



Contributi professionali

Studio di stabilità chimico-fisica di una formulazione per la terapia antalgica a base di levobupivacaina e fentanyl

Cinzia Boselli¹, Mirella Francalanci¹, Giovanna Sacchetto², Roberto Sacco¹

¹Servizio di Farmacia, Azienda Sanitaria Ospedaliera San Luigi, Orbassano (Torino)

²UOA Laboratorio Analisi, Azienda Sanitaria Ospedaliera San Luigi, Orbassano (Torino)

Riassunto: Il trattamento del dolore acuto post-chirurgico è ancora un problema importante in analgesia. Presso la farmacia dell'ospedale San Luigi nel laboratorio centralizzato di terapia antalgica si allestiscono da diversi anni formulazioni standard a base di ropivacaina e fentanyl per il trattamento del dolore post-operatorio. Dopo la recente immissione in commercio della levobupivacaina, nuovo anestetico locale a lunga durata d'azione, è stato programmato l'allestimento di una nuova formulazione a base di levobupivacaina e fentanyl. La levobupivacaina è l'enantiomero levogiro purificato della bupivacaina, l'anestetico locale a lunga durata d'azione maggiormente usato per decenni, fino all'evidenza di severa tossicità cardiaca che si è manifestata con sei casi di arresto cardiaco in seguito a iniezione di bupivacaina. La levobupivacaina ha dimostrato evidenze cliniche di minor tossicità cardiaca e neurologica a parità di potenza analgesica rispetto alla bupivacaina racemica e maggiore efficacia rispetto alla ropivacaina, attualmente usata. Poiché la ditta produttrice garantisce la stabilità chimico-fisica della levobupivacaina in miscela con il fentanyl per non più di 40 ore a 20-22°C e il nostro laboratorio richiede una stabilità minima di 14 giorni per tutte le formulazioni allestite, si è reso necessario effettuare uno studio di stabilità della nuova miscela. Lo studio è stato condotto in due fasi successive analizzando, mediante sistema HPLC, le concentrazioni dei farmaci nel tempo e a due diverse condizioni di conservazione: temperatura controllata (2-8°C) e temperatura ambiente (25-30°C). I risultati ottenuti hanno dimostrato una chiara stabilità di entrambi i farmaci per tutta la durata dei monitoraggi. Essendo la preparazione stabile per un periodo di tempo decisamente superiore ai 14 giorni richiesti, si potrà procedere all'inserimento nei protocolli di terapia antalgica, come formulazione standard per il trattamento del dolore acuto post-operatorio.

Parole chiave: stabilità, levobupivacaina, fentanyl, dolore acuto, terapia antalgica.

Introduzione

La bupivacaina è stata per decine di anni l'anestetico locale a lunga durata d'azione più ampiamente usato in analgesia. Tuttavia, la sua riconosciuta tossicità nei confronti del sistema nervoso centrale e, soprattutto, del sistema cardiocircolatorio, ha indotto alla ricerca di nuovi agenti anestetici con un migliore profilo di sicurezza. Dopo l'evidenza di una severa tossicità bupivacaina-correlata (sei casi di arresto cardiaco in seguito ad anestesia regionale¹ e un cer-

Abstract: *Physicochemical stability of a levobupivacaine and fentanyl mixture for antalgic therapy.*

Acute pain is still a common occurrence after surgery. In our hospital pharmacy (ASO San Luigi), a centralized service for antalgic therapy is active since 2003. In our laboratory we prepare several ropivacaine and fentanyl preparations for acute postoperative pain management. Recently, a new long-acting local anaesthetic has been commercialized: levobupivacaine. This agent is a pure left isomer of bupivacaine and it was the most widely used local anaesthetic up to the report of six cases of cardiac arrest after bupivacaine injection. Levobupivacaine has identical efficacy to bupivacaine, but it shows less toxicity both on the heart and on the SNC; moreover, it is more potent than ropivacaine. On these perspectives, according to our anaesthetists, we set up a levobupivacaine and fentanyl mixture. Unfortunately, the stability of levobupivacaine in association with fentanyl is guaranteed only for 40 hours at 20-22°C and our centralized service requires at least a stability of 14 days for every preparation. Before starting the systematic preparation, we performed physicochemical studies. The purpose of this study was to evaluate the stability of solutions containing either levobupivacaine alone or levobupivacaine and fentanyl in combination. The solutions were stored both at refrigerated temperature (2-8°C) and at room temperature (25-30°C). To assess chemical stability, levobupivacaine and fentanyl concentrations were determined by high performance liquid chromatography. The results of this study suggested that preparations were stable at both storage conditions for much more than 14 days. The clinical implications of these results are that, on the basis of physicochemical stability, levobupivacaine and fentanyl mixture may be prepared as a standard preparation for postoperative analgesia.

Key words: stability, levobupivacaine, fentanyl, acute pain, antalgic therapy.

to numero di morti durante il parto cesareo in seguito a somministrazione endovenosa di bupivacaina allo 0,75%²), sono stati recentemente introdotti nella pratica clinica due nuovi anestetici locali a lunga durata d'azione: la ropivacaina e la levobupivacaina. Entrambi questi composti sono isomeri puri S(-) otticamente attivi, al contrario della bupivacaina, che è una miscela racemica. Gli isomeri otticamente attivi condividono le stesse proprietà chimico-fisiche della miscela racemica, ma sono dotati di un carbonio asimmetrico, cosa che conferisce loro la capacità di ruotare il

piano della luce polarizzata. La levobupivacaina è l'enantiomero levogiro della bupivacaina, mentre la ropivacaina è l'S-enantiomero di un omologo della bupivacaina, in cui il gruppo butilico è stato sostituito da un gruppo propilico. Proprio alla capacità levogira di queste molecole è attribuita una minore incidenza di cardiotoxicità con conseguente migliore sicurezza nel profilo tossicologico (Figure 1 e 2).

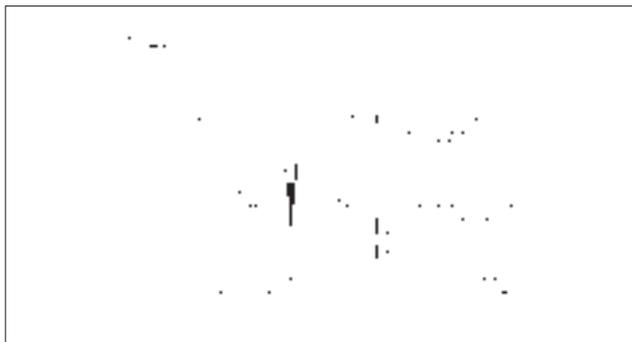


Figura 1. Formula della levobupivacaina.

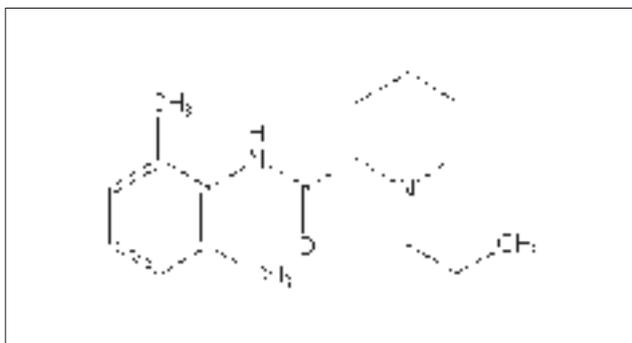


Figura 2. Formula della ropivacaina.

La ropivacaina³ è stata il primo dei due nuovi anestetici locali a raggiungere il mercato. I primi studi clinici su pazienti volontari⁴ suggerirono che la ropivacaina era simile alla bupivacaina per estensione del blocco sensoriale, sebbene meno intenso e di durata inferiore. Questa minore durata d'azione ha costituito un vantaggio clinico: attualmente si ritiene che la ropivacaina sia il 20-40% meno potente della bupivacaina, cosa che può spiegare la minore tossicità cardiaca quando somministrata a uguali concentrazioni.

La levobupivacaina è l'anestetico locale più recentemente introdotto in commercio. Recenti studi clinici, che hanno

comparato l'azione della levobupivacaina rispetto alla bupivacaina racemica, ne hanno dimostrato una potenza identica, ma una durata d'azione più lunga e una tossicità inferiore del 30%⁵. Queste caratteristiche la rendono preferibile non solo alla bupivacaina, rispetto a cui si ha un vantaggio in termini di sicurezza farmacologica, ma anche alla ropivacaina, rispetto alla quale si ha una maggiore potenza analgesica⁶.

Le indicazioni terapeutiche della levobupivacaina sono⁷:

- anestesia chirurgica maggiore (per es., anestesia epidurale spinale), blocco della conduzione nervosa periferica minore (per es., per infiltrazione locale), blocco peribulbare nella chirurgia oftalmica;
- trattamento del dolore, infusione epidurale continua, somministrazione epidurale in bolo singolo o multiplo per il trattamento del dolore, dolore post-operatorio o analgesia da parto.

Nel laboratorio centralizzato di terapia antalgica della farmacia dell'ASO San Luigi, sono attualmente allestite per il trattamento del dolore acuto post-operatorio diverse formulazioni standard, tutte a base di ropivacaina, da sola o in associazione con il fentanyl (Tabella 1).

In seguito alle evidenze cliniche, che dimostrano un significativo vantaggio clinico nell'uso della levobupivacaina, in accordo con i medici anestesisti, abbiamo programmato l'allestimento di una nuova formulazione standard a base di levobupivacaina (Chirocaina[®]) e fentanyl (Fentanest[®]) per il trattamento del dolore acuto post-operatorio (Tabella 2).

L'organizzazione interna del servizio di allestimento richiede che tutte le formulazioni standard allestite abbiano una stabilità di almeno 14 giorni. La scheda tecnica della Chirocaina[®] e la ditta produttrice da noi inter-

Tabella 1. Formulazioni standard per il trattamento del dolore acuto post-operatorio attualmente allestite all'ASO San Luigi.

| Standard | Via di somministrazione | Formulazione |
|------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Standard A | Elastomero a flusso variabile (0,5-2-3-5-7,5 ml/ora) | Ropivacaina 600 mg Fentanyl 0,6 mg Soluzione fisiologica 203 ml Volume totale 275 ml |
| Standard per via perinervosa | Elastomero a flusso variabile (1-5-7-12-15 ml/ora) | Ropivacaina 600 mg Soluzione fisiologica 215 ml Volume totale 275 ml |
| Sacca R 275 ml | Sacca da infondere mediante pompa infusione | Ropivacaina 600 mg Fentanyl 0,6 mg Soluzione fisiologica 203 ml Volume totale 275 ml |

Tabella 2. Nuova formulazione standard in programma di allestimento.

| Standard | Via di somministrazione | Formulazione |
|----------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sacca L 275 ml | Sacca da infondere mediante pompa infusione | Levobupivacaina 350 mg Fentanyl 0,6 mg Soluzione fisiologica 193 ml Volume totale 275 ml |

pellata ci hanno potuto garantire, al contrario, una stabilità chimico-fisica molto più limitata nel tempo:

- dopo diluizione in soluzione fisiologica per 7 giorni a 20-22°C non in associazione;
- per 40 ore a 20-22°C in associazione con clonidina, fentanyl e morfina⁷.

Data l'insufficienza dei dati sperimentali fornitici dalla ditta e reperiti in letteratura, abbiamo programmato uno studio di stabilità prima di procedere all'allestimento sistematico della nuova formulazione.

Con questo studio, ci siamo proposti di valutare la stabilità chimico-fisica della preparazione antalgica contenente 1,27 mg/ml di levobupivacaina e 0,002 mg/ml di fentanyl in soluzione fisiologica. La stabilità della formulazione è stata testata nel tempo e a due diverse condizioni di conservazione: temperatura ambiente e temperatura controllata (2-8°C).

Materiali e Metodi

Lo studio, svolto in collaborazione tra la SC Farmacia dell'ASO San Luigi e il Laboratorio Analisi dell'ospedale stesso, è stato condotto in due fasi successive.

1. Nella prima fase di indagine, si è voluta accertare la stabilità della sola levobupivacaina non in associazione. Sono state allestite due sacche di composizione identica (1,27 mg/ml di levobupivacaina in soluzione fisiologica per un volume totale di 275 ml) conservate in condizioni differenti: la prima è stata conservata in frigorifero a temperatura controllata (2-8°C), la seconda è stata conservata a temperatura ambiente e sottoposta, quindi, ai normali sbalzi termici che può subire se conservata in un qualunque reparto. Questo primo monitoraggio è stato valutato nell'arco di 45 giorni.
2. Nella seconda fase si è proceduto all'allestimento di due sacche contenenti levobupivacaina (1,27 mg/ml) in associazione con il fentanyl (0,002 mg/ml), per un volume totale di 275 ml in soluzione fisiologica, anche in questo caso conservate una in frigorifero e una a temperatura ambiente. In questa seconda fase, il monitoraggio è stato effettuato per 60 giorni.

Durante i due monitoraggi, sono state valutate le concentrazioni dei due farmaci mediante l'analisi HPLC di campioni prelevati dalle singole sacche. In corrispondenza di ogni prelievo, le soluzioni sono state esaminate per verificare eventuali cambiamenti di colore o la comparsa di torbidità o precipitati. Inoltre, nel corso della seconda prova, è stata monitorata la temperatura della sacca conservata a temperatura ambiente.

I campioni sono stati analizzati, in accordo con i metodi presenti in letteratura⁸, con la seguente procedura: 50 µL di campione, prelevato direttamente dalla sacca, sono stati iniettati in un sistema per HPLC. La separazione dei composti è stata effettuata usando un'eluizione isocratica (fase mobile: 50 mM H₃PO₄, pH=3 e acetonitrile in proporzione di 70:30) con un flusso alla velocità di 1 mL/min e alla temperatura di 25°C.

Come standard interno si sono usate delle soluzioni di clomipramina cloridrato diluite in soluzione fisiologica alla concentrazione di 0,5 µg/mL per identificare la levobupivacaina e di 0,025 µg/mL per identificare il fentanyl.

Il sistema per HPLC (AGILENT®) utilizzato ha le seguenti caratteristiche:

- pompa quaternaria;
- rivelatore UV ($\lambda = 223$ nm);
- precolonna MICROGUARD RP;
- colonna C18 (3,9 x 150 mm) - BIORAD®.

Per i calcoli è stata valutata l'altezza dei picchi mediante l'integratore della stessa ditta.

I tempi di ritenzione sono stati 1,9 minuti per il fentanyl e 3,9 minuti per la levobupivacaina (Figura 3).

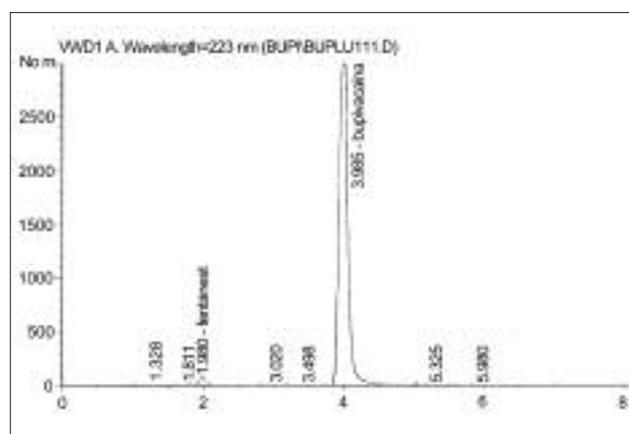


Figura 3. Esempio di cromatogramma.

Risultati

Il primo monitoraggio è stato effettuato nell'arco di 45 giorni su una preparazione contenente levobupivacaina in assenza di fentanyl per mettere a punto il metodo di analisi della levobupivacaina e fare una prima valutazione sull'andamento delle concentrazioni del farmaco.

I valori ottenuti dall'analisi statistica dei dati sono stati i seguenti:

1. concentrazione media: 1,2362 mg/mL per la sacca conservata in frigo e 1,2254 mg/mL per la sacca conservata fuori frigo;
2. deviazione standard: 0,0432 mg/mL per la sacca conservata in frigo e 0,0553 mg/mL per la sacca conservata fuori frigo;
3. coefficiente di variazione: 3,494 per la sacca conservata in frigo e 4,515 per la sacca conservata fuori frigo (Figura 4).

Nella seconda fase dello studio si è voluto ripetere il monitoraggio nelle stesse condizioni analitiche, ma con una preparazione a formulazione completa, in modo da confermare l'andamento delle concentrazioni di

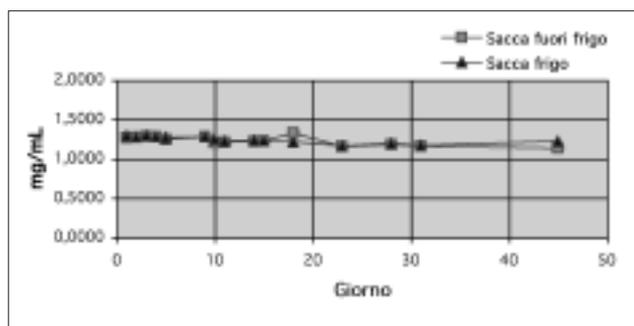


Figura 4. Grafico relativo alle concentrazioni di levobupivacaina nel primo monitoraggio.

levobupivacaina ed eventualmente verificare la possibile interazione tra la levobupivacaina e il fentanyl. Questo secondo monitoraggio è stato effettuato per 60 giorni, data la stabilità dimostrata dal farmaco nella prova precedente. I risultati ottenuti sono stati i seguenti:

Levobupivacaina:

- concentrazione media: 1,2735 mg/mL per la sacca conservata in frigo e 1,2801 mg/mL per la sacca conservata fuori frigo;
- deviazione standard: 0,0641 mg/mL per la sacca conservata in frigo e 0,0669 mg/mL per la sacca conservata fuori frigo;
- coefficiente di variazione: 5,035 per la sacca conservata in frigo e 5,225 per la sacca conservata fuori frigo (Figura 5).

Fentanyl:

- concentrazione media: 0,0020 mg/mL per la sacca conservata in frigo e 0,0021 mg/mL per la sacca conservata fuori frigo;
- deviazione standard: $7,546 \cdot 10^{-5}$ mg/mL per la sacca conservata in frigo e $8,914 \cdot 10^{-5}$ mg/mL per la sacca conservata fuori frigo;
- coefficiente di variazione: 3,681 per la sacca conservata in frigo e 4,276 per la sacca conservata fuori frigo (Figura 6).

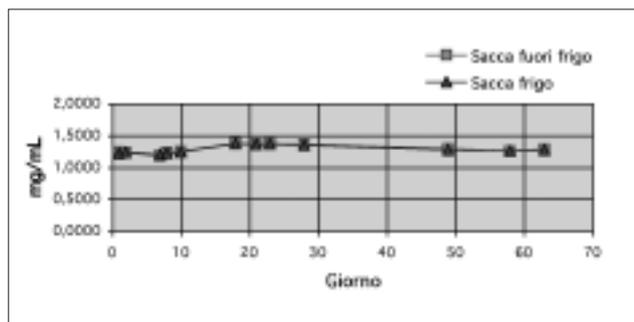


Figura 5. Grafico relativo alle concentrazioni di levobupivacaina nel secondo monitoraggio.

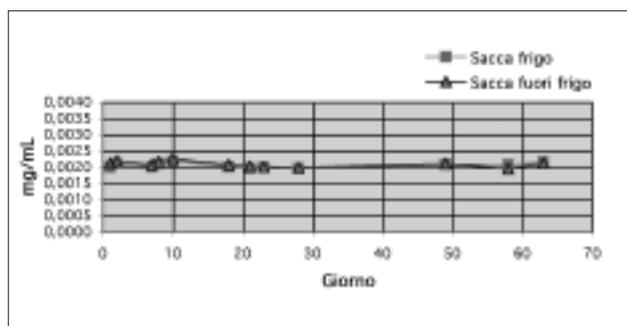


Figura 6. Grafico relativo alle concentrazioni di fentanyl nel secondo monitoraggio.

Monitoraggio della temperatura

Nel corso del secondo monitoraggio, in corrispondenza di ogni prelievo, è stata verificata la temperatura della sacca conservata a temperatura ambiente, per evidenziare un'eventuale relazione tra le variazioni di temperatura e di concentrazione dei due farmaci. Non sono state osservate variazioni evidenti nelle concentrazioni dei due farmaci correlabili con la temperatura, nonostante le sacche conservate a temperatura ambiente abbiano subito sbalzi termici consistenti (Tabella 3).

Tabella 3. Monitoraggio della temperatura della sacca conservata fuori frigo.

| Giorno | T° Sacca fuori frigo |
|--------|----------------------|
| 1 | 25 |
| 2 | 25 |
| 7 | 27 |
| 8 | 29 |
| 10 | 27 |
| 18 | 25 |
| 21 | 25 |
| 23 | 22 |
| 28 | 25 |
| 49 | 26 |
| 58 | 25 |
| 63 | 25 |

Ispezione visiva

L'ispezione visiva del contenuto delle sacche, effettuata al momento di ogni prelievo, non ha messo in evidenza variazioni nella composizione delle preparazioni. Per tutto il periodo dei due monitoraggi, queste hanno mantenuto intatte le loro caratteristiche di soluzioni limpide e incolori.

Discussione e considerazioni conclusive

Il problema dell'accertamento della stabilità e della compatibilità di una miscela infusionale prima dell'allestimento deve essere una delle priorità di un laboratorio

di terapia antalgica, data la varietà di preparazioni che vengono richieste dal medico e la notevole carenza di dati disponibili in letteratura sull'argomento.

Lo studio condotto rientra in quest'ottica, con l'obiettivo di un miglioramento continuo della qualità del servizio, in modo da poter garantire la massima correttezza nella somministrazione di questo particolare tipo di farmaci e una conseguente sicurezza per il paziente.

I risultati ottenuti con il primo monitoraggio hanno dimostrato una chiara stabilità della levobupivacaina; stabilità che è stata confermata anche per un periodo di tempo maggiore con il secondo monitoraggio.

Nella seconda fase dello studio si è anche accertato come l'associazione tra la levobupivacaina e il fentanyl non abbia provocato interazioni tra i due farmaci, evidenziabili con una diminuzione di concentrazione di uno dei due. I valori di coefficiente di variazione dimostrano, infatti, che nel corso dei 60 giorni di monitoraggio non si è riscontrata alcuna diminuzione sensibile delle concentrazioni né per la levobupivacaina, né per il fentanyl in nessuna delle sacche testate.

Nonostante il notevole sbalzo termico subito dalla sacca conservata a temperatura ambiente, neanche in questo caso si è evidenziata una diminuzione sensibile delle concentrazioni dei due farmaci, rendendo entrambe le temperature idonee alla conservazione delle preparazioni già allestite.

A conclusione del nostro studio di stabilità chimico-fisica, possiamo affermare che la preparazione studiata è stabile per almeno due mesi, periodo di tempo ampiamente superiore ai 14 giorni imposti come scadenza a tutte le formulazioni allestite dal nostro laboratorio.

La notevole stabilità dimostrata ha permesso al Servizio di iniziare la programmazione dell'allestimento sistematico della nuova formulazione standard.

Bibliografia

1. Albright GA. Cardiac arrest following regional anesthesia with etidocaine or bupivacaine. *Anesthesiology* 1979; 51: 285-7.
2. Marx GF. Cardiotoxicity of local anesthetics- the plot thickens. *Anesthesiology* 1984; 60: 3-5.
3. Mc Clure JH. Ropivacaine. *Br J Anaesth* 1996; 76: 300-7.
4. Kuczkowski KM. Levobupivacaine and ropivacaine: the new choices for labor analgesia. *Int J Clin Pract* 2004; 58: 604-5.
5. Kopacz DJ, Allen HW, Thomson GE. A comparison of epidural levobupivacaine 0,75% with racemic bupivacaine for lower abdominal surgery. *Anesth Analg* 2000; 90: 642-8.
6. McLeod GA, Burke D. Levobupivacaine. *Anaesthesia* 2001; 56: 317-31.
7. Scheda tecnica Chirocaine®- Abbott SpA.
8. Jappinen A, Turpeinen M, Kokki H, et al. Stability of sufentanyl and levobupivacaine solutions and a mixture in a 0,9% sodium chloride infusion stored in polypropylene syringes. *Eu J Pharm Science* 2003; 19: 31-6.