

FARMAKOKINETIKAI ÉS METABOLIZMUS VIZSGÁLATOK A PREKLINIKAI ÉS A KLINIKAI GYÓGYSZERFEJLESZTÉSBEN

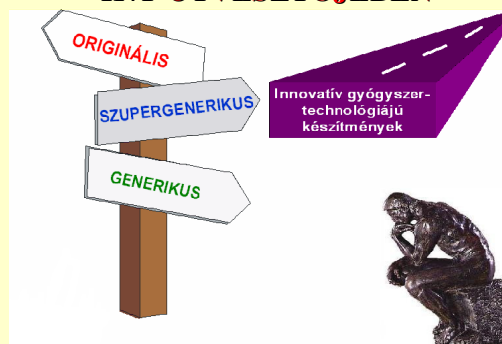


Klebovich Imre
Semmelweis Egyetem
Gyógyszerészeti Intézet

Szeged, 2013. február 26.

"Az SZTE Kutatóegyetemi Kiválósági Központ tudásbázisának kiszélesítése és hosszú távú szakmai fenntarthatóságának megalapozása a kiváló tudományos utánpótlás biztosításával"
TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0012 projekt támogatásával

IRÁNYOK A GYÓGYSZERIPAR "K+F ÚTVESZTŐJÉBEN"



K + F CÉLOK A GYÓGYSZERIPARBAN

I. Új originális gyógyszerek fejlesztése, törzskönyvezése

- Új hatásmechanizmus kutatása
- Mellékhatás csökkentés
- Új terápiás lehetőségek elérése
 - életminőség javítása
 - "népbetegségek" köre
 - gyógyíthatatlan betegségek
 - új gyógyszerformák fejlesztése

K + F CÉLOK A GYÓGYSZERIPARBAN

II. Új generikus hatóanyag tartalmú készítmények törzskönyvezése

- "Klasszikus" generikus készítmények fejlesztése
- "Generikus plussz" ("Added Value"; "Originális farmakokinetikájú") generikus készítmények (retard) fejlesztése
- "Új típusú" gyógyszer technológiai formák fejlesztése

III. Meglévő eljárások korszerűsítése, költségcsökkentése

A BÖLCS ÉLET MOTTÓJA:

„NEMCSAK ÉLNI KELL AZ ÉLETET,
HANEM ÉRDEMESNEK IS KELL LENNI ARRA”

Az Angol Királyi Orvostársaság jelmondata

KORSZERŰ GYÓGYSZERKUTATÁS LOGIKÁJÁNAK ALAPTÉTELE

in-celebro

in-silico

in-vitro

in-vivo

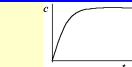
XENOBIOTIKUMOK SZERVEZETBENI NYOMONKÖVETÉSE

ADME
LADME
LADME(R)
ADME_{Tox}

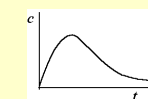
Liberation

Gyógyszer-technológia

Absorption



Distribution



Metabolism

Elimination

Farmakokinetika (PK)

Hatás



A **LADME-modell** segít megérteni a gyógyszer-technológia szerepét a hatás időtartamában és a tolerálhatóságban (megjelenő mellékhatások), mindezt a **bioanalitika** segítségével.

Innováció: K+F

Originális hatóanyagot tartalmazó készítmény:



≈ 12-14 év és 2,3 milliárd USD

Felfedezés → Preklinika → Klinika → Törzskönyv → Marketing

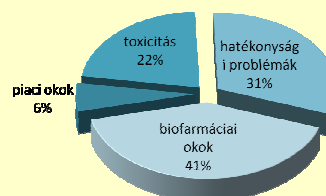
Generikus (lejárt szabadalmú hatóanyagot tartalmazó) készítmény



BE → Törzskönyv → Marketing

≈ 3-5 év és néhány millió USD

Originális hatóanyagok kutatása



Lipinsky 2002-ben tett megállapítása szerint a gyógyszerkutatás súlyos problémája ma az, hogy

a modern hatóanyagok 30-40%-a gyenge vízoldékonysággal, rossz biohasznosíthatósággal rendelkezik.

(Lipinsky C.: Aqueous solubility – an industrial wide problem in drug discovery, Am. Pharm. Rev. 6: 82-85, 2002).

ORIGINÁLIS GYÓGYSZERKUTATÁS
(K + F RÉSZEKÉNT)

PREKLINIKAI
GYÓGYSZERVIZSGÁLAT

PREKLINIKAI FARMAKOKINETIKAI ÉS METABOLIZMUS-VIZSGÁLATOK

FARMAKOKINETIKAI VIZSGÁLATOK:

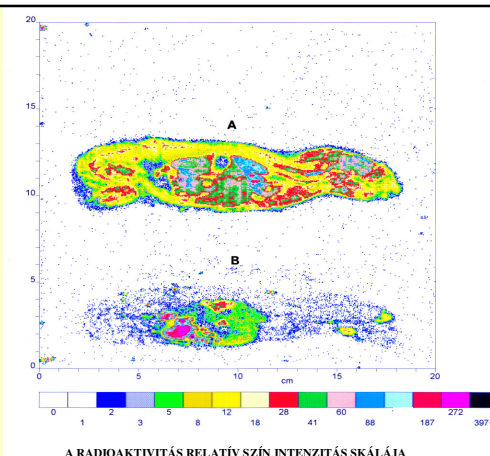
I. Általános farmakokinetikai vizsgálatok

- Bioanalitikai módszer kidolgozás, validálás
 - rágszáló
 - kutya
- Részletes farmakokinetikai vizsgálatok
 - rágszáló: patkány, egér, nyúl
 - kutya
 - (egyéb specíesek: mikrosertés, majom)

- Farmakokinetikai linearitás vizsgálat
- Biológiai hasznosíthatósági vizsgálat
patkány, kutya -iv. (s.c)
-p.o.
- Ismételt adagolási (steady state) kinetikai vizsgálat
-rágszáló
-kutya
- Farmakokinetikai vizsgálatok radioaktív jelzett vegyülettel
- Toxikokinetikai vizsgálat (kumuláció-vizsgálat)
- Metabolit kinetikai vizsgálat

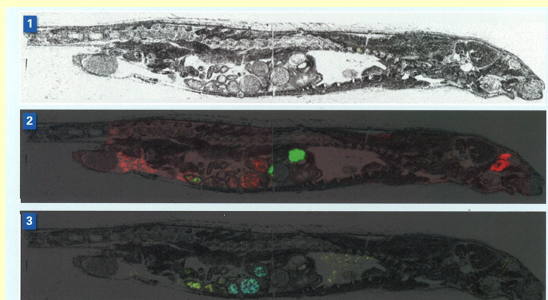
II. Felszívódási, megoszlási vizsgálatok

- Felszívódási (szegmens) vizsgálat (gyomor, vékonybél)
- Enterohepatikus recirkuláció vizsgálat
- Kvantitatív szervmegoszlás vizsgálat
- Agyrégiók vizsgálat
- Teljes test autoradiográfiás vizsgálatok

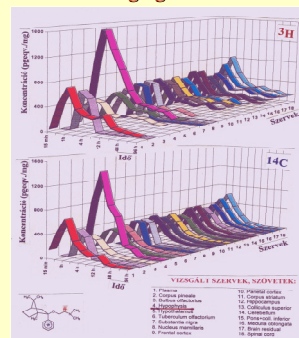


Gyógyszermetabolizmus nyomonkövetése patkány szeleten MALDI Imaging módszerrel

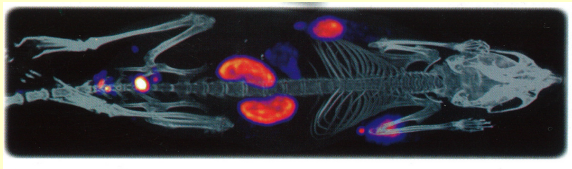
1. Optikai image
2. Zöld anyavegyület, piros metabolit I.
3. Kék metabolit II., sárga metabolit III.



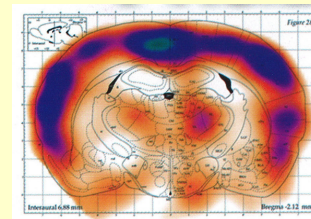
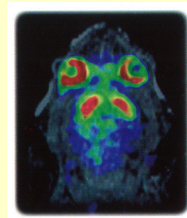
³H- ÉS ¹⁴C-DERAMCICLANE FARMAKOKINETIKAI ÉS SZERVMEGOSZLÁSI VIZSGÁLATA PATKÁNY AGYBAN EGYSZERI 3 mg/kg P.O. ADÁS UTÁN



KIS ÁLLAT PET VIZSGÁLAT



KIS ÁLLAT PET VIZSGÁLAT in-vivo vizsgálat



III. Fehérjekötődési vizsgálatok

- Plazmafehérje (albumin, α 1-AGP, globulin) kötődés vizsgálata (ekvilibrium dialízis vizsgálat)
- Vér alakos elemeihez való kötődés vizsgálata (LSC)

IV. Kvantitatív anyagmérleg vizsgálatok (LSC) (patkány, kutya)

- vizelet
- széklet
- epe
- kilélegzett levegő (patkány)

SPECIÁLIS VIZSGÁLATOK:

- Vér-agy gáton való átjutás (CNS vegyületek)
- Magzati expozíció vizsgálat
- Anyatejbe való bejutás vizsgálata
- Oktanol: víz megoszlási hányados vizsgálata
- Metabolit-szerkezet-hatás vizsgálat

METABOLIZMUS VIZSGÁLATOK:

I. In-silico becslések

2D;- 3D;- 4D-QSAR

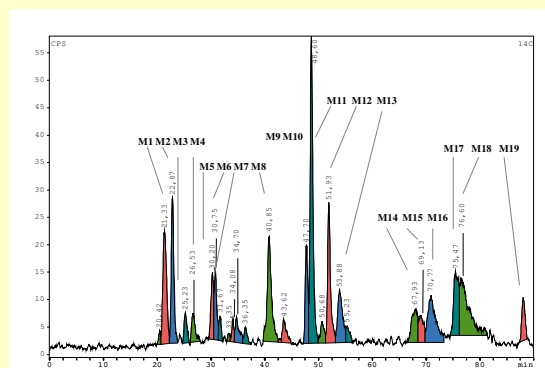
I. In-vitro pilot vizsgálatok (patkány, kutya, (egér, nyúl))

- Máj mikroszóma vizsgálat
- Máj sejtenyészet vizsgálat
- Cytochrom P-450 indukciós vizsgálatok
- Kiegészítő humán máj mikroszóma, sejtenyészet vizsgálat

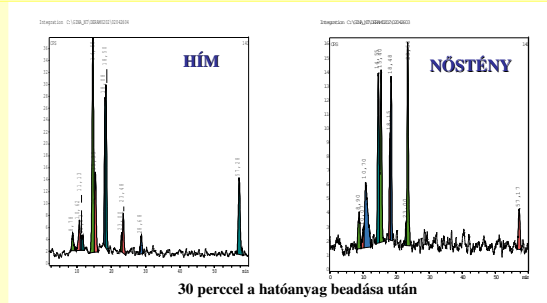
III. In-vivo metabolizmus vizsgálat

- Tétéles metabolizmus vizsgálat: patkány, kutya
 - Kvalitatív
 - kvantitatív

¹⁴C-JELZETT DERAMCICLANE METABOLIT PROFILJA KUTYA PLAZMÁBAN (RP-HPLC-RD)



**¹⁴C-JELZETT GYÓGYSZERJELÖLT ON-LINE HPLC-RD
METABOLIT PROFILJÁNAK ÖSSZEHAJONLÍTÁSA
EGÉR PLAZMÁBAN**



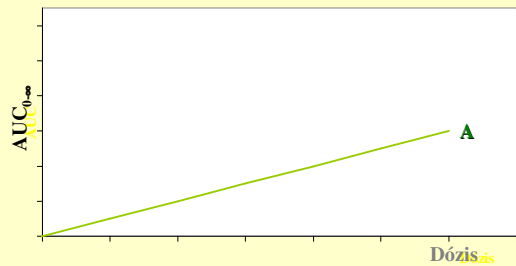
**KLINIKAI
GYÓGYSZERVIZSGÁLAT
(K + F RÉSZEKÉNT)**

**HUMÁN FARMAKOKINETIKAI VIZSGÁLATOK
AZ ORIGINÁLIS KUTATÁSBAN**

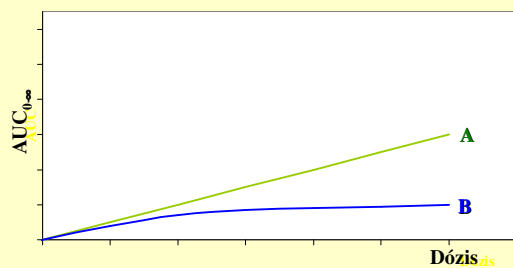
**I. Részletes farmakokinetikai vizsgálatok
egészséges önkénteseken**

- bioanalitikai módszer kidolgozás, validálás
- egyszeri adás
- dózis eszkaláció
- linearitás vizsgálat

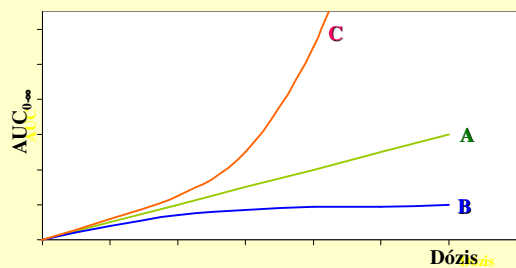
**FARMAKOKINETIKAI LINEARITÁS
VIZSGÁLAT JELENTŐSÉGE**



**FARMAKOKINETIKAI LINEARITÁS
VIZSGÁLAT JELENTŐSÉGE**



**FARMAKOKINETIKAI LINEARITÁS
VIZSGÁLAT JELENTŐSÉGE**



HUMÁN FARMAKOKINETIKAI VIZSGÁLATOK AZ ORIGINÁLIS KUTATÁSBAN

II. Ismételt adagolás vizsgálata

egészséges önkénteseken

- egyensúlyi vérszint
- kumuláció

III. Abszolút biológiai hasznosíthatóság vizsgálata p.o. / iv. adás után

IV. Farmakokinetikai vizsgálat betegeken

- PK/PD vizsgálatok
- Terápiás dózis
 - egészséges önkéntes/beteg egyénen

V. Farmakokinetikai és metabolizmus vizsgálatok radioaktív jelzett vegyülettel

Farmakokinetikai vizsgálat:

- plazma
- vizelet
- széklet
- fehérjekötődés / vér alakos elemeihez való kötődés

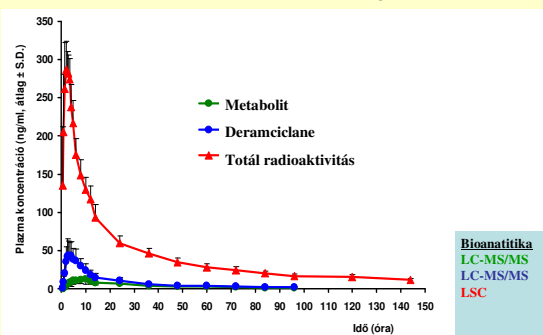
Részletes *in vivo* humán metabolizmus vizsgálat:

- plazma
- vizelet
- széklet

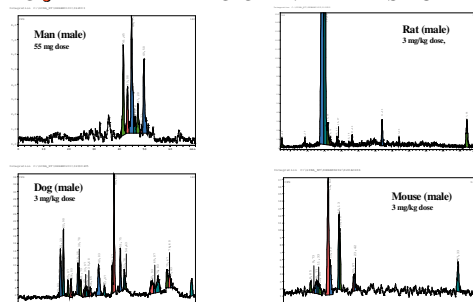
VI. Metabolit kinetika (aktív metabolitok)

- bioanalitikai módszerkidolgozás fő metabolit(ok)ra
 - plazma
 - vizelet
- farmakológiai aktív metabolitok PK(PD) vizsgálata

¹⁴C-DERAMCICLANE HUMÁN FARMOKOKINETIKÁJA



METABOLIT PROFILOK ÖSSZEHASONLÍTÁSA HPLC-RD MÓDSZERREL KÜLÖNBÖZŐ SPECIESEKEN ¹⁴C-JELZETT DERAMCICLANE BEADÁSA UTÁN



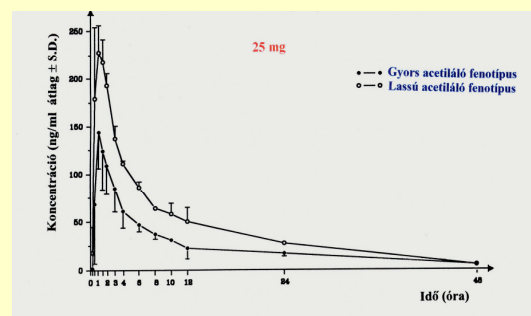
VII. Vegyes vizsgálatok

- inter-, intra - individuális különbségek vizsgálata
- metabolikus aktivitás és farmakogenetikai polimorfizmus vizsgálata
 - CYP 2D6
 - 3A4
 - 2A6
 - 2C9
 - 2C19
 - 1A2
- NAT
- nyál kinetika
- enterohepatikus/intraszivaris recirkuláció vizsgálata

VIII. Multicentrikus vizsgálatok

- vérszint mérések
- populációs farmakokinetikai vizsgálatok

NERISOPAM HUMÁN POLIMORFIZMUSA GYORS ÉS LASSÚ ACETILÁLÓ FENOTÍPUS ESETÉN (n=6)

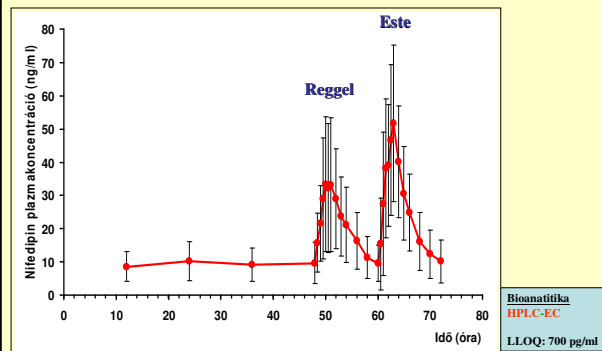


IX. Farmakokinetikai vizsgálatok máj és vese betegeken

X. Farmakokinetikai vizsgálatok egészséges önkénteseken

- korfüggőségi vizsgálat
 - 18 - 40 év
 - 41 - 65 év
 - 65 - év
- gender vizsgálat
- napszaki ingadozás vizsgálat

NIFEDIPIN 20 MG RETARD KÉSZÍTMÉNY HUMÁN KRONOFARMAKOKINETIKAI VIZSGÁLATA



XI. INTERAKCIÓS FARMAKOKINETIKAI VIZSGÁLATOK

a./ Farmakokinetikai interakciók vizsgálata

- gyógyszer - gyógyszer interakciók
- farmakokinetikai potenciozás

b./ Ételinterakciós vizsgálatok

- hatóanyag
- gyógyszer technológiák
- fizikokémiai paraméterek
- retard készítmények

c./ Speciális interakciós vizsgálatok

- dohányzás
- alkohol
- drog
- gyomorsav szekréció gátlók/serkentők

Étel – Interakció

Bisfosfonátok nagy affinitással kötődhetnek kelát képzésen keresztül az étel kationjaihoz (Ca^{2+} , Fe^{2+})

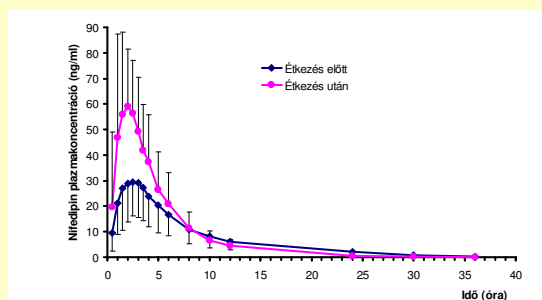
Biológiai hasznosíthatóság (%):

Clodronat ↓ 31 % (0,5 órával az étkezés előtt)

Clodronat ↓ 90 % (étkezéssel)

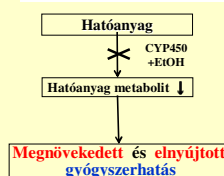
Clodronat ↓ 66 % (2 órával az étkezés után)

NIFEDIPIN 20 MG RETARD TABLETTA FARMAKOKINETIKAI PROFILJÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA HUMÁN ÉTELINTERAKCIÓS VIZSGÁLATBAN

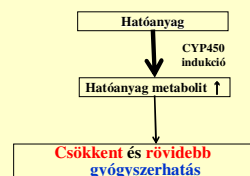


AKUT ÉS KRÓNIKUS ALKOHOLFOGYASZTÁS HATÁSA A CITOKRÓM P450 ENZIMEKRE ÉS A HATÓANYAG HATÁSÁRA

Akut alkoholfogyasztás

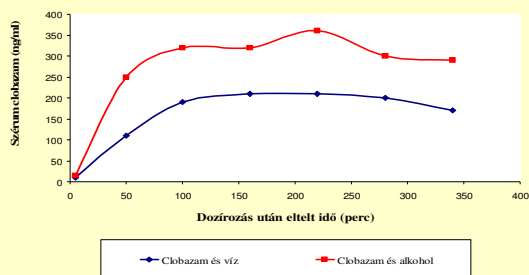


Krónikus alkoholfogyasztás



SZÉRUM CLOBAZAM FARMAKOKINETIKAI GÖRBÉI

Gyógyszer – alkohol interakció



Taeuber K, Badian M, Bretzel HF, Royen TH, Rupp W, Sittig W, Uihlein M, (1979)
Kinetic and dynamic interaction of clobazam and alcohol, British Journal of Clinical Pharmacology, 7: 91S-97S

GYÓGYSZER-DOHÁNYZÁS FARMOKINETIKAI INTERAKCIÓK

Hatóanyag	Metabolikus út	Megnövekedett clearance (%)	Csökkent AUC (%)
Koffein	1A2	60-70	
Teofilin	1A2, 3A4	60-100	10-szeres
Propranolol	2D6, 2C19, glukuronidáció	77	10-szeres
Tacrin	1A2		10-szeres
Klórpromazine	2D6		36
Klozapin	1A2, 2C19, 3A4		50
Haloperidol	2D6, 3A4	44	
Mexiletin	1A2, 2D6	25	
Olanzapin	1A2, 2C19, 2D6	98	

Forrás: Smoking and Drug Interactions. UKML, 2007

XII. Gyermekgyógyászati alkalmazás esetén

- speciális farmakokinetikai vizsgálatok
 - újszülöttek (0-1 év)
 - gyermekek (1-6 év, 7-16 év)
- beteg gyermekek

XIII. Különböző gyógyszerformák farmakokinetikai vizsgálata

- különböző készítmények (pl. tabletta, kúp, tapasz, spray)
 - gyógyszer technológia (különböző segédanyagok)
 - hatáserősség
- retard készítmények (ételinterakció, ismételt adagolás)

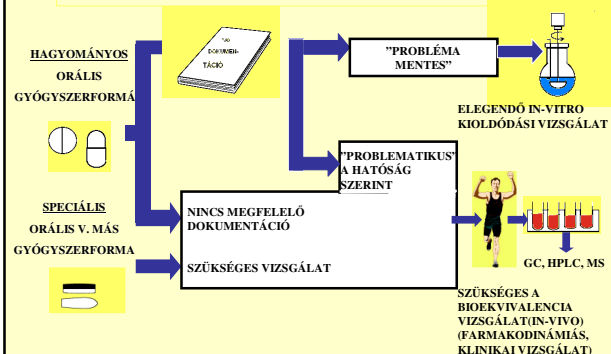
TÖRZSKÖNYVEZÉS UTÁN VÉGEZENDŐ VIZSGÁLATOK

- Új indikációban farmakokinetikai vizsgálat
- Új gyógyszer technológiai formák farmakokinetikai vizsgálata (pl. retard készítmények)
- "Generikus plusz" készítmények

Retard, R, MR, ER, XL, ZOK, OROS, GITS.... miért???

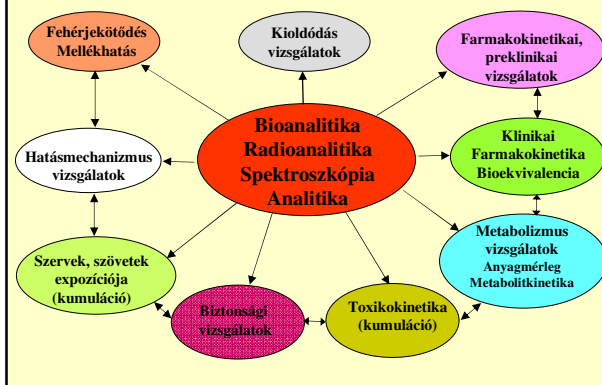


BIOEKVIVALENCIA VIZSGÁLATOK SZÜKSÉGESSÉNEK DÖNTÉSI SÉMÁJA



ÖSSZEFOGLALÁS

BIOANALITIKAI MÓDSZEREK ÉS A GYÓGYSZERKUTATÁS KAPCSOLATA



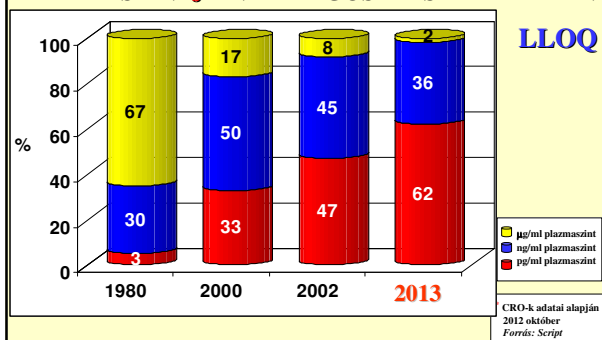
BIOANALITIKAI TECHNIKÁK ÉS DETEKTÁLÁSI MÓDOK

Farmakokinetika, metabolitkinetika, toxikokinetika
2013

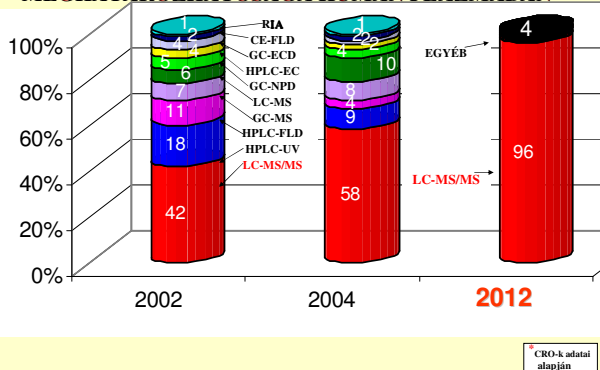
Elválasztástechnikai módszerek:

- **GC** FID, NPD, ECD, RD, **MS, MS/MS (+/- EI, +/- CI, ESI)**
- **HPLC** UV, DAD, FLD, EC, RD, **MS, MS/MS (ESI, APCI, APPI)**
- **CE** UV, DAD, FLD, **MS**
- **CEC** DAD, FLD
- **OPLC** DAD, FLD, DAR/Autoradiográfia, Foszfor Imaging, **MS**

A VILÁGON TÖRZSKÖNYVEZETT LEGJELENTŐSEBB 50 GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNY PLAZMASZINTJEINEK MEGOSZTLÁSA EMBERBEN*



A VILÁGON TÖRZSKÖNYVEZETT LEGJELENTŐSEBB 500 GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNY MEGHATÁROZHATÓSÁGA HUMÁN PLAZMÁBAN*



BIOANALITIKAI VIZSGÁLATOK CÉLJA A FARMAKOKINETIKA ÉS METABOLIZMUS KUTATÁSBAN (jel/zaj viszony szerepe)

- **Érzékenységi kritérium:** Extrém nagy érzékenység: at/ml , fg/ml , pg/ml , ng/ml mérhetősége
- **Anyavegyület(ek) és metabolit(ok) egymás melletti mérhetősége:**
 - Eltérő kémiai szerkezet és molekula tömeg
 - Különböző polaritású komponensek egymás melletti szelektív mérhetősége
 - Különböző koncentráció tartományú vegyületek egymás melletti szelektív mérhetősége (anyavegyület + metabolit(ok))
- **Speciális dózis és biológiai mátrix függő módszerek:**
 - Humán, patkány, egér, nyúl, kutya, törpesertés, majom, stb.
 - Plazma, szérum, vizelet, széklet, nyál, anyatej, epe, szövet, mikroszóma, hepatocita, stb.

**BIOANALITIKAI MÓDSZEREK ÁLTAL KAPOTT
FARMAKOKINETIKAI ÉS METABOLIZMUS
INFORMÁCIÓK, AMELYEK HOZZÁJÁRULNAK A
TÖRZSKÖNYVEZÉSHEZ**

- Gyógyszer sorsának kvalitatív és kvantitatív nyomon követése a szervezetben (ADME, ADME_{TOX})
- Dózis - hatás kapcsolat
- Dózis kiválasztás
- Inter- és intra- individuális különbség
- Gyógyszeres interakciók
- Mellékhatások
- Farmakológiai aktív metabolitok
- Metabolitok sztereoizomériája

**A TÖRZSKÖNYVEZÉS UTÁN KIVONT
KÉSZÍTMÉNYEK
(mellékhatás figyelés alapján)
(1990 - 2000)**

Nemzetközi szabad regisztrált név	Regisztrált név	Visszavonás oka	Forgalomba hozatal (éve)	Visszavonás (év)
Brómfenac	(Durcat [®])	súlyos hepatotoxicitás	1997	1998
encainid	(Enkaid [®])	jelentős mortalitás	1987	1991
temafloxacin	(Omniflox [®])	hemolitikus anémia	1992	1992
mibefradil	(Posicol [®])	többszörös interakciók	1997	1998
tolcapon	(Tasmar [®])	súlyos hepatotoxicitás	1997	1998
grepafloxacin	(Roxar [®])	súlyos kardiotoxicitás	1998	1998
troglitazon	(Rezulin [®])	súlyos hepatotoxicitás	1999	2000



**”MINÉL NAGYOBB A TUDÁS SZIGETE,
ANNÁL HOSSZABB
AZ ISMERETLEN
PART HOSSZA.”**

Ralph W. Sockman
(1889-1970)



**KÖSZÖNÖM MEGTISZTELŐ
FIGYELMÜKET!**