).

blanqueo y recuperación que necesitan, así como por la limitación en el número de tomas de muestras plasmáticas para realizar una farmacocinética^{58,59}.

Correlación *in vitro* / *in vivo*

La FDA define la correlación *in vitro/in vivo* como un modelo matemático que describe la relación entre las propiedades *in vitro* de una forma farmacéutica (normalmente el perfil de disolución) y la respuesta obtenida *in vivo* (como las concentraciones plasmáticas o la cantidad de fármaco absorbido). Existen distintos tipos de correlación definidos del modo siguiente⁶⁰:

➤ Nivel A

Representa una relación punto a punto entre el porcentaje de fármaco liberado *in vitro* y el porcentaje de fármaco absorbido *in vivo*. Una buena correlación de este tipo permite predecir como se comportará la formulación *in vivo* a partir de los datos *in vitro*. Se considera la correlación más importante y significativa, ya que utiliza toda la información de las curvas de disolución y absorción.

58 Ikegami, K., Tagawa, K. and Osawa, T. Bioavailability and *in vivo* release behavior of controlled-release multiple-unit theophylline dosage forms in beagle dogs, cynomolgus monkeys, and gottingen minipigs. J. Pharm. Sci. 95: 1888-1895 (2006).

59 Ikegami, K., Tagawa, K., Narisawa, S. and Osawa, T. Suitability of the cynomolgus monkey as an animal model for drug absorption studies of oral dosage forms from the viewpoint of gastrointestinal physiology. Biol. Pharm. Bull. 26: 1442-1447 (2003).

60 Food and Drug Administration: Guidance for Industry. Extended Release Solid Oral Dosage Forms: Development, Evaluation and application of *In Vitro/In Vivo* Correlations. US Department of Health and Human Services. Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD (1997).

➤ Nivel B

Compara el tiempo medio de disolución *in vitro* (MDT) con el tiempo medio de residencia *in vivo* (MRT) o con el tiempo medio de absorción (MAT). Este tipo de correlación no permite predecir como será la curva de concentraciones plasmáticas del fármaco ya que distintos tipos de curva pueden producir MRT o MAT similares.

➤ Nivel C

Establece una relación entre un punto de los parámetros *in vitro* y un punto de los parámetros *in vivo*. Este tipo de correlación no refleja el perfil de las concentraciones plasmáticas, factor crítico en el desarrollo de formulaciones de liberación modificada.

➤ Nivel C Múltiple

Correlaciona varios parámetros farmacocinéticos de interés con la cantidad de fármaco disuelta en varios tiempos de muestreo del perfil de disolución.

La Tabla 4 nos muestra varios parámetros que se pueden utilizar en los distintos niveles de correlación IVIV.

Nivel	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>
A	Curva de disolución	Curva de absorción
B	Momentos estadísticos: MDT	Momentos estadísticos: MRT, MAT, etc
C	Tiempo de disolución: t_{10} , t_{50} , t_{90} Eficiencia de disolución	C_{max} , T_{max} , k_a Tiempo de absorción: t_{10} , t_{50} , t_{90} AUC

Tabla 4. Parámetros para evaluar los distintos niveles de correlación IVIV

La correlación de Nivel A es la más importante y deseada ya que da la mayor información posible sobre el comportamiento de la formulación *in vivo* a partir de los datos *in vitro*, y esto supondría una importante reducción en términos de tiempo y coste para el desarrollo de una nueva forma farmacéutica. Las correlaciones de Nivel B y C se pueden emplear en los primeros estadios del desarrollo para descartar formulaciones. La correlación C Múltiple puede ser tan valiosa como la A, aunque, si esta correlación es posible, también lo es la correlación de Nivel A siendo esta última la de elección.

Uno de los principales inconvenientes para el desarrollo de formulaciones orales de liberación modificada sigue siendo la falta o dificultad para conseguir una buena correlación IVIV. Esto es debido a que las propiedades intrínsecas de cada fármaco o las condiciones fisiológicas a lo largo del tracto GI son factores que influyen enormemente sobre estas formulaciones, aunque lo ideal sería que el control de la liberación del fármaco dependiera sólo de la forma farmacéutica.

Los mejores candidatos a ser formulados en sistemas de liberación modificada son los fármacos que presentan una buena permeabilidad y solubilidad a lo largo del tracto GI ya que su absorción estará determinada solamente por su velocidad de disolución GI (Fármacos de clase I de acuerdo al Sistema de Clasificación Biofarmacéutica)^{61,62,63}. Sin embargo el desarrollo de formulaciones de liberación modificada con fármacos poco solubles puede ser más complicado ya que se liberarán muy lentamente en el tracto GI. Además, su disolución y solubilización está más condicionada por la presencia de alimentos y secreciones (gástricas, pancreáticas y biliares) y por el pH GI⁶⁴. Son numerosas las estrategias diseñadas para aumentar la solubilidad de estos fármacos como, por ejemplo, los sistemas nano/microparticulares, la inclusión de excipientes solubilizantes como las ciclodextrinas, y en los últimos años, el uso de la granulación por fusión^{65,66,67,68}.

61 **Amidon, G.L., Lennernas, H., Shah, V.P. and Crison, J.R.** A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharm. Res.* 12: 413-420 (1995).

62 **Lobenberg, R. and Amidon, G.L.** Modern bioavailability bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50: 3-12 (2000).

63 **Martínez, M.N. and Amidon, G.L.** A mechanistic approach to understanding the factors affecting drug absorption: a review of fundamentals. *J. Clin. Pharmacol.* 42: 620-643 (2002).

64 **Charman, W.N., Porter, C.J.H., Mithani, S. and Dressman, J.B.** Physicochemical and physiological mechanisms for the effects of food on drug absorption: the role of lipids and pH. *J. Pharm. Sci.* 86: 269-282 (1997).

65 **Passerini, N., Albertini, B., Gonzalez-Rodríguez, M.L. Cavallari, C. and Rodríguez, L.** Preparation and characterization of ibuprofen-poloxamer 188 granules obtained by melt granulation. *Eur. J. Pharm. Sci.* 15: 71-78 (2002).

66 **Yang, D., Kulkarni, R., Behme, R.J. and Kotiyan, P.** Effect of the melt granulation technique on the dissolution characteristics of griseofulvin. *Int. J. Pharm.* 329: 72-80 (2007).

67 **Sharma, P., Chaudhari, P., Bhagat, H. and Varia, N.** Preparation and characterization of meloxicam-myrj 52 granules obtained by melt granulation. *Pharm. Technol.* (2007).

Esta última estrategia permite además el diseño de formas farmacéuticas orales de liberación modificada en un solo paso.

En el siguiente apartado se describirá la técnica de granulación por fusión y los factores que pueden afectar al desarrollo de formulaciones orales de liberación modificada con esta tecnología ya que ha sido la utilizada a lo largo de esta memoria experimental.

2. GRANULACIÓN POR FUSIÓN EN GRANULADOR- MEZCLADOR DE ALTA VELOCIDAD

Revista: Vitae vol. 13(1) 2006

Autores: Lourdes OCHOA D., Manuela IGARTUA O., Rosa M^a HERNÁNDEZ M.,
Alicia R. GASCÓN y José L. PEDRAZ M.

Laboratorio de Farmacia y Tecnología Farmacéutica Facultad de Farmacia.
Universidad del País Vasco (UPV-EHU), Paseo de la Universidad N° 7, 01006
Vitoria-Gasteiz. España.

I. INTRODUCCIÓN

La granulación es un proceso de aglomeración de partículas primarias de polvo para formar estructuras mayores denominadas gránulos (Figura 6). Generalmente, este granulado se utiliza como producto intermedio en la fabricación de comprimidos y cápsulas, aunque también puede ser empleado como producto final. Las principales razones por las cuales se recurre a la granulación de una mezcla pulverulenta son las siguientes:

- Prevenir la segregación de sus componentes.
- Mejorar las propiedades de flujo.
- Mejorar las características de compactación.

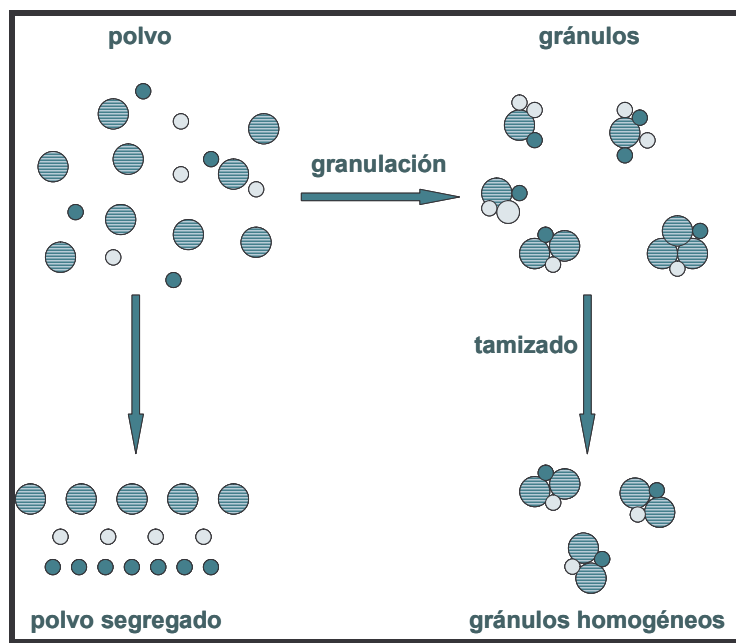


Figura 6. Proceso de formación de gránulos

La preparación de un granulado puede realizarse por vía seca o vía húmeda según se adicione o no un solvente a la mezcla de polvos. La elección del método de granulación dependerá por un lado de la aplicación que se quiera dar al granulado y por otro de las propiedades físico químicas del principio activo y de los excipientes de la formulación, en particular de su sensibilidad a la humedad y al calor⁶⁹.

La **granulación por vía seca** también conocida como “granulación por doble compresión” se produce mediante la agregación de los componentes en polvo sometidos a una alta presión seguida de una fragmentación o troceado y posterior granulación mediante tamización para conseguir el tamaño de gránulo deseado. Las técnicas más empleadas son el briqueteado (slugging) y la compactación con rodillos. Esta vía se puede utilizar como alternativa a la vía húmeda cuando el fármaco a granular es sensible a la humedad, a los líquidos de granulación, o no es estable a altas temperaturas de secado. Sus principales inconvenientes son que la mezcla debe presentar ciertas propiedades cohesivas, la formación de polvo y la baja reproducibilidad en las propiedades finales del granulado.

Por otro lado, la **granulación por vía húmeda** consiste en un proceso de amasado de una mezcla de polvos en presencia de un líquido de granulación, agua o

⁶⁹ **Summers, M. and Aulton, M.** Granulación, In: Elsevier (Ed), Farmacia. La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas, (2004) pp. 368–378.

solvente orgánico, que puede llevar disuelto un agente aglutinante o incorporarse con el resto de los componentes de la mezcla para favorecer la adhesión de las partículas una vez secado el granulado. La Figura 7 muestra esquemáticamente las etapas de la granulación por vía húmeda y los equipos necesarios para llevarla a cabo de forma convencional o mediante un proceso desarrollado en “un solo paso”.

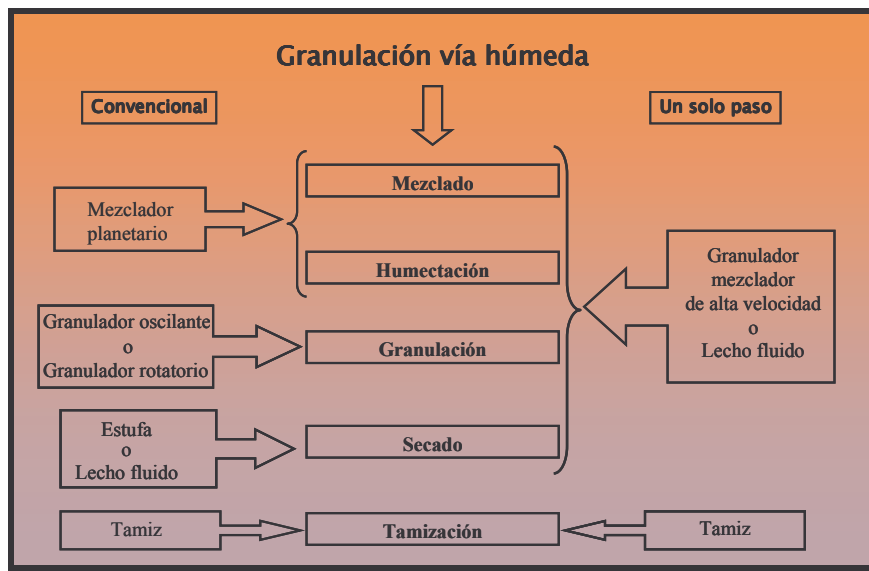


Figura 7. Proceso de granulación por vía húmeda convencional y en “un solo paso”.

Como puede observarse, el empleo del granulador mezclador de alta velocidad (GMAV) o del lecho fluido permite realizar la granulación en “un solo paso” ya que un mismo equipo permite realizar las etapas de mezclado, humectación, granulación y secado. Esto significa una reducción en el número de equipos a utilizar lo que simplifica considerablemente el proceso y evita posibles

problemas en la manipulación o pérdidas que pueden producirse entre un equipo y otro.

La granulación por vía húmeda presenta también algunos inconvenientes como son la posibilidad de hidrólisis del principio activo en presencia de agua, la necesidad de prolongados tiempos de secado y la pérdida de estabilidad del principio activo por la exposición al calor durante la fase de secado. Los solventes orgánicos se pueden utilizar como alternativa para fármacos sensibles a la humedad o cuando se precisan tiempos de secado cortos, sin embargo, su uso requiere trabajar en locales e instalaciones antideflagrantes, lo que aumenta mucho el coste de la producción.

Otra posibilidad para la elaboración de granulados es la granulación por fusión, que puede ser considerada como una modificación de la granulación por vía húmeda^{70,71,72}.

II. ¿QUÉ ES LA GRANULACIÓN POR FUSIÓN?

La granulación por fusión es un proceso en el que la granulación se produce por la adición de un agente aglutinante que es sólido a temperatura ambiente, pero

70 **Kristensen, H. G. and Schaefer, T.** Granulations. In: J. Swarbrick and J. C. Boylan (Eds.) Encyclopedia of pharmaceutical technology, Marcel Dekker, New York, (1997) pp. 121–160.

71 **Heng, P. W. S. and Wong, T. W.**, Melt processes for oral solid dosage forms, In: J. Swarbrick and J. C. Boylan (Eds.) Encyclopedia of pharmaceutical technology, Marcel Dekker, New York, (2006) pp. 2257–2261.

72 **Vila, J. L.** Tecnología Farmacéutica Vol. II: Formas Farmacéuticas, Madrid (1997).

funde a temperaturas relativamente bajas. Normalmente se trabaja con sustancias de punto de fusión en torno a 50–80°C tanto de naturaleza hidrófila como lipófila⁷¹. El agente aglutinante puede añadirse ya fundido sobre la mezcla de polvos precalentada⁷³ o en forma sólida junto con el resto de componentes de la mezcla de tal forma que la granulación se desarrolla en “un solo paso” al fundir el aglutinante en el seno de la mezcla⁷⁴. En este caso, dependiendo del equipo empleado, el agente aglutinante fundirá por el calor generado por una corriente de aire caliente (granulación por fusión en lecho fluido), por la acción de una camisa calefactora, por la fricción de los componentes de la mezcla producida por un impulsor durante la fase de mezclado y amasado^{75,76}, o por la combinación de estas dos acciones como ocurre en el granulador mezclador de alta velocidad. En cualquier caso, tras la fusión, el agente aglutinante actúa como líquido de unión de las partículas de polvo de forma similar al líquido adicionado en los procesos de vía húmeda⁷⁰. Dependiendo de la cantidad de aglutinante añadido, de los componentes que constituyen la mezcla y de la elección de las

73 **Knight, P.C., Instone, T., Pearson, J.M.K. and Hounslow, M.J.** An investigation into the kinetics of liquid distribution and growth in high shear mixer agglomeration. *Powder Technol.* 97: 246–257 (1998).

74 **Zhou, F., Vervet, C. and Remon, J.P.** Influence of processing on the characteristics of matrix pellets based on microcrystalline waxes and starch derivatives. *Int. J. Pharm.* 147: 23–30 (1997).

75 **Mctaggart, C.M., Ganley, J.A., Sickmueller, A. and Walker, S.E.** The Evaluation of Formulation and Processing Conditions of a Melt Granulation Process. *Int. J. Pharm.* 19: 139–148 (1984).

76 **Schaefer, T., Holm, P. and Kristensen, H.G.** Melt Granulation in a Laboratory Scale High Shear Mixer. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 16: 1249–1277 (1990).

condiciones del proceso es posible obtener gránulos o incluso pellets^{77,78}. En este sentido, los resultados descritos por Heng *y col.*⁷⁹ y Seo *y col.*⁸⁰ pusieron de manifiesto que una alta velocidad de mezcla y tiempos prolongados de amasado favorecen la formación de pellets.

Las principales ventajas que presenta la granulación por fusión son las siguientes:

- Evita la formación de polvo.
- Elimina la fase de secado haciendo el proceso de granulación más corto.
- Evita el uso de solventes y los posibles problemas que derivan de ello (hidrólisis de principio activo, empleo de equipos ignífugos etc.).

Su mayor inconveniente es que no se puede aplicar a sustancias termolábiles a las temperaturas habituales de trabajo.

77 **Schaefer, T., Holm, P. and Kristensen, H.G.** Melt Granulation in A Laboratory Scale High Shear Mixer. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 16: 1249-1277 (1990).

78 **Vilhelmsen, T., Kristensen, J. and Schaefer, T.** Melt pelletization with polyethylene glycol in a rotary processor. *Int. J. Pharm.* 275: 141-153 (2004).

79 **Heng, P.W., Wong, T.W. and Chan, L.W.** Influence of production variables on the sphericity of melt pellets. *Chem. Pharm. Bull.* 48: 420-424 (2000).

80 **Seo, A. and Schaefer, T.** Melt agglomeration with polyethylene glycol beads at a low impeller speed in a high shear mixer. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 52: 315-325 (2001).

Equipos

Los equipos más empleados en la granulación por fusión son el granulador mezclador de alta velocidad⁸¹ y el lecho fluido^{82,83,84,85}. Ambos equipos pueden realizar la granulación en un solo paso, lo que permite simplificar considerablemente el tiempo y los costes asociados a los procesos de granulación tradicionales. Además, una vez optimizado el proceso y controlando las variables que pueden influir sobre él, estos equipos permiten la aplicación del proceso a escala industrial^{86,87,88}. Una cuestión a tener en cuenta a la hora de seleccionar el equipo de granulación más adecuado, es su influencia sobre las características del granulado a realizar. Diversos estudios descritos en la bibliografía ponen de manifiesto que los gránulos obtenidos con el GMAV son más densos que los resultantes del lecho fluido, debido a las altas fuerzas de

81 **Gokhale, R., Sun, Y. and Shukla, A.J.** High shear Granulation, In: D. M. Parikh (Ed.) Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology, Taylor & Francis, (2005) pp. 191–229.

82 **Abberger, T., Seo, A. and Schaefer, T.** The effect of droplet size and powder particle size on the mechanisms of nucleation and growth in fluid bed melt agglomeration. *Int. J. Pharm.* 249: 185–197 (2002).

83 **Yanze, F.M., Duru, C. and Jacob, M.** A process to produce effervescent tablets: fluidized bed dryer melt granulation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26: 1167–1176 (2000).

84 **Kidokoro, M., Haramiishi, Y., Sagasaki, S., Shimizu, T. and Yamamoto, Y.** Application of fluidized hot-melt granulation (FHMG) for the preparation of granules for tableting; Properties of granules and tablets prepared by FHMG. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 28: 67–76 (2002).

85 **Kojima, M. and Nakagami, H.** Preparation of the controlled-release matrix tablets of theophylline with micronized low-substituted hydroxypropyl cellulose by a fluidized hot-melt granulation method. *STP Pharma. Sci.* 11: 145–150 (2001).

86 **Sirois, P.J. and Craig, G.D.** Scale up of a high-shear granulation process using a normalized impeller work parameter. *Pharm. Dev. Technol.* 5: 365–374 (2000).

87 **Ameye, D., Keleb, E., Vervaet, C., Remon, J.P., Adams, E. and Massart, D.L.** Scaling-up of a lactose wet granulation process in Mi-Pro high shear mixers. *Eur. J. Pharm. Sci.* 17: 247–251 (2002).

88 **Bjorn, I.N., Jansson, A., Karlsson, M., Folestad, S. and Rasmuson, A.** Empirical to mechanistic modelling in high shear granulation. *Chem. Engineering Sci.* 60: 3795–3803 (2005).

cizalla y de compactación ejercidas por la pala impulsora del equipo^{89,90}. Por consiguiente, una misma formulación puede presentar distinto comportamiento biofarmacéutico dependiendo del equipo utilizado en su elaboración.

A pesar de las numerosas ventajas que presentan ambos equipos, su principal inconveniente es la cantidad de variables (velocidad del impulsor, flujo del aire, carga del equipo, temperatura de trabajo, etc.) que pueden determinar el resultado final, y la necesidad de conocer su influencia. El análisis de los parámetros del proceso que pueden condicionar las características del granulado obtenido puede reducirse mediante un diseño factorial, con el objeto de disminuir el número de formulaciones a elaborar^{91,92}.

Una vez obtenido el granulado es necesario realizar su correcta caracterización mediante la determinación de distintas propiedades tales como la distribución del tamaño de partícula, la porosidad, la densidad y voluminosidad, las propiedades de flujo, las características de compresión, la distribución del agente aglutinante y la morfología.

89 **Lin, K.W. and Peck, G.E.** Development of agglomerated talc. III- Comparisons of the physical properties of the agglomerated talc prepared by three different processing methods. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 22: 383-392 (1996).

90 **Tobyn, M.J., Staniforth, J.N., Baichwal, A.R. and Mccall, T.W.** Prediction of physical properties of a novel polysaccharide controlled release system. *Int. J. Pharm.* 128: 113-122 (1996).

91 **Vojnovic, D., Moneghini, M. and Rubessa, F.** Experimental-Design for A Granulation Process with A-Priori Criterias. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 21: 823-831 (1995).

92 **Campisi, B., Vojnovic, D., Chicco, D. and Phan-Tan-Luu, R.** Melt granulation in a high shear mixer: optimization of mixture and process variables using a combined experimental design. *Chemometrics and Intelligent Lab. Systems* 48: 59-70 (1999).

III. GRANULACIÓN POR FUSIÓN EN GRANULADOR MEZCLADOR DE ALTA VELOCIDAD.

Como se ha comentado anteriormente, el empleo del GMAV permite realizar el mezclado, granulación y secado/enfriamiento del granulado en un solo paso.

Como puede observarse en la Figura 8, el equipo está formado por un recipiente cerrado y termostatado mediante una camisa calefactora. Presenta además una sonda para el registro continuo de la temperatura del producto y un quebrantador o “chopper” para evitar la formación de grandes aglomerados. En la parte inferior está la pala impulsora que dará lugar al mezclado y permitirá la formación del granulado.

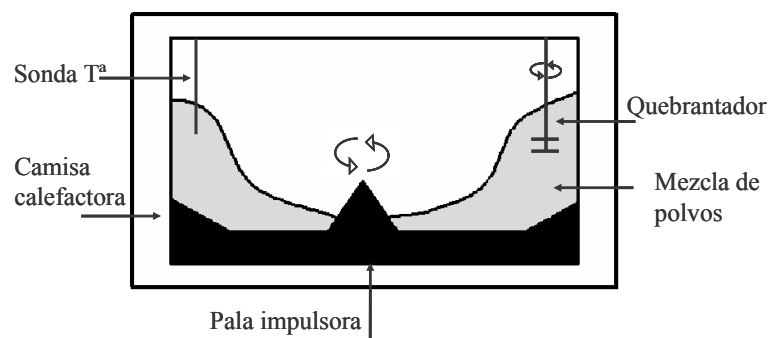


Figura 8. Esquema de un granulador mezclador de alta velocidad

Para la elaboración de un granulado mediante granulación por fusión en un solo paso, se incorpora al equipo el agente aglutinante en estado sólido junto con el resto de materiales de partida. Los componentes se mezclan durante unos minutos mediante la acción de la pala impulsora a velocidades bajas (150–250

rpm), dependiendo de la cantidad de carga, y durante un corto periodo de tiempo. Tras la fase de mezclado comienza la de granulación propiamente dicha en la que se aumenta progresivamente la velocidad del impulsor para favorecer una buena distribución del agente aglutinante y alcanzar su temperatura de fusión. Gracias al calor generado por la camisa calefactora y por la fricción de los componentes provocada por el impulsor, el aglutinante funde actuando como líquido de unión entre las partículas y dando lugar a la formación del granulado. En esta etapa del proceso de granulación, la formación de grandes aglomerados se puede evitar accionando el quebrantador, cuyo empleo también puede favorecer la obtención de gránulos más densos. Posteriormente se realiza la etapa de enfriamiento haciendo pasar agua fría a través de la camisa calefactora. Esta etapa se puede acompañar con un movimiento oscilatorio del recipiente (si el equipo lo posee) que evita que la mezcla se adhiera a las paredes, la formación de aglomerados, y favorece el enfriamiento progresivo del granulado por intercambio de calor con el recipiente. Una vez finalizado el proceso se tamiza el granulado para eliminar los posibles aglomerados obtenidos.

Un aspecto importante es que el proceso debe vigilarse con atención ya que la granulación progresa con tanta rapidez que el granulado se puede transformar muy rápidamente en un sistema sobreamasado inutilizable. Por tanto, es conveniente utilizar un sistema de monitorización adecuado para controlar el proceso de granulación^{93,94}. En este sentido, se puede emplear la medida de

93 **Cliff, M.J.** Granulation end point and automated process control of mixer-granulators: Part. I. Pharm. Tech. 112-132 (1990).

distintos factores para determinar el punto final del proceso de granulación como son por ejemplo el registro del consumo de energía o el esfuerzo de torsión de la pala impulsora^{95,96,97}.

Al igual que el resto de técnicas de granulación, la granulación por fusión en GMAV está condicionada por numerosas variables como son las características de los materiales de partida y del equipo utilizado. Otras variables que influyen en el proceso aparecen agrupadas en la Tabla 5. Un adecuado conocimiento y control de ellas permitirá la obtención de granulados homogéneos y con buenas propiedades de flujo. A continuación se describe de forma más detallada la influencia de algunas de estas variables sobre las características del granulado obtenido.

94 **Cliff, M.J.** Granulation end point and automated process control of mixer–granulators: Part. II. *Pharm. Tech.* 38–44 (1990).

95 **Hamdani, J., Moes, A.J. and Amighi, K.** Development and evaluation of prolonged release pellets obtained by the melt pelletization process. *Int. J. Pharm.* 245: 167–177 (2002).

96 **Betz, G., Burgin, P.J. and Leuenberger, H.** Power consumption measurement and temperature recording during granulation. *Int. J. Pharm.* 272: 137–149 (2004).

97 **Bardin, M., Knight, P.C. and Seville, J.P.K.** On control of particle size distribution in granulation using high–shear mixers. *Powder Technology* 140: 169–175 (2004).

Variables del producto	Variables del equipo	Variables del proceso
Viscosidad del aglutinante	Tipo de pala impulsora	Velocidad de la pala impulsora
Cantidad de aglutinante	Acción del quebrantador	Tiempo de mezclado
Tamaño de partícula de los materiales		Carga del equipo
		T ^a del producto
		T ^a camisa calefactora
		Tiempo de granulación

Tabla 5. Principales variables del equipo, proceso y producto que influyen en el proceso de granulación por fusión en GMAV.

Influencia del agente aglutinante.

En la granulación por fusión, la selección adecuada del agente aglutinante es un aspecto de gran importancia ya que permitirá desarrollar tanto formulaciones de liberación inmediata como de liberación modificada⁹⁸. Como agentes aglutinantes se pueden emplear numerosas sustancias hidrófobas como el monoestearato de glicerilo⁹⁹, ácido esteárico¹⁰⁰, Compritol® 888 Ato (Glyceryl

98 **Flanders, P., Dyer, G.A. and Jordan, D.** The Control of Drug Release from Conventional Melt Granulation Matrices. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 13: 1001–1022 (1987).

99 **Thies, R. and Kleinebudde, P.** Melt pelletisation of a hygroscopic drug in a high shear mixer Part 1. Influence of process variables. *Int. J. Pharm.* 188: 131–143 (1999).

100 **Voinovich, D., Moneghini, M., Perissutti, B., Filipovic–Grcic, J. and Grabnar, I.** Preparation in high-shear mixer of sustained-release pellets by melt pelletisation. *Int. J. Pharm.* 203: 235–244 (2000).

behenate)¹⁰¹, Gelucire 50/13 (Polyglycolized glyceride)^{102,103} y otros tipos de grasas y alcoholes^{104,105}. Entre las sustancias hidrófilas mas empleadas destacan el polietilenglicol (PEG 6000)¹⁰⁶ y el poloxamer 188 (Lutrol® F68)¹⁰⁷.

Los agentes aglutinantes pueden presentarse en forma de escamas o polvo, con una gran diversidad de tamaños de partícula. En principio se considera que el proceso de aglomeración en la granulación por fusión es prácticamente independiente del tamaño de partícula del agente aglutinante, excepto cuando se utilizan sustancias de viscosidad elevada. Esto es debido a que una vez fundido el aglutinante pasa a estado líquido humectando al polvo de forma homogénea independientemente de su tamaño de partícula inicial^{108,109,110}. Sin embargo,

101 **Faham, A., Prinderre, P., Farah, N., Eichler, K.D., Kalantzis, G. and Joachim, J.** Hot-melt coating technology. I. Influence of compritol 888 Ato and granule size on theophylline release. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26: 167-176 (2000).

102 **Gupta, M.K., Goldman, D., Bogner, R.H. and Tseng, Y.C.** Enhanced drug dissolution and bulk properties of solid dispersions granulated with a surface adsorbent. *Pharm. Dev. Technol.* 6: 563-572 (2001).

103 **Seo, A., Holm, P., Kristensen, H.G. and Schaefer, T.** The preparation of agglomerates containing solid dispersions of diazepam by melt agglomeration in a high shear mixer. *Int. J. Pharm.* 259: 161-171 (2003).

104 **Mctaggart, C.M., Ganley, J.A., Sickmueller, A. and Walker, S.E.** The Evaluation of Formulation and Processing Conditions of a Melt Granulation Process. *Int. J. Pharm.* 19: 139-148 (1984).

105 **Evrard, B., Amighi, K., Beten, D., Delattre, L. and Moes, A.J.** Influence of melting and rheological properties of fatty binders on the melt granulation process in a high-shear mixer. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25: 1177-1184 (1999).

106 **Heng, P.W.S., Zhu, L.W. and Zhu, L.** Effects of process variables and their interactions on melt pelletization in a high shear mixer. *STP Pharma. Sci.* 10: 165-172 (2000).

107 **Passerini, N., Albertini, B., Gonzalez-Rodríguez, M.L., Cavallari, C. and Rodriguez, L.** Preparation and characterisation of ibuprofen-poloxamer 188 granules obtained by melt granulation. *Eur. J. Pharm. Sci.* 15: 71-78 (2002).

108 **Schaefer, T., Holm, P. and Kristensen, H.G.** Melt Granulation in A Laboratory Scale High Shear Mixer. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 16: 1249-1277 (1990).

para evitar problemas de homogenización con el resto de los componentes en las fases de mezclado y granulación, es preferible emplear aglutinantes de tamaño de partícula similar al principio activo y excipientes de la mezcla ya que como observaron *Scott y col.*¹¹¹ y *Van den Dries y col.*¹¹² las diferencias en el tamaño de partícula pueden afectar a la composición de los gránulos debido a problemas de segregación de los componentes durante la fase de mezclado.

Otra de las propiedades físico-químicas que condiciona la elección de una sustancia para su empleo como aglutinante es su intervalo de temperatura de fusión. Tal y como se ha mencionado anteriormente, lo habitual es trabajar con sustancias de punto de fusión en torno a 50–80°C. Esto es debido a que el empleo de aglutinantes con punto de fusión más bajo podría causar problemas ya que se podría alcanzar dicha temperatura durante la manipulación y almacenamiento del granulado y el agente aglutinante fundiría. Por otro lado, temperaturas de fusión mayores implican someter a la mezcla a una mayor temperatura, lo que contribuiría a posibles problemas de inestabilidad especialmente con sustancias termolábiles.

109 **Wong, T.W., Wan, L.S.C. and Heng, P.W.S.** Effects of physical properties of PEG 6000 on pellets produced by melt pelletization. *Pharm. Dev. Technol.* 4: 449–456 (1999).

110 **Schaefer, T. and Mathiesen, C.** Melt pelletization in a high shear mixer .9. Effects of binder particle size. *Int. J. Pharm.* 139: 139–148 (1996).

111 **Scott, A.C., Hounslow, M.J. and Instone, T.** Direct evidence of heterogeneity during high-shear granulation. *Powder Technology* 113: 205–213 (2000).

112 **Van den Dries, K. and Vromans, H.** Relationship between inhomogeneity phenomena and granule growth mechanisms in a high-shear mixer. *Int. J. Pharm.* 247: 167–177 (2002).

La cantidad del aglutinante en la mezcla ha sido estudiada por numerosos autores como una variable importante a la hora de elaborar un granulado¹¹³. Una conclusión a la que llegaron *Schaefer*¹¹⁴ y *Knight y col.*¹¹⁵ es que para granular materiales con tamaños de partícula pequeños es necesaria una cantidad elevada de aglutinante debido a que presentan una mayor área superficial que debe ser adecuadamente humectada para conseguir su aglutinación

En general, la granulación por fusión requiere aproximadamente entre un 10 y un 20 % en peso del agente aglutinante en la mezcla. Un exceso de aglutinante en la mezcla provocaría un sobreamasado, mientras que si no se alcanza la proporción suficiente no tendrá lugar la formación del granulado.

Influencia de otros excipientes de la formulación

La elección de los excipientes junto con la naturaleza del aglutinante condicionará la liberación del principio activo. El tamaño de partícula de los excipientes y principio activo es otra de las variables más estudiadas y a tener en cuenta ya que su influencia sobre el resultado final es importante. Autores como

113 **Faham, A., Prinderre, P., Farah, N., Eichler, K.D., Kalantzis, G. and Joachim, J.** Hot-melt coating technology. I. Influence of compritol 888 Ato and granule size on theophylline release. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26: 167-176 (2000).

114 **Schaefer, T.** Melt pelletization in a high shear mixer .6. Agglomeration of a cohesive powder. *Int. J. Pharm.* 132: 221-230 (1996).

115 **Knight, P.C., Instone, T., Pearson, J.M.K. and Hounslow, M.J.** An investigation into the kinetics of liquid distribution and growth in high shear mixer agglomeration. *Powder Technology* 97: 246-257 (1998).

*Thomsen*¹¹⁶ y *Mackaplow y col.*¹¹⁷ observaron que materiales con tamaño muy pequeño no se podían granular mediante granulación por fusión, o que en caso de granularse, estos granulados eran muy frágiles.

Sin embargo, *Farag Badawy y col.*^{118,119} vieron que los excipientes y fármacos de pequeño tamaño de partícula daban lugar a gránulos mayores y más densos. Así mismo *Keningley y col.*¹²⁰ demostraron que existe una importante relación entre el tamaño de partícula y la viscosidad del aglutinante a la hora de controlar el crecimiento y la consistencia del gránulo. En este sentido, *Johansen y Schaefer*¹²¹ estudiaron esa relación entre tamaño y viscosidad, y sus efectos sobre el mecanismo de crecimiento del granulado en un GMAV observando que aglutinantes de viscosidad baja son suficientes para obtener granulados resistentes con materiales de tamaño pequeño. Por el contrario, con tamaños de partícula mayores se necesitan aglutinantes de alta viscosidad para conseguir un granulado de consistencia suficiente para evitar su ruptura. Estos mismos

116 **Thomsen, L.J., Schaefer, T., Sonnergaard, J.M. and Kristensen, H.G.** Prolonged Release Matrix Pellets Prepared by Melt Pelletization .4. Drug content, drug particle size and binder composition. *Pharm. Tech.* 6: 19–24 (1994).

117 **Mackaplow, M.B., Rosen, L.A. and Michaels, J.N.** Effect of primary particle size on granule growth and endpoint determination in high-shear wet granulation. *Powder Technology* 108: 32–45 (2000).

118 **Badawy, S.I.F., Lee, T.J. and Menning, M.M.** Effect of Drug Substance Particle Size on the Characteristics of Granulation Manufactured in a High-Shear Mixer. *AAPS PharmSciTech* 1(4) (2000).

119 **Badawy, S.I.F. and Hussain, M.A.** Effect of starting material particle size on its agglomeration behavior in high shear wet granulation. *AAPS PharmSciTech* 5 (2004).

120 **Keningley, S.T., Knight, P.C. and Marson, A.D.** An investigation into the effects of binder viscosity on agglomeration behaviour. *Powder Technology* 91: 95–103 (1997).

121 **Johansen, A. and Schaefer, T.** Effects of interactions between powder particle size and binder viscosity on agglomerate growth mechanisms in a high shear mixer. *Eur. J. Pharm. Sci.* 12: 297–309 (2001).

autores demostraron también que la viscosidad del aglutinante y el tamaño de partícula del resto de componentes afectan a la homogeneidad de tamaños de los gránulos de un mismo lote y entre diferentes lotes¹²².

Entre los excipientes que se pueden emplear en esta técnica se encuentran los derivados de la celulosa como la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) para el desarrollo de matrices hidrófilas con las que se puede conseguir una liberación sostenida del fármaco debido a la formación de un gel que controlará su liberación. La liberación del principio activo a partir de estas matrices hidrófilas se producirá por difusión a través del gel (si el principio activo es soluble en el medio de disolución), por erosión de la matriz (si es poco soluble) o mediante la combinación de ambos mecanismos^{123,124}.

También se pueden utilizar otros derivados celulósicos como la etilcelulosa o la hidroximetilcelulosa (HMC). Si se desea incrementar la liberación del principio activo podemos añadir diluyentes hidrófilos como el manitol o sustancias que mejoren su solubilidad como las ciclodextrinas¹²⁵. Por otro lado es posible, mediante la incorporación de sustancias de acción disgregante como la

122 **Schaefer, T., Johnsen, D. and Johansen, A.** Effects of powder particle size and binder viscosity on intergranular and intragranular particle size heterogeneity during high shear granulation. *Eur. J. Pharm. Sci.* 21: 525–531 (2004).

123 **Ford, J.L., Rubinstein, M.H., McCaul, F., Hogan, J.E. and Edgar, J.E.** Importance of drug type, tablet shape and added diluent on drug release kinetics from HPMC matrix tablets. *Int. J. Pharm.* 57: 75–85 (1987).

124 **Colombo, P., Santi, P., Bettini, R., Brazel, C.S. and Peppas, N.A.** Drug Release from Swelling Controlled System, In: D. L. Wise (Ed.), *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*, Marcel Dekker, New York, (2000) pp. 183–210.

125 **Pina, M.E. and Veiga, F.** The influence of diluent on the release of theophylline from hydrophilic matrix tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26: 1125–1128 (2000).

crospovidona, desarrollar formulaciones de liberación inmediata^{126,127}. El empleo de un aglutinante hidrófilo como el Superpolystate[®] (PEG-6-estearato con un punto de fusión de 33-37 °C) junto con un disgregante permite elaborar formulaciones de disgregación bucal inmediata “flash tablets”¹²⁸. Las propiedades de este aglutinante posibilitan incrementar la resistencia física de los comprimidos obtenidos sin afectar al tiempo de disgregación, permitiendo su rápida disgregación al fundir en la cavidad bucal y favoreciendo la rápida solubilización del principio activo.

Como se puede observar en la Tabla 6, las aplicaciones de esta técnica son muy numerosas ya que permite el desarrollo de formulaciones de fármacos de distinta solubilidad y pertenecientes a diferentes grupos terapéuticos.

126 **Perissutti, B., Rubessa, F., Moneghini, M. and Voinovich, D.** Formulation design of carbamazepine fast-release tablets prepared by melt granulation technique. *Int. J. Pharm.* 256: 53-63 (2003).

127 **Royce, A., Suryawanshi, J., Shah, U. and Vishnupad, K.** Alternative Granulation Technique: Melt granulation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 22: 917-924 (1996).

128 **Abdelbary, G., Prinderre, P., Eouani, C., Joachim, J., Reynier, J.P. and Piccerelle, P.** The preparation of orally disintegrating tablets using a hydrophilic waxy binder. *Int. J. Pharm.* 278: 423-433 (2004).

Forma de liberación	Fármaco	Aglutinante	Referencia
Lib. controlada	Clemastina fumarato	Precirol®/PEG 8000 NF	Royce et al. 1996
Lib. controlada	Diazepam	PEG 3000/Gelucire® 50/13	Seo et al. 2003
Lib. controlada	Ibuprofeno	Poloxamer 188	Passerini et al. 2002
Lib. controlada	Propranolol	Precirol®	Bertuzzi et al 2001
Lib. controlada	Fenilefrina	Precirol® / Compritol®	Hamdani eta l. 2002
Lib. controlada	Teofilina	Ácido esteárico	Voinovich et al. 2000
Lib. controlada	Fenilpropanolamina	Compritol®	Zhang et al. 2001
Lib. inmediata	Diclofenaco	PEG 4000	Rodriguez et al. 2002
Lib. inmediata	Propranolol oleato	Propranolol oleato	Crowley et al.2000
Lib. inmediata	Paracetamol	Superpolystate®	Abdelbary et al. 2004
Lib. inmediata	Carbamazepina	PEG 6000	Perissutti et al. 2003

Tabla 6. Algunos ejemplos de fármacos empleados en el desarrollo de distintas formulaciones mediante granulación por fusión en GMAV.

Influencia de algunas variables del proceso.

Además de los componentes de la formulación, también se ha demostrado que el proceso de elaboración del granulado es importante a la hora de controlar la liberación del principio activo ya que cambios en el mismo pueden dar lugar a formulaciones con distintos perfiles de liberación y distinta biodisponibilidad¹²⁹.

En cuanto a la velocidad de la pala impulsora, es sabido que altas velocidades de trabajo producen un crecimiento más rápido del granulado haciendo así el proceso más corto. Sin embargo, se corre el riesgo de un crecimiento incontrolado¹³⁰. *Knight y col.*¹³¹ recomiendan velocidades bajas de trabajo para conseguir gránulos mayores ya que a velocidad elevada se puede provocar la rotura de los gránulos.

Además, el empleo de la camisa calefactora para la elaboración del granulado puede afectar al comportamiento reológico del agente aglutinante fundido y por consiguiente su comportamiento en el mecanismo de granulación, lo cual va a influir sobre las características finales del granulado.

129 **Westerhuis, J.A., deHaan, P., Zwinkels, J., Jansen, W.T., Coenegracht, P.J.M. and Lerk, C.F.** Optimisation of the composition and production of mannitol/microcrystalline cellulose tablets. *Int. J. Pharm.* 143: 151–162 (1996).

130 **Faham, A., Prinderre, P., Farah, N., Eichler, K.D., Kalantzis, G. and Joachim, J.** Hot-melt coating technology. I. Influence of compritol 888 Ato and granule size on theophylline release. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26: 167–176 (2000).

131 **Knight, P.C., Johansen, A., Kristensen, H.G., Schaefer, T. and Seville, J.P.K.** An investigation of the effects on agglomeration of changing the speed of a mechanical mixer. *Powder Technology* 110: 204–209 (2000).

Finalmente, otras variables del proceso que pueden influir en el producto final y por tanto es importante tenerlas en cuenta son: el tiempo de amasado y la acción del quebrantador.

En resumen, podemos decir que es de gran importancia conocer y controlar todos los factores y variables que afectan al desarrollo del proceso de granulación por fusión en un GMAV para poder conseguir granulados homogéneos, reproducibles y con buenas propiedades ya que como *Bergman y col.*¹³² demostraron, estas características son imprescindibles para asegurar una buena calidad del producto final.

IV. CONCLUSIONES

La granulación por fusión en GMAV es una técnica adecuada para la formulación de fármacos sensibles a la humedad evitando el uso de solventes orgánicos, y que permite el desarrollo de formas farmacéuticas orales tanto de liberación inmediata como modificada.

Son muchas las variables a controlar para lograr granulados homogéneos y reproducibles, sin embargo una vez conocida su influencia, el GMAV permite su aplicación a escala industrial.

¹³² **Bergman, R., Johansson, M.E., Lundstedt, T., Seifert, E. and Aberg, J.** Optimization of a granulation and tableting process by sequential design and multivariate analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 44: 271–286 (1998).

El empleo de este equipo permite además realizar la granulación por fusión en un solo paso, lo cual simplifica el proceso de elaboración de los granulados.

OBJETIVOS

Tal y como se ha comentado en la introducción, la granulación por fusión en granulador mezclador de alta velocidad se presenta como una tecnología interesante para el desarrollo de formulaciones de liberación modificada. La utilización de estos equipos permite realizar las operaciones de mezclado, granulación y secado/enfriamiento del granulado en un solo paso, simplificando considerablemente el proceso y con el consiguiente ahorro de tiempo y costes, de ahí que su aplicación esté cada vez más extendida en la industria farmacéutica.

Teniendo en consideración estos planteamientos, los objetivos de la presente tesis doctoral son los siguientes:

1. Aplicar el proceso de granulación por fusión en un solo paso al desarrollo de comprimidos de liberación modificada, utilizando teofilina y lovastatina como fármacos modelo.
2. Estudiar la influencia de los excipientes de la formulación en el perfil de disolución y en el mecanismo de liberación del principio activo a partir de comprimidos matriciales de teofilina elaborados mediante granulación por fusión. Los excipientes utilizados serán derivados celulósicos y diferentes aglutinantes para granulación.
3. Evaluar *in vivo*, tras su administración oral a perros Beagle, los comprimidos de liberación modificada de teofilina desarrollados, comparándolos con la formulación comercial Theodur[®]. Se realizará su caracterización farmacocinética y se tratará de establecer una correlación *in vitro-in vivo*.

4. Desarrollar y evaluar, tanto *in vitro* como *in vivo*, una formulación de liberación modificada de lovastatina elaborada mediante granulación por fusión. Se llevará a cabo un estudio en perros Beagle en el que se evaluará la influencia de la presencia de alimentos ricos en grasa sobre la absorción de lovastatina tras la administración oral de la nueva formulación desarrollada y la formulación comercial Altoprev[®].

DESARROLLO EXPERIMENTAL

PREPARATION OF SUSTAINED RELEASE HYDROPHILIC MATRICES BY MELT GRANULATION IN A HIGH-SHEAR MIXER

J Pharm Pharmaceut Sci (www.cspscanada.org) 8(2):132-140, 2005

Preparation of sustained release hydrophilic matrices by melt granulation in a high-shear mixer.

Lourdes Ochoa, Manuela Igartua, Rosa M^a. Hernández, Alicia R. Gascón, José Luis Pedraz
Laboratory of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV-EHU), Paseo de la Universidad n^o7, Vitoria-Gasteiz, Spain

12 November 2004, Revised 21 February 2005, Accepted 28 February 2005, Published 29 June 2005

Abstract Purpose: The objective of this work was to prepare theophylline sustained release matrix tablets based on the combination of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC K4M and K100M) and different melt-able binders by melt granulation in a high-shear mixer. **Methods:** Dissolution profiles of each formulation were compared to those of TheoDur[®] 200 mg tablets and the mean dissolution time (MDT) and similarity factor (f_2 factor) were calculated. The matrices swelling behavior was investigated by texture analysis. **Results:** The results obtained show that the type of excipient influenced the drug release rate. In particular, the dissolution rate was delayed when lipophilic binders were used and only formulations containing Gelucire[®] 50/13 or PEG 6000 with HPMC K4M had a profile simi-

lar to the commercial formulation. The release mechanism of theophylline from the formulations was described by Peppas's equation showing a non-Fickian release mechanism. The investigation of matrices swelling behavior showed that the gel layer thickness increased continuously over the time period studied. Moreover, a correlation between gel layer thickness and strength with the percentage released was found. **Conclusions:** These results suggest that melt granulation could be an easy and fast method to formulate sustained release tablets.

ABSTRACT

Purpose: The objective of this work was to prepare theophylline sustained release matrix tablets based on the combination of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC K4M and K100M) and different meltable binders by melt granulation in a high-shear mixer. **Methods:** Dissolution profiles of each formulation were compared to those of TheoDur[®] 200 mg tablets and the mean dissolution time (MDT) and similarity factor (f_2 factor) were calculated. The matrices swelling behavior was investigated by texture analysis. **Results:** The results obtained show that the type of excipient influenced the drug release rate. In particular, the dissolution rate was delayed when lipophilic binders were used and only formulations containing Gelucire[®] 50/13 or PEG 6000 with HPMC K4M had a profile similar to the commercial formulation. The release mechanism of theophylline from the formulations was described by Peppas's equation showing a non-Fickian release mechanism. The investigation of matrices swelling behavior showed that the gel layer thickness increased continuously over the time period studied. Moreover, a correlation between gel layer thickness and strength with the percentage released was found. **Conclusions:** These results suggest that melt granulation is an easy and fast method to formulate sustained release tablets.

Keywords

Sustained release, melt granulation, matrices, theophylline, high-shear mixer.

1. INTRODUCTION

Development of sustained release oral dosage forms is beneficial for optimal therapy regarding efficacy, safety and patient compliance (1). Frequently used approaches to achieve adequate control of drug release include hydrophilic and lipophilic matrix systems, in which the mechanism of drug release is based on a combination of diffusion and erosion processes (2, 3). Among the numerous hydrophilic carrier materials tested for the development of hydrophilic matrices, the most commonly used is hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), which has been used since the early 1960s (4, 5). Their properties as gelling agents are very important in the formulation because they are responsible for the formation, by hydration, of a diffusion and erosion-resistant gel layer which is able to control drug release (6). Studies reported from this laboratory in recent years have demonstrated the possibility of obtaining sustained release formulations of different drugs such as salbutamol and ketoprofen from hydrophilic matrices prepared with HPMC (7).

On the other hand, lipophilic materials have been also employed as matrix carriers for sustained release solid dosage forms (8, 9). In addition to direct compression and wet granulation, wax matrices can be prepared by solid dispersion (10) and melt granulation methods, suitable for granulation of hygroscopic drugs and hydrophilic materials such as HPMC. Melt granulation in a high-shear mixer (MG) is a single-step technique that converts fine powders into granules combining several processing steps into a single operation unit (11). The powder agglomeration is promoted by the addition of a low melting point

binder, which is solid at room temperature and melts at relatively low temperatures (50–80 °C). The binder is liquefied by the heat generated either by a heating jacket or by the friction of the impeller blades during the mixing phase (12). This technique is a good alternative to the conventional wet granulation process when the use of solvents is not indicated. Moreover, it offers several advantages since the drying phase is eliminated and the process is less consuming in terms of time and energy (13). Besides, this procedure brings the possibility of preparing sustained release formulations by selecting the suitable binder and excipients (14).

Based on these observations, in the present study hydrophilic matrix systems were designed by compression of granules obtained by a high–shear melt granulation process. The purpose of this work was to develop sustained release tablets using theophylline, as a model drug, and HPMC in combination with different binder agents as sustained release excipients to tailor drug release to that of the commercial formulation. Due to the important role of swelling on drug release from water–swellable matrix systems (15, 16), texture analysis has been applied to investigate the swelling behavior of tablets during the hydration process.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

Anhydrous theophylline obtained from Vencaser, S.A. (Bilbao, Spain) was used as model drug. HPMC (Methocel[®] K4M Premium and Methocel[®] K100M Premium,

kindly supplied by Colorcon (Kent, U.K.), were used as starting materials and magnesium stearate (Kirsch Pharma, Madrid, Spain) as a lubricant. Gelucire[®] 50/13, Compritol[®] 888 Ato, Precirol[®] Ato 5 (Gattefossé, Barcelona, Spain), PEG 6000, Stearic acid and Glycerol monostearate (Vencaser, S.A., Bilbao, Spain) were used as meltable binders.

2.2. Granulation

The granules were prepared in a laboratory scale “one-step” high-shear mixer Rotolab[®] (Zanchetta, Italy) equipped with an electrically heated jacket using different lipophilic and hydrophilic binders.

The granulation procedure was standardized on the basis of preliminary trials. The mixture composed of theophylline (50 %), HPMC K4M or K100M (30 %) and a binder agent (20 %) were mixed at an impeller speed of 250 rpm for 5–10 min. Successively the mixture was heated with the heating jacket up to the melting point of the binder and the impeller speed was increased in order to obtain granules. At the end of the granulation process the granules were cooled at room temperature by decreasing the jacket temperature to 25 °C and tilting the bowl.

2.3. Granule characterization:

a) Differential Scanning Calorimetry (DSC)

The DSC analyses were performed using a DSC-50 calorimeter/TAC-50 (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). Samples of about 5 mg were sealed in a 30 µl aluminium pan and were scanned between 10°C and 300°C at a heating rate of 10 °C/min.

b) Particle size

The granules obtained were sieved in order to remove lumps larger than 1 mm. The particle size distribution was determined using a Sympatec Helos/Rodos laser diffraction particle size analyzer (Sympatec GmbH., Clausthal-Zellerfeld, Germany) with dry powder dispersion capability and a vibrating conveyor feeder. The powder dispersion pressure was varied between 1.0 and 2.0 bars with direct feed into the dispersion funnel. Measurements were carried out in triplicate (n=3).

c) Flow properties

The flow properties of the granules can be evaluated by repose angle (α), Carr Index (CI) and Hausner ratio (HR). Repose angle was measured pouring the granules through a glass funnel onto a flat surface. The Carr Index and Hausner ratio were obtained by using a SBS Instruments tap density apparatus with a 250 ml glass-measuring cylinder.

2.4. Manufacture of tablets

The granules were mixed with 0.5 % magnesium stearate for 10 min using a rotating V-blender (Emjuvi, Barcelona, Spain) and compressed into tablets on a reciprocating single punch tablet machine (BONALS, Barcelona, Spain) at a breaking strength of 70–80 N. The breaking strength was determined using a Pharma-test GmbH PTB-311 model (Hainburg-Germany) durometer.

Tablets weighted around 400 mg \pm 5% and contained 200 mg of theophylline. The tablet shape, size and hardness were held constant for all formulations.

2.5. *In vitro* dissolution studies

Drug release was performed using the USP 25 type II apparatus (Sotax AT7 dissolution tester, Allschwil, Switzerland) at a rotation speed of 50 rpm in 1000 ml distilled water at 37 ± 0.5 °C. Samples were extracted at regular time intervals during 24 h. The amount of drug released was assayed spectrophotometrically at 272 nm.

2.6. Dissolution kinetic

In order to characterize the mechanism of drug release from the matrices, the data were fitted to the following mathematical model (17, 18):

$$Mt / M_{\infty} = k t^n \quad \text{Eq. 1}$$

where Mt/M_{∞} is the fraction of drug released up to time t , K is the kinetic constant and n is the release exponent indicative of the release mechanism.

The mean dissolution time (MDT) was also calculated. MDT is the mean ratio of the first to zero moments of the dissolution rate–time curve and is expressed by the following equation:

$$MDT = ACC / M_{\infty} \quad \text{Eq. 2}$$

where ACC is the complementary area under the accumulated dissolution curve and M_{∞} is the maximum accumulated dissolution amount.

Experimental data were fitted to Peppas's equations by using the WINNONLIN® program (19), and MDT calculations were performed with the same program.

The similarity factor (f_2) is used to compare the dissolution profile of each formulation with that of marketed formulation. In this approach, recommended by the FDA Guidance for Industry, a value between 50 and 100 indicates similarity between two dissolution profiles. If the f_2 value is close to 100, the two profiles are nearly identical (20, 21).

2.7. Gel texture analysis

In order to avoid deformation during the determination of core/gel interface, one planar base of the tablets was covered with an organic water insoluble coating (14 mg Eudragit[®] RS PO in a 1:1 mixture of isopropanol and acetone) and glued to a microscope slide. The samples were placed in dissolution vessels filled with 1000 ml distilled water at 37 ± 0.5 °C in the USP paddle apparatus at 50 rpm to simulate the *in vitro* dissolution process. The swollen tablets were taken out at predetermined intervals over a period of 12 h for texture analysis. Expansion of tablets during swelling process was investigated in triplicate using the Texture Analyzer (TA.XT2, Stable Micro System, Goldalming, UK), which provided information not only on gel layer thickness but also on the texture (strength) of the gel, as complete force–distance curves are recorded during the penetration process.

The penetration of a flat-tipped round steel probe (2 mm diameter and 30 mm height) into swollen matrices was determined at a test speed of 0.1 mm/s under increasing load, and data collection and analyses were performed by a computer equipped with the Texture Expert[®] software. A predetermined maximum force of

800 g was established in order to differentiate the glassy polymer from gelled polymer.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Differential Scanning Calorimetry studies

The DSC curves were obtained for theophylline, excipients, their physical mixture with the same proportion of the tablets, and granules obtained by melt granulation. The DSC analysis of theophylline showed a single endothermic peak at 273.20 ± 2 °C, due to the melting of the drug. HPMC K4M and K100M did not show any characteristic peak, and binder agents showed their respective peak at their melting range (Compritol[®]: 69–74 °C, Glycerol monostearate: 55–60 °C, Stearic acid: 55–60 °C, Gelucire[®] 50/13: 46–50 °C, Precirol[®]: 53–57 °C and PEG 6000: 55–63 °C). In the DSC curves of physical mixtures and melt granules the characteristic peaks of theophylline and binder agents were almost unchanged indicating the absence of strong interactions between the components and suggesting drug–excipient compatibility in all the formulations examined. Figure 1 shows an example of the thermograms obtained for theophylline, its physical mixture with Compritol[®] or HPMC K4M and the corresponding granules.

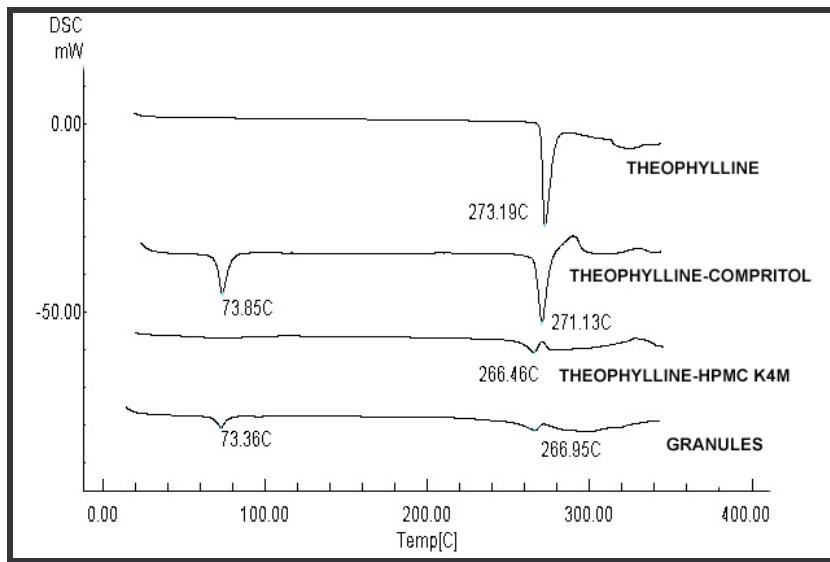


Figure 1. DSC thermograms obtained for theophylline, the physical mixture with Compritol® or HPMC K4M and the corresponding granules.

3.2. Particle size and flow properties

As shown in table 1, particle size distribution measurements showed that 90 % of the granules elaborated had diameters $<690 \mu\text{m}$, and the mean particle size values of the granules ranged between $130\text{--}290 \mu\text{m}$ for all the batches prepared. The particle size distribution was unimodal showing that the different excipients used did not influence the granules particle size. Taking flow properties into account, satisfactory values for Hausner Ratio (HR), Carr Index (CI) and repose angle (α) were obtained for all formulations. The HR values obtained were below 1.25 and repose angle was around 34° , indicating that the granules showed good flowability (22). Moreover, the values of CI were below 15%, which means that the granules have good flow properties, thus suggesting the possibility of

continuous tableting (23). However, it was not possible to compress the granules prepared with Gelucire[®] 50/13 and HPMC K100M.

Table 1. Size distribution of granules.

Formulation		VMD	X ₅₀	X ₉₀
Stearic acid	HPMC K4M	203.42	183.60	385.95
	HPMC K100M	137.49	106.91	283.25
Compritol [®]	HPMC K4M	133.40	112.36	260.96
	HPMC K100M	209.20	152.47	480.12
Glycerol monostearate	HPMC K4M	214.68	185.98	405.34
	HPMC K100M	227.51	189.01	435.83
Precirol [®]	HPMC K4M	288.38	199.93	688.44
	HPMC K100M	176.11	147.18	359.78
PEG 6000	HPMC K4M	244.60	193.70	488.24
	HPMC K100M	282.47	217.23	606.91
Gelucire [®] 50/13	HPMC K4M	150.38	121.06	319.47

VMD: average volume mean diameter

X₅₀: particle size diameter, 50% bellow this range

X₉₀: particle size diameter, 90% bellow this range

3.3. Drug release profiles

Figures 2 and 3 show the dissolution profiles of theophylline for the formulations prepared with different binders and HPMC K4M or K100M, respectively, and TheoDur[®] 200 mg.

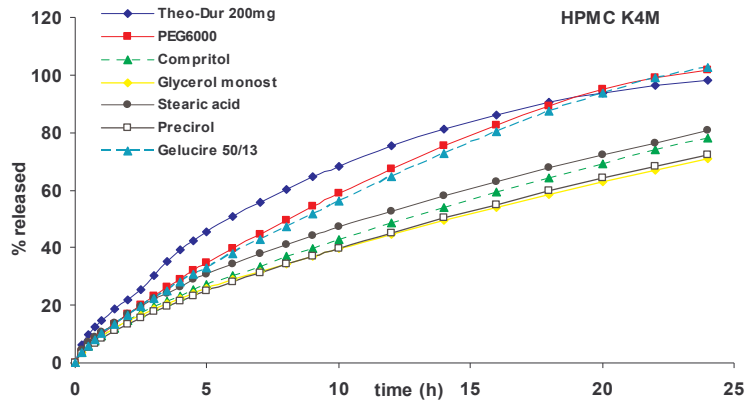


Figure 2. Cumulative percentage of theophylline released from different formulations prepared with HPMC K4M.

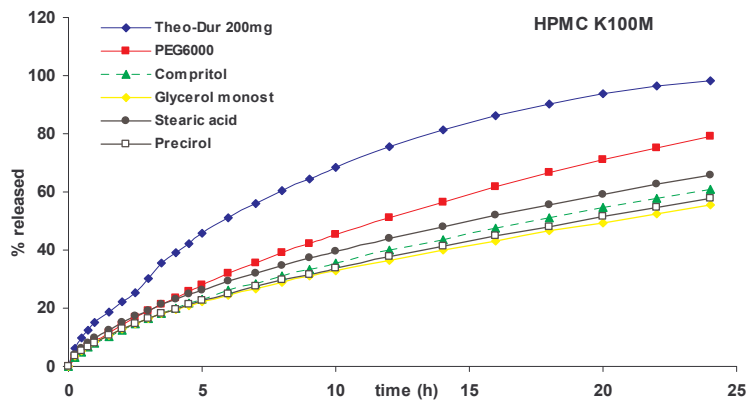


Figure 3. Cumulative percentage of theophylline released from different formulations prepared with HPMC K4M.

The marketed formulation was found to provide a sustained release for a period of 24 h. *In vitro* dissolution results show that the matrices prepared with

granules obtained by melt granulation provided an extended release of the drug. However, different release behavior was observed depending on the binder used for their preparation. On one hand, the formulations prepared with lipophilic binders (Compritol[®] 888 Ato, Precirol[®] Ato 5, Stearic acid and Glycerol monostearate) showed the slowest release rate and their dissolution profiles were almost superimposable. After 24 h only around 60–80 % of the total drug amount was released for both HPMC K4M and K100M celluloses. The lipophilic binders could probably make the wetting of the solid matrix difficult and, subsequently, allow a slower release rate. On the other hand, the formulations containing PEG 6000 and Gelucire[®] 50/13 and HPMC K4M achieved the total release of the drug at 24 h, whereas the formulation with PEG 6000 and HPMC K100M only released 80%. These differences between cellulose grades can be explained by the fact that the gel layer of HPMC K100M was more viscous and less erodible than that of HPMC K4M, providing a stronger barrier for drug diffusion, and resulting in a slower drug release rate (24).

Release data from swellable HPMC systems can be analyzed according to Peppas's equation. The values of the kinetic parameters obtained from the data fitting to the power law equation (Eq. 1) and MDT (Eq. 2) are listed in table 2. MDT values obtained for the matrices prepared with HPMC K4M show that formulations containing a lipophilic binder such as Stearic acid, Compritol[®], Glycerol monostearate and Precirol[®] (MDT = 547.42; 582.45; 569.91 and 583.79 min, respectively), released the drug at a slower rate and to a lesser extent than those containing an hydrophilic one (Gelucire[®] 50/13 and PEG 6000) or the

commercial formulation (MDT = 413.92; 408.92 and 309.01 min, respectively). Similar results were observed for HPMC K100M formulations where PEG 6000 (MDT = 434.00) showed a faster drug release than lipophilic binders (table 2). Furthermore, the value of exponent n can be used to characterize the release mechanism of controlled release matrices. According to the values shown in table 2, between 0.5 and 1, one may conclude that the drug release during the dissolution test is controlled by both diffusion of the drug through the hydrated matrix and the erosion of the matrix itself; that is, a non-Fickian (anomalous) solute diffusion mechanism (17, 18).

Table 2. Values of the kinetic parameters and MDT.

Formulation		K (%min ⁻ⁿ)	n	r	MDT (min)	f ₂
Theo-Dur® 200		1.154	0.637	0.998	309.01	
Stearic acid	HPMC K4M	0.878	0.622	0.999	547.42	41.65
	HPMC K100M	0.894	0.591	0.999	532.26	39.78
Compritol®	HPMC K4M	0.572	0.676	1.0	582.45	37.39
	HPMC K100M	0.647	0.625	0.999	551.08	31.83
Glycerol monostearate	HPMC K4M	0.659	0.643	0.999	569.91	35.07
	HPMC K100M	0.769	0.587	0.999	540.84	30.29
Precirol®	HPMC K4M	0.441	0.681	1.0	583.79	34.76
	HPMC K100M	0.709	0.604	0.999	547.74	30.78
PEG 6000	HPMC K4M	0.458	0.758	0.999	408.92	54.54
	HPMC K100M	0.674	0.679	0.999	434.00	45.75
Gelucire® 50/13	HPMC K4M	0.431	0.762	1.0	413.92	51.17

The similarity factor (f_2) was also calculated in order to compare each formulation profile with that of the reference formulation. The values of f_2 are listed in table 2. Comparison of the profiles indicated that only the formulations containing HPMC K4M and Gelucire[®] 50/13 or PEG 6000 had a profile similar to the commercial formulation ($f_2 = 51.17$ and 54.54 , respectively). However, the other formulations did not provide the desired sustained release profile ($f_2 < 50$).

3.4. Gel texture analysis

According to the investigations of Yang *et al.* (16) the Texture Analyzer was used in an effort to correlate the gel layer thickness with the dissolution profiles of matrix tablets. This test measures the force necessary for penetration of the probe into the swollen tablet. Figure 4 illustrates the penetration profiles obtained for the Compritol[®]-HPMC K4M tablets at different swelling times.

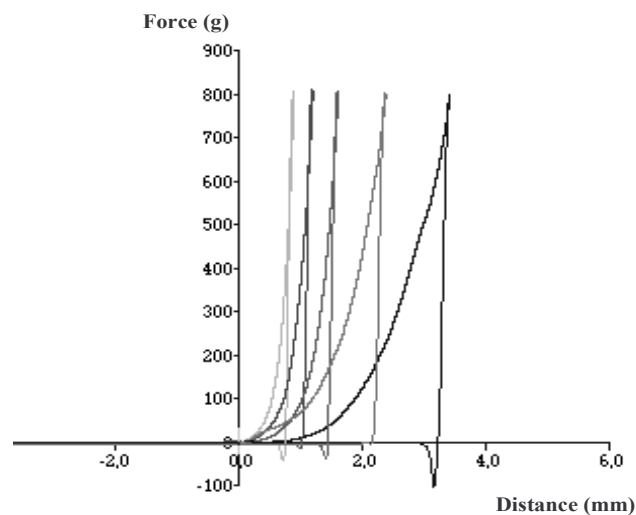


Figure 4. Force–distance profiles of Compritol[®]-HPMC K4M tablets at different swelling times (from left to right: 1, 2, 4, 8 and 12 hours).

As can be seen in the figure, at the beginning of the measure only small forces are necessary to penetrate the swollen gel layer. Then, a progressive increase is observed up to a sharp raise in the force required for further penetration indicating the position of the boundary between gel layer and the dry core. Once the maximum force is reached, reverse movement starts withdrawing the probe from the swollen tablet. Gel layer thickness was obtained calculating the maximum penetration distance of the probe into the swollen tablets.

Figure 5 summarizes the results obtained for the hydration process of theophylline matrices based on HPMC K4M or K100M as a function of time of exposure to an aqueous environment. As might have been expected, a different swelling behaviour was found for hydrophilic and lipophilic binders, similar for both HPMC grades. The penetration profiles of the tablets prepared with hydrophilic binders showed a strong increase in the penetration distance with swelling time, indicating a significant grow in gel layer thickness. In contrast, the formulations containing lipophilic binders showed a continuous but less remarkable increase with time in gel layer thickness. Comparing the swelling profiles obtained, significant differences between hydrophilic and lipophilic formulations are observed.

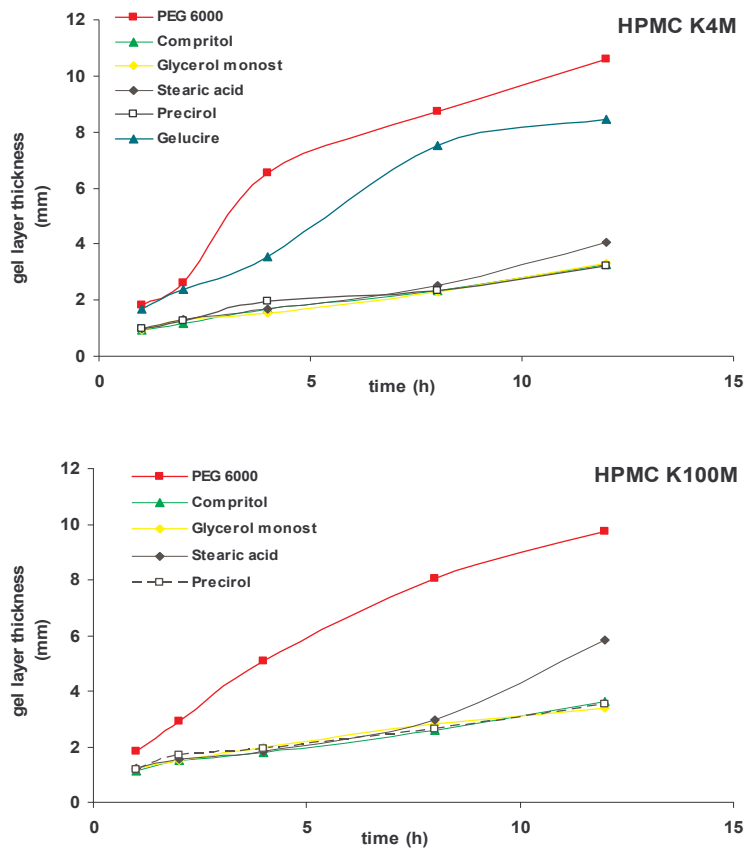


Figure 5. Swelling behavior of HPMC K4M and K100M tablets as a function of time of exposure to an aqueous environment.

After a one-hour swelling, the penetration distance of the probe was similar in all cases (0.9–1.2 mm). Nevertheless, after a 12 h swelling the distance penetrated for hydrophilic binder formulations was higher (8–10 mm for PEG 6000 and Gelucire® 50/13) than for the lipophilic ones (about 3–5 mm). More remarkable was the case of Stearic acid and HPMC K100M, which showed a sharp increase of the gel layer thickness at the last point.

These results support those obtained in the dissolution studies. On the one hand, tablets with hydrophilic binders were more hydrated, and fast polymer hydration caused greater release of the drug. On the other one, all lipophilic binders had a similar and less pronounced swelling and their dissolution profiles were also identical, leading to a slower and to a lesser extent drug release than those containing hydrophilic binders.

Usually, during the swelling process, a gradient in gel layer hydration is developed. Outer areas are characterized by lower gel strength (low polymer concentration) and less resistance to penetration, while less hydrated areas of more dense gel structure require higher force for penetration. Comparing long and short swelling times, it becomes obvious that prolonged swelling time did not only lead to an increase in the maximum penetration distance but also altered the load needed for penetration significantly (25). In order to support this idea, the slope of the texture analysis curves was measured between zero and 100 grams. Figure 6 illustrates the values obtained for different tablet formulations when varying the swelling time. Since a behaviour similar to that of penetration distance was observed for hydrophilic and lipophilic binders, respectively, the formulation with the highest gel layer thickness (PEG 6000 and HPMC K4M) and the lowest one (Glycerol monostearate and HPMC K100M) were compared.

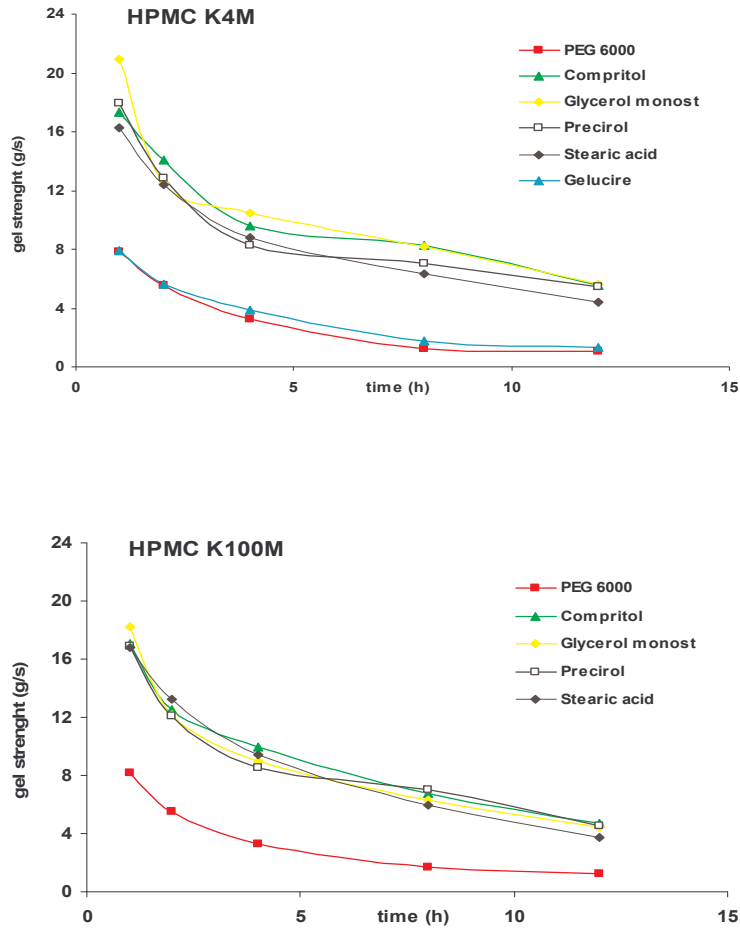


Figure 6. Gel strength (slope of the texture analysis curves) of HPMC K4M and K100M tablets as a function of time of exposure to an aqueous environment.

In the case of PEG 6000, after swelling for 1 h, the slope of the curve was about 8 g/s and the penetration distance was almost 2 mm. At this point, Glycerol monostearate showed a 18.2 g/s slope approximately and the probe advanced 1.2 mm. After 12 h swelling, the slopes were 1.1 and 4.5 g/s and the maximum penetration distances were 10.5 and 3.5 mm for PEG 6000 and Glycerol

monostearate, respectively. These differences can be attributed to the lower hydration and bigger gel strength of the HPMC with lipophilic binder.

Finally, the influence of matrix swelling, gel layer thickness and the slope (gel strength) of the force–distance curve on the release of theophylline was evaluated by multiple regression analysis using “Minitab 14.10” software (26). The percentage of theophylline released was found to be dependent on these parameters according to the following equations obtained by multiple regression analysis:

Hidrophilic binder formulations:

$$\% \text{ released} = 11.3 + 4.82 * \text{Gel thickness (mm)} - 1.46 * \text{Slope (g/s)} \quad \text{Eq. 3}$$

$$r = 0.950$$

Lipophilic binder formulations:

$$\% \text{ released} = 23.7 + 6.91 * \text{Gel thickness (mm)} - 1.31 * \text{Slope (g/s)} \quad \text{Eq. 4}$$

$$r = 0.944$$

Figure 7 shows the calculated response surfaces for theophylline release from HPMC matrices as a function of gel layer thickness and texture analysis curve slope (gel strength).

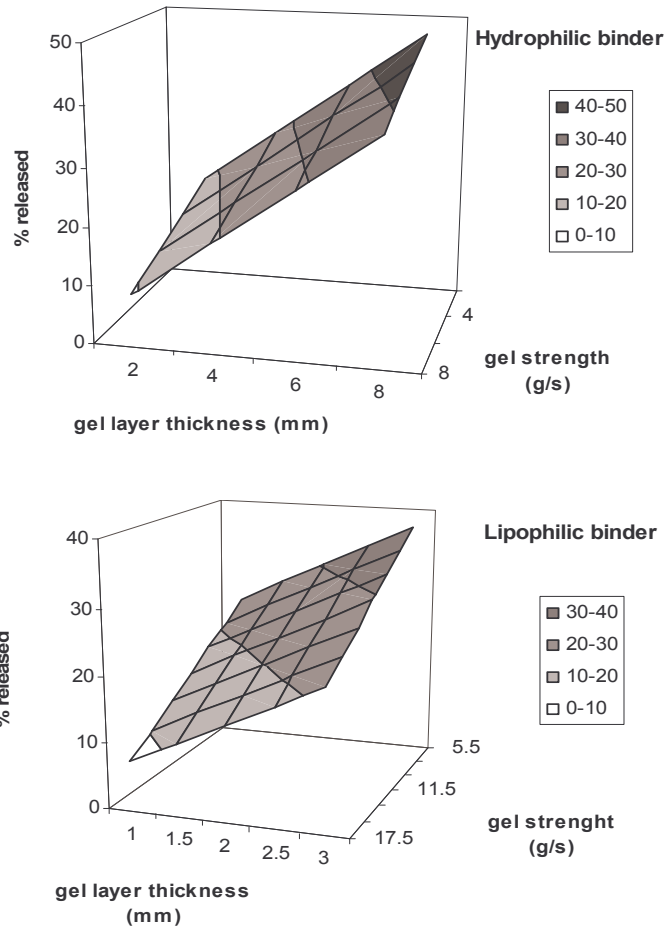


Figure 7. Response surface plots for theophylline release from HPMC matrices as a function of gel layer thickness and texture analysis curve slope (gel strength).

As might have been expected, the percentage released correlated with the extent of hydration, an increase of gel thickness and a decrease in the curve slope led to an increase in the amount of drug released.

4. CONCLUSIONS

The present study has shown that “one-step” melt granulation in high-shear mixer could be a viable method to prepare sustained release formulations.

The type of excipient influenced the rate and extent of drug release from melt granulation based matrix tablets. Comparison of dissolution profiles indicated that only the formulations containing HPMC K4M and Gelucire[®] 50/13 or PEG 6000 had a profile similar to the commercial formulation studied. However, the release of theophylline was remarkably lowered when lipophilic binders were used.

Additionally, the swelling study with the Texture Analyzer allows us to correlate the dissolution profiles with the thickness and strength of the gel layer formed during the hydration process.

Acknowledgements

We address our thanks to Dr. Salmerón for his technical assistance with the texture analyzer.

REFERENCES

1. **Y.W. Chien**, Controlled and modulated-release drug delivery systems, in: J. Swarbrick and J.C. Boyland (Ed.), Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Marcel Dekker, Inc., New York, 1990, pp. 281–313.
2. **T. Gren, C. Nyström**, Porous cellulose matrices containing lipophilic release modifiers—a potential oral extended-release system, *Int. J. Pharm.* 184 (1999) 7–19.

3. **S. Kiil, K. Dam-Johansen**, Controlled drug delivery from swellable hydroxypropylmethylcellulose matrices: model-based analysis of observed radial front movements, *J. Control. Rel.* 90 (2003) 1–21.
4. **A. Pham, P.I. Lee**, Probing the mechanism of drug release from hydroxypropylmethyl cellulose matrices, *Pharm. Res.* 11(10) (1960) 1379–1384.
5. **R.M. Hernández, A.R. Gascón, B. Calvo, C. Caramella, U. Conte, A. Domínguez-Gil, J.L. Pedraz**, Correlation of “*in vitro*” release and “*in vivo*” absorption characteristics of four salbutamol sulfate formulations, *Int. J. Pharm.* 139 (1996) 45–52.
6. **M. J.Vazquez, B. Pérez-Marcos, J.L. Gómez-Amora, R. Martínez-Pacheco, C. Souto, A. Concheiro**, Influence of technological variables on release of drugs from hydrophilic matrices, *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 18 (1992) 1355–1375
7. **M.A. Solinís, Y. De La Cruz, B. Calvo, R.M. Hernández, A.R. Gascón, I. Goñi, M.D. Gurruchaga, J.L. Pedraz**, Release of Salbutamol sulfate and Ketoprofen enantiomers from matrices containing HPMC and cellulose derivatives, *Chirality* 14 (2002) 806–813.
8. **R. Thies, P. Kleinebudde**, Melt pelletisation of a hygroscopic drug in a high-shear mixer. Part 1. Influence of process variables, *Int. J. Pharm.* 188 (1999) 131–143.
9. **D. Voinovich, M. Moneghini, B. Perissutti, J. Filipovic-Gecic, I. Grabnar**, Preparation in high-shear mixer of sustained-release pellets by melt pelletisation, *Int. J. Pharm.* 203 (2000) 235–244.
10. **A. Esquisabel, A. San Vicente, M. Igartua, R.M. Hernández, A.R. Gascón, B. Calvo, J.L. Pedraz**, Influence of melting point and hydrophilic/lipophilic balance on the release of salbutamol sulfate from lipid matrices, *S.T.P. Pharma. Sci.* 6(5) (1996) 365–369.
11. **A. Royce, J. Suryawanshi, U. Shah, K. Vishnupad**, Alternative Granulation Technique: Melt granulation, *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 22 (1996) 917–924.
12. **C.M. Mc Taggart, J.A. Ganley, A. Sickmeller, S.E. Walder**, The evaluation of formulation and processing conditions of a melt granulation process, *Int. J. Pharm.* 19 (1984) 139–148.
13. **T. Schaefer, P. Holm, H.G. Kristensen**, Melt granulation in a laboratory scale high-shear mixer, *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 16 (1990) 1249–1277.
14. **K.J. Crowley, R.T. Forbes, P. York, H. Nyqvist, O. Camber**, Drug-fatty acid salt with wax-like properties employed as binder in melt granulation, *Int. J. Pharm.* 211 (2000) 9–17.

15. **R. Konrad, A. Christ, G. Zessin, U. Cobert**, The use of ultrasound and penetrometer to characterize the advancement of swelling and eroding fronts in HPMC matrices, *Int. J. Pharm.* 163 (1998) 123–131.
16. **L. Yang, B. Johnson, R. Fassihi**, Determination of continuous changes in the gel layer thickness of poly(ethylene oxide) and HPMC tablets undergoing hydration: a texture analysis study, *Pharm. Res.* 15 (1998) 1902–1906.
17. **N.A. Peppas**, Analysis of Fickian and Non-Fickian drug release from polymers, *Pharm. Acta. Helv.* 60 (1985) 110–111.
18. **R.W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, N.A. Peppas**, Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers, *Int. J. Pharm.* 15 (1983) 25–35.
19. **WINNOLIN®**. 1995. Scientific Consulting Inc. North Carolina USA.
20. **V.P. Shah, Y. Tsong, P. Sathe, J. Liu**, *In vitro* dissolution profile comparison–statistics and analysis of the similarity factor, f_2 , *Pharm. Res.* 15 (1998) 889–896.
21. **J.W. Moore, H.H. Flanner**, Mathematical comparison of curves with an emphasis on *in vitro* dissolutions profiles, *Pharm. Technol.* 20 (1996) 64–74.
22. **H.H. Hausner**, Effect of quench sintering on the grain structure of sintered metals, *Int. J. Powder. Metall.* 8(3) (1972) 159–161.
23. **R.L.Carr**, Evaluating flow properties of solids, *Chem. Eng.* 72(2) (1965) 163–168.
24. **J. Liu, F. Zhang, J.W. McGinity**, Properties of lipophilic matrix tablets containing phenylpropanolamine hydrochloride prepared by hot-melt extrusion, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 52 (2001) 181–190.
25. **S. Zuleger, R. Fassihi, B.C. Lippold**, Polymer particle erosion controlling drug release. II. Swelling investigations to clarify the release mechanism, *Int. J. Pharm.* 247 (2002) 23–37.
26. **Minitab®** Release 14 Statistical Software. 2003. Minitab Inc. PA USA.

IN VIVO EVALUATION OF TWO NEW SUSTAINED RELEASE FORMULATIONS ELABORATED BY ONE-STEP MELT GRANULATION: LEVEL A IN VITRO-IN VIVO CORRELATION.

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 75 (2010) 232–237



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejpb



Research paper

In vivo evaluation of two new sustained release formulations elaborated by one-step melt granulation: Level A in vitro–in vivo correlation

Lourdes Ochoa, Manoli Igartua, Rosa M. Hernández, María Ángeles Solinís, Alicia R. Gascón, Jose Luis Pedraz *

Laboratory of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of the Basque Country (UPV-EHU), Vitoria-Gasteiz, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 December 2009

Accepted in revised form 10 February 2010

Available online 14 February 2010

Keywords:

Melt granulation

Sustained release

IVIVC

Theophylline

Binder

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate *in vivo* two sustained release formulations elaborated by a one-step melt granulation method using theophylline as model drug. Both formulations presented differences in the *in vitro* release profile due to the hydrophilic or lipophilic nature of the binder employed (PEG 6000 or glycerol monostearate). The formulations were administered to Beagle dogs, and plasma levels were compared. Both formulations provided a sustained plasma concentration profile after oral administration to dogs. Significant differences ($p < 0.05$) in the plasma concentration–time curves between the two formulations were found, with higher C_{max} (6.05 ± 2.00 vs. 2.55 ± 0.82 $\mu\text{g/ml}$), higher $AUC_{0-\infty}$ (70.24 ± 16.10 vs. 33.00 ± 8.96 h $\mu\text{g/ml}$) and delayed T_{max} (6.00 ± 2.12 vs. 3.17 ± 0.98 h) for the formulation containing PEG 6000. Absolute bioavailability of theophylline was 96% and 46% for the formulations containing PEG 6000 and glycerol monostearate, respectively. These results are consistent with those obtained *in vitro*, with slower release rate of theophylline from tablets elaborated with glycerol monostearate than that obtained with tablets elaborated with PEG 6000. Moreover, the formulation containing PEG 6000 provided a plasma concentration–time profile similar to that obtained with the marketed formulation Theo-Dur[®]. A very good Level A IVIVC was observed between dissolution and absorption profiles of the drug from both test formulations. Our results showed that one-step melt granulation in a high shear mixer allows for an easy modulation of the release profile and, consequently, of the plasma level profile of the drug by selecting the type of binder used.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

ABSTRACT SUMMARY

The objective of this study was to evaluate *in vivo* two sustained release formulations elaborated by a one-step melt granulation method using theophylline as model drug. Both formulations presented differences in the *in vitro* release profile due to the hydrophilic or lipophilic nature of the binder employed (PEG 6000 or Glycerol monostearate). The formulations were administered to Beagle dogs and plasma levels were compared. Both formulations provided a sustained plasma concentration profile after oral administration to dogs. Significant differences ($p < 0.05$) in the plasma concentration time curves between the two formulations were found, with higher C_{max} (6.05 ± 2.00 vs 2.55 ± 0.82 $\mu\text{g/mL}$), higher $AUC_{0-\infty}$ (70.24 ± 16.10 vs 33.00 ± 8.96 $\text{h} \cdot \text{mg/L}$) and delayed T_{max} (6.00 ± 2.12 vs 3.17 ± 0.98 h) for the formulation containing PEG 6000. Absolute bioavailability of theophylline was 96% and 46% for the formulations containing PEG 6000 and glycerol monostearate, respectively. These results are consistent with those obtained *in vitro*, with slower release rate of theophylline from tablets elaborated with glycerol monostearate than that obtained with tablets elaborated with PEG 6000. Moreover, the formulation containing PEG 6000 provided a plasma concentration-time profile similar to that obtained with the marketed formulation Theo-Dur[®]. A very good Level A IVIVC was observed between dissolution and absorption profiles of the drug from both test formulations. Our results showed that one-step melt granulation in a high shear mixer allows for

an easy modulation of the release profile and, consequently, of the plasma level profile of the drug by selecting the type of binder used.

Keywords

Melt granulation, sustained release, IVIVC, theophylline, binder

1. INTRODUCTION

Sustained release (SR) delivery systems for oral dosing are effective in achieving ideal therapy with drugs that have a short biological half life and require repeated doses to maintain efficacy in long term treatments. Generally, the primary objectives of controlled drug delivery systems are to ensure safety and to improve drug efficacy as well as patient compliance, which can be achieved by the better control of plasma drug levels and less frequent dosing [1]. Hydrophilic matrices containing polymers such as hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) have been widely used for oral controlled release [2-4]. This kind of polymers hydrates in the presence of a dissolution medium, forming a gel layer around the tablet which controls drug diffusion [5]. Additionally, HPMC is a pH-independent dissolving material and the drug release rates from HPMC matrix formulations are generally independent of processing variables such as compaction pressure, drug particle size and the incorporation of lubricants [6,7].

An interesting approach to develop SR formulations is based on melt granulation in high shear mixer [8-10], which is a very short one-step technique converting fine powders into granules. For any controlled release dosage form it is very

important that both the number of excipients in the formula and the processing steps are kept to the minimum, in order to reduce tablet-to-tablet and batch-to-batch variations. Hence, melt granulation is a suitable and easily scalable technique for this purpose [11]. Powder agglomeration is promoted by the addition of a low melting point binder, which is solid at room temperature and melts at relatively low temperatures (50–80°C). In recent years, the interest in melt granulation has increased due to the advantages of this technique over traditional wet granulation. Since it is a solvent-free process, the drying phase is eliminated and thus it becomes less consuming in terms of time and energy [12]. Moreover, this technique could be used not only to enhance the bioavailability of poorly soluble drugs [13,14], but also to retard the release rate of highly soluble drugs [15,16].

When developing a SR formulation, the establishment of a correlation between the *in vitro* dissolution profile and the *in vivo* plasma concentration profile is of great interest for pharmaceutical development. Taking into account that the release of drugs in the gastrointestinal tract is the intended rate-limiting factor in the absorption process, it is therefore desirable to use *in vitro* data to predict *in vivo* bioavailability parameters for the rational development and evaluation process of SR oral dosage forms [17,18]. For this purpose, it is necessary to establish an *in vitro* test method that can predict the process of drug release and *in vivo* absorption [19,20], particularly during the development of an innovative dosage form.

The overall aim of this paper was to evaluate *in vivo* two sustained release formulations elaborated by a one-step melt granulation method using theophylline as model drug. Both formulations presented differences in the *in vitro* release profile due to the nature, hydrophilic or lipophilic, of the binder. In order to achieve this aim, the formulations were administered orally to dogs and the plasma concentration-time profile was obtained. Secondly, we performed a comparison with a marketed sustained release formulation of theophylline, Theo-Dur[®]. Finally an *in vitro in vivo* correlation (IVIVC) was established.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Materials

Anhydrous Theophylline obtained from Vencaser, S.A. (Bilbao, Spain) was used as model drug and β -hydroxyethyl-theophylline (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) as internal standard. HPMC (Methocel[®] K4M Premium), kindly supplied by Colorcon (U.K.), was used as starting material and magnesium stearate (Kirsch Pharma, Spain) as lubricant. PEG 6000 and glycerol monostearate (Vencaser, S.A., Spain) were used as meltable binders. All other solvents and reagents were of analytical or HPLC grade and used as received.

2.2. Preparation of hydrophilic matrix tablets

A laboratory scale one-step high shear mixer Rotolab[®] (Zanchetta, Italy) was used to prepare granules composed by PEG 6000 (TPE) or glycerol monostearate (TGM) as hydrophilic and lipophilic binder, respectively.

The granulation procedure was standardized on the basis of preliminary trials [21]. The mixture composed of theophylline (TH), HPMC K4M and the binder agent was mixed at low impeller speed (250 rpm) for 5–10 min. Afterwards, the impeller speed was increased up to 1,100 rpm and the mixture was heated up to the melting point of the binder in order to obtain granules. At the end of the granulation process, the granules were cooled at room temperature by decreasing the jacket temperature and tilting the bowl to avoid agglomerate formation.

The granules obtained were sieved in order to remove lumps, mixed with 0.5% magnesium stearate for 10 min using a rotating V-blender and compressed into oblong biconvex shaped tablets (13 x 7.5 mm) on a reciprocating single punch tablet machine at a breaking strength of 70–80 N. The breaking strength was determined using a Pharma-test GmbH durometer. Tablets weighted 400 mg \pm 5% and contained 200 mg of TH. The tablet shape, size and hardness were held constant for both formulations. Table 1 summarizes the components of the formulations.

Table 1. Composition of theophylline sustained release matrix tablets.

	Formulation 1 (TPE) (%)	Formulation 2 (TGM) (%)
Theophylline	50	50
HPMC K4M	29.5	29.5
PEG 6000	20	-----
Glycerol monosterate	-----	20
Magnesium stearate	0.5	0.5

2.3. *In vitro* dissolution studies

The drug release assay was performed using a USP type II (paddle) apparatus at 50 rpm stirring rate and 37 ± 0.5 °C. The tablets (n=12) were placed in 750 mL HCl 0.1N for 2 h and continued in 0.05 M sodium phosphate buffer pH 6.8 up to 24 h. The change in pH was made by the addition of 250 mL 0.2 M tribasic sodium phosphate. Additionally, four different dissolution media were used to study the influence of pH in the dissolution profile: 0.1 N HCl pH 1.2, 0.02 M acetate buffer pH 4.5, 0.05 M sodium phosphate buffer pH 6.8 and distilled water. Samples were extracted at regular time intervals and assayed spectrophotometrically at 272 nm. The UV method was validated in terms of specificity to ensure that excipients and dissolution media do not interfere in the quantification of TH. Moreover, the method was shown to be accurate and precise.

The similarity factor (f_2) was calculated in order to compare the release profile of each formulation in the different dissolution media with that obtained in distilled water. In this approach, a value between 50 and 100 indicates similarity between two dissolution profiles.

In order to define a model of drug release from sustained release formulations, dissolution data were analyzed by Peppas and Korsmeyer equation (Eq.3)[22,23] and by Weibull function (Eq.4).

$$M_t/M_\infty = kt^n \quad \text{Eq.3}$$

$$M_t/M_\infty = 1 - \exp(-\alpha t^b) \quad \text{Eq.4}$$

where M_t/M_∞ is the fractional drug release percentage at time t , k is the kinetic constant, n is the diffusional exponent which characterizes the drug transport mechanism and α and b are constants of Weibull function.

Experimental data were fitted to equations by using the Winnolin 4.1[®] Pro (Pharsight, Mountain View, CA, USA) [24].

2.4. *In vivo* study

The pharmacokinetic of TH sustained release formulations was studied in 6 Beagle dogs weighing 12 ± 1.5 kg from “Serveis de Support a la Recerca Estabulari-UB” (Barcelona, Spain). Principles in good laboratory animal care were followed and animal experimentation was in compliance with the “Ethical committee of animal experimentation (CEEAA)” of Barcelona University (UB).

The dogs did not receive food but had free access to water for 12 h before and after drug administration. Each animal received the new SR formulations (TPE and TGM), Theo-Dur[®] and an intravenous solution of TH in a crossover experimental design. The dose of theophylline was 200 mg orally and 8 mg/Kg intravenously. A wash-out period of 7 days was allowed between the different treatments. Serial blood samples were collected from the cephalic vein at predetermined time points up to 12 h in the case of intravenous administration and up to 24 h after oral administrations. All blood samples were taken in heparinized tubes and plasma was separated by centrifugation at 3,000 rpm and immediately stored at -80 °C until analysis.

2.5. HPLC determination of theophylline in plasma

Determination of TH plasma concentrations was performed by high-performance liquid chromatography with a Waters (Waters Corp, Milford, USA) apparatus coupled to an UV detector. A reversed phase HPLC column was used at room temperature (Symmetry[®] C18 5 μm , 4.6 mm x 150 mm). The mobile phase contained acetonitrile:acetate buffer (0.01M) pH 4 (9.7:0.3 v/v), and was delivered at a flow rate of 0.8 mL/min. The wavelength for UV detection was 272 nm.

In order to analyze samples, 100 μL aliquot of plasma was placed in an eppendorf tube and spiked with 100 μL of methanol containing ZnSO_4 (12 mg/mL) as precipitant agent and β -hydroxyethyltheophylline (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) as internal standard. The mixture was vigorously mixed in vortex for 30 seconds and then centrifuged at 4 $^\circ\text{C}$ at 15,000 rpm for 10 min. A 20 μL aliquot of supernatant was injected onto the column for HPLC analysis.

The analytical method was previously validated according to FDA and ICH Guidelines [25,26]. The assay was linear over plasma concentrations ranging from 0.25 to 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The intraday and interday coefficients of variation ranged from 2.24% to 6.20% at the three concentrations tested (0.75, 12, 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$). The bias at these concentrations ranged from 0.14% to 11.93%. The limit of quantification was considered the lowest level included in the calibration curve (0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and measures of intraday and interday coefficient of variation ranged from 3.10% to 7.10% with a bias ranging from 0.60% to 11.88%. No

interfering peaks were detected with the assay. TH plasma samples stored at -80°C were stable for at least 2 months.

2.6. Pharmacokinetic analysis

Plasma levels of TH in dogs were plotted against time and pharmacokinetic parameters were calculated by a non-compartmental method using WinNonlin 4.1. The area under the plasma concentration vs time curve up to the last quantifiable time point, AUC_{0-t} was obtained by the linear and log-linear trapezoidal method. The AUC_{0-t} was extrapolated to infinity ($\text{AUC}_{0-\infty}$) by adding the quotient $C_{\text{last}}/K_{\text{el}}$, where C_{last} represents the last measured concentration and K_{el} represents the apparent terminal rate constant. K_{el} was calculated by the linear regression of the log-transformed concentrations of the drug in the terminal phase. The half-life of the terminal elimination phase was obtained using the relationship $t_{1/2} = 0.693/K_{\text{el}}$. The C_{max} and T_{max} were obtained directly from the data. Oral clearance (Cl/F) was calculated as dose divided by $\text{AUC}_{0-\infty}$. The apparent volume of distribution was obtained from the equation $\text{Vd}_z/F = D / (\text{AUC}_{0-\infty} \times K_{\text{el}})$. Mean residence time (MRT) was determined by division of AUMC (area under the first moment curve) by $\text{AUC}_{0-\infty}$. Absolute oral bioavailability (F) was calculated from plasma data using the relationship $F = [\text{dose IV} \times \text{AUC}_{0-\infty} \text{ oral} / \text{dose oral} \times \text{AUC}_{0-\infty} \text{ IV}] \times 100$.

Deconvolution of plasma data was attempted using intravenous bolus data parameters. WinNonlin 4.1 was used to perform the numerical deconvolution procedure. A plot of percent dissolved *in vitro* versus percent absorbed *in vivo* input at various time points up to 12 hours was constructed. These plots allowed

us to develop an *in vitro-in vivo* correlation (IVIVC) that could be used to establish a relationship between *in vivo* behavior of a dosage form and the *in vitro* performance, which would allow *in vitro* data to be used as a surrogate for *in vivo* behavior.

2.7. Statistical analysis

Statistical analyses were performed with SPSS 15 software for Windows (SPSS[®] Inc, Chicago, USA). The Shapiro–Wilks test [27] was used to verify normality and the Levene test [28] was used to verify homogeneity of variances. ANOVA followed by Scheffe test was used to determine statistical comparisons. The Wilcoxon test was used to analyse the data of T_{max} . Statistical significance was assessed at $p < 0.05$.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. *In vitro* dissolution studies

In a previous work we studied the physical and rheological characteristics of various formulations based on melt granulation with different binders and HPMC grades[21]. The results obtained showed the suitability of this technique for the development of SR formulations, and, therefore, two different binders, a hydrophilic one (PEG 6000) and a lipophilic one (Glycerol monostearate) were selected for a further *in vitro* characterization and a pharmacokinetic study in Beagle dogs.

In order to test the influence of the binder and the dissolution medium pH on the release of TH from the tablets, dissolution test was carried out at various pH values. Figures 1 and 2 features the TH release profile from the two formulations (TPE and TGM) in the different media.

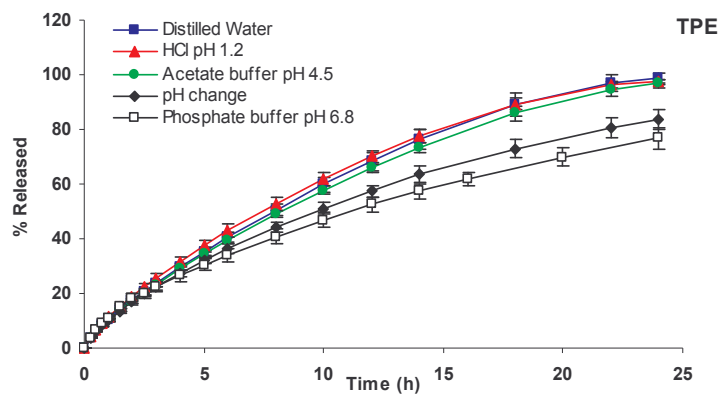


Figure 1. *In vitro* dissolution profiles of TH from TPE formulation in different dissolution media. Bars represent the standard deviation obtained from the individual data (n=12).

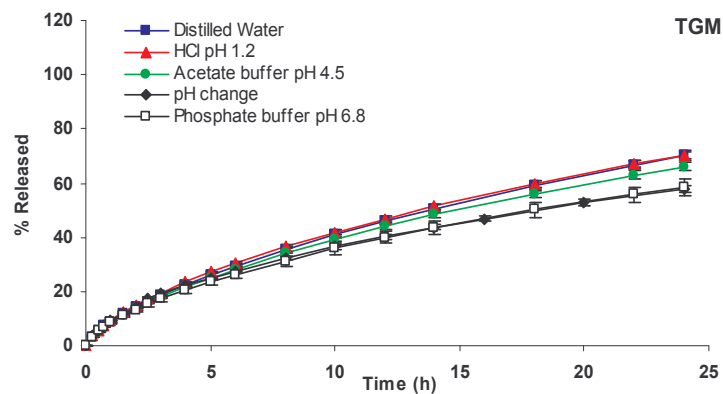


Figure 2. *In vitro* dissolution profiles of TH from TGM formulation in different dissolution media. Bars represent the standard deviation obtained from the individual data (n=12).

In vitro dissolution results showed that both TPE and TGM formulations provided a sustained release of the drug for a period of 24 h.

The similarity factor (f_2) was used to compare the dissolution profile in different dissolution media (HCl pH 1.2, acetate buffer pH 4.5, phosphate buffer pH 6.8 and pH change media) with that obtained in distilled water. For TPE formulation, f_2 values were 85.52, 87.36, 55.61 and 58.84, for each pH value respectively. The values obtained for TGM formulation were 84.56, 95.21, 61.35 and 63.74 respectively. These results indicate that TH release from the two matrix systems, TPE and TGM, was independent of the pH value of the release medium.

However, we detected differences in the release rate of TH depending on the formulation. The nature of the binder contained in the tablets could explain this behaviour. The Formulation containing glycerol monostearate presented a slower TH release rate. At 24 h, total TH released was around 65% and higher than 80% from TGM and TPE, respectively, in all pH studied.

This behaviour could be explained by the hydrophobic nature of glycerol monostearate which could probably delay wetting of the solid HPMC matrix and, consequently cause a slower release rate. Therefore, the choice of binder proves crucial when using a one-step melt granulation process to elaborate SR formulations: the *in vitro* release profile of the drug can be modulated with only a change in the nature of the binder.

The release profile of TH from Theo-Dur[®] was not affected by the pH of the medium (data not shown). For this formulation, the f_2 values at each pH

compared to distilled water were found to be higher than 55, indicating similarity between the different dissolution profiles. Since pH does not affect the release profile, distilled water was selected as dissolution medium to study the behaviour of the two new formulations in comparison to a marketed teophylline SR formulation, Theo-Dur[®]. Figure 3 shows the release profile of the three sustained release formulations in distilled water.

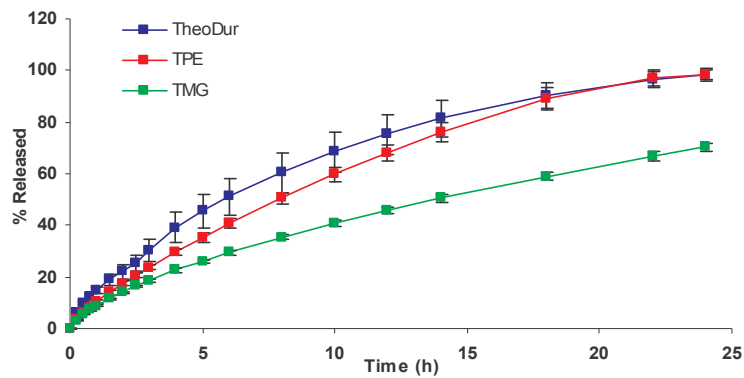


Figure 3. *In vitro* release profile of TPE, TGM and Theo-Dur[®] in distilled water. Bars represent the standard deviation obtained from the individual data (n=12).

The formulation containing the hydrophilic binder PEG 6000 (TPE) showed a similar release profile than the marketed Theo-Dur[®] ($f_2 = 60.54$). Theo-Dur[®] is an extended used marketed formulation that is composed of a part of TH presented in a matrix and the remainder is contained in small cores which are embedded in the matrix [29].

Table 2 summarizes the release kinetic parameters calculated with Weibull and

Korsmeyer–Peppas equations from the drug dissolution data in distilled water. Both TPE and TGM formulations showed a very good correlation to the power law equation ($r^2 \geq 0.999$). The release exponent n was 0.709 for the TPE formulation, 0.641 for the TGM formulation and 0.561 for Theo–Dur[®], suggesting a non-Fickian diffusion kinetics ($0.5 < n < 1$) [22].

Table 2. Release kinetic parameters calculated with Weibull and Korsmeyer–Peppas equations from the drug dissolution data in distilled water.

	Weibull		Korsmeyer-Peppas		
	r^2	b (S.D)	r^2	n	$K(h^{-n})$ (S.D.)
TPE	0.996	1.10 (0.04)	0.999	0.709	0.621 (0.05)
TGM	0.999	0.84 (0.01)	0.999	0.641	0.668 (0.02)
TheoDur[®]	0.998	0.97 (0.03)	0.995	0.561	1.767 (0.24)

The Korsmeyer–Peppas equation is confined to the description of the first 60% of the release curve [30,31], however, Weibull function is used to describe the drug release mechanism of the entire drug release curve. The fitting of release values to Weibull equation showed a good correlation ($r^2 \geq 0.996$) for the three formulations. A b value ranging from 0.75 to 1 was obtained for TGM and Theo–Dur[®], which is indicative of diffusion in normal Euclidian substrate together with of another release mechanism. In the case of TPE, a $b > 1$ indicates that a complex mechanism governs the release process, with an initial nonlinear increase up to an inflection point and, thereafter, an asymptotic decrease. These results are in line with previous studies that provide experimental evidence for

the successful use of the Weibull function in the entire drug release studies [31,32].

3.2. *In vivo* study

The formulations were administered orally to Beagle dogs and the plasma concentration–time profiles were obtained. Figure 4 and Table 3 summarize the mean plasma TH concentration–time curves and pharmacokinetics parameters following intravenous administration of TH in solution and the test SR formulations and commercial tablets.

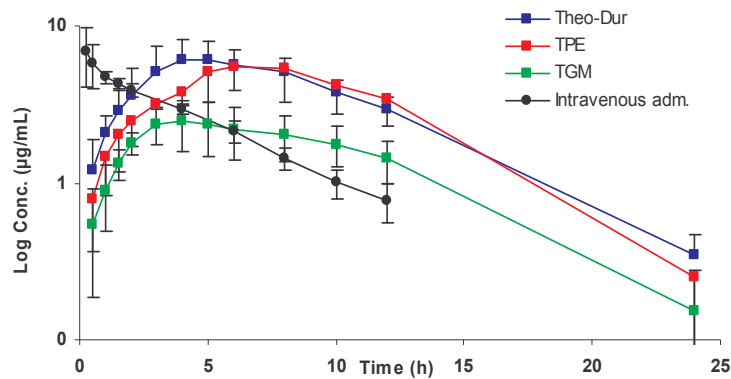


Figure 4. Plot of mean (\pm SD) plasma TH concentration–time curves following intravenous administration of TH in solution and the test SR formulations and commercial tablets.

As figure 4 shows, the matrix tablets (TPE and TGM) presented sustained plasma level profiles. Significant differences ($p < 0.05$) in the plasma concentration time curves between the two formulations were found, with higher C_{max} (6.05 ± 2.00 vs 2.55 ± 0.82 $\mu\text{g/mL}$), higher $AUC_{0-\infty}$ (70.24 ± 16.10 vs 33.00 ± 8.96 $\text{h}\cdot\text{mg/L}$) and delayed T_{max} (6.00 ± 2.12 vs 3.17 ± 0.98 h) for the TPE formulation. These

results are consistent with those obtained *in vitro*, with slower release rate of TH from TGM than from TPE. These results support the use of lipophilic binders for the development of SR formulations with highly soluble drugs [33]. The addition of fatty excipients like glycerol monostearate may retard the dissolution, and consequently, decrease the *in vivo* absorption of hydrophilic drugs, whereas the addition of hydrophilic excipients could be used to improve the absorption of slightly soluble drugs [34].

Table 3. Mean pharmacokinetic parameters of TH following an IV Bolus injection and single oral administration of the sustained release formulations to dogs (n=6).

Pharmacokinetic parameters	Intravenous formulation	Theo-Dur [®]	TPE (PEG 6000)	TGM (Glycerol Monost.)
t _{1/2} (h)	4.08 ± 0.74	4.24 ± 0.90	3.73 ± 0.82	4.45 ± 1.14
C _{max} (ug/mL)	8.42 ± 4.65	7.16 ± 1.78	6.05 ± 2.00	2.55 ± 0.82*
AUC _{0-∞} (h*ug/mL)	34.92 ± 4.16	74.27 ± 10.17	70.24 ± 16.10	33.00 ± 8.96*
Tmax (h)	-----	5.00 ± 1.79	6.00 ± 2.12	3.17 ± 0.98*
MRT (h)	3.93 ± 0.38	8.17 ± 0.65	8.40 ± 1.10	8.34 ± 2.38
Cl (L/h)	0.23 ± 0.03	2.78 ± 0.35	2.73 ± 0.37	2.77 ± 0.36
Vdz (L)	1.35 ± 0.17	16.87 ± 3.43	14.65 ± 3.43	18.55 ± 4.17
F	-----	103.44 ± 18.83	95.55 ± 22.84	46.35 ± 14.85*

*Significant differences (p<0.05) between F1, F2 and Theo-Dur[®]

Moreover, a very similar profile was obtained with TPE and the commercial formulation Theo-Dur[®]. No significant differences (p>0.05) in plasma levels nor in pharmacokinetic parameters were found between the two formulations.

3.3. IVIV correlation development

An important step in the dosage form development process is exploring a relation between the *in vitro* drug release and the *in vivo* absorption from a sustained release dosage form is [35,36]. Figure 5 showed the percent absorbed *in vivo* vs time for both new SR formulations.

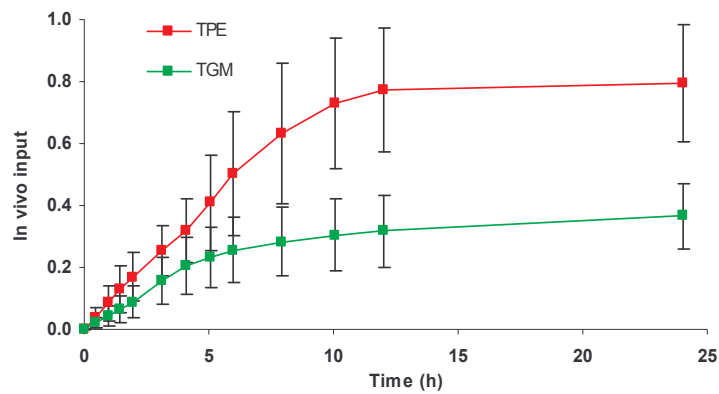


Figure 5. Plots of mean (\pm SD) percent absorbed *in vivo* vs time for both new SR formulations. Bars represent the standard deviation obtained from the individual data (n=5).

Figure 5 shows that a prolonged and slow absorption was consistent with the *in vitro* release in the dissolution profiles. Moreover, the lower release of TH from the TGM formulation is in line with a lower absorption of the drug, which is reflected in a poor bioavailability ($F < 0.5$). The TPE formulation showed a very high bioavailability ($F > 0.95$) due to a good release and absorption profiles of TH from this formulation.

Level A IVIV correlation is the most informative and very useful from a regulatory perspective since it represents a point to point relationship between *in vitro* dissolution and the *in vivo* input rate of the drug from the dosage form [37]. Figure 6 presents an example of Level A IVIVC with linear correlation plots for percentage of *in vitro* dose released and percentage of *in vivo* dose absorbed.

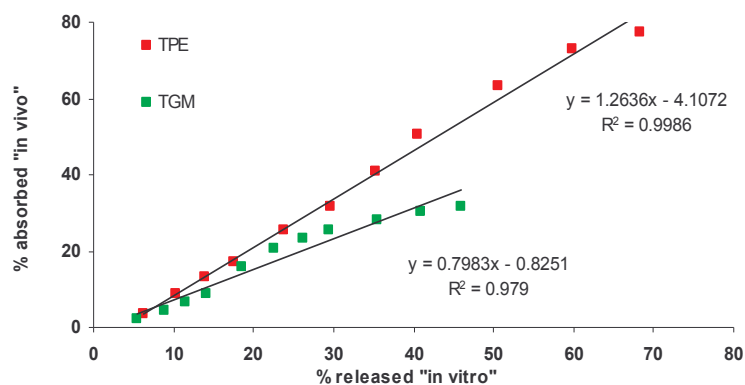


Figure 6. Example of IVIVC plots for TPE and TGM formulations in distilled water as dissolution medium.

It is known that a Level A correlation obtained with a single formulation can be useful only when the formulation under study is shown to be independent of dissolution conditions (e.g., pH, ionic strength, agitation conditions). In our study, *in vitro*-*in vivo* correlation was also obtained with the release profile obtained at different media with different pH values of dissolution media. In all cases a very good correlation was obtained for both formulations with $r > 0.995$

for TPE and $r > 0.975$ for TGM, respectively. This was expected since, as we have shown above, that pH does not affect the release profile of TH from the matrices.

It is important to note that, a good IVIV correlation suggest the possibility to predict *in vivo* pharmacokinetic behavior from the observed *in vitro* drug release profiles. Validation of IVIV correlation would be the next step. For this purpose it is convenient to evaluate a significant number of formulations.

4. CONCLUSIONS

In summary, two sustained release formulations of theophylline were elaborated by one-step melt granulation in a high shear mixer. Each formulation contained a different binder (PEG 6000 or glycerol monostearate, as hydrophilic or lipophilic binder, respectively) and presented different *in vitro* release profiles. Both formulations provided a sustained plasma concentration profile after oral administration to dogs and the formulation containing PEG 6000 (TPE) achieved a similar plasma profile than Theo-Dur[®]. Furthermore, a very good Level A IVIV correlation was observed between dissolution profiles and absorption profiles of the drug for both test formulations.

We can conclude that one-step melt granulation in high shear mixer could be an easy and more cost-effective technique for sustained release formulation development. This technique allows for an easy modulation of the release profile and, consequently, of the plasma level profile of the drug by selecting the type of binder used.

Acknowledgements

Thanks go to the University of Basque Country for the grant given to L. Ochoa.

Abbreviations

TH: Theophylline

SR: Sustained release

TPE: Formulation with PEG 6000

TGM: Formulation with Glycerol Monostearate

REFERENCES

1. **V.H.K. Li, J.R. Robinson**, in: **J.R. Robinson and V. H. L. Lee** (Eds.), *Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications*. Marcel Dekker, New York, 1987.
2. **M.A. Bayomi, S.A. Al-Suwayeh, A.R. El-Helw**. Excipient–excipient interaction in the design of sustained–release theophylline tablets: *in vitro* and *in vivo* evaluation, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 27 (2001) 499–506.
3. **I.J. Hardy, A. Windberg–Baarup, C. Neri, P.V. Byway, S.W. Booth, S. Fitzpatrick**. Modulation of drug release kinetics from hydroxypropyl methyl cellulose matrix tablets using polyvinyl pyrrolidone, *Int. J Pharm.* 337 (2007) 246–253.
4. **S. Zuleger, R. Fassihi, B.C. Lippold**. Polymer particle erosion controlling drug release. II. Swelling investigations to clarify the release mechanism, *Int. J Pharm.* 247 (2002) 23–37.
5. **J. Heller**, in: **J. R. Robinson and V. H. L. Lee** (Eds.), *In Controlled Drug Delivery*, Marcel Dekker, Inc, New York, 1987, pp. 140–174.
6. **J.L. Ford, M.H. Rubinstein, J.E. Hogan**. Formation of sustained release promethazine hydrochloride tablets using hydroxypropylmethylcellulose matrix, *Int. J. Pharm.* 24 (1985) 327–338.
7. **B.J. Lee, S.G. Riu, S.H. Cui**. Formulation and Release Characteristics of Hydroxypropyl Methylcellulose Matrix Tablet Containing Melatonin, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25 (1999) 493–501.
8. **J. Goole, F. Vanderbist, K. Amighi**. Development and evaluation of new multiple–unit levodopa sustained–release floating dosage forms, *Int. J Pharm.* 334 (2007) 35–41.

9. **B. Perissutti, F. Rubessa, M. Moneghini, D. Voinovich.** Formulation design of carbamazepine fast-release tablets prepared by melt granulation technique, *Int. J Pharm.* 256 (2003) 53–63.
10. **A. Royce, J. Suryawanshi, U. Shah, K. Vishnupad.** Alternative Granulation Technique: Melt granulation, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 22 (1996) 917–924.
11. **I.N. Bjorn, A. Jansson, M. Karlsson, S. Folestad, A. Rasmuson.** Empirical to mechanistic modelling in high shear granulation, *Chem. Engineering Sci.* 60 (2005) 3795–3803.
12. **J. Hamdani, A.J. Moes, K. Amighi.** Development and evaluation of prolonged release pellets obtained by the melt pelletization process, *Int. J Pharm.* 245 (2002) 167–177.
13. **D. Yang, R. Kulkarni, R.J. Behme, P.N. Kotiyan.** Effect of the melt granulation technique on the dissolution characteristics of griseofulvina, *Int. J Pharm.* 329 (2007) 72–80.
14. **J. Goole, P. Deleuze, F. Vanderbist, K. Amighi.** New levodopa sustained-release floating minitables coated with insoluble acrylic polymer, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 68 (2008) 310–318.
15. **D.J. Hauss.** Oral lipid-based formulations, *Advanced Drug Delivery Reviews* 59 (2007) 667–676.
16. **S. Shimpi, B. Chauhan, K.R. Mahadik, A. Paradkar.** Preparation and evaluation of diltiazem hydrochloride–Gelucire 43/01 floating granules prepared by melt granulation, *AAPS. PharmSciTech.* 5 (3) (2004).
17. **N. Sirisuth, L.L. Augsburger, N.D. Eddington.** Development and validation of a non-linear IVIVC model for a diltiazem extended release formulation, *Biopharm. Drug Dispos.* 23 (2002) 1–8.
18. **Z. Hussein, M. Friedman.** Release and absorption characteristics of novel theophylline sustained release formulations: *in vitro*–*in vivo* correlation, *Pharm. Res.* 7 (1990) 1167–1171.
19. **J. Varshosaz, T. Ghafghazi, A. Raisi, M. Falamarzian.** Biopharmaceutical characterization of oral theophylline and aminophylline tablets. Quantitative correlation between dissolution and bioavailability Studies, *Eur. J Pharm. Biopharm.* 50 (2000) 301–306.
20. **L. Shan–Yang, K. Yuh–Horng, C. Hsiao–Ning.** Preliminary evaluation of the correlation between *in vitro* release and *in vivo* bioavailability of two aminophylline slow-release tablets, *J. Pharm. Sci.* 79 (1990) 326–330.

21. **L. Ochoa, M. Igartua, R.M. Hernandez, A.R. Gascon, J.L. Pedraz.** Preparation of sustained release hydrophilic matrices by melt granulation in a high-shear mixer, *J. Pharm. Pharm. Sci.* 8 (2005) 132–140.
22. **N.A. Peppas.** Analysis of fickian and Non-fickian drug release from polymers, *Pharm. Acta Helv.* 60 (1985) 110–111.
23. **R.W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, N.A. Peppas.** Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers, *Int. J. Pharm.* 15 (1983) 25–35.
24. **Winnolin 4.1.** Pharshigt corporation, Mountain View. California (2003)
25. **Food and Drug Administration:** Guidance for Industry. Bioanalytical methods validation for human studies. US Department of Health and Human Services/Food and Drug Administration/Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD (1998)
26. **ICH.** International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (I.C.H.), Q2/R1 Validation of analytical procedures. Text and methodology (1995)
27. **SS. Shapiro, MB. Wilk.** An analysis of variance test for normality (complete samples), *Biometrika* 52 (1965) 591–611.
28. **H. Levene, in: Olkin I, Ghurye SG, Hoeffding W, Madow WG, and Mann HB (Eds.),** Contribution to probability and statistics, 1960.
29. **D.L. Munday, A.R. Fassihi.** *In vitro*-*in vivo* correlation studies on a novel controlled release theophylline delivery system and on Theo-Dur tablets, *Int. J. Pharm.* 118 (1995) 251–255.
30. **K. Kosmidis, P. Argyrakis, P. Macheras.** A reappraisal of drug release laws using Monte Carlo simulations: the prevalence of the Weibull function, *Pharm. Res.* 20 (2003) 988–995.
31. **V. Papadopoulou, K. Kosmidis, M. Vlachou, P. Macheras.** On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms, *Int. J. Pharm* 309 (2006) 44–50.
32. **J. Siepmann, A. Streubel, N.A. Peppas.** Understanding and predicting drug delivery from hydrophilic matrix tablets using the "sequential layer" model, *Pharm. Res.* 19 (2002) 306–314.
33. **G.A. Abdelbary, M.I. Tadros.** Design and *in vitro/in vivo* evaluation of novel nicorandil extended release matrix tablets based on hydrophilic interpolymer complexes and a hydrophobic waxy polymer, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69 (2008) 1019–1028.

34. **N. Passerini, B. Albertini, B. Perissutti, L. Rodriguez.** Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel, *Int. J. Pharm.* 318 (2006) 92–102.
35. **R.M. Hernández, A.R. Gascón, M.B. Calvo, C. Caramella, U. Conte, A. Domínguez-Gil, J.L. Pedraz.** Correlation of “*in vitro*” release and “*in vivo*” absorption characteristics of four salbutamol sulphate formulations, *Int. J. Pharm.* 139 (1996) 45–52.
36. **Y. Qiu, H.S. Cheskin, K.R. Engh, R.P. Poska.** Once-a-day controlled-release dosage form of divalproex sodium I: formulation design and *in vitro/in vivo* investigations, *J. Pharm. Sci.* 92 (2003) 1166–1173.
37. **Food and Drug Administration:** Guidance for Industry. Extended Release Solid Oral Dosage Forms. Development, Evaluation and application of *In Vitro/In Vivo* Correlations. US Department of Health and Human Services/Food and Drug Administration/Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD (1997)

NOVEL EXTENDED-RELEASE FORMULATION OF LOVASTATIN BY ONE-STEP MELT GRANULATION: *IN-VITRO* AND *IN-VIVO* EVALUATION.

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 77 (2011) 306–312



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejpb



Research paper

Novel extended-release formulation of lovastatin by one-step melt granulation: *In vitro* and *in vivo* evaluation

L. Ochoa, M. Igartua, R.M. Hernández, A.R. Gascón, M.A. Solinis, J.L. Pedraz *

Laboratory of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of the Basque Country (UPV-EHU), Vitoria-Gasteiz, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 September 2010

Accepted in revised form 30 November 2010

Available online 21 December 2010

Keywords:

Lovastatin

Beagle dog

Melt granulation

Extended release

High-shear mixer

ABSTRACT

The objective of this study was to apply a one-step melt granulation method to develop an extended-release formulation of lovastatin (LOV-ER). We prepared a formulation using FEG 6000 as binder agent in a laboratory scale high-shear mixer. *In vitro* dissolution studies showed that the release of the drug from the new formulation followed a zero-order kinetic with no differences in the release profile with either the pH media or the agitation rate. The pharmacokinetic of lovastatin and its metabolite lovastatin acid was evaluated after the administration of the new formulation to Beagle dogs in fasted conditions and after a high-fat meal, and compared to the marketed formulation Altoprev®. After the administration of LOV-ER, extended plasma profiles of lovastatin and its active metabolite were achieved in both fasted conditions and after the high-fat meal. Plasma levels of lovastatin and lovastatin acid were always higher when the LOV-ER formulation was administered with the high-fat meal. A high variability in plasma levels and pharmacokinetic parameters was obtained, being this variability higher when the formulation was administered under fasting conditions. Our results suggest that there is an increase in lovastatin bioavailability when the formulation is administered after the high-fat meal. When we compare LOV-ER and Altoprev®, both administered after the high-fat meal, we found significant differences ($p < 0.05$) in C_{max} of lovastatin and in $AUC_{0-\infty}$ and MRT of lovastatin acid. No differences were detected between both formulations in fasting conditions. In this regard, the high-fat meal seems to increase the absorption extent of lovastatin from LOV-ER formulation and to delay the absorption rate of the drug from Altoprev®. In conclusion, we developed a lovastatin formulation that provided extended plasma levels that confirm that one-step melt granulation in high-shear mixer could be an easy and cost-effective technique for extended-release formulation development.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

ABSTRACT SUMMARY

The objective of this study was to apply a one-step melt granulation method to develop an extended release formulation of lovastatin (LOV-ER). We prepared a formulation using PEG 6000 as binder agent in a laboratory scale high shear mixer. *In vitro* dissolution studies showed that the release of the drug from the new formulation followed a zero order kinetic with no differences in the release profile with either the pH media or the agitation rate. The pharmacokinetic of lovastatin and its metabolite lovastatin acid was evaluated after the administration of the new formulation to Beagle dogs in fasted conditions and after a high-fat meal, and compared to the marketed formulation Altoprev[®]. After the administration of LOV-ER, extended plasma profiles of lovastatin and its active metabolite were achieved in both fasted conditions and after the high-fat meal. Plasma levels of lovastatin and lovastatin acid were always higher when the LOV-ER formulation was administered with the high-fat meal. A high variability in plasma levels and pharmacokinetic parameters was obtained, being this variability higher when the formulation was administered under fasting conditions. Our results suggest that there is an increase in lovastatin bioavailability when the formulation is administered after the high-fat meal. When we compare LOV-ER and Altoprev[®], both administered after the high-fat meal, we found significant differences ($p < 0.05$) in C_{max} of lovastatin and in $AUC_{0-\infty}$ and MRT of lovastatin acid. No differences were detected between both formulations in fasting conditions. In this regard, the high-fat meal seems to increase the absorption extent of lovastatin from LOV-ER formulation, and to

delay the absorption rate of the drug from Altoprev[®]. In conclusion, we developed a lovastatin formulation that provided extended plasma levels that confirm that one-step melt granulation in high shear mixer could be an easy and cost-effective technique for extended release formulation development.

Keywords

Lovastatin, Beagle dog, Melt granulation, extended-release, high-shear mixer.

1. INTRODUCTION

Extended release (ER) formulations have been introduced into drug therapy with two main purposes: to reduce the number of single doses per day improving patient compliance of treatments, and to decrease the fluctuations of plasma levels, in order to obtain better therapeutic efficacy and lower toxicity. There are many extended release pharmaceutical systems currently known, ranging from monolithic matrices, membrane reservoirs, erodible polymers, to the more technologically complex and sophisticated pH independent formulations, ion exchange resins, osmotically, and geometrically modified systems. Many of these systems are not produced in a form that is amenable to large-scale manufacturing processes and usually do not exhibit the desirable zero-order release kinetics. In addition, the cost of formulation development, raw materials and manufacture technology are among the principal factors in ER delivery systems formulation for oral dosing [1].

An interesting approach to develop ER matrix formulations is based on melt granulation in high shear mixer, which is a very short and easy one-step technique converting fine powders into granules. The powder agglomeration is promoted by the addition of a low melting point binder, which is solid at room temperature and melts at relatively low temperatures (50–80°C). The interest in melt granulation has increased due to the advantages of this technique over other ER delivery technologies. Since it is a solvent-free process, the drying phase is eliminated and thus it becomes less consuming in terms of time and energy [2,3]. Moreover, melt granulation is one of the most widely applied processing techniques in the array of pharmaceutical manufacturing operations due to its simplicity and easy scale up [4–6]. In recent years, melt granulation has also been successfully employed to improve the dissolution rate of poorly soluble compounds increasing the bioavailability of these kind of drugs [7–9], and in the development of ER formulations [10–12].

Lovastatin is an inactive lactone prodrug that is hydrolyzed rapidly to the corresponding β -hydroxiacid metabolite (lovastatin acid), a potent and competitive inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase [13,14]. HMG-CoA reductase is an essential enzyme that catalyses an early rate-limiting step (the conversion of HMG-CoA to mevalonate) involved in the biosynthesis of cholesterol [15]. The inhibition of cholesterol formation results in reduced intracellular cholesterol. This effect increases LDL-receptor expression on the cell surface of hepatocytes, which, in turn, increases the clearance of LDL-cholesterol from plasma. The oral bioavailability of lovastatin is approximately 5% and highly

variable [16]. Cytochrome P450 3A4 metabolizes the lactone form of lovastatin into hydroxy acid form (active metabolite) [17]. In the Expanded Clinical Evaluation of Lovastatin study (EXCEL), two immediate release (IR) lovastatin formulations were compared. Lovastatin 20 mg formulation given twice daily produced a significantly greater reduction in LDL cholesterol than 40 mg lovastatin formulation given once daily [18]. Subsequently, McClelland et al. [19] showed that the efficacy of HMG-CoA reductase inhibitors could be enhanced by the oral administration of an ER dosage form of the β -hydroxyacid simvastatin salt. These findings suggest that compared to a conventional dosage form, an ER dosage form of lovastatin may provide a dose-sparing advantage and improved safety profile.

Taking into account the enhanced efficacy associated with the extended release form of lovastatin [20–22], and because nowadays there is only one ER formulation of lovastatin in the market that is exclusively commercialized in the USA, the objectives of the present study were 1) to develop a novel hydrophilic matrix extended release formulation of lovastatin by melt granulation in a high shear mixer, 2) *in vitro* evaluation of the formulation to investigate the influence of the media pH and agitation rate on the release profile, and the release mechanism and 3) *in vivo* evaluation after oral administration to beagle dogs in fasted and feed conditions. Moreover a comparison with the marketed extended release formulation of lovastatin (Altoprev[®] 60 mg) will be established.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Materials

Lovastatin and simvastatin (internal standard) were supplied by Sigma–Aldrich Quimica S.A. (Madrid, Spain). Lovastatin acid sodium salt (active metabolite) was obtained from Mikromol Chemical Reference Substances (Luckenwalde, Germany). Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC Methocel[®] K4M Premium) supplied by Colorcon (Kent, U.K.) and mannitol were used as starting materials and magnesium stearate (Kirsch Pharma, Madrid, Spain) as lubricant. PEG 6000 (Vencaser, S.A., Bilbao, Spain) was used as meltable binder. All other solvents and reagents were of analytical or HPLC grade and used as received.

2.2. Preparation of hydrophilic matrices

Lovastatin extended release formulation (LOV–ER) was prepared by melt granulation in a laboratory scale one–step high shear mixer Rotolab[®] (Zanchetta, Italy) using PEG 6000 as binder agent. Table 1 shows the composition of LOV–ER hydrophilic matrix tablet.

Table 1. Composition of LOV–ER formulation.

	LOV-ER composition (%)
Lovastatin	20
HPMC K4M	40
PEG 6000	15
Mannitol intragranular	15
Mannitol extragranular	9.5
Magnesium stearate	0.5

The granulation procedure was standardized on the basis of preliminary trials [23]. The mixture composed of lovastatin, HPMC K4M, PEG 6000 and mannitol was mixed at low impeller speed (250 rpm) for 5–10 min. Afterwards, the impeller speed was increased up to 950 rpm and the mixture was heated up to the melting point of the binder in order to obtain granules. At the end of the granulation process the granules were cooled at room temperature by decreasing the jacket temperature and tilting the bowl to avoid agglomerate formation.

The granules obtained were sieved in order to remove lumps, mixed with magnesium stearate and extragranular mannitol, for 15 min using a rotating V-blender and compressed into tablets on a reciprocating single punch tablet machine at a breaking strength of 60 N. The breaking strength was determined using a Pharma-test GmbH durometer. Tablets weighted around 300 mg \pm 5% and contained 60 mg of lovastatin.

2.3. *In vitro* dissolution studies

Drug release assays were performed using the USP type II (paddle) apparatus at 50 rpm stirring rate and 37 ± 0.5 °C. The tablets (n=12) were placed in 750 mL HCl 0.1N for 2 h and continued in 0.05 M sodium phosphate buffer pH 6.8 up to 24 h. The change in pH was made by the addition of 250 mL 0.2 M tribasic sodium phosphate. Additionally, three different dissolution media were used to study the influence of pH on the dissolution profile: 0.1 N HCl pH 1.2, 0.02 M acetate buffer pH 4.5, and 0.05 M sodium phosphate buffer pH 6.8. All dissolution media contained 2% of sodium lauryl sulphate. The influence of stirring rate was also evaluated at 100 rpm in phosphate buffer pH 6.8. Samples

were extracted at regular time intervals and assayed spectrophotometrically at 238 nm. The UV method was validated in terms of specificity to ensure that excipients and dissolution media do not interfere in the quantification of lovastatin. Moreover, the method was shown to be accurate and precise.

The similarity factor (f_2) was calculated in order to compare the release profile of the formulation in the different dissolution media with that obtained in a pH change medium. In this approach, a value between 50 and 100 indicates similarity between two dissolution profiles.

In order to characterize the kinetics and to define a model of drug release from the matrices, the data were fitted to the zero order equation (Eq. 1), the exponential Korsmeyer–Peppas equation (Eq. 2), and the Weibull function (Eq. 3).

$$dQ/dt=k \quad (\text{Eq. 1})$$

$$M_t / M_\infty = k t^n \quad (\text{Eq. 2})$$

$$M_t/M_\infty = 1 - \exp(-\alpha t^b) \quad (\text{Eq. 3})$$

where Q is the amount of drug released at time t , M_t/M_∞ is the fractional drug release percentage at time t , k is the kinetic constant, n is the diffusional exponent which characterizes the drug transport mechanism and α and b are constants of the Weibull function. The Korsmeyer–Peppas equation (Eq. 2) is often used to describe the drug release behaviour from polymeric systems when the mechanism is not well known or when more than one type of release phenomena is involved [24]. For cylindrical matrix tablets, if the exponent $n=0.45$, then the drug release mechanism is Fickian diffusion, and if

$0.45 < n < 0.89$, then it is non-Fickian or anomalous diffusion. An exponent value $n > 0.89$ is indicative of Case-II Transport or typical zero-order release [25]. Experimental data were fitted to equations by using the Winnolin 4.1[®] Pro (Pharsight, Mountain View, USA) [26].

2.4. *In vivo* study

The pharmacokinetic of lovastatin hydrophilic matrices was studied in Beagle dogs ($n=5$) weighing 15 ± 1.5 kg from “Centro de Cirugía de Mínima Invasión– Jesús Usón” (CCMI Cáceres, Spain”. Principles in good laboratory animal care were followed and animal experimentation was in compliance with the “Ethical committee of animal experimentation (CEEAA) of CCMI”.

Each animal received the new formulation LOV-ER 60 mg and the commercial formulation Altoprev[®] 60 mg in fasted conditions and after a high-fat meal in a crossover study. Besides, the dogs were given 12 mg of lovastatin acid sodium salt intravenously. Lovastatin was not administered intravenously due to the difficulty to obtain a formulation in which it was soluble. A wash-out period of a week was allowed between the different treatments. When the oral formulations were administered to fasted dogs, after the last ordinary meal, food was withheld for 12 hours before treatment, but free access to water was allowed. When the formulations were assayed in the dogs receiving a high-fat meal, the animals were given the meal in the morning of the test day (at 7 am) and allowed to eat until they finished their meals (approximately 5–10 min). They had free access to water. The treatments (LOV-ER or Altoprev[®]) were administered one hour later (at 8 am). Serial blood samples were collected from cephalic vein immediately before

administration and at predetermined time points up to 12 h in the case of intravenous administration and up to 48 h after oral administration. All blood samples were taken in heparinized tubes and plasma was separated by centrifugation at 4 °C and 3,500 rpm and immediately stored at -80 °C until analysis.

2.5. LC/MS/MS determination of lovastatin and lovastatin acid in plasma

Determination of lovastatin and lovastatin acid plasma concentrations was performed by a sensitive and specific liquid chromatography/ion spray tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) with a HT Alliance 2795 apparatus coupled to a Micromass Quattro spectrometry detector (Waters™ Corp, Massachusetts, USA). A reversed phase HPLC column was used at room temperature (NovaPack® C18 4 µm, 3.9 x 150 mm). The mobile phase contained a mixture of acetonitrile/formic acid aqueous solution (10 mM) (85/15 v/v), and was delivered at a rate flow of 1 mL/min. The injection volume was 50 µL and the autosampler was maintained at 4 °C.

The electrospray ionization (ESI) was performed in the positive ion mode and detection was operated in the Multiple-Reaction Monitoring (MRM) mode. The transition ions m/z 405→199, 445→343 and 419→199 were selected for lovastatin, lovastatin acid $[M + Na]^+$ and simvastatin (used as internal standard), respectively.

The analytical method was previously validated according to FDA and ICH Guidelines [27,28]. The assay for lovastatin and lovastatin acid was linear over

plasma concentrations ranging from 0.5 to 50 ng/mL. The intraday and interday coefficients of variation for both analytes ranged from 3.91% to 12.34% at the three concentrations tested (1.5, 7.5 and 40 ng/mL). The bias at these concentrations ranged from 91.3% to 109.89%. The limit of quantification for lovastatin and lovastatin acid was considered the lowest level included in the calibration curve (0.5 ng/mL) and measures of intraday and interday coefficients of variation ranged from 3.04% to 12.15% and bias ranged from 98.0% to 109.5%. Lovastatin and lovastatin acid plasma samples stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ were stable for at least 2 months.

2.6. Analytical procedure of plasma samples

Plasma samples were adjusted to pH 5 to avoid the described interconversion between lovastatin and lovastatin acid [29]. Walpole acetate buffer pH 4 (41 mL acetic acid 0.2 M and 9 mL sodium acetate 0.2 M in 100 mL distilled water) was employed to buffer plasma samples.

In order to analyze samples, 50 μL of IS solution (50 ng/mL of simvastatin) and 300 μL of Walpole acetate buffer were added to 300 μL of a plasma aliquot. The sample mixture was then extracted with 5 mL of tert-butylmethyleter. After agitation for 10 min and freezing the aqueous solution at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, the organic phase was transferred to another tube and evaporated to dryness at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. The residue was reconstituted in 100 μL of ACN/Water (75/25) and a 50 μL aliquot was injected.

2.7. Pharmacokinetic analysis

Plasma levels of lovastatin and lovastatin acid in dogs were plotted against time and pharmacokinetic parameters were determined according to a noncompartmental analysis by using the software WinNonlin 4.1[26]. The area under the plasma concentration vs time curve up to the last quantifiable time point, AUC_{0-t} , was obtained by the linear and log-linear trapezoidal method. The AUC_{0-t} was extrapolated to infinity ($AUC_{0-\infty}$) by adding the quotient C_{last}/K_{el} , where C_{last} represents the last measured concentration and K_{el} represents the apparent terminal rate constant. K_{el} was calculated by the linear regression of the log-transformed concentrations of the drug in the terminal phase. The half-life of the terminal elimination phase was obtained using the relationship $t_{1/2} = 0.693/K_{el}$. The C_{max} and T_{max} were obtained directly from the data. Oral clearance (Cl/F) was calculated as dose divided by $AUC_{0-\infty}$. The apparent volume of distribution was obtained from the equation $Vd_z/F = D / (AUC_{0-\infty} \times K_{el})$. Mean residence time (MRT) was determined by division of AUMC (area under the first moment curve) by $AUC_{0-\infty}$.

2.8. Statistical analysis

Statistical analyses were performed with SPSS 17 software for Windows (SPSS[®] Inc, Chicago, USA). The Shapiro-Wilks test was used to verify normality. The significance of the difference between the pharmacokinetic parameters obtained after oral administration was evaluated using a paired sample T-test. Box plot was used to assess the evolution of pharmacokinetic parameters and to compare

the behaviour of variables in different groups. The Willcoxon test was used to analyze the data of T_{max} . Statistical significance was assessed at $p < 0.05$.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. *In vitro* dissolution study

In order to test the influence of the dissolution medium pH and the agitation rate on the release of lovastatin from the LOV-ER formulation, dissolution tests were carried out at various pH and agitation rates. Figure 1 features the lovastatin release profile from the new formulation in the different media ($n=12$).

In vitro dissolution results showed that LOV-ER provided a sustained release of the drug with no differences in the release profile with either the pH or the agitation rate. In fact, the release profiles were almost superimposable at all conditions tested.

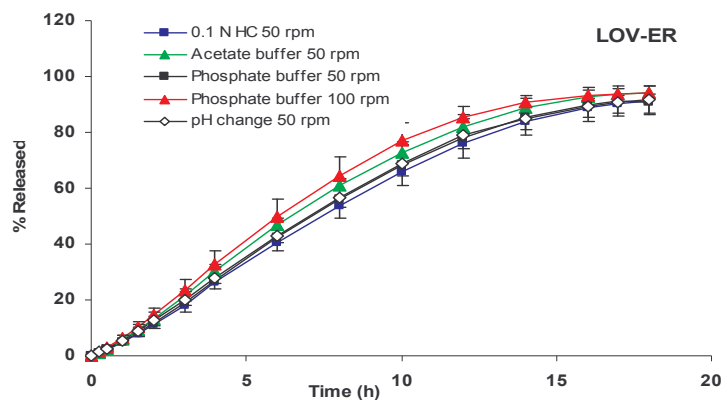


Figure 1. *In vitro* dissolution profiles for LOV-ER 60 mg in different dissolution media. Bars represent the standard deviation obtained from the individual data ($n=12$).

The similarity factor (f_2), which was used to compare the dissolution profile in the different conditions with that obtained in pH change medium, reached values of 83.61, 77.63, 96.17 and 64.97 for the HCl pH 1.2, acetate buffer pH 4.5, phosphate buffer pH 6.8 at 50 rpm and phosphate buffer pH 6.8 at 100 rpm, respectively. These results indicate that lovastatin release from the matrix is independent from the dissolution medium pH and the agitation rate. This is a desirable characteristic for ER formulations, since less intra-inter subject variation in both gastric and gastrointestinal pH influence is then expected. However, differences in the dissolution conditions *in vitro* and *in vivo* make this characteristic less relevant than desired.

In order to describe the release behavior of lovastatin from the formulation we fitted the data to several kinetic models. For this purpose, the release profile obtained with the pH change medium was used. LOV-ER formulation showed a very good correlation to zero order kinetics equation ($r^2 = 0.992$) indicating that the drug release is independent of the drug concentration in the matrix system. The corresponding plot for the power law equation indicated a very good linearity ($r^2 = 0.995$). The release exponent n was 0.86, a value close to 0.89, which is indicative of Case II transport. This suggests that matrix erosion might be the predominant mechanism for drug release from this formulation. These results are in line with the idea that the release of poorly soluble drugs from matrix systems is mainly controlled by erosion of the tablet [30]. The Korsmeyer-Peppas equation is confined to the description of the first 60% of the release curve [31,32]. However, the Weibull function is used to describe the drug release

mechanism of the entire drug release curve. The fitting of release values to Weibull equation showed a good correlation ($r^2 = 0.999$). A $b > 1$ value indicates that a complex mechanism governs the release process, with an initial nonlinear increase up to an inflection point and, thereafter, an asymptotic decrease. These results are in line with previous studies that provide experimental evidence for the successful use of the Weibull function in the entire drug release studies [33].

A dissolution study was also carried out with the marketed formulation in the same media than the LOV-ER tablets. Figure 2 features the release profiles of lovastatin from Altprev[®]. As can be seen, lovastatin release was dependent on the dissolution pH and agitation rate, pointing out a significant influence of these parameters in the drug release profile. This influence was expected because this formulation is an osmotic tablet with a pH sensitive polymeric coating that increases its permeability as the pH increases.

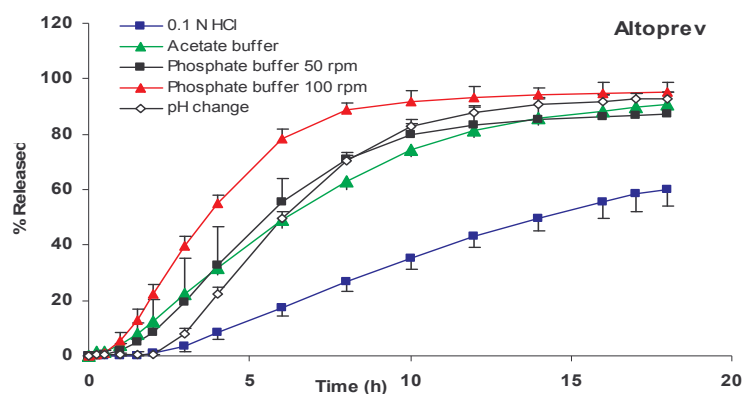


Figure. 2. *In vitro* dissolution profiles for Altprev[®] 60 mg in different dissolution media. Bars represent the standard deviation obtained from the individual data (n=12).

Therefore, the release of lovastatin takes place through a limited number of pores formed in the weakest points of the coating due to the increasing hydrostatic pressure in the osmotic core [34]. In the pH change medium, the marketed formulation presented a two-hour "lag time" (corresponding to the HCl pH 1.2 phase) and showed a worse correlation to zero order release kinetic ($r^2=0.973$) than the new LOV-ER formulation (0.992).

3.2. *In vivo* study

In vivo studies in dogs were carried out in order to assess if an extended plasma concentration profile of lovastatin from the new formulation could be achieved. Moreover, the effect of food on drug absorption was also studied, since it is of particular importance with extended release dosage forms assuring consistent drug delivery when administered with meals. It must be taken into account that drug release from ER tablets may be influenced by the presence of food in the gastrointestinal tract [35,36]. Several studies have reported that a high fat meal causes decreased absorption of lovastatin from an extended release formulation [37,38], whereas other studies have found that food increases the absorption of lovastatin [37,39].

Dogs are generally considered to be the best model for such studies since solid oral dosage forms designed for humans can be administered and canine food composition can be similar to human meals [40]. However, physiological differences between dogs and humans such as those in gastric pH, gastric emptying, and intestinal transit time can result in differences in food effect. These differences may be relevant if dog studies are to be predictive for human

[41]. The main goal of this work was to demonstrate the ability of the formulation to provide an extended drug concentration profile and to check the influence of a high-fat meal on the pharmacokinetic, and not to predict the behavior of the formulation in humans. Figure 3 shows the evolution of the average plasma levels of lovastatin acid after intravenous administration (12 mg).

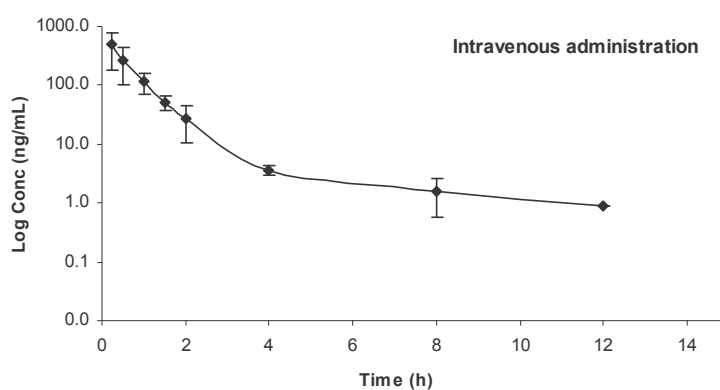


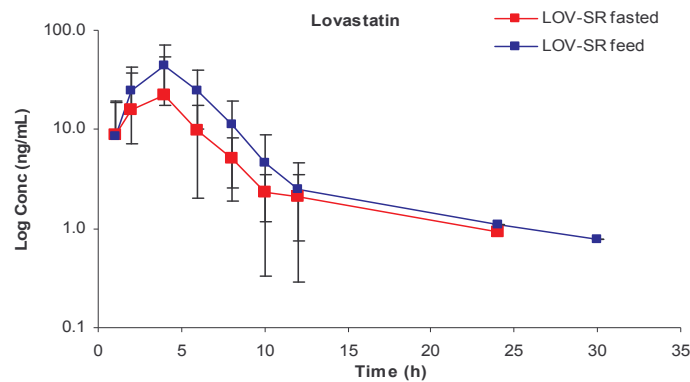
Figure 3. Plot of mean (\pm SD) plasma lovastatin acid concentration time curve in dogs (n=5) after IV administration

This evolution has two phases: the first one, with a faster decrease of the plasma levels, is followed by a second phase in which the decrease is slower, reaching a value of 0.87 ng/mL after 12 h of administration. Table 2 lists the main pharmacokinetic parameters.

Table 2. Mean pharmacokinetic parameters of lovastatin acid in dogs (n=5) following IV administration

	IV Lovastatin acid
	Mean (SD)
t_{1/2} (h)	1.75 (1.49)
C_{max} (ng/mL)	486.36 (305.18)
AUC_{0-∞} (ng h/mL)	492.86 (235.96)
MRT (h)	0.74 (0.17)
Cl (L/h)	0.03 (0.01)
V_z (L)	0.07 (0.07)

Figure 4 shows the evolution of the average plasma levels of lovastatin and lovastatin acid obtained after oral administration of LOV-ER in fasting conditions and after a high-fat meal. As can be seen, extended plasma level profiles of lovastatin and its active metabolite were achieved in both situations.



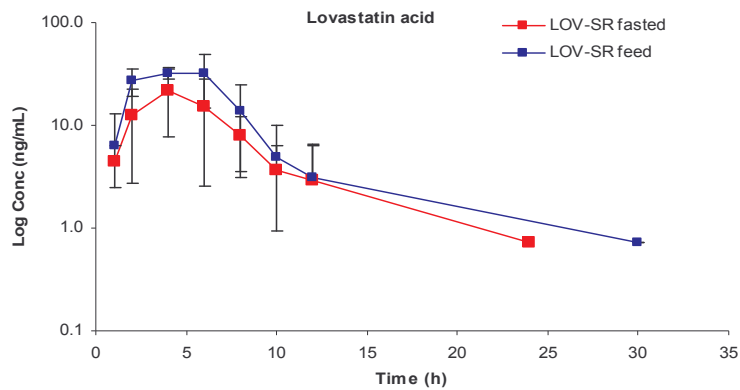


Figure 4. Plot of mean (\pm SD) plasma lovastatin and lovastatin acid concentration time curves in dogs ($n=5$) after oral administration of LOV-ER in both fasted and feed states.

Table 3 summarizes the mean plasma lovastatin and lovastatin acid pharmacokinetic parameters according to a non-compartmental analysis.

Plasma levels of lovastatin were always higher when the LOV-ER formulation was administered with the high-fat meal rather than in fasting conditions. Although no statistical differences were found, a higher lovastatin C_{max} mean value (39.68 ± 20.17 ng/mL vs 24.06 ± 29.65 ng/mL), higher $AUC_{0-\infty}$ mean value (211.42 ± 125.75 vs 135.09 ± 129.68 h*ng/mL) and lower MRT mean value (5.30 ± 1.55 vs 8.12 ± 3.66 h) were achieved when the formulation was given with the high-fat meal. However, similar absorption rate and plasma elimination half lives of lovastatin were obtained in both situations (4.25 ± 1.59 and 4.05 ± 3.50 h for fasted and feed state, respectively). The elimination half life mean value of lovastatin from this ER formulation was similar to that obtained by *Fu et al.* [42]

after the administration of an immediate release formulation in beagle dogs; this is indicative of absence of a flip-flop effect.

Table 3. Mean pharmacokinetic parameters of LOV-ER in dogs (n=5) following oral administration of the formulation.

	Lovastatin		Lovastatin acid	
	Fasted state Mean (SD)	Feed state Mean (SD)	Fasted state Mean (SD)	Feed state Mean (SD)
t_{1/2} (h)	4.25 (1.59)	4.05 (3.50)	2.24 (1.25)	2.96 (2.64)
Tmax (h)	4.00 (2.00)	4.00 (2.00)	4.00 (0.00)	4.00 (1.41)
Cmax (ng/mL)	24.06 (29.65)	39.68 (20.17)	22.11 (14.48)	56.77 (37.23)
AUC_{0-∞} (ng h/mL)	135.09 (129.68)	211.42 (125.75)	142.37 (94.42)	273.49 (102.71)
MRT (h)	8.12 (3.66)	5.30 (1.55)	5.60 (1.50)	5.20 (1.74)
Cl / F (L/h)	0.89 (0.81)	0.50 (0.30)	0.70 (0.65)	0.25 (0.09)
Vz / F (L)	4.30 (2.46)	3.27 (4.27)	1.72 (0.99)	0.93 (0.69)

No significant difference in the elimination half-life of lovastatin acid was found between the intravenous and oral administration, which indicates that lovastatin acid elimination rate was not conditioned by the absorption rate of lovastatin from the formulation. As for lovastatin, no significant differences in pharmacokinetic parameters of lovastatin acid were found when the oral formulation was administered in fasting state or after a high-fat meal, although, as in the case of lovastatin, higher C_{max} and AUC_{0-∞} mean values were obtained in feed condition.

Lovastatin is a poorly absorbed drug attributed mainly to its poor solubility in gastrointestinal fluids, poor permeability through the mucosal membrane, and/or extensive small intestinal mucosa and hepatic first-pass metabolism [43]. As previously mentioned, increased systemic exposure with food is often seen

for lipophilic drugs like lovastatin and it may be attributed to improved solubilization due to higher bile salt and lipid concentration. Moreover, food could accelerate the erosion of the matrix inducing a faster release of the drug in the gastrointestinal tract [36]. Our results suggest an increase in lovastatin bioavailability due to food. The increase in bioavailability of the formulation in presence of food is in line with that described in the package insert for lovastatin IR tablets, in which plasma concentrations of lovastatin and its active metabolite after oral administration under fasting conditions were lower than when the tablet is administered after a standard meal [44]. Due to the lack of statistical significance in the pharmacokinetic parameters, the interpretation of this finding is complicated by large standard errors around the mean for C_{max} and $AUC_{0-\infty}$. As shown in figure 4 and table 3, high variability in plasma levels and pharmacokinetic parameters was obtained. This high variability was also observed in other studies [22, 45–47]. An interesting finding is that higher variability in pharmacokinetic parameters was obtained when the formulation was administered under fasting rather than feed conditions. This could be explained by an increase in lovastatin solubility in presence of high-lipid meal that may have improved the absorption of lovastatin, leading to a decrease of the variability. A reduced pharmacokinetic variability (i.e. more consistent absorption) was also found by other authors when ziprasidone was administered with meals rather than under fasting conditions [48].

Plasma levels of lovastatin and lovastatin acid after the administration of Altoprev[®] to the dogs under fasting conditions and with a high-fat meal are

presented in figure 5. As expected, extended levels of lovastatin and its active metabolite were obtained in both situations.

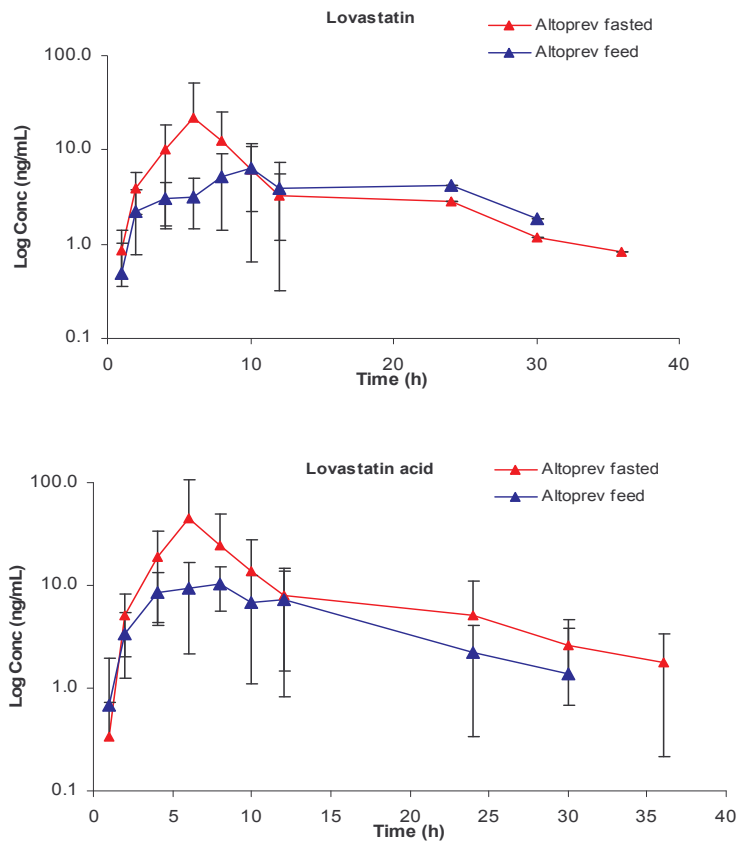


Figure 5. Plot of mean (\pm SD) plasma lovastatin and lovastatin acid concentration time curves in dogs ($n=5$) after oral administration of Altoprev[®] in both fasted and feed states.

Table 4 summarizes the mean pharmacokinetic parameters following oral administration of the marketed formulation.

When Altoprev[®] was administered to the dogs after a high-fat meal, lovastatin C_{max} mean value was lower than that obtained when the formulation was administered under fasting conditions (8.73 ± 3.00 vs 23.02 ± 28.63 ng/ml).

Moreover, food produced a reduced $AUC_{0-\infty}$ (76.77 ± 55.79 vs 137.92 ± 118.74 h*ng/mL), and longer T_{max} (8.5 ± 3.42 vs 4.5 ± 1.00 h) mean values. A similar behavior was found with the active metabolite, lovastatin acid. The variability of the data was also reduced when Altoprev[®] was administered with meals.

Table 4. Mean pharmacokinetic parameters of Altoprev[®] in dogs (n=5) following oral administration of the formulation.

	Lovastatin		Lovastatin acid	
	Fasted state	Feed state	Fasted state	Feed state
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)
t_{1/2} (h)	4.20 (2.54)	3.80 (1.72)	4.21 (1.86)	3.46 (3.75)
T_{max} (h)	4.50 (1.00)	8.50 (3.42)	5.50 (2.52)	8.00 (1.63)
C_{max} (ng/mL)	23.02 (28.63)	8.73 (3.00)	46.47 (62.73)	15.50 (2.37)
AUC_{0-∞} (ng h/mL)	137.92 (118.74)	76.77 (55.79)	318.06 (281.87)	149.30 (89.54)
MRT (h)	7.32 (2.16)	9.45 (3.43)	10.36 (4.14)	9.12 (3.08)
Cl / F (L/h)	1.06 (1.07)	1.02 (0.45)	0.48 (0.49)	0.55 (0.32)
Vz / F (L)	5.65 (4.73)	5.35 (3.62)	2.65 (2.29)	1.70 (0.99)

In spite of non-significant differences, the decrease in C_{max} and the increase of T_{max} suggest that the high-fat meal may decrease the absorption rate, justified by a delay in the gastric emptying. Food could make the wetting of the system difficult and, subsequently, the release and the absorption of the drug, providing a lower C_{max} and $AUC_{0-\infty}$. These results are in accordance with those obtained from *Sun et al.* who showed a reduction in the bioavailability of lovastatin from ER osmotic system when it is administered with food [20].

When we compare the LOV-ER and Altoprev[®] formulations, both administered after the high-fat meal, we found significant differences ($p < 0.05$) in C_{max} of lovastatin and in $AUC_{0-\infty}$ and MRT of lovastatin acid. No differences were

detected between both formulations in fasting conditions. These data reinforce the idea that the meal induced changes in the behavior of the formulations when compared to the administration under fasting conditions, despite the lack of statistical significance. In this regard, the high-fat meal seems to increase the absorption extent of lovastatin from LOV-ER formulation, and to delay the absorption rate of the drug from the marketed formulation.

4. CONCLUSIONS

We have developed a novel ER lovastatin formulation by melt granulation in high shear mixer that provided extended plasma levels of lovastatin and its active metabolite after oral administration to dogs. When the new formulation is administered to dogs in fasted conditions, no significant differences in pharmacokinetics parameters were found compared to the marketed formulation Altoprev[®]. However, significant differences in bioavailability were found among the two formulations when administered with a high-fat meal. Moreover, a lower variability in pharmacokinetics parameters was observed in presence of meal. The high fat meal seems to increase the absorption extent of lovastatin from LOV-ER formulation, and to delay the absorption rate of the drug from the marketed formulation. Further studies need to be carried out in human volunteers to confirm the results of this trial. In conclusion, one-step melt granulation in high shear mixer could be an easy and more cost-effective technique for extended release formulation development.

REFERENCES

1. **M.A. Bayomi, S.A. Al-Suwayeh, A.R.M. El-Helw.** Excipient–excipient interaction in the design of sustained–release theophylline tablets: *In vitro* and *in vivo* evaluation, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 27 6 (2001) 499–506.
2. **J. Hamdani, A.J. Moes, K. Amighi.** Development and evaluation of prolonged release pellets obtained by the melt pelletization process, *Int. J. Pharm.* 245 1–2 (2002) 167–177.
3. **A. Royce, J. Suryawanshi, U. Shah, K. Vishnupad.** Alternative Granulation Technique: Melt granulation, *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 22 (1996) 917–924.
4. **B.M. Lue, F.S. Nielsen, T. Magnussen, H.M. Schou, K. Kristensen, L.O. Jacobsen, A. Mullertz.** Using biorelevant dissolution to obtain IVIVC of solid dosage forms containing a poorly–soluble model compound, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69 2 (2008) 648–657.
5. **J. Goole, P. Deleuze, F. Vanderbist, K. Amighi.** New levodopa sustained–release floating minitables coated with insoluble acrylic polymer, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 68 2 (2008) 310–318.
6. **S. Shimpi, B. Chauhan, K.R. Mahadik, A. Paradkar.** Preparation and evaluation of diltiazem hydrochloride–Gelucire 43/01 floating granules prepared by melt granulation, *AAPS. Pharm. Sci. Tech.* 5 3 (2004) e43.
7. **N. Passerini, B. Albertini, M.L. Gonzalez–Rodriguez, C. Cavallari, L. Rodriguez.** Preparation and characterisation of ibuprofen–poloxamer 188 granules obtained by melt granulation, *Eur. J. Pharm. Sci.* 15 1 (2002) 71–78.
8. **D. Yang, R. Kulkarni, R.J. Behme, P.N. Kotiyan.** Effect of the melt granulation technique on the dissolution characteristics of griseofulvin, *Int. J. Pharm.* 329 1–2 (2007) 72–80.
9. **N. Passerini, B. Albertini, B. Perissutti, L. Rodriguez.** Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel, *Int. J. Pharm.* 318 1–2 (2006) 92–102.
10. **J. Goole, F. Vanderbist, K. Amighi.** Development and evaluation of new multiple–unit levodopa sustained–release floating dosage forms, *Int. J. Pharm.* 334 1–2 (2007) 35–41.
11. **P. Sharma, P. Chaudhari, H. Bhagat, N. Varia.** Preparation and characterization of meloxicam–myrj 52 granules obtained by melt granulation, *Pharm. Technol.* (2007)

12. **L. Ochoa, M. Igartua, R.M. Hernandez, M.A. Solinis, A.R. Gascon, J.L. Pedraz.** *In vivo* evaluation of two new sustained release formulations elaborated by one-step melt granulation: level A *in vitro-in vivo* correlation, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 75 2 (2010) 232–237.
13. **J.A. Tobert.** New Developments in Lipid-Lowering Therapy – the Role of Inhibitors of Hydroxymethylglutaryl-Coenzyme-A Reductase, *Circulation* 76 3 (1987) 534–538.
14. **A.W. Alberts.** Discovery, Biochemistry and Biology of Lovastatin, *Am. J. Card.* 62 15 (1988) J10–J15.
15. **M.H. Moghadasian.** Clinical pharmacology of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors, *Life Sci.* 65 13 (1999) 1329–1337.
16. **J.M. Henwood, R.C. Heel.** Lovastatin: A Preliminary Review of Its Pharmacodynamic Properties and Therapeutic Use in Hyperlipemia, *Drugs* 36 4 (1988) 429–454.
17. **H. Lennernas, G. Fager.** Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the HMG-CoA reductase inhibitors – Similarities and differences, *Clin. Pharmacokinet.* 32 5 (1997) 403–425.
18. **R.H. Bradford, C.L. Shear, A.N. Chremos, C. Dujovne, M. Downton, F.A. et al.** Expanded Clinical-Evaluation of Lovastatin (Excel) Study Results .1. Efficacy in Modifying Plasma-Lipoproteins and Adverse Event Profile in 8245 Patients with Moderate Hypercholesterolemia, *Arch. Intern. Med.* 151 1 (1991) 43–49.
19. **G.A. McClelland, R.J. Stubbs, J.A. Fix, S.A. Pogany, G.M. Zentner.** Enhancement of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme-A (Hmg-Coa) Reductase Inhibitor Efficacy Through Administration of A Controlled-Porosity Osmotic Pump Dosage Form, *Pharm. Res.* 8 7 (1991) 873–876.
20. **J.X. Sun, R. Niecestro, G. Phillips, J. Shen, P. Lukacsko, L. Friedhoff.** Comparative pharmacokinetics of lovastatin extended-release tablets and lovastatin immediate-release tablets in humans, *J. Clin. Pharmacol.* 42 2 (2002) 198–204.
21. **M. Lamson, G. Phillips, J. Shen, P. Lukacsko, L. Friedhoff, R.M. Niecestro.** Pharmacokinetics of lovastatin extended-release dosage form (lovastatin XL) in healthy volunteers, *Biopharm. Drug Dispos.* 23 4 (2002) 143–149.

22. **M.H. Davidson, P. Lukacsko, J.X. Sun, G. Phillips, E. Walters, A. Sterman, R. Niecestro, L. Friedhoff.** A multiple-dose pharmacodynamic, safety, and pharmacokinetic comparison of extended- and immediate-release formulations of lovastatin, *Clin. Ther.* 24 1 (2002) 112–125.
23. **L. Ochoa, M. Igartua, R.M. Hernandez, A.R. Gascon, J.L. Pedraz.** Preparation of sustained release hydrophilic matrices by melt granulation in a high-shear mixer, *J Pharm. Pharm. Sci.* 8 2 (2005) 132–140.
24. **R.W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, N.A. Peppas.** Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers, *Int. J. Pharm.* 15 (1983) 25–35.
25. **J. Siepmann, N.A. Peppas.** Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), *Adv. Drug Deliv. Rev.* 48 2–3 (2001) 139–157.
26. **Winnolin 4.1.** Pharshigt corporation, Mountain View. California (2003)
27. **Food and Drug Administration:** Guidance for Industry. Bioanalytical methods validation for human studies. US Department of Health and Human Services/Food and Drug Administration/Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD (1998)
28. **ICH.** International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (I.C.H.), Q2/R1 Validation of analytical procedures. Text and methodology (1995)
29. **D.E. Duggan, I.W. Chen, W.F. Bayne, R.A. Halpin, C.A. Duncan, M.S. Schwartz, R.J. Stubbs, S. Vickers.** The Physiological Disposition of Lovastatin, *Drug Metab. Dispos.* 17 2 (1989) 166–173.
30. **P. Colombo, P. Santi, R. Bettini, C.S. Brazel, N.A. Peppas.** Drug Release from Swelling Controlled Systems, in: D. L. Wise (Ed.), *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*, Marcel Dekker, New York, 2000, pp. 183–210.
31. **K. Kosmidis, P. Argyrakis, P. Macheras.** A reappraisal of drug release laws using Monte Carlo simulations: the prevalence of the Weibull function, *Pharm. Res.* 20 7 (2003) 988–995.
32. **V. Papadopoulou, K. Kosmidis, M. Vlachou, P. Macheras.** On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms, *Int. J. Pharm.* 309 1–2 (2006) 44–50.

33. **J. Siepmann, A. Streubel, N.A. Peppas.** Understanding and predicting drug delivery from hydrophilic matrix tablets using the "sequential layer" model, *Pharm. Res.* 19 3 (2002) 306–314.
34. **Andrx Laboratories.** Altoprev™ (Lovastatin) extended release tablets. Andrx Laboratories. (2002)
35. **B. Abrahamsson, M. Alpsten, B. Bake, U.E. Jonsson, M. Eriksson-Lepkowska, A. Larsson.** Drug absorption from nifedipine hydrophilic matrix extended-release (ER) tablet-comparison with an osmotic pump tablet and effect of food, *J. Control. Rel.* 52 3 (1998) 301–310.
36. **B. Abrahamsson, K. Roos, J. Sjogren.** Investigation of prandial effects on hydrophilic matrix tablets, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25 6 (1999) 765–771.
37. **M. Lamson, R. Niecestro, E. Walters, P. Lukacsko, L. Friedhoff.** Effects of food on the absorption of lovastatin following administration from an extended-release dosage form, *J. Clin. Pharmacol.* 42 9 (2002) 1063.
38. **M.J. Lamson, P. Lukacsko, R.M. Niecestro, L.T. Friedhoff, A.B. Sterman.** Pharmacokinetics and pharmacodynamics of extended-release lovastatin, *J. Clin. Pharmacol.* 42 9 (2002) 1062.
39. **W.R. Garnett.** Interactions with Hydroxymethylglutaryl-Coenzyme-A Reductase Inhibitors, *Am. J. Health Syst. Pharm.* 52 15 (1995) 1639–1645.
40. **K.A. Lentz.** Current methods for predicting human food effect, *AAPS. J.* 10 2 (2008) 282–288.
41. **N. Parrott, V. Lukacova, G. Fraczkiwicz, M.B. Bolger.** Predicting pharmacokinetics of drugs using physiologically based modeling-application to food effects, *AAPS. J.* 11 1 (2009) 45–53.
42. **L. Fu, Z. Dai, S. Hou, Y. Wan.** Pharmacokinetic study on lovastatin sustained-release tablet and sustained-release capsule in Beagal dogs, *J. Huazhong. Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.* 24 2 (2004) 116–119.
43. **L.Z. Benet, C.Y. Wu, M.F. Hebert, V.J. Wachter.** Intestinal drug metabolism and antitransport processes: A potential paradigm shift in oral drug delivery. *J. Control Rel.* 39 (1996) 139–143.

44. **N. Montvale.** Mevacor TM Prescribing Information: Physicians Desk Reference. Medical Economics Company (1999)
45. **C. Kyrklund, J.T. Backman, K.T. Kivisto, M. Neuvonen, J. Laitila, P.J. Neuvonen.** Plasma concentrations of active lovastatin acid are markedly increased by gemfibrozil but not by bezafibrate, *Clin. Pharm. Ther.* 69 5 (2001) 340–345.
46. **A.B. Sterman, L.T. Friedhoff, R.M. Niecestro, M.J. Lamson, E.I. Cullen.** Pharmacokinetic variability of an extended release lovastatin formulation, *J. Clin. Pharmacol.* 42 9 (2002) 1063.
47. **R. Menon, D. Tolbert, E. Cefali.** The comparative bioavailability of an extended–release niacin and lovastatin fixed dose combination tablet versus extended–release niacin tablet, lovastatin tablet and a combination of extended–release niacin tablet and lovastatin tablet, *Biopharm. Drug Dispos.* 28 6 (2007) 297–306.
48. **J. Lincoln, M.E. Stewart, S.H. Preskorn.** How sequential studies inform drug development: evaluating the effect of food intake on optimal bioavailability of ziprasidone, *J. Psychiatr. Pract.* 16 2 (2010) 103–114.

DISCUSIÓN

La granulación por fusión en un solo paso es una técnica alternativa a la granulación por vía húmeda basada en la utilización de un agente aglutinante sólido que funde a temperaturas entre 50–80 °C (en lugar de solventes acuosos u orgánicos)¹³³. Esta propiedad permite emplear esta técnica para la formulación de fármacos sensibles a la humedad, evitar el controvertido uso de solventes orgánicos y acortar el proceso de granulación en términos de tiempo y energía al eliminar la fase de secado. Asimismo, una adecuada selección del agente aglutinante y del resto de excipientes permitirá el desarrollo y elaboración de formas farmacéuticas tanto de liberación inmediata como de liberación modificada. Uno de los equipos más empleados en la granulación por fusión es el granulador mezclador de alta velocidad, que permite realizar el proceso en un solo paso^{134,135}. Además, una vez optimizado el proceso, permite su aplicación a escala industrial¹³⁶.

Como hemos indicado, la granulación por fusión en un solo paso en granulador mezclador de alta velocidad permite el desarrollo de formulaciones de liberación

133 **Heng, P. W. S. and Wong, T. W.** Melt processes for oral solid dosage forms, in: J. Swarbrick and J. C. Boylan (Eds.), *Encyclopedia of pharmaceutical technology*, Marcel Dekker, New York, (2006) pp. 2257–2261.

134 **Mctaggart, C.M., Ganley, J.A., Sickmueller, A. and Walker, S.E.** The Evaluation of Formulation and Processing Conditions of a Melt Granulation Process. *Int. J. Pharm.* 19: 139–148 (1984).

135 **Schaefer, T., Holm, P. and Kristensen, H.G.** Melt Granulation in A Laboratory Scale High Shear Mixer. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 16: 1249–1277 (1990).

136 **Passerini, N., Calogerá, G., Albertini, B. and Rodriguez, L.** A comparison of high shear mixer and fluidised bed processes. *Int. J. Pharm.* 391: 177–186 (2010).

sostenida o modificada^{137,138}. Este tipo de formulaciones se han introducido en la terapia farmacológica con dos objetivos principales: reducir el número de dosis por día para mejorar el cumplimiento de los tratamientos por parte de los pacientes, y disminuir las fluctuaciones en los niveles plasmáticos de los fármacos para lograr mejorar la eficacia terapéutica y disminuir los efectos secundarios. En la elaboración de formulaciones de liberación modificada, es muy importante reducir en lo posible el número de excipientes a emplear así como los pasos del proceso de elaboración, con el objetivo de conseguir la mayor uniformidad posible entre comprimidos y entre diferentes lotes. En este sentido, la granulación por fusión es un método adecuado y fácilmente escalable para lograr este objetivo ya que no necesita emplear muchos excipientes y se puede realizar el proceso en un solo paso¹³⁹. El interés de la industria farmacéutica en la granulación por fusión ha aumentado gracias a su sencillez y a sus ventajas sobre otras tecnologías más complicadas para el desarrollo de este tipo de formulaciones. En los últimos años, se ha empleado esta técnica para conseguir diferentes propiedades en las formulaciones como pueden ser:

137 **Goole, J., Vanderbist, F., and Amighi, K.** Development and evaluation of new multiple-unit levodopa sustained-release floating dosage forms. *Int. J. Pharm.* 334: 35–41 (2007).

138 **Perissutti, B., Rubessa, F., Moneghini, M., and Voinovich, D.** Formulation design of carbamazepine fast-release tablets prepared by melt granulation technique. *Int. J. Pharm.* 256: 53–63 (2003).

139 **Bjorn, I.N., Jansson, A., Karlsson, M., Folestad, S. and Rasmuson, A.** Empirical to mechanistic modelling in high shear granulation. *Chem. Engin. Sci.* 60: 3795–3803 (2005).

- Aumento de la solubilidad y biodisponibilidad en el caso de fármacos poco solubles¹⁴⁰.
- Retardar la liberación de fármacos muy solubles^{141,142}.
- Desarrollo de formulaciones de liberación modificada¹⁴³.

El objetivo general de la presente memoria experimental ha sido la aplicación de la tecnología de granulación por fusión en un solo paso al diseño de formulaciones de liberación modificada. En este trabajo se ha logrado por un lado desarrollar una formulación modificada de un fármaco soluble como la teofilina retardando su liberación, y por otro lado desarrollar una formulación que permitió la adecuada liberación de un fármaco poco soluble como la lovastatina para conseguir una liberación sostenida de la misma.

Una de las variables más importante a tener en cuenta en el proceso de diseño y optimización de una formulación es la selección de los excipientes, ya que la elección de los mismos podrá determinar el comportamiento de la formulación.

140 **Goole, J., Deleuze, P., Vanderbist, F. and Amighi, K.** New levodopa sustained-release floating minitables coated with insoluble acrylic polymer. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 68: 310–318 (2008).

141 **Hauss, D.J.**, Oral lipid-based formulations. *Advanced Drug Delivery Reviews* 59: 667–676 (2007).

142 **Abdelbary, G.A. and Tadros, M.I.** Design and *in vitro/in vivo* evaluation of novel nicorandil extended release matrix tablets based on hydrophilic interpolymer complexes and a hydrophobic waxy polymer. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69: 1019–1028 (2008).

143 **Sharma, P., Chaudhari, P., Bhagat, H., and Varia, N.** Preparation and characterization of meloxicam–myrj 52 granules obtained by melt granulation. *Pharm. Technol.* (2007).

En una primera fase de esta memoria experimental se realizó un estudio de la influencia del tipo de aglutinante y del tipo de celulosa en la elaboración de matrices hidrófilas de liberación modificada mediante granulación por fusión, así como su efecto en la liberación del fármaco tanto *in vitro* como *in vivo*. Se empleó la teofilina como fármaco modelo y tras la preparación y caracterización de varias formulaciones, se realizó una evaluación *in vivo* en perros Beagle, estudiándose las correlaciones *in vitro-in vivo*. En una fase posterior, se aplicó la granulación por fusión en un solo paso a la elaboración de una formulación de liberación modificada de lovastatina, un fármaco de mayor interés terapéutico, muy poco soluble y con muy baja biodisponibilidad.

DISEÑO Y OPTIMIZACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA FORMULACIÓN.

Para la elaboración de las matrices se utilizaron dos tipos de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) de diferente grado de viscosidad (K4M y K100M) como componente principal de la matriz debido a sus propiedades como agente gelificante, que tras su hidratación, forman una capa de gel responsable de controlar la liberación del fármaco mediante diferentes mecanismos¹⁴⁴.

144 Vazquez, M.J., Pérez-Marcos, B., Gómez-Amora, J.L. Martínez-Pacheco, R., et al. Influence of technological variables on release of drugs from hydrophilic matrices. Drug Dev. Ind. Pharm. 18: 1355-1375 (1992).

Se utilizaron agentes aglutinantes de diferente naturaleza: hidrófilos y lipófilos. Los aglutinantes seleccionados fueron: PEG 6000 y Gelucire[®] 50/13 de naturaleza hidrófila, y ácido esteárico, Compritol[®] 888 Ato, Precirol[®] Ato y monoestearato de glicerilo de naturaleza lipófila. Se utilizó la teofilina como fármaco modelo.

Los componentes se granularon en un granulador mezclador de alta velocidad (Rotolab[®], Zanchetta) y posteriormente se comprimieron en una máquina de comprimir de un solo punzón (Bonals). La composición general de las formulaciones fue la siguiente:

Teofilina: 50 %
HPMC: 29,5 %
Aglutinante: 20 %
Estearato magnésico: 0,5 %

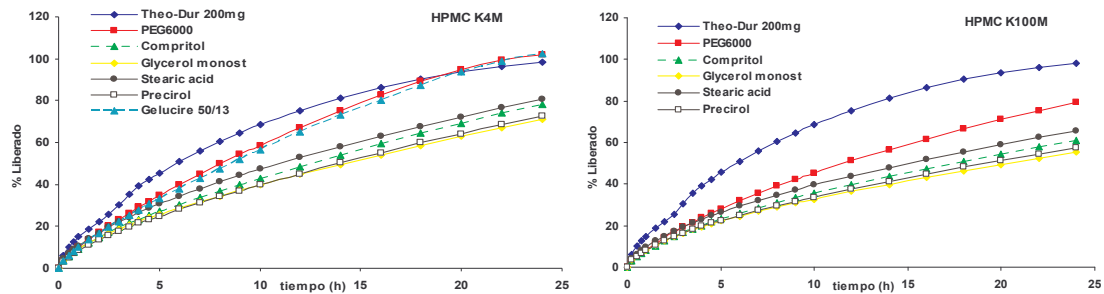
Como puede observarse en las Figuras 1 y 2, los perfiles de disolución realizados en agua destilada como medio de disolución, mostraron que todas las matrices elaboradas proporcionaron una liberación sostenida del fármaco. Se observan diferencias en el perfil de liberación dependiendo de la celulosa y aglutinantes empleados, consiguiendo una mayor y más rápida liberación las formulaciones que contenían HPMC K4M. Esta diferencia se debe a que la capa de gel que se formaba con las formulaciones elaboradas con HPMC K100M era más viscosa y menos erosionable que la obtenida cuando se utilizó la HPMC K4M,

constituyendo así una barrera más espesa que dificultaba la difusión del fármaco¹⁴⁵.

Además, las formulaciones que contenían los aglutinantes hidrófilos liberaron el 100 % del fármaco tras 24 horas cuando se utilizó la HPMC K4M, y aproximadamente el 80 % cuando se empleó la HPMC K100M.

Sin embargo, las formulaciones que contenían el aglutinante lipófilo mostraron un perfil de liberación lento y tras 24 horas, solo liberaron entre el 60 y 80 % del fármaco tanto con la HPMC K4M como con la K100M, debido seguramente a que la naturaleza lipófila del aglutinante dificulta la humectación de la matriz y consecuentemente, la liberación del fármaco.

145 Liu, J., Zhang, F. and McGinity, J.W. Properties of lipophilic matrix tablets containing phenylpropanolamine hydrochloride prepared by hot-melt extrusion. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 52: 181-190 (2001).



Figuras 1 y 2. Perfil de disolución de teofilina en agua destilada a partir de las diferentes formulaciones elaboradas con HPMC K4M y K100M.

Los perfiles de disolución se analizaron con la ecuación de Peppas¹⁴⁶ y el valor del exponente n se utilizó para caracterizar el mecanismo de liberación del fármaco. De acuerdo a los valores de n obtenidos con todas las formulaciones ($0,5 < n < 1$), se puede concluir que la liberación del fármaco a partir de estas formulaciones está controlada por un proceso de difusión a través de la capa de gel y por la erosión de la misma, es decir, un proceso de difusión no-fickiano o anómalo¹⁴⁷.

Debido al importante efecto de las propiedades de hinchamiento de las matrices celulósicas sobre el perfil de liberación del fármaco, se realizó un análisis de la textura del gel para conocer el comportamiento de las matrices durante los procesos de hidratación.

146 Peppas, N.A., Analysis of fickian and Non-fickian drug release from polymers. Pharm. Acta Helv. 60: 110–111 (1985).

147 Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P. and Peppas, N.A. Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers. Int. J. Pharm. 15: 25–35 (1983).

Siguiendo las investigaciones de *Yang et al.*¹⁴⁸, se utilizó un analizador de textura (TAXT2 Stable Micro System) con el objeto de correlacionar el espesor y dureza de la capa de gel formada al hidratarse las matrices con los perfiles de disolución *in vitro* obtenidos. Las Figuras 3 y 4 muestran el comportamiento del hinchamiento de las diferentes formulaciones elaboradas con HPMC K4M y K100M, y con los aglutinantes lipófilos o hidrófilos. Tal y como cabría esperar, con los dos tipos de celulosa se observó un comportamiento diferente en el proceso de hinchamiento dependiendo del aglutinante empleado. Las formulaciones que contenían los aglutinantes hidrófilos, presentaron un mayor grado de penetración de la sonda y ejercieron menor resistencia a dicha penetración con el tiempo (menor pendiente), que las formulaciones elaboradas con los aglutinantes lipófilos, lo que indica la formación de una capa de gel de mayor grosor y menos densa con los aglutinantes hidrófilos que con los lipófilos.

148 **Yang, L., Johnson, B. and Fassihi, R.** Determination of continuous changes in the gel layer thickness of poly(ethylene oxide) and HPMC tablets undergoing hydration: a texture analysis study. *Pharm. Res.* 15: 1902–1906 (1998).

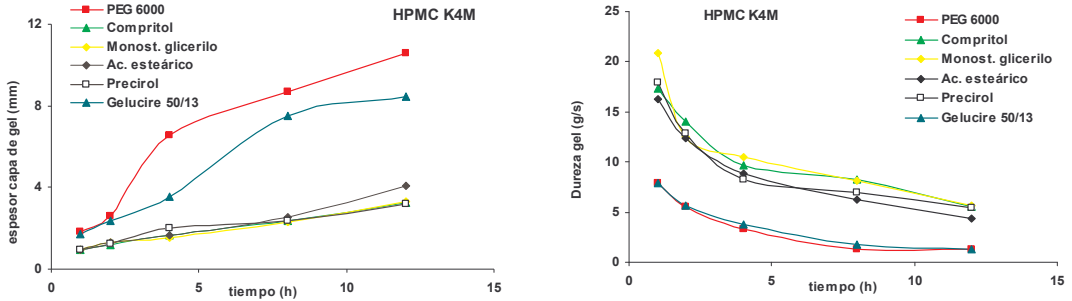


Figura 3. Espesor y dureza de la capa de gel de las formulaciones elaboradas con HPMC K4M en función del tiempo de exposición en el medio de disolución.

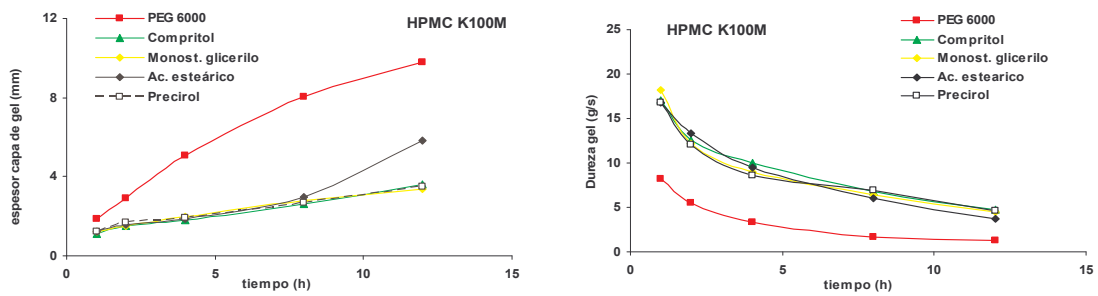


Figura 4. Espesor y dureza de la capa de gel de las formulaciones elaboradas con HPMC K100M en función del tiempo de exposición en el medio de disolución.

Estos resultados justifican las diferencias obtenidas en los perfiles de disolución. Por un lado, las matrices elaboradas con los aglutinantes hidrófilos se hidratan más y más rápido, permitiendo una mayor liberación del fármaco. Por otro lado, las matrices elaboradas con los aglutinantes lipófilos mostraron un hinchamiento menos pronunciado, dando lugar a una liberación más lenta del fármaco.

Por lo tanto, en el proceso de optimización de la formulación se demostró cómo la elección de un excipiente u otro modifican el perfil de liberación *in vitro* del fármaco.

EVALUACIÓN *IN VIVO* DE LAS FORMULACIONES DE TEOFILINA, CORRELACIÓN *IN VITRO-*IN VIVO.**

Para la evaluación *in vivo* y posterior establecimiento de una correlación *in vitro-in vivo* se seleccionó la HPMC K4M como excipiente para la formación de la matriz y dos tipos de aglutinantes para elaborar dos formulaciones con diferentes características: una de naturaleza hidrófila: TPE (con PEG 6000) y otra de naturaleza lipófila: TGM (con monoestearato de glicerilo). El contenido en teofilina por comprimido fue de 200 mg.

Inicialmente se realizaron estudios de disolución *in vitro* en los que se evaluó la posible influencia del pH del medio en los perfiles de disolución (HCl 0,1N pH 1,2; Tampón Acetato 0,05M pH 4,5; Tampón fosfato 0,05M pH 6,8; cambio de pH (2 h en HCl pH 1,2 y hasta 24 h en tampón fosfato pH 6,8); y agua destilada. Se empleó el factor de similitud f_2 para comparar el perfil de disolución de los diferentes medios con el obtenido en agua destilada. Los resultados mostraron que la liberación de teofilina a partir de las formulaciones TPE y TGM es independiente del pH del medio de disolución.

Una vez caracterizadas las formulaciones, se administraron a perros Beagle por vía oral. También se administró una solución de teofilina (8 mg/kg) por vía intravenosa y la formulación comercial Theo-Dur[®], por vía oral. Se obtuvieron las curvas concentración plasmática-tiempo de teofilina y los parámetros farmacocinéticos mediante el software WinnoLin[®].

Como muestra la Figura 5, las formulaciones estudiadas proporcionaron un perfil de niveles plasmáticos sostenido. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los perfiles de ambas formulaciones, con mayor C_{max} ($6,05 \pm 2,00$ vs $2,55 \pm 0,82$ $\mu\text{g/mL}$), mayor $AUC_{0-\infty}$ ($70,24 \pm 16,10$ vs $33,00 \pm 8,96$ $\text{h} \cdot \text{mg/L}$) y mayor T_{max} ($6,00 \pm 2,12$ vs $3,17 \pm 0,98$ h) con la formulación preparada con PEG 6000 (TPE) que con la formulación elaborada con monoestearato de glicerilo (TGM).

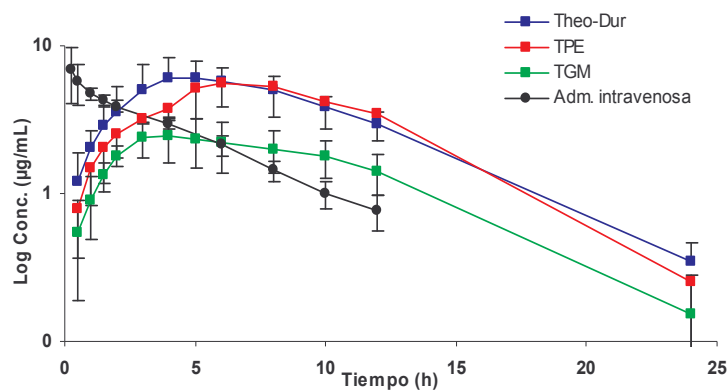


Figura 5. Representación de las concentraciones plasmáticas medias (\pm SD) de teofilina tras la administración intravenosa de una solución de teofilina y de las formulaciones test por vía oral.

Estos resultados están en consonancia con los obtenidos en el estudio *in vitro*, donde se observó una liberación menor y más lenta de teofilina con la formulación TGM que con TPE. La incorporación de aglutinantes grasos como el monoestearato de glicerilo puede retardar la disolución y consecuentemente la absorción de los fármacos hidrófilos, mientras que la adición de excipientes hidrófilos puede mejorar la absorción de fármacos poco solubles¹⁴⁹.

Por otro lado, en el desarrollo de formulaciones de liberación modificada resulta de gran interés establecer una correlación entre los perfiles de disolución *in vitro* y los perfiles de absorción plasmática *in vivo*¹⁵⁰. Teniendo en cuenta que la liberación del fármaco en el tracto gastrointestinal es un factor limitante en el proceso de absorción, poder emplear los datos obtenidos *in vitro* para predecir los parámetros de biodisponibilidad, es un factor importante en el proceso de desarrollo y evaluación de este tipo de formulaciones^{151,152}. Para conseguir este objetivo, es necesario que durante el desarrollo de la formulación se pueda

149 **Passerini, N., Albertini, B., Perissutti, B. and Rodriguez, L.** Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel. *Int. J. Pharm.* 318: 92–102 (2006).

150 **Qiu, Y., Cheskin, H.S., Engh, K.R. and Poska, R.P.** Once-a-day controlled-release dosage form of divalproex sodium I: formulation design and *in vitro/in vivo* investigations. *J. Pharm. Sci.* 92: 1166–1173 (2003).

151 **Sirisuth, N., Augsburger, L.L. and Eddington, N.D.** Development and validation of a non-linear IVIVC model for a diltiazem extended release formulation. *Biopharm. Drug Dispos.* 23: 1–8 (2002).

152 **Hussein, Z. and Friedman, M.** Release and absorption characteristics of novel theophylline sustained release formulations: *in vitro-in vivo* correlation. *Pharm. Res.* 7: 1167–1171 (1990).

establecer un método *in vitro* que pueda predecir el proceso de liberación y absorción del fármaco *in vivo*^{153,154}.

Tal y como se muestra en la Figura 6, con los datos obtenidos de la evaluación *in vivo* se obtuvo por deconvolución el perfil de absorción de la teofilina a partir de las dos nuevas formulaciones desarrolladas.

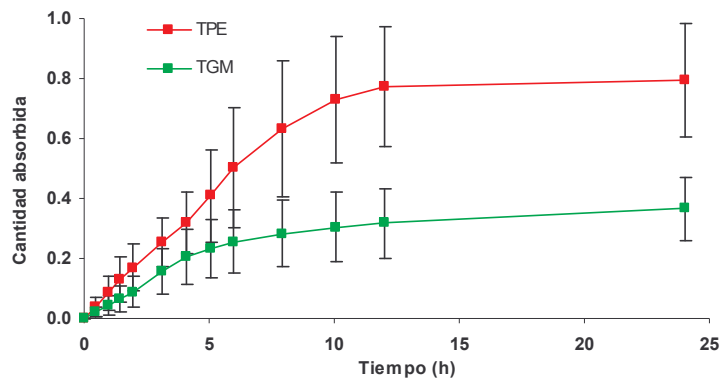


Figura 6. Representación de la media (\pm SD) de la cantidad absorbida *in vivo* frente al tiempo para las dos nuevas formulaciones desarrolladas. Las barras representan la desviación estándar obtenida de los datos individuales (n=5).

Los perfiles de absorción obtenidos ponen de manifiesto una lenta absorción de teofilina, que está en consonancia con los perfiles de disolución *in vitro* obtenidos. Además, la menor liberación de teofilina a partir de la formulación

153 Varshosaz, J., Ghafghazi, T., Raisi, A. and Falamarzian, M. Biopharmaceutical characterization of oral theophylline and aminophylline tablets. Quantitative correlation between dissolution and bioavailability studies. Eur. J. Pharm. Biopharm. 50: 301–306 (2000).

154 Shan-Yang, L., Yuh-Horng, K. and Hsiao-Ning, C. Preliminary evaluation of the correlation between *in vitro* release and *in vivo* bioavailability of two aminophylline slow-release tablets. J. Pharm. Sci. 79: 326–330 (1990).

TGM se relaciona con una menor absorción del fármaco, dando lugar a una baja biodisponibilidad ($F < 0,5$). La formulación TPE mostró una biodisponibilidad muy alta ($F > 0,95$) gracias a la buena liberación y absorción de la teofilina a partir de estas matrices.

Posteriormente, se realizó la correlación entre los perfiles de disolución del fármaco en todos los medios de disolución con los perfiles de absorción plasmática del fármaco obtenidos con las formulaciones.

Dentro de los niveles de correlación *in vitro-in vivo* (IVIVC), la correlación de nivel A es la más informativa y útil desde el punto de vista regulatorio, ya que representa una relación punto a punto entre el perfil de disolución *in vitro* y el perfil de absorción *in vivo*¹⁵⁵.

En nuestro estudio, el estudio de correlación *in vitro-in vivo* mostró que ambas formulaciones presentaban una muy buena correlación de nivel A. En la Figura 7, se recoge a modo de ejemplo la representación gráfica de la correlación IVIV obtenidas en agua destilada como medio de disolución. Los valores del coeficiente de correlación obtenidos en todos los medios de disolución estudiados fueron $r > 0,995$ para la formulación TPE y $r > 0,975$ para la formulación TGM.

155 **Food and Drug Administration:** Guidance for Industry. Extended Release Solid Oral Dosage Forms. Development, Evaluation and application of *In Vitro/In Vivo* Correlations. US Department of Health and Human Services/Food and Drug Administration/Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD (1997).

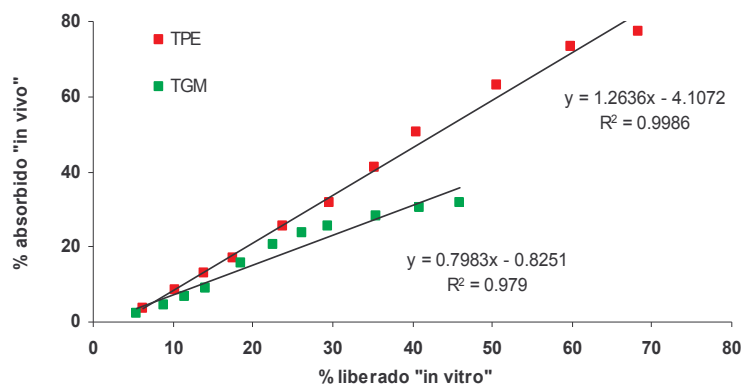


Figura 7. Ejemplo de representación de la correlación IVIV por las formulaciones TPE y TGM obtenidas con agua destilada como medio de disolución.

Por tanto, tras este estudio, podemos concluir que la granulación por fusión es un método sencillo y adecuado para conseguir formulaciones de liberación modificada. Además, la selección del aglutinante permite modular la liberación del fármaco y consecuentemente los perfiles de niveles plasmáticos.

En línea con estos resultados, el siguiente paso fue desarrollar una formulación de liberación modificada de un fármaco poco soluble y baja biodisponibilidad como la lovastatina, que presenta un mayor interés terapéutico.

DESARROLLO DE UNA NUEVA FORMULACION DE LOVASTATINA DE LIBERACIÓN MODIFICADA

La lovastatina es un profármaco inactivo que se hidroliza para dar lugar a un metabolito activo, lovastatina ácida, que es un potente inhibidor de la coenzima

HMG-CoA reductasa involucrada en la biosíntesis del colesterol¹⁵⁶. La inhibición de la formación del colesterol provoca un aumento de la eliminación del colesterol LDL del plasma. La biodisponibilidad oral de la lovastatina es aproximadamente del 5% y es muy variable. Además, diversos autores han demostrado una mejora en la eficacia de las estatinas cuando se administraba en formulaciones de liberación modificada^{157,158}.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, y que actualmente solo existe en el mercado una formulación de liberación modificada de lovastatina comercializada únicamente en USA, nos planteamos desarrollar una nueva matriz hidrófila de liberación modificada de lovastatina (LOV-ER) mediante granulación por fusión en un solo paso en un granulador mezclador de alta velocidad, y realizar una completa caracterización, tanto *in vitro* como *in vivo*.

Los excipientes seleccionados para la elaboración de la formulación fueron la HPMC K4M y el PEG 6000, un aglutinante de carácter hidrófilo para intentar mejorar la liberación y correspondiente absorción de lovastatina. Los comprimidos elaborados contenían 60 mg de lovastatina y la composición de la formulación fue la siguiente:

156 **Moghadasian, M.H.** Clinical pharmacology of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Life Sciences* 65: 1329-1337 (1999).

157 **Bradford, R.H., Shear, C.L., Chremos, A.N., et al.** Expanded Clinical-Evaluation of Lovastatin (Excel) Study Results.1. Efficacy in Modifying Plasma-Lipoproteins and Adverse Event Profile in 8245 Patients with Moderate Hypercholesterolemia. *Archives of Internal Medicine* 151: 43-49 (1991).

158 **McClelland, G.A., Stubbs, R.J., Fix, J.A., Pogany, S.A. and Zentner, G.M.** Enhancement of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme-A (Hmg-Coa) Reductase Inhibitor Efficacy Through Administration of a Controlled-Porosity Osmotic Pump Dosage Form. *Pharm. Res.* 8: 873-876 (1991).

Lovastatina:	20 %
HPMC K4M:	40 %
PEG 6000:	15 %
Manitol intragranular:	15 %
Manitol extragranular:	9,5%
Estearato magnésico:	0,5 %

En los ensayos de liberación *in vitro* se estudió la influencia del pH y la velocidad de agitación en el perfil y mecanismo de liberación del fármaco. Se emplearon distintos medios de disolución (HCl 0,1N pH 1,2; Tampón Acetato 0,05M pH 4,5; Tampón fosfato 0,05M pH 6,8; y cambio de pH (2 h en HCl pH 1,2 y hasta 24 h en tampón fosfato pH 6,8). En el caso del tampón fosfato 0,05M se estudiaron dos velocidades de agitación, 50 y 100 rpm. Como se puede ver en la Figura 8, los resultados obtenidos mostraron un perfil de disolución sostenido y sin diferencias entre las diferentes condiciones estudiadas indicando una liberación de lovastatina independiente del pH del medio así como de la velocidad de agitación.

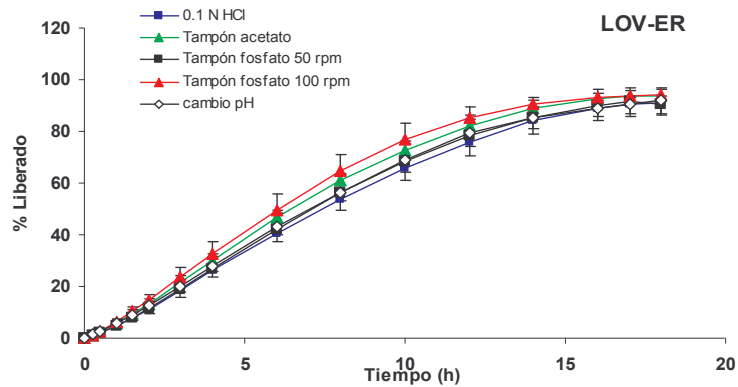


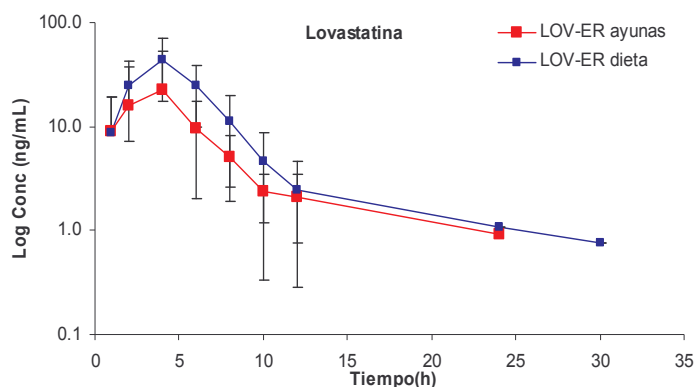
Figura 8. Perfil de disolución *in vitro* de la formulación LOV-ER 60 mg en diferentes medios de disolución. Las barras representan la desviación obtenida a partir de los datos individuales ($n=12$).

Los resultados obtenidos se ajustaron a diferentes modelos cinéticos, mostrando un buen ajuste a una cinética de liberación de orden zero ($r^2 = 0,992$), lo que indica que la liberación del fármaco es independiente de su concentración en el sistema matricial. Para la caracterización del mecanismo de liberación se utilizó el medio de disolución con cambio de pH para estudiar los mecanismos de liberación por ser más representativo de las condiciones gastrointestinales. Se obtuvo una buena linealidad con la ecuación de Peppas ($r^2 = 0,995$) y el valor del exponente de liberación obtenido fue $n = 0,86$, un valor próximo a 0,89 que indica que la liberación del fármaco está controlada principalmente por la erosión del comprimido¹⁵⁹.

¹⁵⁹ Colombo, P., Santi, P., Bettini, R., Brazel, C. S. and Peppas, N. A., Drug Release from Swelling Controlled System, in: D. L. Wise (Ed.), Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Marcel Dekker, New York, (2000) pp. 183–210.

A continuación se diseñó el estudio *in vivo* en perros Beagle para comprobar la idoneidad de la formulación para conseguir niveles plasmáticos sostenidos del fármaco. Además, debido a la particular importancia de asegurar una disposición adecuada del fármaco a partir de las formulaciones de liberación modificada en presencia de alimentos¹⁶⁰, se estudió el efecto de una comida con alto contenido en grasa en la absorción del fármaco a partir de esta formulación.

La Figura 9 muestra los niveles plasmáticos medios de lovastatina y lovastatina ácida obtenidos tras la administración de la formulación oral en condiciones de ayuno y dieta rica en grasa.



160 Abrahamsson, B., Roos, K. and Sjogren, J. Investigation of prandial effects on hydrophilic matrix tablets. Drug Dev. Ind. Pharm. 25: 765-771 (1999).

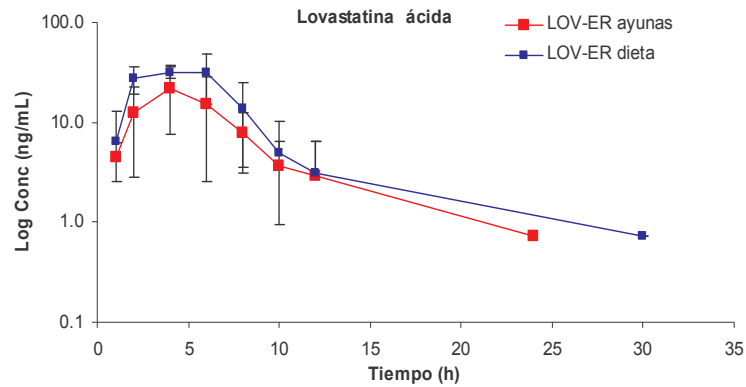


Figure 9. Representación de las curvas de concentraciones plasmáticas medias (\pm SD) de lovastatina y lovastatina ácida en perros Beagle ($n=5$) tras la administración oral de la formulación LOV-ER en ayunas y dieta.

Como puede observarse en ella, se obtuvieron niveles plasmáticos sostenidos de lovastatina y de su metabolito en las dos condiciones estudiadas. Los niveles de lovastatina siempre fueron superiores cuando la formulación se administró en presencia de alimentos, con un mayor valor medio de C_{max} ($39,68 \pm 20,17$ ng/mL vs $24,06 \pm 29,65$ ng/mL), mayor $AUC_{0-\infty}$ ($211,42 \pm 125,75$ vs $135,09 \pm 129,68$ h*ng/mL) y menor MRT ($5,30 \pm 1,55$ vs $8,12 \pm 3,66$ h). Del mismo modo, los niveles plasmáticos del metabolito presentaron un comportamiento similar, con un mayor valor medio de C_{max} y $AUC_{0-\infty}$ en presencia de alimentos.

Estas diferencias detectadas en los parámetros farmacocinéticos y en los niveles plasmáticos del fármaco y su metabolito, tanto en presencia como en ausencia de alimentos, no fueron estadísticamente significativas debido seguramente a la alta variabilidad interindividual observada y que también ha sido descrita en

otros estudios^{161,162,163}. Estos resultados están en línea con lo descrito en la ficha técnica de las formulaciones de lovastatina de liberación inmediata, donde se describe una mayor concentración plasmática de lovastatina y su metabolito cuando son administradas tras una comida.

El aumento en la absorción sistémica en presencia de alimentos ocurre a menudo con fármacos lipófilos como la lovastatina, y puede ser atribuido a una mejor solubilización del fármaco debido a una mayor concentración de lípidos y sales biliares en el tracto gastrointestinal. Este aumento en la absorción también pudo potenciarse por la presencia de alimentos que pudieron acelerar la erosión de la matriz induciendo una liberación más rápida en el tracto gastrointestinal¹⁶⁰.

Además, un hallazgo interesante en nuestro estudio fue que la variabilidad en los parámetros farmacocinéticos fue mayor cuando la formulación se administró en ayunas. Este hecho puede ser explicado por un aumento de la solubilidad de la lovastatina en presencia de alimentos ricos en grasas, que pudieron incrementar su absorción derivando así en una menor variabilidad. Otros autores describieron

161 Davidson, M.H., Lukacsko, P., Sun, J.X., et al. A multiple-dose pharmacodynamic, safety, and pharmacokinetic comparison of extended- and immediate-release formulations of lovastatin. *Clin. Ther.* 24: 112-125 (2002).

162 Kyrklund, C., Backman, J.T., Kivisto, K.T., et al. Plasma concentrations of active lovastatin acid are markedly increased by gemfibrozil but not by bezafibrate. *Clin. Pharmacol. Ther.* 69: 340-345 (2001).

163 Sterman, A.B., Friedhoff, L.T., Niecestro, R.M., Lamson, M.J., and Cullen, E.I. Pharmacokinetic variability of an extended release lovastatin formulation. *J. Clin. Pharmacol.* 42: 1063 (2002).

un hecho similar cuando la ziprasidona (fármaco lipófilo) se administró con alimentos¹⁶⁴.

Asimismo, se obtuvieron los perfiles de niveles plasmáticos de lovastatina y lovastatina ácida tras la administración de la formulación comercial que actualmente hay en el mercado: Altopre[®] 60 mg. Tal y como se observa en la Figura 10, cuando esta formulación se administró a los perros en presencia de alimentos, se obtuvieron para la lovastatina una menor C_{max} ($8,73 \pm 3,00$ vs $23,02 \pm 28,63$ ng/ml) y $AUC_{0-\infty}$ ($76,77 \pm 55,79$ vs $137,92 \pm 118,74$ h*ng/mL), y una mayor T_{max} ($8,5 \pm 3,42$ vs $4,5 \pm 1,00$ h) que en ausencia de los mismos. En el caso del metabolito se observó un comportamiento similar al de la lovastatina, con menor C_{max} y $AUC_{0-\infty}$.

En el caso del Altoprev[®], las diferencias encontradas en los parámetros farmacocinéticos tampoco fueron estadísticamente significativas debido a la alta variabilidad interindividual que presentó también esta formulación.

164 Lincoln, J., Stewart, M.E., and Preskorn, S.H. How sequential studies inform drug development: evaluating the effect of food intake on optimal bioavailability of ziprasidone. J. Psychiatr. Pract. 16: 103-114 (2010).

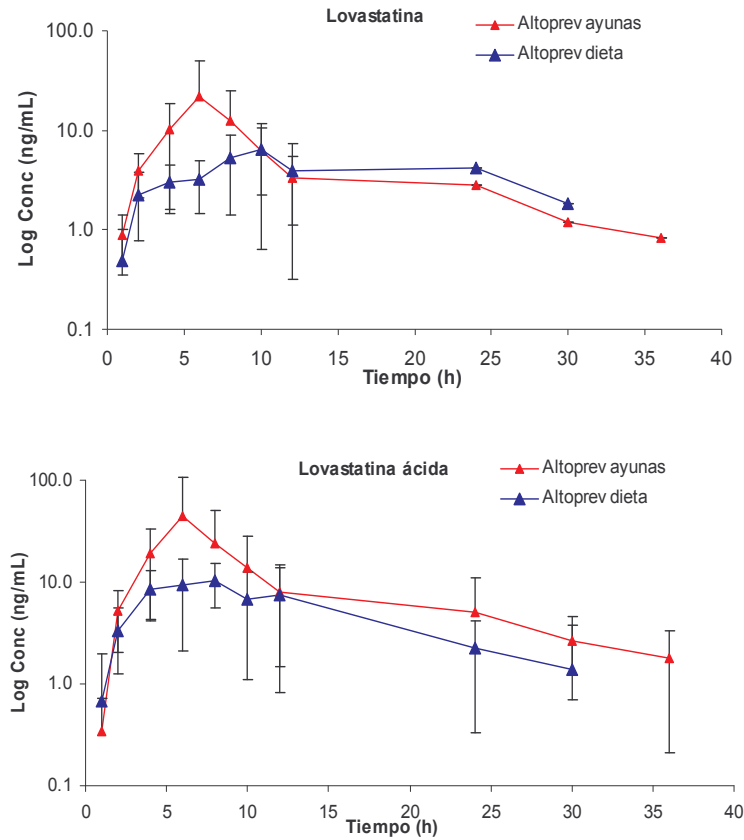


Figure 10. Representación de las curvas de concentraciones plasmáticas medias (\pm SD) de lovastatina y lovastatina ácida en perros ($n=5$) tras la administración oral de la formulación Altoprev[®] en ayunas y dieta.

Sin embargo, estos resultados coinciden con los obtenidos por *Sun et al.*¹⁶⁵, quienes observaron una disminución en la biodisponibilidad en presencia de alimentos tras la administración de un sistema osmótico de liberación modificada de lovastatina.

165 Sun, J.X., Niecestro, R., Phillips, G., Shen, J., Lukacsko, P. and Friedhoff, L. Comparative pharmacokinetics of lovastatin extended-release tablets and lovastatin immediate-release tablets in humans. *J. Clin. Pharmacol.*42: 198-204 (2002).

Si comparamos ambas formulaciones (LOV-ER y Altoprev[®]) observamos que la presencia de alimentos produjo un efecto diferente en cada una de ellas, aumentando la absorción de lovastatina en el caso de la formulación LOV-ER, y disminuyendo la velocidad de absorción en el caso de la formulación comercial. Este hecho es confirmado debido a las diferencias estadísticamente significativas que se observaron en la C_{max} de la lovastatina y en el $AUC_{0-\infty}$ y MRT de la lovastatina ácida. Por el contrario, no se hallaron diferencias cuando se compararon ambas formulaciones en situación de ayunas.

En conclusión, podemos decir que se ha conseguido desarrollar una formulación de liberación modificada de lovastatina con una técnica sencilla como es la granulación por fusión en un solo paso. Esta formulación desarrollada proporciona niveles sostenidos, tanto de lovastatina como de su metabolito activo, tras su administración en perros y no presenta diferencias en los parámetros farmacocinéticos con la formulación comercial cuando se administra en situaciones de ayuno. Sin embargo, sería necesario realizar ensayos en humanos para confirmar los resultados de este estudio.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta memoria experimental han permitido obtener las siguientes conclusiones:

1.- La granulación por fusión en un solo paso en granulador mezclador de alta velocidad es una técnica sencilla que permite el desarrollo de formas farmacéuticas orales de liberación modificada de fármacos hidrófilos y lipófilos, tal y como se ha demostrado utilizando teofilina y lovastatina.

2.- La metodología de granulación por fusión en un solo paso permite la elaboración de formulaciones de liberación modificada de teofilina tanto con aglutinantes lipófilos como hidrófilos. La elección del tipo de aglutinante permite modificar el perfil de liberación *in vitro* del fármaco. La combinación de una celulosa de menor viscosidad (HPMC K4M) con aglutinantes hidrófilos (PEG 6000 y Gelucire[®] 50/13) proporciona mayores porcentajes de fármaco disuelto. Sin embargo, al utilizar aglutinantes lipófilos (ácido esteárico, Compritol[®] 888 Ato, Precirol[®] Ato y monoestearato de glicerilo) se obtienen perfiles de liberación más lentos y con menores porcentajes de fármaco disuelto, con ambos tipos de celulosa (HPMC K4M y HPMC K100M).

3.-Las formulaciones elaboradas con teofilina proporcionan un perfil de liberación del fármaco independiente del pH, que se ajusta a una cinética no lineal. La liberación del fármaco a partir de las matrices se produce tanto por la difusión de la teofilina a través de la matriz, como por la erosión del comprimido.

4.- Tras la administración de las formulaciones desarrolladas de teofilina por vía oral a perros, se consiguen concentraciones sostenidas de fármaco en sangre. Se obtuvo una excelente correlación *in vitro-in vivo* de nivel A con las formulaciones elaboradas con PEG y monoestearato de glicerilo como aglutinantes hidrófilo y lipófilo, respectivamente.

5.-Las formulaciones de lovastatina preparadas mediante granulación por fusión en un solo paso presentaron una cinética de liberación de orden zero, siendo la erosión de la matriz el principal mecanismo de liberación del fármaco. Los perfiles de liberación *in vitro* fueron independientes del pH y de la velocidad de agitación.

6.-Tras la administración por vía oral a perros de la formulación de liberación modificada de lovastatina, se obtuvieron niveles plasmáticos sostenidos del fármaco y de su metabolito, lovastatina ácida, tanto en ayunas como en presencia de alimentos con alto contenido en grasa. La variabilidad de los parámetros farmacocinéticos fue menor cuando la formulación se administró en presencia de alimentos con alto contenido en grasa.

7.-Se han detectado diferencias estadísticamente significativas en algunos parámetros farmacocinéticos de lovastatina ácida (C_{max} , $AUC_{0-\infty}$ y MRT) entre la formulación de lovastatina desarrollada y la formulación comercial Altoprev[®] cuando éstas se administran en presencia de alimentos con alto contenido en grasa. Estas diferencias parecen indicar que los alimentos con alto contenido en grasa aumentan la absorción de lovastatina a partir de la nueva formulación

obtenida por granulación por fusión y retrasan la velocidad de absorción del fármaco a partir de la formulación comercial.

BIBLIOGRAFÍA

Abberger, T., Seo, A. and Schaefer, T. The effect of droplet size and powder particle size on the mechanisms of nucleation and growth in fluid bed melt agglomeration. *Int. J. Pharm.* 249: 185–197 (2002).

Abdelbary, G., Prinderre, P., Eouani, C., Joachim, J., Reynier, J.P. and Piccerelle, P. The preparation of orally disintegrating tablets using a hydrophilic waxy binder. *Int. J. Pharm.* 278: 423–433 (2004).

Abdelbary, G.A. and Tadros, M.I. Design and *in vitro/in vivo* evaluation of novel nicorandil extended release matrix tablets based on hydrophilic interpolymers and a hydrophobic waxy polymer. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69: 1019–1028 (2008).

Abrahamsson, B., Alpsten, M., Bake, B., Jonsson, U.E., Eriksson-Lepkowska, M. and Larsson, A. Drug absorption from nifedipine hydrophilic matrix extended-release (ER) tablet—comparison with an osmotic pump tablet and effect of food. *J. Control. Rel.* 52 (3): 301–310 (1998).

Abrahamsson, B., Roos, K. and Sjogren, J. Investigation of prandial effects on hydrophilic matrix tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25: 765–771 (1999).

Akimoto, M., Nagahata, N., Furuya, A., Fukushima, K., Higuchi, S. and Suwa, T. Gastric pH profiles of beagle dogs and their use as an alternative to human testing. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 49: 99–102 (2000).

Alberts, A.W. Discovery, Biochemistry and Biology of Lovastatin, *Am. J. Card.* 62 (15) J10–J15 (1988).

Alderman, D.A. A review of cellulose ether in hydrophilic matrices for oral controlled release dosage forms. *Int. J. Pharm. Tech. Prod. Mfr.* 5: 1–9 (1984).

Ameye, D., Keleb, E., Vervaet, C., Remon, J.P., Adams, E. and Massart, D.L. Scaling-up of a lactose wet granulation process in Mi-Pro high shear mixers. *Eur. J. Pharm. Sci.* 17: 247–251 (2002).

Amidon, G.L., Lennernas, H., Shah, V.P. and Crison, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharm. Res.* 12: 413–420 (1995).

Andrx Laboratories. Altoprev[™] (Lovastatin) extended release tablets. Andrx Laboratories (2002).

Badawy, S.I.F. and Hussain, M.A. Effect of starting material particle size on its agglomeration behavior in high shear wet granulation. *AAPS PharmSciTech* 5: (2004).

Badawy, S.I.F., Lee, T.J. and Menning, M.M. Effect of Drug Substance Particle Size on the Characteristics of Granulation Manufactured in a High-Shear Mixer. *AAPS PharmSciTech* 1(4) (2000).

Bardin, M., Knight, P.C. and Seville, J.P.K. On control of particle size distribution in granulation using high-shear mixers. *Powder Technology* 140: 169–175 (2004).

Bayomi, M.A., Al-Suwayeh, S.A. and El-Helw, A.R. Excipient–excipient interaction in the design of sustained-release theophylline tablets: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 27: 499–506 (2001).

Benet, L.Z., Wu, C.Y., Hebert, M.F. and Wachter, V.J. Intestinal drug metabolism and antitransport processes: A potential paradigm shift in oral drug delivery. *J. Control. Rel.* 39: 139–143 (1996).

Bergman, R., Johansson, M.E., Lundstedt, T., Seifert, E. and Aberg, J. Optimization of a granulation and tableting process by sequential design and multivariate analysis. *Chem. Intelligent Lab. Systems* 44: 271–286 (1998).

Berner, B. and Dinh, S. Fundamental concepts in controlled release, In: Kydonieus, A. (Ed), *Treatise on Controlled Drug Delivery: Fundamentals, Optimization and Applications*, Marcel Dekker, New York, (1992).

Bettini, R., Catellani, P.L., Santi, P., Massimo, G., Peppas, N.A. and Colombo, P. Translocation of drug particles in HPMC matrix gel layer: effect of drug solubility and influence on release rate. *J. Control. Rel.* 70: 383–391 (2001).

Betz, G., Burgin, P.J. and Leuenberger, H. Power consumption measurement and temperature recording during granulation. *Int. J. Pharm.* 272: 137–149 (2004).

Bjorn, I.N., Jansson, A., Karlsson, M., Folestad, S. and Rasmuson, A. Empirical to mechanistic modelling in high shear granulation. *Chem. Engineering Sci.* 60: 3795–3803 (2005).

Bradford, R.H., Shear, C.L., Chremos, A.N., et al. Expanded Clinical–Evaluation of Lovastatin (Excel) Study Results.1. Efficacy in Modifying Plasma–Lipoproteins and

Adverse Event Profile in 8245 Patients with Moderate Hypercholesterolemia. *Archives of Internal Medicine* 151: 43–49 (1991).

Campisi, B., Vojnovic, D., Chicco, D. and Phan–Tan–Luu, R. Melt granulation in a high shear mixer: optimization of mixture and process variables using a combined experimental design. *Chem. Intelligent Lab. Systems* 48: 59–70 (1999).

Cardot, J.M., Beysac, E. and Alric, M. *In vitro–in vivo* correlation: Importance of dissolution in IVIVC. *Dissolution Tech.* 14: 15–19 (2007).

Carr, R.L. Evaluating flow properties of solids, *Chem. Eng.* 72(2): 163–168 (1965).

Charman, S.A. and Charman, W.N. Oral modified release delivery systems, In: M. J. Rathbone, J. Hadgraft, and M. S. Roberts (Eds), *Modified–Release Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, New York, (2002) pp. 1–10.

Charman, S.A. and Charman, W.N. Oral Modified Release Delivery Systems. In: Swarbrick, J. (Ed). *Modified Release Drug Delivery Technology*. Marcel Dekker, New York, (2003).

Charman, W.N., Porter, C.J.H., Mithani, S. and Dressman, J.B. Physicochemical and physiological mechanisms for the effects of food on drug absorption: the role of lipids and pH. *J. Pharm. Sci.* 86: 269–282 (1997).

Cheong, L.W.S., Heng, P.W.S. and Wong, L.F. Relationship between Polymer Viscosity and Drug Release from a Matrix System. *Pharm. Res.* 9: 1510–1514 (1992).

Chien, Y.W. Controlled and modulated–release drug delivery systems, in: J. Swarbrick and J.C. Boyland (Ed.), *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Marcel Dekker, New York, (1990) pp. 281–313.

Cliff, M.J. Granulation end point and automated process control of mixer–granulators: Part. I. *Pharm. Tech.* 112–132 (1990).

Colombo, P., Santi, P., Bettini, R., Brazel, C. S. and Peppas, N. A., Drug Release from Swelling Controlled System, In: D.L. Wise (Ed.), *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*, Marcel Dekker, New York, (2000) pp. 183–210.

Crowley, K.J., Forbes, R.T., York, P., Nyqvist, H. and Camber, O. Drug–fatty acid salt with wax–like properties employed as binder in melt granulation. *Int. J. Pharm.* 211: 9–17 (2000).

Das, N.G. and Das, S.K. Controlled–Release of Oral Dosage Forms. Formulation, Fill & Finish (2003).

Davidson, M.H., Lukacsko, P., Sun, J.X., et al. A multiple–dose pharmacodynamic, safety, and pharmacokinetic comparison of extended– and immediate–release formulations of lovastatin. *Clin. Ther.* 24: 112–125 (2002).

Davis, B. and Morris, T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm. Res.* 10: 1093–1098 (1993).

Dhopeswarkar, V. and Zatz, J.L. Evaluation of Xanthan Gum in the Preparation of Sustained–Release Matrix Tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 19: 999–1017 (1993).

Doelker, E. Water swollen cellulose derivative in pharmacy, In: Peppas, N.A. (Ed), *Hydrogels in medicine and pharmacy*. Vol. 2 CRC Boca Raton. Florida, (1980).

Dressman, J.B. and Yamada, K. Animal models for oral drug absorption, In: Welling, P.G., Tse, F.L. and Dighe, S. (Eds), *Pharmaceutical bioequivalence*, Marcel Dekker, New York, (1991).

Dressman, J.B., Vertzoni, M., Goumas, K. and Reppas, C. Estimating drug solubility in the gastrointestinal tract. *Adv. Drug Del. Rev.* 59: 591–602 (2007).

Duggan, D.E., Chen, I.W., Bayne, W.F., Halpin, R.A., Duncan, C.A. et al. The Physiological Disposition of Lovastatin, *Drug Metab. Dispos.* 17 (2): 166–173 (1989).

EMA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products). Note for Guidance on modified release oral and transdermal dosage forms: Section II (Pharmacokinetic and clinical evaluation) CPMP/QWP/280/96 (1999).

EMA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products). Note for Guidance on development pharmaceuticals. CPMP/QWP/155/96 (1998).

Esquisabel, A., San Vicente, A., Igartua, M., Hernández, R.M., Gascón, A.R., Calvo, B. and Pedraz, J.L. Influence of melting point and hydrophilic/lipophilic balance on the release of salbutamol sulfate from lipid matrices. *S.T.P. Pharma. Sci.* 6(5): 365–369 (1996).

Evrard, B., Amighi, K., Beten, D., Delattre, L. and Moes, A.J. Influence of melting and rheological properties of fatty binders on the melt granulation process in a high-shear mixer. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25: 1177-1184 (1999).

Faham, A., Prinderre, P., Farah, N., Eichler, K.D., Kalantzis, G. and Joachim, J. Hot-melt coating technology. I. Influence of compritol 888 Ato and granule size on theophylline release. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26: 167-176 (2000).

Flanders, P., Dyer, G.A. and Jordan, D. The Control of Drug Release from Conventional Melt Granulation Matrices. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 13: 1001-1022 (1987).

Food and Drug Administration: Guidance for Industry. Bioanalytical methods validation for human studies. US Department of Health and Human Services/Food and Drug Administration/Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD (1998).

Food and Drug Administration: Guidance for Industry. Extended Release Solid Oral Dosage Forms: Development, Evaluation and application of *In Vitro/In Vivo* Correlations. US Department of Health and Human Services/Food and Drug Administration/ Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD (1997).

Ford, J.L., Rubinstein, M.H. and Hogan, J.E. Formulation of sustained release promethazine hydrochloride tablets using hydroxypropylcellulose matrices. *Int. J. Pharm.* 24: 327-332 (1985).

Ford, J.L., Rubinstein, M.H., McCaul, F., Hogan, J.E. and Edgar, J.E. Importance of drug type, tablet shape and added diluents on drug release kinetics from HPMC matrix tablets. *Int. J. Pharm.* 57: 75-85 (1987).

Fu, L., Dai, Z., Hou, S. and Wan, Y. Pharmacokinetic study on lovastatin sustained-release tablet and sustained-release capsule in Beagle dogs. *J. Huazhong. Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.* 24: 116-119 (2004).

Fu, X.C., Wang, G.P., Liang, W.Q., and Chow, M.S.S. Prediction of drug release from HPMC matrices: effect of physicochemical properties of drug and polymer concentration. *J. Control. Rel.* 95: 209-216 (2004).

Galia, E., Nicolaidis, E., Horter, D., Lobenberg, R., Reppas, C. and Dressman, J.B. Evaluation of various dissolution media for predicting *in vivo* performance of class I and II drugs. *Pharm. Res.* 15: 698–705 (1998).

Gao, P., Nixon, P.R. and Skoug, J.W. Diffusion in HPMC gels II. Prediction of drug release rates from hydrophilic matrix extended–release dosage forms. *Pharm. Res.* 12: 965–971 (1995).

Garnett, W.R. Interactions with Hydroxymethylglutaryl–Coenzyme–A Reductase Inhibitors. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 52 (15): 1639–1645 (1995).

Gokhale, R., Sun, Y. and Shukla, A.J. High shear Granulation, In: D.M. Parikh (Ed.), *Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology*, Taylor & Francis, (2005) pp. 191–229.

Goole, J., Deleuze, P., Vanderbist, F. and Amighi, K. New levodopa sustained–release floating minitablets coated with insoluble acrylic polymer. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 68: 310–318 (2008).

Goole, J., Vanderbist, F., and Amighi, K. Development and evaluation of new multiple–unit levodopa sustained–release floating dosage forms. *Int. J. Pharm.* 334: 35–41 (2007).

Grassi, M., Grassi, G., Lapasin, R., and Colombo, I. *Gastrointestinal Tract, Understanding Drug Release and Absorption Mechanisms. A Physical and Mathematical Approach*, Taylor & Francis, (2006) pp. 29–68.

Gren, T. and Nyström, C. Porous cellulose matrices containing lipophilic release modifiers– a potential oral extended–release system. *Int. J. Pharm.* 184: 7–19 (1999).

Gupta, M.K., Goldman, D., Bogner, R.H. and Tseng, Y.C. Enhanced drug dissolution and bulk properties of solid dispersions granulated with a surface adsorbent. *Pharm. Dev. Technol.* 6: 563–572 (2001).

Gupta, P.K. and Robinson, J.R. Oral controlled release delivery, In: Kydoneus, A. (Ed), *Treatise on Controlled Drug Delivery: Fundamentals, Optimization, Applications*. Marcel Dekker, New York, (1992).

H. Levene, in: Olkin I, Ghurye SG, Hoeffding W, Madow WG, and Mann HB (Eds.), *Contribution to probability and statistics*, (1960).

Hamdani, J., Moes, A.J. and Amighi, K. Development and evaluation of prolonged release pellets obtained by the melt pelletization process. *Int. J. Pharm.* 245: 167–177 (2002).

Hardy, I.J., Windberg-Baarup, A., Neri, C., Byway, P.V., Booth, S.W. and Fitzpatrick, S. Modulation of drug release kinetics from hydroxypropyl methyl cellulose matrix tablets using polyvinyl pyrrolidone. *Int. J. Pharm.* 337: 246–253 (2007).

Hausner, H.H. Effect of quench sintering on the grain structure of sintered metals. *Int. J. Powder. Metall.* 8 (3): 159–161 (1972).

Hauss, D.J. Oral lipid-based formulations. *Advanced Drug Delivery Reviews* 59: 667–676 (2007).

Heng, P. W. S. and Wong, T. W. Melt processes for oral solid dosage forms, in: J. Swarbrick and J.C. Boylan (Eds.), *Encyclopedia of pharmaceutical technology*, Marcel Dekker, New York, (2006) pp. 2257–2261.

Heng, P.W., Wong, T.W. and Chan, L.W. Influence of production variables on the sphericity of melt pellets. *Chem. Pharm. Bull.* 48: 420–424 (2000).

Heng, P.W.S., Zhu, L.W. and Zhu, L. Effects of process variables and their interactions on melt pelletization in a high shear mixer. *STP Pharma. Sci.* 10: 165–172 (2000).

Henwood, J.M. and Heel, R.C. Lovastatin: A Preliminary Review of Its Pharmacodynamic Properties and Therapeutic Use in Hyperlipemia. *Drugs* 36 (4): 429–454 (1988).

Hernández, R.M., Gascón, A.R., Calvo, B., Caramella, C., Conte, U. et al. Correlation of “*in vitro*” release and “*in vivo*” absorption characteristics of four salbutamol sulfate formulations. *Int. J. Pharm.* 139: 45–52 (1996).

Hussein, Z. and Friedman, M. Release and absorption characteristics of novel theophylline sustained release formulations: *in vitro-in vivo* correlation. *Pharm. Res.* 7: 1167–1171 (1990).

ICH. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (I.C.H.), Q2/R1 Validation of analytical procedures. Text and methodology (1995).

Ikegami, K., Tagawa, K. and Osawa, T. Bioavailability and *in vivo* release behavior of controlled-release multiple-unit theophylline dosage forms in beagle dogs, cynomolgus monkeys and gottingen minipigs. *J. Pharm. Sci.* 95: 1888–1895 (2006).

Ikegami, K., Tagawa, K., Narisawa, S. and Osawa, T. Suitability of the cynomolgus monkey as an animal model for drug absorption studies of oral dosage forms from the viewpoint of gastrointestinal physiology. *Biol. Pharm. Bull.* 26: 1442–1447 (2003).

Johansen, A. and Schaefer, T. Effects of interactions between powder particle size and binder viscosity on agglomerate growth mechanisms in a high shear mixer. *Eur. J. Pharm. Sci.* 12: 297–309 (2001).

Keningley, S.T., Knight, P.C. and Marson, A.D. An investigation into the effects of binder viscosity on agglomeration behaviour. *Powder Technol.* 91: 95–103 (1997).

Kenyon, C.J., Hooper, G., Tierney, D., Butler, J., Devane, J. and Wilding, I.R. The effect of food on the gastrointestinal transit and systemic absorption of naproxen from a novel sustained release formulation. *J. Control. Rel.* 34 (1):31–36 (1995).

Kidokoro, M., Haramiishi, Y., Sagasaki, S., Shimizu, T. and Yamamoto, Y. Application of fluidized hot-melt granulation (FHMG) for the preparation of granules for tableting; Properties of granules and tablets prepared by FHMG. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 28: 67–76 (2002).

Kiil, S. and Dam-Johansen, K. Controlled drug delivery from swellable hydroxypropylmethylcellulose matrices: model-based analysis of observed radial front movements. *J. Control. Rel.* 90: 1–21 (2003).

Knight, P.C., Instone, T., Pearson, J.M.K. and Hounslow, M.J. An investigation into the kinetics of liquid distribution and growth in high shear mixer agglomeration. *Powder Technol.* 97: 246–257 (1998).

Knight, P.C., Johansen, A., Kristensen, H.G., Schaefer, T. and Seville, J.P.K. An investigation of the effects on agglomeration of changing the speed of a mechanical mixer. *Powder Technol.* 110: 204–209 (2000).

Kojima, M. and Nakagami, H. Preparation of the controlled-release matrix tablets of theophylline with micronized low-substituted hydroxypropyl cellulose by a fluidized hot-melt granulation method. *STP Pharma. Sci.* 11: 145–150 (2001).

Konrad, R., Christ, A., Zessin, G. and Cobert, U. The use of ultrasound and penetrometer to characterize the advancement of swelling and eroding fronts in HPMC matrices. *Int. J. Pharm.* 163: 123–131 (1998).

Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P. and Peppas, N.A. Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.* 15: 25–35 (1983).

Kosmidis, K., Argyrakis, P. And Macheras, P. A reappraisal of drug release laws using Monte Carlo simulations: the prevalence of the Weibull function. *Pharm. Res.* 20: 988–995 (2003).

Kostewicz, E.S., Carlsson, A.S., Hanisch, G., Nilsson, R.G., Lofgren, L. and Abrahamsson, B. Comparison of dog and human intestinal fluid and its impact on solubility estimations (PO-166). *Eur. J. Pharm. Sci.* 17S (2002).

Kristensen, H. G. and Schaefer, T. Granulations. In: J. Swarbrick and J.C. Boylan (Eds.), *Encyclopedia of pharmaceutical technology*, Marcel Dekker, New York, (1997) pp. 121–160.

Kyrklund, C., Backman, J.T., Kivisto, K.T., et al. Plasma concentrations of active lovastatin acid are markedly increased by gemfibrozil but not by bezafibrate. *Clin. Pharmacol. Ther.* 69: 340–345 (2001).

Lamson, M., Niecestro, R., Walters, E., Lukacsko, P. and Friedhoff, L. Effects of food on the absorption of lovastatin following administration from an extended-release dosage form. *J. Clin. Pharmacol.* 42 (9): 1063 (2002).

Lamson, M.J., Lukacsko, P., Niecestro, R.M., Friedhoff, L.T. and Sterman, A.B. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of extended-release lovastatin. *J. Clin. Pharmacol.* 42 (9): 1062 (2002).

Lastres García, J.L. Nuevos sistemas orales de liberación modificada. *Schironia* (2002).

Lee, B.J., Riu, S.G. and Cui, S.H. Formulation and Release Characteristics of Hydroxypropyl Methylcellulose Matrix Tablet Containing Melatonin. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25: 493–501 (1999).

Lennernas, H. and Fager, G. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the HMG-CoA reductase inhibitors. Similarities and differences. *Clin. Pharmacokinet.* 32 (5): 403–425 (1997).

Lentz, K.A. Current methods for predicting human food effect. *AAPS. J.* 10 (2): 282–288 (2008).

Lin, K.W. and Peck, G.E. Development of agglomerated talc. III– Comparisons of the physical properties of the agglomerated talc prepared by three different processing methods. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 22: 383–392 (1996).

Lincoln, J., Stewart, M.E., and Preskorn, S.H. How sequential studies inform drug development: evaluating the effect of food intake on optimal bioavailability of ziprasidone. *J. Psychiatr. Pract.* 16: 103–114 (2010).

Liu, J., Zhang, F. and McGinity, J.W. Properties of lipophilic matrix tablets containing phenylpropanolamine hydrochloride prepared by hot–melt extrusion. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 52: 181–190 (2001).

Lobenberg, R. and Amidon, G.L. Modern bioavailability bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50: 3–12 (2000).

Lobenberg, R., Kramer, J., Shah, V.P., Amidon, G.L. and Dressman, J.B. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Dissolution behavior of glibenclamide. *Pharm. Res.* 17: 439–444 (2000).

Lue, B.M., Nielsen, F.S., Magnussen, T., Schou, H.M., Kristensen, K., Jacobsen, L.O. and Mullertz, A. Using biorelevant dissolution to obtain IVIVC of solid dosage forms containing a poorly-soluble model compound. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69: 648–657 (2008).

M. Lamson, G. Phillips, J. Shen, P. Lukacsko, L. Friedhoff, R.M. Niecestro. Pharmacokinetics of lovastatin extended–release dosage form (lovastatin XL) in healthy volunteers. *Biopharm. Drug Dispos.* 23 (4): 143–149 (2002).

Mackaplow, M.B., Rosen, L.A. and Michaels, J.N. Effect of primary particle size on granule growth and endpoint determination in high–shear wet granulation. *Powder Technology* 108: 32–45 (2000).

Martínez, M.N. and Amidon, G.L. A mechanistic approach to understanding the factors affecting drug absorption: a review of fundamentals. *J. Clin. Pharmacol.* 42: 620–643 (2002).

McClelland, G.A., Stubbs, R.J., Fix, J.A., Pogany, S.A. and Zentner, G.M. Enhancement of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme-A (Hmg-Coa) Reductase Inhibitor Efficacy Through Administration of a Controlled-Porosity Osmotic Pump Dosage Form. *Pharm. Res.* 8: 873–876 (1991).

Mctaggart, C.M., Ganley, J.A., Sickmueller, A. and Walker, S.E. The Evaluation of Formulation and Processing Conditions of a Melt Granulation Process. *Int. J. Pharm.* 19: 139–148 (1984).

Melia, C.D. Hydrophilic matrix sustained release systems based on polysaccharide carriers. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 8: 395–421 (1991).

Menon, R., Tolbert, D. and Cefali, E. The comparative bioavailability of an extended-release niacin and lovastatin fixed dose combination tablet versus extended-release niacin tablet, lovastatin tablet and a combination of extended-release niacin tablet and lovastatin tablet. *Biopharm. Drug Dispos.* 28 (6): 297–306 (2007).

Minitab® Release 14 Statistical Software. Minitab Inc. PA USA (2003).

Mitchell, K., Ford, J.L., Armstrong, D.J., Elliott, P.N.C., Rostron, C. and Hogan, J.E. The Influence of Concentration on the Release of Drugs from Gels and Matrices Containing Methocel(R). *Int. J. Pharm.* 100: 155–163 (1993).

Modified-release preparations. *MeReC Bulletin* 11: 13–16 (2000).

Moghadasian, M.H. Clinical pharmacology of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Life Sciences* 65: 1329–1337 (1999).

Montvale, N. Mevacor™ Prescribing Information: Physicians Desk Reference. Medical Economics Company (1999).

Moore, J.W. and Flanner, H.H. Mathematical comparison of curves with an emphasis on *in vitro* dissolutions profiles. *Pharm. Technol.* 20: 64–74 (1996).

Munday, D.L. and Fassihi, A.R. *In vitro-in vivo* correlation studies on a novel controlled release theophylline delivery system and on Theo-Dur tablets. *Int. J. Pharm.* 118: 251–255 (1995).

Nicolaides, E., Symillides, M., Dressman, J.B. and Reppas, C. Biorelevant dissolution testing to predict the plasma profile of lipophilic drugs after oral administration. *Pharm. Res.* 18: 380–388 (2001).

Ochoa, L., Igartua, M., Hernandez, R.M., Gascon, A.R. and Pedraz, J.L. Preparation of sustained release hydrophilic matrices by melt granulation in a high-shear mixer. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 8: 132–140 (2005).

Ochoa, L., Igartua, M., Hernandez, R.M., Solinis, M.A., Gascon, A.R. and Pedraz, J.L. *In vivo* evaluation of two new sustained release formulations elaborated by one-step melt granulation: level A *in vitro*–*in vivo* correlation. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 75: 232–237 (2010).

Papadopoulou, V., Kosmidis, K., Vlachou, M. and Macheras, P. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. *Int. J. Pharm.* 309: 44–50 (2006).

Parrott, N., Lukacova, V., Fraczekiewicz, G. and Bolger, M.B. Predicting pharmacokinetics of drugs using physiologically based modeling–application to food effects. *AAPS. J.* 11 (1): 45–53 (2009).

Passerini, N., Albertini, B., Gonzalez-Rodríguez, M.L. Cavallari, C. and Rodríguez, L. Preparation and characterization of ibuprofen–poloxamer 188 granules obtained by melt granulation. *Eur. J. Pharm. Sci.* 15: 71–78 (2002).

Passerini, N., Albertini, B., Perissutti, B. and Rodríguez, L. Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel. *Int. J. Pharm.* 318: 92–102 (2006).

Passerini, N., Calogerá, G., Albertini, B. and Rodríguez, L. A comparison of high shear mixer and fluidised bed processes. *Int. J. Pharm.* 391: 177–186 (2010).

Peppas, N.A., Analysis of fickian and Non-fickian drug release from polymers. *Pharm. Acta Helv.* 60: 110–111 (1985).

Perissutti, B., Rubessa, F., Moneghini, M. and Voinovich, D. Formulation design of carbamazepine fast-release tablets prepared by melt granulation technique. *Int. J. Pharm.* 256: 53–63 (2003).

Persson, E.M., Gustafsson, A.S., Carlsson, A.S., Nilsson, R.G., Knutson, L. et al. The effects of food on the dissolution of poorly soluble drugs in human and in model small intestinal fluids. *Pharm. Res.* 22: 2141–2151 (2005).

Pham, A.T. and Lee, P.I. Probing the mechanism of drug release from hydroxypropylmethyl cellulose matrices. *Pharm. Res.* 11(10): 1379–1384 (1960).

Pina, M.E. and Veiga, F. The influence of diluent on the release of theophylline from hydrophilic matrix tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26: 1125–1128 (2000).

Qiu, Y., Cheskin, H.S., Engh, K.R. and Poska, R.P. Once-a-day controlled-release dosage form of divalproex sodium I: formulation design and *in vitro/in vivo* investigations. *J. Pharm. Sci.* 92: 1166–1173 (2003).

Rajabi-Siahboomi, A.R. An overview of current oral modified release technologies. *Pharma. Tech.* (2003).

Rajabi-Siahboomi, A.R., Melia, C.D., Davies, M.C., Bowtell, R.W., McJury, M. et al. Imaging the internal structure of the gel layer in hydrophilic matrix systems by NMR imaging. *J. Pharm. Pharmacol. Suppl.* 44: 1062 (1992).

Rhodes, C.T. and Porter, S.C. Coatings for controlled release delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24: 1139–1154 (1998).

Robinson, J.R. and Lee, V.H.L. (Eds) *Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications*. Marcel Dekker, New York, (1987).

Rocca, J.G. and Park, K. Oral drug delivery: prospects and challenges. *Drug Del. Technol.* 4(4): 52–57 (2004).

Rodriguez, C.F., Bruneau, J., Barra, D. and Doelker, E. Hydrophilic cellulose derivatives as drug delivery carriers: influence of substitution type on the properties of compressed matrix tablets, In: Wise, D.L. (Ed), *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. Marcel Dekker, New York, (2000).

Royce, A., Suryawanshi, J., Shah, U. and Vishnupad, K. Alternative Granulation Technique: Melt granulation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 22: 917–924 (1996).

Schaefer, T. and Mathiesen, C. Melt pelletization in a high shear mixer. 9. Effects of binder particle size. *Int. J. Pharm.* 139: 139–148 (1996).

Schaefer, T. Melt pelletization in a high shear mixer. 6. Agglomeration of a cohesive powder. *Int. J. Pharm.* 132: 221–230 (1996).

Schaefer, T., Holm, P. and Kristensen, H.G. Melt Granulation in a Laboratory Scale High Shear Mixer. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 16: 1249–1277 (1990).

Schaefer, T., Johnsen, D. and Johansen, A. Effects of powder particle size and binder viscosity on intergranular and intragranular particle size heterogeneity during high shear granulation. *Eur. J. Pharm. Sci.* 21: 525–531 (2004).

Scott, A.C., Hounslow, M.J. and Instone, T. Direct evidence of heterogeneity during high-shear granulation. *Powder Technology* 113: 205–213 (2000).

Seo, A. and Schaefer, T. Melt agglomeration with polyethylene glycol beads at a low impeller speed in a high shear mixer. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 52: 315–325 (2001).

Seo, A., Holm, P., Kristensen, H.G. and Schaefer, T. The preparation of agglomerates containing solid dispersions of diazepam by melt agglomeration in a high shear mixer. *Int. J. Pharm.* 259: 161–171 (2003).

Shah, N., Zhang, G.H., Apelian, V., Zeng, F.W., Infeld, M.H. and Malick, A.W. Prediction of Drug-Release from Hydroxypropyl Methylcellulose Matrices – Effect of Polymer Concentration. *Pharm. Res.* 10: 1693–1695 (1993).

Shah, V.P., Tsong, Y., Sathe, P. and Liu, J. *In vitro* dissolution profile comparison–statistics and analysis of the similarity factor f_2 . *Pharm. Res.* 15: 889–896 (1998).

Shan-Yang, L., Yuh-Horng, K. and Hsiao-Ning, C. Preliminary evaluation of the correlation between *in vitro* release and *in vivo* bioavailability of two aminophylline slow-release tablets. *J. Pharm. Sci.* 79: 326–330 (1990).

Shapiro, SS. and Wilk, MB. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52: 591–611 (1965).

Sharma, P., Chaudhari, P., Bhagat, H. and Varia, N. Preparation and characterization of meloxicam–myrj 52 granules obtained by melt granulation. *Pharm. Technol.* (2007).

Shimpi, B., Chauhan, S., Mahadik, K.R. and Paradkar, A. Preparation and evaluation of diltiazem hydrochloride–Gelucire 43/01 floating granules prepared by melt granulation. *AAPS. PharmSciTech.* 5 (3) (2004).

Siepmann, J. and Peppas, N.A. Modelling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Adv. Drug Deliv. Rev.* 48: 139–157 (2001).

Siepmann, J., Streubel, A. and Peppas, N.A. Understanding and predicting drug delivery from hydrophilic matrix tablets using the "sequential layer" model. *Pharm. Res.* 19: 306–314 (2002).

Sirisuth, N., Augsburger, L.L. and Eddington, N.D. Development and validation of a non-linear IVIVC model for a diltiazem extended release formulation. *Biopharm. Drug Dispos.* 23: 1–8 (2002).

Sirois, P.J. and Craig, G.D. Scale up of a high-shear granulation process using a normalized impeller work parameter. *Pharm. Dev. Technol.* 5: 365–374 (2000).

Skelly, J., Amidon, G. et al. Testing and correlation for oral controlled/modified release dosage forms. *Pharm. Res.* 7: 975–982 (1990).

Skoug, J.W., Mikelsons, M.V., Vigneron, C.N. and Stemm, N.L. Qualitative evaluation of the mechanism of release of matrix sustained release dosage forms by measurement of polymer release. *J. Control. Rel.* 27: 227–245 (1993).

Solinís, M.A., De La Cruz, Y., Calvo, B., Hernández, R.M., Gascón, A.R. et al. Release of Salbutamol sulfate and Ketoprofen enantiomers from matrices containing HPMC and cellulose derivates. *Chirality* 14: 806–813 (2002).

Sterman, A.B., Friedhoff, L.T., Niecestro, R.M., Lamson, M.J., and Cullen, E.I. Pharmacokinetic variability of an extended release lovastatin formulation. *J. Clin. Pharmacol.* 42: 1063 (2002).

Summers, M. and Aulton, M. Granulación, In: Elsevier (Ed), *Farmacia. La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas*, (2004), pp. 368–378.

Sun, J.X., Niecestro, R., Phillips, G., Shen, J., Lukacsko, P. and Friedhoff, L. Comparative pharmacokinetics of lovastatin extended-release tablets and lovastatin immediate-release tablets in humans. *J. Clin. Pharmacol.* 42: 198–204 (2002).

Sung, K.C., Nixon, P.R., Skoug, J.W., Ju, T.R., Gao, P., Topp, E.M. and Patel, M.V. Effect of formulation variables on drug and polymer release from HPMC-based matrix tablets. *Int. J. Pharm.* 142: 53–60 (1996).

Tahara, K., Yamamoto, K. and Nishihata, T. Overall Mechanism Behind Matrix Sustained-Release Tablets Prepared with Hydroxypropyl Methylcellulose-2910. *J. Control. Rel.* 35: 59-66 (1995).

Thies, R. and Kleinebudde, P. Melt pelletisation of a hygroscopic drug in a high shear mixer Part 1. Influence of process variables. *Int. J. Pharm.* 188: 131-143 (1999).

Thomsen, L.J., Schaefer, T., Sonnergaard, J.M. and Kristensen, H.G. Prolonged Release Matrix Pellets Prepared by Melt Pelletization .4. Drug content, drug particle size and binder composition. *Pharm. Tech.* 6: 19-24 (1994).

Tobert, J.A. New Developments in Lipid-Lowering Therapy – the Role of Inhibitors of Hydroxymethylglutaryl-Coenzyme-A Reductase. *Circulation* 76 (3): 534-538 (1987).

Tobyn, M.J., Staniforth, J.N., Baichwal, A.R. and McCall, T.W. Prediction of physical properties of a novel polysaccharide controlled release system. *Int. J. Pharm.* 128: 113-122 (1996).

Uppoor, V.R. Regulatory perspectives on *in vitro* (dissolution)/*in vivo* (bioavailability) correlations. *J. Control. Rel.* 72: 127-132 (2001).

Li, V.H.K. and Robinson, J.R. In: **J.R. Robinson and V. H. L. Lee** (Eds.), *Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications*. Marcel Dekker, New York, (1987).

Van den Dries, K. and Vromans, H. Relationship between inhomogeneity phenomena and granule growth mechanisms in a high-shear mixer. *Int. J. Pharm.* 247: 167-177 (2002).

Varshosaz, J., Ghafghazi, T., Raisi, A. and Falamarzian, M. Biopharmaceutical characterization of oral theophylline and aminophylline tablets. Quantitative correlation between dissolution and bioavailability studies. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50: 301-306 (2000).

Vazquez, M.J., Pérez-Marcos, B., Gómez-Amora, J.L. Martínez-Pacheco, R., et al. Influence of technological variables on release of drugs from hydrophilic matrices. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18: 1355-1375 (1992).

- Velasco, M.V., Ford, J.L. and Rajabi-Siahboomi, A.R.** The effect of media on the dissolution properties of matrices containing different substitution types of Methocel. *Pharm. Pharmacol. Comunications* 4(8): 377-383 (1998).
- Velasco, M.V., Ford, J.L., Rowe, P. and Rajabi-Siahboomi, A.R.** The influence of drug: HPMC ratio, drug and polymer particle size and compression force on the release of diclofenac sodium from HPMC tablets. *J. Control. Rel.* 57: 75-85 (1999).
- Venkatraman, S., Davar N., Chester, A. and Kleiner, L.** An overview of controlled release systems, In: Wise, D.L. (Ed), *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. Marcel Dekker, New York, (2000).
- Vila, J. L.** *Tecnología Farmacéutica Vol. II: Formas Farmacéuticas*, Madrid (1997).
- Vilhelmsen, T., Kristensen, J. and Schaefer, T.** Melt pelletization with polyethylene glycol in a rotary processor. *Int. J. Pharm.* 275: 141-153 (2004).
- Voinovich, D., Moneghini, M., Perissutti, B., Filipovic-Grcic, J. and Grabnar, I.** Preparation in high-shear mixer of sustained-release pellets by melt pelletisation. *Int. J. Pharm.* 203: 235-244 (2000).
- Vojnovic, D., Moneghini, M. and Rubessa, F.** Experimental-Design for A Granulation Process with A-Priori Criterias. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 21: 823-831 (1995).
- Wei, H. and Lobenberg, R.** Biorelevant dissolution media as a predictive tool for glyburide a class II drug. *Eur. J. Pharm. Sci.* 29: 45-52 (2006).
- Westerhuis, J.A., deHaan, P., Zwinkels, J., Jansen, W.T., Coenegracht, P.J.M. and Lerk, C.F.** Optimisation of the composition and production of mannitol/microcrystalline cellulose tablets. *Int. J. Pharm.* 143: 151-162 (1996).
- Winnolin 4.1.** Pharshigt corporation, Mountain View. California (2003)
- Wong, T.W., Wan, L.S.C. and Heng, P.W.S.** Effects of physical properties of PEG 6000 on pellets produced by melt pelletization. *Pharm. Dev. Technol.* 4: 449-456 (1999).
- Yang, D., Kulkarni, R., Behme, R.J. and Kotiyan, P.** Effect of the melt granulation technique on the dissolution characteristics of griseofulvin. *Int. J. Pharm.* 329: 72-80 (2007).

Yang, L., Johnson, B. and Fassihi, R. Determination of continuous changes in the gel layer thickness of poly(ethylene oxide) and HPMC tablets undergoing hydration: a texture analysis study. *Pharm. Res.* 15: 1902–1906 (1998).

Yanze, F.M., Duru, C. and Jacob, M. A process to produce effervescent tablets: fluidized bed dryer melt granulation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26: 1167–1176 (2000).

Zhou, F., Vervaet, C. and Remon, J.P. Influence of processing on the characteristics of matrix pellets based on microcrystalline waxes and starch derivatives. *Int. J. Pharm.* 147: 23–30 (1997).

Zuleger, S., Fassihi, R. and Lippold, B.C. Polymer particle erosion controlling drug release. II. Swelling investigations to clarify the release mechanism. *Int. J. Pharm.* 247: 23–37 (2002).

