

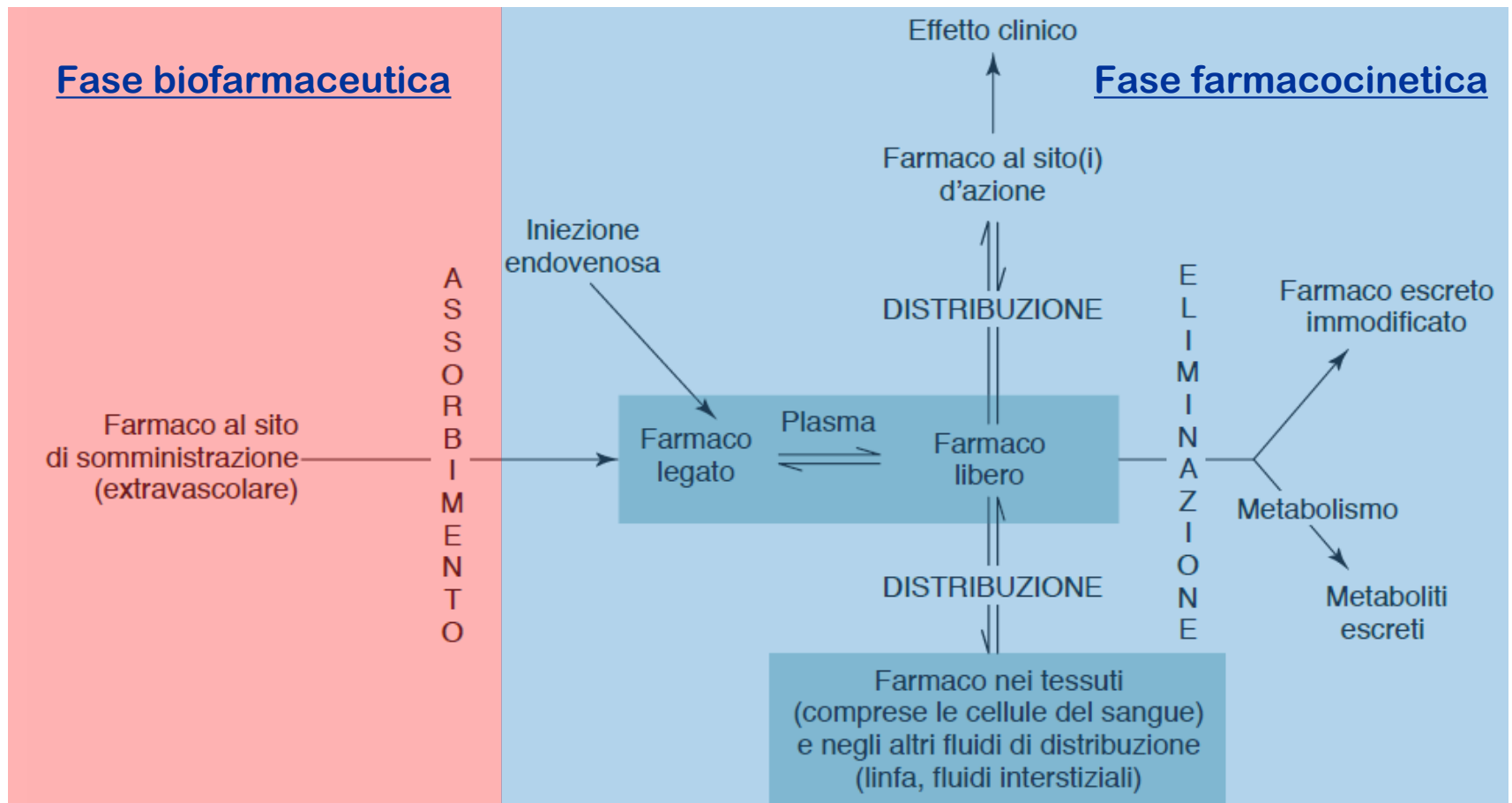
Proprietà Biofarmaceutiche



Francesco Lai

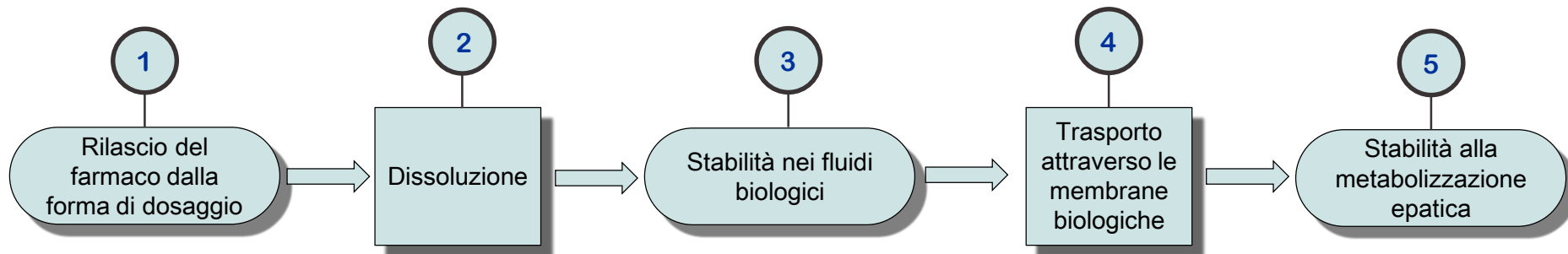
Tecnologia Farmaceutica Applicata
Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente
Università degli Studi di Cagliari

ADME



Via orale

Proprietà biofarmaceutiche che influenzano l'assorbimento dei farmaci per la via orale

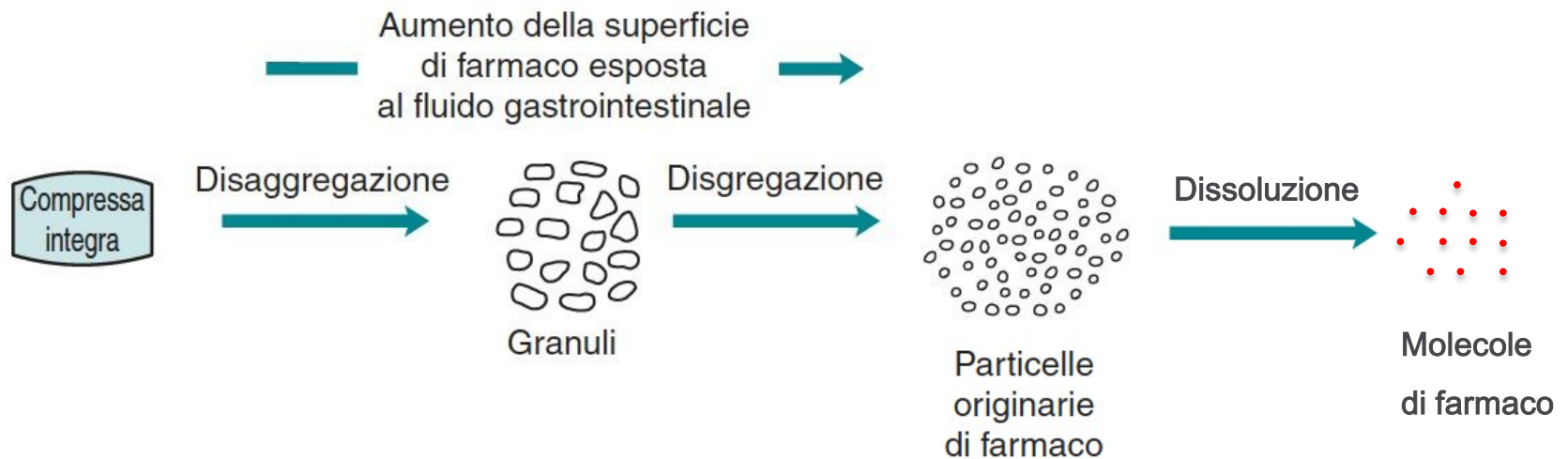
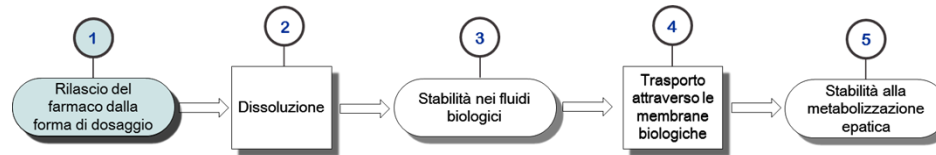


- Una di queste fasi limita l'assorbimento? (velocità ed entità dell'assorbimento)
- Quale è la fase più lenta del processo di assorbimento?

Tabella 1.3 Proprietà dei principi attivi importanti nella progettazione di forme farmaceutiche e potenziali stress dei farmaci durante i processi, con le diverse procedure di produzione

| Proprietà | Stress di processo | Procedure di produzione |
|--|--|-------------------------|
| Dimensione delle particelle, area superficiale | Pressione | Precipitazione |
| | Meccanico | Filtrazione |
| Chimica superficiale delle particelle | Radiazione | Emulsione |
| | Esposizione ai liquidi | Macinazione |
| Solubilità | | Miscelazione |
| Dissoluzione | Esposizione ai gas e ai vapori liquidi | Essiccazione |
| Coefficiente di partizione | | Granulazione |
| Costante di ionizzazione | Temperatura | Compattazione |
| Proprietà del cristallo, polimorfismo | | Autoclavaggio |
| | | Cristallizzazione |
| Stabilità | | Manipolazione |
| Proprietà organolettiche | | Conservazione |
| Peso molecolare | | Trasporto |

Proprietà biofarmaceutiche



Proprietà biofarmaceutiche



Tabella 2.1 Parametri che influenzano la velocità di dissoluzione in vitro di solidi nei liquidi

| Termine nella equazione di Noyes-Whitney (Eq 2.4) | Influenzato da |
|--|--|
| A : superficie specifica del solido non disciolto (la velocità di dissoluzione aumenta proporzionalmente a un aumento di A) | Dimensioni delle particelle (A aumenta al diminuire delle dimensioni delle particelle) Disperdibilità del solido polverizzato nel mezzo di dissoluzione Porosità delle particelle di solido |
| C_s : massima solubilità del solido (soluzione satura) nel mezzo di dissoluzione (la velocità di dissoluzione aumenta in maniera proporzionale con l'aumento della differenza tra C_s e C . Quindi un valore elevato di C_s porterà a un aumento della Velocità di dissoluzione) | Temperatura Natura del mezzo di dissoluzione Struttura molecolare del soluto Forma cristallina del solido Presenza di altre sostanze |
| C : concentrazione del soluto in soluzione al tempo t (la velocità di dissoluzione aumenta in maniera proporzionale all'aumento della differenza tra C_s e C . Quindi un basso valore di C aumenterà la velocità di dissoluzione) | Volume del mezzo di dissoluzione (un aumento di volume comporta una diminuzione di C) Qualsiasi processo che rimuova il soluto sciolto dal mezzo di dissoluzione (in quanto diminuirà il valore di C) |
| k : costante della velocità di dissoluzione | Coefficiente di diffusione D del soluto nel mezzo di dissoluzione Viscosità del mezzo |
| h : spessore dello strato diffusionale (la velocità di dissoluzione diminuisce proporzionalmente con l'aumento dello spessore dello strato diffusionale) | Agitazione del mezzo di dissoluzione (se si aumenta l'agitazione diminuisce lo spessore dello strato diffusionale) |

Velocità di dissoluzione

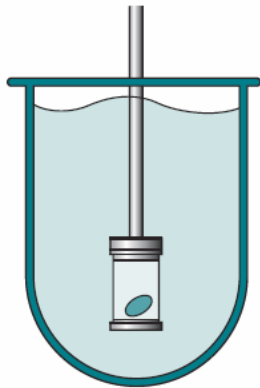
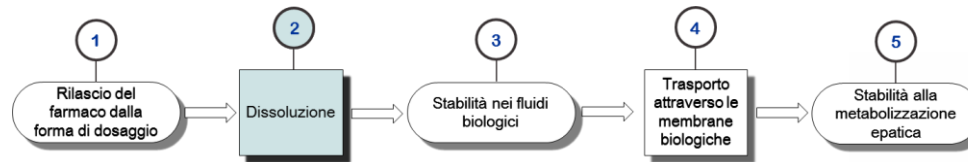


Fig. 35.4 • Apparecchio a cestello o basket (Apparecchio 1 USP).

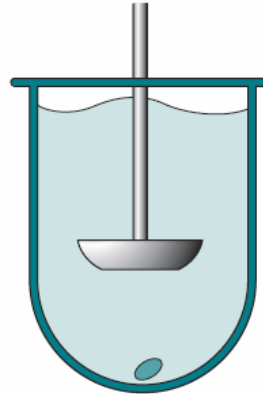


Fig. 35.5 • Apparecchio a paletta o paddle (Apparecchio 2 USP).

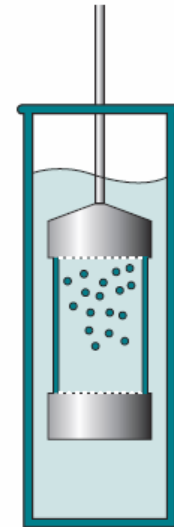


Fig. 35.6 • Apparecchio a cilindro reciprocante (Apparecchio 3 USP).

Proprietà biofarmaceutiche



Velocità di dissoluzione intrinseca

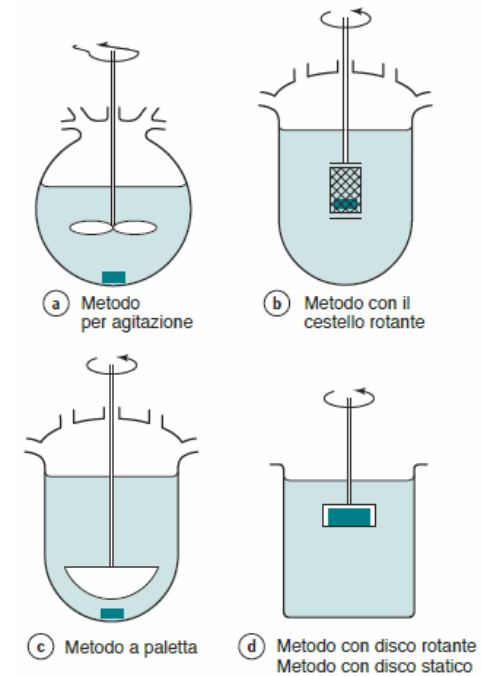


Fig. 2.5 • Metodi di misurazione delle velocità di dissoluzione.



Tabella 35.2 Composizione di fluidi gastrici simulanti la condizione di digiuno (FaSSGF) e le condizioni post-prandiali (FeSSGF)

| FaSSGF | | FeSSGF | |
|-----------------------------|-----------|-------------------------------------|---------|
| Taurocolato di sodio (mM) | 0,08 | Cloruro di sodio (mM) | 237,02 |
| Lecitina (mM) | 0,02 | Acido acetico (mM) | 17,12 |
| Pepsina (mg/mL) | 0,1 | Acetato di sodio (mM) | 29,75 |
| Cloruro di sodio (mM) | 34,2 | Latte/tampone (mM) | 1:1 |
| | | Acido cloridrico/idrossido di sodio | qb pH 5 |
| pH | 1,6 | pH | 5,0 |
| Osmolalità (mOsm/kg) | 120,7±2,5 | Osmolalità (mOsm/kg) | 400 |
| Potere tampone (mMol/L/ΔpH) | – | Potere tampone (mMol/L/ΔpH) | 25 |

(Da Jantratid et al. 2008, per gentile concessione.)

Tabella 35.3 Composizione di fluidi intestinali simulanti la condizione di digiuno (FaSSIF) e le condizioni post-prandiali (FeSSIF)

| FaSSIF | | FeSSIF | |
|-----------------------------|--------|-------------------------------|--------|
| Taurocolato di sodio (mM) | 3 | Taurocolato di sodio (mM) | 10 |
| Lecitina (mM) | 0,2 | Lecitina (mM) | 2 |
| Acido maleico (mM) | 19,12 | Mono-oleato di glicerile (mM) | 5 |
| Idrossido di sodio (mM) | 34,8 | Oleato di sodio (mM) | 0,8 |
| Cloruro di sodio (mM) | 68,62 | Acido maleico (mM) | 55,02 |
| | | Idrossido di sodio (mM) | 81,65 |
| | | Cloruro di sodio (mM) | 125,5 |
| pH | 6,5 | pH | 5,8 |
| Osmolalità (mOsm/kg) | 180±10 | Osmolalità (mOsm/kg) | 390±10 |
| Potere tampone (mMol/L/ΔpH) | 10 | Potere tampone (mMol/L/ΔpH) | 25 |

(Da Jantratid et al. 2008, per gentile concessione.)

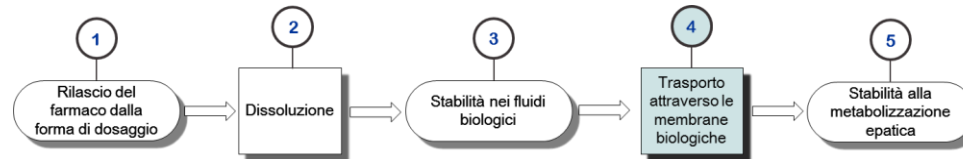
Proprietà biofarmaceutiche



Valutazione della stabilità nei fluidi biologici (via orale)

- Tecniche con colture cellulari
- Metodi di perfusione intestinale (anche nell'uomo)
- Preparazioni di membrana del colpetto a spazzola (enzimi idrolitici)
- Omogeneizzati di segmenti dell'intestino

Velocità di permeazione



misura o stima della **velocità di permeazione** di un farmaco:

- Metodi in silico
- Metodi chimico fisici
 - In situ
- Metodi biologici
 - In vivo
 - In vitro

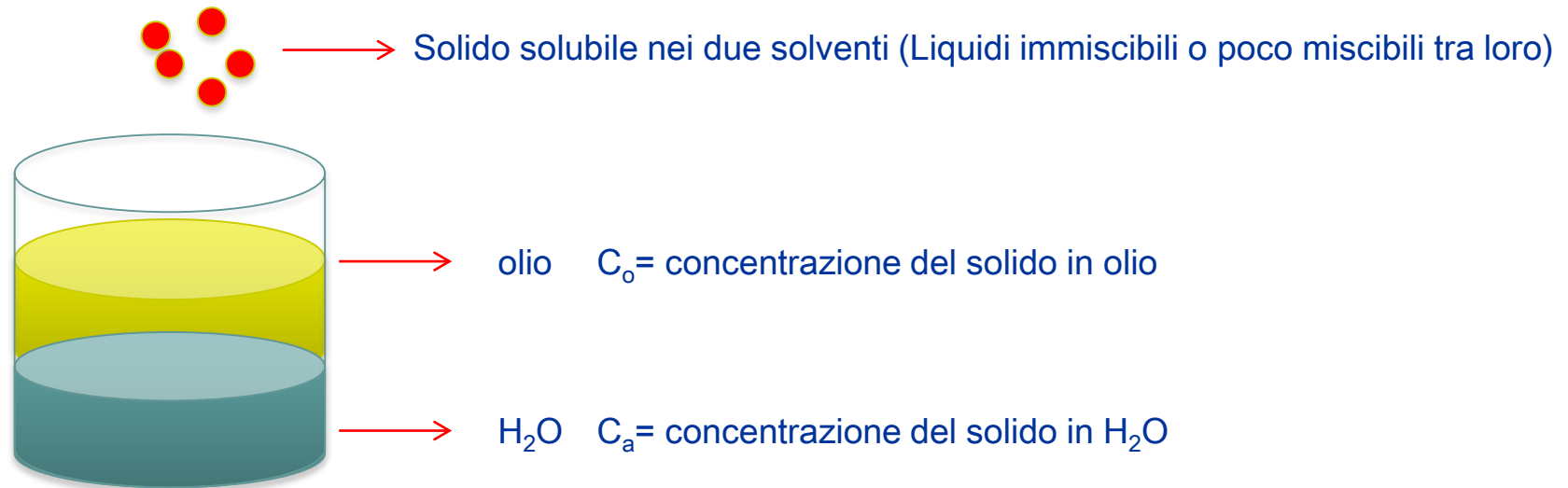


Velocità di permeazione

| Tabella 21.1 Alcuni dei modelli disponibili per prevedere o misurare l'assorbimento dei farmaci | | |
|---|-------------------------------------|--|
| Tipo di modello | Modello | Descrizione |
| Computazionale/in silico | <i>dlogP</i> | Software commerciale che calcola il coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua in base all'analisi dei frammenti, noto come <i>metodo di Leo-Hansch</i> |
| | <i>mlogP</i> | Metodo di calcolo di $\log P$, noto come <i>metodo di Moriguchi</i> (si veda testo) |
| Chimico-fisici | Coefficiente di ripartizione | Misura la lipofilia del farmaco, di solito tra <i>n</i> -ottanolo e un tampone acquoso con il metodo dell'imbuto separatore |
| | Membrana artificiale Immobilizzata | Misura la ripartizione in una fase lipidica più sofisticata su colonna per HPLC |
| Colture cellulari | Monostrati di Caco-2 | Misura il trasporto attraverso monostrati di cellule di adenocarcinoma del colon umano |
| | HT-29 | Misura il trasporto attraverso monostrati di cellule polarizzate con cellule mucipare |
| Tessuti isolati | Cellule | Misura la captazione all'interno di sospensioni cellulari, per es. eritrociti |
| | Cellule isolate di fresco | Misura l'uptake (captazione) all'interno degli enterociti; le cellule sono di difficile preparazione e hanno breve vita |
| | Vescicole di membrane | Misura l'uptake nelle vescicole delle membrane del colletto a spazzola, preparate per abrasione del tessuto intestinale o con enterociti isolati |
| | Sacchi di intestino rovesciati | Misura l'uptake all'interno di segmenti/sacchi di intestino |
| | Anelli di intestino rovesciati | Studia la cinetica dell'uptake nella mucosa intestinale |
| Studi in situ | Foglietti isolati | Misura il trasporto attraverso fogli di intestino |
| | Perfusione in situ | Misura la scomparsa dal liquido di perfusione da anse chiuse o aperte di segmenti di intestino o di animali anestezizzati |
| | Intestino perfuso per via vascolare | Misura la scomparsa del farmaco dal liquido di perfusione e la sua comparsa nel sangue |
| Studi in vivo | Anse intestinali | Misura la scomparsa dal liquido di perfusione dell'ansa intestinale in animali svegli |
| Dati sull'uomo | Loc-I-gut | Misura la scomparsa del farmaco dal liquido di perfusione di intestino umano |
| | Capsule ad alta frequenza | Metodo non invasivo; misura il farmaco nella circolazione sistemica |
| | Capsule IntelliSite® | Metodo non invasivo; misura il farmaco nella circolazione sistemica |
| | Biodisponibilità | Deconvoluzione dei dati farmacocinetici |

Velocità di permeazione valutata tramite il coefficiente di ripartizione (Log P)

- Determinazione del Coefficiente di ripartizione tramite metodo chimico fisico (Imbuto Separatore)



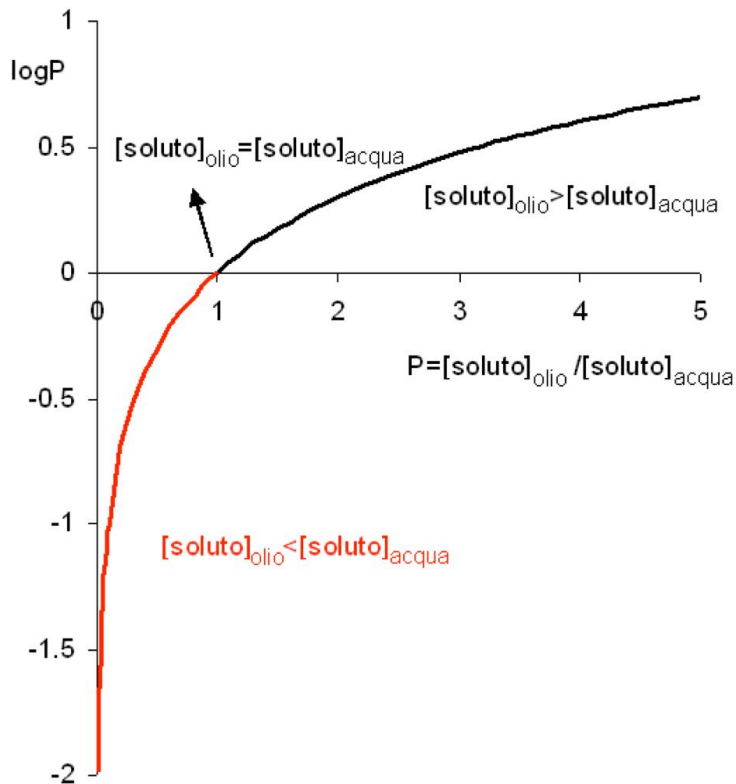
$$K_i (\text{costante}) = \frac{C_o}{C_a}$$

Coefficiente di ripartizione
(intrinseco)



Velocità di permeazione valutata tramite il coefficiente di ripartizione (Log P)

$$\log P = \log \frac{[soluto]_{olio}}{[soluto]_{acqua}} = \log [soluto]_{olio} - \log [soluto]_{acqua}$$



Si definisce:

“idrofobico” un composto con

$$P > 1$$

$$\log P > 0$$

“idrofilico” un composto con

$$P < 1$$

$$\log P < 0$$



Altri metodi di determinazione di K

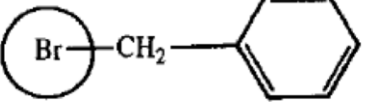
Metodi computazionali: si basano sul calcolo dei contributi dei vari frammenti della molecola (esempio **cLogP**)

Metodo cromatografico: si basa sulla correlazione tra tempo di ritenzione e $\log P$; si valutano i tempi di ritenzione della molecola di interesse e di una serie di sostanze di riferimento

Velocità di permeazione valutata tramite il coefficiente di ripartizione (Log P)

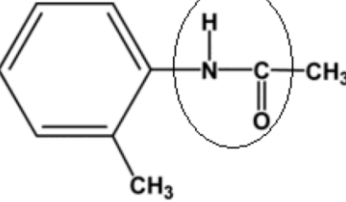
- Determinazione del Coefficiente di ripartizione tramite software

Bromometilbenzene

| | | |
|---|----------------------------------|--------------|
|  | 1 frammento bromuro | 0.480 |
| | 1 atomo di C alifatico "isolato" | 0.195 |
| | 6 atomi di C aromatici "isolati" | 0.780 |
| | 7 atomi di H su C "isolato" | 1.589 |
| | 1 legame "catena" | -0.120 |
| | Totale | 2.924 |
| | Valore sperimentale | 2.92 |

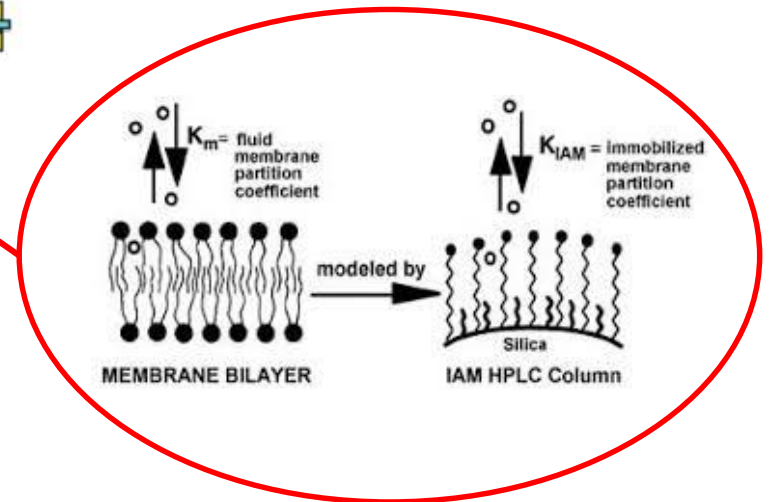
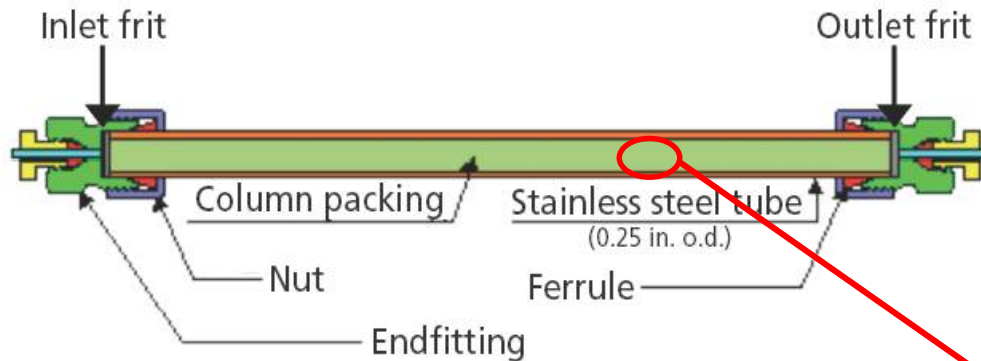
Il coefficiente di ripartizione viene calcolato sommando i valori appropriati per ogni frammento e applicando gli opportuni fattori di correzione

N-(2-metilfenil)-acetamide

| | | |
|--|----------------------------------|--------------|
|  | 1 frammento NH-amidico | -.510 |
| | 2 atomi di C alifatico "isolato" | 0.390 |
| | 6 atomi di C aromatici "isolati" | 0.780 |
| | 10 atomi di H su C "isolati" | 2.270 |
| | 1 legame "catena" | -0.120 |
| | 1 legame "benzilico" | -0.150 |
| | 1 sostituyente in posizione orto | -0.760 |
| | Totale | 0.900 |
| | Valore sperimentale | 0.85 |

Velocità di permeazione valutata tramite il coefficiente di ripartizione (Log P)

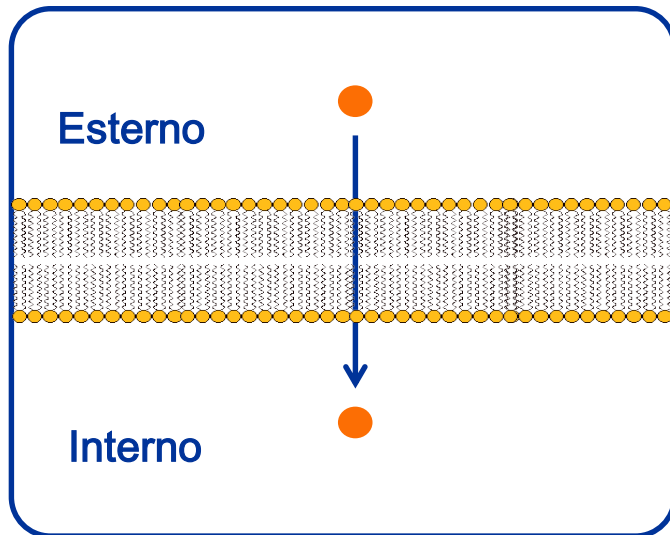
- Determinazione del Coefficiente di ripartizione tramite HPLC (metodo chimico fisico)
- Immobilized Artificial Membrane (IAM)



- Colonne HPLC rivestite con n-ottanolo o in generale che simulano le membrane biologiche



Legge di Fick



$$v = \frac{dQ}{dT} = \frac{DAK (C_e - C_i)}{h}$$

D= Coefficiente di diffusione (cm²/s) del farmaco nella membrana

A= Area della membrana (cm²)

K= Coefficiente di ripartizione (o/a) del farmaco (log k ideale ?)

h= Spessore della membrana (cm)

C_e – C_i= differenza di concentrazione ai due lati della membrana

P= $\frac{DAK}{h}$ Costante di Permeabilità o Coefficiente globale (cm³/s)



Log P (Log K) ottimali per diverse vie di somministrazione

Tabella 9.1 Comportamento lipofilo ideale ($\log P_0$) in diversi sistemi di trasporto

| Sistema | Soluti/farmaci | Log P_0 (ottanolo/acqua) per trasporto ottimale |
|--------------------------|-----------------|--|
| Cavo orale (uomo) | Basi | 5,52 (indissociate) |
| | | 3,52 (dissociate) |
| | Acidi | 4,19 (indissociati) |
| Epidermide (uomo) | Steroidi | 3,34 |
| Pelle integra (coniglio) | Non elettroliti | 2,55 |
| Intestino tenue (ratto) | Sulfonammidi | 2,56–3,33 |
| Stomaco (ratto) | Barbiturati | 2,01 |
| | Acidi | 1,97 |
| Cornea (coniglio) | Steroidi | 2,80 |
| Escrezione biliare | Sulfatiazoli | 0,60 |
| Latte/Plasma | Sulfonammidi | 0,53 |
| Prostata/Plasma | Sulfonammidi | 0,23 |



log P ideale?

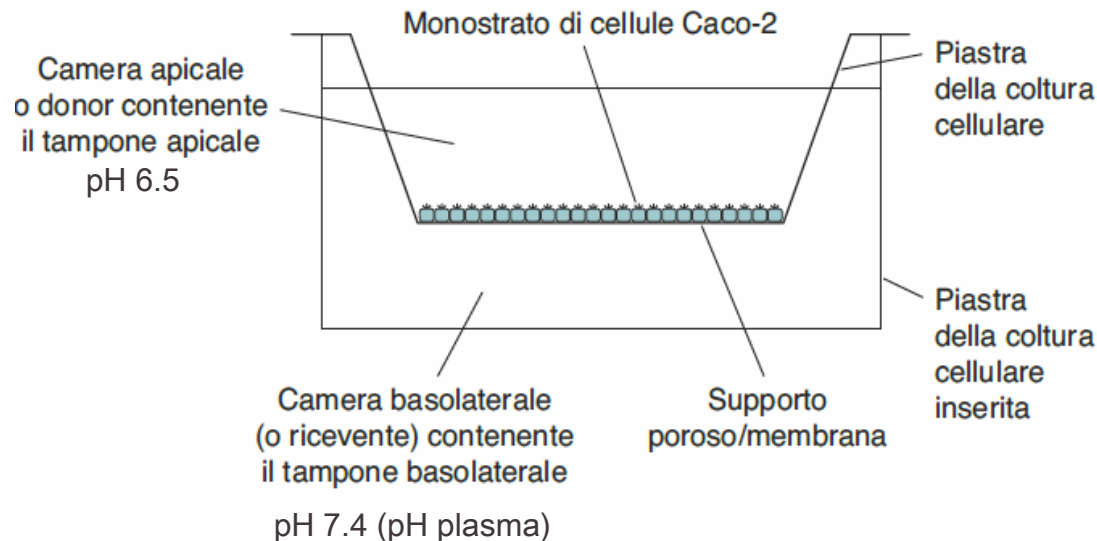
- Optimum **CNS penetration** around $\text{Log } P = 2 \pm 0.7$ (Hansch)
- Optimum **Oral absorption** around $\text{Log } P = 1.8$
- Optimum **Intestinal absorption** $\text{Log } P = 1.35$
- Optimum **Colonic absorption** $\text{Log } P = 1.32$
- Optimum **Sub lingual absorption** $\text{Log } P = 5.5$
- Optimum **Percutaneous** $\text{Log } P = 2.6$ (& low mw)

Formulation and dosing forms:

- Low $\text{Log } P$ (below 0) **Injectable**
 - Medium (0-3) **Oral**
 - High (3-4) **Transdermal**
 - Very High (4-7) **Toxic build up in fatty tissues**
-

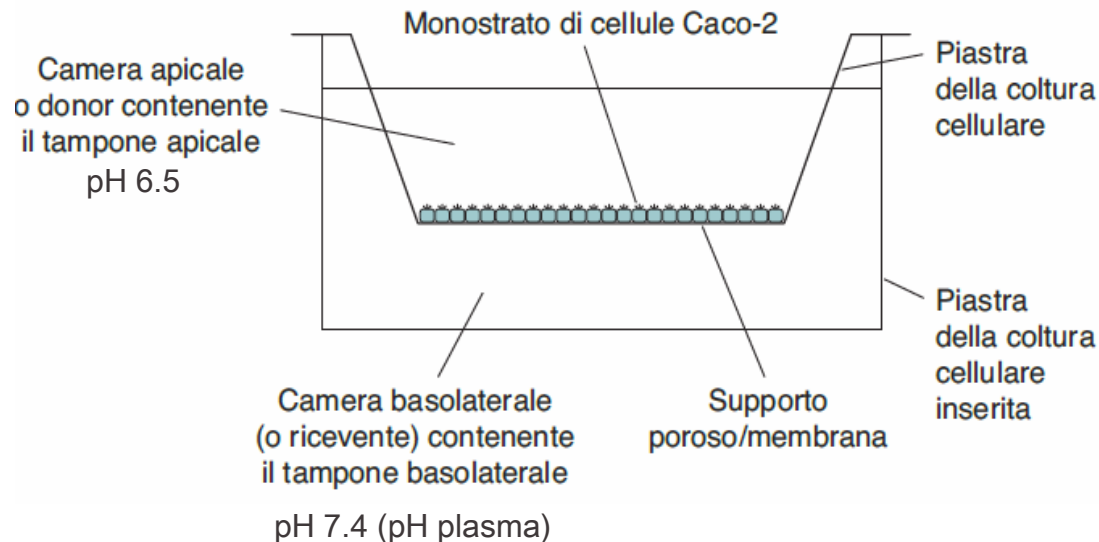
Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con colture cellulari

- Caco-2 : linee cellulari del carcinoma del colon umano
- Formano un monostrato di enterociti polarizzati che mima la parete dell'intestino tenue (microvilli, sistemi di trasporto, glicoproteina P)
- Diverse tecniche di coltivazione



Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con colture cellulari

- metodo biologico in vitro (Coefficiente di permeabilità apparente)



Il coefficiente di permeabilità apparente (cm/s)

$$P_{app} = \frac{dQ}{dt} \frac{1}{C_0 A}$$

- dQ/dt è la velocità di trasporto del farmaco (mg/s^{-1})
- C_0 è la concentrazione del farmaco nel donor iniziale (mg/mL)
- A è l'area della superficie del monostrato (cm^2).

Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con colture cellulari

- metodo biologico in vitro

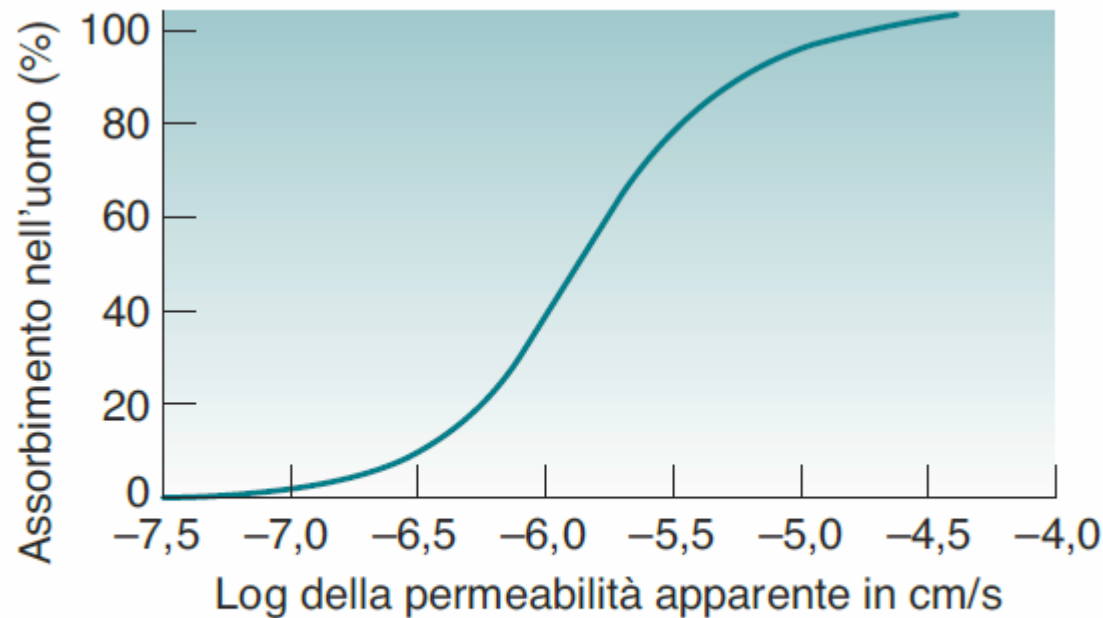
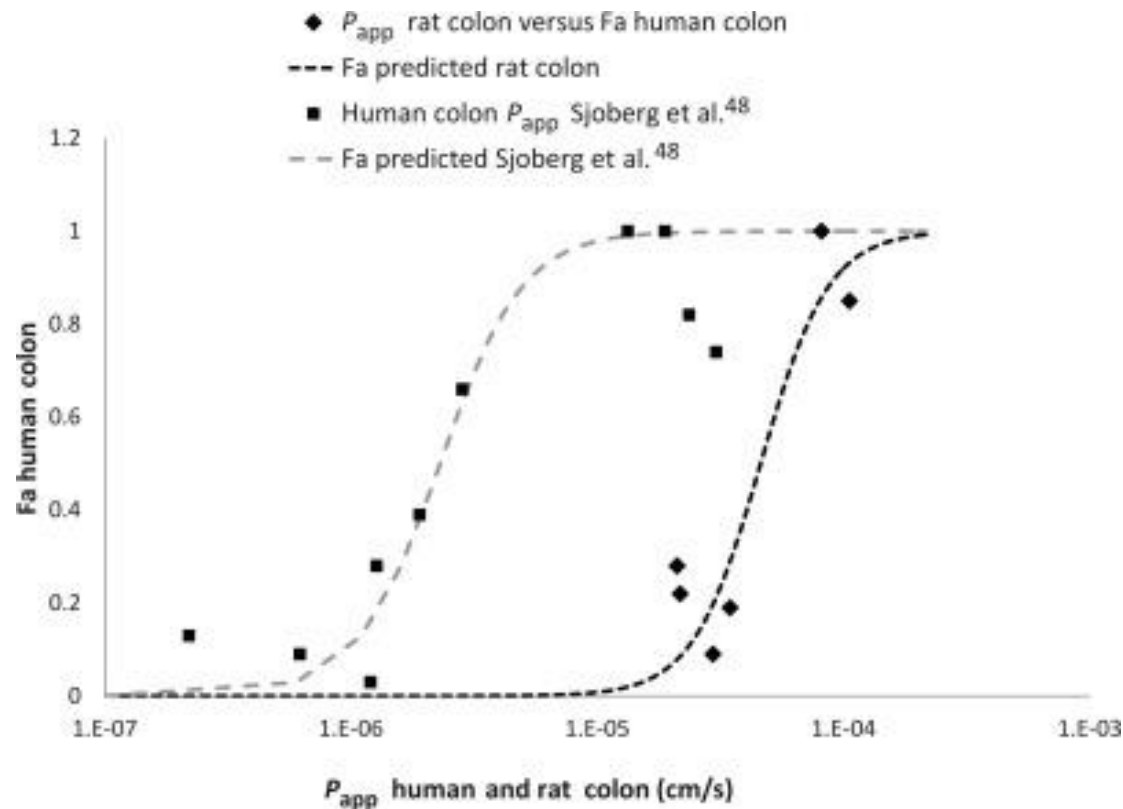


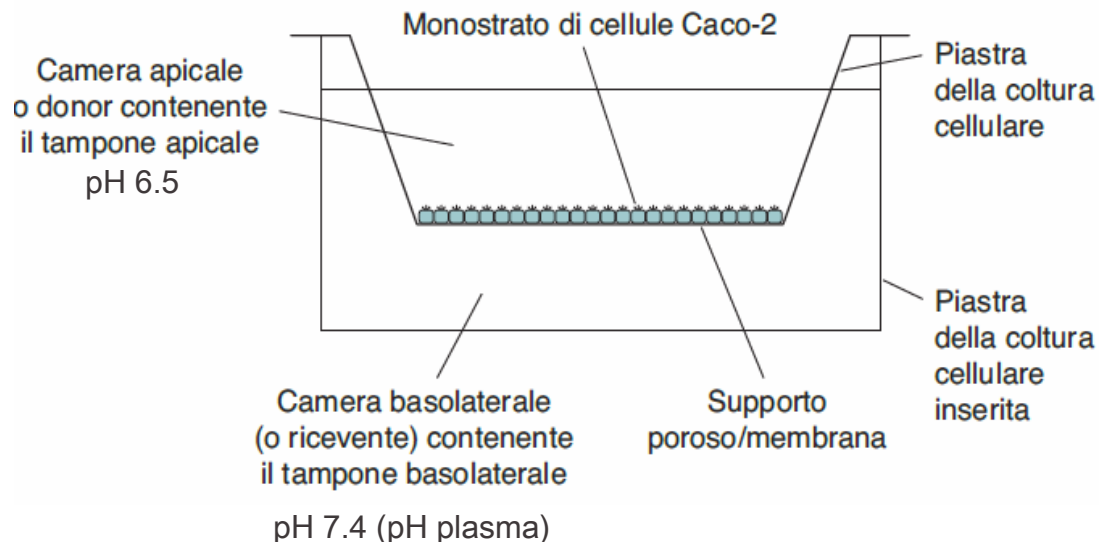
Fig. 21.4 • Relazione tra frazione assorbita nell'uomo e coefficiente di permeabilità apparente in cellule Caco-2.

Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con colture cellulari



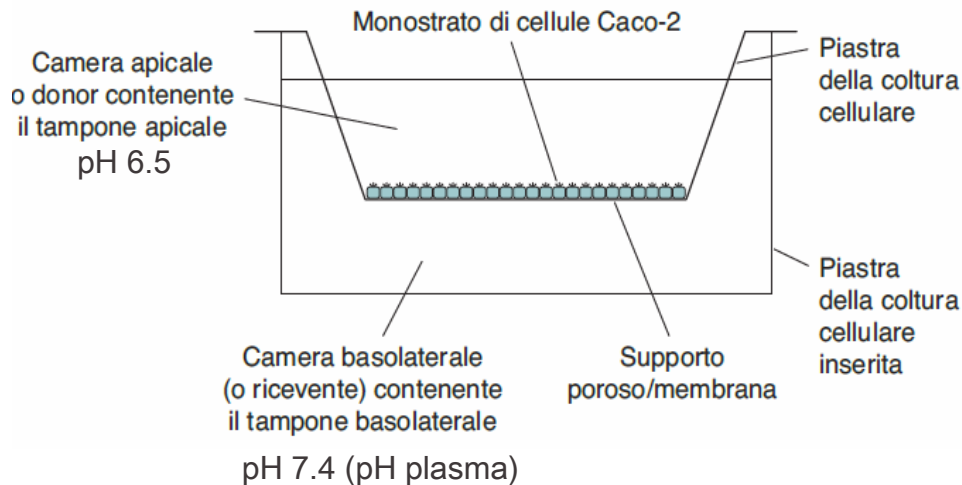
Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con colture cellulari

- Metodo con colture cellulari permette di determinare
 - Coefficiente di permeabilità apparente
 - Tipo di trasporto (diffusione passiva, trasporto attivo, efflusso P-gp)
 - Via paracellulare o transcellulare
 - Stabilità chimica

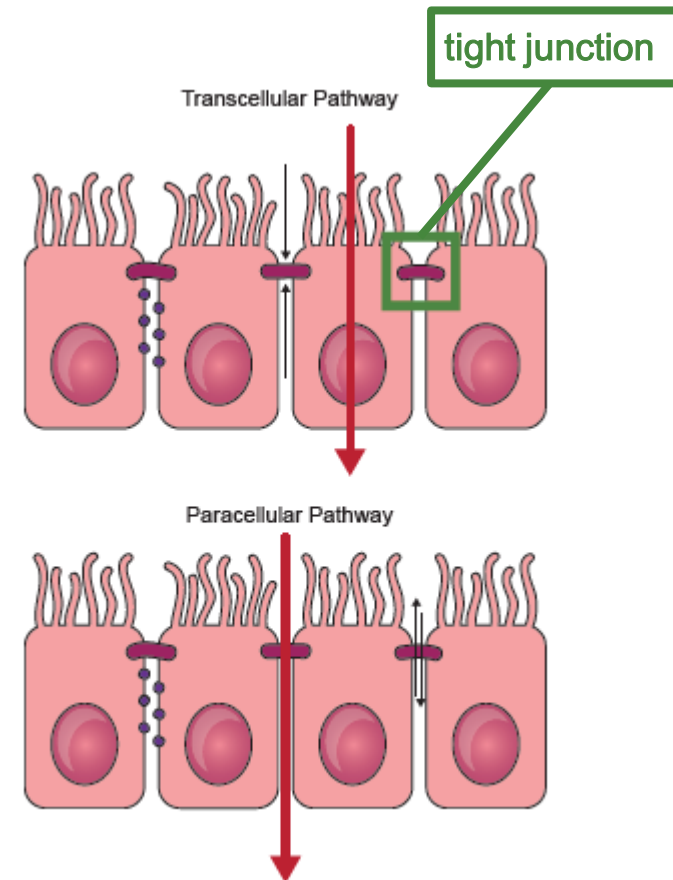


Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con colture cellulari

- metodo biologico in vitro (Via paracellulare o transcellulare)



Marker paracellulare: Mannitolo
Chelante calcio: EDTA



Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con tessuti



Metodi biologici in vitro

- Modello degli strati isolati di mucosa intestinale
- Modello degli anelli intestinali rovesciati.

Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con tessuti

Modello degli strati isolati di mucosa intestinale (Coefficiente di permeabilità apparente)

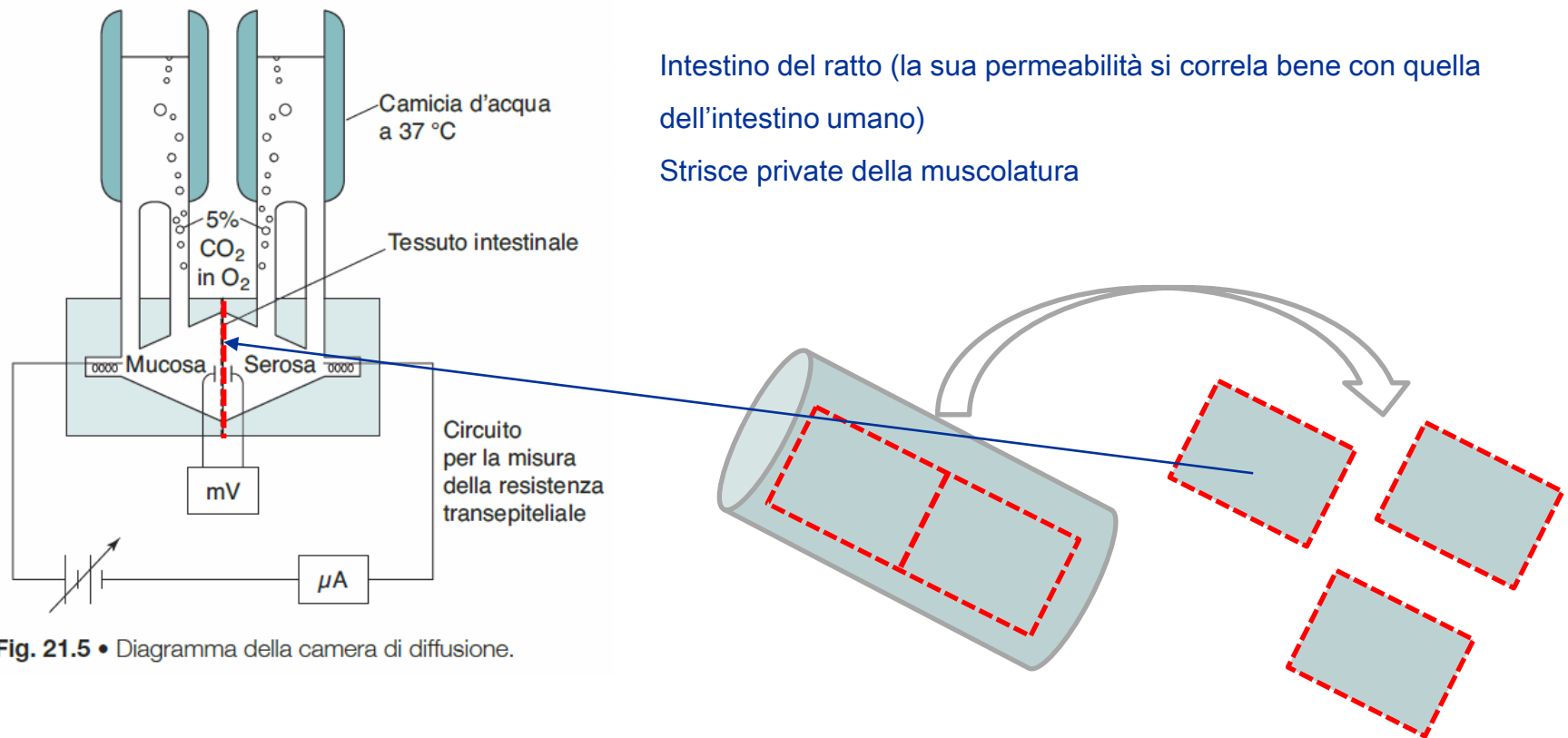
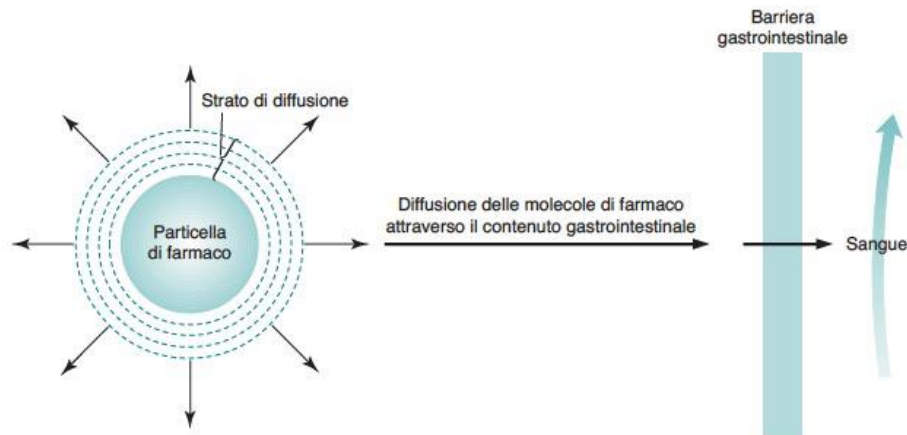


Fig. 21.5 • Diagramma della camera di diffusione.

Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con tessuti

Modello degli strati isolati di mucosa intestinale (Coefficiente di permeabilità apparente)

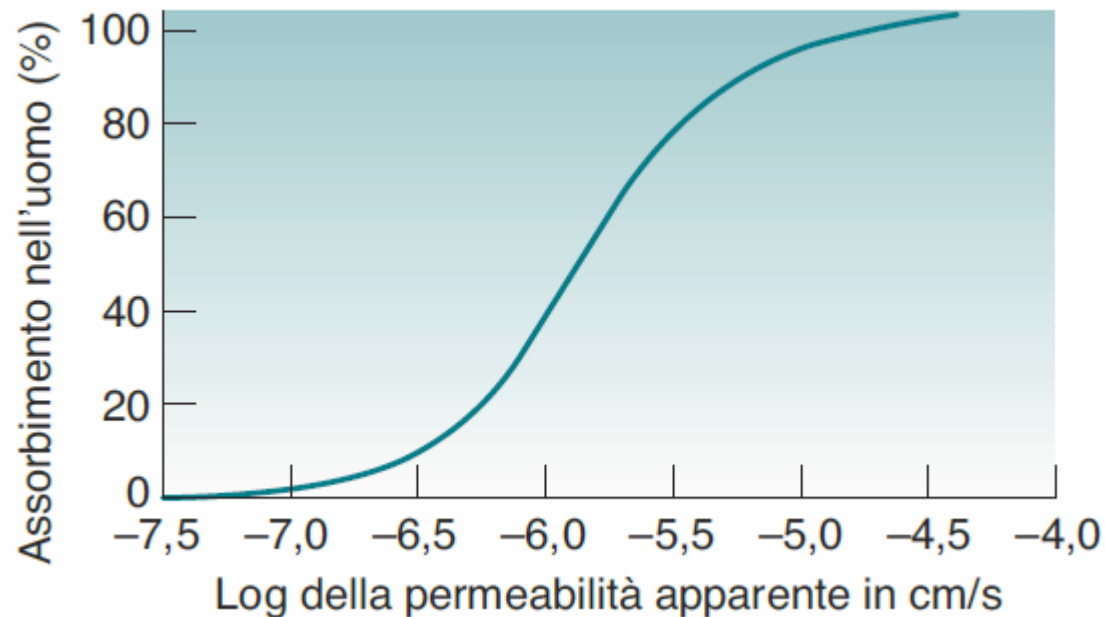


- Coefficiente di permeabilità apparente (per differenti regioni intestino)
- Influenza del pH
- Tipo di trasporto (diffusione passiva, trasporto attivo, glicoproteina P)
- Via paracellulare o transcellulare



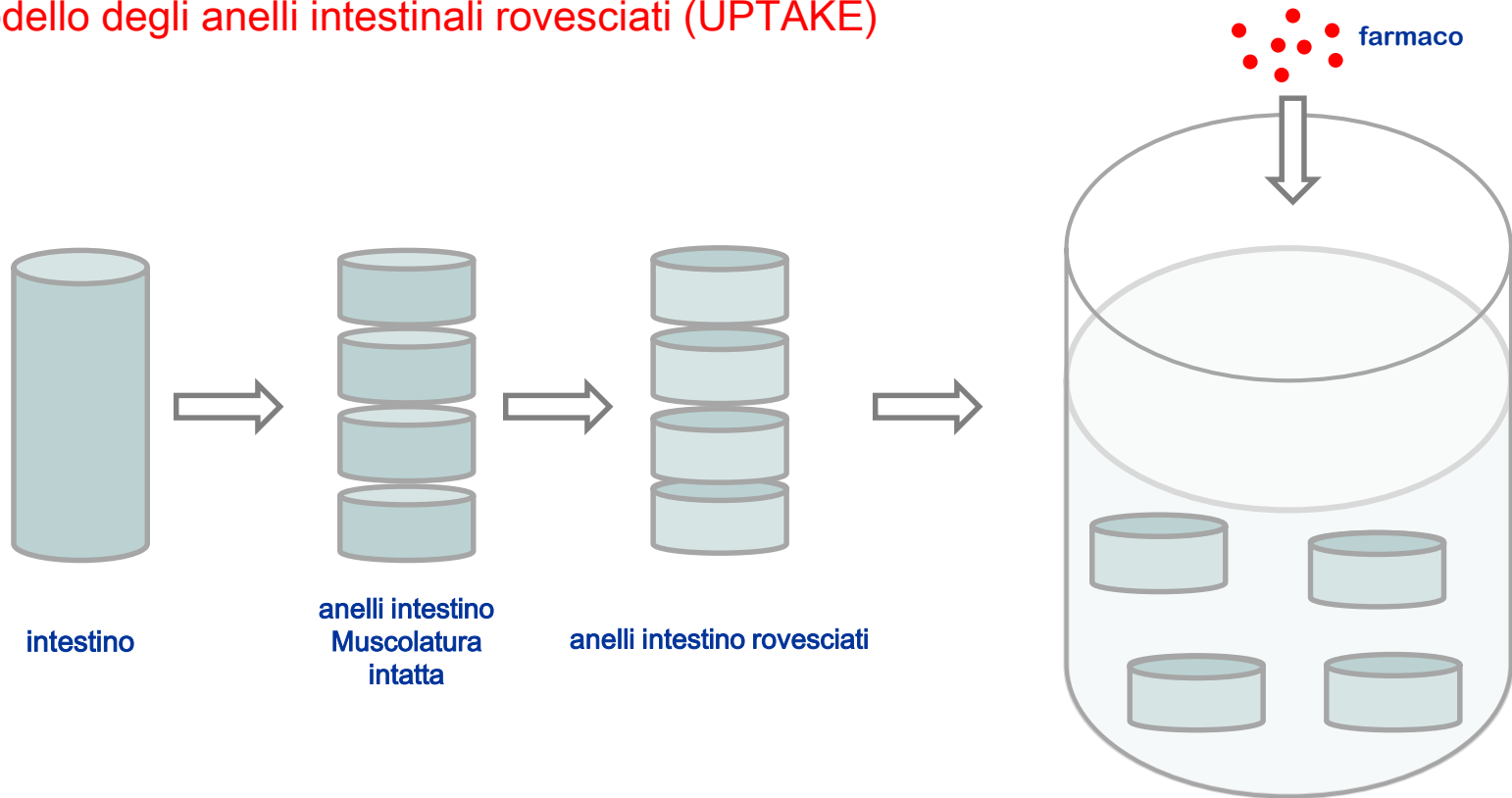
Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con tessuti

- metodo biologico in vitro



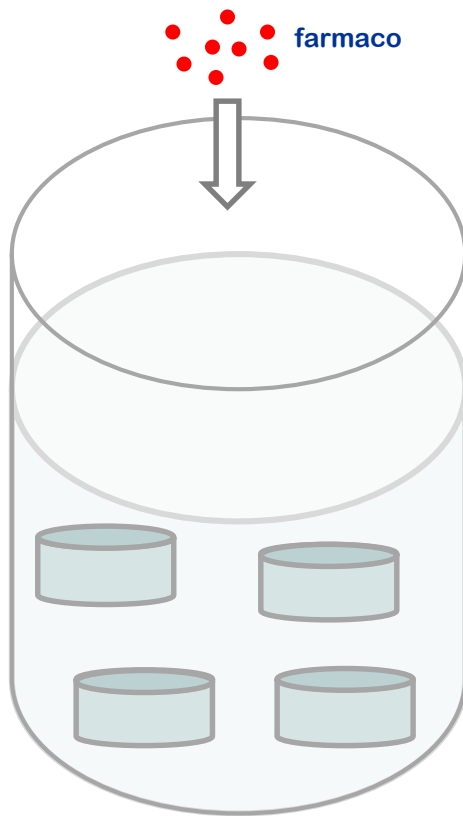
Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con tessuti

Modello degli anelli intestinali rovesciati (UPTAKE)



Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con tessuti

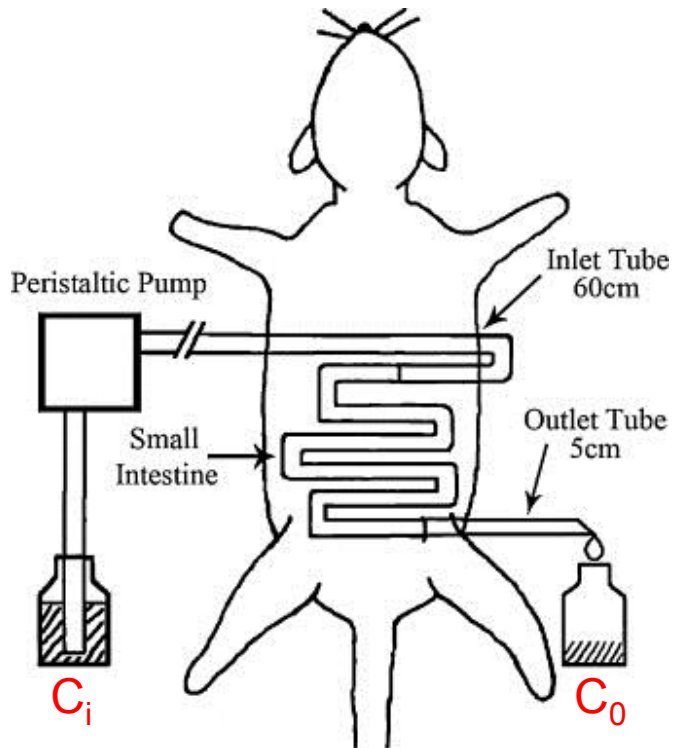
Modello degli anelli intestinali rovesciati (UPTAKE no permeabilità apparente)



Viene determinato il contenuto di farmaco negli anelli e calcolato l'uptake = quantità di farmaco assorbita per grammo di tessuto umido durante un periodo di tempo specifico ($\text{mol g}^{-1}\text{t}^{-1}$)

- Metodo rapido e semplice
- Mantenimento della vitalità tissutale
- Processo di analisi lungo
 - digestione tessuto
 - estrazione farmaco
 - titolazione (u.v., hplc ecc.)

Studi permeazione in situ (perfusione intestinale)



Metodo a ansa aperta

Viene determinata la quantità di farmaco che scompare dal lume

P_{eff} (coefficiente di permeabilità effettiva (cm/s))

$$P_{\text{eff}} = \frac{Q \ln(C_i - C_0)}{2\pi r l}$$

Q = velocità di flusso in ml s^{-1}

C_i = concentrazione iniziale di farmaco

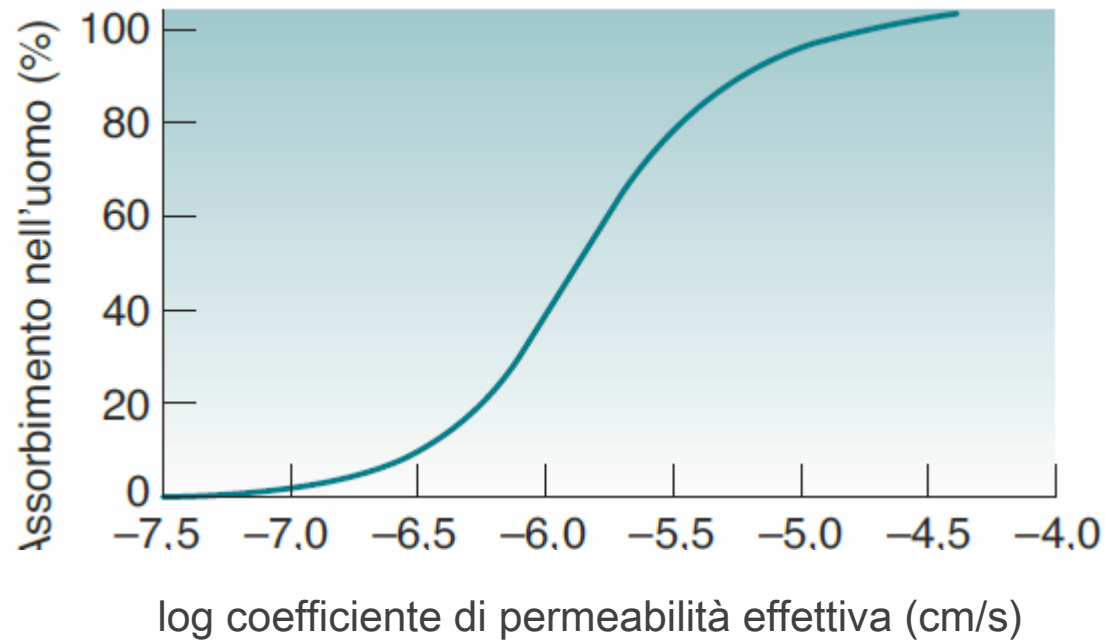
C_0 = concentrazione finale di farmaco

r = raggio del sacco intestinale (cm)

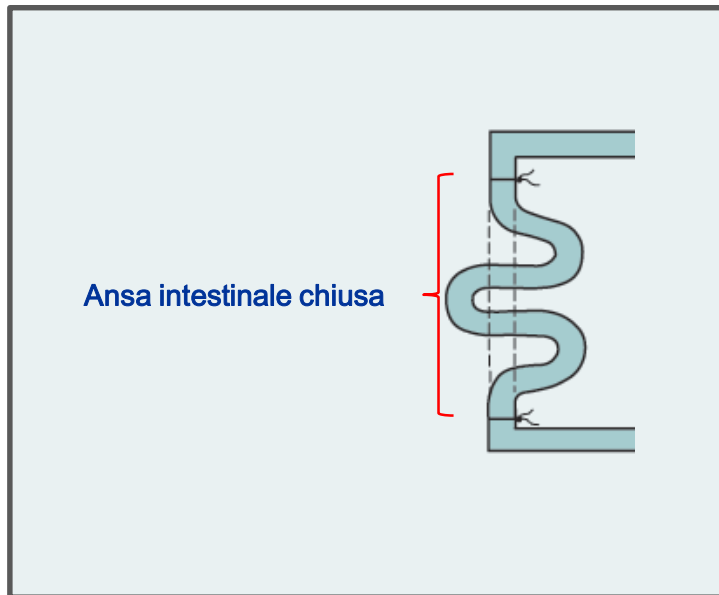
l = lunghezza dell'ansa intestinale (cm)



Studi permeazione in situ (perfusione intestinale)



Studi permeazione in situ (perfusione intestinale)



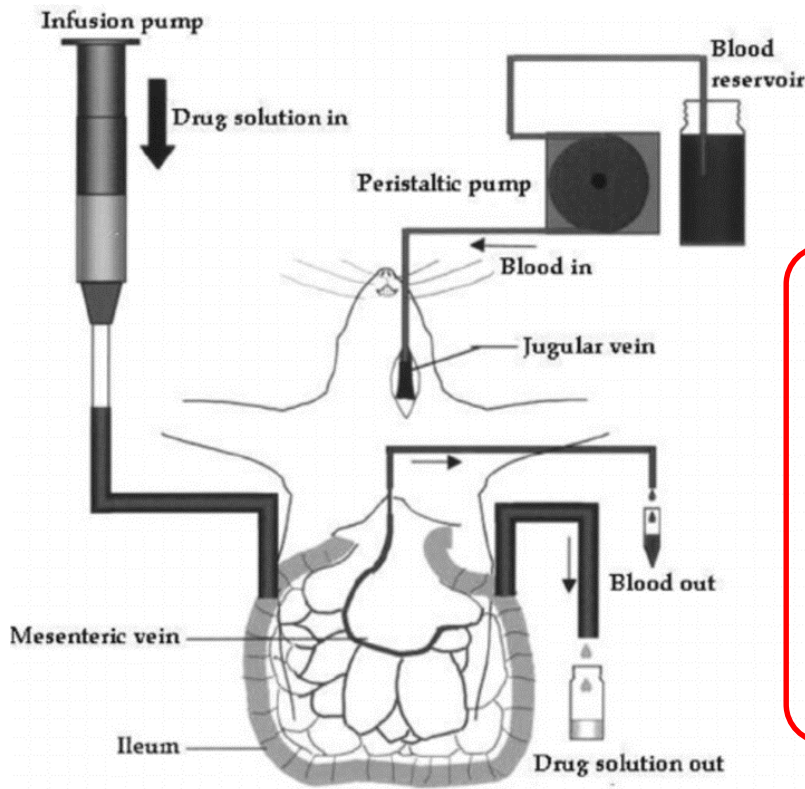
Processo di analisi lungo

- digestione tessuto
- estrazione farmaco
- titolazione (u.v., hplc ecc.)

Metodo a ansa chiusa

Viene determinata la quantità di farmaco **che scompare dal lume**

Studi permeazione in situ (perfusione intestinale)



P_{eff} (coefficiente di permeabilità effettiva (cm/s))

$$P_{\text{eff}} = \frac{Q \ln(C_i - C_0)}{2\pi r l}$$

Q = velocità di flusso in ml s^{-1}

C_i = concentrazione iniziale di farmaco

C_0 = concentrazione finale di farmaco

r = raggio del sacco intestinale (cm)

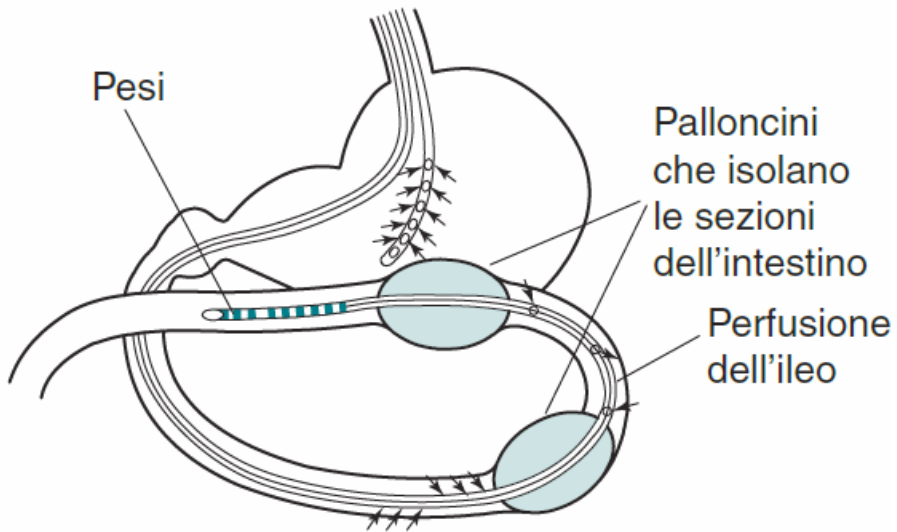
l = lunghezza dell'ansa intestinale (cm)

Metodo con perfusione vascolare

L'assorbimento può essere valutato dalla quantità di farmaco che scompare dal lume e/o da quella che compare nella nel sangue

Studio del metabolismo intestinale (studio metaboliti)

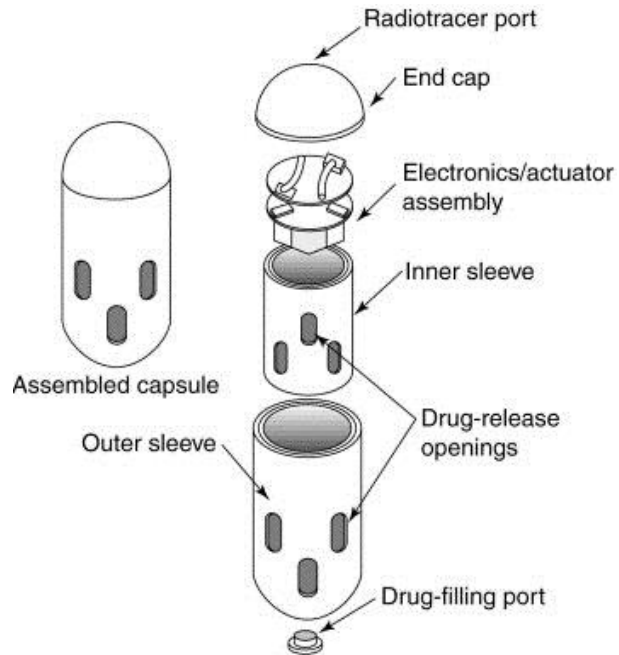
Studi di perfusione intestinale nell'uomo



Distanza tra palloncini 10 cm

LOC-I-GUT

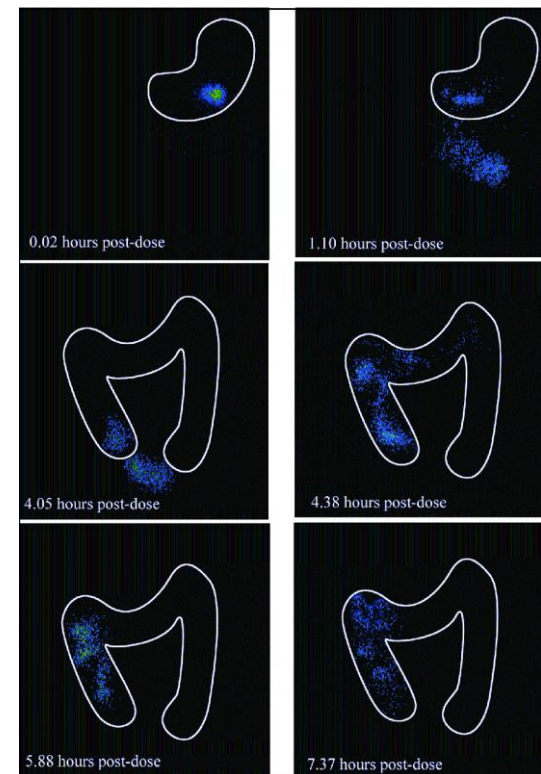
Studi di perfusione intestinale non invasiva nell'uomo



Pharmaceutical Science & Technology Today

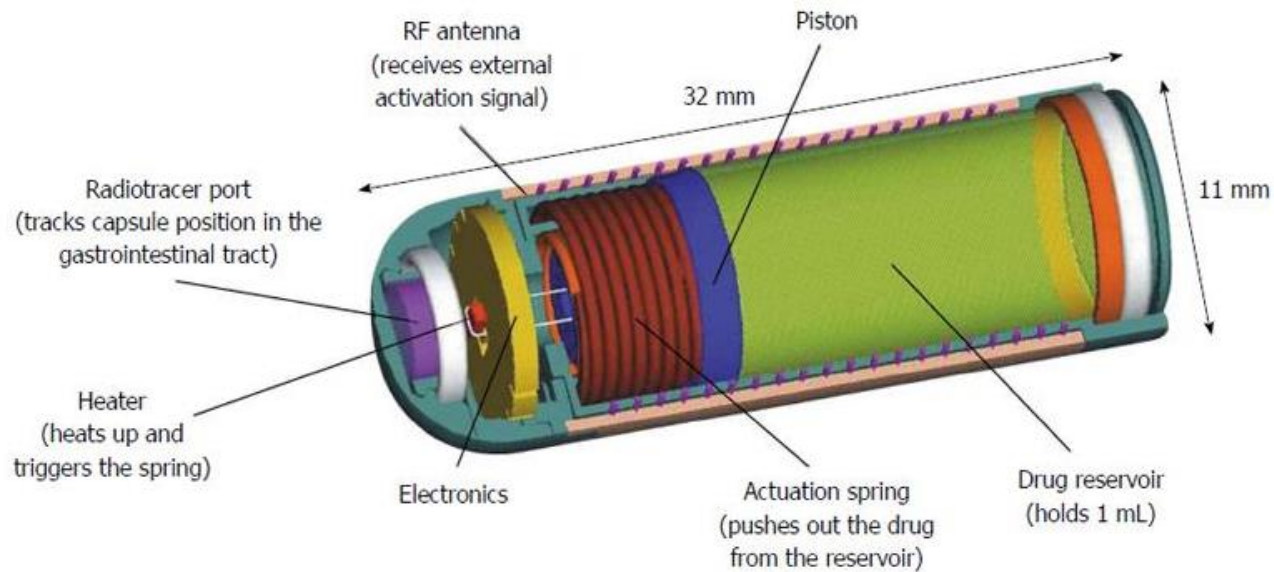
Capsule InteliSite®

- Rilascio attivato per mezzo di **radiofrequenze**
- Posizione nell'intestino determinata con **per gamma scintigrafia**



Studi di perfusione intestinale non invasiva nell'uomo

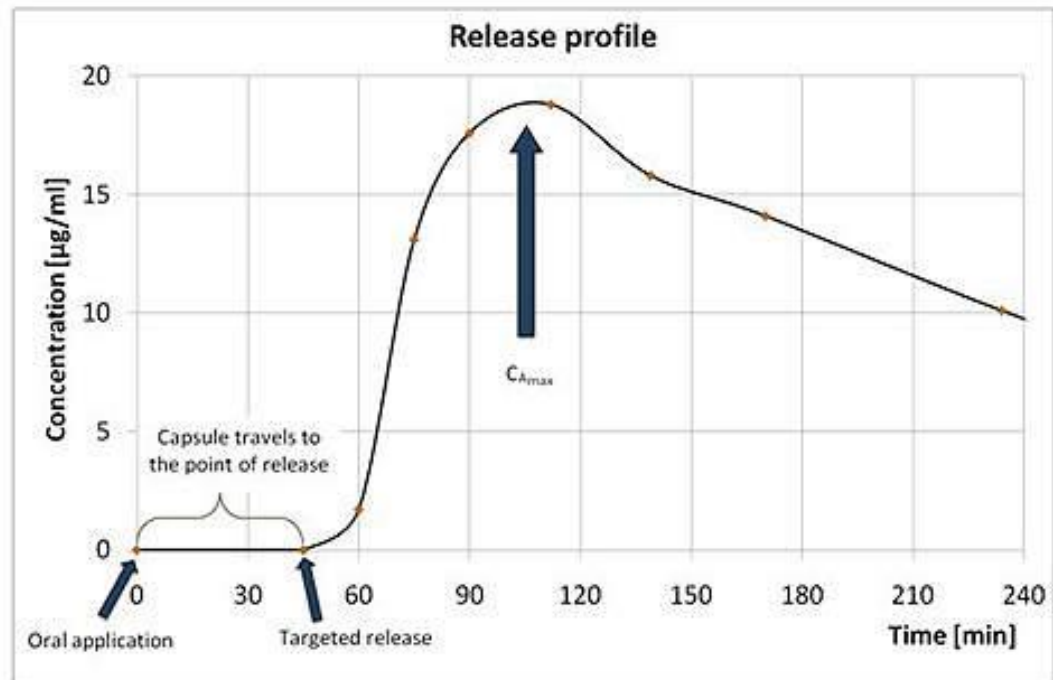
- Rilascio attivato per **campo magnetico**
- Posizione nell'intestino determinata con **gamma scintigrafia**



Enterion®

Studi di perfusione intestinale non invasiva nell'uomo

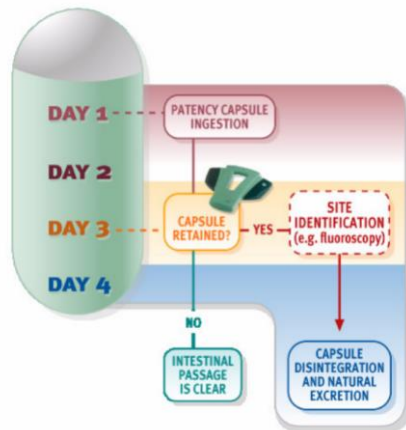
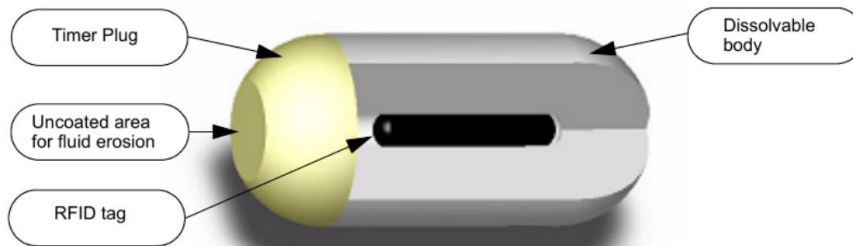
- Rilascio attivato per **campo magnetico**
- Posizione nell'intestino determinata con **gamma scintigrafia**



MAARS

Studi di perfusione intestinale non invasiva nell'uomo

Diagnosi stenosi intestinale



M2A capsule

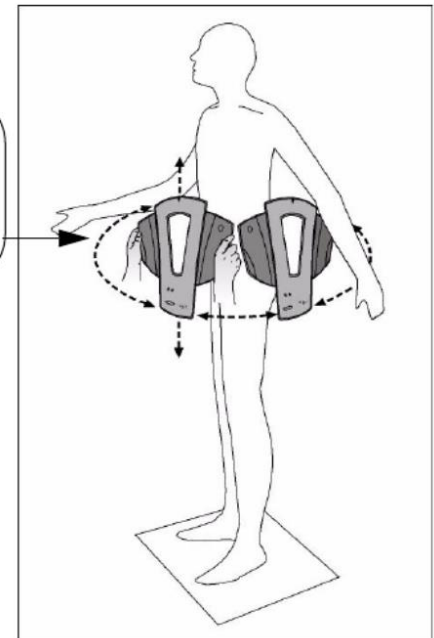
Overview

M2A Patency Capsule

The M2A Patency Capsule is an ingestible and dissolvable capsule comprised of a body that surrounds a small inner Radio Frequency Identification (RFID) tag. It is the same size of the M2A Capsule (26 mm long, 11 mm wide). The body is coated with an impermeable membrane, except for a small window on the Timer Plug.

The Timer plug seals the capsule's body. If the capsule is retained in the GI tract, the Timer Plug erodes, allowing the penetration of body fluids into the capsule and the dissolution of the body. The remaining fragments of the capsule can pass even small orifices.

Hold the Scanner as close as possible to the patient and scan all around the abdominal area in either direction as the arrows indicate.



Capsule endoscopy: “the device”



| Capsule | PillCam® SB 3 Given Imaging | EndoCapsule® Olympus America | MiroCam® IntroMedic Company | OMOM® Jinshan Science and Technology |
|-------------------|--------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|---|
| Size | Length: 26.2 mm Diameter: 11.4 mm | Length: 26 mm Diameter: 11 mm | Length: 24.5 mm Diameter: 10.8 mm | Length: 27.9 mm Diameter: 13 mm |
| Weight | 3.00 g | 3.50 g | 3.25–4.70 g | 6.00 g |
| Battery life | 8 h or longer | 8 h or longer | 11 h or longer | 6–8 h or longer |
| Resolution | 340×340 30% better than SB2 | 512×512 | 320×320 | 640×480 |
| Frames per second | 2 fps or 2–6 fps | 2 fps | 3 fps | 2 fps |
| Field of view | 156° | 145° | 170° | 140° |
| Communication | Radio frequency Communication | Radio frequency Communication | Human body Communication | Radio frequency Communication |
| FDA approval | Yes | Yes | Yes | No |
| Price per capsule | \$500 | \$500 | \$500 | \$250 |