

Centro Nacional de Toxicología

INTRODUCCIÓN A LA CORRELACIÓN *IN VIVO-IN VITRO*. PARTE II

Dayamí Carrión Recio,¹ Carlos Alberto González Delgado,² Lourdes Olivera Ruano³ y Armando Correa Fernández³

RESUMEN

Se relacionaron los pasos generales para obtener una correlación *in vivo-in vitro*. Se profundizó en las ventajas que tiene la obtención de una correlación de nivel A sobre las de niveles B y C. Se explicó detalladamente cómo establecer correlaciones a cada uno de los niveles y en el caso del nivel A, cuando la velocidad de disolución es dependiente e independiente de las condiciones de prueba. Se ejemplificaron las áreas de aplicación de la correlación *in vivo- in vitro* y su introducción en el proceso de escalado, para productos de liberación modificada. Se concluye que el trabajo adecuado con las variables de manufactura, la optimización de la metodología de disolución y el estudio *in vivo*, son las herramientas esenciales para establecer una correlación a cualquiera de sus niveles.

Descriptores DeCS: QUIMICA FARMACEUTICA/métodos; CONTROL DE CALIDAD.

En los últimos años las correlaciones *in vivo-in vitro* han logrado demostrar su incuestionable importancia en la obtención de una prueba de disolución que sirva como sustituto del estudio *in vivo*, además de poder ajustar las especificaciones de disolución adecuadas para cada formulación.¹⁻⁴ Ya en la primera parte de nuestro trabajo, se discutieron las causas que provocan bioinequivalencia en lotes de una misma o diferentes formulaciones, entre las cuales está la selección inadecuada de las

condiciones y/o especificaciones de disolución y la subestimación de la influencia de las variables de manufactura críticas en el comportamiento de las formulaciones. Se definieron los conceptos fundamentales y se diferenciaron los niveles de correlación propuestos en la literatura. En esta segunda parte se pretende explicar las fases que se deben cumplir, para obtener una correlación realmente predictiva del comportamiento *in vivo* de la formulación, así como las ventajas que tiene la obtención de una correlación

¹ Licenciada en Ciencias Farmacéuticas.

² Doctor en Medicina.

³ Licenciado en Química.

de nivel A sobre la obtenida por los niveles B y C.

Las correlaciones *in vivo-in vitro* deben tratar de obtenerse desde muy temprano en el desarrollo de la formulación (correlación *a priori*). En algunos casos la formulación se desarrolla primero y se trata de obtener la correlación en el producto terminado (correlación *a posteriori*). El poder predictivo de estas correlaciones es limitado y requiere una validación adicional.⁵ En general, para obtener cualquier correlación se debe proceder de la manera siguiente:

- Preparar 2 o más formulaciones o lotes con diferentes características biofarmacéuticas. Las variaciones en la velocidad de disolución *in vitro*, deben ser acompañadas solo por cambios en los procesos y componentes que se espera que varíen durante el proceso normal de manufactura (variables de producción críticas).
- Desarrollar una prueba *in vitro* que pueda distinguir entre las formulaciones o lotes preparados.
- Determinar características de absorción de esas formulaciones en un pequeño número de sujetos (humanos).

Como se explicó con anterioridad se pueden obtener 3 niveles de correlación: A, B y C. El nivel A tiene ventajas sobre los otros 2 niveles de correlación. A diferencia de los demás, se desarrolla una relación punto a punto usando cada uno de los puntos de disolución y niveles de plasma que se generan en el estudio. Por tanto, este nivel puede reflejar la curva completa de niveles plasmáticos y la curva de disolución *in vitro* puede servir como sustituto del comportamiento *in vivo*. Es por esto que cualquier cambio en el sitio y/o método de manufactura, sustitución de materias primas

y modificaciones menores en la formulación, pueden ser justificados sin la necesidad de estudios humanos adicionales.

Se pueden establecer los extremos de disolución *in vitro* por un procedimiento de convolución o deconvolución. Además es un fiel control de calidad que predice el comportamiento *in vivo* de los lotes.^{5,7,8} El nivel B no es una correlación punto a punto pues no refleja la curva de niveles plasmáticos, debido a que diferentes curvas *in vivo* producen valores similares de tiempo medio de retención (MRT). Por esta razón no se puede confiar sólo en el nivel B para justificar modificaciones en la formulación, cambios en el sitio de manufactura, etc. Los datos *in vitro* obtenidos de esta correlación no pueden usarse para establecer los extremos de disolución.^{7,9} El nivel C tampoco refleja la curva plasmática y generalmente sólo se usa como guía en el desarrollo de la formulación o como control de calidad. Al igual que el nivel B, no justifica variaciones en la manufactura y especificaciones de disolución.^{7,9}

Desarrollo de la correlación de nivel A cuando la velocidad de disolución es dependiente de las condiciones de prueba. En el establecimiento de una correlación de nivel A cuando la velocidad de disolución depende de las condiciones bajo las cuales se realiza el estudio, es aconsejable seguir los pasos siguientes:

1. Estudio *in vivo* de la formulación para comprobar si cumple los requerimientos *in vivo* (estudio de biodisponibilidad [BA] y/o bioequivalencia [BE]).
2. Identificar variables de manufactura críticas.
3. Desarrollo de varios métodos de disolución (estudios *in vitro* en diferentes medios de disolución, velocidades de agitación, aparatos, etc.) y obtención de perfiles de disolución.

4. Someter los resultados de los perfiles de disolución obtenidos en el paso anterior a un proceso de convolución matemática, modelo-independiente¹⁰⁻¹³ o técnicas de modelo-dependiente como Wagner-Nelson o Loo-Riegelman^{9,11,14-16} para obtener curvas de nivel plasmático simuladas.
5. Comparar las curvas simuladas (paso 4) con la curva obtenida experimentalmente en el estudio *in vivo* (paso 1), para seleccionar las condiciones de disolución que brindan la curva que se superpone más adecuadamente a la real (*in vivo*).
6. Validación de las condiciones de disolución.
 - a) Preparar uno o más lotes con diferente velocidad de disolución (uno con mayor y otro con menor velocidad que el lote usado en el estudio de BA/BE), medida con el método de disolución escogido en el paso anterior.
 - b) Determinar comportamiento *in vivo* de los lotes.
Si se superpone la curva simulada a la obtenida en el estudio *in vivo* queda validado el método de disolución.
7. Establecer especificaciones de disolución.
8. Validación de la correlación.
Estudio *in vivo* con un número adecuado de sujetos, según el criterio de la FDA (16 a 24 sujetos) con los lotes límites superior e inferior y demostrar que son bioequivalentes.^{5,6,8,9}

Es posible también procesar los datos de manera inversa, para obtener una correlación de nivel A. De la misma forma que los resultados de los perfiles de disolución son convolucionados para obtener curvas simuladas de concentraciones plasmáticas en el tiempo, la curva plasmática resultante

del estudio *in vivo* (BA y/o BE) puede someterse a un proceso de deconvolución para obtener una curva de disolución (o de entrada) *in vivo*. Si esta curva resulta superponible con la curva de porcentaje disuelto *in vitro*, se afirma que existe una relación punto a punto (nivel A). También se comprueba la existencia de nivel A cuando se plotea en un gráfico, porcentaje absorbido vs. porcentaje disuelto o, fracción absorbida vs. fracción disuelta y se obtiene una línea recta con un coeficiente de determinación (r^2) > 0,9 y una pendiente igual a 1.^{4-6,8,9}

Desarrollo de la correlación de nivel A cuando la velocidad de disolución es independiente de las condiciones de prueba. Cuando la velocidad de disolución es independiente de las condiciones de prueba, ésta queda definida por una única curva, que se somete a un proceso de convolución para obtener una curva simulada *in vivo*. Si la curva resulta superponible con la curva plasmática obtenida en el estudio *in vivo*, entonces hay una correlación punto a punto que es lo que se define como nivel A de correlación.^{5,8,9,17-19}

Para productos de liberación inmediata (IR) se han obtenido muy pocas correlaciones, ya que en muchos casos la disolución no es el paso limitante de la velocidad de absorción. Sin embargo, en los productos de liberación modificada (MR), como la disolución (*in vivo-in vitro*) es controlada por la formulación, es más frecuente obtener correlaciones.^{1-4,11,20,21} A diferencia de los productos de IR las especificaciones de disolución para los productos de MR siempre son multipuntos.^{22,23}

Cuando no es posible establecer un nivel A entonces se prueba con los niveles B y C,^{24,25} recordando que no se puede confiar sólo en ellos para establecer las

especificaciones de disolución. En estos casos se hace una propuesta para validar las especificaciones de disolución *in vitro*^{8,26} (fig. 1), con el objetivo de demostrar que los 2 lotes con velocidades de disolución máxima y mínima, son bioequivalentes. En la figura se tienen en cuenta 2 procesos:

1. Establecer las variables críticas para la forma dosificada específica. Fijar el intervalo de valores esperados para cada variable durante el proceso normal de fabricación y luego correlacionarlo con las velocidades de disolución *in vitro*, usando las condiciones de disolución óptimas. Por último, se van modificando todas las variables críticas para obtener diferentes perfiles de disolución que permitan encontrar los valores superior

e inferior de las especificaciones de disolución.

2. Realizar un estudio *in vivo* con un número adecuado de sujetos (según FDA, 16 a 24) para comprobar que los lotes que cumplen las especificaciones de disolución máxima y mínima, son bioequivalentes. La bioequivalencia de esos lotes implica que todos los lotes que estén dentro de estas especificaciones son también bioequivalentes.⁸

En la figura 2^{8,27} se recomienda una metodología para el escalado de lotes de producción en productos de liberación extendida, donde se establece claramente que el escalado es aceptable solamente con datos *in vitro*, sí y sólo si se han encontrado las especificaciones de disolución *in vitro*, ya sea

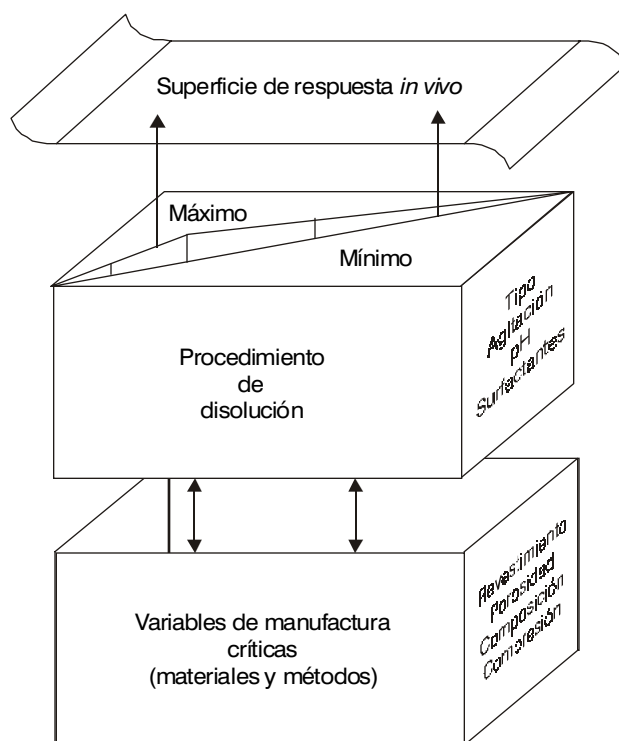


FIG. 1. Propuesta para correlacionar un método de disolución con la velocidad y extensión de la biodisponibilidad, la cual ha sido optimizada para ser sensible a las variables de producción críticas.

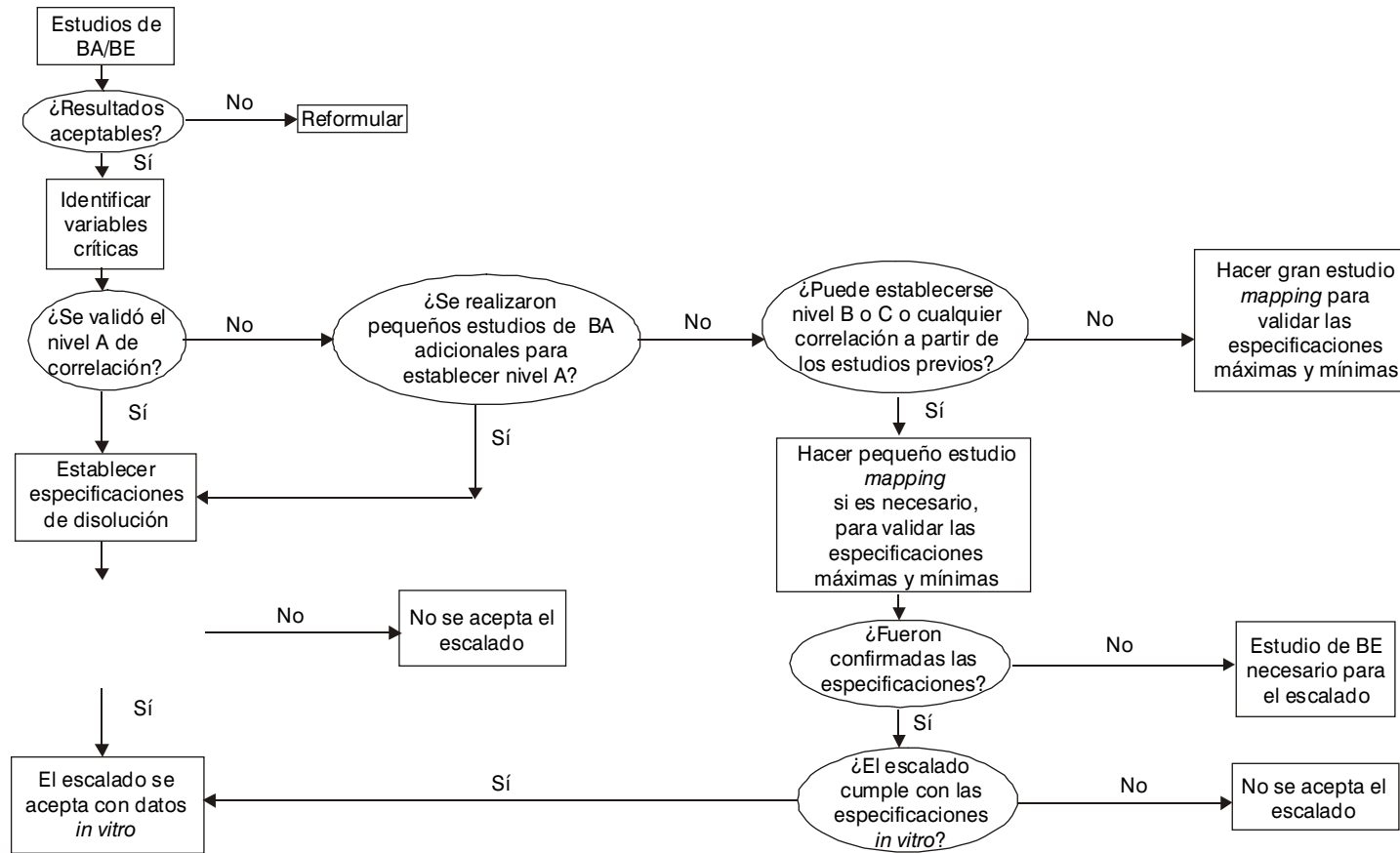


FIG. 2. Árbol de decisiones recomendado para el escalado de productos sólidos orales de liberación controlada.

mediante la correlación de nivel A, B y C o la propuesta para validar las especificaciones.

Las correlaciones *in vivo-in vitro* aseguran que las variaciones interlotes y los cambios menores en la formulación, el proceso de manufactura y los equipos que son permitidos para el mercado, no provocarán bioinequivalencia. Además, permiten comprobar que las condiciones de almacenamiento propuestas para el producto (vida estante), no afectarán su biodisponibilidad. De lo contrario, si no se lograra establecer una correlación, sería necesario demostrar la biodisponibilidad en estos casos, a través de estudios en humanos.

CONCLUSIONES

El trabajo con las variables de manufactura críticas, la optimización de la metodología de disolución y el estudio *in vivo* son 3 aspectos estrechamente interrelacionados que no deben obviarse a la hora de establecer una correlación, independientemente del nivel que se pretenda alcanzar.

De los 3 niveles de correlación existentes, el nivel A es el único que permite predecir la curva de niveles plasmáticos que resultará de la administración de determinada formulación.

SUMMARY

The general steps taken to obtain an *in vivo-in vitro* correlation are reported in this paper. The advantages of obtaining an A level correlation over those of B and C levels are deeply explained. Details are given about how to establish correlations at each level and, specifically, in the case of A level when the dissolution speed depends or not on the test conditions. The areas of application of the *in vivo* and *in vitro* correlation, as well as its introduction in the scale-up process for products of modified release are illustrated. It is concluded that and adequate work with the manufacture variables, the optimization of the dissolution methodology and the *in vivo* study are the essential tools to establish a correlations at any level.

Subject headings: CHEMISTRY, PHARMACEUTICAL/methods; QUALITY CONTROL.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Polli JE. *In vitro-in vivo* relationship of several «immediate» release tablets containing a low permeability drug. *Adv Exp Med Biol* 1997;423:191-8.
2. Rekhi GS, Jambhekar SS. Bioavailability and *in vitro/in vivo* correlation for propranolol hydrochloride extended-release bead products prepared using aqueous polymeric dispersions. *J Pharm Pharmacol* 1996;48(12):1276-84.
3. Liu FY, Sambol NC, Giannini RP, Liu CY. *In vitro-in vivo* relationship of oral extended-release dosage forms. *Pharm Res* 1996;13(10):1501-6.
4. Mojaverian P, Rosen J, Vadino WA, Liebowitz, Radwanski E. *In vivo/in vitro* correlation of four extended release formulations of pseudoephedrine sulfate. *J Pharm Biomed Anal* 1997;15(4):439-45.
5. Cardot JM, Beyssac E. *In vivo/in vitro* correlations: Scientific implications and standardisation. *Eur Drug Metabol Pharmacokinet* 1993;18(1):113-20.
6. Skelly JP, Amidon GL, Barr WH, Benet LZ, Carter JE, Robinson JR, et al. *In vitro* and *in vivo* testing and correlations for oral controlled/modified release dosage forms. *J Control Release* 1990;14:95-106.
7. Dighe SV. Development of dissolution test for immediate release and modified release oral dosage form. Report Pre-Conference Bio-International 94, Pre-Conference Satellite Symposium on *in vitro-in vivo* correlation;1994 June 14; Munich: International Pharmaceutical Federation, 1995:247-55.

8. Skelly JP. Scale-Up of oral extended-release dosage forms. *Pharm Technol* 1995;(May):46-54.
9. United States Pharmacopeial Convention USP XXIII: United States Pharmacopeia. 23. ed. Easton: Mack Printing;1994:1924-9.
10. Horikawa T, Hirayama F, Uekama K. *In vivo* and *in vitro* correlation for delayed-release behaviour of a Molsidomine/0-carboxymethyl-0-ethyl-B-cyclodextrin complex in gastric acidity-controlled dogs. *J Pharm Pharmacol* 1995;47:124-7.
11. Grundy JS, Anderson KE, Rogers JA. Studies on dissolution testing of the nifedipine gastrointestinal therapeutic system. II. Improved *in vivo/in vitro* correlation using a two-phase dissolution test. *J Control Release* 1997;48:9-17.
12. Lanao JM, Vicente MT, Sayalero ML, Domínguez-Gil A. A computer program (DCN) for numerical convolution and deconvolution of Pharmacokinetic functions. *J Pharmacobio Dyn* 1992;15:203-14.
13. Lanao JM, Vicente MT, Sayalero ML. Calculation of partial components of bioavailability in slow release formulations using model-independent methods. *Int J Pharm* 1995;117:113-8.
14. Humbert H, Cabiac MD, Bosshardt H. *In vitro-in vivo* correlation of a modified-release oral form of ketotifen: *In vitro* dissolution rate specification. *J Pharm Sci* 1994;83(2):131-6.
15. Munday DI, Fassih AR. *In vitro-in vivo* correlation studies on a novel controlled Release Theophylline delivery system and on Theo-Dur tablets. *Int J Pharm* 1995;118:251-5.
16. Akimoto M, Furuya A, Nakamura M, Maki T, Yamada K, Suwa T, et al. Release and absorption characteristics of chlorphenesin carbamate sustained-release formulations: *In vitro/in vivo* and *in vivo* dog-human correlations. *Int J Pharm* 1995;117:31-9.
17. Dhopeswarkar V, O'Keeffe JC, Zats JL, Deeter R, Horton M. Development of an oral sustained-release antibiotic matrix tablet using *in vitro/in vivo* correlations. *Drug Dev Ind Pharm* 1994;20(11):1851-67.
18. Murata K, Noda K. Pharmacokinetics of multiparticulate sustained-release Diltiazem preparations in dogs. *J Pharm Sci* 1994;83(1):38-41.
19. Tand L, Stubbs C, Kanfer I, Level A. *In vitro/in vivo* correlations: A quality control tool or bioequivalence predictor for extended-release solid oral dosage forms? *Drug Dev Ind Pharm* 1995;21(8):889-904.
20. Kumar DS, Pandit JK. Relationship Between Dissolution rate and bioavailability of sustained-release Ibuprofen capsules. *Drug Dev Ind Pharm* 1997;23(10):987-92.
21. Jung H, Milán RC, Girard ME, León F, Montoya MA. Bioequivalence study of carbamazepine tablets: *in vitro/in vivo* correlation. *Int J Pharm* 1997;152:37-44.
22. Malinowski HJ. *In vivo/in vitro* correlation: how to assess dissolution specifications for quality control-cases of non-correlation, alternative approaches. Report Pre-Conference Bio-International 94, Pre-Conference Satellite Symposium on *in vivo-in vitro* correlation; 1994 June 14; Munich: International Pharmaceutical Federation, 1995;311-6.
23. Meyer MC, Straughn AB, Jarvi EJ, Wood GC, Pelson FR, Shah VP. The bioequivalence of Carbamazepine tablets with a history of clinical failures. *Pharm Res* 1992;9(12):1612-6.
24. Abrahamsson B, Johansson D, Torstensson A, Wingstrad K. Evaluation of solubilizers in the drug release testing of Hydrophilic Matrix Extended-Release tablets of Felodipine. *Pharm Res* 1994;11(8):1093-7.
25. Lic Ch, Kao YH, Chen SC, Sokoloski TD, Sheu MT. *In vitro* and *in vivo* studies of the diclofenac sodium controlled-release matrix tablets. *J Pharm Pharmacol* 1995;47:360-4.
26. Shah VP, Skelly JP, Barr WH, Malinowski H, Amidon GL. Scale-UP of controlled-release products. Preliminary considerations. *Pharm Technol* 1992;(May):35-40.
27. Ohm A. Critical manufacturing variables and *in vitro* dissolution test in view of *in vivo* performance. Report Pre-Conference Bio-International '94, Pre-Conference Satellite Symposium on *in vivo-in vitro* correlation; 1994 June 14; Munich: International Pharmaceutical Federation, 1995:261-79.

Recibido: 15 de mayo de 1999. Aprobado: 14 de junio de 1999.

Lic. *Dayamí Carrión Recio*. Centro Nacional de Toxicología. Hospital Militar "Dr. Carlos J. Finlay". Ave 114 y 31, municipio Marianao, Ciudad de La Habana, Cuba.