



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

Dipartimento di Ingegneria Industriale

Corso di dottorato in “Scienza e Tecnologie
per l’Industria Chimica, Farmaceutica e Alimentare” Ingegneria Chimica (XI Ciclo-Nuova Serie)

In silico and in vitro models in pharmacokinetic studies

ABSTRACT

Supervisors

Prof. Giuseppe Titomanlio

Prof. Gaetano Lamberti

Scientific Referees

Prof. Werner Weitschies

Prof. Iztok Grabnar

Ph.D. Course Coordinator

Prof. Paolo Ciambelli

Ph.D. student

Sara Cascone

Anno Accademico 2012/2013



One of the aims of the thesis was to design and realize an *in vitro* device able to reproduce the gastrointestinal behavior.

To reproduce the temperature and pH history an USP apparatus II coupled with a control system was used. The temperature was kept constant using the USP apparatus, a pH probe was inserted in the dissolution medium to measure the pH. The measured pH was compared (by a software) with a set point. Proportionally at the mean error, a quantity of an acidic or basic solution was inserted, by pumps, in the dissolution medium adjusting the pH at the desired value. Using the real pH history of the gastrointestinal tract, which provide a decrease in the pH value from 4.8 to about 2.0 during the first two hours of dissolution, and then an increase to 6.8, the release pattern from tablets was evaluated. The release patterns of these tablets obtained with the new device were compared with those obtained using the conventional method (which provides a pH 1 during the first two hours of dissolution, and then the neutralization at pH 6.8) and it was found that the drug released during the first two hours was higher in the case in which the real pH history was reproduced. This is due to the fact that the higher pH in the first stage damages the coating of the tablet.

Once the chemical and thermal conditions were reproduced, the reproduction of the transport across the intestinal membrane was faced. An high throughput device which is able to reproduce continuously the exchange between the compartments has been necessary. The USP apparatus was equipped with a device composed by an hollow filter (which simulate the intestinal wall) and two pumps for the fluids simulating the intestinal content and the circulatory system surrounding the gastrointestinal tract content. The fluids enter in contact in the filter and the fluid rich in drug content (that simulates the intestinal content) gives the drug to the fluid poor in drug (simulating the blood content). The release patterns obtained by the use of this device were studied and compared with those obtained following the conventional dissolution method. Moreover these release patterns obtained using the real pH evolution were coupled with the effect of mass exchange and compared with those obtained using the conventional methods. The results showed that the effect of the real history of pH is higher in the first stage of dissolution, than the effect of the mass exchange is dominant.

The reproduction of the mechanical history of the stomach is than faced. The peristaltic waves were reproduced using a lattice bag (elastic and compressible) connected to a camshaft which, with its rotation ensured the contraction of the bag. The bag was shrunk by connectors and the right position was ensured by guides. Changing the rotation speed of the shaft, the frequency of the contractions could be adjusted. The release pattern of a commercial tablet in the new device was evaluated and compared with the conventional one. The results showed that the non-perfect mixing of the stomach was satisfactory reproduced and this lead to a release pattern completely different. Moreover, the effect of the frequency of the contractions on the release pattern was evaluated.

Second, but not secondary, aim of the thesis was to develop an *in silico* model (physiologically based) which is able to simulate the plasma concentration of drugs.

The model is composed by seven compartments, which simulate the human organ, tissue, or a group of them. The compartments are interconnected between them and seven differential equations (with their initial conditions) describe their behavior. Once the parameter are obtained (by fitting or in literature), using an *in vitro* release pattern, the model is able to simulate the concentrations in all the compartments, including the plasma compartment.

The plasma concentration are simulated both in the case in which the new release pattern (with the real pH history) is used as input, and the case in which the conventional one is used. The results show that in the real case the plasma concentration is very different both in value and in shape than the expected.

The model then was used to simulate the fate of several molecules simultaneously in the human body (i.e. if a racemic mixture is administered or if the drug is metabolized to another molecule). The system of differential equations is expanded to describe the fate of each molecule. Then, the physiological parameters, such as gender and age, were integrated in the model; in this way, the dependence of the model parameter on the physiological parameter was evaluated.

Finally, the gastrointestinal concentration simulated with the *in silico* model was successfully compared with the drug concentration measured with the *in vitro* model. It could be concluded that the combined approach which uses the *in vitro* and the *in silico* models is a powerful tool in the pharmacokinetic studies.

Uno degli obiettivi di questa tesi è stato quello di progettare e realizzare un dispositivo *in vitro* in grado di riprodurre il comportamento del tratto gastrointestinale.

Per riprodurre le storie di pH e temperatura è stato utilizzato un dispositivo USP II accoppiato con un sistema di controllo. La temperatura è stata mantenuta costante utilizzando il dispositivo USP, nel mezzo di dissoluzione è stata poi inserita una sonda per misurarne il pH. Il valore di pH misurato (attraverso un software) è stato comparato con il set point. Proporzionalmente all'errore medio, una quantità di soluzione acida o basica è stata inserita, attraverso delle pompe, nel mezzo di dissoluzione al fine di aggiustare il pH sino al valore desiderato. Utilizzando la reale storia di pH nel tratto gastrointestinale, che prevede una diminuzione del pH a partire dal valore di 4.8 sino a circa 2.0 durante le prime due ore di dissoluzione, e quindi una crescita sino a 6.8, il rilascio di principio attivo da compresse è stato valutato. I profili di rilascio ottenuti attraverso questo nuovo dispositivo sono stati confrontati con quelli ottenuti attraverso il metodo convenzionale (che prevede che il pH sia pari ad 1 durante le prime due ore di dissoluzione, e quindi sia neutralizzato sino al valore di 6.8) e si è trovato che la quantità di farmaco rilasciata durante le prime due ore è più alta nel caso in cui la reale storia di pH viene riprodotta. Tale comportamento è dovuto al fatto che il pH più elevato nella prima fase di dissoluzione danneggia il coating delle compresse.

Una volta che le condizioni chimiche e termiche sono state riprodotte, è stato affrontato il problema della riproduzione del trasporto di materia attraverso la parete intestinale. È stato necessario utilizzare un dispositivo per alte prestazioni in grado di riprodurre continuamente lo scambio attraverso due compartimenti. Il dispositivo USP è stato equipaggiato con un filtro a fibre cave (utilizzato per simulare la parete intestinale) e due pompe per la circolazione dei fluidi che simulino il contenuto intestinale e il sistema circolatorio adiacente al tratto gastrointestinale. I fluidi entrano in contatto tra loro all'interno del filtro ed il fluido ricco in contenuto di farmaco (che simula il contenuto intestinale) cede il farmaco al fluido povero di farmaco (che simula il sangue). I profili di rilascio ottenuti attraverso l'utilizzo di questo dispositivo sono stati studiati e comparati con quelli ottenuti attraverso metodi convenzionali. Inoltre, i profili di rilascio tenendo conto sia della variazione di pH che dello scambio di materia sono stati valutati e comparati con quelli convenzionali. I risultati mostrano che durante le prime due ore di dissoluzione l'effetto della reale storia di pH è dominante, dopo l'effetto dello scambio di materia è più significativo.

In seguito, si è affrontato il problema della riproduzione della storia meccanica. Le contrazioni peristaltiche sono state riprodotte utilizzando una sacca in lattice (elastica e comprimibile) connessa ad un albero rotante il quale, con la sua rotazione, assicura la contrazione della sacca. La sacca (stomaco artificiale) infatti viene contratta da delle cinghie, la cui esatta posizione viene assicurata da guide. Cambiando la velocità di rotazione dell'albero, la frequenza delle contrazioni può essere variata. Il profilo di rilascio da compresse commerciali in questo nuovo dispositivo è stato valutato e confrontato con quello di tipo convenzionale. I risultati mostrano che la miscelazione non omogenea dello stomaco è stata riprodotta in modo soddisfacente e questo porta ad un profilo di rilascio completamente differente. Inoltre, l'effetto della frequenza delle contrazioni sul profilo di rilascio è stato valutato.

Un altro obiettivo di questa tesi è stato quello di sviluppare un modello *in silico* (basato sulla fisiologia) che sia in grado di simulare la concentrazione plasmatica di farmaco.

Il modello è composto da sette compartimenti, i quali simulano un organo o un tessuto umano, oppure un gruppo di questi. I compartimenti sono interconnessi tra di loro e sette equazioni differenziali (con le loro condizioni iniziali) descrivono il loro comportamento. Una volta che i parametri sono stati ottenuti (attraverso fitting o letteratura), utilizzando un profilo di tipo *in vitro*, il modello è in grado di simulare le concentrazioni in tutti i compartimenti, incluso il compartimento plasmatico.

La concentrazione plasmatica è simulata sia nel caso in cui il nuovo profilo di rilascio (con la reale storia di pH) è utilizzato come input del modello, sia nel caso in cui sia utilizzato quello convenzionale. I risultati mostrano che nel caso reale le concentrazioni plasmatiche sono molto differenti sia nel valore che nella forma rispetto ai risultati attesi.

Il modello è stato quindi utilizzato per simulare la presenza simultanea di diverse molecole nel corpo umano (ad esempio se viene somministrata una miscela racemica o se il farmaco viene metabolizzato in un'altra molecola). Il sistema di equazioni è stato ampliato per descrivere il destino di ciascuna molecola. Quindi, i parametri fisiologici, quali genere ed età, sono stati integrati nel modello; in tal modo la dipendenza dei parametri del modello dai fattori fisiologici può essere valutata.

Infine, la concentrazione gastrointestinale di farmaco simulata attraverso il modello in silico è stata comparata con quella misurata in vitro ottenendo risultati soddisfacenti. In conclusione, l'approccio combinato che utilizza i modelli in silico ed in vitro è un potente tool che può essere utilizzato negli studi farmacocinetici.