

IN VITRO MÓDSZEREK FEJLESZTÉSE A BIOHASZNOSULÁS JOBB ELŐREJELZÉSÉRE

Doktori értekezés

Katona Miklós Tamás

Semmelweis Egyetem

Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Takácsné Dr. Novák Krisztina, D.Sc., professor emerita

Hivatalos bírálók: Dr. Ludányi Krisztina, Ph.D., egyetemi docens
Szabóné Dr. Révész Piroska, D.Sc., professor emerita

Komplex vizsga bizottság elnöke:
Dr. Zelkó Romána, D.Sc., egyetemi tanár

Komplex vizsga bizottsági tagok:
Dr. Ambrus Rita, Ph.D., egyetemi docens
Mazákné Dr. Kraszni Márta, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Tóth Gergő, Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest
2023

1 BEVEZETÉS

Definíció szerint a generikus készítmény, olyan gyógyszer, amely egy korábban már kereskedelmi forgalomba hozott készítménnyel azonos hatóanyagot vagy anyagokat tartalmaz. Hatékonysága és biztonságossága az originális készítmény klinikai eredményein alapszik, forgalomba hozatala annak szabadalmi lejárta követően lehetséges. Az originális készítménnyel azonos mértékű és sebességű felszívódást a generikus gyártó bioekvivalencia vizsgálatok során igazolja.

A nem bioekvivalens készítmények fejlesztése a megnövekedett költségek és az újraformulálással járó többletidő miatt jelentős kockázattal jár a generikus készítményjelölt piacralépési esélyeit tekintve. A sikertelen bioekvivalencia vizsgálatok sok esetben a nem megfelelő prediktivitású kioldódásvizsgálati módszerekre, illetve az *in vitro* – *in vivo* korreláció hiányára vezethetők vissza, ezért az FDA a biohasznosulás előjelzésére hatékonyabb módszerek fejlesztését javasolta.

A bioekvivalencia vizsgálatok során a teszt és a referens készítmények felszívódásának összehasonlítása a plazma koncentráció – idő görbék elemzésén alapul. A görbe maximuma (C_{max}) a felszívódás sebességével, míg a görbe alatti terület (AUC) a felszívódás mértékével arányos. A vizsgálatok sztenderd étkezési és folyadékbeviteli protokoll szerint zajlanak. Mind az európai, mind az amerikai hatóságok elsődlegesen az éhgyomri körülmények között végzett vizsgálatokat írják elő, mivel ezek tekinthetők a legérzékenyebbnak a készítmények közötti potenciális különbségek kimutatására.

Az azonnali-felszabadulású készítmények három legfontosabb felszívódást befolyásoló jellemzője a hatóanyag oldhatósága és permeabilitása, valamint a készítményből való kioldódás. Az *in vitro* kioldódás és az *in vivo* felszívódás közötti korrelációra a BCS II, azaz rosszul oldódó, magas permeabilitású hatóanyagok esetén lehet leginkább számítani, ezért ilyen esetben különösen fontos a megfelelő bioreleváns kioldódásvizsgálati módszerek alkalmazása. A kutatási fázisban az ilyen típusú molekulák aránya folyamatosan növekszik. A nyújtott-hatóanyagleadású készítmények felszabadulásának és egyben felszívódásának sebességmeghatározó lépése a készítményformából való felszabadulás. Ezen gyógyszerformák esetén az IVIVC modellek fejlesztése egyes készítmény paraméterek változása esetén a bioekvivalencia vizsgálatok helyettesítését is szolgálhatja. A késleltetett-hatóanyagleadású készítmények jellemzően a gyomorsavnak ellenálló bevonatot tartalmaznak, így felszabadulásuk a

gyomor elhagyását követően kezdődik. Habár ezen készítmények *in vivo* kioldódása nagyban formulációfüggő, a biohasznosulásukat előrejelző *in vitro* kioldómódszerek hiánya különösen gyakori.

A minőség-ellenőrzés során alkalmazott gyógyszerkönyvi kioldódásvizsgálati módszerekkel szemben a készítményfejlesztés során az emésztőrendszerben várható viselkedés minél jobb modellezése, a referens készítményhez viszonyított biohasznosulás előrejelzése az elsődleges cél. A felszívódás *in vitro* modellezéséhez elengedhetetlen a készítmény és az azt körülvevő fiziológiás környezet közötti interakció megértése. Következésképpen az emésztőrendszer tulajdonságainak megfelelő modellezése szükséges. Ennek megfelelően a 2000-es évektől intenzív kutatás kezdődött mind a fiziológiailag releváns közegek, mind a fejlett kioldó rendszerek fejlesztésének irányába. Dressman és munkatársainak köszönhetően váltak ismertté a gyógyszeriparban manapság széles körben alkalmazott bioreleváns közegek, melyek étkezés előtti (fasted state) és utáni (fed state) állapotában szimulálják a gyomor- (gastric fluid) és bélnedv (intestinal fluid) fiziológiai tulajdonságait. A figyelembe vett paraméterek közé tartozik az adott szakaszra jellemző pH érték, puffer kapacitás, ozmolalitás, és felületaktív anyag koncentráció. A készítményeket az emésztőrendszerben való előrehaladás során körülvevő közegek dinamikus változásának modellezésére több-kompartmentes kioldó rendszerek terjedtek el. Közülük jelenleg talán legismertebb az emésztőrendszeri szimulátor (GIS), amely egy gyomor, patkóbél és éhbél szakaszokat modellező három-kompartmentes rendszer. Az egyes kompartmentek közti oldat áramlást és a belső folyadékkiválasztás modellezését perisztaltikus pumpák biztosítják. A GIS-t számos tanulmányban alkalmazták készítmények *in vivo* viselkedésének előrejelzésére, túltelítődési jelenségek megfigyelésére, vagy savcsökkentők kioldódásra gyakorolt hatásának elemzésére. A tanulmányok elsődlegesen BCS IIb és BCS IIc típusú vegyületek vizsgálatára fókuszáltak, azonban BCS IIa típusú (savas funkciós csoportot tartalmazó, rosszul oldódó) hatóanyagokkal a legjobb tudomásunk szerint eddig nem foglalkoztak. A készítmények *in vitro* kioldódása és felszívódása közti összefüggés matematikai leírására az *in vitro* – *in vivo* korreláció (azaz IVIVC) szolgál. Az IVIVC modellek fejlesztésének célja a humán bioekvivalencia vizsgálatok várható eredményének előrejelzése, illetve egyes esetekben a kioldódás vizsgálatokkal való helyettesítésének lehetővé tétele.

2 CÉLKITŰZÉSEK

A munkám célja olyan *in vitro* kioldórendszerek, illetve azt támogató matematikai modellek fejlesztése volt, melyek az *in vivo* biohasznosulás jobb előrejelzésén keresztül hozzájárulhatnak a hatékonyabb generikus és szupergenerikus készítményfejlesztéshez.

- Több-lépcsős pH váltós kioldódásvizsgálati módszer fejlesztése késleltetett felszabadulású készítmények vizsgálatára
 - A gyomor és vékonybél étkezés előtti állapotára jellemző pH, tartózkodási idők, folyadéktérfogatok meghatározása irodalmi adatok alapján, majd a fiziológias körülmények kísérleti modellezése.
 - A fejlesztett módszerrel különböző késleltetett felszabadulású ASA készítmények kioldódásának tanulmányozása és a gyógyszerkönyvi módszerrel kapott eredményekkel való összehasonlítása.
 - A készítmények összetétele, az *in vitro* kioldódás és az *in vivo* viselkedés közötti összefüggés elemzése.
- Több-kompartmentes kioldórendszer (GIS) adaptálása és alkalmazhatóságának kiterjesztése gyors felszívódású BCS IIa hatóanyagot tartalmazó készítmények biohasznosulásának előrejelzésére.
 - Ibuprofen modellvegyület pH függő egyensúlyi oldhatóságának meghatározása vizes pufferekben és bioreleváns közegekben.
 - Hagyományos és gyors felszívódású ibuprofen készítmények kioldódásának tanulmányozása. A gyógyszerkönyvi módszerrel való összehasonlítás.
 - “A” szintű IVIVC modell létrehozása a vizsgált készítmények felszívódásának előrejelzésére, valamint a módszer prediktivitásának igazolására.
- Ételhatás előrejelzése azonnali felszabadulású Rivaroxaban 20 mg készítmények felszívódására.
 - “A” szintű IVIVC modell létrehozása bioreleváns átfolyócellás kioldó módszer és publikált éhgyomri klinikai eredmények alapján.
 - Az étkezés utáni adagolást követő vérszint görbék előrejelzése az étkezéssel bioreleváns közegekben mért kioldódásgörbék alapján és a prediktált ételhatás értékelése az irodalmi adatokkal összehasonlítva.

3 MÓDSZEREK

Egyensúlyi oldhatóság meghatározása

Az ibuprofen hatóanyag egyensúlyi oldhatóságának meghatározására a standardizált telítéses-rázótölcséres eljárást alkalmaztuk. A vizsgálatokat 37 ± 0.1 °C-os hőmérsékleten végeztük. Az oldatok koncentrációjának meghatározása UV spektrofotometriás detektálással történt. Minden vizsgált közegben három párhuzamos vizsgálatot végeztünk. Az oldhatóság pH függésének meghatározása pH 2-8 tartományban Britton-Robinson pufferekben, valamint pH = 14 értéknél 1 M NaOH oldatban történt. Az egyensúlyi oldhatóságot bioreleváns közegekben is tanulmányoztuk a gyomor és vékonybél étkezés előtti és utáni állapotát modellező oldatokban, természetes felületaktív anyagok hozzáadásával és anélkül egyaránt.

Kioldódás vizsgálatok

A kioldódás vizsgálatokat Agilent 708 DS típusú kioldókészüléken (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA) végeztük, 37 ± 0.5 °C-on. Minden körülményen hat párhuzamos vizsgálatot végeztünk. A mintavételi pontokban 10 µm pórusátmérőjű PVDF csővégi szűrőn keresztül HPLC vial-okba ~1,2 mL mintát vettünk.

ASA készítmények USP szerinti kioldódásvizsgálata

A mintákat az USP szerinti forgókosaras készülékben 100 rpm fordulatszám mellett kevertettük 1000 mL 0.1M HCl oldatban 120 percen keresztül, majd a közeget 900 mL pH $6,8 \pm 0,5$ foszfát pufferre cseréltük és a kísérletet további 60 percen keresztül folytattuk.

Ibuprofen készítmények USP szerinti kioldódásvizsgálata

A vizsgálatokat USP II típusú, forgólapátos készülékben végeztük pH $7,2 \pm 0,5$ foszfát puffer közegben. A mintákat 900 mL közegben, 50 rpm fordulatszám mellett kevertettük.

ASA készítmények több-lépcsős pH váltós kioldódásvizsgálata

A kioldó készüléket a Kínai Gyógyszerkönyv szerinti 250 mL-es kis térfogatú kioldóedényekkel és forgólapátokkal szereltük fel. A kioldóközeg a kiindulási időpontban 0,01M HCl volt, melyhez három lépcsőben különböző térfogatú Na₂HPO₄ puffert adagoltunk Cole Parmer 74,900 típusú infúziós pumpa (Cole Parmer, Vernon Hills,

Illinois, USA) segítségével. A gyomorban való tartózkodási idő nagy variabilitása miatt a módszerek két változatát (RGE, rapid gastric emptying; SGE, slow gastric emptying) vizsgáltuk, melyek csak a savas kezelés hosszában (20 ill. 120 perc) különböztek. A kísérletek során kézi mintavételezést alkalmaztunk, az USP módszernél leírt szűrés mellett mintavételi időpontonként ~1 mL mintát vettünk. A kioldódás kezdete alatt a névleges hatóanyagtartalom $\geq 5\%$ -ának kioldódását értelmeztük. Az f_2 statisztikai számításokat az EMA bioekvivalencia irányelvben leírtak szerint végeztük.

Ibuprofen készítmények több-kompartmentes kioldódásvizsgálata

A GIS kioldórendszert a Kínai Gyógyszerkönyv szerinti kis térfogatú edényekkel felszerelt kioldókészülékbe adaptáltuk. A rendszer a gyomrot, a *duodenum*-ot és a *jejunum*-ot modellező három fő kompartmentből (250 mL-es kioldóedényből) állt, melyeket Gilson Minipuls 3 típusú perisztaltikus pumpák (Gilson Inc., Middleton, WI, USA) kapcsolta össze. A vizsgálat kezdetén a gyomorba 50 mL pH 1,6 FaSSGF puffert és 250 mL vizet öntöttünk, a *duodenum*-ba 50 mL pH 6,5 FaSSIF közeget tettünk, a *jejunum*-ot pedig üresen hagytuk. A belsőleges folyadék szekréció modellezésére két további edény szolgált, melyekből 1 mL/perc sebességgel a gyomorba pH 1,6 FaSSGF, a *duodenum*-ba pedig pH 6,5 FaSSIF koncentrátum áramlott. A vizsgálatokat biomolekulák (pepszin, SIF por) hozzáadásával és anélkül (blank közegekben) is elvégeztük. A vizsgált készítmények gyomor kompartmentbe való bedobását követően a közegeket 50 rpm sebességgel, forgólapátos módszerrel kevertettük. Az alkalmazott áramlási sebességek a gyomorból a *duodenum*-ba 5,5 mL/perc, a *duodenum*-ból a *jejunum*-ba 6,5 mL/perc voltak. Mintavételi időpontonként ~0,5 mL mintát vettünk 0,45 μm GHP membránnal ellátott Acrodisc® fecskendő szűrőn keresztül.

A kioldódott hatóanyagok koncentrációjának meghatározása (U)HPLC készülékkel

A kioldódott hatóanyagok mennyiségének meghatározására Water Acquity UPLC készüléket (Waters, Milford, Massachusetts, USA) használtunk. A készülék kalibrációja egy pontos külső kalibrációval, a várható maximális hatóanyagkoncentráció 100%-ának megfelelő standard oldat öt párhuzamos injektálásával történt. A kalibráció jóságát a sztenderd oldattal megegyező névleges koncentrációjú ellenőrző sztenderd oldattal igazoltuk. A sztenderd bemérésekhez Mettler Toledo XP26 típusú mikroanalitikai mérleget (Mettler Toledo, Columbus, Ohio, USA) alkalmaztunk.

Gyomorsav-ellenálló bevonatok pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) vizsgálata

A tabletták keresztmetszetéről a képek JEOL JSM- 6380LA típusú pásztázó elektronmikroszkóppal (JEOL, Akishima, Tokyo, Japan) készültek nagy vákuumban, 15 kV-os gyorsítófeszültség és 10 mm mintatávolság mellett.

IVIVC modellek létrehozása

Az „A” szintű IVIVC modellek létrehozásához a Phoenix Win-Nonlin 8.3.4.295 for Windows szoftver (Certara, St. Louis, MO, USA) IVIVC Toolkit 8.3 kiegészítő modulját használtuk. A modellezés során kétlépcsős dekonvolúciós megközelítést alkalmaztunk. A vérszint és kioldódás görbék illesztését követően, valamely *in vivo* profil eliminációs fázisából az UIR függvényt számítottuk. Ennek felhasználásával elvégeztük a vérszint görbék dekonvolúcióját, amely az adott formulációhoz tartozó felszívódás görbét eredményezte. Az azonos kioldódott, illetve felszívódott mennyiségek eléréséhez szükséges *in vitro* és *in vivo* időket a koordináta-rendszer „x” és „y” tengelyén ábrázolva, majd a pontokra egyenest illesztve kaptuk a korrelációs függvényeket. Az így létrejött modellek lehetővé tették a modell építéséhez fel nem használt formulációk kioldódás görbéi alapján azok várható vérszintjének előrejelzését.

4 EREDMÉNYEK

Több-lépcsős pH váltós kioldódásvizsgálati módszer fejlesztése késleltetett felszabadulású készítmények vizsgálatára

Irodalmi adatok alapján a generikus gyógyszerfejlesztés számára a megfelelő biohasznosulással rendelkező késleltetett hatóanyagleadású készítmények fejlesztése nagy kihívást jelent. Munkám során olyan *in vitro* kioldódásvizsgálati módszert fejlesztettem, amely alkalmas lehet az *in vivo* viselkedés megbízhatóbb előrejelzésére. A módszer kidolgozása során az étkezés előtti fiziológiás körülmények modellezésére koncentráltam, mivel a hatóságok elsősorban ilyen körülmények között írják elő a bioekvivalencia vizsgálatok elvégzését. Irodalmi adatok alapján a gyomor pH értéke ~2.0, melyet a gyomorsav és a készítmény bevétele során elfogyasztott egy pohár víz keveredése eredményez. A tartózkodási idő - nagy variancia mellett - jellemzően 20 és 120 perc között alakul. Mivel a savas környezetben eltöltött idő, hatással lehet a bevonatok viselkedésére, ezért egy átlagos tartózkodási idő meghatározása helyett a módszer két változatának (RGE: 20 perc és SGE: 120 perc tartózkodási idő) alkalmazása mellett döntöttem. A vékonybélre jellemző pH értékeket a proximális szakaszon ~pH 6,5-nek, a középső szakaszon ~pH 6,8-nak, míg a disztális szakaszon ~pH 7,2-nek választottam. A tartózkodási idők az egyes szakaszokon a pH váltást nem számítva 30, 70 és 45 perc voltak. A vizsgálatok kezdetén a kioldóközeg (0,01M HCl) térfogata 160 mL volt, melyhez három lépcsőben foszfát puffer oldatokat adagoltam, mellyel a kioldódásvizsgálat végére 210 mL térfogatot értem el. Fiziológiásan az egyes szakaszok közti pH átmenet inkább fokozatos, mint pillanatszerű. Ennek modellezésére pH váltáskor az oldatok adagolásához infúziós pumpát alkalmaztam. A kioldóközeg mérés során forgólapátos keverővel 50 rpm fordulatszám mellett keverttem.

A kutatás során hat különböző, alacsony-dózisú, gyomorsav ellenálló bevonatos ASA készítményt vizsgáltam, köztük a referens Aspirin Protectet és annak generikus változatait. A vizsgált készítményeket, illetve azok minőségi összetételét az 1. táblázat tartalmazza.

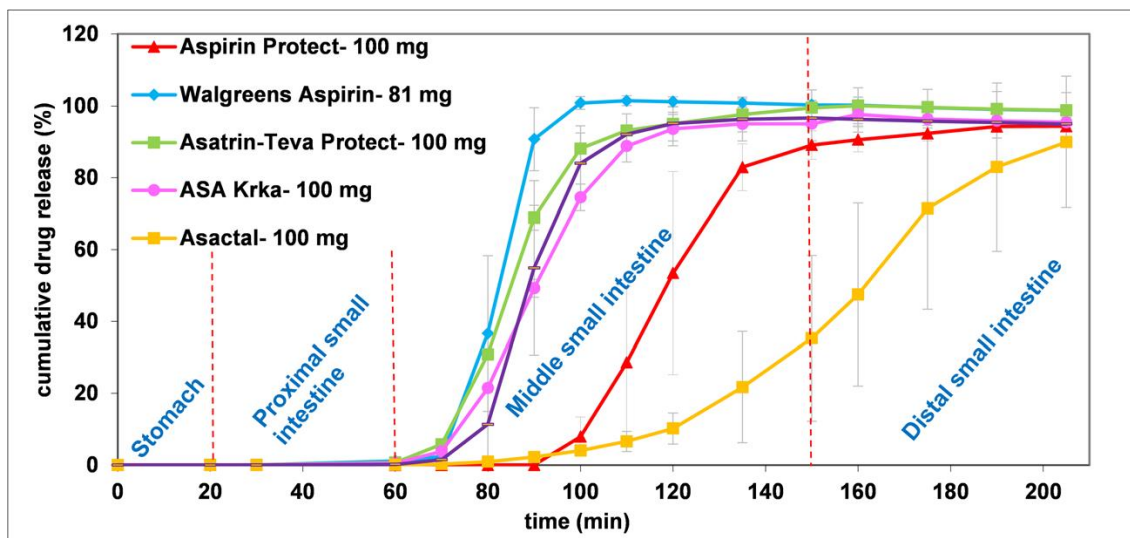
1. Táblázat: A vizsgált készítmények hatáserőssége és minőségi összetétele

Készítmény	Dózis	Tabletta mag	Bevonat
Aspirin Protect	100	Mikrokristályos cellulóz, kukorica keményítő	Metakrilsav– etilakrilát 1:1 kopolimer, poliszorbát 80, nátrium lauril szulfát, trietil citrát, talkum
Asatrin – Teva Protect	100	Mikrokristályos cellulóz, burgonya keményítő, vízmentes kolloid szilícium dioxid, laktóz monohidrát	Metakrilsav– etilakrilát 1:1 kopolimer, triacetin, talkum
ASA Krka	100	Mikrokristályos cellulóz, burgonya keményítő, vízmentes kolloid szilícium dioxid, laktóz monohidrát	Metakrilsav– etilakrilát 1:1 kopolimer, poliszorbát 80, nátrium lauril szulfát, triacetin, talkum
Asactal	100	Mikrokristályos cellulóz, kukorica keményítő, vízmentes kolloid szilícium dioxid, sztearilsav	Metakrilsav– etilakrilát 1:1 kopolimer, poliszorbát 80, nátrium lauril szulfát, trietil citrát, talkum
ASA Protect Pharmavit	100	Mikrokristályos cellulóz, burgonya keményítő, vízmentes kolloid szilícium dioxid, laktóz monohidrát	Metakrilsav– etilakrilát 1:1 kopolimer, triacetin, talkum
Walgreens Aspirin	81	Mikrokristályos cellulóz, kukorica keményítő, vízmentes kolloid szilícium dioxid, polidextróz, nátrium bikarbonát	Hipromellóz, metakrilsav, shellac viasz, nátrium lauril szulfát, polietilén glikol, szimetikon, triacetin, trietil citrát, talkum, titan dioxid

Az ilyen típusú generikus készítmények fejlesztésének nehézségeit jól mutatja, hogy a felsorolt készítmények közül csak az Asactal és az ASA Krka esetén végeztek klinikai vizsgálatokat a bioekvivalencia igazolására, míg a többi esetben a gyártók a jól bevált használatra hivatkoztak, azonban ezen vizsgálatok eredményei sem teljesítették a bioekvivalencia követelményeket.

A tabletták pásztázó elektronmikroszkópos felvételei alapján a Walgreens Aspirin bevonatvastagsága (26,0-40,2 μM) elmarad a metakrilsav – etilakrilát bevonatú többi készítménytől (50,7-75,0 μM). Az utóbbi készítmények bevonatvastagságai között azonban jelentős különbség nem mutatkozott.

A készítmények kioldódásvizsgálatát először az USP készítményspecifikus monográfiájában előírt módszer szerint végeztem el. A vizsgált készítmények mindegyike teljesítette a módszerben előírt elfogadási kritériumot ($\leq 10\%$ kioldódás a savas fázisban, majd $> 75\%$ kioldódás a pufferezt fázisban 45 percet követően). Ennek alapján kimondható, hogy a minőségellenőrzésre előírt gyógyszerkönyvi módszer nem alkalmas a biohasznosulás megfelelő előrejelzésére. A készítményeket az új módszerrel is megvizsgáltam. A rövid gyomortartózkodási idő (RGE) mellett kapott eredményeket az 1. ábra mutatja.



1. Ábra: Az új módszerrel kapott kioldódás eredmények
(20 perc gyomor tartózkodási idő mellett)

A kapott kioldódásgörbék a kioldódás kezdete szerint két csoportra oszlanak. Ezt a paramétert elsősorban az alkalmazott bevonatok minősége befolyásolja. Az 1. táblázattal összehasonlítva elmondható, hogy a korábban oldódó csoportba a Walgreens Aspirin mellett a metakrilsav - etilakrilát bevonó polimert tartalmazó készítmények közül azok kerültek, melyek a bevonó anyagban lágyítóként triacetint tartalmaztak, míg a később oldódó készítmények bevonatában trietil citrát volt. A bevonatok oldódását követően a kioldódás sebességét a tablettamag tulajdonságai határozzák meg. Ennek alapján valószínűsíthető, hogy az Asactal többi készítményhez viszonyított jelentősen lassabb oldódását a tablettamag nedvesíthetőségét csökkentő hidrofób sztearinsav alkalmazása eredményezi. A vizsgálatok során kapott eredmények mind az ASA Krka esetén publikált, a referenshez képest magasabb C_{max} és AUC értékeket (~16% mindkét paraméter esetében), mind az Asactal sikertelen bioekvivalencia eredményeit jól magyarázzák.

Az új módszer SGE, 120 perces gyomor tartózkodási idejű változata az RGE változathoz hasonló eredményeket hozott. Emellett azonban rámutatott, hogy a különböző típusú bevonatok a hosszabb savas kezelés hatására különböző mértékben retardizálódnak, így a tartózkodási időt befolyásoló formulálási tulajdonságok (pl.: a tabletták mérete és alakja) is hatással lehetnek az egyes készítmények biohasznosulására.

Több-kompartmentes kioldórendszer (GIS) adaptálása és alkalmazhatóságának kiterjesztése gyors felszívódású BCS IIa hatóanyagot tartalmazó készítmények biohasznosulásának előrejelzésére

A több-kompartmentes kioldókészülékekkel foglalkozó tanulmányok eddig kevesebb figyelmet fordítottak a BCS IIa típusú (savi karakterű, vízben rosszul oldódó) hatóanyagot tartalmazó azonnali felszabadulású készítmények vizsgálatára. Az ilyen típusú vegyületek kioldódásvizsgálata a savas közegekben való alacsony oldhatóság miatt jellemzően semlegesközele pH értéken történik. Abban az esetben azonban, amikor különböző formulálási technológiák alkalmazásával a készítmény felszívódási sebességének megnövelése a cél, akkor a savas közegben való viselkedés jelentősége is megnövekszik. A kutatásom céljából ezért a több-kompartmentes GIS kioldórendszer alkalmazhatóságának fenti vegyületekre való kiterjesztését tűztem ki.

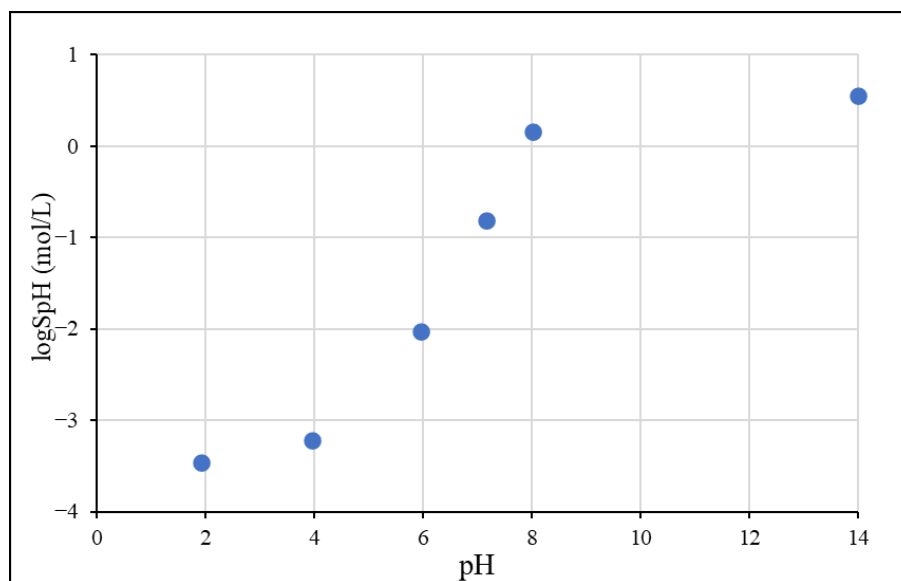
A vizsgálatokhoz modellvegyületként Ibuprofen 200 mg hatáserősségű készítményeket használtam, melyek kereskedelmi forgalomban több különböző hatóanyag és készítményformában is elérhetők. A vizsgált készítményeket és a bennük használt hatóanyagformákat a 2. táblázatban foglaltam össze.

2.Táblázat: A vizsgált termékek és azok hatóanyagai

Készítmény	Gyártó	Hatóanyag forma	Rövidítés
Advil 200 mg filmtabletta	Pfizer Consumer Healthcare, Madison, NJ, USA	ibuprofen szabad sav	IBU
Advil 256 mg filmtabletta	Pfizer Consumer Healthcare, Madison, NJ, USA	ibuprofen nátrium	IBU-Na
Dolowill RAPID 342 mg filmtabletta	Goodwill Pharma, Szeged, Magyarország	ibuprofen lizinát	IBU-Lys
Advil ULTRA 200 mg lágyszelatin kapszula	Pfizer Consumer Healthcare, Madison, NJ, USA	ibuprofen oldatban	IBU-lq

A kioldódási mechanizmus jobb megértése érdekében kísérleteimet a hatóanyag 37,0±0,5 °C-os pH függő egyensúlyi oldhatóságának meghatározásával kezdtem. Az oldhatóságot pH 2-8 tartományban Britton-Robinson pufferoldatokban, míg erősen lúgos tartományban 0,1M NaOH oldatban vizsgáltam. A várakozásoknak megfelelően az gyengén savas (pK_a : 4,45) ibuprofen oldhatósága pH 2-8 között a Henderson-Hasselbalch

összefüggés szerint növekedett, magasabb pH értéken pedig a sóképzés miatt egy platót ért el. A pH-függő egyensúlyi oldhatósági eredmények a 2. ábrán láthatók.



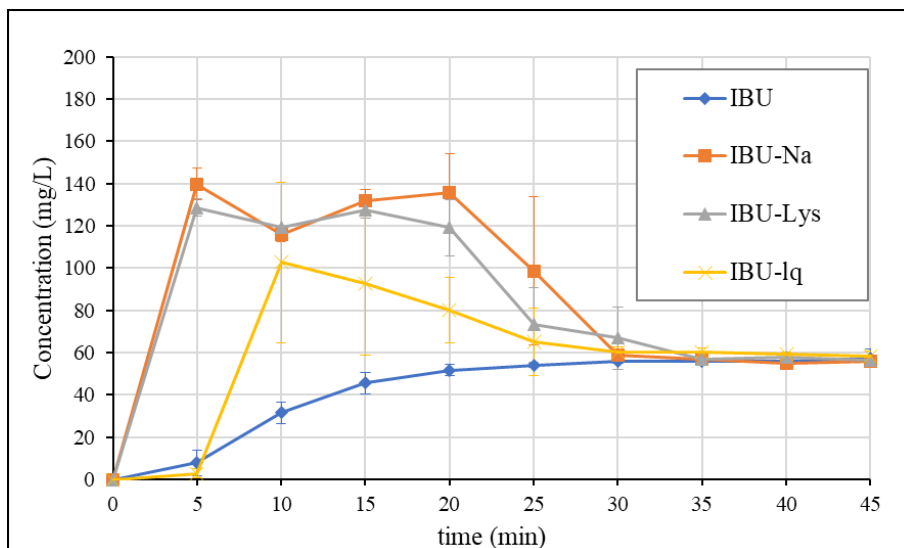
2. Ábra: Ibuprofen hatóanyag pH-függő egyensúlyi oldhatósága Britton–Robinson pufferekben.

Az oldhatóságvizsgálatokat bioreleváns közegekben is elvégeztem. Az eredmények alapján a gyomor- és vékonybélszakaszok közötti jelentős oldhatóságbeli különbséghez mind a pH emelkedése, mind a nagyobb felületaktívanyag koncentráció hozzájárul, azonban ilyen vegyületek esetén a pH érték változása szignifikánsan nagyobb hatással bír.

A készítmények kioldódását először az USP készítményspecifikus monográfiája szerinti módszerben (900 mL, pH 7,2 foszfát puffer, 50 rpm forgólapátos keverés) vizsgáltam. A kapott eredmények alapján a hagyományos felszívódású Advil 200 mg tablettától csak az ibuprofen-lizin só-tartalmazó Dolowill Rapid 342 mg készítmény különbözött jelentősen. Ennek kioldódása azonban a várakozásokkal ellentétben a referens készítménynél lassabb volt.

A GIS készülékben a készítmények kioldódását blank és teljes bioreleváns közegekben is vizsgáltam. Ahogy az oldhatósági eredmények alapján várható volt, a vékonybélszakaszokon jelentősebb mennyiségben jelenlévő felületaktív anyag a semlegesközeli pH értéken, az egyébként is magas oldhatóság mellett, nem bírt

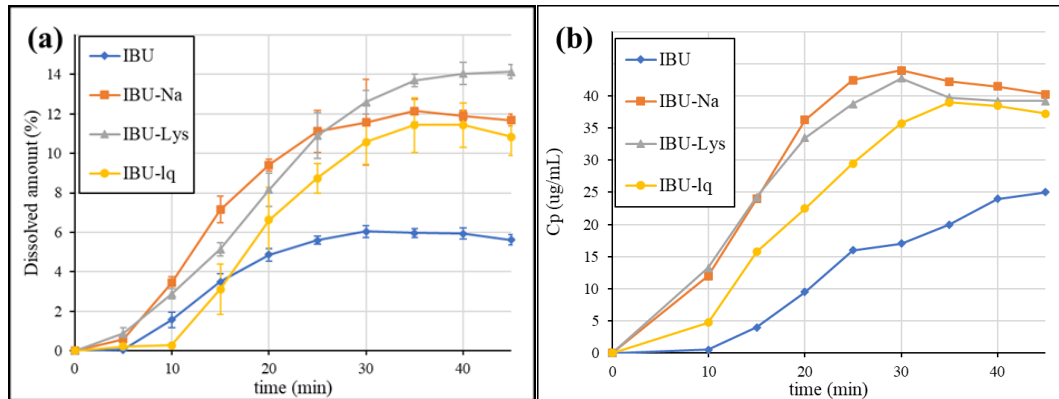
különösebb hatással. Ezek alapján, költséghatékonysági szempontokat is figyelembe véve, ilyen típusú vegyületek esetén a blank bioreleváns közegek alkalmazása javasolt. A vizsgálatok alapján a készülék gyomor kompartmentjében túltelítődési jelenség volt megfigyelhető, melyet 3. ábra mutat.



3. Ábra: A különböző készítmények gyomorban mért ibuprofen koncentrációja

A 3. ábra alapján a hatóanyagot sóformában tartalmazó készítmények nagyobb, míg a lágú kapszulában oldott forma valamelyest kisebb mértékű túltelített oldatot eredményeztek. A túltelítődés időleges volt, a vizsgálat végére a gyomorban maradt közegben a hatóanyag koncentrációja minden esetben az egyensúlyi oldhatóság értéknek megfelelő volt.

A kompartmentek közti folyamatos közegáramlásnak köszönhetően azonban az átmeneti túltelített állapot a patkóbél szakaszon oldatban lévő ibuprofen mennyiségre is hatással volt, amely a 4(a). ábrán látható.



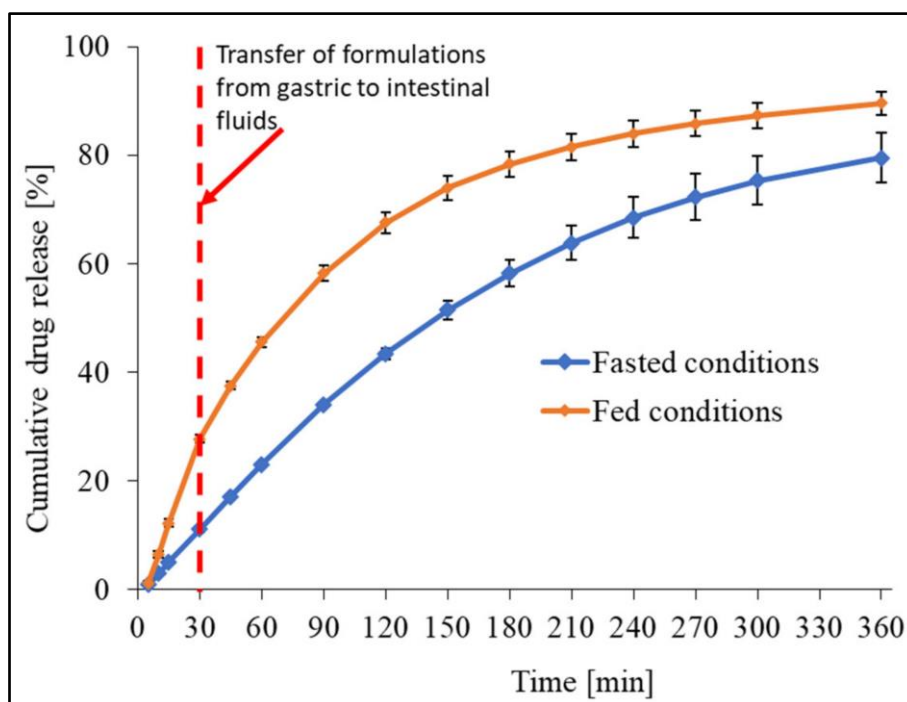
4. Ábra: GIS kioldódás a patkóbél szakaszon **(a)** vs. publikált éhgyomri bioekvivalencia eredmények **(b)**

A 4. ábra alapján a patkóbélben kapott kioldódásgörbék nagy hasonlóságot mutatnak a publikált klinikai eredményekhez, melyek alapján feltételezhető, hogy a GIS jól modellezi az *in vivo* felszívódásban is meghatározó mechanizmusokat.

Az Advil 200 mg tablettá mért GIS kioldódás és publikált *in vivo* eredményeit korreláltatva „A” szintű IVIVC modellt hoztam létre, melynek segítségével a további készítmények GIS kioldódásai alapján előrejeleztem azok várható vérszint görbéit. Az eredmények alapján elmondható, hogy a GIS kioldórendszerrel és az azt kiegészítő matematikai modellel sikeresen előrejelezhető volt a gyors felszívódású készítmények magasabb C_{max} és kisebb t_{max} értéke, habár a különbségek az irodalmi értékekhez képest valamelyest alulbecsültek voltak.

Ételhatás előrejelzése azonnali felszabadulású Rivaroxaban 20 mg készítmények felszívódására.

A Rivaroxaban a BCS II. osztályba tartozó, rosszul oldódó hatóanyag. Semleges karakterének köszönhetően oldhatósága pH-tól független. A rossz oldhatóságból adódóan a legnagyobb (20 mg-os) hatáserősségben, a teljes felszívódás érdekében, előírás szerint a bevétele étkezés közben javasolt. Egy nemzetközi kutatási együttműködés keretein belül a feladatom a kereskedelmi forgalomban lévő Xarelto 20 mg referens készítmény esetén várható ételhatás mértékének előrejelzése volt IVIVC modellezés segítségével. Ehhez rendelkezésre álltak a készítmény átfolyócellás kioldódásvizsgálati módszerrel, étkezés előtti és utáni körülményeket modellező bioreleváns közegekben mért kioldódásgörbéi, melyeket a 5. ábra mutat.



5. Ábra: Rivaroxaban hatóanyag átfolyócellás kioldódása Xarelto 20 mg azonnali felszabadulású tablettából

Az IVIVC modellt az étkezés előtti állapotot modellező *in vitro* kioldódás és az azonos körülmények között végzett publikált klinikai vizsgálati eredmények között építettem. Az elimináció sebességét (UIR függvényt) rivaroxaban 10 mg belsőleges oldat publikált vérszint görbéje alapján számítottam. A fejlesztett modell alkalmas volt a kioldódás adatok alapján a betanításhoz használt klinikai eredmények nagy pontosságú

előrejelzésére (C_{\max} és AUC esetén is $< 2\%$ hiba), amely igazolta az alkalmazott matematikai összefüggés helyességét. Ezt követően az étkezés utáni állapotot modellező kioldódás görbék és az IVIVC modell segítségével előrejeleztem az étkezés mellett várható vérszintet. Az előrejelzés alapján, az étkezés hatására, a kereskedelmi forgalomban lévő Xarelto 20 mg készítmény esetén a C_{\max} értékre 22%-os, míg AUC esetén 12%-os pozitív ételhatás várható. Ez elmarad a korábban publikált 65%-os (C_{\max}) és 29%-os (AUC) hatás mértékétől. A klinikai eredményektől való eltérés arra utalhat, hogy a korábban végzett klinikai vizsgálatokhoz képest a referens készítmény tulajdonságai valamelyest megváltozhattak.

5 KÖVETKEZTETÉSEK

1. Irodalmi adatokat alapul véve, a gyomor és a vékonybél fiziológiás körülményeit modellező új, több-lépcsős *in vitro* kioldódásvizsgálati módszert fejlesztettem. [I]
2. Az új módszerrel sikerült azonosítani a késleltetett felszabadulású ASA készítmények bevonatában alkalmazott lágyító típusának, illetve a tablettamagok nedvesíthetőségét befolyásoló ágensek *in vivo* viselkedést befolyásoló tulajdonságát. [I]
3. Laboratóriumi körülmények közé sikeresen adaptáltam a publikált több-kompartmentes „emésztőrendszeri szimulátor (GIS)” kioldórendszert. [II]
4. Ibuprofen modellszerveken keresztül, elsőként igazoltam a GIS alkalmazhatóságát a BCS IIa típusú hatóanyagot tartalmazó azonnali felszabadulású készítmények biohasznosulásának előrejelzésére. [II]
5. A több-kompartmentes kioldórendszer gyomor kompartmentjében a só formájában előforduló, illetve lágycapszulában oldott hatóanyagok átmenetileg túltelített oldatot képeztek, amely hatással volt az emésztőrendszer későbbi szakaszain oldott hatóanyag mennyiségére. A megfigyelt mechanizmus magyarázatot ad az ilyen típusú formulációk megnövekedett felszívódási sebességére. [II]
6. Az étkezés előtti és utáni állapotot modellező bioreleváns *in vitro* kioldódás eredmények alapján sikerült a Xarelto 20 mg készítmény vérszint görbéit előrejelző matematikai IVIVC modellt létrehoznom, mellyel az irodalminál kisebb, de jelentős ételhatás volt prediktálható. [III]

6 SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Tézisek alapjául szolgáló közlemények

- I. Katona MT, Kakuk M, Szabó R, Tonka-Nagy P, Takács-Novák K, Borbás E. Towards a better understanding of the post-gastric behavior of enteric-coated formulations. *Pharm. Res.* 2022; 39: 201-211.
- II. Katona MT, Nagy-Katona L, Szabó R, Borbás E, Tonka-Nagy P, Takács-Novák K. Multi-compartmental dissolution method, an efficient tool for the development of enhanced bioavailability formulations containing poorly soluble acidic drugs. *Pharmaceutics.* 2023; 15: 753.
- III. Kushwah V, Arora S, Katona MT, Modhave D, Fröhlich E, Paudel A. On absorption modelling and food effect prediction of rivaroxaban, a BCS II drug orally administered as an immediate-release tablet. *Pharmaceutics.* 2021; 13: 283.

Egyéb közlemények

- IV. Detrich Á, Dömötör KJ, Katona MT, Markovits I, Vargáné Láng J. Polymorphic forms of bisoprolol fumarate. *J Therm Anal Cal.* 2019; 135: 3043-3055.