
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Interacțiuni medicamentoase ale atomoxetinei cu inhibitori CYP2D6

PhD student **Ioana Todor**

PhD coordinator Prof.dr. **Laurian Vlase**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CLUJ-NAPOCA 2017

CUPRINS

INTRODUCERE	15
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Tulburarea hiperkinetică cu deficit de atenție (ADHD)	19
1.1. Considerații generale	19
1.2. ADHD la adulți	19
1.3. Tratamentul pentru ADHD	20
1.3.1. Tratamentul farmacologic	20
2. Atomoxetina în terapia ADHD	23
2.1. Proprietăți farmacodinamice	23
2.2. Proprietăți farmacocinetice	23
2.3. Indicații clinice	24
2.4. Reacții adverse	24
2.4.1. Reacții adverse frecvente	24
2.4.2. Reacții la nivel cardio-vascular	24
2.4.3. Reacții adverse semnificative	25
2.5. Interacțiuni medicamentoase	25
3. Duloxetina, paroxetina, fluvoxamina, bupropiona- considerații generale	27
3.1. Duloxetina	27
3.1.1. Proprietăți farmacodinamice	27
3.1.2. Proprietăți farmacocinetice	27
3.1.3. Indicații clinice	27
3.1.4. Reacții adverse	27
3.2. Paroxetina	27
3.2.1. Proprietăți farmacodinamice	28
3.2.2. Proprietăți farmacocinetice	28
3.2.3. Indicații clinice	28
3.2.4. Reacții adverse	28
3.3. Fluvoxamina	29
3.3.1. Proprietăți farmacodinamice	29
3.3.2. Proprietăți farmacocinetice	29
3.3.3. Indicații clinice	30
3.3.4. Reacții adverse	30
3.4. Bupropiona	30
3.4.1. Proprietăți farmacodinamice	30
3.4.2. Proprietăți farmacocinetice	30

3.4.3. Indicații clinice	31
3.4.4. Reacții adverse	31
4. Interacțiuni medicamentoase și interacțiuni datorate polimorfismului genetic	33
4.1 Interacțiuni medicamentoase farmacodinamice	33
4.2. Interacțiuni medicamentoase farmacocinetice	33
4.2.1. Interacțiuni la nivelul absorbției	34
4.2.2. Interacțiuni la nivelul distribuției	35
4.2.3. Interacțiuni la nivelul metabolizării	35
4.2.4. Interacțiuni la nivelul eliminării	37
4.3. Interacțiuni datorate polimorfismului genetic	38
5. Analiza farmacocinetică noncompartimentală și analiza statistică a interacțiunilor medicamentoase la nivel metabolic	41
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Obiective generale	45
2. Metodologie generală	47
3. Studiul 1- Influența fenotipului CYP2D6 asupra profilului farmacocinetic al atomoxetinei la voluntari sănătoși	53
3.1. Introducere	53
3.2. Obiective	54
3.3. Materiale și Metode	54
3.3.1. Subiecți	54
3.3.2. Design-ul studiului	54
3.3.3. Prelevarea probelor sanguine și metodele bioanalitice	54
3.3.4. Analiza farmacocinetică	54
3.3.5. Analiza interfenotip	55
3.3.6. Analiza statistică	55
3.4. Rezultate	55
3.4.1. Date demografice	55
3.4.2. Determinarea statusului metabolizator CYP2D6	56
3.4.3. Impactul variabilității interfenotip asupra farmacocineticii atomoxetinei	58
3.5. Discuții	61
3.5.1. Determinarea statusului metabolizator CYP2D6	62
3.5.2. Impactul variabilității interfenotip asupra farmacocineticii atomoxetinei	62
3.5.3. Aspecte clinice	64
3.6. Concluzii	65
4. Studiul 2- Evaluarea unei potențiale interacțiuni la nivel farmacocinetic între atomoxetină și duloxetină la voluntari sănătoși	67
4.1. Introducere	67
4.2. Obiective	67
4.3. Materiale și Metode	67
4.3.1. Subiecți	67
4.3.2. Design-ul studiului	67
4.3.3. Prelevarea probelor sanguine și metodele bioanalitice	68
4.3.4. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	68

4.3.5. Evaluarea bioechivalenței	69
4.4. Rezultate	69
4.4.1. Date demografice	69
4.4.2. Rezultate bioanalitice	69
4.4.3. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	74
4.4.4. Evaluarea bioechivalenței	76
4.5. Discuții	77
4.5.1. Evaluarea bioanalitică	78
4.5.2. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	78
4.5.3. Evaluarea bioechivalenței	79
4.6. Concluzii	79
5. Studiul 3- Evaluarea unei potențiale interacțiuni la nivel farmacocinetic între atomoxetină și paroxetină la voluntari sănătoși	81
5.1. Introducere	81
5.2. Obiective	81
5.3. Materiale și Metode	81
5.3.1. Subiecți	81
5.3.2. Design-ul studiului	82
5.3.3. Prelevarea probelor sanguine și metodele bioanalitice	82
5.3.4. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	82
5.3.5. Evaluarea bioechivalenței	83
5.4. Rezultate	83
5.4.1. Date demografice	83
5.4.2. Rezultate bioanalitice	84
5.4.3. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	88
5.4.4. Evaluarea bioechivalenței	91
5.5. Discuții	92
5.5.1. Evaluarea bioanalitică	93
5.5.2. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	93
5.5.3. Evaluarea bioechivalenței	94
5.6. Concluzii	94
6. Studiul 4- Evaluarea unei potențiale interacțiuni la nivel farmacocinetic între atomoxetină și fluvoxamină la voluntari sănătoși	95
6.1. Introducere	95
6.2. Obiective	95
6.3. Materiale și Metode	95
6.3.1. Subiecți	95
6.3.2. Design-ul studiului	95
6.3.3. Prelevarea probelor sanguine și metodele bioanalitice	96
6.3.4. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	96
6.3.5. Evaluarea bioechivalenței	97
6.4. Rezultate	97
6.4.1. Date demografice	97
6.4.2. Rezultate bioanalitice	98
6.4.3. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	101

6.4.4. Evaluarea bioechivalenței	104
6.5. Discuții	105
6.5.1. Evaluarea bioanalitică	106
6.5.2. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	106
6.5.3. Evaluarea bioechivalenței	107
6.6. Concluzii	107
7. Studiul 5- Evaluarea unei potențiale interacțiuni la nivel farmacocinetic între atomoxetină și bupropionă la voluntari sănătoși	109
7.1. Introducere	109
7.2. Obiective	109
7.3. Materiale și Metode	109
7.3.1. Subiecți	109
7.3.2. Design-ul studiului	109
7.3.3. Prelevarea probelor sanguine și metodele bioanalitice	110
7.3.4. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	110
7.3.5. Evaluarea bioechivalenței	111
7.4. Rezultate	111
7.4.1. Date demografice	111
7.4.2. Rezultate bioanalitice	112
7.4.3. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	116
7.4.4. Evaluarea bioechivalenței	120
7.5. Discuții	120
7.5.1. Evaluarea bioanalitică	121
7.5.2. Analiza farmacocinetică și evaluarea statistică	122
7.5.3. Evaluarea bioechivalenței	123
7.6. Concluzii	123
8. Discuții generale	125
8.1. Analiza comparativă - aspecte farmacocinetice	125
8.2. Analiza comparativă - aspecte clinice	127
9. Concluzii generale	131
10. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	133
REFERINȚE	135

Cuvinte cheie: interacțiuni medicamentoase, farmacocinetică, atomoxetina, 4-hidroxiatomoxetina, inhibitori CYP2D6, paroxetina, duloxetina, fluvoxamina, bupropiona, fenotipul CYP2D6, metabolizatori rapizi, metabolizatori lenți

INTRODUCERE

Tulburarea hiperkinetică cu deficit de atenție (ADHD) este una dintre cele mai des întâlnite boli de neuro-dezvoltare în rândul copiilor, fiind caracterizată prin incapacitate de concentrare, hiperactivitate motorie și impulsivitate. Studiile de cercetare au demonstrat faptul că o mare parte dintre copii cu ADHD manifestă simptome și la maturitate. Totodată, adulții diagnosticați cu această afecțiune prezintă un risc crescut de a dezvolta și alte boli de natură psihiatrică, precum tulburările depresive și de anxietate, sau abuzul de substanțe. În aceste cazuri, medicația antidepressivă poate fi indicată alături de atomoxetină, un non-stimulant utilizat în terapia ADHD.

Scopul acestui studiu a fost de a completa profilul de siguranță al atomoxetinei prin investigarea unei potențiale interacțiuni medicamentoase la nivel farmacocinetic între acest agent terapeutic și patru antidepressive, considerate inhibitori CYP2D6, mai precis duloxetina, paroxetina, fluvoxamina și bupropiona. Un alt obiectiv al cercetării a fost evaluarea impactului exercitat de fenotip asupra biodisponibilității și metabolizării atomoxetinei, respectiv evidențierea importanței fenotipării înaintea inițierii unui tratament cu acest compus.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Partea generală a tezei de doctorat este structurată în 5 capitole principale, care prezintă într-o manieră succintă, cele mai importante aspecte legate de tema de cercetare aleasă. Primul capitol descrie pe scurt ADHD-ul și tratamentul farmacologic aferent. Al doilea capitol include o prezentare a proprietăților farmacologice și farmacocinetice, a indicațiilor clinice și a reacțiilor adverse ale atomoxetinei, medicamentul care este investigat în această teză de doctorat. În al treilea capitol, sunt prezentate succint aspectele generale caracteristice celor patru antidepressive (duloxetina, paroxetina, fluvoxamina și bupropiona), într-o manieră asemănătoare capitolului anterior. Capitolul patru descrie diferite tipuri de interacțiuni medicamentoase, insistând asupra celor farmacocinetice. Tot în acest capitol este abordată tema polimorfismului genetic al enzimelor implicate în metabolizarea medicamentelor, ca sursă de variabilitate interindividuală în răspunsul la medicamente. În final, capitolul cinci sumarizează metodele farmacocinetice non-compartimentale și statistice prin care pot fi analizate interacțiunile medicamentoase.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Contribuția personală a tezei de doctorat include o descriere în detaliu a celor cinci studii de cercetare. Totodată, capitolul unu prezintă într-o manieră clară, obiectivele generale ale cercetării, iar cel de-al doilea capitol descrie metodologia generală a studiilor experimentale. Teza se încheie cu partea de discuții generale și concluzii.

Metodologia generală

Cele două studii clinice au investigat o potențială interacțiune între atomoxetină și patru inhibitori enzimatici (primul studiu clinic - duloxetina și paroxetina; al doilea studiu clinic - fluvoxamina și bupropiona). Primul studiu a inclus un lot de 23 voluntari sănătoși, iar cel de-al doilea studiu a cuprins un grup de 20 subiecți. Protocolul clinic și metodologia de analiză a datelor experimentale a fost similară pentru cele două studii.

I. Subiecți

Subiecții au fost selectați pe baza unor criterii specifice de includere și excludere.

Subiecții, femei și bărbați de rasă caucaziană, cu vârsta cuprinsă între 18 și 55 de ani, cu indicele de masă corporală (IMC) de 19-25 kg/m², au fost incluși în studiile clinice. Aceștia au fost considerați sănătoși pe baza anamnezei, examenului fizic general, electrocardiografei și a analizelor de laborator. Nu au fost considerate eligibile persoanele care au avut antecedente de abuz de substanțe sau alcool sau au avut o condiție medicală care ar fi putut interfera cu medicamentele incluse în studiu.

Studiul a fost realizat conform principiilor de la Helsinki (1964) și modificările aferente și a urmat Regulile de Buna Practică Clinică. Protocolul clinic și formularul de consimțământ informat au fost revizuite și aprobate de către Comisia de Etică a Cercetării Științifice din cadrul Universității de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România. Toți voluntarii au semnat consimțământul exprimat în cunoștință de cauză, înainte de a fi înrolați în studiu.

II. Design-ul studiului: au fost concepute două studii deschise, prospective, nerandomizate, secvențiale

III. Prelevarea probelor sanguine

Pe parcursul studiului s-au prelevat probe de sânge (5 ml) după următorul orar: înainte de administrarea medicamentelor și la 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48 ore după administrarea acestora

IV. Metode bioanalitice

Pentru determinarea concentrațiilor plasmatice ale atomoxetinei și metabolitului său activ glucuronidat s-a utilizat cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC) cuplată cu spectrometria de masă (MS).

V. Analiza interfenotip

Identificarea metabolizatorilor lenți (ML) și rapizi (MR) s-a realizat pe baza raportului ariilor de sub curbă ($MR_ASC = ASC_{0-\infty} \text{ atomoxetină} / ASC_{0-\infty} \text{ 4-hidroxiatomoxetină-O-glucuronidă}$). Această analiză este prezentată în detaliu în studiul 1.

VI. Analiza farmacocinetică

Pentru a calcula parametrii farmacocinetici ai atomoxetinei și ai metabolitului său activ-forma glucuronidată a fost aplicată o metodă non-compartimentală. Astfel au fost determinați următorii parametri: concentrația plasmatică maximă (C_{max} , ng/ml), timpul de atingere a concentrației plasmatice maxime (t_{max} , h), aria de sub curbă observată (ASC_{0-t} , h*ng/ml), aria de sub curbă totală ($ASC_{0-\infty}$, h*ng/ml), constanta de viteză a eliminării (k_{el} , 1/h), respectiv timpul de înjumătățire ($t_{1/2}$, h).

VII. Analiza statistică

Pentru a decela dacă diferențele dintre parametrii farmacocinetici ai atomoxetinei și ai metabolitului său activ glucuronidat (4-HATX-O-gluc), calculați în perioadele de tratament sunt semnificative, a fost aplicat testul ANOVA (analiza de varianță) cu 2 surse de variație (subiecții și tipul diferit de tratament).

VIII. Evaluarea bioechivalenței

A fost aplicat testul de bioechivalență pentru atomoxetina administrată ca și monoterapie, față de atomoxetina administrată în combinație cu fiecare inhibitor enzimatic. Parametrii farmacocinetici pentru care s-a realizat acest test au fost: C_{max} , t_{max} , ASC_{0-t} și $ASC_{0-\infty}$. Pentru parametrii C_{max} , ASC_{0-t} și $ASC_{0-\infty}$ s-a utilizat testul Schuirmann (90% interval de încredere a raportului valorilor medii logaritmice (Test/Referință)), iar pentru t_{max} , testul Friedman (test non-parametric). Bioechivalența a fost stabilită dacă intervalul de încredere 90% a raportului valorilor medii logaritmice ale parametrilor C_{max} , ASC_{0-t} și $ASC_{0-\infty}$ s-a situat în intervalul 0.8-1.25, iar diferența valorilor medii ale t_{max} a fost nesemnificativă.

Analiza farmacocinetică, analiza statistică și testul de bioechivalență au fost realizate prin intermediul programului informatic Phoenix WinNonlin versiunea 6.3 (Pharsight Co., Mountain View, CA, USA).

Studiul 1- Influența fenotipului CYP2D6 asupra profilului farmacocinetic al atomoxetinei la voluntari sănătoși

Scopul acestui studiu a fost punerea în evidență a potențialelor diferențelor interfenotip în ceea ce privește biodisponibilitatea și metabolizarea atomoxetinei și respectiv investigarea impactului fenotipului CYP2D6 asupra farmacocineticii atomoxetinei, la voluntari sănătoși.

Studiul a inclus un lot de 43 voluntari sănătoși. 23 dintre aceștia au participat la primul studiu clinic, iar cei 20 rămași au fost incluși în cel de-al doilea studiu clinic. Design-ul studiului corespunde perioadei de Referință a celorlalte două investigații, iar metodele de analiză a datelor coincid pentru toate cele 3 studii. Distribuția fenotipică a subiecților a fost stabilită pe baza raportului metabolic (MR_ASC = ASC atomoxetină/ASC 4-HATX-O-gluc) și a analizei statistice (testul Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) și testul Anderson-Darling). De asemenea a fost utilizată reprezentarea cuantilelor (plot Q-Q) pentru a oferi o perspectivă suplimentară asupra variabilității interindividuală. Evaluarea diferențelor interfenotip a fost realizată prin intermediul analizei farmacocinetice non-compartimentale și a testului ANOVA cu două surse de variație.

Rezultatele obținute în urma raportului metabolic (MR_ASC) și a analizei statistice au demonstrat existența a două grupuri fenotipice în cadrul celor 43 de subiecți incluși în studiu, respectiv metabolizatori lenți (ML) (3 subiecții nr. 5, 15 și 38) și metabolizatori rapizi (MR) (40 de subiecți). După definirea statusului metabolizator s-a dorit evaluarea diferențelor între cele două fenotipuri în ceea ce privește profilul farmacocinetic al atomoxetinei. În urma analizei datelor experimentale s-a observat o variație interfenotip în cazul parametrilor farmacocinetici ai atomoxetinei, expunerea la compusul părinte fiind de 4,5 ori mai mare în grupul ML, față de MR. Totodată, metabolitul glucuronidat a prezentat o scădere a expunerii de 3,2 ori în cazul ML. În concluzie, studiul de față confirmă impactul fenotipului asupra biodisponibilității și metabolizării atomoxetinei, totodată evidențiind importanța fenotipării înainte de a iniția un tratament cu acest compus.

Studiul 2- Evaluarea unei potențiale interacțiuni la nivel farmacocinetic între atomoxetină și duloxetină la voluntari sănătoși

Duloxetina este un inhibitor moderat CYP2D6, izoenzima implicată în biotransformarea atomoxetinei. Având în vedere faptul că aceste două medicamente pot fi asociate în tratamentul ADHD, obiectivul principal al acestui studiu de cercetare a fost de a investiga influența duloxetinei asupra farmacocineticii atomoxetinei.

Rezultatele obținute în urma analizei farmacocinetice și statistice au arătat faptul că duloxetina a avut un impact modest asupra farmacocineticii atomoxetinei. Expunerea la substratul CYP2D6 a fost crescută de 1,3 ori după pre-tratamentul cu inhibitorul CYP2D6. Deoarece semnificația clinică a acestei interacțiuni nu este cunoscută, până la efectuarea unor studii adiționale este recomandată precauție la administrarea concomitentă a celor doi agenți terapeutici în practica medicală.

Studiul 3- Evaluarea unei potențiale interacțiuni la nivel farmacocinetic între atomoxetină și paroxetină la voluntari sănătoși

Studiul a fost realizat cu scopul de a investiga existența unei interacțiuni la nivel metabolic, între atomoxetină și paroxetină. Obiectivul specific cercetării a fost evaluarea efectului paroxetinei (inhibitor potent CYP2D6) asupra farmacocineticii atomoxetinei (substrat al CYP2D6).

Studiul a demonstrat faptul că paroxetina, fiind un inhibitor potent CYP2D6, a influențat semnificativ farmacocinetica atomoxetinei și a metabolitului său activ glucuronidat, 4-HATX-O-gluc. Ca urmare a acestei interacțiuni, expunerea la atomoxetină a crescut de 5,8 ori, în timp ce expunerea la metabolitul activ a fost redusă de 1,6 ori.

Studiul 4- Evaluarea unei potențiale interacțiuni la nivel farmacocinetic între atomoxetină și fluvoxamină la voluntari sănătoși

Obiectivul principal al studiului a constat în punerea în evidență a unei potențiale interacțiuni farmacocinetice între atomoxetină (substrat al CYP2D6) și fluvoxamină (inhibitor slab CYP2D6). De asemenea, s-a urmărit și evaluarea relevanței clinice a acestei interacțiuni.

Rezultatele au arătat că administrarea de doze multiple de fluvoxamină a avut un impact modest, dar semnificativ statistic asupra profilului farmacocinetic al atomoxetinei și al metabolitului său activ. Deși

magnitudinea interacțiunii a fost mică, studii adiacente sunt necesare pentru a evalua existența unor posibile consecințe clinice.

Studiul 5- Evaluarea unei potențiale interacțiuni la nivel farmacocinetic între atomoxetină și bupropionă la voluntari sănătoși

Bupropiona fiind un inhibitor potent al CYP2D6, crește riscul de interacțiuni cu medicamente metabolizate de această izoenzimă, printre care se poate enumera atomoxetina. Astfel, scopul studiului a fost investigarea unei potențiale interacțiuni la nivel farmacocinetic între atomoxetină, un substrat CYP2D6 și bupropionă.

Administrarea concomitentă de atomoxetină și bupropionă a determinat o creștere semnificativă a concentrațiilor plasmatice medii ale compusului părinte și metabolitului său activ. În plus, studiul prezent a demonstrat faptul că administrarea unor doze multiple de bupropionă a influențat semnificativ farmacocinetica atomoxetinei și 4-HATX-O-gluc. Mai precis, după tratamentul cu acest inhibitor CYP2D6, expunerea la atomoxetină a fost crescută de 5,1 ori, în timp ce metabolitul activ glucuronidat a suferit o scădere de 1,5 ori.

Discuții generale

Până în prezent, informațiile disponibile privind interacțiunile medicamentoase ale atomoxetinei care au implicații clinice sunt limitate. Astfel, deși consecințele clinice ale interacțiunilor farmacocinetice menționate mai sus nu au fost investigate în cadrul prezentei cercetări, este necesară precauție în timpul coadministrării atomoxetinei cu acești inhibitori, în special paroxetina și bupropiona. Datorită expunerii crescute la substratul CYP2D6, aceste asocieri ar putea conduce la evenimente adverse datorate administrării atomoxetinei, în special după administrarea de doze multiple ale acestui medicament. Cele mai frecvente efecte secundare raportate în timpul tratamentului cu atomoxetină includ greață, xerostomie, insomnie, scăderea apetitului, constipație, amețeli, disurie, disfuncții sexuale și probleme cardiovasculare. Cele mai multe dintre aceste reacții adverse sunt comune celor întâlnite în timpul terapiei antidepressive. Astfel, datorită efectului sinergic, ar putea conduce la exacerbarea efectelor nedorite, inclusiv toxicitate.

CONCLUZII GENERALE

Studiile de cercetare din cadrul doctoratului au evidențiat faptul că administrarea concomitentă de atomoxetină cu inhibitori CYP2D6 a dus la apariția de interacțiuni medicamentoase la nivel farmacocinetic. Magnitudinea acestor interacțiuni a fost în concordanță cu efectul inhibitor al antidepressivelor asupra activității izoenzimei CYP2D6, toate fiind semnificative din punct de vedere statistic. Rezultatele prezentate în aceasta teză servesc ca informații preliminare care ar putea ajuta personalul din domeniul sănătății în selectarea celei mai bune opțiuni de tratament pentru pacienții cu ADHD care prezintă comorbidități psihiatrice, precum tulburările depresive și de anxietate.

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI

Aceste studii de cercetare au fost primele care au evaluat impactul inhibitorilor CYP2D6 asupra profilului farmacocinetic al atomoxetinei și al metabolitului său activ glucuronidat, ducând la o mai bună înțelegere a mecanismelor implicate în aceste interacțiuni. Mai mult, cercetarea a subliniat importanța fenotipării înainte de inițierea unui tratament cu atomoxetină, care poate furniza informații valoroase privind necesitatea ajustării dozei terapeutice.

SUMMARY OF THE PhD THESIS

Drug-drug interactions between atomoxetine and CYP2D6 inhibitors

PhD student **Ioana Todor**

PhD coordinator Prof.dr. **Laurian Vlase**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CLUJ-NAPOCA 2017

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	15
ACTUAL STATE OF KNOWLEDGE	
1 Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)	19
1.1. General considerations	19
1.2. ADHD in adults	19
1.3. ADHD treatment	20
1.3.1. Pharmacological treatment	20
2. Atomoxetine in ADHD therapy	23
2.1. Pharmacodynamic proprieties	23
2.2. Pharmacokinetic proprieties	23
2.3. Clinical indications	24
2.4. Adverse events	24
2.4.1. Common adverse events	24
2.4.2. Cardiovascular events	24
2.4.3. Significant adverse events	25
2.5. Drug interactions	25
3. Duloxetine, paroxetine, fluvoxamine, bupropion- general considerations	27
3.1. Duloxetine	27
3.1.1. Pharmacodynamic proprieties	27
3.1.2. Pharmacokinetic proprieties	27
3.1.3. Clinical indications	27
3.1.4. Adverse events	27
3.2. Paroxetine	27
3.2.1. Pharmacodynamic proprieties	28
3.2.2. Pharmacokinetic proprieties	28
3.2.3. Clinical indications	28
3.2.4. Adverse events	28
3.3. Fluvoxamine	29
3.3.1. Pharmacodynamic proprieties	29
3.3.2. Pharmacokinetic proprieties	29
3.3.3. Clinical indications	30
3.3.4. Adverse events	30
3.4. Bupropion	30
3.4.1. Pharmacodynamic proprieties	30
3.4.2. Pharmacokinetic proprieties	30

3.4.3. Clinical indications	31
3.4.4. Adverse events	31
4. Drug-drug interactions and drug-gene interactions	33
4.1. Pharmacodynamic drug-drug interactions	33
4.2. Pharmacokinetic drug-drug interactions	33
4.2.1. Absorption drug interactions	34
4.2.2. Distribution drug interactions	35
4.2.3. Metabolic drug interactions	35
4.2.4. Elimination drug interactions	37
4.3. Drug-gene interactions	38
5. Non-compartmental pharmacokinetic analysis and statistical analysis of metabolism-mediated drug-drug interactions	41
PERSONAL CONTRIBUTION	
1. General objectives	45
2. General methodology	47
3. Study 1- The influence of CYP2D6 phenotype on the pharmacokinetic profile of atomoxetine in healthy volunteers	53
3.1. Introduction	53
3.2. Objective	54
3.3. Materials and Methods	54
3.3.1. Subjects	54
3.3.2. Study design	54
3.3.3. Blood plasma samples collection and bioanalytical methods	54
3.3.4. Pharmacokinetic analysis	54
3.3.5. Phenotype analysis	55
3.3.6. Statistical analysis	55
3.4. Results	55
3.4.1. Demographics	55
3.4.2. Assessment of CYP2D6 metabolizer status	56
3.4.3. The impact of phenotype variability on atomoxetine pharmacokinetics	58
3.5. Discussions	61
3.5.1. Assessment of CYP2D6 metabolizer status	62
3.5.2. The impact of phenotype variability on atomoxetine pharmacokinetics	62
3.5.3. Clinical aspects	64
3.6. Conclusions	65
4. Study 2- Evaluation of a potential pharmacokinetic interaction between atomoxetine and duloxetine in healthy volunteers	67
4.1. Introduction	67
4.2. Objective	67
4.3. Materials and Methods	67
4.3.1. Subjects	67
4.3.2. Study design	67
4.3.3. Blood plasma samples collection and bioanalytical methods	68
4.3.4. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	68

4.3.5. Bioequivalence evaluation	69
4.4. Results	69
4.4.1. Demographics	69
4.4.2. Bioanalytical results	69
4.4.3. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	74
4.4.4. Bioequivalence evaluation	76
4.5. Discussions	77
4.5.1. Bioanalytical evaluation	78
4.5.2. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	78
4.5.3. Bioequivalence evaluation	79
4.6. Conclusions	79
5. Study 3- Evaluation of a potential pharmacokinetic interaction between atomoxetine and paroxetine in healthy volunteers	81
5.1. Introduction	81
5.2. Objective	81
5.3. Materials and Methods	81
5.3.1. Subjects	81
5.3.2. Study design	82
5.3.3. Blood plasma samples collection and bioanalytical methods	82
5.3.4. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	82
5.3.5. Bioequivalence evaluation	83
5.4. Results	83
5.4.1. Demographics	83
5.4.2. Bioanalytical results	84
5.4.3. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	88
5.4.4. Bioequivalence evaluation	91
5.5. Discussions	92
5.5.1. Bioanalytical evaluation	93
5.5.2. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	93
5.5.3. Bioequivalence evaluation	94
5.6. Conclusions	94
6. Study 4- Evaluation of a potential pharmacokinetic interaction between atomoxetine and fluvoxamine in healthy volunteers	95
6.1. Introduction	95
6.2. Objective	95
6.3. Materials and Methods	95
6.3.1. Subjects	95
6.3.2. Study design	95
6.3.3. Blood plasma samples collection and bioanalytical methods	96
6.3.4. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	96
6.3.5. Bioequivalence evaluation	97
6.4. Results	97
6.4.1. Demographics	97
6.4.2. Bioanalytical results	98
6.4.3. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	101

6.4.4. Bioequivalence evaluation	104
6.5. Discussions	105
6.5.1. Bioanalytical evaluation	106
6.5.2. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	106
6.5.3. Bioequivalence evaluation	107
6.6. Conclusions	107
7. Study 5- Evaluation of a potential pharmacokinetic interaction between atomoxetine and bupropion in healthy volunteers	109
7.1. Introduction	109
7.2. Objective	109
7.3. Materials and Methods	109
7.3.1. Subjects	109
7.3.2. Study design	109
7.3.3. Blood plasma samples collection and bioanalytical methods	110
7.3.4. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	110
7.3.5. Bioequivalence evaluation	111
7.4. Results	111
7.4.1. Demographics	111
7.4.2. Bioanalytical results	112
7.4.3. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	116
7.4.4. Bioequivalence evaluation	120
7.5. Discussions	120
7.5.1. Bioanalytical evaluation	121
7.5.2. Pharmacokinetic analysis and statistical evaluation	122
7.5.3. Bioequivalence evaluation	123
7.6. Conclusions	123
8. General discussions	125
8.1. Comparative analysis- pharmacokinetic aspects	125
8.2. Comparative analysis- clinical aspects	127
9. General conclusions	131
10. Originality and scientific contributions	133
REFERENCES	135

Key words: drug interactions, pharmacokinetics, atomoxetine, 4-hydroxyatomoxetine, CYP2D6 inhibitors, paroxetine, duloxetine, fluvoxamine, bupropion, CYP2D6 phenotype, extensive metabolizer, poor metabolizer

INTRODUCTION

Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) is one of the most common childhood neurodevelopmental disorders, characterized by excessive inattention, impulsivity and motor hyperactivity. Compelling follow-up studies demonstrated that children with ADHD often continue to experience part of the symptoms in adulthood. In addition, adults diagnosed with this disorder have a high risk of developing other psychiatric conditions, such as depressive and anxiety disorders or substance use disorders. In such cases, antidepressant medication can be indicated alongside atomoxetine, a non-stimulant drug used in ADHD therapy.

The aim of this thesis was to complete the safety profile of atomoxetine, by investigating potential pharmacokinetic drug-drug interactions between this therapeutic agent and four antidepressants, acknowledged as CYP2D6 inhibitors, namely duloxetine, paroxetine, fluvoxamine and bupropion. Another objective of this research was to provide a useful insight regarding the influence of the phenotypic metabolizer status upon atomoxetine bioavailability and metabolism and to emphasize the importance of phenotyping before initiating a treatment with this compound.

ACTUAL STATE OF KNOWLEDGE

The general part of the thesis is structured into 5 main chapters, which present in a synthetic manner, the most important aspects related to the chosen research theme. The first chapter briefly describes ADHD and the related pharmacological treatment. The second chapter presents the pharmacological and pharmacokinetic properties, clinical indications and adverse events of atomoxetine, the drug which is investigated in this research study. The third chapter depicts the general aspects related to the four antidepressants (duloxetine, paroxetine, fluvoxamine and bupropion), information which is presented in a similar manner as atomoxetine. The fourth chapter describes different types of drug-drug interactions, focusing on the pharmacokinetic ones. In addition, some general considerations about drug-gene interactions are noted. Finally, the fifth chapter summarizes the analysis of drug-drug interactions through non-compartmental pharmacokinetic methods and statistical methods.

PERSONAL CONTRIBUTION

The personal contribution part of the PhD thesis describes in detail the five research studies. In addition, chapter one presents the general objectives, while the second chapter depicts the general methodology of the experimental studies. The thesis ends with the general discussions and conclusions.

General methodology

The two clinical trials evaluated a potential interaction between atomoxetine and four CYP2D6 inhibitors (first clinical trial - duloxetine and paroxetine; second clinical trial - fluvoxamine and bupropion). A group of 23 healthy volunteers was included in the first trial, while another group of 20 subjects took part in the second one. A similar clinical protocol and analysis methodology was followed for both researches.

I. Subjects

The subjects were selected based on specific inclusion and exclusion criteria.

Caucasian, healthy, non-smoking males and females, aged between 18 and 55 years and with a body mass index (BMI) of 19 to 25 kg/m² were enrolled in the clinical studies. Their health status was established based on their medical history, physical examination and clinical laboratory tests. Subjects were not considered eligible if they had a history of alcohol or substance abuse, or a lifestyle that could potentially alter the drug response.

The study was conducted in accordance with the principles of Helsinki (1964) and its amendments and Good Clinical Practice (GCP) rules. The clinical protocol and informed consent documents were reviewed and approved by the Ethics Committee of the "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania. All participants provided informed written consent prior to the study enrollment.

II. Study design: both researches were designed as open-label, non-randomized, sequential clinical trials.

III. Blood plasma samples collection

Venous blood samples (5 ml) were drawn before dosing and at 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36 and 48 hours following drug administration.

IV. Bioanalytical methods

A high-throughput liquid chromatography - mass spectrometry (LC/MS) method was used to determine the plasma concentrations of atomoxetine and the glucuronidated form of its active hydroxylated metabolite (4-HATX-O-gluc).

V. Phenotype analysis

Poor metabolizers (PMs) and extensive metabolizers (EMs) were identified based on the AUC metabolic ratios ($MR_{AUC} = AUC_{0-\infty} \text{ atomoxetine} / AUC_{0-\infty} \text{ 4-hydroxyatomoxetine-O-glucuronide}$). A more detailed interphenotype analysis is included in study 1.

VI. Pharmacokinetic analysis

A non-compartmental method was used to determine the pharmacokinetic parameters for atomoxetine and the glucuronidated form of 4-hydroxyatomoxetine. The following parameters were determined: the maximum plasma concentration (C_{max} , ng/ml), the time of maximum plasma concentration (t_{max} , h), the area under the concentration-time curve (AUC_{0-t} , h*ng/ml), the total area under the curve ($AUC_{0-\infty}$, h*ng/ml), the elimination rate constant (k_{el} , 1/h) and the terminal half-life ($t_{1/2}$, h).

VII. Statistical analysis

Analysis of variance (ANOVA) was applied to compare the pharmacokinetic parameters of atomoxetine and its glucuronidated active metabolite (4-HATX-O-gluc), between the treatment periods. General linear model procedures were used and the sources of variation were subjects and period of treatment.

VIII. Bioequivalence evaluation

The bioequivalence test was conducted for atomoxetine administered as monotherapy versus atomoxetine associated with each enzymatic inhibitor. The comparison was made for the following pharmacokinetic parameters: C_{max} , t_{max} , AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$. The Schuirmann's test was used for C_{max} , AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ (the 90% confidence intervals of the Test/Reference period ratios (log-transformed)) and for t_{max} , significance was tested using the nonparametric Friedman test. The bioequivalence was inferred if the 90% confidence intervals for the pharmacokinetic parameters of atomoxetine and its metabolite were within the range 0.8–1.25 and if according to the Friedman test, there was no statistically significant difference between t_{max} mean values.

Phoenix WinNonlin version 6.3 (Pharsight Co., Mountain View, CA, USA) software was used for the pharmacokinetic analysis, statistical analysis and the bioequivalence evaluation.

Study 1- The influence of CYP2D6 phenotype on the pharmacokinetic profile of atomoxetine in healthy volunteers

The aim of the present study was to evaluate a potential phenotypic variation within a certain group, based on the pharmacokinetic profile of atomoxetine and to further investigate the impact of CYP2D6 metabolic phenotype (PMs and EMs) on atomoxetine pharmacokinetics, in Caucasian healthy volunteers.

The study included a group of 43 healthy volunteers. 23 of these subjects took part in the first clinical trial, while the other 20 were included in the second one. The study design corresponds to the Reference period of the other two investigations and the analysis methods coincide in all three researches. The phenotypic distribution was assessed based on the AUC metabolic ratio ($MR_{AUC} = AUC \text{ atomoxetine}/AUC \text{ 4-HATX-O-gluc}$) and the statistical analysis (the Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) and Anderson-Darling tests). Moreover, quantile-quantile plot (Q-Q plot) technique was used to provide additional insight regarding intersubject variability. A non-compartmental pharmacokinetic analysis and the two-way ANOVA test were used in order to evaluate the phenotypic differences between the two groups.

After calculating the MR_{AUC} for each subject and performing the statistical analysis, the existence of two groups within the study population, each corresponding to a different phenotype was emphasized. More precisely, the PM group included 3 individuals (subject 5, 15 and 38), while the remaining 40 subjects were characterized as EMs. Once the metabolizer status of each subject was known, the present research wanted to reveal potential differences regarding atomoxetine pharmacokinetics, between the two phenotypic groups. The results showed that atomoxetine pharmacokinetics was subjected to interphenotypic variation as PMs presented a 4.5-fold higher exposure to the parent drug and a 3.2-fold lower exposure to its metabolite (glucuronidated form) in comparison to EMs. In conclusion, the present study came to confirm the phenotype impact upon atomoxetine bioavailability and metabolism and emphasized the importance of phenotyping before initiating a treatment with the aforementioned compound.

Study 2- Evaluation of a potential pharmacokinetic interaction between atomoxetine and duloxetine in healthy volunteers

Duloxetine is a moderate inhibitor of CYP2D6, the isoenzyme that is involved in the biotransformation of atomoxetine. Taking into account that these two drugs could be associated in the pharmacological treatment of ADHD, the main objective of the present research was to investigate whether duloxetine influences atomoxetine pharmacokinetics.

The results of the pharmacokinetic and statistical analysis revealed that duloxetine had an impact on atomoxetine pharmacokinetics. The exposure to this CYP2D6 substrate was modestly increased by 1.3-fold, after pretreatment with the CYP2D6 inhibitor. Because the clinical significance of this interaction is not known and until further inquiries are conducted, caution is needed in clinical practice whenever these two agents are administered concomitantly.

Study 3- Evaluation of a potential pharmacokinetic interaction between atomoxetine and paroxetine in healthy volunteers

The study was employed with the purpose of investigating a potential metabolism-related drug-drug interaction between atomoxetine and paroxetine. The specific objective of this research was the assessment of paroxetine effect (potent CYP2D6 inhibitor) upon atomoxetine pharmacokinetics (a CYP2D6 substrate).

The present research demonstrated that paroxetine, due to the capacity of inhibiting CYP2D6, significantly influenced the pharmacokinetics of atomoxetine and its main glucuronidated active metabolite, 4-HATX-O-gluc. As a result of this interaction, the exposure to atomoxetine was increased by 5.8-fold, while the exposure to the active metabolite was reduced by 1.6-fold.

Study 4- Evaluation of a potential pharmacokinetic interaction between atomoxetine and fluvoxamine in healthy volunteers

The main objective of this study was to investigate whether a pharmacokinetic drug interaction exists between atomoxetine (a CYP2D6 substrate) and fluvoxamine (CYP2D6 weak inhibitor) and if any, to assess the potential clinical consequences associated with this interaction.

The results of this study revealed that multiple-dose fluvoxamine influenced the pharmacokinetics of atomoxetine (given as single dose) and its active metabolite. The magnitude of this interaction was relatively

small, but additional investigations are needed to evaluate the possibility of any clinical relevance regarding atomoxetine and fluvoxamine drug combination.

Study 5- Evaluation of a potential pharmacokinetic interaction between atomoxetine and bupropion in healthy volunteers

Bupropion is a potent inhibitor of CYP2D6, which increases the risk of interacting with drugs metabolized via this isoenzyme, like atomoxetine. Therefore, the aim of this study was to investigate a potential pharmacokinetic interaction between atomoxetine, a substrate of CYP2D6 and bupropion.

Coadministration of atomoxetine and bupropion produced a marked increase in the parent drug and its active metabolite mean plasma concentrations. Additionally, the present study demonstrated that multiple-dose bupropion significantly influenced atomoxetine and 4-HATX-O-gluc pharmacokinetics. More specifically, after pretreatment with this CYP2D6 inhibitor, the exposure to atomoxetine was increased by 5.1-fold, while the glucuronidated active metabolite suffered a 1.5-fold reduction.

General discussions

Up to date, the available information regarding drug-drug interactions involving atomoxetine that have clinical implications is limited. Thus, even though the clinical consequences of the aforementioned pharmacokinetic interactions were not investigated in the present research, caution is needed during the concomitant administration of atomoxetine and these inhibitors, especially paroxetine and bupropion. Due to the increased exposure to the CYP2D6 substrate, these associations could lead to atomoxetine-related adverse events, especially after multiple-dose intake of this drug. The most common side effects reported during atomoxetine treatment include nausea, dry mouth, insomnia, decreased appetite, constipation, dizziness, dysuria, sexual dysfunction and cardio-vascular problems. Most of these adverse events are common to those encountered during antidepressant therapy and thus, due to the synergistic effect could lead to exacerbated or prolonged undesired reactions or even toxicity.

GENERAL CONCLUSIONS

The PhD research studies emphasized that coadministration of atomoxetine with CYP2D6 inhibitors led to pharmacokinetic drug-drug interactions. The magnitude of these interactions was consistent with the inhibitory effect of the antidepressants on the activity of the CYP2D6 isoenzyme. The results presented in this thesis serve as helpful preliminary safety information that could aid healthcare professionals in selecting the best treatment option for ADHD patients with psychiatric comorbidities, such as depression and anxiety.

ORIGINALITY AND SCIENTIFIC CONTRIBUTIONS

These research studies were the first to evaluate the impact of CYP2D6 inhibitors upon the pharmacokinetic profile of atomoxetine and its glucuronidated active metabolite and led to a better understanding of the mechanisms involved in these interactions. Moreover, the research emphasized the importance of phenotyping before initiating a treatment with atomoxetine, which can provide valuable information regarding the necessity of dose adjustment.