

# Estudio farmacocinético

## de la asociación Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas

Olaya Ramírez F<sup>1</sup>, Medina Arango A<sup>2</sup>, Navas Lenis M<sup>3</sup>, Tilano Acevedo A<sup>4</sup>, Monsalve J<sup>5</sup>, González Bustamente A<sup>6</sup>, Rincón P<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Q.F. Asp. MBA Director de Delivery Technologies. <sup>2</sup>Q.F. Asp. M.Sc. Directora de Estudios Clínicos Delivery Technologies. <sup>3</sup>Director Médico Delivery Technologies. <sup>4</sup>Estadística Delivery Technologies. <sup>5</sup>Auxiliar de enfermería Delivery Technologies. <sup>6</sup>Auxiliar de Estudios Clínicos Delivery Technologies.

Comunicaciones: Dr. Francisco Javier Olaya Ramírez, Oficina Carrera 48 No. 48 sur -75 Interior 163, Centro Múltiple Las Vegas, Envigado, Colombia. PBX +57 (4) 448 79 35 francisco.olaya@deliverytechnologies.com.co

Recibido: 13/02/2011

Aceptado: 15/03/2011

### Resumen

**OBJETIVO:** Determinar la Biodisponibilidad en una dosis única, de Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas, con evaluación de los parámetros farmacocinéticos de concentración máxima en el organismo (C Máx), área bajo la curva de los niveles en el organismo ( $AUC_{0 \rightarrow t}$  y  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ) tiempo en alcanzar la concentración máxima (T Máx), tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) y constante de eliminación ( $K_e$ ). El estudio de Biodisponibilidad se desarrolló mediante la determinación de la magnitud y la velocidad de la absorción "in vivo" de la asociación Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas, fabricado por Laboratorios La Santé S.A, en voluntarios sanos.

**METODOLOGÍA:** 12 voluntarios sanos, hombres y mujeres, con edades comprendidas entre los 18 y 55 años, con un peso de  $\pm 15\%$  del apropiado según la edad y la talla, que cumplieron a cabalidad con todos los exámenes clínicos efectuados antes del estudio para su selección y que no presentaron alguna anomalía en su historia médica, recibieron una dosis única de la asociación 40 mg de Atorvastatina + 10 mg de Ezetimibe tabletas, fabricado por Laboratorios La Santé S.A. vía oral con administración de 240 mL de agua. Después de su administración se tomaron muestras de sangre de cada voluntario a los siguientes tiempos: 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 24.0, 36.0, 48.0 y 72.0 horas. El análisis de las muestras se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) con detección UV, previa extracción de los analitos (extracción líquido/líquido), en el Laboratorio bioanalítico de Delivery Technologies. La determinación de la magnitud y la velocidad de la absorción "in vivo" de Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas, se evaluó comparando con los parámetros farmacocinéticos ya reportados en estudios previos de estos principios activos por separado.

### Resultados

ATORVASTATINA	
PARAMETROS	MEDIA $\pm$ SD
T Max (h)	1.9 $\pm$ 1.0
C Max (ng/mL)	27.2 $\pm$ 17.2
$AUC_{0 \rightarrow t}$ (ng*h/mL)	50.5 $\pm$ 37.7
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (ng*h/mL)	92.5 $\pm$ 56.0
$K_e$ (1/h)	0.5 $\pm$ 0.6
$t_{1/2}$ (h)	6.2 $\pm$ 8.7

EZETIMIBE	
PARAMETROS	MEDIA $\pm$ SD
T Max (h)	1.1 $\pm$ 0.5
C Max (ng/mL)	40.1 $\pm$ 23.0
$AUC_{0 \rightarrow t}$ (ng*h/mL)	48.3 $\pm$ 33.0
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (ng*h/mL)	101.3 $\pm$ 102.8
$K_e$ (1/h)	0.7 $\pm$ 1.0
$t_{1/2}$ (h)	6.2 $\pm$ 9.2

Reporte de Reacciones Adversas: En general, no se observó ningún evento adverso grave durante el desarrollo de este estudio.

**Conclusiones:** De acuerdo con los resultados obtenidos y considerando aquellos parámetros farmacocinéticos que reflejan la cantidad de Atorvastatina y de Ezetimibe absorbidos por el organismo y la velocidad a la cual se realiza este proceso, la formulación de la asociación de Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas fabricadas por Laboratorios La Santé S.A presenta una farmacocinética similar a lo reportado en estudios previos.

**Palabras clave:** Farmacocinética. Atorvastatina. Ezetimibe. Dislipidemia.

## Abstract

To determine the bioavailability in a single dose of Atorvastatin 40 mg + Ezetimibe 10 mg tablets, with assessment of pharmacokinetic parameters of maximum concentration body (C max), area under the curve of the levels in the organism (AUC 0 → t and AUC 0 → ∞), time to reach maximum concentration (T max), half-life (t 1 / 2) and elimination constant (Ke). The bioavailability study was conducted by determining the magnitude and rate of absorption in vivo of the association Atorvastatin 40 mg + Ezetimibe 10 mg tablets manufactured by Laboratorios La Sante SA, in healthy volunteers.

**Methods:** 12 healthy volunteers, men and women, aged between 18 and 55, with a weight of ± 15% according to the age and size, which fully met with all the clinical examinations performed prior to study and not presenting any anomaly in these tests, received a single dose of the association Atorvastatin 40 mg + Ezetimibe 10 mg tablets, manufactured by Laboratorios La Santé SA, with oral administration of 240 mL of water. After administration of the drug. blood samples were taken from each volunteer at the following times: 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 24.0, 36.0, 48.0 and 72.0 hours. The sample analysis was performed by High Resolution liquid chromatography (HPLC) with UV detection after extraction of analytes (liquid-liquid extraction) in the bioanalytical laboratory of Delivery Technologies. The determination of the magnitude and absorption rate in vivo of Atorvastatin 40 mg + Ezetimibe 10 mg tablets, was evaluated by comparing with the Pharmacokinetic parameters reported in previous studies of these drug by separate.

Adverse Events Report: In general, there were no serious adverse events during the course of this study.

**Conclusions:** According to the results and considering the pharmacokinetic parameters reflecting the amount of Atorvastatin and Ezetimibe absorbed by the body and the speed at which this process takes place, the association of Atorvastatin 40 mg + Ezetimibe 10 mg tablets manufactured by Laboratorios La Sante,S.A. has similar pharmacokinetic properties to those reported in previous studies.

**Keywords:** Pharmacokinetics, atorvastatin, ezetimibe, dyslipidemia, hipercolesterolemia

## Introducción

La Atorvastatina [[R-(R\*,R\*)]-2-(4-fluorofenil)-β,δ-dihidroxi-5-(1-metiletil)-3-fenil-4-[(fenilamino) carbonil]-1H-pirrol-1-ácido heptanoico es un compuesto completamente sintético de la familia de las estatinas, inhibidor selectivo y competitivo de la Hidroxi – Metil – Glutaril Coenzima A reductasa (HMG-CoA), y que ha demostrado ser eficaz en la reducción de colesterol y triglicéridos<sup>1,2</sup>. Se absorbe rápidamente por vía oral, alcanzando niveles máximos en sangre de una a dos horas después de la administración<sup>3</sup>.

El Ezetimibe [1 - (4-fluorofenil) -3 (R) - [3 - (4-fluorofenil) -3 (S)-hidroxipropil] -4 (S) -] (4-hidroxifenil)-2-azetidiona es un inhibidor selectivo de la absorción del colesterol así como los fitoesteroles en el intestino delgado. Tras la administración oral se absorbe fácilmente y es glucuronizado (EZM-G) en el epitelio intestinal a un glucurónido fenólico farmacológicamente activo. El EZM-G entra en una recirculación enterohepática alcanzando dos picos sanguíneos, a las 4-6 y 10-12 h. La droga y su metabolito se eliminan lentamente, con una vida media de eliminación de 20 a 30 h<sup>4</sup>.

La administración de Atorvastatina con Ezetimibe está indicada para reducir los niveles elevados de colesterol total, colesterol LDL, apoproteína B y triglicéridos y para aumentar el colesterol HDL en pacientes con hipercolesterolemia primaria heterocigota familiar y no familiar y dislipidemia mixta. Los resultados obtenidos en varios estudios han demostrado que la coadministración de EZETIMIBE con ATORVASTATINA logró una reducción de la concentración de Colesterol LDL significativamente mayor que duplicar la dosis de Atorvastatina. La administración de Ezetimibe con Atorvastatina fue generalmente bien tolerada. Los efectos adversos fueron habitualmente leves y similares, en cuanto al tipo y la frecuencia, a los observados en pacientes tratados con Atorvastatina sola.

### Atorvastatina

Farmacología: La Atorvastatina es un inhibidor selectivo y competitivo de la HMG-CoA reductasa, se utiliza para reducir los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos en pacientes con hipercolesterolemia y dislipidemia mixta y en la hipercolesterolemia familiar homocigota. Tiene una estructura única, vida media larga y selectividad hepática, lo que explica su mayor potencia para disminuir el LDL en comparación con otros inhibidores de la HMG-CoA reductasa. Como la HMG-CoA reductasa es responsable de la conversión de la HMG-CoA a mevalonato, esto se traduce en una disminución del mevalonato, un precursor del colesterol y una posterior disminución en los niveles de colesterol hepático y aumento en la captación de colesterol LDL<sup>7,8</sup>.

Farmacocinética - Absorción y biodisponibilidad: Se absorbe rápidamente por vía oral, alcanzando niveles máximos en sangre de 1 a 2 horas después de su administración. El grado de absorción aumenta en proporción con la dosis de Atorvastatina. La presencia de alimentos en el estómago puede llegar

a disminuir la absorción hasta en un 25%. La biodisponibilidad es de un 14% aproximadamente debido a un aclaramiento presistémico en la mucosa gastrointestinal y metabolismo por el citocromo P450 3A4 en el hígado<sup>5,7,8,9,10</sup>.

Distribución: el volumen medio de distribución de la Atorvastatina es de aproximadamente 565 L. Se une a las proteínas plasmáticas en un 98% o más<sup>5,7,8,9,10</sup>.

Metabolismo: Como el resto de estatinas sufre efecto de primer paso hepático. Es metabolizado por el citocromo P-450 3A4 a sus derivados orto y parahidroxilados los cuales tienen actividad farmacológica similar a la Atorvastatina<sup>5,7,8,9,10</sup>.

Eliminación: La Atorvastatina y sus metabolitos se eliminan de forma preferente a través de la bilis, aunque no parece estar afectada por mecanismos de recirculación enterohepática. Un mínimo 2% puede encontrarse en orina. La vida media de eliminación es de unas 14 horas, aunque la semivida de la actividad se mantiene hasta casi 30 horas, probablemente debido a la actividad de los metabolitos<sup>5,7,8,9,10</sup>.

Indicaciones: Reducción de los niveles elevados de colesterol total, colesterol LDL, Apoproteína B y triglicéridos en pacientes con hipercolesterolemia primaria y dislipidemia mixta. Prevención de la enfermedad cardiovascular<sup>8,9,10</sup>.

Eventos Adversos: La Atorvastatina usualmente se tolera bien y los efectos adversos reportados son leves y transitorios. Con una frecuencia mayor se ha reportado cefalea, astenia, insomnio, mareo, diarrea, náuseas, dolor abdominal, dispepsia, mialgia, artralgia, dolor de espalda, erupción cutánea, prurito e infecciones respiratorias. Con menor frecuencia se ha reportado parestesias, hipoestesia, urticaria, vómito, estreñimiento, flatulencia, dolor de extremidades, artritis, amnesia. Otros trastornos menos comunes son trombocitopenia, acúfenos, impotencia, edema angioneurótico, anorexia, calambres, neuropatía periférica, pancreatitis, hepatitis, ictericia colestásica, alopecia, impotencia, hipo o hiperglicemia, aumento de peso. Muy raros: insuficiencia hepática, alteraciones visuales o auditivas, ginecomastia, disgeusia, edema angioneurótico, erupción ampollosa (incluyendo eritema multiforme, síndrome de Stevens-Johnson y necrólisis epidérmica tóxica). La miopatía (miositis, rabdomiolisis, rotura tendinosa) tendría una incidencia menor al 0.1%<sup>8,9,10</sup>.

Contraindicaciones y advertencias: La Atorvastatina está contraindicada en pacientes con hipersensibilidad a cualquiera de los componentes de este medicamento, en pacientes con enfermedad hepática activa o con elevaciones injustificadas y persistentes de las transaminasas séricas que superen el triple del valor máximo de normalidad, miopatía; se clasifica dentro de la categoría X de riesgo en el embarazo; lactancia y en mujeres en edad fértil que no empleen las adecuadas medidas anticonceptivas. Se recomienda la realización de pruebas de función hepática antes de iniciar el tratamiento y posteriormente de forma periódica y en aquellos pacientes que presenten cualquier signo o síntoma que sugiera lesión

hepática. Los pacientes que presenten un aumento en los niveles de transaminasas se deben controlar hasta que esta(s) anomalía(s) quede(n) resuelta(s). En caso de un aumento persistente de las transaminasas 3 veces el valor máximo normal, se recomienda una reducción de la dosis o la retirada de la Atorvastatina.

Precauciones: En pacientes que consuman cantidades importantes de alcohol y/o que posean antecedentes de enfermedad hepática. Se han comunicado casos de mialgia en pacientes tratados con Atorvastatina, incluyendo calambres musculares. El tratamiento debe interrumpirse si se observan unos niveles muy elevados de creatinfosfoquinasa (CPK) o si se diagnostica o sospecha una miopatía. Deben determinarse los niveles de CPK en aquellos pacientes que desarrollen cualquier signo o síntoma que sugiera una miopatía. Si persiste un aumento significativo de la CPK (valores diez veces superiores al máximo de normalidad), se recomienda la disminución de la dosis o la retirada de la Atorvastatina.

En los estudios en animales se ha evidenciado que los inhibidores de la HMG-CoA reductasa pueden influir en el desarrollo de los embriones o fetos. Durante la exposición de las madres a dosis de Atorvastatina superiores a 20 mg/kg/día (exposición clínica sistémica) se retrasó el desarrollo de las camadas y se redujo la supervivencia post-natal en ratas. En ratas, las concentraciones plasmáticas de Atorvastatina y sus metabolitos activos eran similares a las encontradas en la leche. Se desconoce si este fármaco o sus metabolitos se excretan en la leche humana<sup>8,9,10</sup>.

Interacciones: Una gran parte de las interacciones de la atorvastatina, como del resto de las estatinas, vendrá determinada por el hecho de ser sustrato de la CYP3A4. Los inhibidores del CYP3A4 aumentan la actividad de la atorvastatina y sus efectos secundarios. Por el contrario, los inductores lo disminuirán y por tanto reducirán la eficacia de la misma. Así, en relación con el metabolismo hepático nos podemos encontrar: Durante el tratamiento con otros fármacos de este grupo terapéutico el riesgo de miopatía aumenta con la administración concomitante de ciclosporina, fibratos, antibióticos macrólidos, antifúngicos azólicos o niacina y, en raras ocasiones, se ha producido rabdomiolisis con disfunción renal secundaria a mioglobinuria. Se desconoce la posible interacción con otros sustratos de esta isoenzima, pero debe considerarse para otros fármacos de estrecho margen terapéutico, como por ejemplo los fármacos antiarrítmicos de clase III incluyendo la amiodarona.

En aquellos estudios clínicos en que se administró atorvastatina junto con antihipertensivos o hipoglucemiantes no se observaron interacciones clínicamente significativas. La administración conjunta de dosis múltiples de Atorvastatina y digoxina, aumenta aproximadamente un 20% la concentración plasmática de digoxina en el estado de equilibrio. Debe controlarse adecuadamente a los pacientes que tomen digoxina. La administración conjunta de Atorvastatina con anticonceptivos orales produjo un aumento de las concentraciones

nes de noretindrona y etinil estradiol. Al seleccionar la dosis de un anticonceptivo oral, debe considerarse este aumento de las concentraciones. Colestipol: las concentraciones plasmáticas de Atorvastatina y sus metabolitos activos fueron inferiores (aproximadamente un 25%) cuando se administró conjuntamente con colestipol. No obstante, los efectos sobre los lípidos fueron mayores cuando se administraron conjuntamente Atorvastatina y colestipol que cuando los fármacos se administraron por separado.

La coadministración de Atorvastatina con una suspensión oral de antiácidos que contenía hidróxidos de magnesio y de aluminio, redujo en aproximadamente un 35% las concentraciones plasmáticas de Atorvastatina y sus metabolitos activos; sin embargo, no se alteró la reducción del colesterol-LDL. La coadministración de Atorvastatina y warfarina produjo una pequeña reducción del tiempo de protrombina durante los primeros días de tratamiento, que volvió a la normalidad a los 15 días. No obstante, los pacientes que reciban warfarina deben ser estrechamente controlados cuando se añada la Atorvastatina a su tratamiento. El verapamil y el diltiazem pueden aumentar las concentraciones séricas de simvastatina, lovastatina, Atorvastatina, y cerivastatina, que son sustratos de la CYP3A4. Esta interacción se debe presumiblemente a un aumento de la biodisponibilidad de la estatina por inhibición del metabolismo vía CYP3A4 y reducción del metabolismo de primer paso. La nefazodona puede reducir el metabolismo de las estatinas mediante la inhibición de la isoenzima CYP3A4. Se han comunicado casos de rabdomiolisis y miositis en pacientes tratados con nefazodona y lovastatina o simvastatina. Dado que todas las estatinas son sustratos para esta isoenzima, la nefazodona deberá ser evitada en la medida de lo posible.

Los antiretrovirales pueden bloquear el metabolismo de algunos inhibidores de la HMG-CoA reductasa incluyendo la Atorvastatina. La coadministración de estos antivíricos con Atorvastatina puede aumentar el riesgo de miopatía y rabdomiolisis. La mifepristona (RU-486) inhibe *in vitro* la CYP3A4 por lo que puede haber un riesgo de un aumento de los niveles plasmáticos de las estatinas. Además, dado que la mifepristona se elimina muy lentamente, esta interacción puede ser observada mucho después de la administración del fármaco. La fenitoína, un inductor de la CYP3A4 puede reducir la eficacia de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa que son sustratos de esta isoenzima (Atorvastatina, cerivastatina, lovastatina, simvastatina). En un estudio se observó reducción de los niveles de colesterol y de la gamma-glutamil transpeptidasa (que retornaron a la normalidad) cuando se discontinuó el tratamiento con fenitoína en pacientes que estaban tratados al mismo tiempo con Atorvastatina. El zumo de toronja contiene una sustancia desconocida que inhibe la isoenzima CYP3A4 de la pared intestinal. La coadministración de zumo de toronja con lovastatina ha mostrado aumentar las concentraciones plasmáticas de este fármaco y el área bajo la curva, pudiendo tener efectos similares sobre la simvastatina, Atorvastatina, y cerivastatina, que son sus-

tratos de la CYP3A4. Los pacientes tratados con estatinas deberán evitar el consumo de zumo de toronja que podría ocasionar su acumulación con el consiguiente riesgo de toxicidad (miopatía y rabdomiolisis)<sup>8,9,10</sup>.

#### Ezetimibe

**Farmacología:** El Ezetimibe es un medicamento anti-hiperlipidémico que se utiliza para bajar los niveles de colesterol. Específicamente, parece que se une a un mediador crítico de la absorción del colesterol, la proteína Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) en las células de la mucosa gastrointestinal, así como en los hepatocitos. El Ezetimibe pertenece a una clase de compuestos hipolipemiantes que inhibe selectivamente la absorción intestinal de colesterol y fitosteroles relacionados. Sólo está indicado como terapia adyuvante a la dieta para la reducción de niveles elevados de C-total, LDL-C y Apo B en pacientes con hipercolesterolemia primaria (heterocigota familiar y no familiar). También se utiliza en terapia combinada con inhibidores de la HMG-CoA reductasa. El Ezetimibe tiene un mecanismo de acción diferente de las otras clases de compuestos reductores de colesterol (inhibidores de la HMG-CoA reductasa, secuestradores de ácidos biliares, derivados del ácido fíbrico y estanoles vegetales). El Ezetimibe se localiza y parece actuar en el borde del intestino delgado e inhibe la absorción de colesterol, lo que lleva a una disminución en la entrega de colesterol intestinal al hígado. Esto provoca una reducción de depósitos de colesterol hepático y un incremento en el aclaramiento del colesterol de la sangre, este mecanismo distinto es complementario a los inhibidores de la HMG-CoA reductasa<sup>11</sup>.

**Farmacocinética - Absorción y biodisponibilidad:** Tras la administración oral, es absorbido y extensamente conjugado a un glucurónido fenólico farmacológicamente activo (ezetimibe-glucurónido). Después de una dosis única de 10 mg de Ezetimibe a adultos en ayunas, sus concentraciones plasmáticas máximas medias (C<sub>max</sub>) de 3,4 a 5,5 ng/ml se alcanzan a las 4 a 12 horas (T<sub>máx</sub>). Los valores de la C<sub>max</sub> media de Ezetimibe-glucurónido de 45 a 71 ng/ml se han logrado entre 1 y 2 horas (T<sub>máx</sub>). La biodisponibilidad absoluta del Ezetimibe no se puede determinar, ya que el compuesto es prácticamente insoluble en medios acuosos apropiados para la inyección. La C<sub>max</sub> de Ezetimibe en comprimidos de 10 mg se incrementó en un 38% con el consumo de comidas ricas en grasas; puede administrarse con o sin alimentos<sup>9</sup>.

**Distribución:** el Ezetimibe y el ezetimibe-glucurónido se unen altamente (> 90%) a las proteínas plasmáticas humanas<sup>9</sup>.

**Metabolismo:** Se metaboliza principalmente en el intestino delgado y el hígado a través de la conjugación glucurónido (una reacción fase II) con la posterior excreción biliar y renal. Un metabolismo mínimo oxidativo (una reacción de fase I) se ha observado en todas las especies evaluadas. En los seres humanos, el Ezetimibe se metaboliza rápidamente a Ezetimibe-glucurónido. El Ezetimibe y Ezetimibe-glucurónido son los principales compuestos derivados de drogas detectados

en el plasma, lo que constituye aproximadamente el 10-20% y 80-90% del fármaco total en plasma, respectivamente<sup>9</sup>.

**Eliminación:** Tanto Ezetimibe como Ezetimibe-glucurónido se eliminan del plasma con una vida media de aproximadamente 22 horas. Los perfiles plasmáticos de concentración-tiempo muestran múltiples picos, lo que sugiere ciclo enterohepático. Tras la administración oral de <sup>14</sup>C-ezetimibe (20 mg) a sujetos humanos, el Ezetimibe total (Ezetimibe + Ezetimibe-glucurónido) representó aproximadamente el 93% de la radiactividad total en plasma. Después de 48 horas, no había niveles detectables de radiactividad en el plasma. Aproximadamente el 78% y 11% de la radiactividad administrada se recuperó en las heces y la orina, respectivamente, durante un período de recolección de 10 días. El Ezetimibe fue el principal componente en las heces y el 69% de la dosis administrada, mientras que el Ezetimibe-glucurónido fue el principal componente en la orina y representó el 9% de la dosis administrada<sup>9</sup>.

**Indicaciones:** Hipercolesterolemia, Sitosterolemia homocigota (fitosterolemia)<sup>9,10,11</sup>.

**Eventos Adversos:** Reacciones adversas comunes en ensayos clínicos: Ezetimibe co-administrado con estatinas (incidencia > 2% y mayor que la estatina sola): Nasofaringitis, mialgia, infección del tracto respiratorio superior, artralgia y diarrea. Ezetimibe administrado solo (incidencia > 2% y mayor que placebo): Infección del tracto respiratorio superior, diarrea, artralgia, sinusitis y dolor en las extremidades<sup>9,10,11</sup>.

**Contraindicaciones y advertencias:** La seguridad en mujeres embarazadas no se ha establecido. Pacientes con hipersensibilidad conocida a cualquier componente de este producto. Reacciones de hipersensibilidad incluyendo anafilaxis, angioedema, erupción cutánea y urticaria se han reportado con Ezetimibe<sup>9,10,11</sup>.

**Interacciones:** Se debe tener precaución al utilizar concomitantemente Ezetimibe y ciclosporina debido a una mayor exposición a ambos medicamentos. Deben ser controladas las concentraciones de ciclosporina en pacientes tratados con Ezetimibe y ciclosporina. Los fibratos pueden aumentar la excreción de colesterol en la bilis y producir así colelitiasis. En un estudio preclínico en perros, Ezetimibe aumentó el colesterol en la vesícula biliar. Si se sospecha colelitiasis en un paciente que está recibiendo Ezetimibe y fenofibrato, se deben considerar estudios de la vesícula biliar y la terapia alternativa de reducción de lípidos. La administración concomitante de colestiramina disminuyó el área bajo la curva (AUC) de Ezetimibe total aproximadamente en un 55%. Anticoagulantes cumarínicos: Si Ezetimibe se agrega a la warfarina, debe ser vigilado apropiadamente<sup>9,10,11</sup>.

### Objetivo

Determinar la Biodisponibilidad en una dosis única, de Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas, con evaluación de los parámetros farmacocinéticos de concentración máxi-

ma en el organismo (C Máx), área bajo la curva de los niveles en el organismo ( $AUC_{0 \rightarrow t}$  y  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ) tiempo en alcanzar la concentración máxima (T Máx), tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) y constante de eliminación ( $K_e$ ).

### Material y Metodos

**Plan y Diseño del Estudio.** Se administró una dosis única de una formulación de la asociación Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas para determinar la Biodisponibilidad a 12 voluntarios sanos en una sola secuencia unilateral. Siendo éste un estudio de biodisponibilidad, 12 voluntarios es un tamaño adecuado basados en la resolución número 01400 de 2001 .

**Población:** A los voluntarios pre-seleccionados (de acuerdo con las medidas antropométricas) se les realizó una evaluación médica completa (anamnesis y examen físico), además se les efectuaron una serie de exámenes clínicos, con los cuales se evaluó función hepática, renal, hemática, entre otras. Los voluntarios fueron adultos sanos de ambos sexos con una edad comprendida entre 18 y 55 años, una relación peso/talla con un coeficiente de variación no mayor al 15% de los valores ideales; además firmaron un acta de compromiso y un consentimiento informado.

#### Criterios de Inclusión:

- Edad entre 18 – 55 años, inclusive.
- Peso corporal dentro del 15% del peso ideal para la talla y el peso específico.
- Historia médica sin antecedentes de enfermedad hepática, cardíaca, renal, sanguínea o del sistema nervioso central.
- Signos vitales y presión sanguínea normal (en adultos la presión sistólica debe ser menor de 120 mmHg y la presión diastólica de 80 mmHg) y frecuencia cardíaca adecuada (la frecuencia cardíaca en reposo es de 60 a 100 pulsaciones por minuto).
- Resultados de laboratorio dentro del rango normal o dentro de una desviación que sea considerada no significativa clínicamente por el Director Médico y el investigador principal de Delivery Technologies. (las pruebas de laboratorio se realizaron menos de un mes antes de la iniciación del estudio).
- Voluntarios dispuestos a tener una buena comunicación con los investigadores del estudio.
- Voluntarios dispuestos a cumplir con los requerimientos del estudio.
- Sin alergia a los fármacos en investigación.

#### Criterios de Exclusión:

- a. Hipersensibilidad al medicamento bajo estudio (Atorvastatina + Ezetimibe)

- b. Historia médica y/o examen físico con evidencia de desviaciones clínicamente significativas de la condición médica normal.
- c. Resultados de las pruebas de laboratorio clínicamente significativas (hepatopatías, embarazo, lactancia, pacientes con historia familiar de lesión hepática severa inducida por medicamentos, pacientes con alteraciones en el metabolismo de la urea, pacientes VIH positivos).
- d. Infección aguda una semana antes a la primera administración de fármaco en estudio.
- e. Historia de abuso de drogas o alcohol.
- f. Mujeres que consuman anticonceptivos (cualquier tipo)
- g. Voluntario fumador (más de 10 cigarrillos por día).
- h. Voluntario que no está de acuerdo en no tomar cualquier otro medicamento prescrito o no prescrito dentro de dos semanas antes de la primera administración del fármaco hasta el final del estudio.
- i. Voluntario que no está de acuerdo en no tomar vitaminas dentro de los dos días antes de la primera administración del fármaco hasta el final del estudio.
- j. Voluntarios con una dieta especial (ej. Voluntarios vegetarianos).
- k. Voluntarios que consumen grandes cantidades de alcohol o bebidas que contienen metilxantinas (cafeína, té, cola, coca-cola, chocolate).
- l. Voluntarios que no se comprometan a abstenerse de consumir cualquier bebida o alimento que contengan alcohol 48 horas antes de la administración del fármaco hasta la donación de la última muestra en cada periodo.
- m. Voluntario que no esté de acuerdo en abstenerse de consumir cualquier bebida o alimento que contenga metilxantinas, ej. (cafeína, té, cola, coca-cola, chocolate) 48 horas antes de la administración del fármaco hasta la donación de la última muestra en cada periodo.
- n. Voluntario que no esté de acuerdo en abstenerse de consumir cualquier bebida o alimento que contenga toronja (pomelo) 7 días antes de la administración del fármaco hasta la donación de la última muestra en cada periodo.
- o. Voluntario con una historia de graves enfermedades que tengan un impacto directo sobre el estudio.
- p. Participación en un estudio de bioequivalencia o en un estudio clínico en los últimos tres meses antes de la primera administración del fármaco del estudio.
- q. Voluntario con la intención de ser hospitalizado en el plazo de tres meses después de la primera administración del fármaco en estudio.

- r. Voluntario que, en el transcurso de este estudio, ha donado más de 500 mL de sangre en 14 días, 750 ml en 30 días, 1000 mL en 90 días, 1250 mL en 120 días, 1500 ml en 180 días, 2000 mL en 270 días y 2500 ml en 1 año.

Retirada de los Voluntarios: El Investigador Principal y el Director Médico de Delivery Technologies tienen la autoridad de retirar cualquier voluntario, si a su juicio es necesario, por cualquier motivo incluyendo AEs (Eventos Adversos) o problemas para cumplir con el protocolo del estudio. Cuando un voluntario se retira del estudio, se explican las razones en el Reporte de Eventos Adversos CRF y en la evaluación final.

Un voluntario será retirado del estudio en cualquiera de las siguientes circunstancias;

- a. Un evento adverso complicado.
- b. Violación al protocolo.
- c. Retirada del consentimiento.
- d. Terminación del estudio por el patrocinante.
- e. Cualquier enfermedad sistémica ocurrida durante el periodo del estudio que requiera de la ingesta de otros fármacos.

El voluntario que sea retirado por presentar algún tipo de efecto adverso complicado será monitoreado y tratado, brindándole la atención médica adecuada, con la notificación de acontecimiento adverso respectiva.

Restricciones dietéticas, estandarización de la dieta e ingesta de líquidos: Los voluntarios no consumieron alcohol, bebidas o alimentos que contuvieran metilxantinas (cafeína, té, infusión de hierba mate, cola, coca-cola, chocolate) desde las 48 horas previas a la administración del fármaco hasta las 24 horas posteriores a la última toma de muestra. Adicionalmente, no pudieron ingerir bebidas o alimentos que tuvieran toronja (pomelo) desde una semana antes de la administración del fármaco hasta el final del estudio. La ingesta de alimentos y bebidas se estandarizaron. Los sujetos permanecieron en ayunas por un periodo de 10 a 12 horas antes de recibir el medicamento. El desayuno, el almuerzo y la cena respectivamente fueron suministradas a las 4 hrs, 6 hrs y 12 hrs después de la ingestión del fármaco. Durante la fase clínica del estudio se controló la postura y la actividad física de cada uno de los voluntarios.

Administración del medicamento bajo estudio: Una tableta de Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg, fue dada con 240 mL de agua a temperatura ambiente.

Reporte de Eventos Adversos: Todos los datos de la parte clínica del estudio fueron registrados en los formatos de notificación de reacciones adversas (CRFs) por los profesionales que participaron en el estudio. Durante la ejecución y desarrollo de este estudio de Biodisponibilidad, en general, no se observó ningún evento adverso grave.

Recolección de las muestras sanguíneas: Todos los voluntarios fueron internados 12 horas antes del estudio con lo que

garantizamos un ayuno de 12 horas. La fase clínica se realizó el día previsto a las 6.00 AM. A los voluntarios se les introdujo un catéter intravenoso con precaución de tener una estricta asepsia. Un total de 18 muestras de sangre fueron colectadas a las 0 hr (antes de la administración de la formulación), 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 24.0, 36.0, 48.0 y 72,0 hrs en tubos heparinizados, los cuales se almacenaron en un congelador a -20°C. El bioanálisis de Atorvastatina y Ezetimibe se realizó en plasma sanguíneo

**Aspectos éticos:** El estudio se llevó a cabo de acuerdo con las recomendaciones para ensayos clínicos y evaluación de fármacos en humanos, que figuran en la declaración de Helsinki, revisada en las sucesivas asambleas mundiales y la actual legislación Colombiana en materia de ensayos clínicos (Resolución 2378 de 2008, Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud). El Protocolo del estudio obtuvo la aprobación por parte del Comité de Bioética el 10 de Enero de 2011. Todos los voluntarios antes de iniciar su participación en el estudio, fueron informados y firmaron un acta de compromiso y un consentimiento informado, los cuales se encuentran en los archivos de la Empresa Delivery Technologies.

**Método Bioanalítico empleado:** El bioanálisis de las muestras se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) con detección ultravioleta en un Cromatógrafo Agilent 1200. La preparación de la muestra se realizó por Extracción Líquido-Líquido (ELL), según el método Bioanalítico desarrollado y validado por Delivery Technologies. (Ver informe de validación).

**Análisis de las muestras de plasma sanguíneo:** Las muestras de sangre se rotularon muy bien con los códigos de identificación de cada voluntario y se almacenaron en tubos vacutainer heparinizados; luego se centrifugaron a 3500 rpm para obtener el plasma sanguíneo; de nuevo en tubos estériles bien rotulados se almacenó el plasma y se llevó inmediatamente a -20°C hasta el momento de su análisis. Las muestras de plasma de cada voluntario desde el tiempo cero ( $T_0$ ) hasta el último tiempo ( $T_{17}$ ), se sometieron a su análisis cromatográfico y al mismo tiempo durante cada secuencia de análisis se realizó la validación durante el estudio, la cual comprende una curva de calibración y muestras de control de calidad a tres concentraciones diferentes (baja, media y alta). Las curvas analizadas sirvieron como patrones de calibración del sistema cromatográfico y permitieron, además de aceptar o rechazar una corrida o secuencia determinada, cuantificar el principio activo en plasma para cada uno de los voluntarios a los diferentes tiempos teniendo en cuenta el porcentaje de recuperación en plasma evaluado en la validación del método. Los resultados obtenidos en la validación durante el estudio cumplieron con los criterios de aceptación.

#### **Parámetros Farmacocinéticos:**

**C Max:** Concentración máxima del fármaco que corresponde al pico de la gráfica concentración máx plasmática vs tiempo.

**T Máx:** Tiempo en el cual se alcanza la concentración plasmática máxima. Se obtiene a partir de datos sin interpolar.

**AUC 0 -t:** Área bajo la curva de concentración en plasma en función del tiempo desde tiempo cero hasta el último tiempo de muestreo t, calculada por el método de los trapecios.

**AUC t -∞:** Área bajo la curva de concentración en plasma en función del tiempo desde el último tiempo de muestreo t hasta infinito, calculada mediante la siguiente ecuación  $AUC_{t-\infty} = Ct/Ke$

**AUC 0 - ∞:** Área bajo la curva de concentración en plasma en función del tiempo desde tiempo cero hasta tiempo infinito calculada mediante la ecuación:  $AUC_{t-\infty} = AUC_{0-t} + AUC_{t-\infty}$

**Ke:** Constante aparente de eliminación calculada de la pendiente de la fase final de eliminación de la curva de concentración en plasma vs. tiempo.

**T 1/2:** Tiempo en el cual la concentración máxima se reduce a la mitad

#### **Resultados**

La administración de la asociación Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas fabricado por Laboratorio La Santé S.A., como una dosis única, produce una concentración máxima en plasma ( $C_{max}$ ) de 27.2 ng/mL en un tiempo ( $t_{max}$ ) de 1.9 horas para Atorvastatina y una concentración máxima en plasma ( $C_{max}$ ) de 40.1 ng/mL en un tiempo ( $t_{max}$ ) de 1.1 horas para Ezetimibe total (Ezetimibe libre + Ezetimibe glucurónido).

La administración de la formulación de Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas, produce un área bajo la curva de concentración en plasma hasta el tiempo t de muestreo ( $AUC_{0-t}$ ) de  $50.5 \pm 37.7$  (ng\*h /mL) para Atorvastatina y  $48.3 \pm 33.0$  (ng\*h /mL) para Ezetimibe total, y produce un área bajo la curva – concentración tiempo desde el momento de administración de dosis hasta infinito ( $AUC_{0-\infty}$ ) de  $92.5 \pm 56.0$  (ng\*h /mL) en el caso de la Atorvastatina y de  $101.3 \pm 102.8$  (ng\*h /mL) en el caso del Ezetimibe total.

Los perfiles de concentración plasmática a promedio (ng/mL) versus tiempo después de la administración de Atorvastatina y Ezetimibe total se ilustran en los gráficos 2 y 3, respectivamente, y a partir de estos, se ilustran los perfiles para cada voluntario.

#### **DISCUSIÓN**

El objetivo de este estudio fue evaluar el perfil Farmacocinético de la asociación Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas fabricadas por Laboratorio La Santé S.A, el cual se llevó a cabo satisfactoriamente en 12 voluntarios sanos, a los cuales se les administró una dosis única de 40 mg de Atorvastatina + 10 mg de Ezetimibe.

Dado que la Atorvastatina sufre un metabolismo de primer paso, principalmente por la CYP3A4, la gran variabilidad interindividual en el nivel de expresión y la actividad de esta enzima puede influir en su farmacocinética<sup>3,5,14,15,20</sup>.

El Ezetimibe y su glucurónido experimentan recirculación entero-hepática, resultando en picos múltiples en el perfil de

concentración en plasma vs tiempo. Al igual que la Atorvastatina, el Ezetimibe experimenta alta variabilidad intersujeto en la velocidad y cantidad absorbida<sup>22,23,29,31,32</sup>.

En este estudio Farmacocinético se encontró que la administración de la asociación Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas fabricadas por Laboratorio La Santé S.A, como una dosis única produce una concentración máxima (C Max) en plasma de 27.2 ng/mL (%CV= 63%) para Atorvastatina y de 40.1 ng/mL (%CV= 57%) para Ezetimibe total, en un tmax de 1.9 horas (%CV= 51%) para Atorvastatina y de 1.1 horas (%CV= 51%) para Ezetimibe total.

En cuanto a los parámetros Farmacocinéticos de constante de eliminación (Ke) y tiempo de vida media (t1/2), se encontraron valores de 0.5 h<sup>-1</sup> y 6.2 horas, respectivamente, en el caso de la Atorvastatina y valores de 0.7 h<sup>-1</sup> y 6.2 horas, respectivamente, en el caso del Ezetimibe.

Se han encontrado reportes de tiempos de vida media para Atorvastatina que van desde 7.0 hasta 39.9 horas, lo que muestra una alta variabilidad en este parámetro<sup>3,5,14,15,20</sup>.

Ahora bien, son pocos los estudios bioanalíticos reportados que se han realizado al Ezetimibe, sin embargo, el tiempo de vida media reportado para este activo está entre 22 y 30 horas<sup>8</sup>.

Los parámetros de constante de eliminación y tiempo de vida media para el Ezetimibe en nuestro estudio fueron un poco diferentes a los reportados en la literatura, los cuales también dejan ver cierta variabilidad. Cabe anotar que estos dos parámetros (Ke y t1/2) son complementarios a los parámetros de concentración máxima, el tiempo en alcanzarse la concentración máxima y el área bajo la curva (AUC).

Como se puede observar en los perfiles plasmáticos promedio, las concentraciones a las 10 horas post- dosificación tanto de Atorvastatina como de Ezetimibe no fueron ni detectables ni cuantificables, por lo que el número de datos en la fase de eliminación del perfil farmacocinético fue un poco reducido, sin tener esto un efecto significativo en la fase estadística de este estudio.

Los resultados de parámetros farmacocinéticos que definen la cantidad absorbida de cada activo en la formulación y la velocidad a la cual se realiza este proceso, tales como concentración máxima (Cmax), tiempo en alcanzarse la concentración máxima (Tmax) y área bajo la curva (AUC) obtenidos en este estudio concuerdan con lo reportado y publicado previamente para ambas moléculas. La alta variabilidad interindividual observada en el comportamiento farmacocinético en nuestro estudio fue consistente con los resultados obtenidos en estudios previos .

Se pudo determinar que la coadministración de Atorvastatina con Ezetimibe no afecta la farmacocinética de ninguno de los activos, puesto que, aunque son supremamente limitados los estudios bioanalíticos realizados a la Atorvastatina y el Ezetimibe, los resultados obtenidos son bastante cercanos

a los parámetros farmacocinéticos reportados para cada una de las moléculas individualmente.

La seguridad y tolerabilidad de la formulación de Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas fue asegurada por observación de efectos adversos reportados y control de signos vitales (pulso, presión sistólica y diastólica), para este caso la formulación mostró ser bastante segura, ya que no hubo reporte de efectos secundarios, ni cambios en signos vitales.

## Conclusión

De acuerdo con los resultados obtenidos y considerando aquellos parámetros farmacocinéticos que reflejan la cantidad de Atorvastatina y cantidad de Ezetimibe total absorbidos por el organismo y la velocidad a la cual se realiza este proceso, **la asociación de Atorvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg tabletas fabricadas por Laboratorios La Santé S.A presenta una farmacocinética similar a lo reportado en estudios previos.**

Resumen de Parámetros Farmacocinéticos.

ATORVASTATINA	
PARAMETROS	MEDIA ± SD
T Max (h)	1.9 ± 1.0
C Max (ng/mL)	27.2 ± 17.2
AUC <sub>0→t</sub> (ng*h/mL)	50.5 ± 37.7
AUC <sub>0→∞</sub> (ng*h/mL)	92.5 ± 56.0
Ke (1/h)	0.5 ± 0.6
t 1/ 2 (h)	6.2 ± 8.7

EZETIMIBE	
PARAMETROS	MEDIA ± SD
T Max (h)	1.1 ± 0.5
C Max (ng/mL)	40.1 ± 23.0
AUC <sub>0→t</sub> (ng*h/mL)	48.3 ± 33.0
AUC <sub>0→∞</sub> (ng*h/mL)	101.3 ± 102.8
Ke (1/h)	0.7 ± 1.0
t 1/ 2 (h)	6.2 ± 9.2

## Referencias

1. A. Mohammadi et al. A stability-indicating high performance liquid chromatographic (HPLC) assay for the simultaneous determination of atorvastatin and amlodipine in commercial tablets. J. Chromatogr. B 846 (2007) 215 - 221.
2. S. Ertürk et al. An HPLC method for the determination of atorvastatin and its impurities in bulk drug and tablets. J. Pharm. Biomed. Anal. 33 (2003) 1017\_1023
3. G. Bahrami et al. Determination of atorvastatin in human serum by reversed-phase high-performance liquid chromatography with UV detection. J. Chromatogr. B 826 (2005) 41 - 45.
4. G. Bahrami et al. Application of one-step liquid chromatography electrospray tandem MS/MS and collision-induced dissociation to quantification of ezetimibe and identification of its glucuronated metabolite in human serum: A pharmacokinetic study. J. Chromatogr. B 878 (2010) 2789 - 2795.
5. Atorvastatin: Clarke's Analysis of Drug and Poisons, London: Pharmaceutical Press , electronic version, 2005.
6. O'Neil, M.J. (ed.). The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals ,



Drugs, and Biologicals. 13<sup>th</sup> Edition, Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc., 2001.

7. Drug Bank. Recuperado el 19 de Noviembre de 2010, de <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01076>.
8. Laurence L. Brunton, J. S. (2006). Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics (11a ed.). New York: McGraw-Hill.
9. RxList: The Internet Drug Index. Recuperado el 19 de Noviembre de 2010, de <http://www.rxlist.com/>.
10. NCBI. Recuperado el 19 de Noviembre de 2010, de <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
11. Drug Bank. Recuperado el 19 de Noviembre de 2010, de <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00973>.
12. R. Penn et al. An Open-Label, Crossover Study of the Pharmacokinetics of Insoluble Drug Delivery®-MicroParticle Fenofibrate in Combination with Atorvastatin, Simvastatin, and Extended-Release Niacin in Healthy Volunteers. *Clinical Therapeutics*/Volume 28, Number 1, 2006.
13. Lucie Novakova, Dalibor Satinsky, Petr Solich. HPLC methods for the determination of simvastatin and atorvastatin. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 27, No. 4, 2008.
14. Y.-M. Liu et al. Pharmacokinetics and Bioequivalence Evaluation of Two Different Atorvastatin Calcium 10-mg Tablets: A Single-Dose, Randomized-Sequence, Open-Label, Two-Period Crossover Study in Healthy Fasted Chinese Adult Males. *Clinical Therapeutics*/Volume 32, Number 7, 2010.
15. H. Farahani et al. Quantitation of atorvastatin in human plasma using directly suspended acceptor droplet in liquid – liquid liquid microextraction and high-performance liquid chromatography- ultraviolet detection. *Talanta* 80 (2009) 1001 - 1006.
16. Lincy Joseph et al. Simultaneous estimation of Atorvastatin and Ramipril by RP-HPLC and Spectroscopy. *Pak. J. Pharm. Sci.*, Vol.21, No.3, July 2008, pp.282-284
17. A.A. Kadav, D.N. Vora. Stability indicating UPLC method for simultaneous determination of atorvastatin, fenofibrate and their degradation products in tablets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 48 (2008) 120 – 126.
18. L. Nováková et al. Ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometric – detection in clinical analysis of simvastatin and atorvastatin. *J. Chromatogr. B* 877 (2009) 2093 - 2103
19. Beata Stanisz and Lukasz Kania. Validation of HPLC method for determination of Atorvastatin in tablets and for monitoring stability in solid phase. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, Vol. 63 No. 6 pp. 471-476, 2006.
20. V. Borek -Dohalsk. J. Huclová. B. Barrett. B. Nemeč. I. Ulc. I. Jelínek. Validated HPLC– MS MS method for simultaneous determination of atorvastatin and 2-hydroxyatorvastatin in human plasma pharmacokinetic study. *Anal Bioanal Chem* (2006) 386: 275 - 285.
21. Carretero C. Marián. Ezetimiba. *Offarm*. Vol 24, Num 2. Marzo 2005.
22. F. Ezzet et al. A Population Pharmacokinetic Model That Describes Multiple Peaks Due to Enterohepatic Recirculation of Ezetimibe. *Clinical Therapeutics*/Vol. 23, No. 6,2001.
23. G. Bahrami et al. Application of one-step liquid chromatography electrospray tandem MS/MS and collision-induced dissociation to quantification of ezetimibe and identification of its glucuronated metabolite in human serum: A pharmacokinetic study. *J. Chromatogr. B* 878 (2010) 2789 – 2795.
24. Sonawane, Shirkhedkar, Fursule & Surana. Application of UV-Spectrophotometry and RP-HPLC for Simultaneous Determination of Atorvastatin Calcium and Ezetimibe in Pharmaceutical Dosage Form. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry* Volume 1, Number 1, September 2006.
25. S.J.S. Basha et al. Concurrent determination of ezetimibe and its phase-I and II metabolites by HPLC with UV detection: Quantitative application to various in vitro metabolic stability studies and for qualitative estimation in bile. *J. Chromatogr. B* 853 (2007) 88 - 96.
26. R. Sistla et al. Development and validation of a reversed-phase HPLC method for the determination of ezetimibe in pharmaceutical dosage forms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 39 (2005) 517 – 522.
27. El-Moghazy et al. Development and Validation of HPLC, TLC and Derivative Spectrophotometric Methods for the Analysis of Ezetimibe in the Presence of Alkaline Induced Degradation Products. *J. Chin. Chem. Soc.*, Vol. 56, No. 2, 2009.
28. P.R. Oliveira, et al. Development and Validation of a Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for the Determination of Ezetimibe in Human Plasma and Pharmaceutical Formulations. *Chromatographia* 2006, 63, April (No. 7/8).
29. H.R. Davis. Ezetimibe: first in a new class of cholesterol absorption inhibitors. *International Congress Series* 1262 (2004) 243 - 246.
30. Muhammad Ashfaq et al. HPLC determination of Ezetimibe and Simvastatin in pharmaceutical formulations. *J. Chil. Chem. Soc.*, 52, N° 3 (2007).
31. S. Li et al. Liquid chromatography negative ion electrospray tandem mass spectrometry method for the quantification of ezetimibe in human plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 40 (2006) 987 – 992.
32. L. Jeu and J.W.M. Cheng. Pharmacology and Therapeutics of Ezetimibe (SCH 58235), a Cholesterol-Absorption Inhibitor. *Clinical Therapeutics*. Accepted for publication June 27, 2003.
33. M. Hefnawy et al. Rapid and sensitive simultaneous determination of ezetimibe and simvastatin from their combination drug products by monolithic silica high-performance liquid chromatographic column. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 50 (2009) 527 – 534.
34. J.V.L.N. Seshagiri Rao et al. Simultaneous Determination of Simvastatin and Ezetimibe in Tablets by HPLC. *E-Journal of Chemistry* 2009, 6(2), 541-544.
35. Jayapal Reddy Sama et al. Simultaneous Estimation of Atorvastatin and Ezetimibe in Pharmaceutical Formulations by RP-HPLC Method. *Der Pharmacia Lettre* 2010: 2 (1) 427-436.
36. S. Singh et al. Stress degradation studies on ezetimibe and development of a validated stability- indicating HPLC assay *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41 (2006) 1037 - 1040.