
Биофармација

Водич за практична настава

Фармацевтски Факултет
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ - Скопје

**Изборот на вежби е направен во
редакција на:**

**доц. д-р Кристина Младеновска
проф. д-р Катерина Горачинова
ас. дипл. фарм. Никола Гешковски**

Рецензенти:

**проф. д-р Рената Славеска Раички
доц. д-р Марија Главаш Додов**

Содржина

	Стр
Вовед	iv
ВЕЖБА БР. 1 <i>Ин виџро</i> симулација на еднопросторен фармакокинетски модел -интравенски болус	1
ВЕЖБА БР. 2 <i>Ин виџро</i> симулација на еднопросторен фармакокинетски модел -интравенски болус	9
ВЕЖБА БР. 3 <i>Ин виџро</i> симулација на еднопросторен фармакокинетски модел - и.в. инфузија	13
ВЕЖБА БР. 4 <i>Ин витро</i> симулација на еднопросторен фармакокинетски модел - орална примена	18
ВЕЖБА БР. 5 <i>Ин виџро</i> симулација на еднопросторен фармакокинетски модел - повеќекратна примена на лековите	27
ВЕЖБА БР. 6 Растворливост и брзина на растворување на лековите - влијание на физикохемиските фактори	34
ВЕЖБА БР. 7 Одредување на растворливоста, брзината на растворување и биорасположливоста на лекот; <i>ин витро-ин vivo</i> корелација	42
ВЕЖБА БР. 8 Одредување на биорасположливоста на лекот од цврсти дозирани форми (таблети) - влијание на фармацевтско-технолошките фактори	53
ВЕЖБА БР. 9 Одредување на брзината на ослободување на лекот од ректални лековити облици (супозитории) - влијание на фармацевтско-технолошките фактори	58
ВЕЖБА БР. 10 Одредување на пермеабилноста на лекот од дерматолошки лековити форми -влијание на фармацевтско-технолошките фактори	63
Користена литература	66

Вовед

Биофармацијата е научна дисциплина која овозможува правилно разбирање на суштинската улога на физикохемиските својства на лековите, болеста која се третира и дестинацијата на лековите во телото во дизајнирањето на терапевтските системи. Поврзаноста помеѓу лекот, дозираната форма во која е инкорпориран и патот по кој се применува определува со колкаво количество и со колкава брзина лекот ќе навлезе во централната циркулација.

Сознанијата во биофармацијата се темелат на фундаментални научни начела и експериментална методологија со која се истражуваат и поврзуваат факторите кои влијаат врз стабилноста на лекот во дозираната форма, ослободувањето (Л)¹ на лекот од дозираната форма, брзината на растворување/ослободување на лекот на местото на апсорпција и механизмот, брзината и обемот на системска апсорпција.

Понатамошното движење на лекот во време во телото е предмет на изучување на фармакокинетиката како неразделив дел од биофармацијата и таа ги проучува процесите: апсорпција (А), дистрибуција (Д), метаболизам (М) и екскреција (Е). Фармакокинетиката се користи во клинички услови за да обезбеди рационално управување со индивидуалната фармакотерапија.

Теоретскиот концепт на биофармацијата со фармакокинетиката вклучува развој на кинетички модели со кои се предвидува брзината на растворување/ослободување на лекот и диспозицијата² на лекот после неговата примена. Кинетичкиот модел е хипотеза изразена со математички термини која ги опишува квантитативните односи на процесите на ЛАДМЕ. Предвидливоста на моделот се темели на соодветен избор и развој на математичка функција која ги поврзува параметрите (факторите) кои ја определуваат кинетиката на процесот. Фармакокинетската функција ги поврзува зависните (пр. концентрација) и независните (пр. време) променливи најчесто со примена на соодветни параметри. Биофармацевтските и фармакокинетските параметри се константи кои експериментално се определуваат со мерење на концентрациите на лекот *ин виџро*, *ин сиџу* и/или *ин виво* во телесните течности, најчесто крв или урина, а може и да се предвидат со користење на *ин силико* методи.

Математичките/кинетичките модели може да се користат за:

- предвидување/определување на брзината и механизмот на ослободување на лековите од дозираните форми;
- предвидување/определување на пермеабилноста на лековите низ клеточните бариери;

¹ Л -“Liberation” – ослободување на лекот од дозираната форма

² Диспозиција: движење на лекот од крвта со дистрибуција и елиминација; Дистрибуција: реверзибилен трансфер на лекот од и до други делови на телото.

- предвидување/определување на брзината и обемот на биорасположливост³ на лековите и биеквивалентноста⁴ на различните дозирани форми;
- корелирање на ефектите на дизајнот на дозираната форма и патиштата на примена со терапевтските нивоа на лековите;
- споредување на ефектите на различните патишта на примена на лековите врз појавата, интензитетот и времетраењето на фармаколошкиот ефект;
- предвидување на ткивните концентрации и концентрациите во биолошките течности после примена на лековите со соодветен режим на дозирање;
- определување на најсоодветниот режим на дозирање за секој индивидуален пациент;
- определување на акумулацијата на лековите/метаболитите;
- корелирање на концентрациите на лековите со фармаколошкиот/токсиколошкиот ефект на лековите;
- објаснување на интеракциите на лековите;
- предвидување на ефектите на различните физикохемиски, биохемиски и (пато)физиолошки процеси врз ЛАДМЕ на лековите.

Овој Водич низ практичната настава по предметот Биофармација има за цел да ги запознае студентите со базичните биофармацевтски и фармакокинетски параметри и со математичките/кинетичките модели кои се користат за нивна пресметка како основен предуслов за предвидување на поврзаноста помеѓу трите клучни фактори за рационална фармакотерапија: физикохемиските својства на лекот, видот на дозираната форма и патот по кој лекот се применува.

Многу други фактори влијаат, исто така, врз обемот и брзината на апсорпција, а со тоа и врз фармакокинетиката на лекот како: составот и методот за производство на дозираната форма, исхраната, ефектот на болеста на местото на апсорпција, возраста на пациентот, истовремената примена на други лекови, дозата, зачестеноста на примена, итн. Многу од овие фактори се предмет на детална анализа во испитувањата опфатени со практичната настава.

Темелните сознанија за биофармацевтските својства на кандидатот за лек се важни како за откривањето, така и за развојот на лекот кога е важно да се предвидат формулациските проблеми и да се оцени дали лекот е кандидат за формулација со конвенционално (брзо) или контролирано ослободување и насочено делување.

³Биорасположливост - релативно количество на применета доза на лекот и брзина со која лекот интактен стигнува во централната циркулација.

⁴Биеквивалентност постои кога два лека се фармацевтски еквиваленти или фармацевтски алтернативи чија биорасположливост после примена во иста моларна доза е слична што овозможува нивниот ефект, земајќи ја предвид ефикасноста и безбедноста, да биде ист.

1

***Ин виџро* симулација на еднопросторен фармакокинетски модел - интравенски болус**

Определување на:
вкупна константа на брзина на елиминација (K)
полупериод на елиминација ($t_{1/2}$)
константа на брзина на метаболизирање (K_m)
константа на брзина на елиминација преку ренален пат (K_e)
волумен на дистрибуција (V_d)
површина под крива плазма концентрација - време (AUC)

Фармакокинетските модели можат да бидат емпириски, физиолошки или просторни.

Просторните модели претставуваат едноставна и корисна алатка за пресметка на основните фармакокинетски параметри. Просторот не е реален физиолошки или анатомски регион, туку ткиво или група на ткива кои имаат сличен крвотек и афинитет кон лекот. Во секој простор лекот е униформно дистрибуиран, мешањето на лекот во просторот е брзо и хомогено, концентрацијата на лекот во просторот е просечна и секоја молекула на лекот има еднаква веројатност да го напушти просторот. Константите на брзина го претставуваат севкупниот процес на влез и излез на лекот од просторот. Моделот е отворен - лекот се елиминира од системот и линеарен - константите на брзина на соодветните процеси се пресметуваат од линеарни диференцијални равенки [1].

Наједноставниот, еднопросторниот модел на интравенски болус претпоставува дека лекот се инјектира одеднаш во просторот и се дистрибуира брзо и хомогено низ просторот. Централниот простор го сочинуваат плазмата и високо прокрвените ткива во кои доаѓа до брзо врамнотежување на концентрацијата на лекот. Елиминацијата на лекот, исто така, започнува веднаш после инјектирањето. Фракцијата на лекот континуирано се елиминира како функција од времето; органите вклучени во елиминацијата се високо прокрвени. За лекот кој брзо се дистрибуира, едноставниот еднопросторен модел може да даде објаснение за трите важни фармакокинетски параметри: волуменот на дистрибуција (V_d), клиренсот (CL) и полувремето на елиминација ($t_{1/2}$), односно константата на брзина на елиминација (K).

Vd ($L \text{ kg}^{-1}$) е теоретски концепт кој ги поврзува применетата доза (D ; mg) со актуелната иницијална концентрација на лекот (C_0 ; mg hr^{-1}) присутна во циркулацијата.

$$Vd = \frac{D}{C_0}$$

Клиренсот на лекот се јавува со перфузија на органите на екстракција на лекот, главно црниот дроб (хепатален клиренс и билијарна екскреција; CL_H) и бубрезите (ренална екскреција, CL_R). Вредностите се собираат давајќи ја вкупната вредност за системскиот клиренс (CL ; ml min^{-1} или $\text{ml min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ телесна тежина).

$$CL = CL_H + CL_R$$

Клиренсот е поврзан со концентрациите на лекот во крвта со равенката:

$$CL = \frac{D}{AUC}$$

каде AUC (mg hr L^{-1}) е површината под крива плазматска концентрација наспроти време која се определува со трапезоидното правило:

$$[AUC]_{t_{n-1}}^{t_n} = \frac{C_{n-1} + C_n}{2} (t_n - t_{n-1}) + \dots \frac{C_{\text{plast}}}{K}$$

каде t_n – време на определување на плазматската концентрација C_n и t_{n-1} е време на претходно определена плазматска концентрација C_{n-1} , K - константа на брзина на елиминација.

Реналниот клиренс на лекот може да биде определен како агол на правата која ја опишува зависноста на брзината на елиминација на лекот преку урина (dDu/dt) и плазматската концентрација на лекот (C_p) определена во средина на временските интервали на прибирање на примероците на урина:

$$\frac{dDu}{dt} = CL_R \cdot C_p$$

или како агол на правата која ја опишува зависноста на количеството на елиминиран лек преку урината во време t $[Du]_0^t$ и површината под крива плазматска концентрација - време во соодветното време $[AUC]_0^t$.

$$[Du]_0^t = CL_R \cdot [AUC]_0^t$$

Времетраењето на лекот во телото е однос помеѓу клиренсот и актуелното количество на лек во циркулацијата. Количеството на лекот во циркулацијата е поврзано со Vd и константата на елиминација на лекот (K ; hr^{-1}):

$$K = \frac{CL}{Vd}$$

**ВЕЖБА БР. 1 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ИНТРАВЕНСКИ БОЛУС**

Константата на елиминација и полуперидот на елиминација на лекот ($t_{1/2}$), времето потребно концентрацијата на лекот во циркулацијата да се намали за 50%, се поврзани:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K}$$

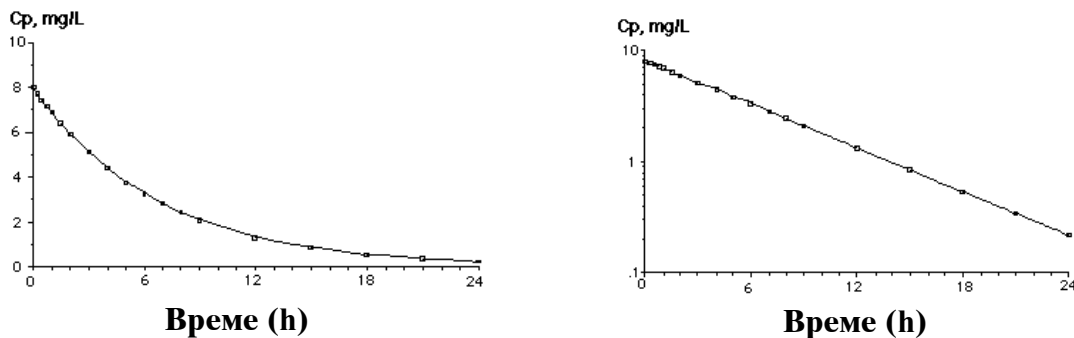
Елиминацијата на лекот се одвива со кинетика од прв ред (слика 1а). Брзината на елиминација на лековитата супстанција е пропорционална на преостанатото количество лек во организмот. Оттука, елиминацијата на лекот може да биде претставена со равенка на кинетика од прв ред (слика 1б).

$$\ln D = k \cdot t + \ln D_0$$

или

$$\ln C_p = k \cdot t + \ln C_0$$

Константата на брзина на елиминација се пресметува како агол на правата која ја опишува зависноста на логаритамската вредност од плазматската концентрација ($\log C_p$) и времето (t) во кое е одредена плазматската концентрација.



Слика 1. Еднократна примена на интравенски болус - елиминација на лекот од плазмата (1а) и семилогаритамски приказ на елиминацијата на лекот од плазмата (1б).

Константата на елиминација на лекот од прв ред (K) може да биде одредена и од податоци за концентрацијата на лекот во време во примероци на урина со посредство на *методот на брзина на елиминација* како агол на правата која ја опишува зависноста помеѓу брзината на елиминација на лекот преку урина ($\log Du/dt$) и средината на временските интервали во кои се прибирани примероците на урина (t) (K_e - константа на брзина на елиминација на лекот преку урина):

$$\ln \left(\frac{Du}{dt} \right) = \ln (K_e \cdot D) - k \cdot t$$

и со посредство на *сума минус методот*, како агол на правата која ја опишува зависноста на преостанатото количество на лек во организмот и времето:

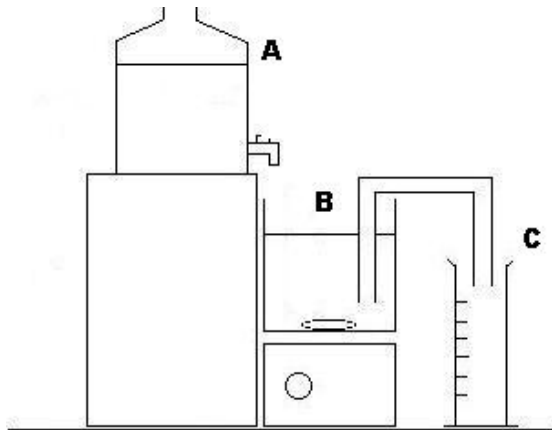
$$\ln (Du^{\infty} - Du) = \ln Du^{\infty} - k \cdot t$$

каде: Du^{∞} - максимално количество на лек кое се елиминира преку урината, Du – количество на елиминиран лек преку урината во време t .

ВЕЖБА БР. 1 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ИНТРАВЕНСКИ БОЛУС

Практична изведба:

Преку адекватно поставување на чаши и константен резервоар за вода можат да се симулираат плазматските концентрации на лековитата супстанција и количеството на лековитата супстанција која се елиминира преку урина после и.в. болус [2]. Константниот протек на водата низ системот овозможува дилуирање на активната супстанција од I ред. Примероците на биолошки течности (плазма и урина) се собираат периодично и со соодветна аналитичка техника се мери концентрацијата на лековитата супстанција. Се воспоставува функционална (линеарна) зависност помеѓу променливите фактори (концентрацијата на лековитата супстанција во биолошките течности) и независните фактори (времето), при што од соодветните фармакокинетските методи се пресметуваат соодветните фармакокинетски параметри карактеристични за активната супстанција.



Се идентификуваат компонентите на системот: плазма (B) и урина (C). Се обезбедува постојано полнење на резервоарот. Чашата во која е сместена "плазмата" се поставува на магнетна мешалка и се обезбедува постојано мешање. Се воспоставува константен протек - ml/min (ренален/вкупен клиренс) во чашата (мензурата) во која се собираат примероците на "урина".

Се инјектира во чашата со "плазма", активната супстанција, "и.в. доза".

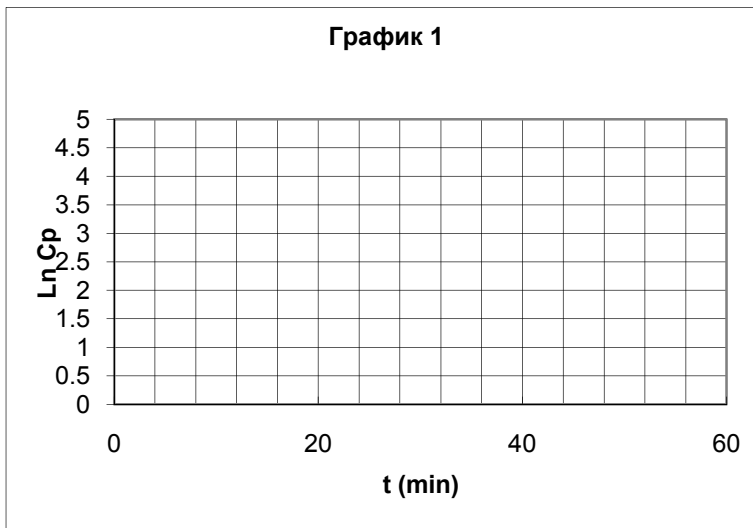
Примероците на плазма - 5мл, се собираат во следниве временски интервали: 2.5, 7.5, 12.5, 17.5, 22.5, 27.5, 32.5, 37.5, 45 и 55 минути.

Примероците на урина се собираат во следниве временски интервали: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50 и 60 мин. По секој временски интервал, чашата се заменува со празна чаша, при што се мери волуменот на "урина" на секој примерок поодделно.

Концентрацијата на лековитата супстанција во секој примерок се одредува со соодветна аналитичка постапка.

На **график 1.** се нанесува семилогаритамската вредност на плазматската концентрација на активната супстанција наспроти времето. Се пресметуваат K (константата на елиминација); $t_{1/2}$ (полупериодот на елиминација); V_d (волуменот на дистрибуција).

t (min)	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	Ln Cp



$y =$ $R^2 =$

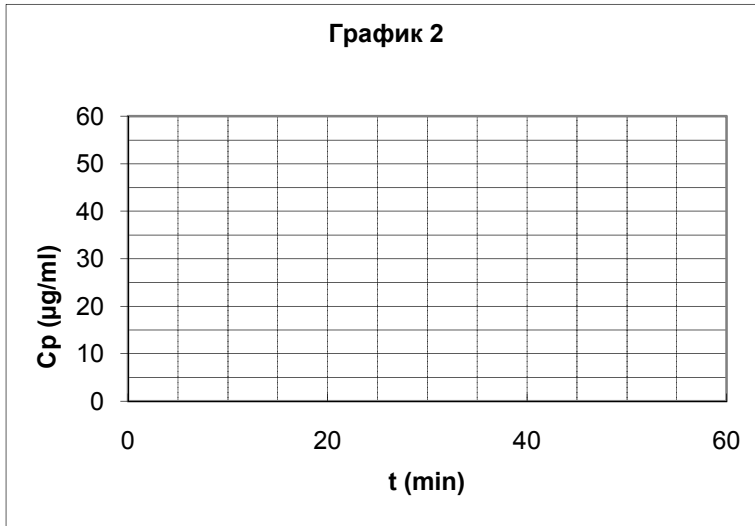
$k_e =$

$t_{1/2} =$

$V_d =$

**ВЕЖБА БР. 1 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ИНТРАВЕНСКИ БОЛУС**

На **график 2** се нанесува плазматската концентрација на активната супстанција наспроти времето и се пресметува AUC (површината под крива плазматска концентрација/време).



$$AUC_0^{2.5} =$$

$$AUC_0^{7.5} =$$

$$AUC_0^{12.5} =$$

$$AUC_0^{17.5} =$$

$$AUC_0^{22.5} =$$

$$AUC_0^{27.5} =$$

$$AUC_0^{32.5} =$$

$$AUC_0^{37.5} =$$

$$AUC_0^{45} =$$

$$AUC_0^{55} =$$

$$AUC_{last} =$$

$$AUC_0^{\infty} =$$

На **график 3** се нанесува семилогаритамската вредност на брзината на уринарна елиминација наспроти времето кое претставува средина на временскиот интервал во кој се собираат примероците на урина. Се пресметуваат: K , K_m , K_e , $t_{1/2}$ (метод на брзина на елиминација на активна супстанција).

t (min)	Cu ($\mu\text{g/ml}$)	Vu (ml)	Du (μg)	Du/dt ($\mu\text{g/min}$)	ln Du/dt	t* средно



y= R²=

k_e=

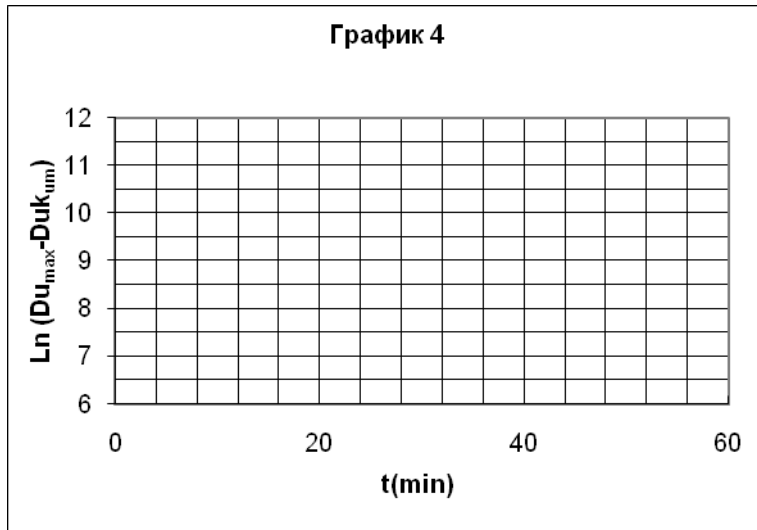
k_{ren}=

t_{1/2}=

**ВЕЖБА БР. 1 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ИНТРАВЕНСКИ БОЛУС**

На **график 4** се нанесува семилогаритамската вредност на преостанатата количина лековита супстанција која треба да се елиминира преку урина наспроти времето. Се пресметуваат K ; $t_{1/2}$ (сигма минус метод).

t (min)	Du (μg)	Du _{kum} (μg)	Du _{max} - Du _{kum}	ln(Du _{max} - Du _{kum})



$y =$ $R^2 =$

$k_e =$

$t_{1/2} =$

2

Ин виџро симулација на еднопросторен фармакокинетски модел - интравенски болус

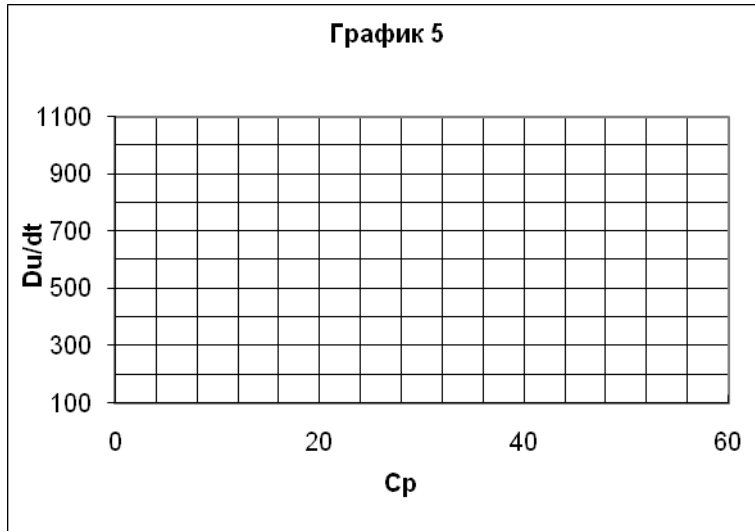
**Определување на:
Вкупен клиренс (CL)
Метаболички клиренс (CL_m),
Ренален клиренс (CL_{ren}),
Волумен на дистрибуција на лекот (Vd)**

За определување на вкупниот, метаболичкиот и реналниот клиренс на лекот, како и за пресметување на волуменот на дистрибуција на лекот се користат податоците од профилот плазма концентрација на лекот - време и концентрација на лекот во урина - време од Вежба Бр.1.

На **график 5** се нанесуваат вредностите на брзината на ренална елиминација наспроти плазматската концентрација на лековитата супстанција во средината на интервалот на собирање на примероците на урина. Се одредува реналниот клиренс на активната супстанција.

Du/dt ($\mu\text{g}/\text{min}$)	Cp ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

**ВЕЖБА БР. 2 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ИНТРАВЕНСКИ БОЛУС**



$y =$ $R^2 =$

$Cl_{ren} =$

- Да се одреди вкупниот/реналниот клиренс со користење на непросторниот модел (со користење на површината под крива плазма концентрација/време)!

- Да се пресмета V_d на активната супстанција со користење на методот на клиренс, методот на површина под крива плазма концентрација/време и преку методот на количество на лековита супстанција во организмот /плазматска концентрација!

Задачи:

1. V_d на теофилин е 0.7 L kg^{-1} . Кај повеќето пациенти оптималната корист се забележува при концентрација поголема од 10 mg L^{-1} . При концентрации помали од 5 mg L^{-1} се забележува намалена клиничка ефикасност. Колку е V_d на пациент на 20 год. и телесна маса од 70 kg. Колкава е вкупната доза на пациентот, ако се дозира 5 mg kg^{-1} ?

Решение:

2. На доброволец со маса од 70 kg се дава ИВ доза антибиотик при што се одредени серумските концентрации по 2 ч и 5 ч од апликацијата. Колку е $t_{1/2}$ на елиминација ако антибиотикот се елиминира со кинетика од прв ред?

Решение:

**ВЕЖБА БР. 2 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ИНТРАВЕНСКИ БОЛУС**

3. Даден е нов лек како единечна ИВ доза од 200 mg на возрасен пациент со маса од 80 kg. По 6 ч плазматската концентрација е 1.5 mg/100 ml. Ако се знае дека привидниот Vd е 10% од телесната маса, тогаш колку е вкупното количество на лек во организмот по 6 ч? Да се одреди и $t_{1/2}$!

Решение:

4. Нов антибиотик е даден како единечен ИВ болус од 4 mg kg⁻¹ т.м. и тоа на 5 здрави доброволци со просечна маса од 75 kg и возраст од 28 до 38 год. Фармакокинетиката на лекот одговара на еднопросторен модел и може да се претстави со следнава равенка

$$C_p = 78 * e^{-0.46t}$$

Да се одреди $t_{1/2}$, Vd, C_p по 4 ч, количеството на лек по 4 ч и ако се претпостави дека лекот не е ефикасен при $C_p < 2 \mu\text{g ml}^{-1}$, кога треба да се аплицира следната доза?

Решение:

5. На пациент е применет ИВ болус 400mg теофин. V_d на теофинот е 30L а полувремето на елиминација е 6ч. Пресметајте го клиренсот на теофин како и плазма концентрацијата 4ч по примената.

Решение:

6. На пациент ИВ е аплициран лек 1000mg, V_d на лекот е 50L. Пресметајте го вкупниот клиренс доколку знаете дека плазма концентрацијата по 12ч е 7,9 mg/L.

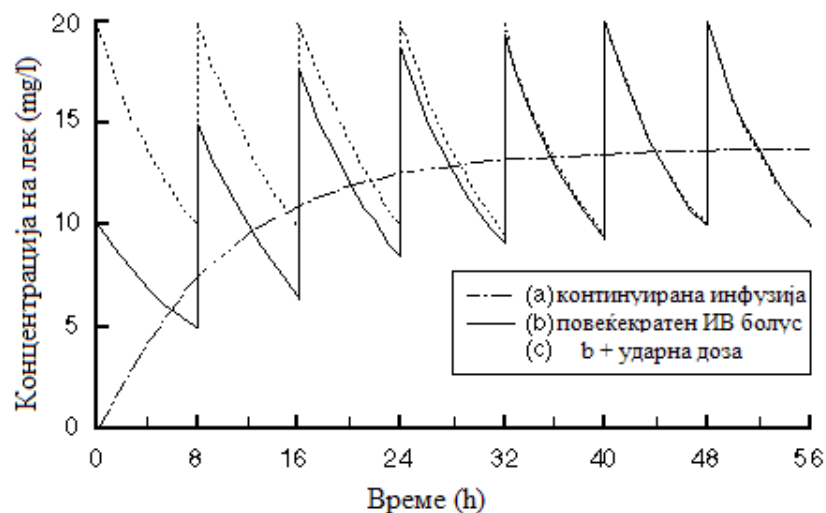
Решение:

3

Ин вӣро симулација на еднопросторен фармакокинетски модел - континуирана и.в. инфузија

**Определување на брзина на инфундирање
Определување на рамнотежна концентрација
Ударна доза комбинирана со континуирана и.в. инфузија**

При линеарна кинетика, доколку лекот се применува со континуирана интравенска инфузија во релативно долг временски период, се постигнува состојба при која брзината на инфундирање (K_0) е еднаква на брзината на елиминација (K) (Слика 1).



Слика 1. Плазматски профил на лековитата супстанција после примена на континуирана интравенска инфузија (a).

Во оваа состојба, концентрацијата на лекот не се менува и се нарекува рамнотежна концентрација (C_{ss}). Во рамнотежна состојба, C_{ss} може да се опише со следнава равенка:

$$C_{ss} = \frac{K_0}{CL}$$

каде K_0 - брзина на инфундирање, CL – вкупен клиренс.

Плазматскиот профил на лековитата супстанција до постигнување на рамнотежната концентрација може да се опише со следнава равенка:

$$C_p = \frac{K_0}{CL} (1 - e^{-k \cdot t})$$

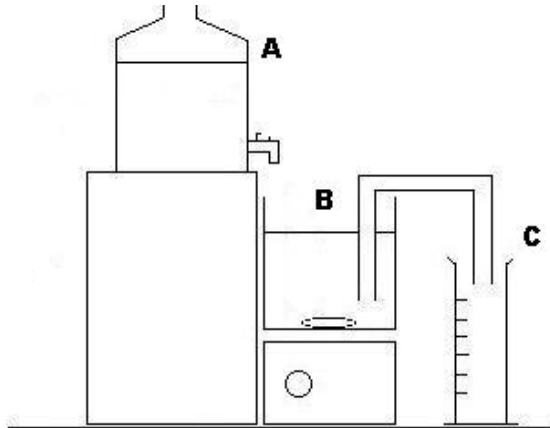
Кога и да се прекине инфундирањето, пред или после постигнување на рамнотежната состојба, елиминацијата следи кинетика од I ред. Времето на постигнување на рамнотежна состојба зависи од K.

Во клинички услови, C_{ss} е целната плазма концентрација и најчесто се одредува времето потребно за постигнување на 95% од C_{ss} (терапевтска концентрација). Според математичкиот модел, 5 $t_{1/2}$ се потребни за лековитата супстанција да постигне помеѓу 95% ($4.32 t_{1/2}$) и 99% ($6.65 t_{1/2}$) од C_{ss} .

**ВЕЖБА БР. 3 ИИ ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - И.В. ИНФУЗИЈА**

Практична изведба:

Преку адекватно поставување на чаши и резервоар за одржување на константно ниво на вода можат да се симулираат плазматските концентрации на лековитата супстанција после и.в. инфузија [2]. Константниот протек на водата низ системот овозможува дилуирање (елиминација) на активната супстанција од I ред. Примероците на плазма се собираат периодично, при што со примена на фармакокинетски методи се анализираат податоците и пресметуваат соодветните фармакокинетски параметри карактеристични за активната супстанција.



Се идентификуваат компонентите на системот: плазма (B) и урина (C). Се обезбедува постојано полнење на резервоарот. Чашата во која е сместена "плазмата" се поставува на магнетна мешалка и се обезбедува постојано мешање. Се воспоставува константен проток-мл/мин (ренилен клиренс) во чашата (мензурата) која го претставува делот на урина.

Активната супстанција се инфундира во чашата со "плазма" со одредена константна брзина (k_0) во времетраење од 60 мин (T) - "и.в. инфузија".

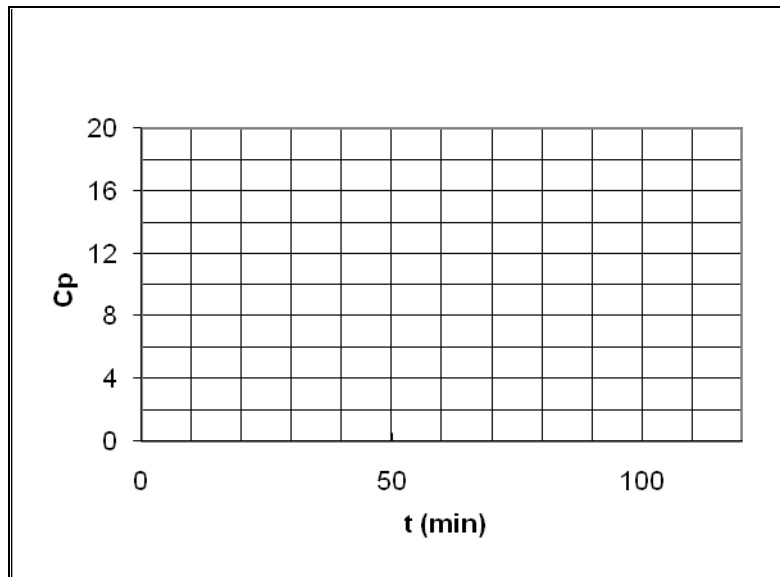
Примероците на плазма се собираат во следниве временски интервали: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 и 120 мин.

Концентрацијата на лековитата супстанција во секој примерок се одредува со соодветна аналитичка постапка.

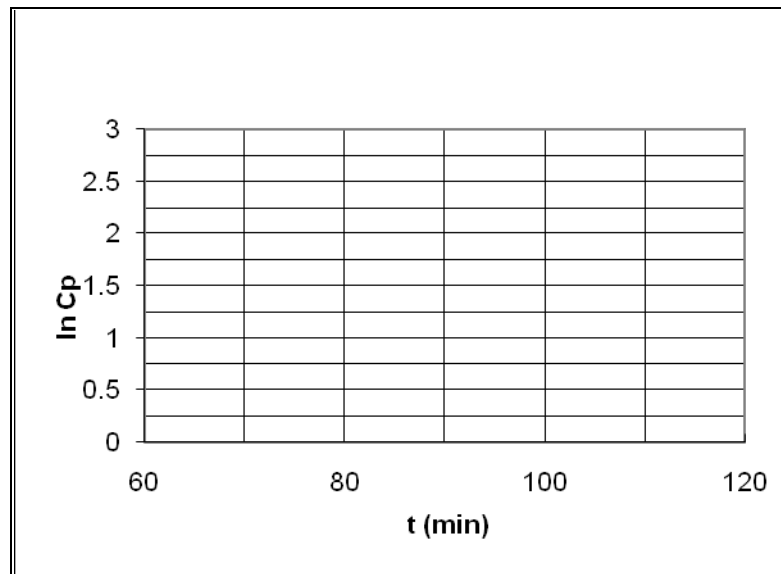
Се конструира график плазма концентрација (C_p) наспроти време (t), се идентификува плазма концентрацијата непосредно пред исклучување на и.в. инфузија (C_{ss}) и од фазата на елиминација, со користење на моделот од вежба 1 (**график 1**), се одредува K (константата на елиминација).

- Врз основа на вредноста на K, да се потврди воспоставувањето на рамнотежна состојба!
- Да се пресмета V_d (волуменот на дистрибуција) со користење на вредностите за k_0 , C_{ss} и K.

t(min)	Cp ($\mu\text{g/ml}$)



t(min)	LnCp ($\mu\text{g/ml}$)



y=
R²=
K=

**ВЕЖБА БР. 3 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - И.В. ИНФУЗИЈА**

Задачи:

- Имуносупресивниот лек има V_d 10 L и K 0.2 h^{-1} . Целната C_{ss} е 250 mg/ml. Со колкава K_0 треба да се инфундира лекот?
Под претпоставка дека пациентот е во уремична состојба и K е 0.1 h^{-1} со колква брзина треба да се инфундира лекот?

Решение:

- На пациентот е ординиран антибиотик ($t_{1/2}$ 6 часа) со константна ИВ инфузија со брзина 10 mg/h. На крајот од вториот ден, C_{ss} е 100 mg/L. Да се пресмета вкупниот клиренс на пациентот!

Решение:

- Колкава е C_p на лекот, 6 часа после примена на ударната доза од 100 mg и истовремената инфузија од 20 mg/h? Лекот има $t_{1/2}$ 3 h и V_d 10 L.

Решение:

- На пациентот е ординирана континуирана инфузија на лек (K 0.3 h^{-1} , V_d 10 L) со брзина 6 mg/h во текот на 6 часа. Колкава ќе биде C_p , 2 часа по прекин на инфузијата?

Решение:

**ВЕЖБА БР. 3 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - И.В. ИНФУЗИЈА**

- На пациент е ординиран Теофилин по пат на И.В. инфузија со брзина од 60mg/h ($K=0.139h^{-1}$, $Vd=40L$). Пресметај ја плазма концентрацијата на теофилин 8 часа по почеток на инфузијата, рамнотежната плазма концентрација и плазма концентрацијата 6 часа по прекинување на инфузијата

Решение:

- На пациент се аплицирани 120mg тобрамицин како краткотрајна И.В. инфузија во времетраење од 1ч. На крајот од инфузијата постигната е плазма концентрација од 6,2 mg/L, а 4 часа по крајот на инфузијата измерена е плазма концентрација од 1,6 mg/L. Да се пресмета полувремето на елиминација и Vd на тобрамицин кај пациентот.

Решение:

4

Ин витро симулација на еднопросторен фармакокинетски модел - орална примена

Определување на константата на брзина на апсорпција Определување на механизмот на апсорпција

Кога лекот се применува орално, тој треба да се апсорбира преку мембраните на гастроинтестиналниот тракт (ГИТ). Непотполната апсорпција го намалува уделот на дозата која стигнува во системската циркулација. Фракцијата на дозата која стигнува до системската циркулација (F) може да биде намалена со непотполно ослободување на активната супстанција од дозираната форма и/или со ефектот на прв премин (во црниот дроб или ГИТ).

Клиренсот на лекот (CL), фракцијата на апсорбирана доза која го надминала ефектот на прв премин и површината под крива C_p - време се поврзани со следната равенка:

$$CL = \frac{F \cdot D}{AUC}$$

Апсолутната биорасположливост на лекот може да се пресмета со мерење на AUC при интравенска и орална примена на лекот во иста доза:

$$F = \frac{AUC_{\text{oralna}}}{AUC_{\text{i.v.}}}$$

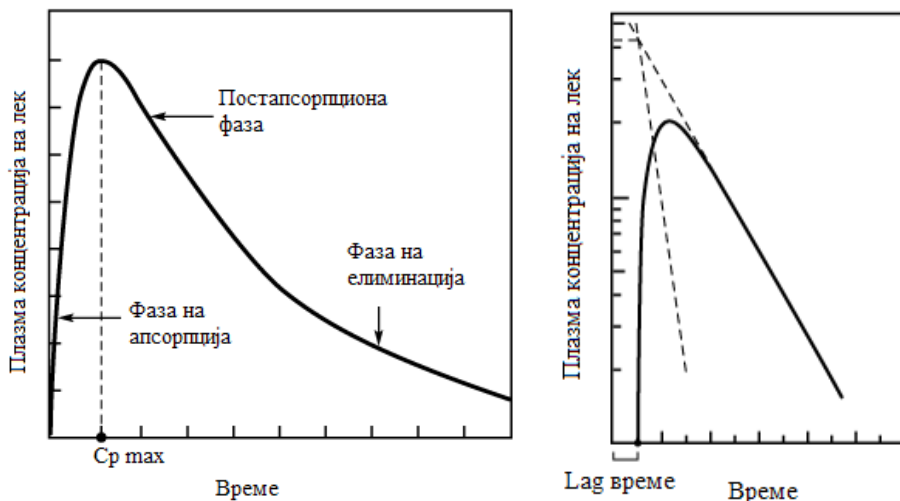
Севкупната брзина на апсорпција на лекот може да биде опишана како процес со кинетика од 0-ти или I ред. При орална примена, профилот C_p -t може да се опише со следнава равенка:

$$C_p = \frac{F \cdot D \cdot K_a}{(K_a - K) \cdot V_d} \cdot (e^{-K \cdot t} - e^{-K_a \cdot t})$$

каде K_a - константа на апсорпција на лекот.

ВЕЖБА БР.4 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРОЕН ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ОРАЛНА ПРИМЕНА

За време на апсорптивната фаза, брзината на апсорпција е поголема од брзината на елиминација. Кога на местото на апсорпција нема повеќе лек, брзината на апсорпција се приближува кон 0. Тогаш, кривата C_p - време ја претставува само фазата на елиминација, вообичаено елиминација од I ред (слика 1). К од I ред може да биде пресметана од фазата на елиминација од кривата $C_p - t$ во подоцнежните временски периоди кога апсорпцијата е завршена т.е. $e^{-K_a \cdot t} = 0$ или од податоците за количеството на елиминиран лек преку урина.



Слика 1. Профил плазма концентрација - време после орална примена на лекот [1].

Кога брзината на апсорпција е еднаква на брзината на елиминација, се постигнува $C_{p_{max}}$. Времето кога се постигнува $C_{p_{max}}$ се означува како t_{max} .

Кај одредени лица, апсорпцијата на лекот после единечна доза не почнува веднаш заради одредени физиолошки фактори; времето на одложена манифестација на апсорпцијата се нарекува lag време.

$C_{p_{max}}$ и t_{max} најчесто се пресметуваат, бидејќи директното мерење на плазматските концентрации бара прецизно земање на примероците плазма.

$$t_{max} = \frac{2.3 \cdot \log(K_a/K)}{(K_a - K)}$$

$$C_{p_{max}} = \frac{F \cdot D \cdot K_a}{(K_a - K) \cdot V_d} \cdot (e^{-K \cdot t_{max}} - e^{-K_a \cdot t_{max}})$$

Со зголемување на K_a , а при константна K , t_{max} станува пократко, $C_{p_{max}}$ се зголемува, AUC не се менува. Со зголемување на K , а при константна K_a , t_{max} станува пократко, $C_{p_{max}}$ се намалува, AUC се намалува.

Кога апсорпцијата и елиминацијата се одвиваат со кинетика од I ред, а $K_a \gg K$, K_a може да се пресмета со методот на резидуи [1].

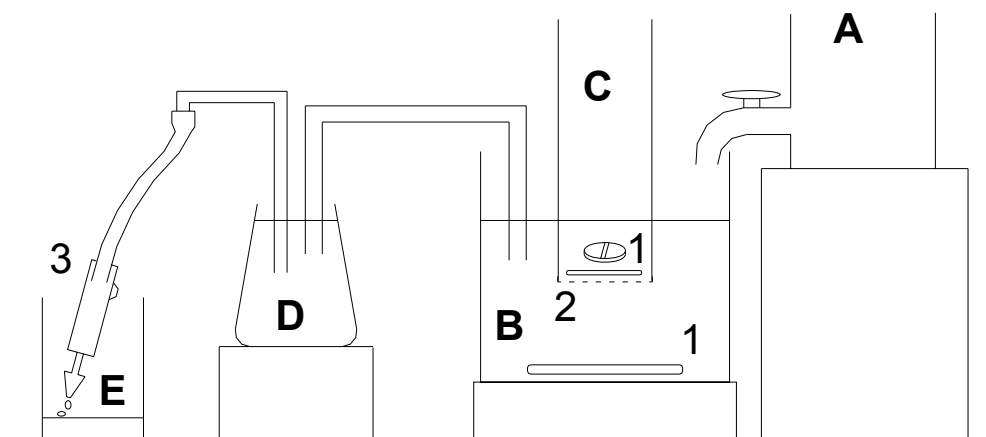
При користењето на методот на резидуи за да се одредат K и K_a , терминалната фаза вообичаено е претставена со K , а растечката фаза со K_a . Во одредени случаи вредностите за K не се совпаѓаат со оние после ИВ болус што говори за измена на K и K_a . Многу побрза елиминација од апсорпција на лекот има поголеми можности за флип-флоп. За потврда на резултатите, потребно е одредување на K после ИВ болус [1].

Кога елиминацијата се одвиваат со кинетика од I ред, апсорпцијата со кинетика од I или 0 ред, а K_a е приближно еднаква на K , K_a може да се пресмета со методот на Вагнер-Нелсон [1]. Овој метод овозможува да се предвиди дали апсорпцијата се одвива со кинетика од I ред или од 0-ти ред.

ВЕЖБА БР.4 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРОЕН ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ОРАЛНА ПРИМЕНА

Практична изведба:

Преку адекватно поставување на чаши и константен резервоар за вода можат да се симулираат плазматските концентрации на лековитата супстанција после орална апликација. Константниот протек на водата низ системот овозможува дилуирање на лекот (цефалексин монохидрат) од I ред (слика 1). Примероците на плазма се собираат периодично, при што со примена на фармакокинетски методи се анализираат податоците и пресметуваат соодветните фармакокинетски параметри карактеристични за лековитата супстанција.



1.магнети; 2.семипермеабилна мембрана; 3. регулатор

Се идентификува плазма-компонентата на системот. Се обезбедува постојано полнење на резервоарот. Чашата во која е сместена “плазмата” се поставува на магнетна мешалка и се обезбедува постојано мешање. Се воспоставува константен проток/елиминација на активната супстанција.

Апликацијата на лековитата супстанција се врши во апсорпциска ќелија на чие дно се наоѓа прицврстена полупропустлива дифузиска мембрана.

Се аплицира како единствена апликација во време нула орална доза 300 mg цефалексин монохидрат во апсорпциската ќелија (симулација на гастро-интестинален тракт) во која се наоѓаат 150 ml вештачки желудочен сок.

Примероците од плазма- 5 мл се собираат во следниве временски интервали 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 и така натаму секои 5 минути во текот на 240 минути.

Задача:

Од податоците за профилот плазма концентрација - време (прикажани во Табела 1) да се пресметаат K (константата на елиминација), односно $t_{1/2}$ (полупериодот на елиминација) и константата на апсорпција (K_a) со користење на Wagner-Nelson-овиот метод за одредување на K_a .

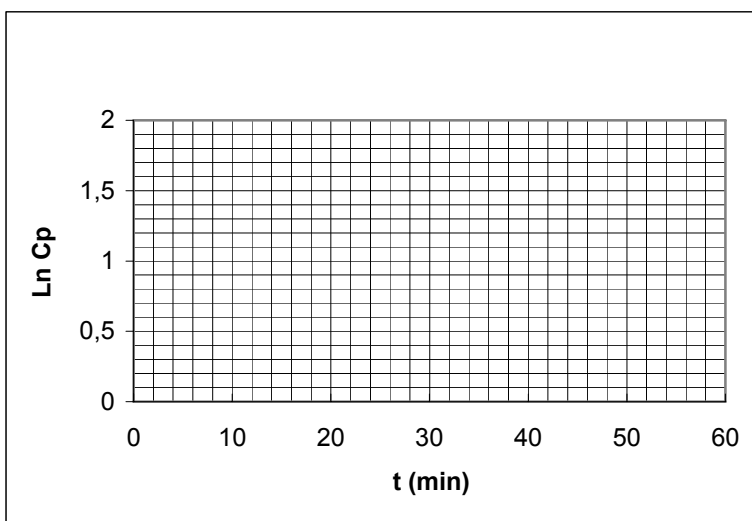
Табела 1. Профил плазма концентрација - време после перорална примена на цефалексин монохидрат

Време (min)	Конц. ($\mu\text{g/ml}$)
5	3.558
10	3.784
15	3.874
20	4.099
25	4.189
30	4.279
40	3.874
50	3.829
60	3.694
70	3.649
80	3.505

На график се нанесува плазматската концентрација на лековитата супстанција наспроти времето.

Се одредува K со нанесување на логаритамската вредност на плазма концентрациите од фазата на елиминација наспроти времето!

t (min)	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	ln Cp



$y =$ $R^2 =$

$k_e =$

$t_{1/2} =$

**ВЕЖБА БР.4 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ОРАЛНА ПРИМЕНА**

Се одредува K_a со нанесување на неапсорбираната фракција (0-ред) или логаритамска вредност од неапсорбираната фракција (I-ред) наспроти времето:

t (min)	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	AUC_0^t	$Kel^* AUC_0^t$	$Cp+ Kel^* AUC_0^t$	$Kel^* AUC_0^{+\infty} - (Cp+ Kel^* AUC_0^t)$	$\ln [Kel^* AUC_0^{+\infty} - (Cp+ Kel^* AUC_0^t)]$
		AUC_{last}				
		$AUC_0^{+\infty}$	$Kel^* AUC_0^{+\infty}$			

Фармакокинетски параметри	
K (h^{-1})	
$t_{1/2}$ (h)	
K_a (I ред, h^{-1}) / R^2	
K_a (0 ред, h^{-1}) / R^2	

Задача:

Врз онова на податоците за профилот плазма концентрација на лековитата супстанција -време (Табела 2), да се одредат K_a и K на лековитата супстанција со методот на резидуи:

Табела 2. Профил плазма концентрација - време по перорална примена на цефалексин монохидрат

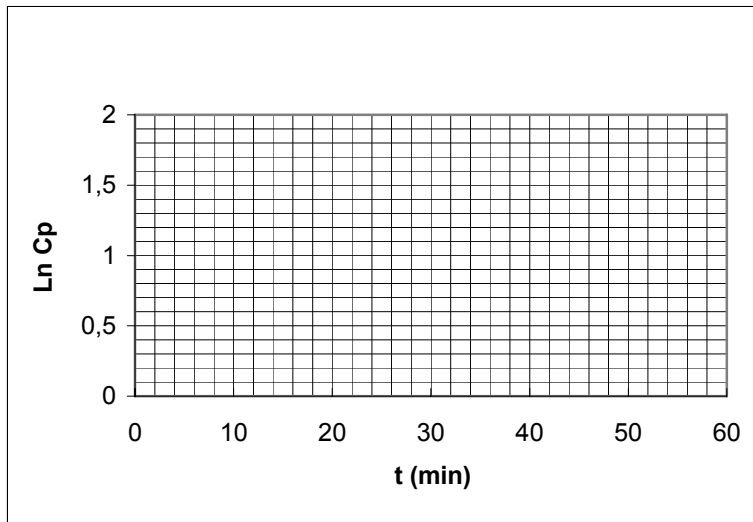
Време (час)	Конц. (ng/ml)
0	0
0.25	51.33
0.75	74.05
1	82.91
1.5	85.11
2	81.76
3	75.51
4	62.98
6	52.32
8	36.08
12	24.88
18	11.83
24	3.88

На график се нанесува плазматската концентрација на лековитата супстанција наспроти времето.

Се одредува K со нанесување на логаритамската вредност на плазма концентрациите од фазата на елиминација наспроти времето:

t (min)	C_p ($\mu\text{g/ml}$)	$\ln C_p$

**ВЕЖБА БР.4 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ОРАЛНА ПРИМЕНА**



y=

R2=

k_e =

$t_{1/2}$ =

Се одредува K_a со нанесување на логаритамската вредност од резидуалните концентрации во фазата на апсорпција наспроти времето:

t (min)	C_p' ($\mu\text{g/ml}$) екстраполирани концентрации	C_p'' ($\mu\text{g/ml}$) измерени концентрации	$C_p' - C_p''$ ($\mu\text{g/ml}$) резидуални концентрации	$\ln(C_p' - C_p'')$ ($\mu\text{g/ml}$)

Фармакокинетски параметри	
K (h^{-1})	
$t_{1/2}$ (h)	
K_a (I ред, h^{-1}) / R^2	
$ta_{1/2}$ (I ред, h)	

Прашање:

Дали е посоодветно да се примени Wagner-Nelson-овиот модел или методот на резидуи?

Одговор:

Задача:

Врз основа на добиените вредности за K и K_a , да се одреди t_{\max} ?

**ВЕЖБА БР.4 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРОЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ОРАЛНА ПРИМЕНА**

Задачи:

1. Применета е единечна орална доза од 100 mg на антибиотик на возрасен пациент 43 г. тежина 72 kg. Фармакокинетиката на лековитата супстанција одговара на отворен еднопросторен фармакокинетски модел и може да се опише со следнава равенка:

$$C_p = 45 (e^{-0.17*t} - e^{-1.5*t})$$

Да се одредат t_{max} , C_{pmax} , $t_{1/2}$ на лекот кај овој пациент (C_p $\mu\text{g/ml}$; K I ред h^{-1})!

2. Двата лека се карактеризираат со следниве фармакокинетски параметри:

Lek	K_a (h^{-1})	K (h^{-1})	V_d (ml)	t_{max}	C_{pmax}
A	1.0	0.2	10		
B	0.2	1.0	20		

Двете лековити супстанции следат еднопросторен фармакокинетски модел и се 100% биорасположливи. Да се пресмета t_{max} и C_{pmax} за секој лек!

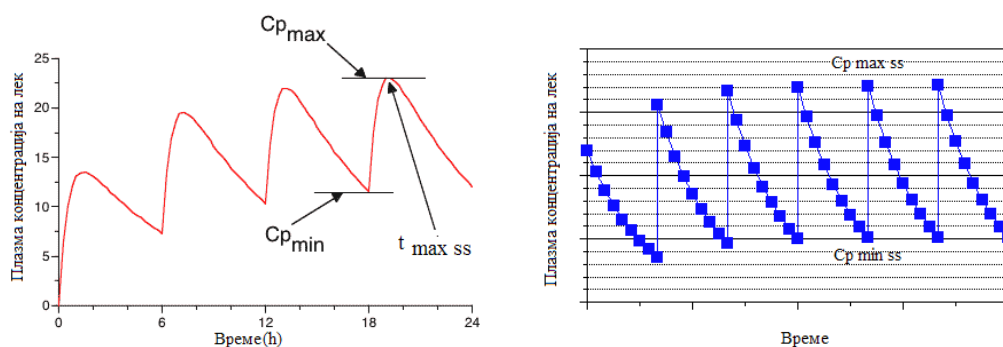
5

Ин виџро симулација на еднопросторен фармакокинетски модел - повеќекратна примена на лековите

Кога лекот се применува во повеќе дози, во поделени, но долги временски интервали, дозите на лекот ќе се однесуваат независно една од друга. Ова вообичаено не е посакуван профил, доколку се претпостави дека за одржување на ефикасноста, потребно е одржување на концентрацијата на лекот во терапевтско подрачје.

Кога лекот се применува во повеќе дози, во поделени, но релативно куси временски интервали така што претходната доза на лекот не е целосно елиминирана, ќе дојде до одредена акумулација на лекот која може да го надмине терапевтското подрачје, што исто така не е посакуван профил.

Доколку се применуваат повеќе дози со константна зачестеност се постигнува состојба на рамнотежа, во која C_p флукуира помеѓу $C_{max,ss}$ и $C_{min,ss}$ (слика 1).



Слика 1. Профил плазма концентрација - време после повеќекратна орална и интравенска примена на лекот [2].

Цел на повеќекратното дозирање е да се дотера дозата и интервалот на примена на дозата така што концентрацијата на лекот да остане во рамките на терапевтското подрачје во текот на целиот временски интервал со минимални флукуации помеѓу $C_{max,ss}$ и $C_{min,ss}$

**ВЕЖБА БР. 5 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТИКИ МОДЕЛ - ПОВЕЌЕКРАТНА ПРИМЕНА НА ЛЕКОВИТЕ**

При фиксен режим на дозирање, акумулацијата зависи од $t_{1/2}$ на лекот, односно K и интервалот на дозирање τ , а не од дозата.

Времето потребно за постигнување на рамнотежната состојба зависи од $t_{1/2}$, односно K , а не од дозата, интервалот на дозирање и бројот на дози.

Бројот на дози потребни за да се постигне рамнотежната состојба зависи од $t_{1/2}$ на лекот и τ . Од клинички аспект, времето потребно да се постигне 90% од рамнотежната плазма концентрација е 3.3 пати $t_{1/2}$, а 99% 6.6 пати $t_{1/2}$.

За секој лек, просечната плазматска концентрација ($C_{av_{ss}}$) при екстраваскуларна примена може да се пресмета:

$$C_{av_{ss}} = \frac{F \cdot D}{CL \cdot \tau}$$

За секој лек, просечната плазматска концентрација ($C_{av_{ss}}$) при интравенска примена може да се пресмета:

$$C_{av_{ss}} = \frac{D}{CL \cdot \tau}$$

каде: F – фракцијата на апсорбирана доза, τ е интервалот помеѓу дозите, D - единечната доза, CL – клиренсот на лекот.

Во состојба на рамнотежа, $C_{max_{ss}}$ и $C_{min_{ss}}$ после повеќекратна ИВ примена може да се пресметаат:

$$C_{max_{ss}} = \frac{C_0}{(1 - e^{-K \cdot \tau})}$$

$$C_{min_{ss}} = \frac{C_0 \cdot e^{-K \cdot \tau}}{(1 - e^{-K \cdot \tau})}$$

Во состојба на рамнотежа, $C_{max_{ss}}$ и $C_{min_{ss}}$ после повеќекратна краткотрајна интравенска инфузија може да се пресметаат:

$$C_{max_{ss}} = \frac{D}{CL \cdot T} \frac{(1 - e^{-K \cdot T})}{(1 - e^{-K \cdot \tau})}$$

$$C_{min_{ss}} = C_{max_{ss}} \cdot e^{-K \cdot (\tau - T)}$$

каде: T - време на течење на инфузијата, τ - интервал помеѓу две инфузииски примени.

Во состојба на рамнотежа, $C_{\max_{ss}}$ и $C_{\min_{ss}}$ после повеќекратна екстраваскуларна примена може да се пресметаат:

$$C_{\max_{ss}} = \frac{D \cdot F}{Vd \cdot (1 - e^{-K \cdot \tau})} \cdot e^{-K \cdot t_{\max}}$$

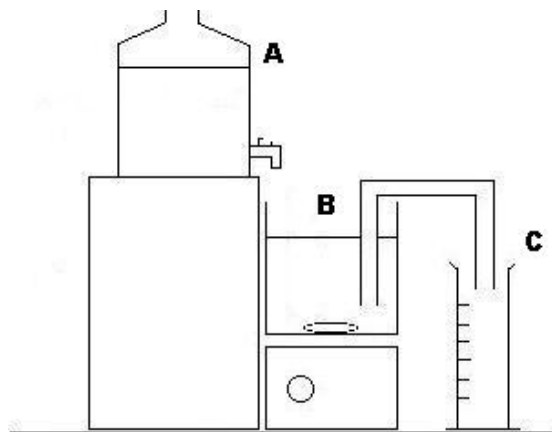
$$C_{\min_{ss}} = \frac{D \cdot F}{Vd \cdot (1 - e^{-K \cdot \tau})} \cdot e^{-K \cdot \tau}$$

каде: t_{\max} – време на постигнување на максималната плазматска концентрација.

**ВЕЖБА БР. 5 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ПОВЕЌЕКРАТНА ПРИМЕНА НА ЛЕКОВИТЕ**

Практична изведба:

Преку адекватно поставување на чаши и константен резервоар за вода можат да се симулираат плазматските концентрации на лековитата по повеќекратна апликација на и.в. болус. Константниот протек на водата низ системот овозможува дилуирање на активната супстанција од I ред. Примероците на плазма се собираат периодично, при што со примена на фармакокинетски методи се анализираат податоците и пресметуваат соодветните фармакокинетски параметри карактеристични за активната супстанција и дадениот модел.



Се идентификуваат компонентите на системот: плазма и урина. Се обезбедува постојано полнење на резервоарот. Чашата во која е сместена "плазмата" се поставува на магнетна мешалка и се обезбедува постојано мешање. Се воспоставува константен протек - ml/min (ренален клиренс) во чашата (мензурата) во која се собира "урина"

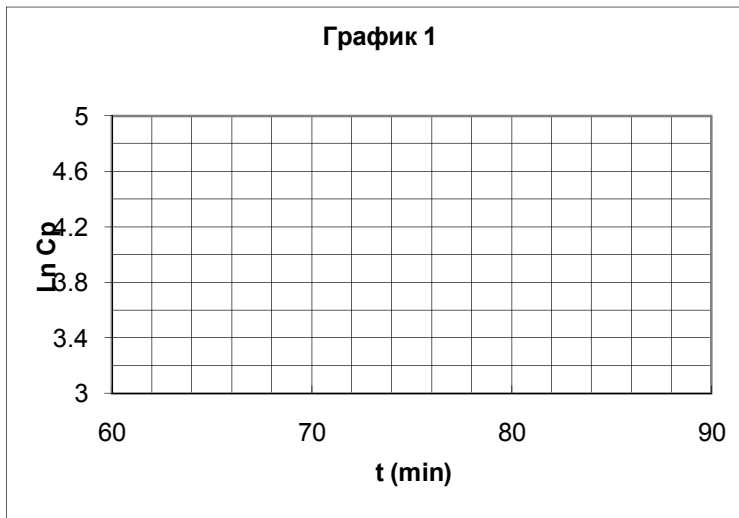
Активната супстанција се инјектира во чашата со "плазма", " и.в. доза" на секои 15 мин во времетраење од 60мин.

Примероците на плазма - 5 ml, се собираат на секои 5 минути во период од 80 минути.

Концентрацијата на лековитата супстанција во секој примерок се одредува со соодветна аналитичка постапка.

На семилогаритамски график се нанесува плазма концентрацијата (C_p) наспроти времето. Се пресметува K (константата на елиминација) и $t_{1/2}$ (полувремето на елиминација). Да се одредат $C_{p_{max}}$, $C_{p_{min}}$ и $C_{p_{av}}$. (Доза = 100 mg, $V_d = 0.8$ L)

Да се пресметаат $C_{p_{max}}$, $C_{p_{min}}$ и $C_{p_{av}}$ на истиот модел доколку дозата би била двојно помала (50 mg), а интервалот на дозирање двојно пократок (7.5 мин).



$y =$ $R^2 =$

$k_e =$

$t_{1/2} =$

Задачи

1.

а) Пациентот прима 1000 mg антибиотик секои 6 часа со повторена ИВ инекција ($t_{1/2}$ 3 часа). Лекот се дистрибуира според еднопросторниот модел со V_d 20 L. Да се одреди максималното и минималното количество на лек во телото. Да се одреди минималната и максималната плазматска концентрација на лекот!

б) Врз основа на податоците од претходниот пример, да се одредат: а. C_p 3 часа после втората доза, б. рамнотежната C_p^{ss} 3 часа после последната доза, в. $C_p^{ss}_{max}$, г. $C_p^{ss}_{min}$ и д. C_{ave}^{ss} .

Решение:

**ВЕЖБА БР. 5 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ПОВЕЌЕКРАТНА ПРИМЕНА НА ЛЕКОВИТЕ**

2. Под претпоставка дека лекот со $K 0.2h^{-1}$, $Vd 10 L$ се применува како ИВ болус во доза од 100 mg секои 6 часа, 6 дози, колкава ќе биде Cp 4 часа после 6-та доза, доколку 5-та доза била применета 1 час подоцна?

Решение:

3. Лекот се инфундира со 40 mg ИВ доза во текот на 2 часа, десет часа подоцна применета е втора доза од 40 mg во текот на 2 часа. (а) Колкава е Cp 2 часа од почетокот на првата инфузија; (б) Колкава е Cp 5 часа после почетокот на второто инфундирање? ($K 0.2 h^{-1}$; $Vd 10 L$)

Решение:

4. Гентамицин сулфатот се применува на возрасен маж (57 год., 70 kg) како краткотрајна ИВ инфузија во текот на 1 час во доза од 90 mg и интервал од 8 часа. Клиренсот на гентамицин е еднаков на клиренсот на креатинин и изнесува 7.2 L/h со $t_{1/2}$ 3 h. (а). Колкава е C_p после првата ИВ инфузија? (б). Колкава е $C_p^{ss_{max}}$ и $C_p^{ss_{min}}$?

Решение:

5. Возрасен пациент (46 г., 81 kg) прима 250 mg лек секои 8 часа 2 недели. Биорасположливоста на лекот е 75%, V_d 1.5 L/kg, $t_{1/2}$ 10 h, K_a 0.9 h⁻¹.

а. Да се одреди C_{pmax} после првата доза, б. C_{pmin} после првата доза, в. C_p , 4 часа после 7-та доза, г. C_{pssmax} , д. C_{pssmin} и . C_{pssav} ?

Решение:

**ВЕЖБА БР. 5 ИН ВИТРО СИМУЛАЦИЈА НА ЕДНОПРОСТОРЕН
ФАРМАКОКИНЕТСКИ МОДЕЛ - ПОВЕЌЕКРАТНА ПРИМЕНА НА ЛЕКОВИТЕ**

6. Полупериодот на елиминација на тобрамицин е 2.15 часа, V_d 33.5% од телесната маса. Колкава е дозата кај пациент тежок 80 kg, доколку рамнотежната плазматска конц. е 2.5 mg/ml. Лекот се дава како ИВ болус секои 8 часа. Производителот предлага дозирање од 1 mg/kg секои 8 часа. Колкава би била просечната плазма конц. со овој режим на дозирање?

Решение:

7. $t_{1/2}$ на елиминација на антибиотикот е 3 часа со V_d 20% од телесната тежина. Терапевтскиот интервал е помеѓу 5 и 15 mg/L. МТК е 20 mg/ml. Да се одреди дозирачкиот режим (повеќекратен ИВ болус) кој ќе ги одржи Ср во терапевтскиот интервал?

Решение:

6

Растворливост и брзина на растворување на лековите - влијание на физикохемиските фактори

Брзината и обемот на биорасположливост на активната супстанција се во директна корелација со брзината и обемот на растворување на активната супстанција, односно брзината и обемот на ослободување на активната супстанција од дозираната форма. Оттука, влијанието на физикохемиските својства на активната супстанција врз нејзината растворливост, односно брзина на растворување е една од клучните детерминанти на нејзината биорасположливост.

Посебен проблем претставуваат слабо растворливите лекови во ГИТ и за надминување на слабата растворливост, односно подобрување на биорасположливоста се користат различни пристапи: фармацевтско-хемиски (воведување на јонизирачки групи, намалување на точката на топење, промена на полиморфната форма, дизајнирање на пролекови, дизајнирање на соли, итн.) и фармацевтско-технолошки (микро- и нанотехнологија, формулирање на цврсти раствори, цврсти дисперзии или само-емулгирачки лековити системи, стабилизирање на лекот во аморфна форма, комплексирање со хидрофилни носачи, итн.).

Растворувањето на активната супстанција може да се опише со Noyes-Whitney-евата равенка [3, 4], која ја опишува растворливоста на сферични честички кога процесот на растворување е дифузиски контролиран и нема хемиска реакција.

$$\frac{dC}{dt} = \frac{D \cdot A \cdot (C_s - C)}{h}$$

каде: dC/dt – брзина на растворување на лекот, D - дифузиски коефициент на лекот во гастроинтестиналните течности, A -ефективна површина на честичките на лекот која е во контакт со гастроинтестиналните течности, h - дебелина на дифузискиот слој околу секоја честичка на лекот, C_s - сатурациска растворливост/концентрација на лекот во растворот, во дифузискиот слој, C – растворливост/концентрација на лекот во гастроинтестиналните течности.

Оваа равенка објаснува како различните физикохемиски фактори влијаат врз растворливоста/брзината на растворување на лекот во ГИТ.

Во раствор, полесно е да се следи количеството на растворена лековита супстанција отколку промената на нејзината површина. Доколку се запазени

ВЕЖБА БР.6 РАСТВОРЛИВОСТ И БРЗИНА НА РАСТВОРУВАЊЕ НА ЛЕКОВИТЕ - ВЛИЈАНИЕ НА ФИЗИКОХЕМИСКИТЕ ФАКТОРИ

следниве предуслови: рамномерно растворување на лекот по целата површина, постојано мешање на растворувачот со иста брзина и во текот на растворувањето да не се менува обликот на честичките (сферичноста), за да се пресмета константата на брзина на растворување може да се користи Нихон-Сроуел-овиот математички модел [3]:

$$M_0^{1/3} - M_t^{1/3} = Kt$$

каде:

M_0 - почетна маса за растворување

M_t - маса што не е растворена

t - време на прибирање на примероците

K - константа на брзина на растворување ($\text{mg}^{1/3} \text{min}^{-1}$)

Константата на брзина на растворување се пресметува како агол на правата која ја опишува зависноста на раствореното количество на лек во време.

Физикохемиски фактори кои влијаат врз брзината на растворување/ослободување на лекот од дозираната форма се:

а. Големина на честички и ефективна површина на растворување

Генерално, колку е помала големината на честичките, толку е поголема ефективната површина расположлива за растворување и оттука, растворливоста, односно брзината на растворување. Меѓутоа, кај хидрофобните лекови намалувањето на големината на честичките може да резултира со агрегација, што условува намалување на ефективната површина расположлива за растворување и оттука, намалување на брзината на растворување, односно биорасположливоста на лекот. Мешањето на хидрофобната активна супстанција со хидрофилен носач или површински активна материја може да ја зголеми растворливоста/брзината на растворување на активната супстанција преку подобрување на пенетрацијата на растворувачот во честичките и намалување на агрегацијата.

б. Растворливост на лекови во дифузиониот слој (степен на јонизација и рН вредности)

Хидросолубилноста на лекот зависи од интеракциите помеѓу молекулите во кристалната решетка, интермолекуларните интеракции со растворувачот и промените во ентропијата поврзани со фузијата и дисолуцијата. Кај слабите електролити, важна детерминант е рН вредноста на дифузиониот слој. Оваа вредност е под влијание на рК и растворливоста на лековитата супстанција и рК и растворливоста на пуферите во околните гастроинтестинални течности. Зависноста на растворливоста на лекот од рН на средината и рК на лекот е опишана со Henderson-Hasselbach-овите равенки [3]. Оттука, во различни региони на ГИТ, лекот покажува различна растворливост /брзина на растворување.

в. Коэффициент на липидно-водена распределба

Брзината и обемот на биорасположливост на лекот зависат и од неговиот коэффициент на липидно-водена распределба; колку е повисок, толку апсорпцијата ќе биде побрза. Но, кога растворливоста во вода е толку мала што не може да се постигне доволна концентрација во екстрацелуларната течност, апсорпцијата може да биде незначителна. На коэффициентот на липидно-водена распределба влијае и рН вредноста на гастро-интестиналните течности. Супстанците имаат поголем коэффициент на липидно-водена распределба при рН вредности кои ја сузбиваат дисоцијацијата.

џ. Образување на соли

Оралната примена на цврста дозирана форма која содржи јака базна сол на слабо кисел лек ќе резултира со побрзо ослободување (растворување) отколку слободната кисела форма на лекот при ниски рН вредности на околниот раствор (пр. рН 1-3.5, средина на желудник). Во случај кога апсорпцијата е ограничена од растворувањето, примената на киселиот лек во форма на базна сол ќе резултира и со поголема брзина на апсорпција. Слично, јаките кисели соли на слабо базните лекови покажуваат поголема растворливост во желудочната и интестиналните течности во однос на слободните бази заради промена на рН вредноста во дифузискиот слој.

Солиите често се применуваат со цел да се подобри биорасположливоста, но при изборот мора да се внимава и на хемиската стабилност, хигроскопноста, технолошките можности и кристалноста на лекот. Релативно истиот ефект на растворливост/брзина на растворување/биорасположливост може да се обезбеди со формирање на соли *in situ* или со додавање на кисели/базни ексципиенси во формулацијата на слабо базниот, односно слабо киселиот лек.

д. Кристални форми (полиморфизам и аморфни форми)

Метастабилната полиморфна форма на слабо растворлив лек може да се карактеризира со поголема биорасположливост во однос на стабилната полиморфна форма заради разликите во интеракциите на молекулите во кристалната решетка. Бидејќи аморфната форма на лекот вообичаено се растворува побрзо отколку соодветните кристални форми, кај оваа форма се очекува и поголема биорасположливост кога лекот покажува дисолуциски ограничена биорасположливост.

ѓ. Солвати

Доколку лекот асоцира со молекулите на растворувачот и формира солвати (хидрати, кога растворувачот е вода), се очекува помала растворливост/брзина на растворување во однос на несолватираната форма. Овие разлики може да се манифестираат како разлики во биорасположливоста, особено во случај на слабо растворливи лекови кои покажуваат дисолуциски ограничена биорасположливост.

ВЕЖБА БР.6 РАСТВОРЛИВОСТ И БРЗИНА НА РАСТВОРУВАЊЕ НА ЛЕКОВИТЕ - ВЛИЈАНИЕ НА ФИЗИКОХЕМИСКИТЕ ФАКТОРИ

е. Комплексирање и адсорпција

Лековитите супстанции може да градат реверзibilни комплекси со инертни или активни компоненти во состав на лековитата форма, како и со компоненти од ГИТ. Комплексот на лековитата супстанција и лековитата супстанција се разликуваат по низа физикохемиски својства кои се одразуваат врз брзината на растворување/ослободување/биорасположливоста на лекот. Понекогаш може да се јави и адсорпција на лекот на некоја помошна материја во лековитата форма што може да го успори ослободувањето на лековитата супстанција и да ја намали брзината на биорасположливост.

Практична изведба:

1. Ефект на мешање на хидрофобна лековита супстанција со хидрофилен носач врз растворливоста/брзината на растворување на лековитата супстанција

(а) Се одредува растворливоста/брзината на растворување на хидрофобна активна супстанција со методот на сад со весло на константна температура од 37⁰С и брзина на мешање 150 свртувања/ минута.

Се подготвува воден раствор на хидрофобната активна супстанција со концентрација 0.1 mg/ml (50 mg во 500 ml вода). Откако растворот на активната супстанција се сместува во чашата, примероците се земаат секоја втора минута во текот на десет минути. Волуменот на секој примерок е 5 ml. Концентрацијата на активната супстанција се одредува со соодветна аналитичка процедура и техника.

(б) Се одредува растворливоста/брзината на растворување на хидрофобната активна супстанција во смеса со хидрофилен носач.

Се подготвува смеса на хидрофобната активна супстанција со хидрофилен осач (пр. ПЕГ 4000) во однос 1:1. Мешањето се врши во тарионик во текот на 15 минути по принципот на мешање на прашоци.

Во 500 ml се растворува количество од смесата кое содржи 50 mg активна супстанција (концентрација 0,1 mg/ml). Примероците-5 ml се земаат секоја втора минута во текот на 10 минути со последователно надополнување на растворувачот (5 ml вода). Концентрацијата на активната супстанција се одредува со соодветна аналитичка процедура и техника.

2. Ефект на големината на честичките/ефективната површината на растворување врз растворливоста/брзината на растворување на лековитата супстанција

(в) Се растворуваат 150 mg гранулат кој ја содржи хидрофобната активна супстанција во 1000 ml вода. Примероците - 5 ml се земаат секоја втора минута во текот на десет минути со последователно надополнување на растворувачот. Концентрацијата на активната супстанција се одредува со соодветна аналитичка процедура и техника. Растворливоста и брзината на растворување се одредуваат со методот на сад со весло. Температурата на која се мери растворливоста/брзината на растворување е 37⁰С, а брзината на мешање е 150 свртувања во минута.

(г) Се растворува 1 таблета во која е инкорпорирана истата активна супстанција во 1000 ml вода. Содржината на активната супстанција во таблетата е еквивалентна на содржината на активната супстанција во 150 mg гранулат.

Примероците - 5 ml се земаат секоја втора минута во текот на десет минути со последователно надополнување на растворувачот. Концентрацијата на активната супстанција се одредува со соодветна аналитичка процедура и техника. Растворливоста/брзината на растворување се одредува со методот на сад со весло. Температурата на која се мери растворливоста/брзината на растворување е 37⁰С, а брзината на мешање е 150 свртувања во минута.

**ВЕЖБА БР.6 РАСТВОРЛИВОСТ И БРЗИНА НА РАСТВОРУВАЊЕ НА ЛЕКОВИТЕ -
ВЛИЈАНИЕ НА ФИЗИКОХЕМИСКИТЕ ФАКТОРИ**

Задача:

Да се одредат, споредат и толкуваат разликите во вредностите на константите на брзина на растворување на активната супстанција. Константите на брзина на растворување да се одредат со Нихон-Сроуел-овиот математички модел.

а. Одредување на константа на брзина на растворување активната супстанција

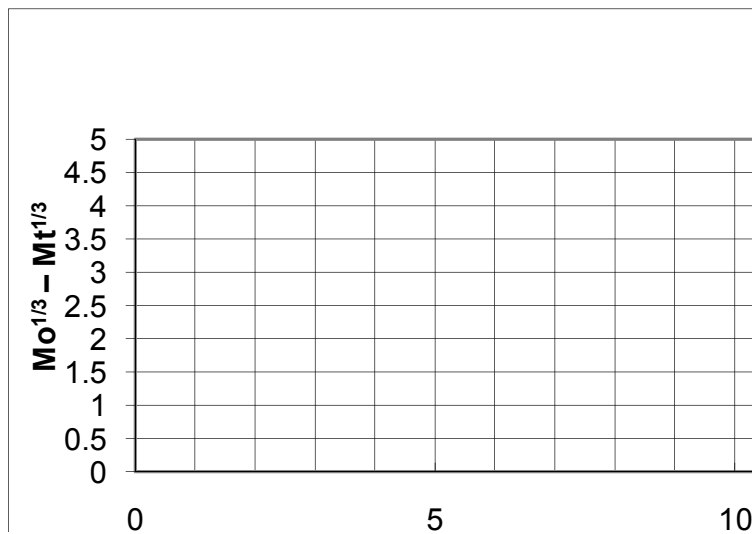
t	A					

Cst=

Ast=

y=

R2=



K=

Водич за практична настава по БИОФАРМАЦИЈА

Одредување на константа на брзина на растворање на активната супстанција во смеса со хидрофилен носач

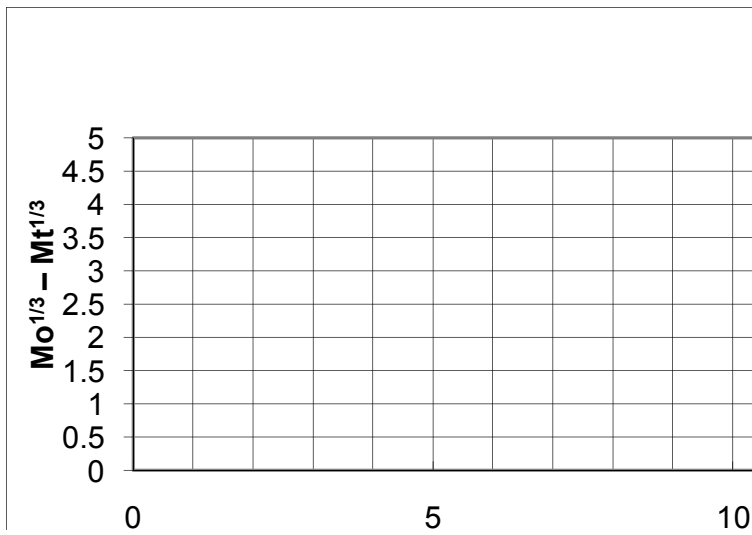
t	A					

Cst=

Ast=

y=

R2=



K=

**ВЕЖБА БР.6 РАСТВОРЛИВОСТ И БРЗИНА НА РАСТВОРУВАЊЕ НА ЛЕКОВИТЕ -
ВЛИЈАНИЕ НА ФИЗИКОХЕМИСКИТЕ ФАКТОРИ**

Одредување на константа на брзина на растворање на активната супстанција од гранулат

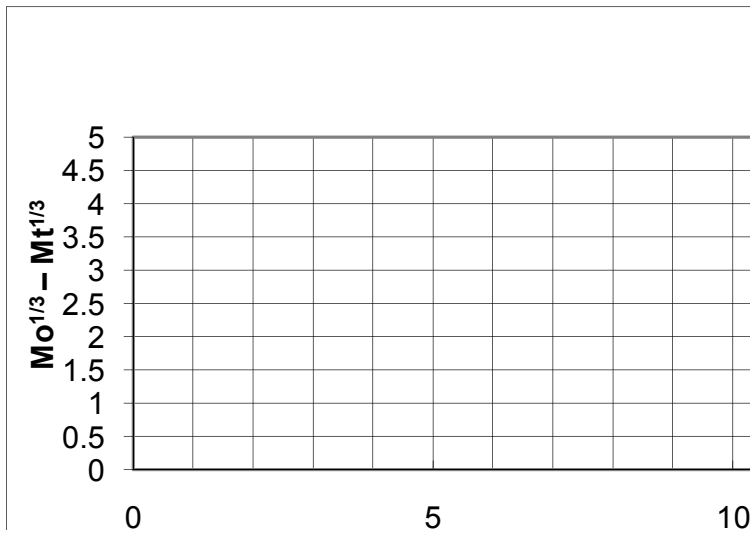
t	A					

Cst=

Ast=

y=

R2=



K=

Водич за практична настава по БИОФАРМАЦИЈА

Одредување на константа на брзина на растворање на активната супстанција од таблети

t	A					

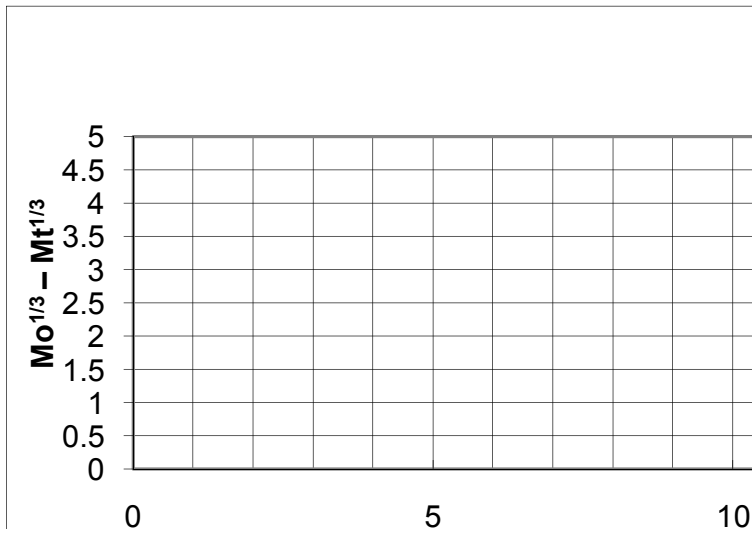
Cst=

Ast=

y=

R²=

K=



Заклучок:

7

Одредување на растворливоста, брзината на растворување и биорасположливоста на лекот; *ин витро-ин vivo* корелација

Системската апсорпција на лекот се состои од неколку последователни процеси кои се одвиваат со соодветна брзина. Апсорпцијата на лековите инкорпорирани во цврсти дозирани форми се одвива преку дезинтеграција на лековитиот производ и ослободување на лекот, растворување на лекот во воденото опкружување и апсорпција преку клеточните мембрани во системската циркулација. Во зависност од видот на лековитата форма, помошните супстанции, физикохемиските својства на лекот, патот на примена и (пато)физиолошките карактеристики на местото на апсорпција, одреден процес се одвива најспоро од сите и тоа е фазата која ја ограничува брзината на апсорпција, односно ја определува и биорасположливоста на лекот.

Биорасположливост на лекот претставува брзина и обем со кои активната супстанција се апсорбира од лековитиот производ и станува расположлива на местото на дејствување. Испитувањата на биорасположливоста се сметаат за едно гледиште на квалитетот на лековитиот производ кое го опишува *ин vivo* однесувањето на лековитиот производ во клиничките испитувања.

Константата на дисоцијација и липидната растворливоста на лекот и рН на местото на апсорпција најчесто влијаат врз биорасположливоста на лекот кога се апсорбира во ГИТ. Оваа поврзаност е опишана со хипотезата на рН распределба (Overton, 1899) и таа дава рационално објаснување за биорасположливоста на лековите кои се апсорбираат со трансцелуларен пасивен пат на апсорпција. Според оваа хипотеза, апсорпцијата на лекот-слаб електролит ќе зависи од обемот во кој лекот опстојува во недисоцирана форма на местото на апсорпција. Односот на константата на дисоцијација, рН и обемот на лекот растворен во јонизирана, односно нејонизирана форма е дефиниран со Хендерсон-Хаселбах-овите равенки [2, 3]. Меѓутоа, мора да се земе предвид дека, од гледиште на физиолошките фактори, и други фактори влијаат врз биорасположливоста на лекот (пр. микроклимата и содржината на одделните сегменти на ГИТ, мотилитетот на ГИТ, присуството и видот на храна, карактеристиките на мукозната бариера, разликите во пермеабилноста на гастроинтестиналната бариера во различни сегменти на ГИТ, други механизми на апсорпција, липидната солубилност на лековите и мицеларната солубилизација - способноста жолчните соли да го растворат лекот зависи во голема мерка од неговата

липофилност, големината и обликот на молекулата на лекот-трансцелуларната пасивна дифузија е расположлива за лековите со молекулска маса помала од 500 Da, водородното врзување - за апсорпцијата на лековите во овој контекст важи правилото на Липински, итн..

Кај нерегистрираните генерички лекови потребна е карактеризација на фармакокинетиката на лекот (F , K_a , $t_{1/2}$, K , K_e и K_m после единечна или повеќекратна примена), односно биорасположливоста на лекот, а со цел дефинирање на режимот на дозирање. *Ин vivo* испитувањата на биорасположливоста на регистрираните лекови се спроведуваат со цел да се карактеризира фармакокинетиката на новата формулација, новата дозирана форма или новата сол, естер во однос на референтната формулација [1].

Релативната биолошка расположливост го опишува обемот и брзината со која лекот е расположлив од еден лековит облик во однос на стандарден лековит облик (вообичаено раствор на лекот) со иста доза на лекот:

Релативна биорасположливост:

$$\text{Релативна биорасположливост} = \frac{[AUC]_A}{[AUC]_B}$$

$$\text{Релативна биорасположливост} = \frac{[AUC]_A / Doza_A}{[AUC]_B / Doza_B}$$

$$\text{Релативна биорасположливост}(\%) = \frac{[Du]^\infty_A \cdot 100}{[Du]^\infty_B}$$

каде: $[Du]^\infty$ - вкупно количество на лек кое се елиминира преку урина

Апсолутната системска расположливоста на лекот во формулацијата се определува со споредување на површината под крива плазма концентрација - време после екстраваскуларна примена (пр. орална, ректална, трансдермална, субкутана) со површината под крива плазма концентрација - време после ИВ дозирање.

$$\text{Апсолутна биорасположливост} = \frac{[AUC]_{po} / Doza_{po}}{[AUC]_{iv} / Doza_{iv}}$$

$$\text{Апсолутна биорасположливост} = \frac{[Du]^\infty_{po} / Doza_{po}}{[Du]^\infty_{iv} / Doza_{iv}}$$

ВЕЖБА БР.7 ОДРЕДУВАЊЕ НА РАСТВОРЛИВОСТА, БРЗИНАТА НА РАСТВОРУВАЊЕ И БИОРАСПОЛОЖЛИВОСТА НА ЛЕКОТ; *ИН ВИТРО-ИН ВИВО* КОРЕЛАЦИЈА

Биоеквивалентност постои кога два лека се фармацевтски еквиваленти или фармацевтски алтернативи чија биорасположливост после примена во иста моларна доза е слична што овозможува нивниот ефект, земајќи ја предвид ефикасноста и безбедноста, да биде ист.

Како показатели на *ин виво* биорасположливоста на лекот може да се користат фармакокинетски параметри и фармаколошкиот ефект.

Фармакокинетските параметри се одредуваат од:

а. њрофилоѝ ѝлазма конценѝрација - време (дирекѝен и објекѝивен мейод)⁵:

t_{\max} - приближна индикација за брзината на апсорпција

$C_{p\max}$ - индикација за системска апсорпција на доволно количество лек за постигнување на терапевтскиот ефект, предупредување за токсично ниво, мерка за брзината на биорасположливоста

AUC – мерка за обемот на биорасположливост

б. ѝрофилоѝ конценѝрација во урина-време (индирекѝен мейод; лекоѝ мора да се екскреѝира како ѝеѝроменѝ во урина во значајни количесѝва):

Du^0 – вкупно количество на елиминиран лек

dDu/dt – брзина на елиминација од I ред

t^0 – време потребно да се елиминира целокупното количество на лек

За лекови со локално дејство може да се следат следниве параметри: вкупна површина под крива акутен фармакодинамски ефект/време, максимален фармакодинамски ефект, време за постигнување на максимален фармакодинамски ефект, време на појава и времетраење на фармакодинамски ефект.

Ин виѝро испитувањата вклучуваат испитувања на растворливоста на лекот. Теоретскиот концепт кој ги корелира *ин виѝро* растворливоста со *ин виво* биорасположливоста на лекот се темели на растворливоста на лекот во вода и пермеабилноста на лекот низ ГИТ и овие својства претставуваат основа за развој на Биофармацевтскиот класификациски систем (БКС). БКС се темели на Fick-овиот закон на дифузија. Класификацијата е направена врз основа на растворливоста и пермеабилноста на лековите со цел предвидување / корелација на *ин виѝро* растворливоста на лековите инкорпорирани во конвенционалните, брзоослободувачки форми со *ин виво* апсорпцијата. Идеално, доколку е избран соодветен метод за определување на растворливоста на лекот *ин виѝро*, растворливоста на лекот корелира со биорасположливоста на лекот *ин виво*. БКС е

⁵За лековитите форми да бидат биоеквивалентни, геометриската средина на AUC и $C_{p\max}$ на лекот инкорпорирани во генеричкиот производ треба да се движи помеѓу 80 и 125% од геометриската средина на AUC и $C_{p\max}$ на лекот инкорпорирани во референтниот производ (90% интервал на доверба); за лековите со мала терапевтска широчина, овој интервал е 85 - 120%.

пристап кој ги поврзува физикохемиските својства и биорасположливоста, но не е директна корелација.

Растворливоста под одредени физиолошки услови се одредува во рН интервал 1- 8. За високо растворлив се смета лекот кај кој највисоката јачина се растворува во ≥ 250 ml воден медиум. За високо пермеабилен се смета лекот кој има обем на апсорпција $>90\%$ кај луѓе (испитувањата се вршени со користење на *ин vivo* и *ин ситиу* перфузиски методи, интестинални ткива, клеточни култури) [1].

За препарат со брзо ослободување се смета препаратот кај кој не помалку од 85 % од лекот се растворува во тек на 30 min (Апарат 1 на 100 грм или Апарат 2 на 50 грм, Ph Eur, USP) во волумен од 900 ml или помалку во секој од наведените медиуми: кисел медиум-0.1 mol/l HCl, рН 4.5 и рН 6.8 (без ензими).

Постои огромна потреба за воспоставување на *ин виџро-ин vivo* корелација (ИВИВК) помеѓу брзината на растворување/брзината на ослободување на лековите и апсорпцијата на лековите која овозможува замена на *ин vivo* испитувањата на животни и клиничките испитувања во текот на развојот на лековитиот производ. ИВИВК е можна само за оние лекови кај кои растворливоста е ограничувачка фаза во апсорпцијата на лековите.

Вообичаено, ИВИВК на растворливоста со апсорпцијата се однесува на поставување на зависност помеѓу времето потребно одредено количество лек да се раствори и времето потребно да се апсорбира истото количество лек. Линеарната зависност упатува на брза апсорпција која зависи од брзината на растворување. Доколку лекот се апсорбира комплетно после растворувањето, споредувањето на % на апсорбиран лек со % на растворен лек дава линеарна зависност. Кога лекот е слабо растворлив и не се ослободува целосно, тогаш $C_{p,max}$ (*ин vivo*) ќе биде повисока за лековитиот производ кој покажува повисок % на растворен лек; вообичаено, овие производи покажуваат и пократко t_{max} кое зависи од k_a . Кога растворувањето на лекот е фаза која ја ограничува брзината на апсорпција, може да корелира % на растворен лек во време t со C_p во соодветното време [1].

Во определувањето на профилот на ослободување треба да се одбере метод кој ќе ги симулира *ин vivo* условите (рН, јонски состав, површински напон, пуферски капацитет, содржина и волумен на дисолуцискиот медиум, телесна температура, брзина на мешање, итн.). Врз брзината на ослободување *ин виџро* влијае и обликот (пр. весло, корпа), големината и позицијата на мешалката, обликот и големината на садот во кој се врши испитувањето, местото на земање на примероците за анализа на концентрациите. Во текот на испитувањето, неопходно е да се обезбедат синк услови (концентрацијата на растворениот лек да биде неколкукратно помала од концентрацијата на заситување). Времетраењето на испитувањето зависи од местото на апсорпција и времето на примена на лекот.

Во литературата може да се сретнат низа методи за определување на растворливоста/брзината на растворување на лекот од различни лековити форми. Класификацијата главно се темели на механизмот на мешање - метод на затворен сад и отворен проточен модел (Ph Eur, USP). Кога се користат методи на проточна ќелија, концентрацијата на растворениот лек се следи според следнава равенка: $C_t = (dm/dt)/V$. Кај методот на сад со мешалка, концентрацијата на лекот се следи

ВЕЖБА БР.7 ОДРЕДУВАЊЕ НА РАСТВОРЛИВОСТА, БРЗИНАТА НА РАСТВОРУВАЊЕ И БИОРАСПОЛОЖЛИВОСТА НА ЛЕКОТ; *ИН ВИТРО-ИН ВИВО* КОРЕЛАЦИЈА

кумулятивно: $C_t = m/V$, каде m – количеството на растворен лек, V – волумен на медиумот.

Практична изведба 1:

Одредување на брзината на растворување на ацетилсалицилната киселина

Во дисолуциски апарат (метод на весло) се изведува испитување на растворливоста, односно брзината на растворување на ацетилсалицилната киселина инкорпорирана во таблета и тоа во рН 1.2 и рН 3, соодветно. Растворот треба да се одржува на 37°C со константна брзината на мешање. Во волумен од 150 ml се става една таблета на ацетилсалицилна киселина и секои 10 min се вадат по 10 ml и се дополнува со нови 10 ml. Концентрацијата на ацетилсалицилната киселина во анализите се одредува со соодветна аналитичка постапка и техника (UV/VIS, 295 nm).

Задача:

Да се одреди константата на брзина на растворување на ацетилсалицилната киселина во услови на празен желудник (рН 1.2) и при истовремена примена на антацид (рН 3) со користење на равенката на кинетика од прв ред⁶.

$$\ln M_t = \ln M_0 - K * t$$

каде:

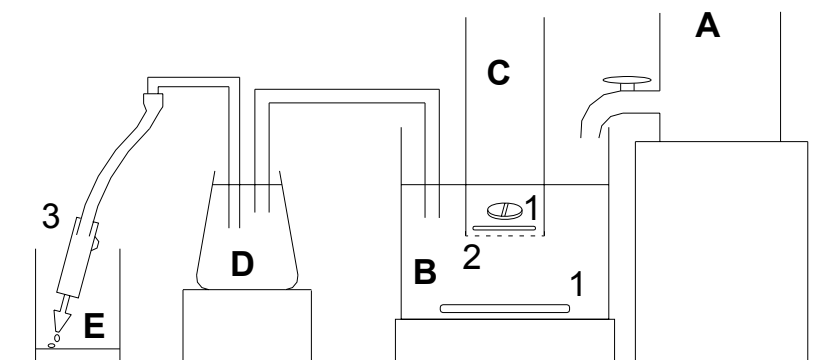
M_t – количество на нерастворен лек (mg)

M_0 - почетно количество на лек, содржина на лек во таблетата (mg)

K - константа на брзина на растворување на лекот (min^{-1})

⁶Кога доминантен механизам кој ја определува брзината на растворување/ослободување на лекот од дозираната форма е дисолуцијата на лекот во околниот медиум, за определување на константата на брзина на растворување може да се користи равенката на кинетика од I ред.

Практична изведба 2:



1. магнети; 2. семипермеабилна мембрана; 3. регулатор

Одредување на биорасположливоста на ацетилсалицилната киселина

Садот C се полни со 150ml раствор рН 1.2, односно рН 3, соодветно (симулација на желудник). Садот B се полни со 750ml дестилирана вода (симулација на централниот простор), се загрева на 37°C и се одржува константна во текот на изведување на вежбата. За да се избегне разликата во хидростатските притисоци растворите во садите B и C треба да се на исто ниво. Преку регулаторот (3) се дотерува елиминацијата (симулација на ренална елиминација), а од садот A постојано се надополнува елиминираниот волумен (симулација на одржувањето на волумен на централната циркулација).

Се вклучува магнетната мешалка, брзината на мешање треба да биде константна. Во садот C се става една таблета која содржи 500mg ацетилсалицилна киселина како активна супстанција. Секои 10min од садот B се вадат 10ml и се дополнува со нови 10 ml. Концентрацијата на ацетилсалицилната киселина во анализите се определува спектрофотометриски (UV/VIS, 295nm).

Задача:

Од добиените резултати за профилот плазма концентрација - време да се одредат: k , k_a (со метод по Вагнер-Нелсон), t_{max} , AUC, соодветно за рН 1 и рН 3. Да се споредат обемот и брзината на биорасположливоста на ацетилсалицилната киселина во услови на празен желудник и при истовремена примена на антацид.

Да се направи *ин виџро/ин виво* корелација на:

- процент на растворена супстанција и процент на апсорбирана супстанција во време t
- процент на растворена супстанција во време t со C_p во време t

Врз основа на определените параметри и ИВИВ корелацијата да се дефинираат физикохемиските својства на активната супстанција и доминантниот фактор кој ја определува вкупната биорасположливост на активната супстанција.

ВЕЖБА БР.7 ОДРЕДУВАЊЕ НА РАСТВОРЛИВОСТА, БРЗИНАТА НА РАСТВОРУВАЊЕ И БИОРАСПОЛОЖЛИВОСТА НА ЛЕКОТ; *ИН ВИТРО-ИН ВИВО* КОРЕЛАЦИЈА

pH3						
t (min)	Cp(µg/ml)					
15						
25						
35						
45						
55						
65						
75						
85						
95						
105						
115						
125						
135						
145						
155						
165						
175						
185						
195						
205						
215						
225						
235						
245						
255						
265						
275						
285						
295						

$k_a =$ $AUC_0^{+\infty} =$ $t_{max} =$

Одредување на k од фаза на елиминација

t (min)	Cp(µg/ml)		y=	R ² =
225			k=	
235				
245				
255				
265				
275				
285				
295				

Водич за практична настава по БИОФАРМАЦИЈА

pH1						
t (min)	Cp(µg/ml)					
15						
25						
35						
45						
55						
65						
75						
85						
95						
105						
115						
125						
135						
145						
155						
165						
175						
185						
195						
205						
215						
225						
235						
245						
255						
265						
275						
285						
295						

$k_a =$ $AUC_0^{+\infty} =$ $t_{max} =$

Одредување на k од фаза на елиминација

t (min)	Cp(µg/ml)		y=	R ² =
195				
205				
215				
225				
235				
245				
255				
265				
275				
285				
295				

ВЕЖБА БР.7 ОДРЕДУВАЊЕ НА РАСТВОРЛИВОСТА, БРЗИНАТА НА РАСТВОРУВАЊЕ И БИОРАСПОЛОЖЛИВОСТА НА ЛЕКОТ; *ИН ВИТРО-ИН ВИВО* КОРЕЛАЦИЈА

Одредување на константа на брзина на ослободување на ацетилсалицилна киселина во рН 1 и рН 3

рН 1

t(min)	M	Mt=Mo-M	lnMt	y=	R ² =
				K=	

M-кумулативно ослободени mg ацетилсалицилна киселина во соодветниот Интервал Mo=500mg

рН 3

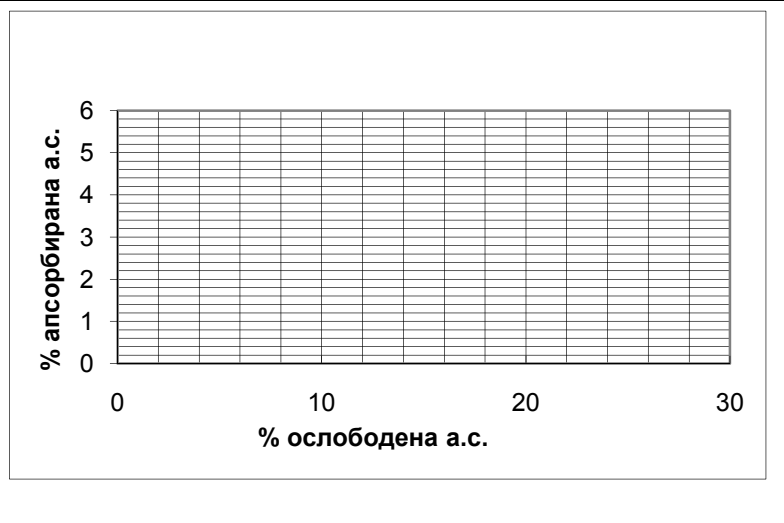
t(min)	M	Mt=Mo-M	lnMt	y=	R ² =
				K=	

M-кумулативно ослободени mg ацетилсалицилна киселина во соодветниот интервал Mo=500mg

ИВИВ корелација

pH 1

t(min)	% апсор.	% ослоб.
15		
25		
35		
45		
55		
65		
75		
85		
R ² =		



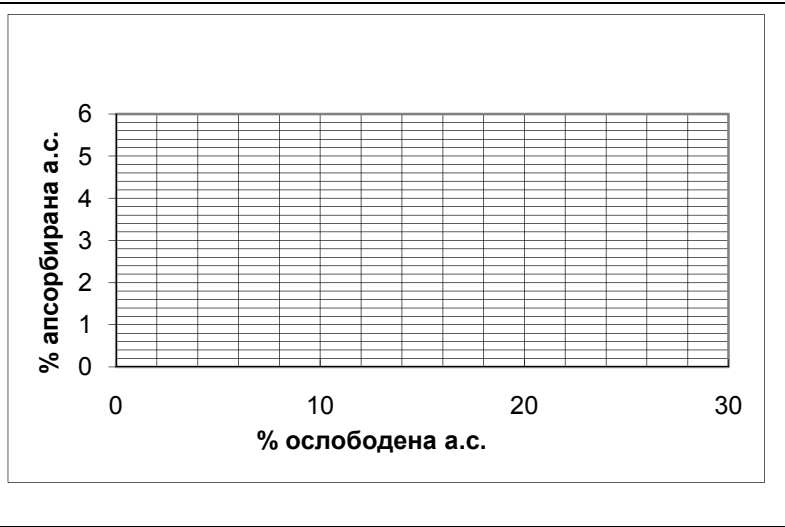
t(min)	Cp	% ослоб.
15		
25		
35		
45		
55		
65		
75		
85		
R ² =		



ВЕЖБА БР.7 ОДРЕДУВАЊЕ НА РАСТВОРЛИВОСТА, БРЗИНАТА НА РАСТВОРУВАЊЕ И БИОРАСПОЛОЖЛИВОСТА НА ЛЕКОТ; *ИН ВИТРО-ИН ВИВО* КОРЕЛАЦИЈА

pH 3

t(min)	% апсор.	% ослоб.
15		
25		
35		
45		
55		
65		
75		
85		
R ² =		



t(min)	Cp	% ослоб.
15		
25		
35		
45		
55		
65		
75		
85		
R ² =		





Одредување на биорасположливоста на лекот од цврсти дозирани форми (таблети)- влијание на фармацевтско-технолошките фактори

Освен физикохемиските и (пато)физиолошките фактори, врз биорасположливоста на лекот влијаат и низа фактори кои се поврзани со лековитата форма во која е инкорпориран лекот, меѓу кои видот, обликот, формулацијата, методот на подготовка и применетата технологија.

Таблетите се најчесто применувани лековити форми. За да се ослободи лекот од таблетите, тие треба да се дезинтегрираат комплетно во ГИТ и со соодветна брзина. Дезинтеграцијата примарно се одвива до ниво на гранулат, чија ефективна површина расположлива за контакт со биолошките течности е поголема од површината на таблетата, но помала од површината на честичките на лекот кои се добиваат со секундарна дезинтеграција на гранулатот [1, 3, 4].

Брзината на дезинтеграција зависи од низа независни фактори меѓу кои физикохемиските својства и содржината на лекот, видот/физикохемиските својства и содржината на ексципиенсите (средства за дополнување, средства за врзување, средства за распаѓање, средства за зголемување на вискозноста, лубриканси, хемиски стабилизатори, површински активни материи, средства за боење и др.), видот и интензитетот на интеракциите помеѓу лекот и ексципиенсите, методот на гранулирање и големината на гранулите, притисокот и брзината на компримирање на таблетите, обликот, површината, висината, порозноста (радиусот на порите) на таблетите, типот на машината за таблетирање, условите на транспорт и чување, итн.

Кога лекот е инкорпориран во обложени таблети, дополнителен фактор кој ја определува брзината на дезинтеграција, а со тоа и брзината на ослободување на лекот се видот/физикохемиските својства и содржината на средството за обложување и дебелината на слојот. Средството за обложување може да го контролира и местото на ослободување, односно апсорпција на лекот како што е случај со ентерообложените таблети. За таа цел се применуваат полимери кои се растворуваат над рН подрачјето на желудникот. Истовремено, ентерообложувањето овозможува заштита на лекот кога е хемиски нестабилен во кисела средина и/или заштита на желудникот од штетно дејство на лекот.

ВЕЖБА БР.8 ОДРЕДУВАЊЕ НА БИОРАСПОЛОЖЛИВОСТА НА ЛЕКОТ ОД ЦВРСТИ
ДОЗИРАНИ ФОРМИ (ТАБЛЕТИ)- ВЛИЈАНИЕ НА ФАРМАЦЕВТСКО-
ТЕХНОЛОШКИТЕ ФАКТОРИ

Практична изведба:

Од црево за дијализа се прави јамка која се полни со 40 ml (гастрична ќелија). Во јамката се става соодветната таблета со кофеин (со 2%, 6% и 15% НРС). Гастричната ќелија се потопува во чаша со вода (800 ml) која го претставува централниот простор, но притоа врвовите на јамката не треба да бидат потопени во чашата со цел да се избегне евентуално протекување на медиум од гастричната ќелија во централниот простор. Константниот проток на водата низ системот (преку перисталтична пумпа и резервоар) овозможува елиминација на кофеинот од I ред. Примероците од централниот простор се собираат периодично и се анализираат со соодветен спектрофотометриски метод, при што со примена на соодветни фармакокинетски методи се анализираат податоците и пресметуваат соодветните фармакокинетски параметри.

Од добиените податоци на график да се претставата фармакокинетските профили плазма концентрација – време на трите формулации (со 2, 6 и 15 % НРС) и со користење на Вагнер-Нелсон-овиот модел да се пресмета K_a , $C_{p_{max}}$, t_{max} за кофеинот за секоја формулација, соодветно. Да се толкуваат разликите во фармакокинетските параметри помеѓу трите формулации!

15% НРС

t(min)	Cp(μ g/ml)				
20					
40					
60					
80					
95					
110					
125					
140					
155					
170					
190					
210					
230					
250					
270					
290					
310					
330					
350					
370					
390					
410					
430					
450					
470					
480					
510					

Водич за практична настава по БИОФАРМАЦИЈА

6% НРС						
t(min)	Cp($\mu\text{g/ml}$)					
20						
40						
60						
80						
100						
120						
140						
160						
180						
200						
220						
240						
260						
280						
300						
320						
340						
360						
380						
400						
420						
440						
460						
480						
510						

ВЕЖБА БР.8 ОДРЕДУВАЊЕ НА БИОРАСПОЛОЖЛИВОСТА НА ЛЕКОТ ОД ЦВРСТИ
ДОЗИРАНИ ФОРМИ (ТАБЛЕТИ)- ВЛИЈАНИЕ НА ФАРМАЦЕВТСКО-
ТЕХНОЛОШКИТЕ ФАКТОРИ

2% HPC

t(min)	Cp(μ g/ml)					
20						
40						
60						
80						
100						
120						
140						
160						
180						
200						
220						
240						
260						
280						
300						
320						
340						
360						
380						
400						
420						
440						
460						
480						
510						

Физичко хемиски особини	
Хидроксипропил целулоза	Кофеин

Заклучок:

9

Одредување на брзината на ослободување на лекот од ректални лековити облици (супозитории) - влијание на фармацевтско-технолошките фактори

Од ректалните облици кои се користат во терапевтската практика, најголем удел имаат супозиториите, потоа капсулите, макро и микроклизмите и таблетите. За да биде апсорбирана, лековитата супстанција мора да се ослободи од супозиторијата и да се дистрибуира до местото на апсорпција. Доминантни биолошки фактори кои влијаат врз брзината на ослободување/апсорпција се волуменот и составот на ректалната течност, пуферскиот капацитет на ректалната течност, површинскиот напон, вискозитетот, луминалниот притисок и рН вредноста на ректалната течност.

Во однос на фармацевтско-технолошките параметри, највлијателна е улогата на видот на подлогата, а потоа видот на формулацијата и карактеристиките на помошните супстанции (пр. површински активни материи, тензиди). Кога е подлогата хидросолубилна, брзината на растворување на подлогата ја определува брзината со која лекот ќе се ослободи од препаратот. Во случај на липофилна подлога, детерминанта ќе биде точката на топење на подлогата во однос на телесната температура.

Ослободувањето на лекот од супозиторијата опфаќа три фази: приближување на лекот во меѓуфазата подлога-ректална течност, растворување на лекот во ректалната течност и дифузија на лекот од ректалната течност кон ректалната слузокожа и апсорпција. Влијанието на физикохемиските својства на лекот врз ослободувањето е во корелација со типот на формулацијата. Оттука, за супозиториите од типот на суспензии, големината на честичките е доминантна за определување на брзината на ослободување на лекот, но секако во корелација со растворливоста на лекот. Доколку препаратот е од типот на раствор во липофилна подлога, од физикохемиските фактори на страна лекот, доминантна е улогата на коефициентот на липидно-водена распределба. Генерално, липофилните лекови имаат поголема биорасположливост кога се инкорпорирани во хидрофилни подлоги, а хидрофилните лекови во липофилни подлоги, соодветно [3].

Врз брзината на ослободување и биорасположливоста на лекот влијае и методот на подготовка на супозиториите, интеракциите на лекот и помошните материи, начинот и времето на чување на супозиториите.

Ослободувањето на лекот најчесто се одвива со дифузија на лекот низ подлогата (дифузиски контролирано).

Вежба бр. 9 ОДРЕДУВАЊЕ НА БРЗИНАТА НА ОСЛОБОДУВАЊЕ НА ЛЕКОТ ОД РЕКТАЛНИ ЛЕКОВИТИ ОБЛИЦИ (СУПОЗИТОРИИ) -ВЛИЈАНИЕ НА ФАРМАЦЕВТСКО-ТЕХНОЛОШКИТЕ ФАКТОРИ

Практична работа:

Во чаша од 900ml пречистена вода, загреана на 37⁰ C, се поставува стаклена цевка на чие дно е сместена семипермеабилна мембрана. Во стаклената цевка се сместува супозиторијата и 10ml пречистена вода загреана на 37⁰C. Во стаклената чаша се симулира перисталтиката со помош на магнетни мешалки. Од медиумот во чашите се зема примерок (10ml) секои 15, 30, 45, 60, 75 min. Се прави соодветно разредување и се мери спектрофотометриски на бранова должина од 243 nm. После секое земање на анализа, се надополнуваат земените 10ml со пречистена вода загреана на 37⁰C. Добиените резултати графички се претставуваат како кумулативни mg или % на ослободена лековита супстанција наспроти време. Константата на брзина на ослободување се пресметува со помош на Higuchi-евиот закон на дифузија, кој гласи: количеството на ослободена лековита супстанција е пропорционална на константата на брзина на ослободување и квадратниот корен од времето.

$$Q = Kt^{1/2}$$

Q-количина растворена лековита супстанција се нанесува на у-оската

$t_{1/2}$ - се нанесува на x-оската

K-агол на правата која опишува зависноста на количеството на ослободен лек од времето; константа на брзина на растворување ($mg\min^{-1/2}$)

Карактеристики на подлогите:

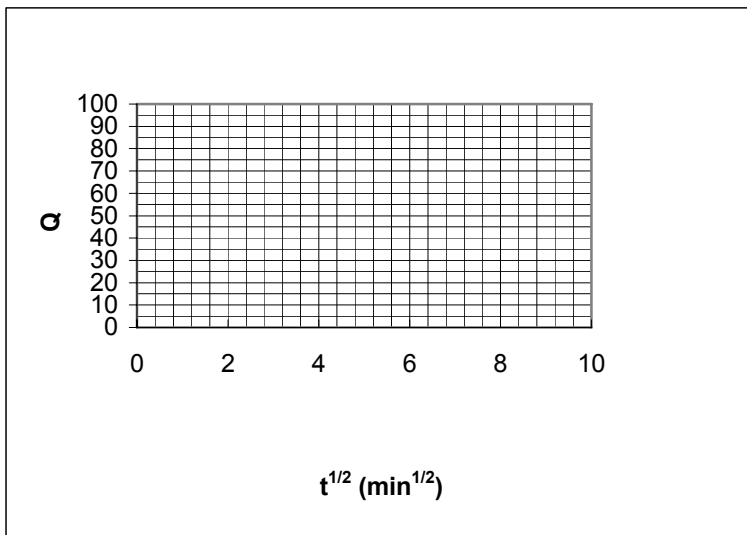
Witepsol	
Oleum cacao	
PEG 6000	

Задача:

Да се одреди брзината на ослободување на лекот од трите формулации со користење на Higuchi-евиот модел на дифузија и да се толкуваат разликите во брзината на ослободување помеѓу трите формулации, соодветно.

Witepsol

t (min)	A				Q	$t^{1/2}$



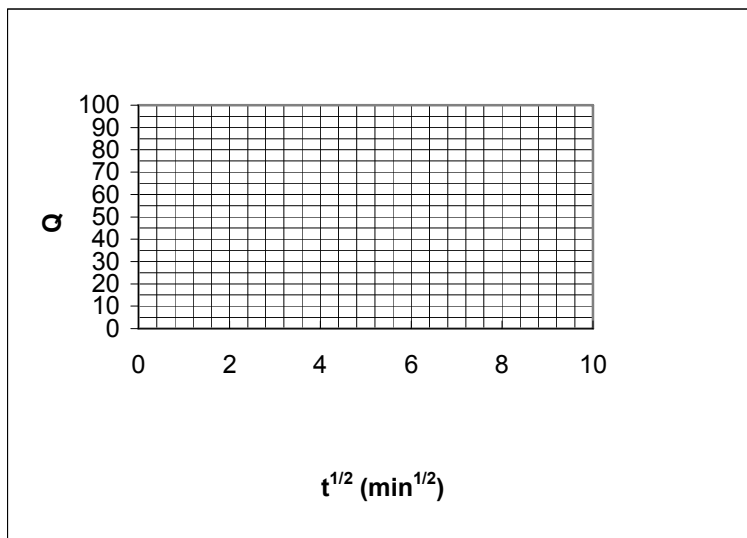
y= R²=

K=

Вежба бр. 9 ОДРЕДУВАЊЕ НА БРЗИНАТА НА ОСЛОБОДУВАЊЕ НА ЛЕКОТ ОД РЕКТАЛНИ ЛЕКОВИТИ ОБЛИЦИ (СУПОЗИТОРИИ) -ВЛИЈАНИЕ НА ФАРМАЦЕВТСКО-ТЕХНОЛОШКИТЕ ФАКТОРИ

Олеум сасао

t (min)	A				Q	$t^{1/2}$

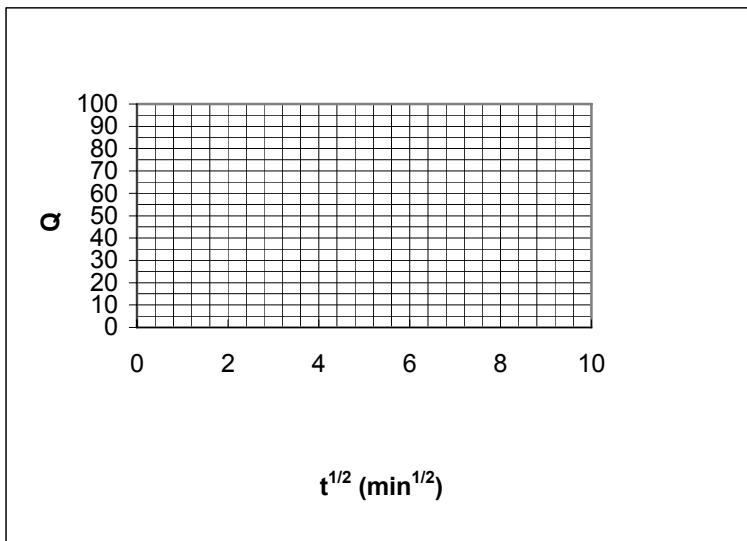


y= R²=

K=

PEG 6000

t (min)	A				Q	t ^{1/2}



y= R²=

K=

Заклучок:

10

Одредување на пермеабилноста на лекот од дерматолошки лековити форми - влијание на фармацевтско-технолошките фактори

Дерматолошките препарати се применуваат да обезбедат површинско дејство на кожата (пр. дезинфициенси), дејство во подлабоките слоеви на кожата (пр. кортикостероиди) или системско дејство (трансдермални лековити системи). Лекот може да пенетрира, пермеира или да се апсорбира преку кожата.

Обемот и брзината со кои лекот стигнува во кожата зависат од биолошките фактори (карактеристиките на одделните слоеви на кожата, (пато)физиолошката состојба на кожата), физикохемиските својства на лекот, на носачот/подлогата на лекот и помошните супстанции (пр. тензиди, растворувачи, конзерванси, антиоксиданси, подобрувачи на пермеабилноста и др.) и типот на дерматолошкиот препарат. Само растворениот дел на лекот во подлогата дифундира од подлогата во кожата.

Нема генерално правило во однос на брзината на пенетрација на лекот и хидросолубилноста, односно липосолубилноста на лекот.

Во однос на поврзаноста на типот на препаратот и физикохемиските својства, генерално, доколку препаратот е од типот раствор, врз брзината на ослободување доминантно ќе влијаат концентрацијата на лекот, константата на дифузија (вискозитетот на средината) и коефициентот на дистрибуција на лекот помеѓу рожнатиот слој и подлогата. За лековитите форми од типот на суспензии, доминантно е влијанието на големината на честичките, а за формите од типот на емулзии, волуменот и односот на фазите и коефициентот на дистрибуција на лекот помеѓу двете фази [3].

Практична изведба:

Цел на вежбата е да се определат влијанието на факторите на формулацијата врз пермеацијата на лек инкорпориран во различни типови на дерматолошки препарати.

Се подготвува агар подлога како симулатор на кожа, која се користи за следење на дифузијата на лековитата супстанција (борна киселина) од подготвените дерматолошки препарати.

Изработка:

Agar - agar	10,0	
Glycerolum	10,0	
Natrii hydroxydi sol. 0,1 mol/l		10 ml
Phenolphthaleini 1%	8,3 ml	
Aqua purificata ad	1000 ml	

Со подлогата се полнат петриеви шолји (приближно до половина), се пресекува во средината круг со дијаметар 1,5 cm (после оладувањето на подлогата), а потоа се полнат со подготвените дерматолошки препарати, маст со борна киселина и органски хидрогел со борна киселина.

Ung. Acidi borici

Acidum boricum	3,0
Vaselinum album ad	100,0

Органски хидрогел со борна киселина

Acidum boricum	3,0
Propilen glycolum	10,0
Acidum polyacrilicum	1,0
Natrii hydroxidi sol.10%	2,0
Aqua purificata ad	100,0

Во текот на времето се мери дијаметарот на обезбоената површина од подлогата со агар (d) и според формулата се пресметува параметарот “y” според кој може да се оцени брзината на пенетрација/дифузија на лековитата супстанција во подлогата т.е. кожата. Вредноста на “y” се претставува графички наспроти времето.

$$y = \frac{D - d}{2}$$

D - дијаметар на петриевата шолја

d - дијаметар на зоната на обезбојување

Истото се пресметува и за време од 5, 15, 30, 60 минути. Вредностите се прикажуваат графички и се донесува заклучок за брзината на ослободување на лековитата супстанција од подлогата, како и пенетрацијата на истата во симулацијата на кожата.

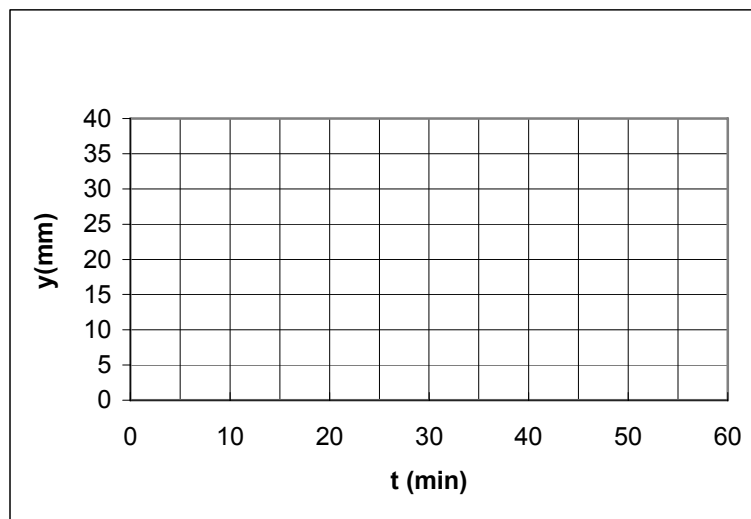
**ВЕЖБА БР. 10 ОДРЕДУВАЊЕ НА ПЕРМЕАБИЛНОСТА НА ЛЕКОТ ОД
ДЕРМАТОЛОШКИ ЛЕКОВИТИ ФОРМИ -
ВЛИЈАНИЕ НА ФАРМАЦЕВТСКО-ТЕХНОЛОШКИТЕ ФАКТОРИ**

Физичко-хемиски особини на лекот и помошните супстанции

Борна киселина	
Вазелин	
Подлога органиски хидрогел	

Подлога Вазелин		
t (min)	D	y

Подлога органиски хидрогел		
t (min)	D	y



Заклучок:

Користена литература:

1. Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics. 5th Ed. L. Shargel, S. Wu-Pong, A. B. C. Yu. Mc-Graw-Hill Companies, 2005.
2. www.boomer.org/c/p3/c25/c2506.html
3. Biofarmacija. Z. Djuric, M. Birmancevic. Naucna knjiga, Beograd, 1990.
4. Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicine. M. E. Aulton. 3rd Ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2007.
5. Understanding Drug Release and Absorption Mechanisms – a physical and mathematical approach. M. Grassi, G. Grassi, R. Lapasin, I. Colombo. CRC Press, Taylor&Francis Group, 2007.
6. Modeling in Pharmaceutics, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. Homogeneous and Heterogeneous Approach. P. Macheras and A. Iliadis, Springer Science+Business Media, 2006.
7. Drug Delivery: Principles and Applications. B. Wang, T. Siahaan, R. Soltero. John Wiley & Sons, 2005.
8. Enhancement in Drug Delivery. E. Touitou, B. W. Barry. CRC Press, Taylor&Francis Group, LLC, 2007.
9. Drug Bioavailability, Estimation of Solubility, Permeability, Absorption and Bioavailability, H. van de Waterbeemd, H. Lennernas, P. Artursson, Wiley-VCH Verlag GmbH & co., 2003.
10. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Biotech Drugs. B. Meibohm. Wiley-VCH Verlag GmbH & co., 2006.
11. Transporters as Targets for Drugs. S. Napier and M. Bingham. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009.
12. Drug Delivery Research Advances. B. O. Mashkevich. Nova Science Publishers, Inc. 2007.
13. Clinical Pharmacokinetics; Concepts and Applications. M. Rowland and T. N. Tozer. Williams and Wilkins, 1995.
14. Physiologic Pharmaceutics: Barriers to Drug Absorption. N. Washington, C. Washington, C. Wilson.
15. Essentials of Human Physiology for Pharmacy. L. Kelly. CRC Press, 2005.
16. Pharmacokinetic Principles of Dosing Adjustment. R. D. Schoenwald. Technomic Publishing Co. Lancaster, 2001.
17. Pharmacokinetics. M. Gibaldi and D. Perrier. 2nd Ed. Informa Healthcare, 2007.
18. Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology. D. L. Wise, Marcel Dekker, Inc., 2000.