



Dynamisk model for fordøjelse af lipidbaserede lægemidler i tarmen

Fatouros, Dimitri; Larsen, Anne; Pedersen, Betty Lomstein; Jacobsen, Jette; Müllertz, Anette

Published in:
Lægemedelforskning

Publication date:
2007

Document version
Også kaldet Forlagets PDF

Citation for published version (APA):
Fatouros, D., Larsen, A., Pedersen, B. L., Jacobsen, J., & Müllertz, A. (2007). Dynamisk model for fordøjelse af lipidbaserede lægemidler i tarmen. *Lægemedelforskning*, 20-21.

Dynamisk laboratoriemodel for lipolysen under fedtfordøjelsen i tarmene: Modellen omfatter et termostatstyret reaktionskammer, en computerkontrolleret pH-stat med en automatiseret burette for tilsætning af NaOH samt en pumpe for kontinuert, kontrolleret tilsætning af CaCl₂. Alle forsøg udføres under omrøring.



Dynamisk model for fordøjelse af lipidbaserede lægemidler i tarmen

Lægemiddelstoffer skal opløses i tarmvæsken, før de kan transporteres over tarmvæggen og komme ud i blodet, men mange lægemiddelstoffer er tungtopløselige i vand. En mulig løsning er lipidbaserede formuleringer. En ny model efterligner fordøjelsen af lipidbaserede lægemidler i mave-tarmkanalen.

Af Dimitri Fatouros, Anne Larsen, Betty Lomstein Pedersen, Jette Jacobsen og Anette Müllertz

At indtage medicin via munden i form af tabletter eller kapsler er velkendt og bekvemt. Mange nyopdagede lægemiddelstoffer er imidlertid tungtopløselige i vand, så her er traditionelle tabletter problematiske. Et stof skal nemlig være i opløsning, før det kan blive transporteret over tarmvæggen og komme ud i blodet.

Forskellige avancerede formuleringssystemer kan øge opløseligheden af lægemiddelstoffer i tarmvæsken og derved forbedre absorptionen af stofferne til blodet. Et princip, der nyder stigende popularitet, er lipidbaserede formuleringer af typen selvemulgerende drug delivery-systemer (SEDDS). Disse formuleringer holder lægemiddelstoffet opløst i mavetarmsaftene, hvorved man undgår opløsningstrinnet, som ofte er det hastighedsbegrænsende trin i optagelsen.

SEDDS formuleres som et prækoncentrat bestående af en olie, et overfladeaktivt stof og et co-solvent. Prækoncentratet, som indeholder lægemiddelstoffet, kan doseres i en kapsel. Når der tilsættes væske til prækoncentratet, vil der ved let omrøring spontant dannes en emulsion. Hvis der dannes en mikroemulsion, vil væsken være klar og let grålig eller blålig, og hvis der dannes større emulsionsdråber, vil væsken blive mælket. I en mikroemulsion er emulsionsdråberne ofte i nanostørrelse, hvorfor betegnelsen nanoemulsion egentlig er mere korrekt.

Når man skal udvikle en ny oral formulering for et givent lægemiddelstof, er det en fordel at have en testmetode i laboratoriet, som kan efterligne forholdene i menneskets tarm. Ved udvikling af tabletter anvender man typisk en udløsningstest, der måler, hvor hurtigt et lægemiddelstof frigives fra en formulering og går i opløsning. Denne test kan

ikke anvendes for lipidbaserede formuleringer, fordi lægemiddelstoffet allerede er i opløsning fra starten.

Derfor har vi udviklet en lipolysemodel, der efterligner fedtfordøjelsen i tarmsystemet og dermed simulerer fordøjelsen af SEDDS i tarmen. Under fedtfordøjelsen dannes der forskellige faser; en lipid fase, en fast fase og en vandig fase. Vandfasen indeholder kolloide strukturer som vesikler og miceller. Det er interessant at undersøge, hvilke faser lægemiddelstoffet fordeles til under lipolysen. Til det formål kan man anvende biofysiske karakteriseringsmetoder for at få et overblik over, hvilke egenskaber de dannede faser fra forskellige formuleringer har.

Model for fedtfordøjelsen

Fedtfordøjelsen i mave-tarm-kanalen er en dynamisk proces. Fedtstoffer fordøjes af lipaseenzymer, hvilket medfører, at der dannes multilaminare flydende krystallinske faser – bestående af lipolyseprodukter som fedtsyrer og monoglycerider – på overfladen af fedtdråberne. Under tilstedeværelsen af overfladeaktive galdesalte afsnøres faserne derpå til multilamellære vesikler og derefter til miceller.

For at undersøge, hvilken skæbne nanoemulsioner med lægemiddelstoffer får i mave-tarm-kanalen, har vi udviklet en lipolysemodel til at bruge i forbindelse med udvikling af lipidbaserede lægemiddelformuleringer. Lipolysemodellen er en pH-stat-model, hvor pH under lipolysen holdes konstant på 6.5 svarende til forholdene i øvre del af tarmkanalen. I reaktionskammeret blandes buffer, galdesalte, fosfolipider samt en lipidbaseret formulering, hvorpå pH justeres til det ønskede niveau.

Lipolysen startes ved tilsætning af et enzymekstrakt, som indeholder lipase fra bugspytkirtlen. Samtidigt startes pH-stat'en, som holder pH-konstant på 6.5 ved tilsætning af natriumhydroxid (NaOH). Lipasen spalter triglyceriderne i den lipidbaserede formulering til frie fedtsyrer og monoglycerider. De frie fedtsyrer sænker pH og udløser derved en proportional mængde af NaOH fra titratoren.

For yderligere at kontrollere lipolysen tilsættes calciumklorid (CaCl₂) kontinuert under hele forløbet. Calcium er en nødvendighed for aktiviteten af lipasen, og desuden binder cal-

cium frie fedtsyrer, der ellers kan forhindre lipasen i at binde sig til fedtdråberne. Hastigheden af lipolysen kan styres ved at ændre calciumtilsætningen. Der kan løbende tages prøver ud fra modellen. Prøverne tilsættes lipaseinhibitor for at stoppe lipolysen og kan oprensnes ved hjælp af ultracentrifugering.

Ultracentrifugeringen medfører adskillelse i tre fraktioner: Bundfald, der primært består af calciumsæber af fedtsyrer og udfældet lægemiddelstof; en midterfraktion, der består af miceller og vesikler, og en øvre fraktion, der består af ikke-hydrolyserede fedtstoffer. Den generelle opfattelse er, at jo højere koncentration af lægemiddelstof man kan opnå i midterfraktionen med miceller og vesikler, jo mere lægemiddelstof vil der være tilgængeligt for optagelse i tarmen.

Fordøjelse af lipidbaserede formuleringer

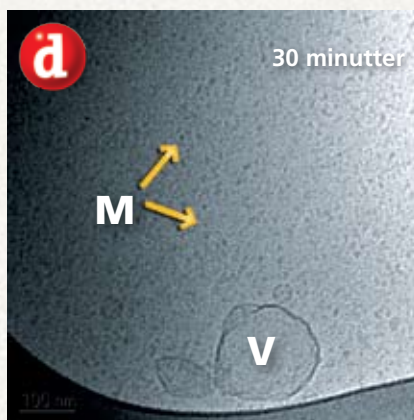
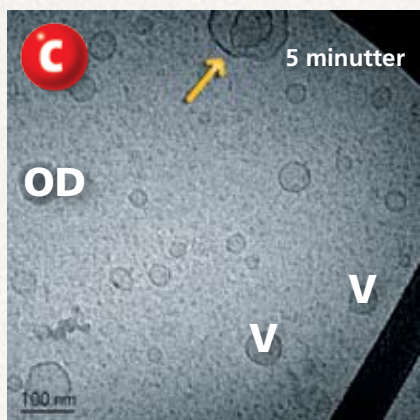
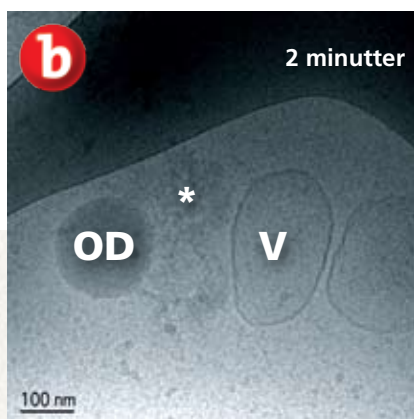
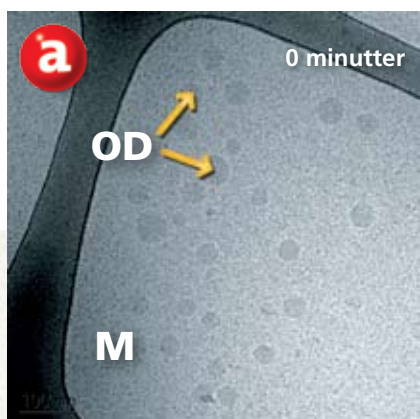
Indtil videre findes der ikke særlig mange publicerede forsøg, der undersøger lipolysen af lipidbaserede formuleringer og anvender den som en udviklingsparameter, hvilket primært skyldes, at modellen endnu ikke er særligt udbredt. Det er imidlertid vist, at modellen er effektiv i undersøgelser af, hvordan lægemiddelstoffer opløses, og hvilke kolloide faser der dannes.

For nylig har vi publiceret undersøgelser af morfologiske og strukturelle ændringer, der sker under fordøjelse af SEDDS som danner nanoemulsioner under forhold, som efterligner tarmsystemet under faste. Ved forsøgene blev prøver udtat

get på forskellige tidspunkter under lipolysen og nedfrosset til meget lave temperaturer. Derpå anvendtes Cryogen Transmissions-Elektron-Mikroskopi (Cryo-TEM), der gør det muligt at se meget små strukturer i væsker – helt ned til 20 nanometer.

Forsøgene viste, at der er miceller tilstede under hele lipolyseprocessen. Oliedråber fra formuleringen omformes til runde eller aflange unilamellare vesikler, efterhånden som lipolysen skrider frem. Et lille antal bilamellare vesikler kan også ses. Efter 50 procent lipolyse ses et fald i antallet af vesikler og oliedråber, og der er primært miceller tilstede. Dette studie viser, hvilke strukturer der dannes ved lipolyse af et selvemulgerende drug delivery-system. Dannelsen af de forskellige strukturer vil have betydning for, hvor meget lægemiddelstof der kan opløses og være tilgængeligt for absorption. Denne slags studier er vigtige for at opnå en større forståelse for, hvordan optimale lipidbaserede formuleringer kan fremstilles, blandt andet hvordan sammensætningen af formuleringen kan have indflydelse på, hvilke strukturer der dannes ved lipolysen

Med det stigende antal tungtopløselige lægemiddelstoffer, som udvikles i den farmaceutiske industri, stiger anvendelsespotentialer for lipidbaserede formuleringer. Derfor øges behovet for udvikling af laboriemodeller, som kan efterligne forholdene i mave-tarm-kanalen, og som derved kan anvendes som et værktøj i forbindelse med en strategisk udvikling af lipidbaserede lægemidler.



Cryo-TEM mikroskopibilleder: Simuleret fedtfordøjelse under faste af et selvemulgerende drug delivery system – en nanoemulsion indeholdende lægemiddelstof. **a** Oliedråber (OD) i forskellige størrelser (se pile) og miceller (M) før starten af forsøget. **b** Lipolyseprodukter 2 minutter efter tilsætning af lipase. Her ses store, aflange unilamellare vesikler (V) og oliedråber. **c** Lipolyseprodukter 5 minutter efter tilsætning af lipase. De dominerende produkter er unilamellare, kuglerunde vesikler samt en bilamellar vesikel (se pil). **d** Lipolyseprodukter 30 minutter efter tilsætning af lipase. Der er kun få unilamellare vesikler tilbage i mediet; de fleste er blevet omdannet til miceller (se pile).



Ph.d. Dimitrios Fatouros er tidligere postdoc ved Institut for Farmaci og Analytisk Kemi. Han er nu senior lecturer ved University of Portsmouth, England.



Cand.pharm. Anne Larsen er ph.d.-studerende ved Institut for Farmaci og Analytisk Kemi.



Ph.d. Betty Lomstein Pedersen er adjunkt ved Institut for Farmaci og Analytisk Kemi.



Ph.d. Jette Jacobsen er lektor ved Institut for Farmaci og Analytisk Kemi.



Ph.d. Anette Müllertz er lektor ved Institut for Farmaci og Analytisk Kemi.