

Proprietà Biofarmaceutiche

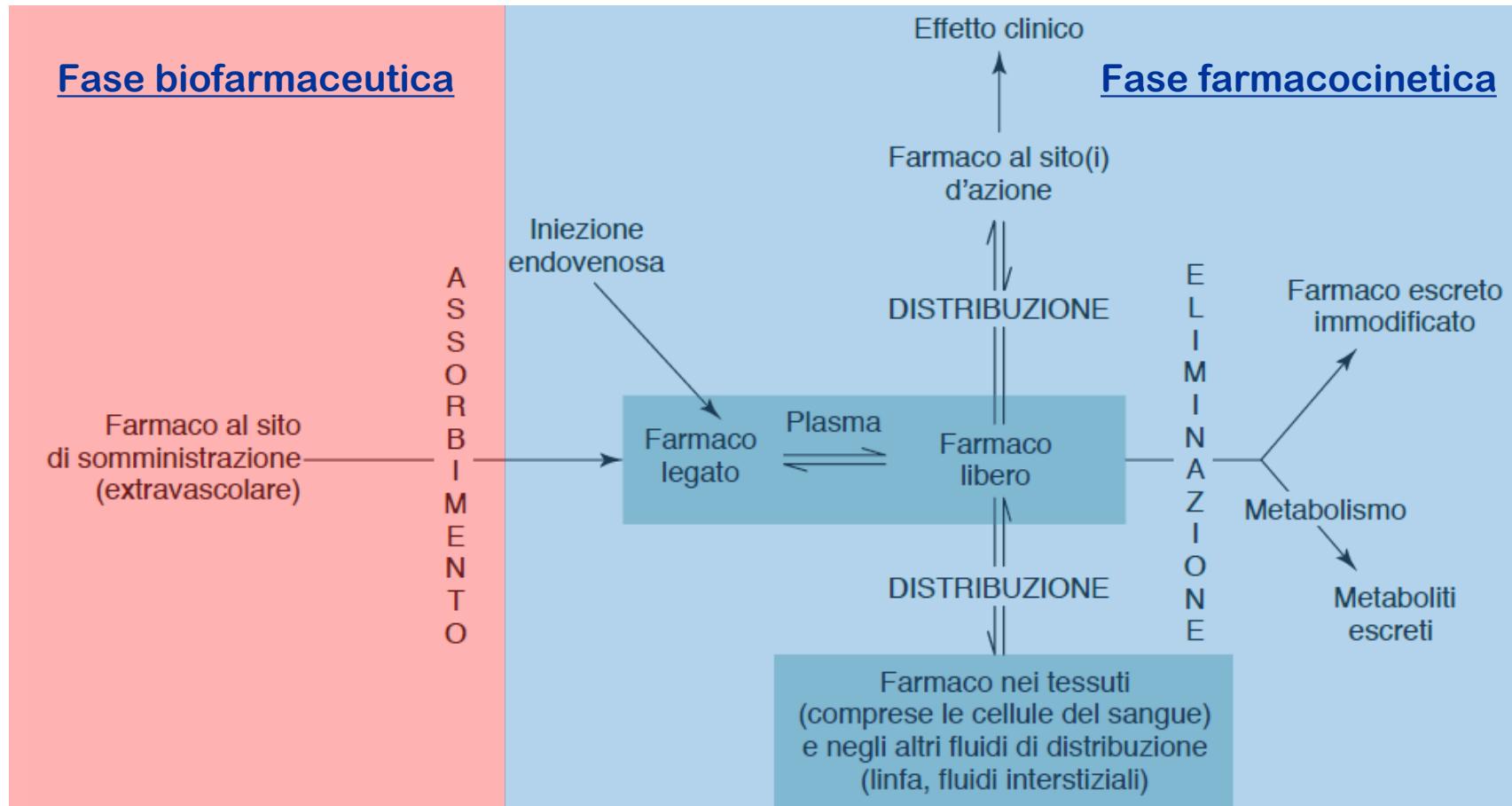


Francesco Lai

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



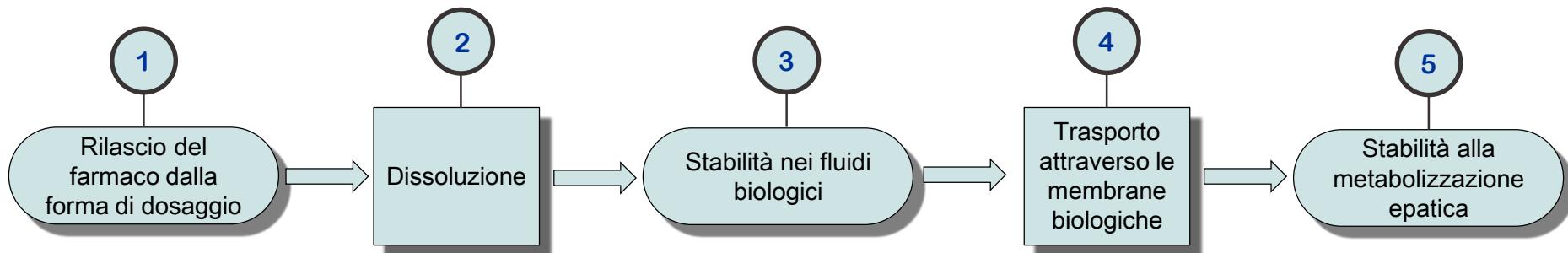
ADME





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?

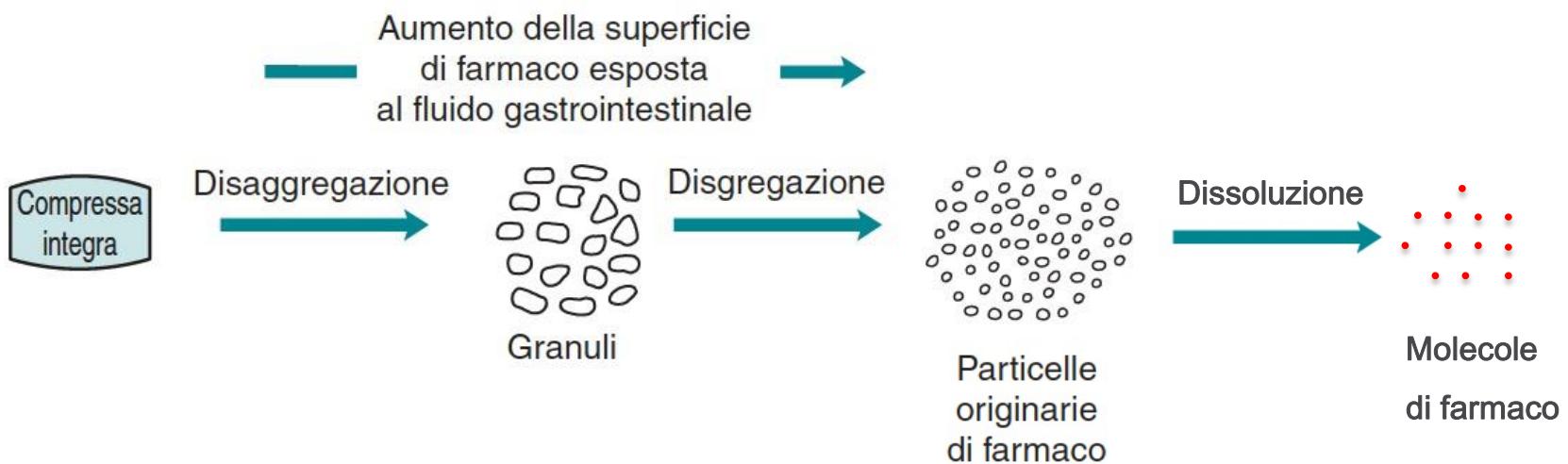
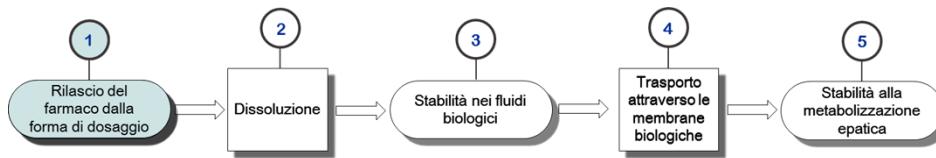


Tabella 1.3 Proprietà dei principi attivi importanti nella progettazione di forme farmaceutiche e potenziali stress dei farmaci durante i processi, con le diverse procedure di produzione

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



Proprietà biofarmaceutiche





Proprietà biofarmaceutiche

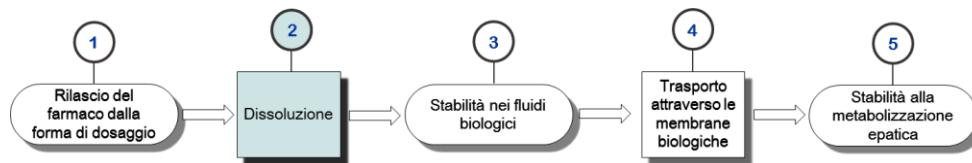


Tabella 2.1 Parametri che influenzano la velocità di dissoluzione in vitro di solidi nei liquidi

Termine nella equazione di Noyes-Whitney (Eq 2.4)	Influenzato da
A : superficie specifica del solido non disiolto (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

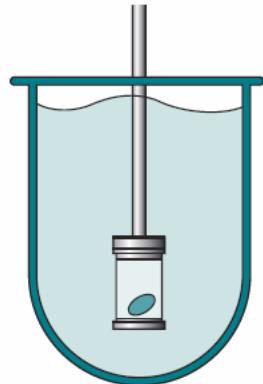
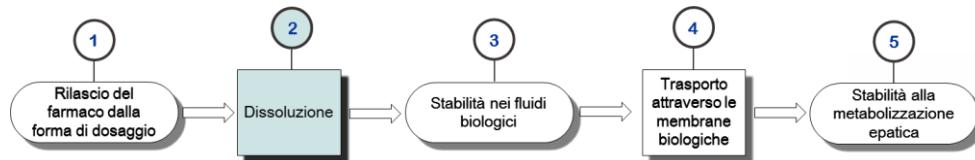


Fig. 35.4 • Apparecchio a cestello o basket (Apparecchio 1 USP).

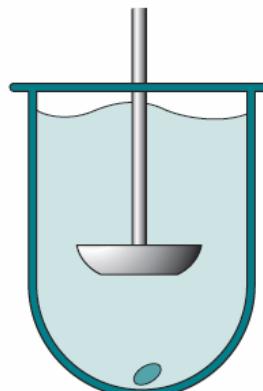


Fig. 35.5 • Apparecchio a paletta o paddle (Apparecchio 2 USP).

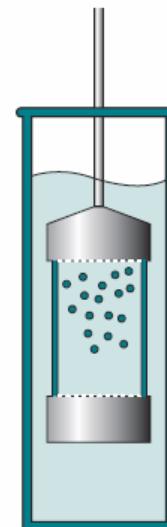
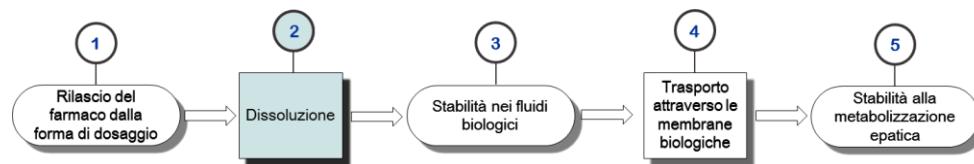


Fig. 35.6 • Apparecchio a cilindro reciprocente (Apparecchio 3 USP).



Proprietà biofarmaceutiche



Velocità di dissoluzione intrinseca

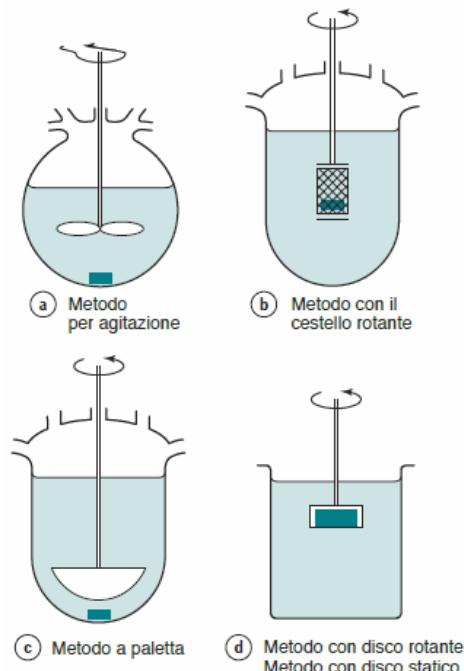


Fig. 2.5 • Metodi di misurazione delle velocità di dissoluzione.



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) Acido cloridrico/idrossido di sodio	1:1 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.)

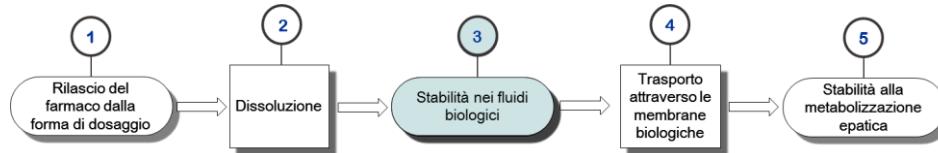
Tabella 35.3 Composizione di fluidi intestinali simulanti la condizione di digiuno (FaSSIF) e le condizioni post-prandiali (FeSSIF)

FeSSIF	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

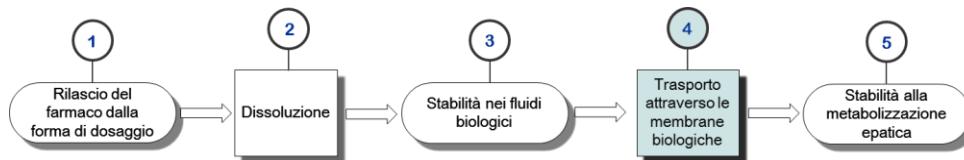


Valutazione della stabilità nei fluidi biologici (via orale)

- Tecniche con colture cellulari
- Metodi di perfusione intestinale (anche nell'uomo)
- Preparazioni di membrana del colletto 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
 - In vivo
 - In vitro
- Metodi biologici



Velocità di permeazione

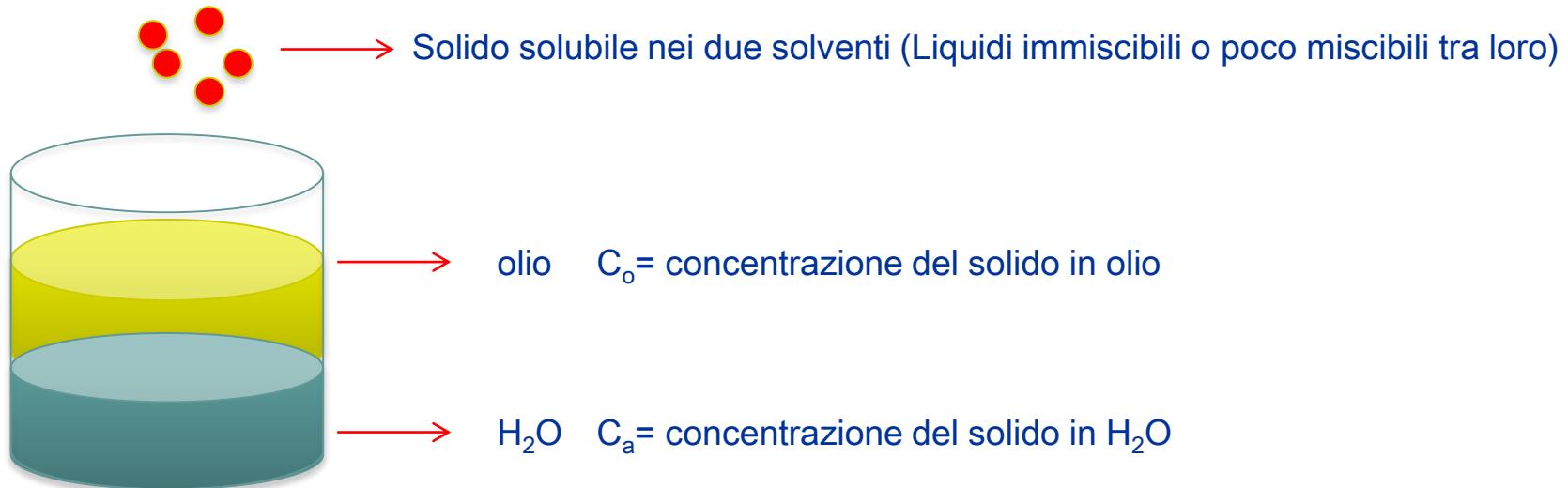
Tabella 21.1 Alcuni dei modelli disponibili per prevedere o misurare l'assorbimento dei farmaci

Tipo di modello	Modello	Descrizione
Computazionale/in silico	clogP	Software commerciale che calcola il coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua in base all'analisi dei frammenti, noto come <i>metodo di Leo-Hansch</i>
	mlogP	Metodo di calcolo di logP, 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	Monostriati di Caco-2	Misura il trasporto attraverso monostriati di cellule di adenocarcinoma del colon umano
	HT-29	Misura il trasporto attraverso monostriati 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 rovesciato	Misura l'uptake all'interno di segmenti/sacchi di intestino
	Anelli di intestino rovesciati	Studia la cinetica dell'uptake nella mucosa intestinale
	Foglietti isolati	Misura il trasporto attraverso fogli di intestino
Studi in situ	Perfusione in situ	Misura la scomparsa dal liquido di perfusione da anse chiuse o aperte di segmenti di intestino o di animali anestetizzati
	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)



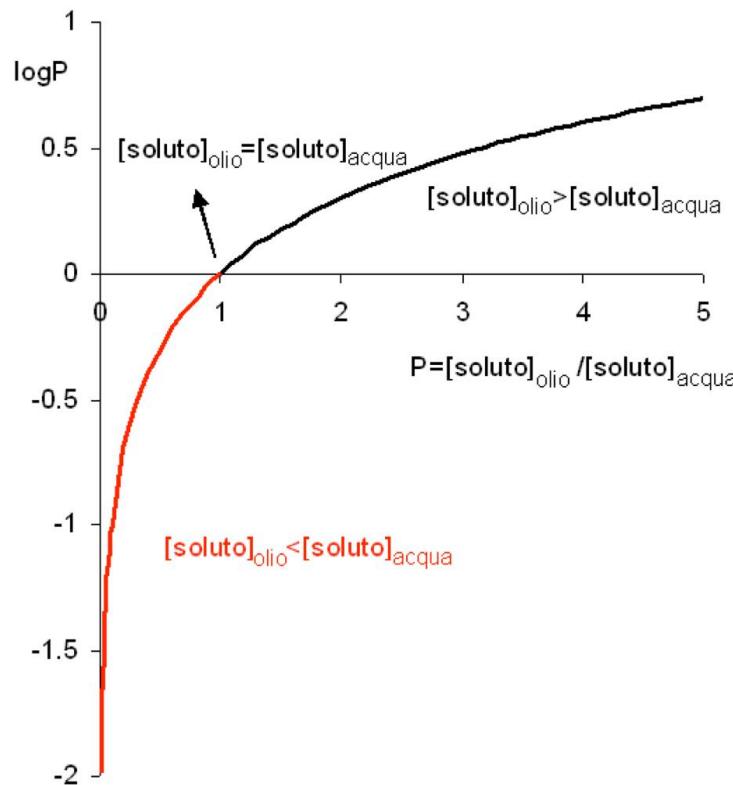
$$K_i(\text{costante}) = \frac{C_o}{C_a}$$

Coefficiente di ripartizione
(intriseco)



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

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



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

N-(2-metilfenil)-acetamide

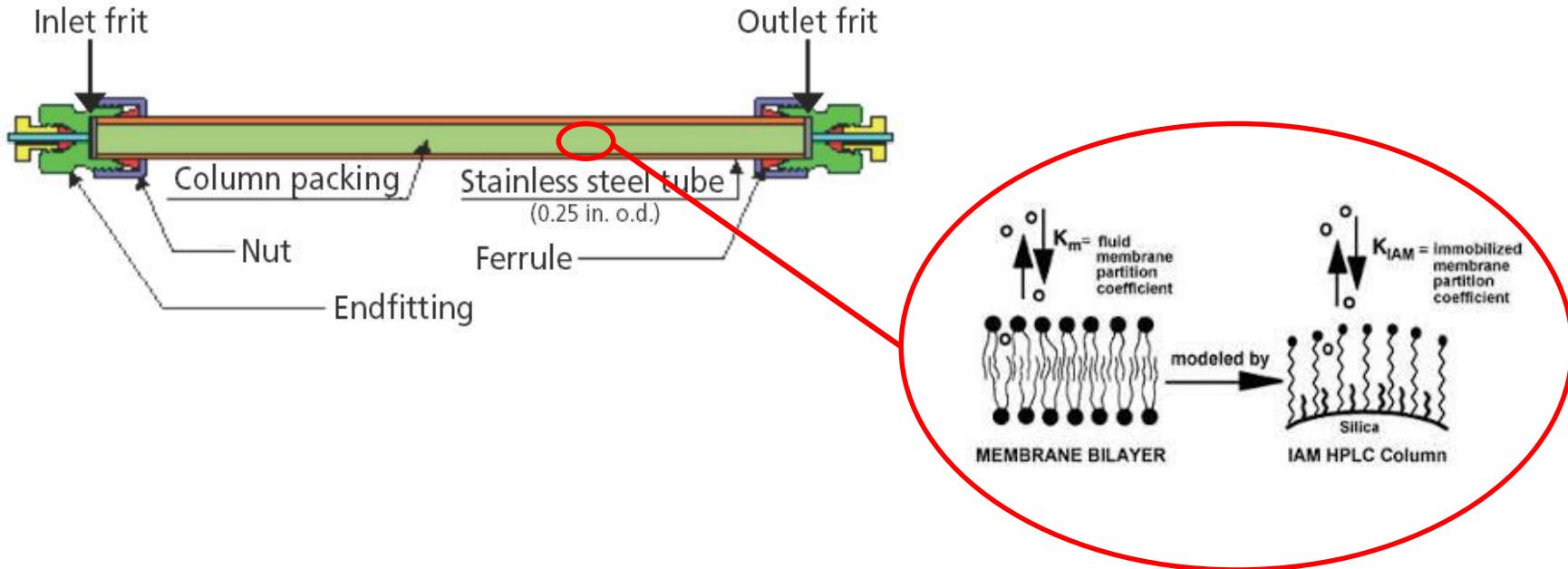
	1 frammento NH-amidico	-.510
	2 atomi di C alifatico "isolato"	0.390
	6 atomi di C aromatici "isolati"	0.780
	10 atomi di H su C "isolati"	2.270
	1 legame "catena"	-0.120
	1 legame "benzilico"	-0.150
	1 sostituente in posizione orto	-0.760
	Totale	0.900
	Valore sperimentale	0.85

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



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)

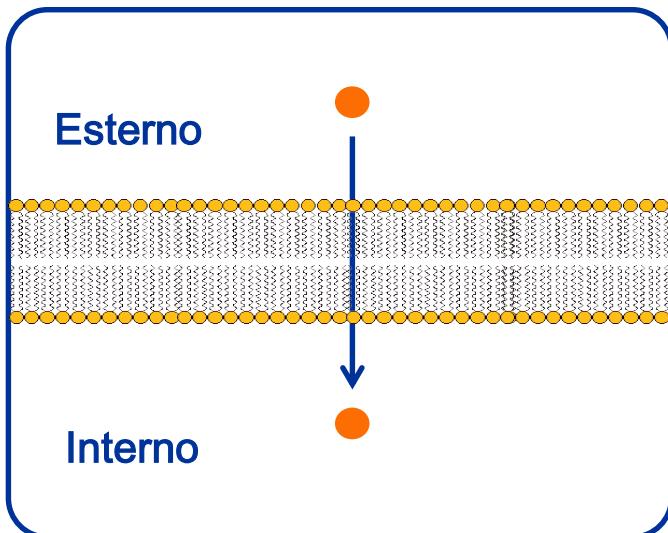


- Colonne HPLC rivestite con n-ottanolo o in generale che simulano le membrane biologiche



Legge di Fick

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



D= Coefficiente di diffusione (cm^2/s) del farmaco nella membrana

A= Area della membrana (cm^2)

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= DAK Costante di Permeabilità o Coefficiente globale (cm^3/s)
h



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)
Epidermide (uomo)	Acidi	4,19 (indissociati)
	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 Log P = 2 +/- 0.7 (Hansch)
- Optimum **Oral absorption** around Log P = 1.8
- Optimum **Intestinal absorption** Log P = 1.35
- Optimum **Colonic absorption** LogP = 1.32
- Optimum **Sub lingual absorption** Log P = 5.5
- Optimum **Percutaneous** Log P = 2.6 (& low mw)

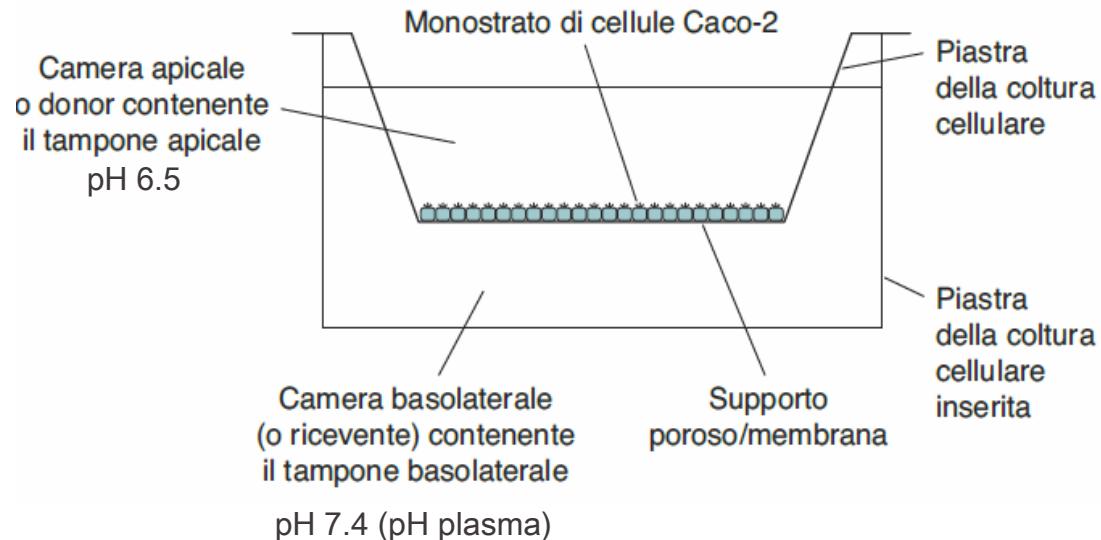
Formulation and dosing forms:

- Low 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

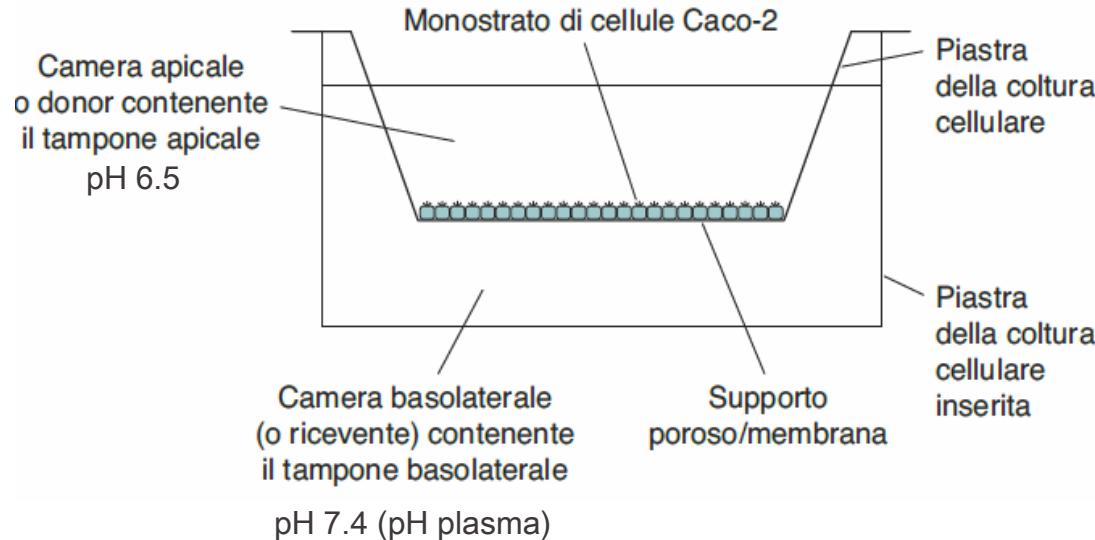
- Caco-2 : linee cellulari del carcinoma del colon umano
- Formano un monostrato di enterociti polarizzati che mima la parete dell'intestino tenue (microvilli, sistemi di trasporto, glicoproteina P)
- Diverse tecniche di coltivazione





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

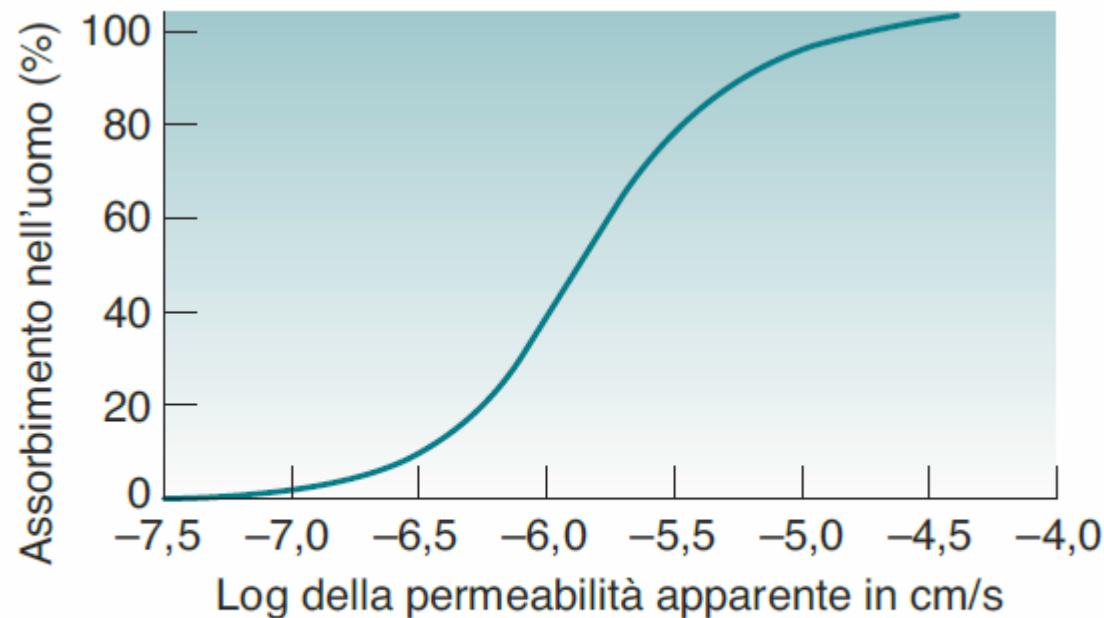
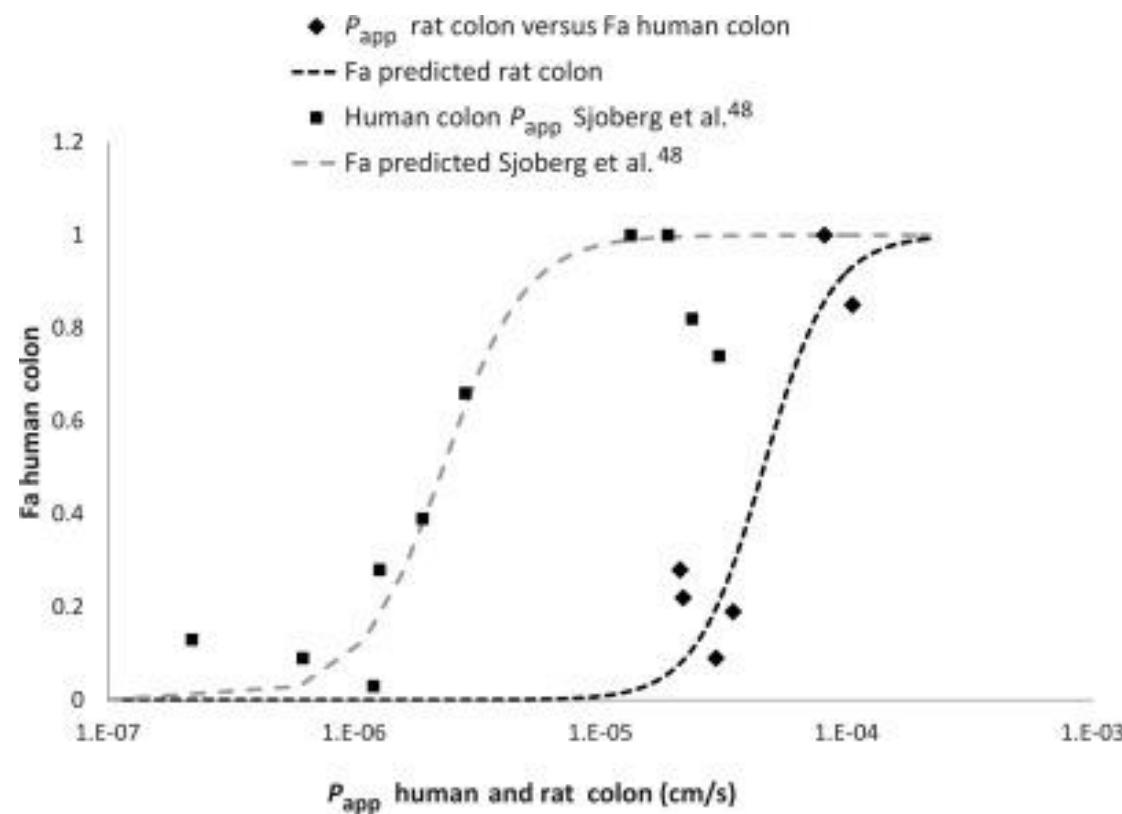


Fig. 21.4 • Relazione tra frazione assorbita nell'uomo e coefficiente di permeabilità apparente in cellule Caco-2.



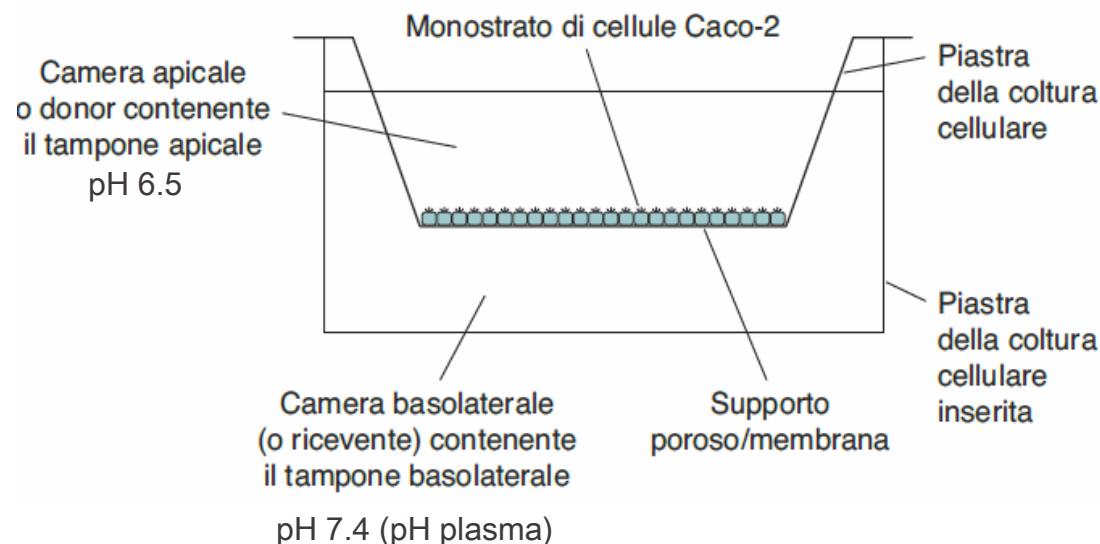
Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con colture cellulari





Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con colture cellulari

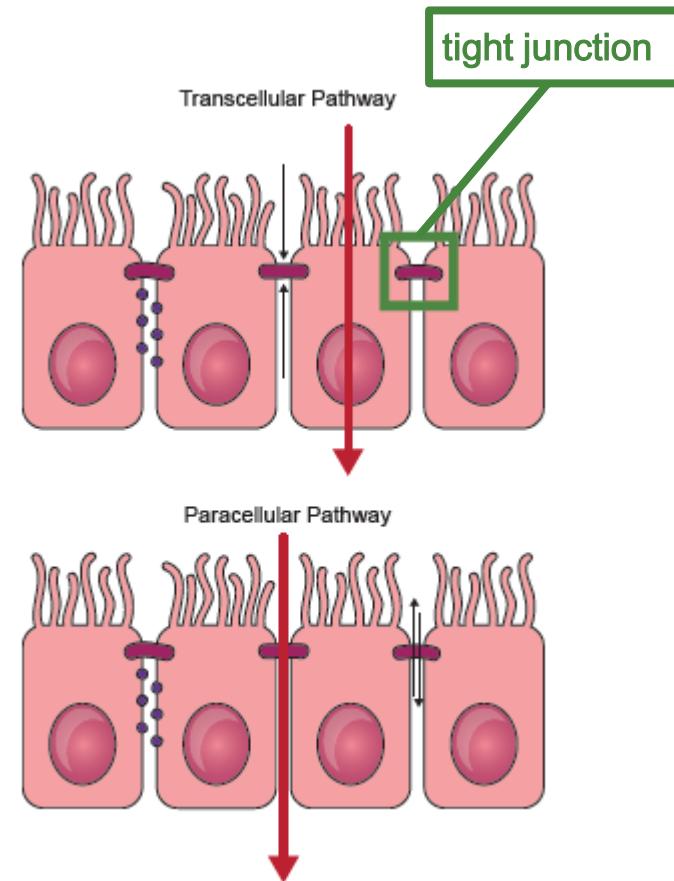
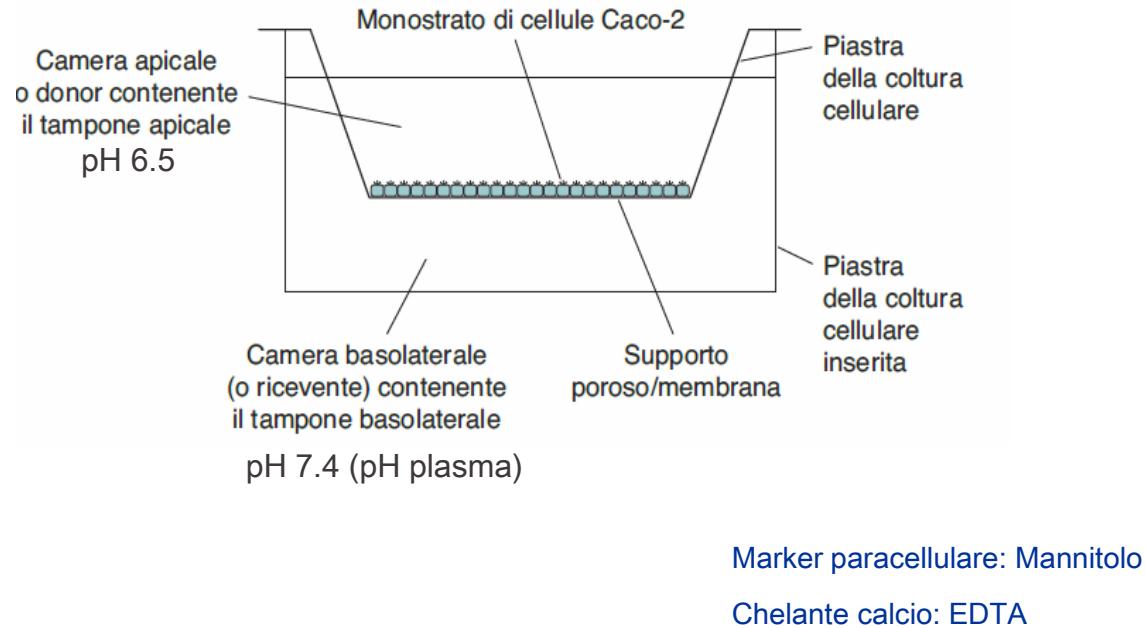
- Metodo con colture cellulari permette di determinare
- Coefficiente di permeabilità apparente
- Tipo di trasporto (diffusione passiva, trasporto attivo, efflusso P-gp)
- Via paracellulare o transcellulare
- Stabilità chimica





Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con colture cellulari

- metodo biologico in vitro (Via paracellulare o transcellulare)





Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con tessuti

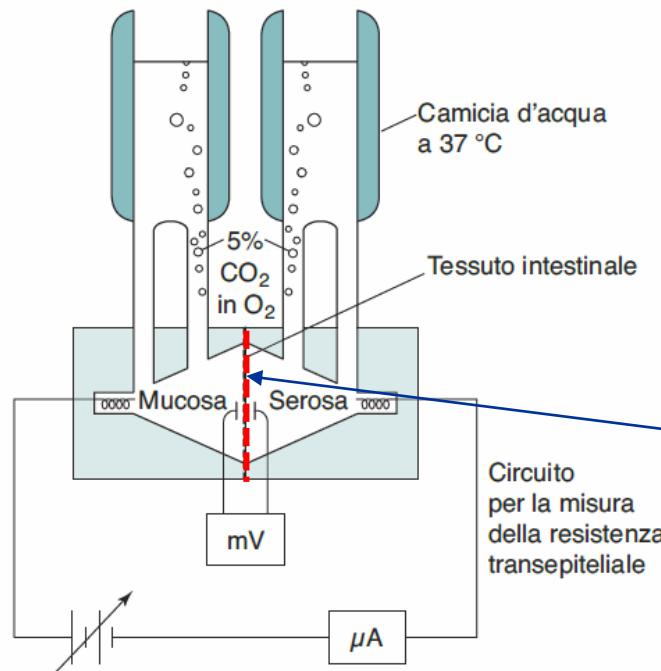
Metodi biologici in vitro

- 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)



Intestino del ratto (la sua permeabilità si correla bene con quella dell'intestino umano)
Strisce private della muscolatura

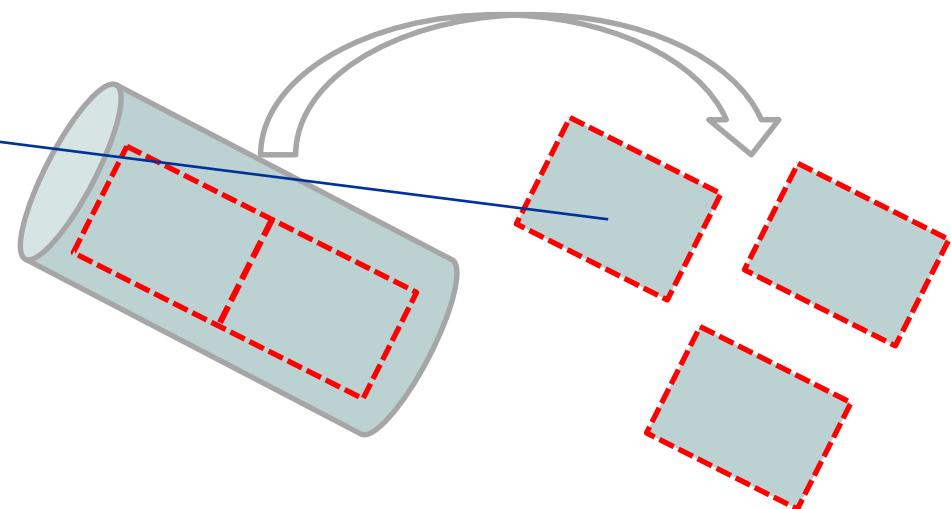
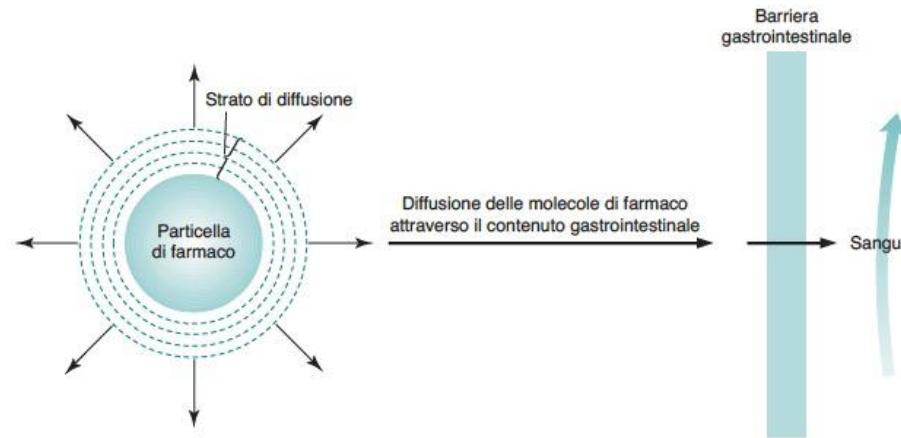


Fig. 21.5 • Diagramma della camera di diffusione.



Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con tessuti

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

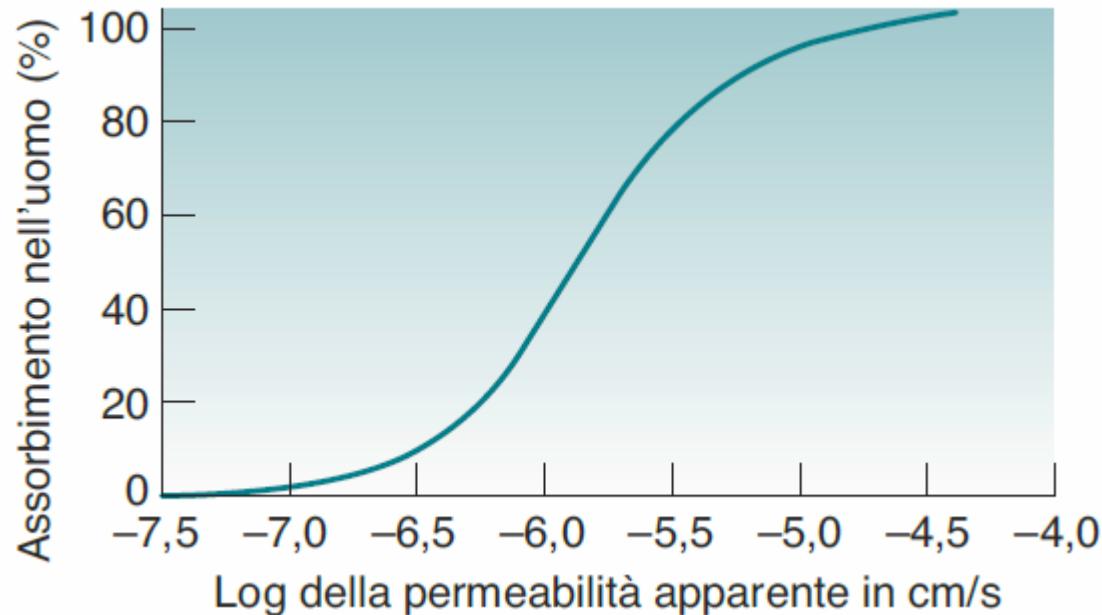


- Coefficiente di permeabilità apparente (per differenti regioni intestino)
- Influenza del pH
- Tipo di trasporto (diffusione passiva, trasporto attivo, glicoproteina P)
- Via paracellulare o transcellulare



Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con tessuti

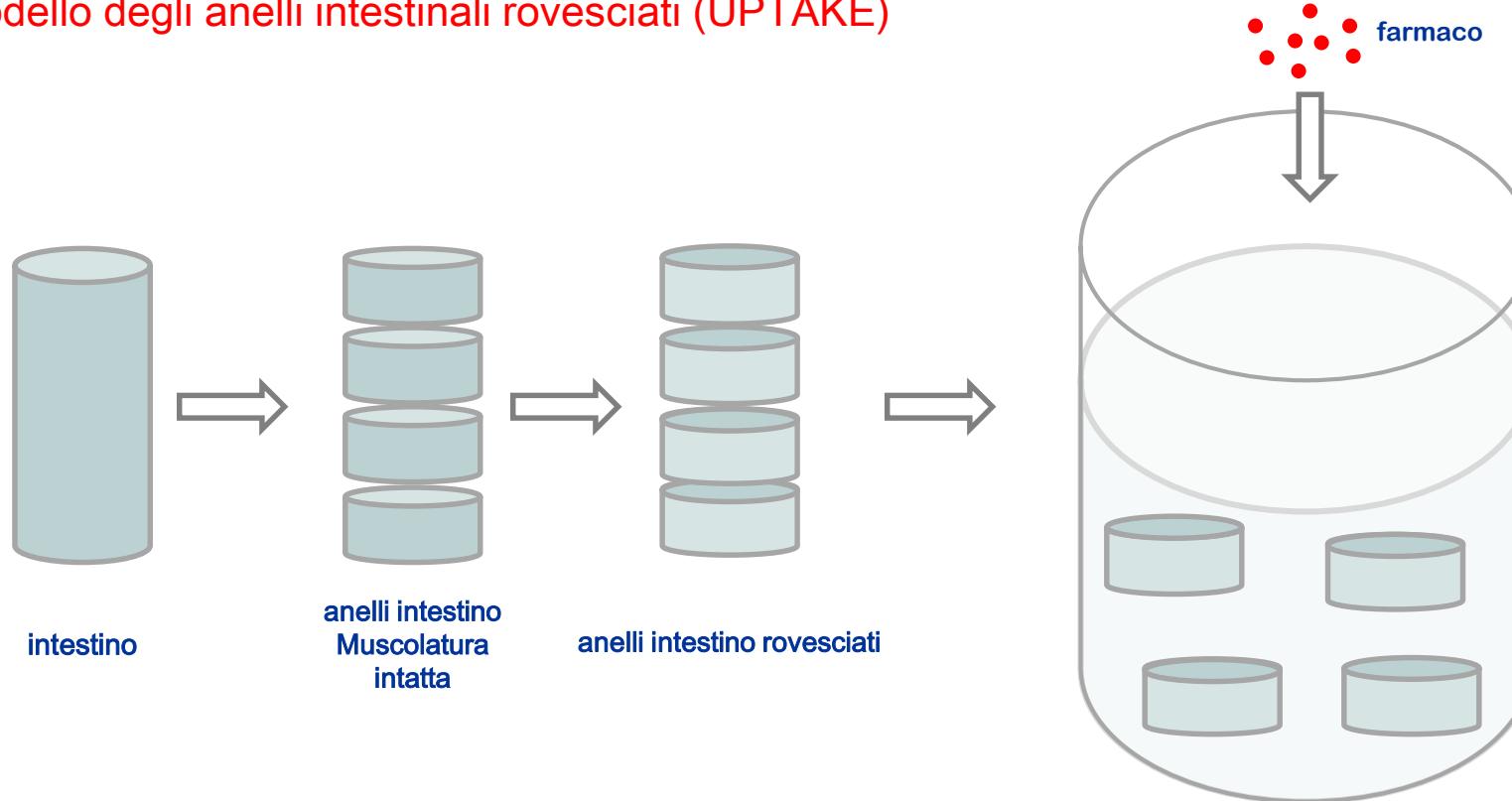
- metodo biologico in vitro





Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con tessuti

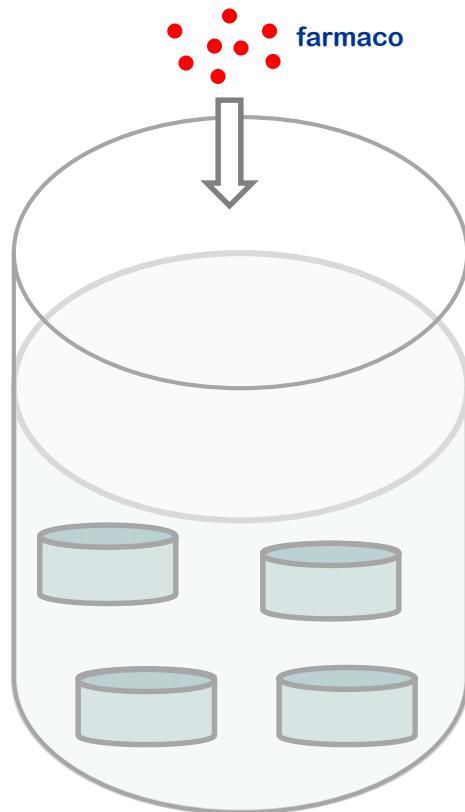
Modello degli anelli intestinali rovesciati (UPTAKE)





Velocità di permeazione valutata tramite tecniche con tessuti

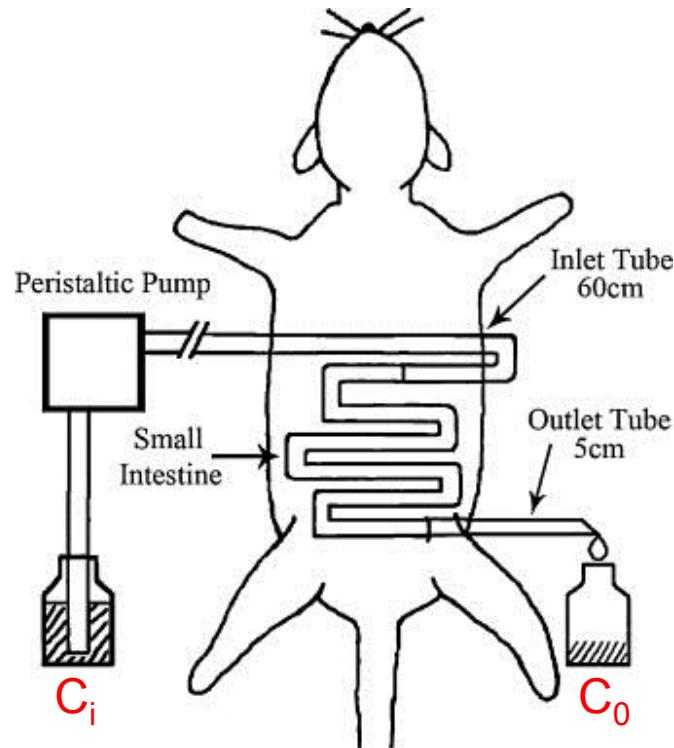
Modello degli anelli intestinali rovesciati (UPTAKE no permeabilità apparente)



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

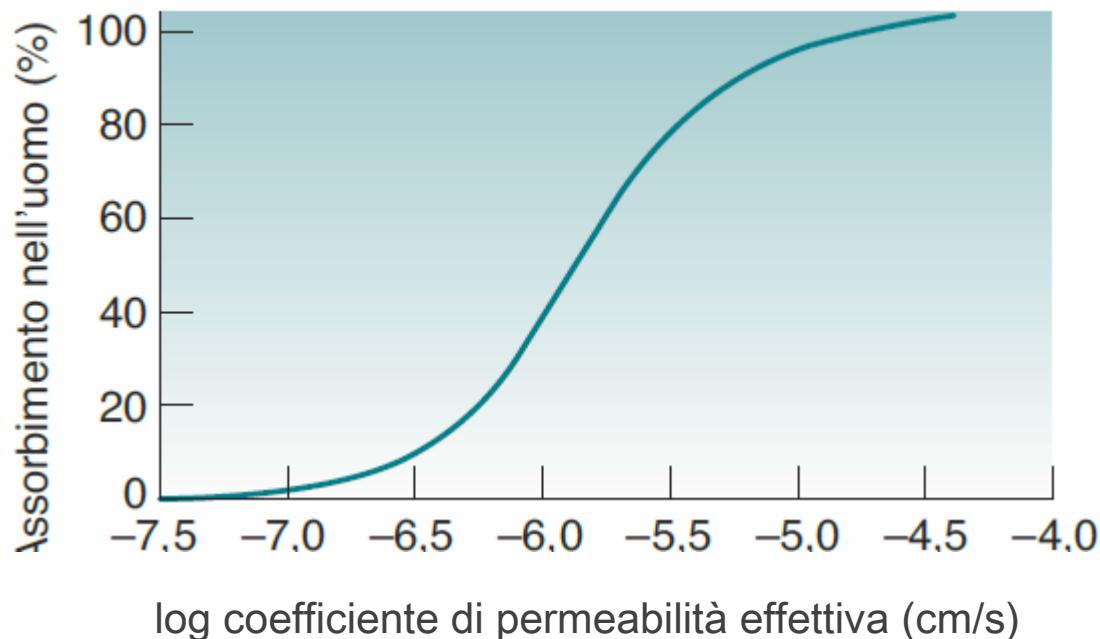
C_0 = concentrazione finale di farmaco

r = raggio del sacco intestinale (cm)

l = lunghezza dell'ansa intestinale (cm)

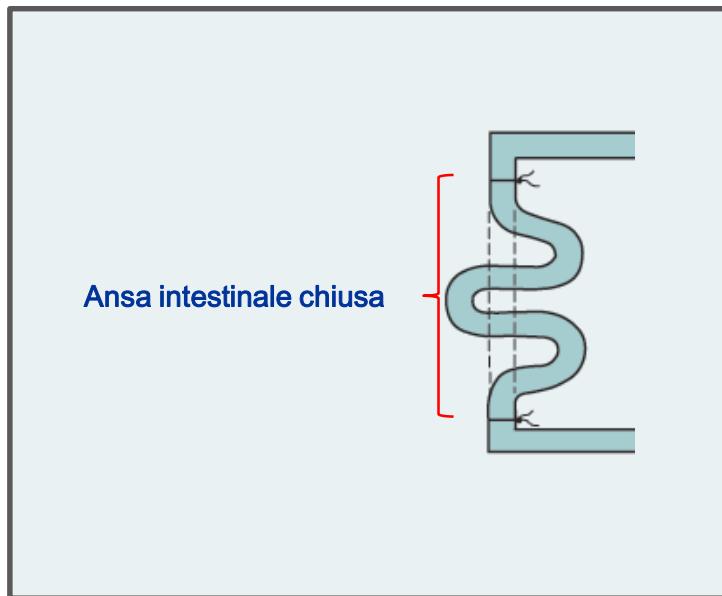


Studi permeazione in situ (perfusione intestinale)





Studi permeazione in situ (perfusione intestinale)



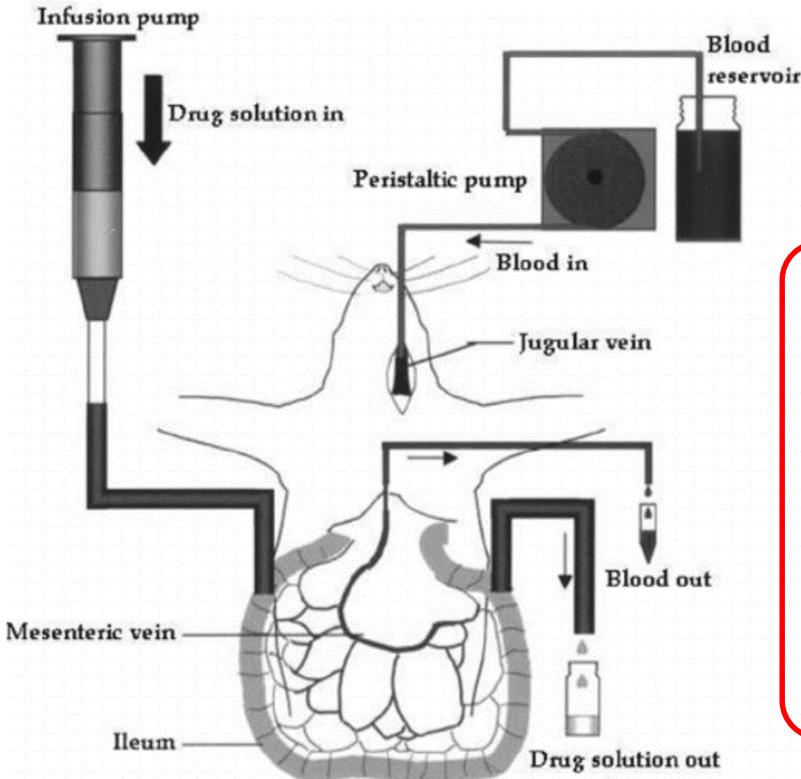
Metodo a ansa chiusa

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

Processo di analisi lungo

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

Studi permeazione in situ (perfusione intestinale)



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

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

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)

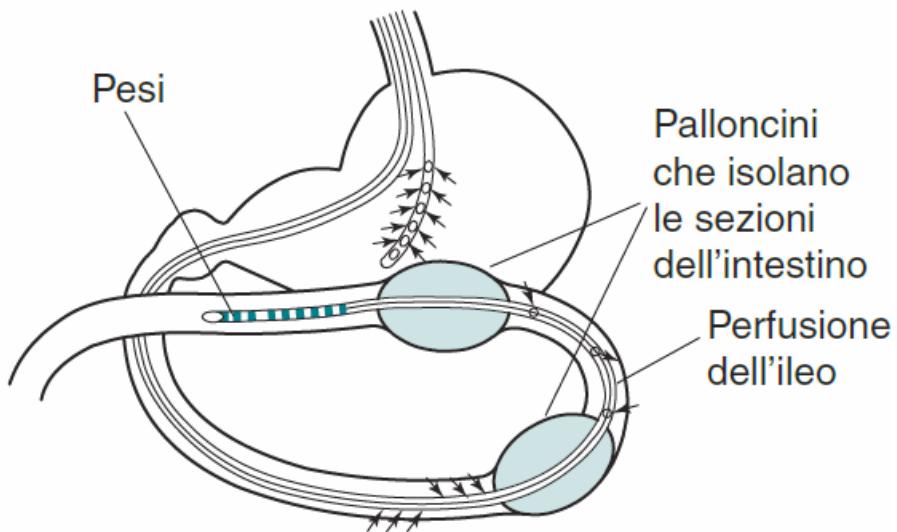
Metodo con perfusione vascolare

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

Studio del metabolismo intestinale (studio metaboliti)



Studi di perfusione intestinale nell'uomo

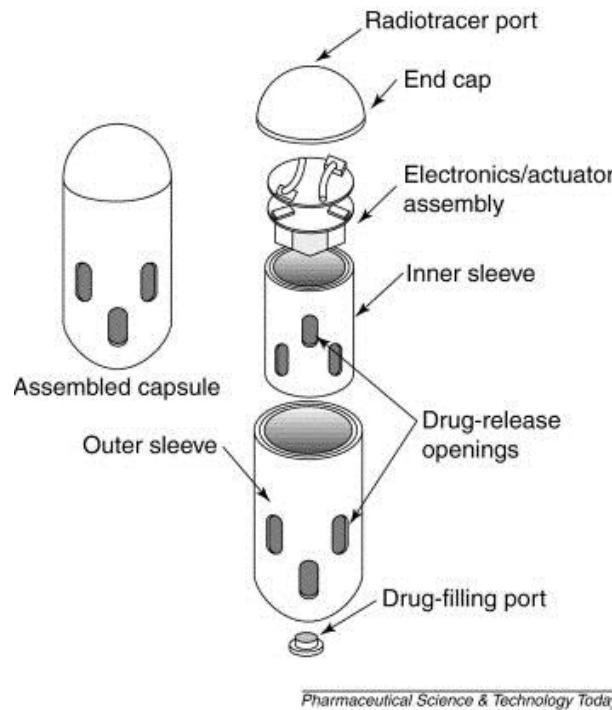


Distanza tra palloncini 10 cm

LOC-I-GUT

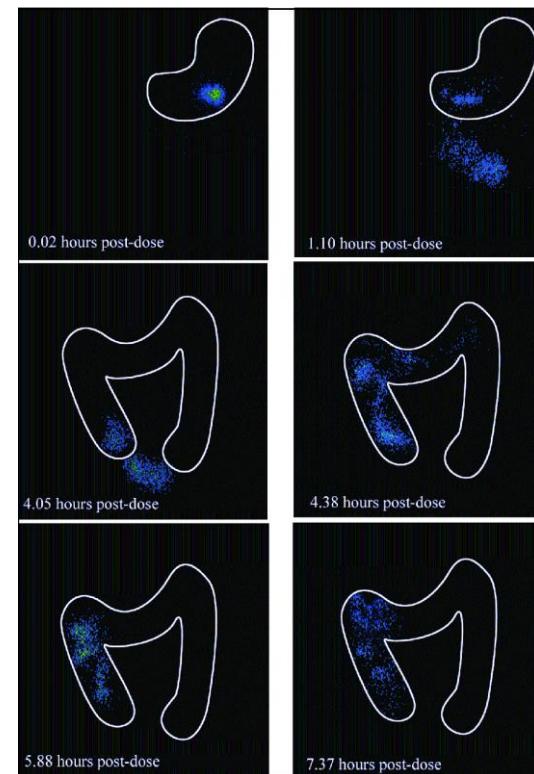


Studi di perfusione intestinale non invasiva nell'uomo



Capsule Intelisite®

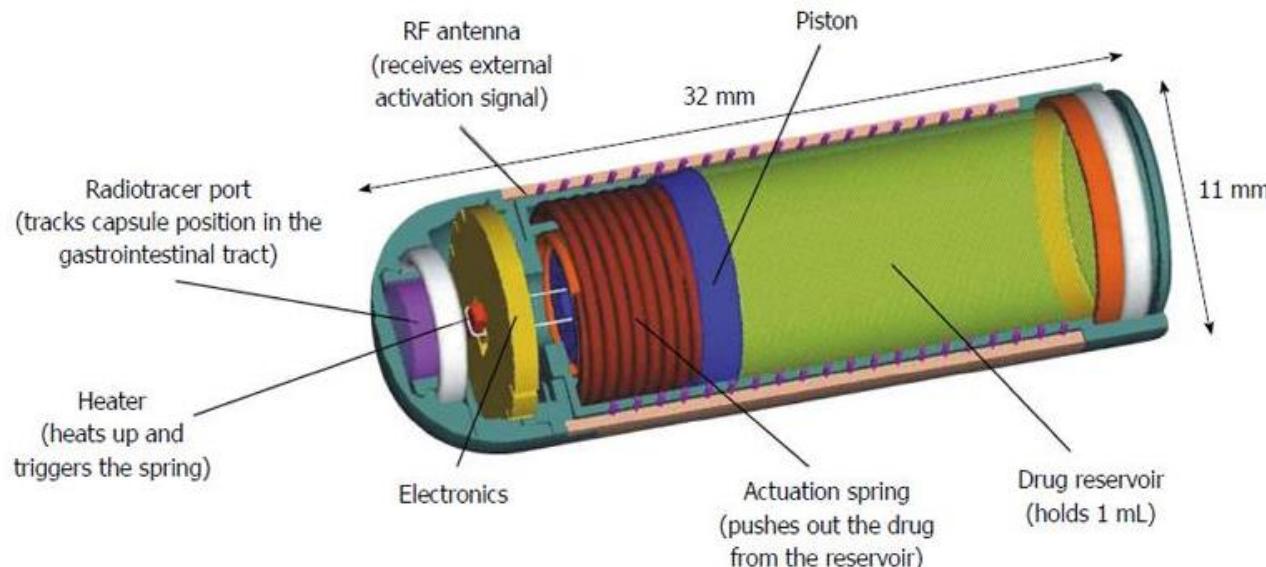
- Rilascio attivato per mezzo di **radiofrequenze**
- Posizione nell'intestino determinata con per gamma scintigrafia





Studi di perfusione intestinale non invasiva nell'uomo

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

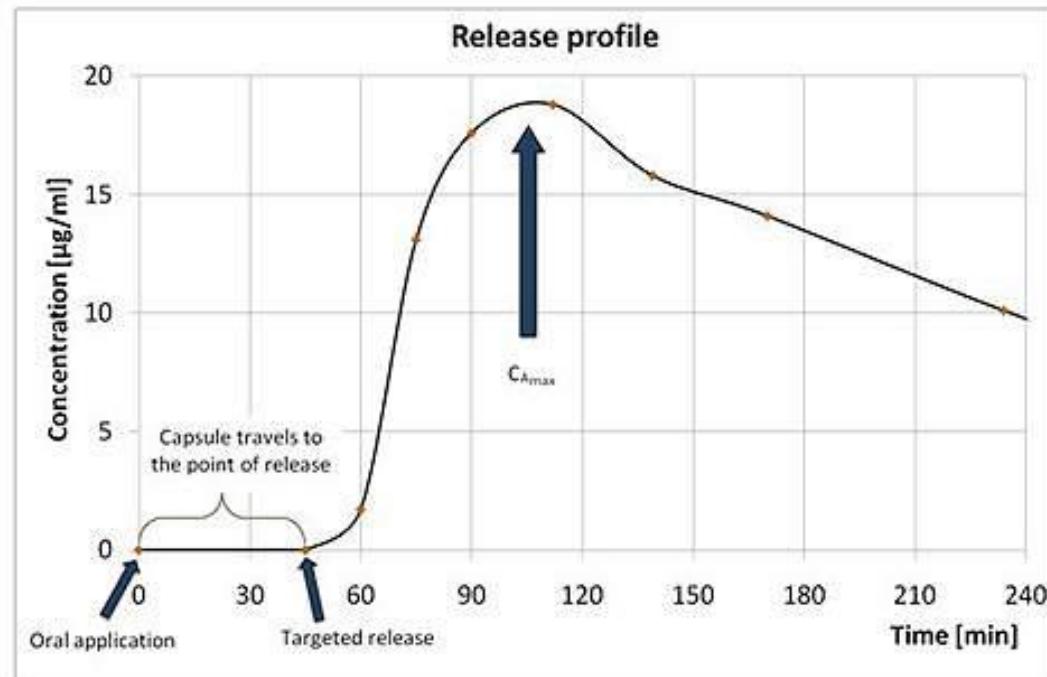


Enterion®



Studi di perfusione intestinale non invasiva nell'uomo

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

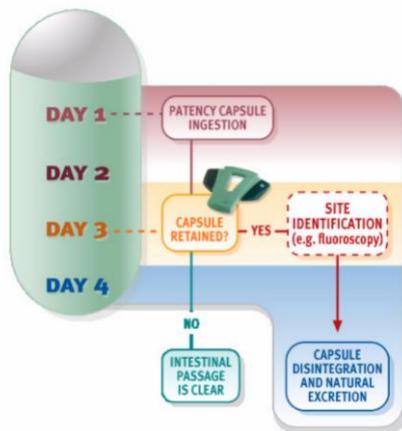
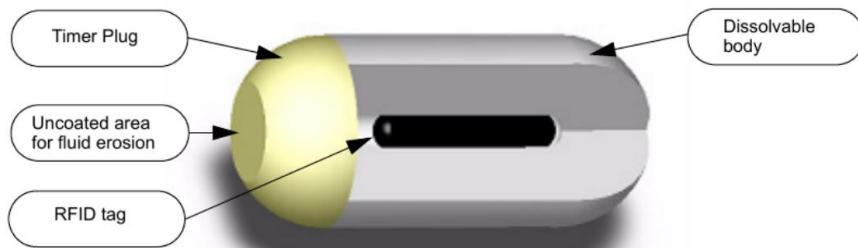


MAARS



Studi di perfusione intestinale non invasiva nell'uomo

Diagnosi stenosi intestinale



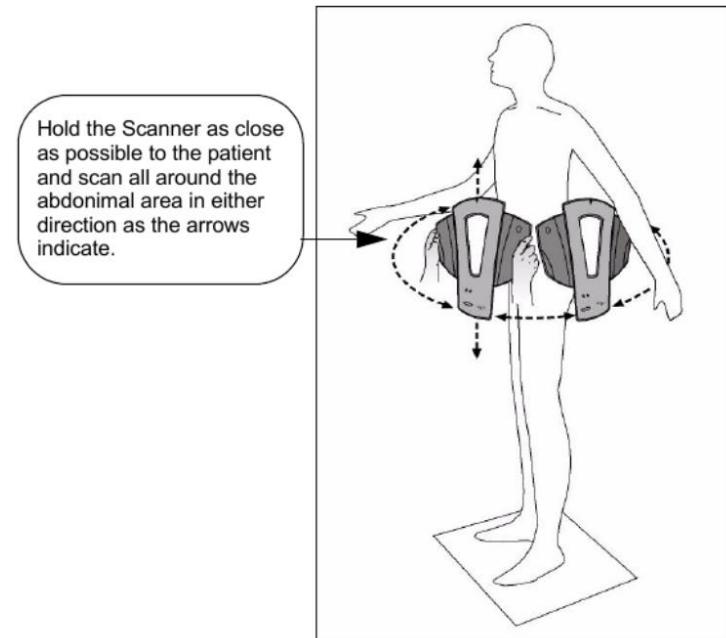
M2A capsule

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.





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