

**Facultad de Farmacia
Departamento de Ciencias Farmacéuticas
Área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica**



**VNiVERSiDAD
D SALAMANCA**

**DESARROLLO DE NUEVAS FORMULACIONES DE
LIBERACIÓN CONTROLADA BAJO UN PROGRAMA DE
CALIDAD POR DISEÑO (QbD)**

TESIS DOCTORAL

Roberto Arévalo Pérez

2021



**VNiVERSiDAD
D SALAMANCA**

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS
ÁREA DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA
C/ Licenciado Méndez Nieto s/n. 37007 SALAMANCA
Tfno.: (923) 294536; Fax: (923) 294515

JOSÉ MARTÍNEZ LANAo, Catedrático de Farmacia y Tecnología Farmacéutica del Departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Universidad de Salamanca y CRISTINA MADERUELO MARTÍN, Profesora Ayudante Doctor del Área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica del Departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Universidad de Salamanca.

En calidad de director y codirectora, respectivamente, de la Tesis cuyo título es "Desarrollo de Nuevas Formulaciones de Liberación Controlada bajo un Programa de Calidad por Diseño (QbD)" realizada por el graduado en Farmacia D. ROBERTO ARÉVALO PÉREZ, consideran finalizado el trabajo y autorizan su presentación a fin de que pueda ser juzgada por el Tribunal correspondiente.

Y para que así conste, firman la presente en Salamanca, a 23 de septiembre de 2021.

Fdo.: José Martínez Lanao

Fdo.: Cristina Maderuelo Martín

A mis padres.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a mi director de tesis, el profesor José. M. Lanao, por darme la oportunidad de poder realizar este trabajo cuando llegué con el único credencial de mis ganas de hacer una tesis doctoral. Gracias por tu paciencia, conocimiento y dedicación.

A Cristina le debo más de lo que pueda expresar en unas pocas líneas. Gracias por tu entrega, por haber estado siempre al pie del cañón conmigo y apoyarme tanto en las duras como en las maduras. Eres la mejor maestra que podría haber imaginado. Tu energía, positividad y enorme voluntad de trabajo es toda una inspiración, y solo el haber tenido la oportunidad de trabajar a tu lado ha hecho que merezca la pena recorrer el largo camino por el que me ha llevado este proyecto. Gracias por todo.

A Arancha que, aunque de forma indirecta, forma parte de la esencia de esta tesis. No hay cajas de bombones, perdón, de jamones, suficientes en el mundo para agradecerte la enorme paciencia que has tenido conmigo.

Cuando empecé todo este proyecto yo había escuchado auténticas historias de terror sobre los grupos de investigación, así que no puedo estarle más que agradecido a todo el departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica por convertir este relato en un cuento de hadas. Amparo, Cote, Clavel, Ana, Ana Celia, Paco, Toñi, Dolores... siempre habéis tenido una palabra amable para mí, muchísimas gracias. El compañerismo y la confianza que desprendéis todos y cada uno de los que formáis parte de este grupo es contagiosa. Gracias.

Pero sobre todo quiero darle las gracias a las joyas de la corona: Samuel, Hinojal, M^a José, Carmen, Pepe, Paulo... Gracias por acogerme como a uno más casi nada más llegar, por todos esos cafés de (supuestamente) las 11:00. Habéis dejado una marca de riskettos indeleble en mi corazón. También a Miguel Ángel, auténtico ángel de la guarda que me ha sacado de más de un apuro y sin el cual seguiría recubriendo comprimidos con un flish-flish de regar las plantas; y a Dani, compañero de fatigas en tantas ocasiones.

Tampoco quiero olvidarme de todos los que han pasado por el depar y de los que guardo un buen recuerdo de estos años: Fernando, Glenda, Antonio, Anja, Ana, y sobre todo a nuestra última adquisición: Celia, eres un solete, gracias por todas esas palabras de ánimo en este último tramo tan duro. También quiero recordar a las chicas de TFG: Laura, Silvia y María, me siento honrado de haber podido ayudaros aunque fuese una miaja.

A mis padres, por ser un apoyo incondicional siempre. De vosotros he aprendido las cosas más importantes de la vida. Sois los pilares sobre los que me asiento. Os quiero y os admiro.

A ELLAS: Anabel, Pitu, Cosi, Blanca... Gracias por las risas, por estar siempre ahí a un golpe de Whatsapp, por las tardes de cine y bar de Dios. Myriam, porque siempre estás para una ensalada. Elena, porque sin importar la distancia siempre te tengo aquí muy cerca. Y a mí queridísimo Víctor, que se moría de ganas de aparecer aquí y bien que se lo merece.

Pero sobre todo a ti, Álvaro. Nada de esto hubiera sido posible sin tu apoyo constante. Tú eres la razón que me ha hecho continuar siempre hacia delante. Nunca hubiera imaginado que podría contar con una persona tan buena, tan leal y tan comprensiva. Tú eres la persona que ha tenido que aguantar mis peores días y me ha regalados los mejores. Te quiero. Te quiero mucho.

You better work!

RuPaul Charles

ÍNDICE

Capítulo 1. Introducción y objetivos	13
Capítulo 2. Recent Advances in Colon Drug Delivery Systems	25
Capítulo 3. Quality by Design Risk Analysis approach to develop coated matrix tablets for colonic release	31
Capítulo 4. Development and evaluation of coated matrix tablets for colonic release under Quality by Design (QbD)	33
Capítulo 5. Optimization of sustained release kinetics of metronidazole using artificial neural networks	37
Capítulo 6. Simulation of the biopharmaceutical and pharmacokinetic behaviour of metronidazole from coated matrix tablets for colonic release	41
Conclusiones	45

CAPÍTULO 1

Introducción y Objetivos

La diverticulosis es una patología que afecta a la morfología de las paredes del colon y presenta una gran prevalencia a nivel mundial, especialmente en las regiones occidentales, tanto, que en los años 70 del siglo pasado llegó a considerarse “la enfermedad del siglo” o “un problema del siglo XX” [1]. Esta patología (diverticulosis) puede definirse como la formación de pequeños bolsillos en las paredes del colon llamados divertículos. Los divertículos se forman como consecuencia de la herniación de la mucosa y submucosa del colon a través de la lámina muscular en los lugares de inserción de los vasa recta intramurales (Figura 1) [2]. Aunque no se conoce exactamente la etiopatogenia que desencadena la formación de los divertículos, existen varias hipótesis que podrían explicar su aparición. Tradicionalmente se creía que la formación de divertículos estaba estrechamente relacionada con el estilo de vida y dietas pobres en fibra característicos de los países occidentales industrializados, donde la prevalencia de esta enfermedad es mayor. Las dietas pobres en fibra disminuyen considerablemente el volumen del material fecal, el cual es transportado más lentamente a lo largo del colon, lo que promueve la absorción de agua y la formación de heces mucho más duras que favorecerían una segmentación del colon y que requieren de mayor presión intraluminal para avanzar. Este aumento de la presión intraluminal en los segmentos del colon podría conducir finalmente a la herniación de las paredes del mismo, resultando en la formación de los divertículos [1]. No obstante, estudios más recientes han demostrado que la relación entre dietas pobres en fibra y la aparición de enfermedad diverticular no está tan clara, y si bien puede ser un factor que favorece la aparición de divertículos no es el único, lo cual ha abierto la puerta al planteamiento de nuevas hipótesis. Actualmente se postula que existe una combinación de factores tanto ambientales como genéticos que pueden desembocar en la aparición de divertículos. Por ejemplo, existe una asociación en pacientes con diversos síndromes, bien de carácter genético o bien adquirido, que afectan al tejido conectivo y propician la aparición de divertículos en el colon. La alteración estructural del tejido conectivo podría favorecer el engrosamiento de las paredes del colon y la herniación de la mucosa. También se cree que las hormonas sexuales juegan un papel en el desarrollo de la enfermedad. Existen estudios que demuestran que la aparición de divertículos es menos frecuente en mujeres premenopáusicas que en hombres de edades similares, aumentando la incidencia en las mujeres una vez pasada la menopausia, lo que sugiere un papel protector de los estrógenos frente a la enfermedad, posiblemente por el efecto que tienen estas hormonas en la estabilidad del colágeno y la elastina del tejido conectivo. Otra hipótesis apunta a una denervación vagal, consecuencia del envejecimiento, que produciría una hipersensibilidad colinérgica de compensación capaz de alterar la musculatura lisa del colon y favorecer la formación de divertículos. Actualmente se piensa que puede existir también una predisposición genética, ya que se han identificado hasta 35 loci cromosómicos que pueden asociarse con la aparición de divertículos en el colon [2,3].

La diverticulosis es una enfermedad que generalmente aparece con la edad, especialmente a partir de los 40 años y se estima que está presente en un 30 % de la población de 60 años incrementándose paulatinamente hasta afectar al 50 % de la población de 75 años, aunque la prevalencia exacta es difícil de determinar ya que la mayoría de los individuos que la padecen son asintomáticos [4,5]. Las complicaciones más comunes derivadas de la formación de divertículos se producen por la obstrucción del divertículo con material fecal, que puede producir la abrasión de las paredes del saco diverticular y la traslocación de ciertos microorganismos que se presentan de manera natural en el colon y que en las condiciones anaerobias del divertículo obstruido proliferan. Todo ello desencadena la hiperplasia del tejido linfático adyacente y pone en marcha un proceso inflamatorio que afecta a las capas mucosas. Este proceso inflamatorio se recoge bajo el término diverticulitis y es el que generalmente causa

los síntomas asociados a la enfermedad diverticular [4,5]. Existen varios grados de severidad de la enfermedad, ya que la inflamación del divertículo puede evolucionar en la aparición de flemón y/o un absceso desencadenado por un proceso isquémico, y existen complicaciones más severas que van desde el sangrado del divertículo por la ruptura de la *vasa recta* hasta la perforación de la pared del colon, produciendo en los casos más graves una peritonitis que puede llegar a resultar mortal [6,7]. Afortunadamente, solo 1 de cada 5 pacientes con enfermedad diverticular presenta síntomas, de los cuales menos del 1 % desarrolla complicaciones severas que requieran una intervención quirúrgica hospitalaria [4]. La diverticulitis no complicada o aguda, no obstante, puede presentarse hasta en un 20 % de la población afectada por la enfermedad diverticular [2], deteriorando considerablemente la calidad de vida de los pacientes. Los síntomas asociados a la diverticulitis no complicada son inespecíficos y cursan con fiebre, dolor abdominal derecho y cambios en los movimientos intestinales acompañados de diarrea y/o estreñimiento [6].

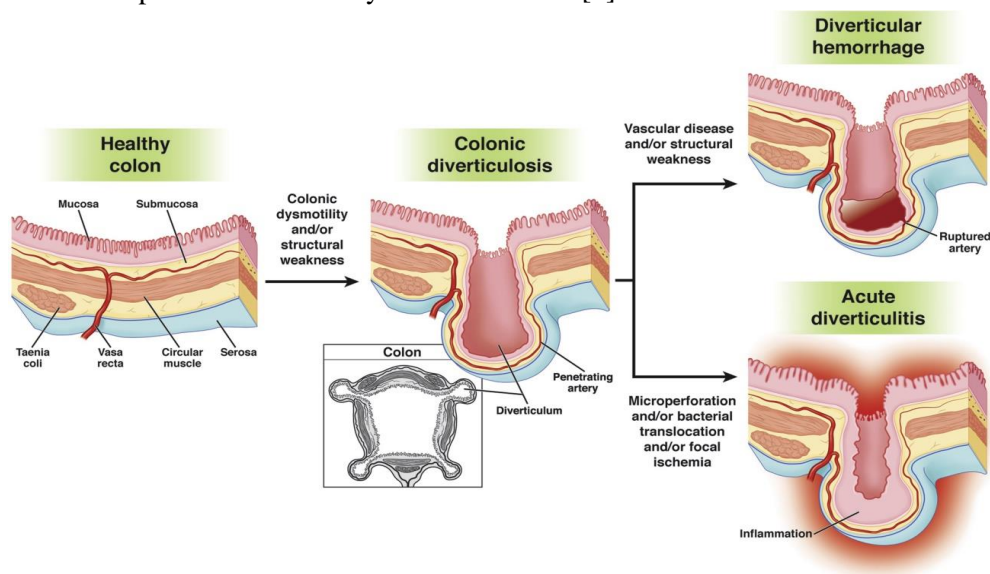


Figura 1. Formación de divertículos en el colon y su evolución hacia complicaciones como la hemorragia diverticular o la diverticulitis no complicada [2]. Reproducido con permiso.

El tratamiento de la diverticulitis no complicada incluye normalmente cambios en la dieta, el tratamiento del dolor con analgésicos y el uso de antibióticos para tratar la proliferación de microorganismos en el divertículo y prevenir posibles complicaciones. Aunque la inclusión de fibra en la dieta está recomendada, no existen estudios concluyentes que demuestren la eficacia en la mejora y el pronóstico de la enfermedad [8]. Cuando es necesario el tratamiento con antibióticos, se emplean antibióticos de amplio espectro con cobertura contra microorganismos gram negativos y anaerobios [9]. Tradicionalmente el tratamiento con antibióticos requiere la hospitalización del paciente para su administración por vía intravenosa. Existen estudios que sugieren que en pacientes seleccionados con diverticulitis no complicada que toleren la ingesta el tratamiento ambulatorio por vía oral estaría recomendado, lo cual supone un ahorro considerable en el sistema de salud, reduciendo los costes del tratamiento hasta en un 60 % [7,10–12]. El tratamiento antibiótico ambulatorio frente a la diverticulitis no complicada incluye normalmente el empleo de una combinación de ciprofloxacino y metronidazol durante un período de 7-10 días [11–13]. Un estudio realizado sobre 74 pacientes diagnosticados con

diverticulitis aguda no complicada y sometidos a un tratamiento por vía oral de 500 mg de ciprofloxacino cada 12 horas en combinación con 500 mg metronidazol cada 8 horas demostró la eficacia y seguridad del tratamiento ambulatorio, con una reducción del gasto hospitalario del 40 % y una mejoría en la calidad de vida de los pacientes [14]. No obstante, tanto el ciprofloxacino como el metronidazol presentan una alta absorción sistémica y pueden llegar a ser mal tolerados por los pacientes, lo cual requiere en muchas ocasiones un cambio en la pauta de tratamiento [11]. Con el fin de completar la pauta recomendada, uno de los objetivos planteados en el presente trabajo fue el desarrollo de una forma farmacéutica capaz de dirigir la liberación de los fármacos al colon y evitar su absorción.

La liberación de fármacos en el colon para el tratamiento de diferentes patologías es una de las líneas de investigación que más interés ha suscitado en los últimos años. La liberación de principios activos a nivel local en el colon impide su absorción sistémica y distribución por todo el organismo, evitando muchos de los posibles efectos adversos asociados a los tratamientos. Además, la liberación en el colon puede evitar la degradación de ciertos compuestos que de otro modo quedarían inactivados en partes más altas del tracto gastrointestinal, perdiendo su actividad terapéutica [15,16]. La liberación colónica de fármacos puede lograrse tanto por vía rectal como por vía oral. Sin embargo, la vía rectal se encuentra actualmente en desuso y relegada al tratamiento específico de ciertas patologías y situaciones de emergencia debido las limitaciones que presenta, ya que por un lado solo consigue la liberación del principio activo en las zonas más distales del colon y por otro resulta una vía de administración generalmente incómoda y poco aceptada por el paciente [17]. La vía oral, aunque es mucho mejor tolerada, es una vía de administración que presenta muchos más retos a la hora de alcanzar una liberación efectiva del fármaco en el colon. Para desarrollar una forma farmacéutica de liberación colónica, esta ha de llegar al colon con total integridad. El colon es la parte más distal del tracto gastrointestinal, y las formas farmacéuticas han de sortear los fuertes cambios fisiológicos que se producen tanto en el estómago como en el intestino delgado con el fin de evitar una liberación y/o degradación del principio activo antes de llegar al colon [18,19].

El planteamiento de vehículos novedosos capaces de dirigir y controlar la liberación del fármaco al colon pasa desde el desarrollo de formas farmacéuticas más clásicas como comprimidos y cápsulas, a otros sistemas más sofisticados basados en sistemas osmóticos o nanotecnología [20]. Sin embargo, de entre todas las posibilidades, el desarrollo de comprimidos basados en matrices hidrófilas presenta numerosas ventajas que las convierten en un candidato ideal para dirigir la liberación del fármaco al colon. El desarrollo de comprimidos matriciales hidrófilos es quizá la estrategia más utilizada ya que supone una forma farmacéutica ampliamente estudiada, presenta buena correlación *in vitro-in vivo*, bajos costes de producción y es altamente tolerada por los pacientes [21]. Las matrices hidrófilas son formas sólidas de administración oral en las que el fármaco se encuentra disperso en el seno de polímeros hidrófilos con capacidad de hincharse en contacto con el agua. Cuando las matrices entran en contacto con un medio acuoso se produce la relajación de las cadenas de los polímeros que la constituyen, formando un entramado tridimensional en forma de gel en el que se produce un movimiento de entrada de agua desde el medio hacia el interior de la matriz [22,23]. Una vez la matriz está hidratada se produce en su seno la disolución del principio activo, el cual es liberado al medio bien por un proceso de difusión a través del hidrogel formado, tras un proceso de erosión de la matriz o una combinación de ambos [24]. Dependiendo de las características del polímero o combinación de polímeros empleados se puede modular la velocidad a la cual el fármaco es liberado al medio, hasta el punto de poder retrasar la liberación del fármaco el tiempo que la matriz tarda en alcanzar el colon.

El método de producción más empleado para la obtención de matrices hidrófilas es la compresión directa [25]. La compresión directa es un proceso tecnológico de obtención de comprimidos en la que una mezcla pulverulenta es sometida a una fuerza mecánica que la compacta para obtener formulaciones sólidas. Este proceso involucra dos pasos bien diferenciados: un primer paso donde el fármaco y los polímeros en polvo se mezclan para obtener una única mezcla final homogénea y un segundo paso donde esta mezcla pasa por una máquina de comprimir que aplica una fuerza mecánica. La sencillez de dicho proceso no supone muchos costes, lo que la convierte en una de las técnicas de fabricación más baratas y demandadas [26].

La modulación en la velocidad de liberación del fármaco desde los comprimidos matriciales hidrófilos depende de una serie de características intrínsecas de los polímeros, así como de las características fisicoquímicas del principio activo empleado, y su estudio y entendimiento permiten el desarrollo de comprimidos capaces de lograr una liberación efectiva del fármaco en el colon [24]. Se ha estudiado que factores como el peso molecular, la viscosidad o el grado de sustitución de los polímeros hidrófilos son condiciones que van a modular la liberación del fármaco desde la matriz. Por ejemplo, polímeros con pesos moleculares elevados van a formar geles mucho más estables que tardan más en desmoronarse, retrasando la liberación del fármaco. Comprimidos desarrollados con hipromelosa (HPMC) de diferentes pesos moleculares consiguen perfiles de disolución en los que la erosión de la matriz era mucho menor en aquellos desarrollados con HPMC de pesos moleculares mayores [27–30]. El peso molecular de muchos de estos polímeros está estrechamente relacionado con la viscosidad de los mismos. Polímeros con pesos moleculares mayores forman hidrogeles más viscosos con un entramado de cadenas más denso que dificulta la difusión del principio activo, retardando su liberación [30–33]. El tamaño de partícula puede condicionar también las características del hidrogel formado. Cuanto menor es el tamaño de partícula de los polímeros empleados, los geles resultantes van a ser mucho más viscosos y densos debido a la mayor área superficial de las partículas, que dispondrán de mayor superficie de contacto con el medio acuoso lo cual favorece la formación del gel y disminuye la velocidad de liberación del fármaco [34]. Muchos de los polímeros con capacidad de formar hidrogeles presentan ramificaciones y grupos sustituyentes unidos al esqueleto principal de su estructura. El grado de sustitución de los polímeros hidrófilos va a condicionar de igual manera la fuerza del hidrogel, y va a variar dependiendo del tipo de polímero empleado. Por ejemplo, matrices constituidas con HPMC con un grado de sustitución homogéneo a lo largo de su estructura van a propiciar la formación de hidrogeles menos estables que erosionan rápidamente. Esto se debe a que el grado de entrecruzamiento de las cadenas de HPMC será menor cuanto más homogéneo sea el patrón de sustituyentes [35].

Todas las características mencionadas previamente pueden no ser suficientes para retardar la liberación del principio activo el tiempo necesario que el comprimido necesita para llegar al colon. Además, muchos de los polímeros que se emplean en la fabricación de matrices hidrófilas son inestables a valores de pH bajos, como los que se alcanzan en el estómago, lo que puede comprometer la integridad de los comprimidos además de la del propio fármaco. Por esta razón, en el desarrollo de comprimidos matriciales de liberación colónica es muy común aplicar un recubrimiento protector capaz de hacer frente a las condiciones desfavorables de las partes más altas del tracto gastrointestinal. Este recubrimiento actúa como una barrera física entre el núcleo del comprimido y el medio y evita la temprana absorción y/o degradación del fármaco antes de alcanzar el colon [36]. Estos recubrimientos no solo protegen la integridad del comprimido, además pueden estar funcionalizados y actuar como un elemento extra que controle la liberación del fármaco desde la matriz. Existe una gran variedad de polímeros con

capacidad de formar películas sobre la superficie de los comprimidos, y dependiendo de su naturaleza pueden responder a diferentes estímulos. Una estrategia para dirigir la liberación de fármacos al colon es el empleo de polímeros de origen natural resistentes al ambiente ácido del estómago y capaces de resistir las enzimas intestinales, pero que una vez en el colon son degradados por las enzimas exclusivas de los microorganismos presentes en esta región [37]. Además de los polímeros de origen natural, los agentes de recubrimiento sintéticos también se utilizan ampliamente en la industria farmacéutica como recubrimientos peliculares para la liberación del principio activo en el colon. Entre ellos, se han utilizado particularmente agentes de revestimiento a base de polimetacrilato. Estos polímeros de recubrimiento son polímeros sintéticos catiónicos y aniónicos de metacrilatos de dimetilaminoetilo, ácido metacrílico y ésteres de ácido metacrílico en diferentes proporciones. Estos polímeros, también conocidos con el nombre comercial de Eudragit[®], se pueden usar solos o en combinación para alcanzar diferentes velocidades de liberación [38]. Los grupos carboxilo de estos compuestos permanecen sin ionizar a pH bajos, formando una película insoluble que impide la liberación del fármaco, pero que se disuelve por la formación de sales a pH más elevados [39,40]. Otros derivados de estos compuestos presentan amonios cuaternarios en su estructura que les confieren cierta hidrofilia. Estos metacrilatos son insolubles pero permeables, permitiendo el paso de pequeñas moléculas. Estos derivados se comportan como una capa extra de hidrogel que va a controlar la salida del principio activo desde el interior de la matriz hinchada por la entrada de medio, y son capaces de lograr una liberación controlada y sostenida del fármaco durante largos períodos de tiempo [41].

Actualmente dentro del marco de la legislación vigente para la aprobación de nuevos medicamentos se exige que el desarrollo de los mismos garantice la calidad del producto final. En los últimos años, las herramientas para comprender la fuente de variabilidad en el desarrollo farmacéutico se han vuelto de gran interés para controlar y evaluar la calidad de los productos desarrollados. Tradicionalmente, el desarrollo de nuevos medicamentos evalúa la calidad sometiendo a un control los productos una vez fabricados sin contemplar las etapas de fabricación, así como los riesgos que comprometen la calidad del producto. Este enfoque lleva al establecimiento de controles de calidad a posteriori rígidos e inflexibles que implican que cualquier cambio en el proceso de desarrollo debe ser revisado, reevaluado y finalmente re-aprobado de nuevo por el sistema regulatorio correspondiente, aumentando considerablemente los tiempos y costes de producción [42]. La Conferencia Internacional de Armonización (ICH) en respuesta a estas limitaciones publicó una serie de directrices que sirviesen como guía para el desarrollo de medicamentos y recogiesen los requisitos técnicos para el registro de productos farmacéuticos de uso humano. Las guías Q8 “Pharmaceutical Development” y Q9 “Quality Risk Management” describen un enfoque científico para el desarrollo de productos farmacéuticos y la gestión de riesgos para garantizar la calidad del producto final. La guía Q10 “Quality Systems”, describe a su vez un sistema de gestión de calidad eficaz para ser implementado en la industria farmacéutica y biotecnológica [43–45].

En la directriz ICH Q8R2, Calidad por Diseño se define como “El enfoque sistemático para el desarrollo que comienza con objetivos predefinidos y enfatiza el conocimiento del producto y el entendimiento y control del proceso, basándose en ciencia sólida y gestión de riesgos de calidad” [43]. Los principios de QbD establecen una metodología de trabajo que permite implantar un control de riesgos sobre las diferentes variables que intervienen tanto en los materiales como en los procesos de desarrollo, asegurando la calidad del producto final [43,46]. La Calidad por Diseño se centra en un amplio conocimiento del producto, las materias primas y los procesos de fabricación en un esfuerzo por construir la calidad en lugar de controlarla a

posteriori [47]. Para mantener la calidad durante toda la vida útil del desarrollo del producto es necesario identificar, corregir y contener los posibles riesgos asociados con el proceso de fabricación. La guía ICH Q9 define como riesgo una combinación de la posibilidad de daño que cualquier factor implicado en el proceso de desarrollo y fabricación puede causar sobre el producto final, afectando su calidad, eficacia y / o seguridad. Esta guía proporciona las herramientas necesarias para llevar a cabo una gestión de riesgos, identificando y controlando los riesgos potenciales asociados al proceso de desarrollo [44].

En base a estas directrices basadas en los principios de Calidad por Diseño se elaboraron también las guías Q11 y Q12, que describen el desarrollo y fabricación de principios activos farmacéuticos y la gestión del ciclo de vida de productos farmacéuticos respectivamente, además de la guía Q13 sobre la regulación, desarrollo, implementación y gestión de la fabricación en continuo de medicamentos, y la guía Q14, que describe el desarrollo de procedimientos analíticos así como la revisión de la validación analítica descrita en la guía ICH Q2 (R1). [48–50]. La guía Q15 sobre control de impurezas se encuentra actualmente en desarrollo.

Teniendo en cuenta todas las premisas expuestas previamente, el objetivo general de esta tesis es desarrollar comprimidos matriciales recubiertos para la liberación en el colon de metronidazol para el tratamiento de la diverticulitis no complicada bajo un enfoque de trabajo de Calidad por Diseño. Se establecieron los siguientes objetivos:

El primer objetivo ha sido realizar una búsqueda bibliográfica exhaustiva sobre los diferentes materiales y las últimas estrategias tecnológicas para la elaboración de formas farmacéuticas de liberación colónica.

El segundo objetivo ha sido diseñar una forma farmacéutica de liberación colónica de metronidazol basada en comprimidos matriciales recubiertos para el tratamiento de la diverticulitis no complicada, bajo los principios de Calidad por Diseño (QbD).

El tercer objetivo ha sido diseñar el proceso tecnológico para la obtención de comprimidos matriciales recubiertos de liberación colónica teniendo en cuenta los factores críticos implicados en el proceso, resultantes del análisis y la evaluación de riesgos correspondientes, con el fin de detectar aquellos que suponen un riesgo real que haga peligrar los objetivos planteados previamente en el perfil de calidad (QTPP).

El cuarto objetivo ha sido elaborar comprimidos matriciales recubiertos siguiendo un Diseño de Experimentos (DoE), realizar la caracterización y evaluación de los comprimidos fabricados, estudiar el impacto de los factores de riesgo mediante un análisis estadístico y establecer un Espacio de Diseño que recoja las variables estudiadas.

El quinto objetivo ha sido optimizar una red neuronal artificial, como alternativa al análisis multivariante, que permita predecir la liberación de metronidazol desde las formas farmacéuticas desarrolladas, utilizando como variables de entrada en la red las variables tecnológicas seleccionadas para el Diseño de Experimentos.

El sexto y último objetivo planteado ha sido predecir el comportamiento *in vivo* de las formulaciones desarrolladas mediante la realización de simulaciones a partir de los perfiles de disolución *in vitro* empleando un modelo ADAM (Advance Dissolution Absorption Model), integrado en la plataforma Simcyp®.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] N.S. Painter, D.P. Burkitt, Diverticular Disease of the Colon: A Deficiency Disease of Western Civilization, *Br. Med. J.* 2 (1971) 450–454. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.5759.450>.
- [2] M. Camilleri, R.S. Sandler, A.F. Peery, Etiopathogenetic Mechanisms in Diverticular Disease of the Colon, *Cmgh.* 9 (2020) 15–32. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2019.07.007>.
- [3] A.J. Yun, K.A. Bazar, P.Y. Lee, A new mechanism for diverticular diseases: Aging-related vagal withdrawal, *Med. Hypotheses.* 64 (2005) 252–255. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2004.07.010>.
- [4] D. Humes, R. Spiller, Diverticular disease, *Med. (United Kingdom).* 47 (2019) 424–427. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2019.04.005>.
- [5] S. Jun, N. Stollman, Epidemiology of diverticular disease, *Bailliere's Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 16 (2002) 529–542. <https://doi.org/10.1053/bega.2002.0328>.
- [6] J.G. Touzios, E.J. Dozois, Diverticulosis and Acute Diverticulitis, *Gastroenterol. Clin. North Am.* 38 (2009) 513–525. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2009.06.004>.
- [7] W. Bugiantella, F. Rondelli, M. Longaroni, E. Mariani, A. Sanguinetti, N. Avenia, Left colon acute diverticulitis: An update on diagnosis, treatment and prevention, *Int. J. Surg.* 13 (2015) 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.ijvs.2014.12.012>.
- [8] C. Ünlü, L. Daniels, B.C. Vrouenraets, M.A. Boermeester, A systematic review of high-fibre dietary therapy in diverticular disease, *Int. J. Colorectal Dis.* 27 (2012) 419–427. <https://doi.org/10.1007/s00384-011-1308-3>.
- [9] A.F. Peery, A. Shaukat, L.L. Strate, AGA Clinical Practice Update on Medical Management of Colonic Diverticulitis: Expert Review, *Gastroenterology.* 160 (2021) 906-911.e1. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.09.059>.
- [10] L.L. Strate, A.M. Morris, Epidemiology, Pathophysiology, and Treatment of Diverticulitis, *Gastroenterology.* 156 (2019) 1282-1298.e1. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.12.033>.
- [11] A. Tursi, Efficacy, safety, and applicability of outpatient treatment for diverticulitis, *Drug. Healthc. Patient Saf.* 6 (2014) 29–36. <https://doi.org/10.2147/DHPS.S61277>.
- [12] S. Biondo, T. Golda, E. Kreisler, E. Espin, F. Vallribera, F. Oteiza, A. Codina-Cazador, M. Pujadas, B. Flor, Outpatient versus hospitalization management for uncomplicated diverticulitis: A prospective, multicenter randomized clinical trial (DIVER trial), *Ann. Surg.* 259 (2014) 38–44. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e3182965a11>.
- [13] A. Tursi, S. Papagrorgoriadis, Review article: The current and evolving treatment of colonic diverticular disease, *Aliment. Pharmacol. Ther.* 30 (2009) 532–546. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04072.x>.
- [14] J. Martín Gil, D. Serralta De Colsa, A. García Marín, A. Vaquero Rodríguez, C. Rey Valcárcel, M.D. Pérez Díaz, M. Sanz Sánchez, F. Turégano Fuentes, Eficiencia y seguridad del tratamiento ambulatorio de la diverticulitis aguda, *Gastroenterol. Hepatol.* 32 (2009) 83–87. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2008.10.005>.

- [15] V.R. Sinha, R. Kumria, Polysaccharides in colon-specific drug delivery, *Int. J. Pharm.* 224 (2001) 19–38. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(01\)00720-7](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00720-7).
- [16] S. Amidon, J.E. Brown, V.S. Dave, Colon-Targeted Oral Drug Delivery Systems: Design Trends and Approaches, *AAPS PharmSciTech.* 16 (2015) 731–741. <https://doi.org/10.1208/s12249-015-0350-9>.
- [17] H.L. Quinn, C.M. Hughes, R.F. Donnelly, Novel methods of drug administration for the treatment and care of older patients, *Int. J. Pharm.* 512 (2016) 366–373. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.01.050>.
- [18] A. Bak, M. Ashford, D.J. Brayden, Local delivery of macromolecules to treat diseases associated with the colon, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 136–137 (2018) 2–27. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.10.009>.
- [19] V. Bansal, R. Malviya, T. Malaviya, P.K. Sharma, Novel prospective in colon specific drug delivery system., *Polim. Med.* 44 (2014) 109–118.
- [20] R. Arévalo-Pérez, C. Maderuelo, J.M. Lanao, Recent advances in colon drug delivery systems, *J. Control. Release.* 327 (2020) 703–724. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.09.026>.
- [21] A.C.D. Recife, A.B. Meneguín, B.S.F. Cury, R.C. Evangelista, Evaluation of retrograded starch as excipient for controlled release matrix tablets, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 40 (2017) 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2017.06.003>.
- [22] F. Ullah, M.B.H. Othman, F. Javed, Z. Ahmad, H.M. Akil, Classification, processing and application of hydrogels: A review, *Mater. Sci. Eng. C.* 57 (2015) 414–433. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.07.053>.
- [23] D.A. Gyles, L.D. Castro, J.O.C. Silva, R.M. Ribeiro-Costa, A review of the designs and prominent biomedical advances of natural and synthetic hydrogel formulations, *Eur. Polym. J.* 88 (2017) 373–392. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.01.027>.
- [24] C. Maderuelo, A. Zarzuelo, J.M. Lanao, Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices, *J. Control. Release.* 154 (2011) 2–19. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.04.002>.
- [25] M. Helin-Tanninen, Joao Pinto, Oral Solids, in: Y. Bouwman-Boer, V. Fenton-May, P. Le Brun (Eds.), *Pract. Pharm.*, 5th ed., Springer, 2015: pp. 51–75. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-15814-3>.
- [26] K. Ofori-Kwakye, K.A. Mfoafo, S.L. Kipo, N. Kuntworbe, M. El Boakye-Gyasi, Development and evaluation of natural gum-based extended release matrix tablets of two model drugs of different water solubilities by direct compression, *Saudi Pharm. J.* 24 (2016) 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.005>.
- [27] F. Zhang, F. Meng, J. Lubach, J. Koleng, N.A. Watson, Properties and mechanisms of drug release from matrix tablets containing poly(ethylene oxide) and poly(acrylic acid) as release retardants, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 105 (2016) 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.05.024>.
- [28] J. Li, C. Luo, D. Zhang, M. Li, Q. Fu, Z. He, Formulation and development of ternary hybrid matrix tablets of diltiazem hydrochloride, *Powder Technol.* 294 (2016) 66–70. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2016.02.017>.

- [29] M.R. Siah-Shadbad, K. Asare-Addo, K. Azizian, D. Hassanzadeh, A. Nokhodchi, Release Behaviour of Propranolol HCl from Hydrophilic Matrix Tablets Containing Psyllium Powder in Combination with Hydrophilic Polymers, *AAPS PharmSciTech.* 12 (2011) 1176–1182. <https://doi.org/10.1208/s12249-011-9687-x>.
- [30] A.K. Jain, E. Söderlind, A. Viridén, B. Schug, B. Abrahamsson, C. Knopke, F. Tajarobi, H. Blume, M. Anshütz, A. Welinder, S. Richardson, S. Nagel, S. Abrahmsén-Alami, W. Weitschies, The influence of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) molecular weight, concentration and effect of food on in vivo erosion behavior of HPMC matrix tablets, *J. Control. Release.* 187 (2014) 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.04.058>.
- [31] H.D. Williams, R. Ward, A. Culy, I.J. Hardy, C.D. Melia, Designing HPMC matrices with improved resistance to dissolved sugar, *Int. J. Pharm.* 401 (2010) 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.09.009>.
- [32] S. Mitchell A., K. Balwinski M., A Framework to Investigate Drug Release Variability Arising From Hypromellose Viscosity Specifications in Controlled Release Matrix Tablets, *J. Pharm. Sci.* 97 (2008) 2277–2285. <https://doi.org/10.1002/jps.21145>.
- [33] M. Ghimire, L.A. Hodges, J. Band, B. O'Mahony, F.J. McInnes, A.B. Mullen, H.N.E. Stevens, In-vitro and in-vivo erosion profiles of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) matrix tablets, *J. Control. Release.* 147 (2010) 70–75. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.06.015>.
- [34] H.S.M. Ali, A.F. Hanafy, S.N. El Achy, Tailoring the mucoadhesive and sustained release characteristics of mesalamine loaded formulations for local treatment of distal forms of ulcerative colitis, *Eur. J. Pharm. Sci.* 93 (2016) 233–243. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.08.008>.
- [35] D. Caccavo, G. Lamberti, A.A. Barba, S. Abrahmsén-Alami, A. Viridén, A. Larsson, Effects of HPMC substituent pattern on water up-take, polymer and drug release: An experimental and modelling study, *Int. J. Pharm.* 528 (2017) 705–713. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.06.064>.
- [36] S. Sharma, K. Jyoti, R. Sinha, A. Katyal, U.K. Jain, J. Madan, Protamine coated proliposomes of recombinant human insulin encased in Eudragit S100 coated capsule offered improved peptide delivery and permeation across Caco-2 cells, *Mater. Sci. Eng. C.* 67 (2016) 378–385. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.010>.
- [37] A. Maroni, M.D. Del Curto, L. Zema, A. Foppoli, A. Gazzaniga, Film coatings for oral colon delivery, *Int. J. Pharm.* 457 (2013) 372–394. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.05.043>.
- [38] C.N. Patra, R. Priya, S. Swain, G. Kumar Jena, K.C. Panigrahi, D. Ghose, Pharmaceutical significance of Eudragit: A review, *Futur. J. Pharm. Sci.* 3 (2017) 33–45. <https://doi.org/10.1016/j.fjps.2017.02.001>.
- [39] H. Bando, J.W. McGinity, Relationship between drug dissolution and leaching of plasticizer for pellets coated with an aqueous Eudragit® S100:L100 dispersion, *Int. J. Pharm.* 323 (2006) 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.05.043>.
- [40] C. Gao, J. Huang, Y. Jiao, L. Shan, Y. Liu, Y. Li, X. Mei, In vitro release and in vivo absorption in beagle dogs of meloxicam from Eudragit® FS 30 D-coated pellets, *Int. J. Pharm.* 322 (2006) 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.05.035>.

- [41] T. Rongthong, T. Pongjanyakul, Quaternary polymethacrylate–magnesium aluminum silicate film formers: Stability studies for tablet coatings, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 62 (2021) 102389. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102389>.
- [42] L.X. Yu, Pharmaceutical quality by design: Product and process development, understanding, and control, *Pharm. Res.* 25 (2008) 781–791. <https://doi.org/10.1007/s11095-007-9511-1>.
- [43] International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, ICH guideline Q8 on Pharmaceutical Development, *Eur. Med. Agency.* 8 (2009) 1–28.
- [44] International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, ICH guideline Q9 on Quality Risk Management, *Eur. Med. Agency.* 44 (2014) 1–20. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002873.pdf.
- [45] International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, ICH guideline Q10 on Pharmaceutical Quality System, *Eur. Med. Agency.* 44 (2015) 1–20. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002871.pdf.
- [46] K. Pramod, Ma. Tahir, N. Charoo, S. Ansari, J. Ali, Pharmaceutical product development: A quality by design approach, *Int. J. Pharm. Investig.* 6 (2016) 129. <https://doi.org/10.4103/2230-973x.187350>.
- [47] A.S. Rathore, H. Winkle, *commentary* Quality by design for biopharmaceuticals, 27 (2009).
- [48] International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, ICH guideline Q11 on Development and Manufacture of Drug Substances, *Eur. Med. Agency.* 224 (2012) 69634–5. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000354.jsp&mid=WC0b01ac0580028bfd.
- [49] International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, ICH guideline Q12 on Technical and Regulatory Considerations for Pharmaceutical Product Lifecycle Management, *Eur. Med. Agency.* 12 (2020). www.ema.europa.eu/contact.
- [50] International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, ICH guideline Q13 on Continuous Manufacturing of Drug Substances and Drug Products, *Eur. Med. Agency.* 31 (2021). www.ema.europa.eu/contact.

CAPÍTULO 2

Recent advances in colon drug delivery systems

Roberto Arévalo Pérez, Cristina Maderuelo, José M. Lanao

Journal of Controlled Release, 327 (2020) 703-724

Recent advances in colon drug delivery systems

Roberto Arévalo-Pérez ^a, Cristina Maderuelo ^a, José M. Lanao ^{a,b}

^aPharmaceutical Sciences Department - Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, C/ Licenciado Méndez Nieto s/n., 37007 Salamanca, Spain.

^bInstituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Paseo de San Vicente, 58-182, 37007 Salamanca. Spain

ABSTRACT

As a result of its ability to target certain drugs and/or peptides to the colonic region for the treatment of several diseases while avoiding systemic absorption and potential side effects, colon drug delivery has become a field of research of growing interest. Developing new pharmaceutical formulations capable of reaching the colon requires a broad knowledge of natural and synthetic/semisynthetic polymers. Chitosan, polyethylene-oxide, Hydroxypropyl methylcellulose, pectin, natural gums, alginates and polymethacrylates have shown promise when applied in the development of colon drug delivery systems, which range from classic formulation strategies such as tablets and capsules to more sophisticated approaches like nanosystems and integrated osmotic-like formulations. This work aims to bring together knowledge regarding the materials and processes used in the development of such pharmaceutical formulations, as well as to highlight recent advances in the field.

R. Arévalo-Pérez, C. Maderuelo, J.M. Lanao, Recent advances in colon drug delivery systems, *J. Control. Release.* 327 (2020) 703–724. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.09.026>.

CAPÍTULO 3

**Quality by Design Risk Analysis
approach to develop coated matrix
tablets for colonic release**

Diverticular disease is a gastrointestinal asymptomatic disorder produced by the herniation of the colon walls through the muscular layers, forming little sacs that eventually can be filled with faecal content. This event might cause faecal stasis, ischemia and ultimately the infection and inflammation of the diverticular pouch, becoming diverticulitis. Depending on the severity and area of the infected injury, diverticulitis can appear in different grades. Acute non-complicated diverticulitis is commonly treated as an outpatient with dietary changes and oral administration of antibiotics, and has proven to reduce acute diverticulitis symptomatology.

Oral administration is the preferred route to treat numerous diseases, because it is non-invasive, and its simplicity and effectiveness make it the most comfortable method of administration for patients. Some diseases like acute diverticulitis can be treated in a local way, avoiding systemic distribution and consequently reducing potential unwanted side effects. Targeting the colon has become an important research field in the past few years, and multiple strategies have been followed to achieve this objective. One of the most promising strategies is the development of matrix tablets capable of reaching the colon avoiding the strong varying conditions of the upper gastrointestinal tract. Matrix tablets are made of hydrophilic polymers which form an entangled structure in contact with water capable of controlling drug release. These systems are usually protected from low stomach pH values with a layer of coating which can be functionalised, either by responding to pH changes or by controlling drug release in a time-dependent way.

Over the past few years, tools to understand the source of variability in pharmaceutical development have become of great interest in order to control and assess the quality of the developed products. Traditionally, Quality by Testing (QbT) focused the efforts of ensuring quality on testing the products once they're manufactured. In this framework, manufacturing problems and risks threatening product quality are not completely understood, thus leading to the setting of rigid inflexible quality controls. This means that any change in the development process should be reviewed, retested and finally re-approved by the regulatory system, which is time-consuming and costly. Also, as every product is tested equally without taking into account any differences that might present, many resources are spent reviewing low-risk products to the detriment of high risk products, which do not receive enough attention. As a response to all of these problems, the International Conference of Harmonization (ICH) guidelines were published: Q8 Pharmaceutical Development and Q9 Quality Risk Management, which describe a scientific approach to pharmaceutical product development and risk management to ensure final product quality, and Q10 Quality Systems Approach to cGMP Regulations guideline, describing an effective quality management system to be implemented in the pharmaceutical and biotech industries.

In the ICH Q8R2 guideline, Quality by Design is defined as "a systematic approach to development that begins with predefined objectives and emphasizes product and process understanding and process control, based on sound science and quality risk management". QbD principles set the work process under a previously defined Quality Target Product Profile. It establishes risk controls regarding the different variables affecting both the materials and development processes, ensuring the quality of the final product. In contrast with QbT, Quality by Design focuses on a wide knowledge of the product, raw materials and manufacturing processes in an effort to build quality instead of testing it.

In order to maintain the quality throughout the whole product development lifetime it is necessary to identify, correct and contain the possible risks associated with the manufacturing process. Risk can be defined as a combination of the possibility and the damage any harm the developed product can cause which may affect its quality, efficacy and/or safety. The ICH Q9

guideline provides the tools necessary to carry out risk management, identifying and controlling potential risks associated with the development process.

The objective of this work was to fully develop a quality risk management procedure in the framework of a QbD approach to produce colon drug delivery coated matrix tablets to treat acute diverticulitis. After defining the desired characteristics of the coated matrix tablets for colon-specific delivery, the potential risk factors were established through Risk Analysis and Risk Evaluation based on pre-formulation data and general scientific knowledge, which required a full study of the drug of choice and polymers, as well as a full understanding of the entire manufacturing process. Based on this study, an experimental design will be proposed to test different combinations of risk factors that will ultimately lead to the setting of a Design Space.

A Quality Target Product Profile (QTPP) of the developing formulation was defined and it can be briefly described it follows: metronidazole oral controlled release coated matrix tablets. All data obtained from the analysis certificates of both metronidazole and polymers intended to be used in the formulation were studied to determine which Critical Material Attributes (CMAs) could potentially become a risk to the final product. Additionally, all necessary data that wasn't provided in the delivered documentation (such as bulk density, compact density, flowability, compatibility and residual humidity) were studied experimentally. Also, all development process steps were analysed one by one as Critical Process Parameters (CPPs) and presented in an Ishikawa Diagram. Final product Critical Quality Attributes (CQAs) were determined based on critical parameters that could *a priori* have an impact over the QTPP. A colour code was used to classify the CMAs and CPPs impact on final product CQAs:

- Green:** low risk
- Yellow:** medium Risk
- Red:** High risk

A Risk Evaluation to quantify the risk was considered. A Failure Mode Effective Analysis was carried out using a 1-5 scale, being 1 a less likely risk, with low severity and high detectability; and 5 a very high probability and severity risk, and a low detectability. The Risk Priority Number (RPN) was obtained multiplying the Probability (P), Severity (S) and Detectability (D) values:

$$RPN = P \times S \times D$$

The critical points taken into consideration for the Design of Experiments to establish the Design Space were those with a RPN score greater than 30.

Risk Analysis and Risk Evaluation allowed determining which different material properties (CMAs) and process parameters (CPPs) could suppose a high risk to achieve the objectives of quality, security and efficacy considered on the QTPP. Based on the results, a Design of Experiments (DoE) could be settled in an attempt to describe the different multidimensional interactions between CMAs and CPPs. The Design Space will be defined by the ensemble of CMAs-CPPs combination that guaranties the profile gathered in the QTPP.

CAPÍTULO 4

Development and evaluation of coated matrix tablets for colonic release under Quality by Design (QbD)

Coated matrix tablets have shown promising results in targeting drug release in the colon. Matrix tablets form an entangled structure (gel) when they come in contact with an aqueous medium, modulating the release rates of the tablet drug content. However, this approach is frequently not sufficient to avoid drug release in the upper parts of the gastrointestinal tract, thus requiring other technological procedures to ensure colonic drug release. Film forming polymers can achieve a sustained or controlled drug release when they are applied to classic matrix tablets. Coating polymers form a physical barrier between the matrix tablet core and the surrounding medium, acting as a release trigger when they are subjected to different conditions (pH changes, swelling, biodegradation by colonic microorganisms etc.). Colon diseases associated with microorganism infections such as ulcerative colitis or diverticulitis can take advantage of a local release of antibiotics at the site of the infection in order to avoid systemic absorption. Metronidazole is a synthetic nitroimidazole with activity against anaerobic bacteria. It is one of the antibiotics of choice to treat non-invasive diverticulitis, with a posology of 500 mg every 8 h. Administered orally, metronidazole has shown absorption of almost 100 % along the gastrointestinal tract, which prevents it from reaching the colon. Colon drug delivery systems development has been under research with new materials and technologies to deliver drug release at the last segment of the gastrointestinal tract being investigated. Among them, tablets made of hydrophilic polymers coated with gastro-resistant polymers have shown great results in achieving colon drug release. Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and chitosan (CH) are both hydrophilic polymers frequently used in the development of matrix tablets due to their ability to form thick hydrogels capable of controlling drug release in a sustained way. Polymers derived from methyl acrylate esters, often referred to by the commercial name Eudragit[®], are film forming polymers whose chemical structure can be modified to resist degradation at low pH levels. These polymers, when applied onto tablets can act as a protective barrier against the aggressive acidic stomach environment, delaying drug release to lower parts of the gastrointestinal tract, such as the colon. Releasing the greatest amount of metronidazole in the colon might help to treat diverticulitis infections in a local way, avoiding its absorption and thus preventing potential side effects associated with metronidazole.

The easiest and most cost-effective way to obtain matrix tablets is by direct compression, which is a robust, reproducible, well-known manufacturing process to obtain solid oral formulations. The simplicity of this two-step process has made it a perfect candidate to obtain tablets in an industrial way. However, despite the simplicity of the direct compression process, there are still multiple variables subject to change that must be kept under control to avoid a loss in the quality, efficacy and security of the developed tablets. Coating processes as well involve multiple variables that must be adjusted to obtain films capable of protecting the drug content as well as showing an appealing look for patients. Traditionally, pharmaceutical products obtained from manufacturing processes must undergo quality control tests describing the product specifications. If the product fails to meet such specifications it is rejected for regulatory questions. Changes in the manufacturing process to correct or update products out of specifications frequently require new approvals from the administration, which represent time and cost consuming situations. The Quality by Design (QbD) methodology was introduced to overcome the limitations of traditional manufacturing processes. QbD sets up a previously defined workspace to achieve a design space where the quality, security and efficacy fulfil the Quality Target Product Profile described in the first place. Design of Experiments (DoE) is the tool employed to test and combine the different factors involving the product final quality. DoE is used to evaluate the impact of high risk factors in order to gain greater understanding of the process, which will lead to the development of a proper control strategy. DoE helps by

evaluating the effects of different input variables over the final product response, choosing the most informative combination of factors and minimizing the number of performed experiments. The results of the experimental combination of factors performed from the DoE will establish a Design Space. A Design Space can be defined as the multidimensional interaction of input factors (either critical material attributes or critical process parameters) that have proven to ensure the final product quality. On a regulatory basis, working within Design Space established parameters will not require revision or new approval as it is not considered a change in the process.

Based on the Risk Analysis and Risk Evaluation results obtained in the previous chapter, a Design of Experiments (DoE) was developed describing the different multidimensional interactions between the Critical material Attributes (CMAs) and the Critical process parameters (CPPs), which resulted in a total of 28 batches with different combination of factors to test. The DoE, based on factorial analysis, was designed using Minitab[®]18 software and it included five factors with two levels for each factors and a central point. Batches of matrix tablets with different proportions of HPMC and CH were produced by direct compression over a Bonals[®] compression machine. The resulting matrix tablets were coated with Eudragit[®] polymers in an Erweka[®] coating pan.

All batches developed were subject of a rheological and technological characterization that highlighted the good reproducibility characteristics of the tablets produced. A dissolution test was performed over 6 randomly chosen tablets from each batch developed. Dissolution tests were conducted over an Erweka[®] dissolution test apparatus, using USP paddle method at 50 rpm and 900 ml of dissolution medium at 37 °C and pH 7.2. Samples of 1 ml each were picked the first hour and then every 2 hours during 24 hours. All samples were measured using a UV-Visible spectrophotometer in a 1 mm length tray at a wavelength of 320 nm.

Release dissolution profiles were subject to estimation equations which described the drug release behaviour from the matrix tablets as a function of time. A set of four models were proposed for the kinetic analysis of the drug release profile curves obtained *in vitro*: zero order, first order, Korsmeyer-Peppas model and Weibull model. Curve fitting of each dissolution curve was performed by weighted non-linear regression. The kinetic study of the drug release profiles helped to understand the mechanism by which metronidazole is released from the coated tablets.

Using Minitab[®]18 software, an ANOVA regression analysis was performed to determine the effect of each CMA and CPP included in the DoE over the tablets responses. The regression equations obtained from the ANOVA analysis were used as an algebraic representation of the model that describes the relationship between the factors and the different responses. A Design Space was settled describing a framework space in which the variations of the factors with a statistically significant impact over the different responses studied achieve the goals proposed in the QTPP. The Design of Experiments implemented under the Quality by Design methodology helps to optimize the development process of colon release coated tablets, considering the factors that could have a potential impact on the final Quality Target Product Profile

CAPÍTULO 5

Optimization of sustained release kinetics of metronidazole using artificial neural networks

The artificial neuron is a mathematical model designed using the artificial neuron as a model which allows us to simulate complex systems. The basic mathematical elements in this artificial neuron are the inputs or stimuli of the system, the so-called synaptic weights which will establish the contribution of each input variable to the neuron's response, and that we will mathematically compute as a sum of weighted stimuli plus a bias term, and an activation function, which is used to calculate the response of the neuron. The summation of the weighted inputs is associated with the activation function to generate the response of the neuron. There are different types of activation functions but the sigmoid, hyperbolic tangent and rectified linear (ReLU) functions are the most common. An artificial neural network is made up of networks of interconnected neurons, with at least one input layer, one output layer and one or more hidden layers. Network learning, also known as Deep Learning, is performed by modifying the structure of the network or by optimizing synaptic weights through iterative algorithms such as Newton's methods, among others.

Neural networks based on artificial intelligence are a common simulation tool in many scientific fields. In the area of pharmaceutical development, neural networks and other artificial intelligence methods have been used throughout the process: from the early stages of Drug Discovery to the stages of clinical research, and on through the stages of pharmaceutical development. In the field of pharmaceutical technology, an increase in the use of artificial neural networks has been observed in recent years. Thus, for example, artificial neural networks have been used in the optimization of minitables formulations, in the optimization of continuous granulation processes, in predicting the size and polydispersity index of polymeric nanoparticles and in generating design spaces in order to obtain bioequivalent products in the framework of studies carried out under the principles of quality by design (QbD), among many other applications.

The aim of this chapter was to develop a neural network for the optimization of metronidazole release kinetics in the colon from controlled-release, coated tablets. In this work, an artificial neural network based on an approximation model was used. The approximation model considered the problem of fitting a function from the data. The system works with input and target variables, with a specification of the response to the inputs being the targets.

Neural Designer is a machine learning software that allows the design and optimization of artificial neural networks. The software allows designing artificial neural networks with multiple layers of non-linear processing (Neural designer 2015). This software can conduct a training error step that measures the ability of the neural network to fit the data, and a selection error step that measures the ability of the artificial neural network to generalize new data. The training strategy is applied to the artificial neural network in order to minimize the error. The iterative quasi-Newton method was used for training the artificial neural network. The errors statistics measure the minimums, maximums, means and standard deviations of the errors between the output values generated by the neural network and the real output data. The predictive capacity of the neural network was determined by comparing the neural network outputs against the experimental target values using linear regression analysis.

Input and output variables showed a good correlation. The predictive capacity of the optimized neural network was excellent which shows the very good correlation obtained for all the observed and predicted values of the variables used as the response of the neural network with a slope value close to unity for the equation and a correlation coefficient > 0.9 .

In conclusion, the artificial neural network constitutes a valuable alternative tool to conventional statistical analysis for the analysis of results obtained in studies carried out under the principles of quality by design (Qbd). One of the advantages of the neural network, similar

to other mathematical models, is the ability to predict the behaviour of the system when there are changes in the input variables. The neural network allows for the evaluation of how the outputs vary as a function of a single input when all the others are fixed.

CAPÍTULO 6

**Simulation of the biopharmaceutical
and pharmacokinetic behaviour of
metronidazole from coated matrix
tablets for colonic release**

Biopharmaceutical simulation tools can help to predict drug release and *in vivo* absorption behaviours from the results of *in vitro* tests, and their use has gained relevance in recent years in the development of new formulations, being increasingly requested in the registration processes of new drug products by the different regulatory agencies. Many of these tools are based on what are known as “physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) models”. These are mechanistic models that combine the physical-chemical information of the active principle and the experimental data generated *in vitro* during the preclinical phases of development with demographic data, physiological and genetic information from different patient populations to predict parameters and pharmacokinetic profiles *in vivo*. Although most of the PBPK modelling focuses on the evaluation of potential drug-drug interactions, these tools can also integrate information related to the pharmaceutical formulation and the gastrointestinal (GI) system dynamics to predict oral drug absorption, which, among other preclinical data on drug disposition, can be used to predict serum concentrations versus time.

The Simcyp[®] population-based platform is a mechanistic PBPK modelling tool which combines demographic, physiological and genetic information of different patient populations with preclinical drug experimental data obtained *in vitro* to predict *in vivo* pharmacokinetics (PK) parameters and profiles. The Advanced Dissolution Absorption Model (ADAM) implemented in Simcyp[®] takes into account the variability of different physiological processes affecting oral bioavailability such as gastric emptying, GI transit times, GI pH, bile salt concentrations, fluid dynamics, intestinal blood flow, fasted-fed status and diverse enzymes and gut transporters.

Pathologies associated with the last segment of the gastrointestinal tract have been proven to be better treated in a local way rather than via systemic absorption. Colon drug delivery systems have gained interest over the past few years due to the advantages they provide in treating certain diseases at the colon, which also represents the optimal site of absorption for several peptides and proteins. The main goal of colon drug delivery systems is to avoid early absorption or degradation of drugs and proteins, ensuring the maximum dose release at the colon. This approach presents several advantages: treating the disease in a local way avoids systemic absorption of the drug and thus decreases the potential side effects associated with the treatment. The development of hydrophilic matrices is one of the most widely used technological strategies when it comes to achieving drug release in the colon thanks to the robustness of the method for obtaining tablets, as well as the safety, efficacy and acceptance by patients of these types of formulations. To achieve a colon drug release, many matrix tablets are coated with polymers derived from methacrylic acid, known under the trade name Eudragit[®], which are capable of forming a film that acts as a physical barrier between the medium and the core of the tablet, which will react in the presence of specific conditions of the GI tract. Depending on the nature of these polymers, it is possible to modulate the rate of drug release. Thus, pH-dependent polymers respond to a change in the pH of the medium, while time-dependent polymers respond to contact with the aqueous medium, forming a gelled layer that allows a sustained and controlled release of the drug, avoiding a burst effect. Drug delivery systems developed to target the colon present a potential benefit to treating infections in the colon where pathogen bacteria reside, minimizing systemic absorption and reducing side effects associated with antibiotics. Metronidazole is an antiprotozoal drug, which is part of the nitrimidazole group, frequently used as an antibiotic to treat a wide range of infections associated with anaerobic microorganisms. It is the first choice of antibiotic to treat colonic infection of *Clostridium difficile*, but has also proven to be successful in the treatment of other

colon pathologies involving anaerobic microorganisms, such as those present in uncomplicated diverticulitis disease. In this work, we used the Simcyp[®] Simulator software to predict the effect on *in vivo* drug release from data obtained *in vitro* of coated matrix tablets developed to release their content in the colon to ameliorate uncomplicated diverticulitis. We decided to use the ADAM model to predict biopharmaceutical and pharmacokinetic behaviours of the model drug, metronidazole, from hydrophilic matrices coated with different polymers using the dissolution data obtained *in vitro*.

The Simcyp[®] Simulator (V18.1; Certara, Sheffield, UK) was used to build a full PBPK model employing the advanced dissolution, absorption and metabolism (ADAM) model to predict drug behaviour *in vivo*, using population data compiled within the Simcyp[®] software, the physicochemical properties of metronidazole, and experimental *in vitro* drug dissolution data. The Advanced Dissolution Absorption Model (ADAM) implemented in Simcyp[®] recreates the succession of events representing drug absorption in the human gastrointestinal tract, which it is divided into nine anatomically well differentiated segments from the stomach to the colon and through the small intestine. Drug absorption at each segment can be described as a function of release, depending on many different factors involving the physiology of the gastrointestinal tract (gastric emptying, transit times, luminal pH, fluid dynamics, gut wall enzymes and transporters, intestinal blood flow, food effect), drug-related factors (solubility, luminal degradation, permeability, gut wall metabolism and gut wall transport) and formulation factors (drug particle size and formulation type).

Metronidazole physicochemical properties were obtained from the literature. Blood-to-plasma partition ratio is predicted by the software using the values of plasma pH, haematocrit (%) and f_u (fraction unbound in plasma). Metronidazole aqueous solubility is greatly affected by the pH of the medium. Metronidazole is a weak base ionizable at low pH values below its pK_a , thereby making it soluble in aqueous medium conditions. ADAM model regional permeability for each segment of the gastrointestinal tract was predicted by the software. However, effective permeability for the colon was introduced manually as reported in the literature. Mean residence times (MRT) at each segment of the gastrointestinal tract are calculated by the software considering the formulation as a monolithic control released tablet. Software predictions showed no statistically different gender effect for stomach and small intestinal MRT, however, for the colon, there is a significant gender effect, whereby females have longer MRT than males, which it is considered in the model.

The ADAM model allows the discernment of which sections of the gastrointestinal system there is absorption in. Analysing the fraction of absorbed dose in the different gastrointestinal segments, it can be observed that the amount of metronidazole released before the tablets reach the colon is rather low when compared to an immediate release formulation, pointing out that both coating polymers employed achieve an effective drug release in the colonic region.

The amount of metronidazole released in the colon might vary depending on the coating polymer employed. Since the colon is less permeable to metronidazole, and because there is a reduced amount of water in the colon, higher concentrations of total drug are expected at this segment of the gastrointestinal tract before it is metabolised by the colonic microbiome.

In conclusion, the tablets developed could potentially avoid metronidazole absorption in the upper parts of the gastrointestinal tract and thus reduce potential adverse effects associated with the treatment. Also, the batches developed could release a high enough concentration of metronidazole to treat infections in the colon at a pace that might lead to a reduction in the dosing regimen, which ultimately will improve patient treatment compliance.

CONCLUSIONES

1.- La búsqueda bibliográfica sobre las características y propiedades de los materiales y las nuevas formulaciones de liberación colónica quedó plasmada en forma de revisión bibliográfica y puso de manifiesto la gran variedad de estrategias tecnológicas para alcanzar la liberación efectiva de fármacos en el colon. La elaboración de comprimidos matriciales constituye una de las estrategias de formulación más sencillas, robustas y capaces de aprovechar las características de polímeros hidrófilos y agentes de recubrimiento para evitar la liberación de fármacos en las partes superiores del tracto gastrointestinal.

2.- Se ha desarrollado una forma farmacéutica de liberación sostenida para administración de metronidazol por vía oral y liberación en el colon. Tecnológicamente se trata de comprimidos matriciales recubiertos obtenidos por compresión directa en los que se utilizan como polímeros hidrófilos la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y quitosan, y como agentes de recubrimiento diferentes tipos de polimetacrilatos sintéticos (Eudragit®).

3.- Siguiendo una metodología de Calidad por Diseño (QbD) se estableció un perfil de calidad (QTPP) de comprimidos matriciales recubiertos de metronidazol capaces de liberar la mayor cantidad posible de dosis en el colon con el fin de tratar la diverticulitis no complicada. Tras un Análisis y Evaluación de Riesgos se determinó que los factores que pueden tener un impacto sobre el QTPP definido son: el grado de viscosidad de la HPMC, la proporción de HPMC/chitosan en la formulación, el tiempo de mezcla, la naturaleza del agente de recubrimiento y el porcentaje de aumento de peso total tras el recubrimiento.

4.- El análisis estadístico de los resultados de la caracterización de los comprimidos fabricados muestra que los factores con un impacto estadísticamente significativo son la proporción de los polímeros HPMC/chitosan en la formulación, el tiempo de mezclado, la naturaleza del agente de recubrimiento, el incremento en el porcentaje total de peso de los comprimidos tras el recubrimiento y la interacción entre la proporción de HPMC/chitosan con el tiempo de mezclado, así como la interacción entre el grado de viscosidad de la HPMC con la proporción de HPMC/chitosan.

5.- El Espacio de Diseño dentro del cual podemos garantizar los objetivos establecidos en el QTPP viene definido por las siguientes condiciones: para incrementos en el peso total tras el recubrimiento del 10 % se requieren tiempos de mezcla de 10 minutos y una proporción HPMC/chitosan de 3:1 o un tiempo de 20 minutos de mezcla y una proporción HPMC/chitosan de 1:3 en la formulación. Para comprimidos con un 20 % de incremento del peso total tras el recubrimiento se deben establecer tiempos de mezclado de 20 minutos y una proporción HPMC/chitosan de 3:1 en la composición o tiempos de mezcla de 10 minutos y una proporción HPMC/chitosan de 1:3.

6.- La cinética de liberación de metronidazol desde los comprimidos recubiertos se ajusta al modelo de Weibull, que junto al modelo de Korsmeyer-Peppas, explica que la liberación del fármaco sigue un patrón anómalo o no fickiano que puede atribuirse a procesos de difusión junto con otros mecanismos de liberación.

7.- Las redes neuronales artificiales constituyen una valiosa herramienta alternativa al análisis estadístico convencional en el análisis de los resultados obtenidos en el estudio realizado bajo los principios de calidad por diseño (QbD).

8.- Las simulaciones biofarmacéuticas *in silico* realizadas con la ayuda del soporte informático Simcyp® y siguiendo un modelo ADAM muestran que las formulaciones pH-dependiente conducen a una menor absorción sistémica mientras que aquellas con recubrimiento tiempo dependiente presentan menor variabilidad en cuanto a la concentración de metronidazol en el lumen del colon.