



Edinstvena naprava za analizo zdravil v prebavilih

Simulacijske naprave So ključne za hiter razvoj čedalje več kompleksnih zdravil – Pri umetnem želodcu na zaslonu spremljamo dogajanje s použitim zdravilom v človekovih prebavilih

Ob skoraj povsod prisotni umetni inteligenci, virtualni resničnosti, sofisticirani robotski in drugi opremi tudi na področju farmacije se zdi, da je danes z nekaj kliki mogoče hitro in enostavno priti do zelenih ciljev. Marsikaj od naštetega omogoča prijaznejše, varnejše in natančnejše testiranje na primer zdravilnih učinkovin. Vendar je z razpoložljivo opremo še vedno težko v vseh primerih natančno spremljati dogajanje z zdravilom v bolnikovem prebavnem sistemu od trenutka, ko ga je použil, do takrat, ko se raztopi. Zato so slovenski strokovnjaki s področja strojništva, farmacije, elektrotehnike in računalništva razvili umetni želodec, edinstveno patentirano napravo, s katero v Sandozovem razvojnem centru v Ljubljani analizirajo kompleksne trdne farmacevtske oblike.

DRAGICA BOŠNJAK

Umetni želodec, ki že nekaj časa vztrajno in natančno »melje« ter analizira izbrane vzorce testne vsebine, je na zunaj videti kot srednje velika kovinska kocka, povezana s pripadajočo računalniško in drugo opremo, ki sproti prikazuje in zapisuje dogajanje v njenem 'drobovju'. Nameščen je v enem od laboratorijev za disolucijske raziskave Sandozovega razvojnega centra v Ljubljani. Osrednji, notranji del te naprave za simulacijo želodčne peristaltike sestavljajo po velikosti in obliki človeškemu želodcu podobna vreča iz silikonske gume, več kovinskih »zobatih kolesc« posebne zaslonke, senzorji in različni drugi elementi.

Drage in časovno zamudne bioekvivalenčne študije

»V generičnem razvoju farmacevtske industrije moramo z bioekvivalenčnimi študijami dokazati primerljivost našega testnega izdelka z referenčnim testnim izdelkom. Ta oprema je zelo pomembna za uporabo pri kompleksnejših izdelkih,« je pojasnil Igor Legen iz Sandozovega razvojnega centra v Ljubljani. Dodal je, da so bioekvivalenčne študije, v katerih v zadnji fazi sicer sodelujejo zdravi prostovoljci, drage in zamudne, zato so zelo pomembne dobro načrtovane predpriprave, med drugim testi raztapljanja učinkovin iz različnih farmacevtskih oblik v izbranih medijih.

»V farmacevtski industriji za tovrstne analize v glavnem uporabljamo komercialno dostopne teste, to so različno oblikovane posode z opremo za mešanje zdravil z medijem, ki simulira sokove v prebavnem traktu, kar pokaže 'časovni profil' sproščanja zdravilne učinkovine. Vendar smo ugotovili, da za določene bolj kompleksne pripravke z uporabljenim sproščanjem, kjer je to odvisno tudi od trenja med farmacevtsko obliko in želodčno steno oziroma steno črevesa, torej tudi specifičnih mehanskih obremenitev v človekovih prebavilih, razpoložljiva komercialna oprema nima dovolj velike napovedne moči in za naše potrebe ni optimalna. Razmišljali smo o razvoju opreme za kar najbolj natančno simulacijo človekove želodčne peristaltike, torej gibanja, ritmičnega krčenja, raztezanja in vsega, kar poleg hrane vpliva na sproščanje zdravilnih učinkovin. Tako zbrani kakovostni podatki so pomembni za načrtovanje potrebe po manjših, pilotnih bioekvivalenčnih študijah, ki so v pomoč pri načrtovanju glavnih, obsežnih

obveznih študij, s katerimi preverjamo primerljivost testnih in referenčnih zdravil.« Pregled literature, pogovori in iskanje poslovnega partnerja za razvoj primernejše raziskovalne opreme so po sodelovanju s strokovnjaki s Fakultete za strojništvo in Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani.

Vsestranska mehatronika

Prve korake na kar dolgi poti od osnovnih zamisli naročnika do poskusnih modelov in naposled končnega izdelka so tudi v laboratoriju za digitalne sisteme in elektrotehniko, ki je del področja mehatronike, na fakulteti za strojništvo začeli s študijem literature, preverjanjem novih pristopov, drugačnih od znanih rešitev, saj s tem področjem niso imeli veliko izkušenj oziroma konkretno z razvojem umetnega želodca nobenih, je pojasnil Janez Diaci, vodja katedre za kibernetiko, mehatroniko in proizvodno inženirstvo na fakulteti za strojništvo. Je pa bil obenem to zanimiv izziv tako za izkušene strokovnjake kot študente in doktorande na področju, kjer se prepletajo strojništvo, elektronika, informatika, računalništvo in mehatronika, ki je prav tako vse bolj interdisciplinarna in široko uporabna.

Profesor Diaci je dodal, da so pri razvoju nove simulacijske naprave upoštevali temeljno izhodišče, naj umetni želodec po obliki, velikosti in delovanju kar najbolj natančno posnema funkcijo tega organa pri odraslem človeku. To pomeni, da je bilo

treba namesto znanih modelov, pri katerih posebni vgrajeni bati v cevasto oblikovani napravi potiskajo testno vsebino z ustreznimi pritiski

navzdol in navzgor, oblikovati želodcu podobno ukrivljeno prožno »vrečo«, ki bo lahko dobro posnemala dejansko, veliko bolj kompleksno peristaltično gibanje v različnih smereh. Tako je bilo treba za to imitacijo želodca preizkusiti različne materiale glede elastičnosti, prožnosti in dovolj velike odpornosti oziroma trpežnosti. Da bi dosegli tako sinhrono valovanje, ustrezne pritisk, mešanje vsebine in natančno sprotno odčitavanje sproščanja zdravilne učinkovine, je treba v prvi fazi, to je študiji izvedljivosti, temeljito proučiti posamezne elemente in celoten sklop, to je elektro-fino-mehansko-optično in računalniško krmiljeno delovanje.

Sogovornik, ki opisuje in z računalniškimi ilustracijami slikovito prikazuje poskuse, kako si strokovnjaki z »mehanskimi pristopi« prizadevajo za potrebe testiranja posnemati naravne biološke procese, v tem primeru želodca – sicer so razvijali podobne naprave tudi za dele črevesja –, je poudaril, da je »ta del delovanja naprave samo 'polovica zgodbe', drugo veliko delo, ki ga je bilo treba opraviti, je potekalo med sodelavci v Leku in na fakulteti za farmacijo«.

Rezultati domačega znanja

Nekatere sestavne elemente, nujne za razvoj »umetnega želodca«, na primer posebne zaslonke, ki so podobne delovanju klasičnega fotoaparata oziroma opremi, kakršno uporabljajo za osvetljevanje na umetniških prizoriščih, so po sogovornikovih besedah namestili kupiti v tujini. Navezali so stik s specializiranim podjetjem v Angliji in jim posredovali ustrezne specifikacije ter bili »neprijetno presenečeni, ker poslan izdelek ni bil uporaben«. Sogovornik je sklepal, da se proizvajalci očitno niso poglobili v poslane načrte, ampak so izdelali nekaj po utečenem procesu. Tako so se morali tega lotiti doma, kjer so našli izvajalca fino-mehanskega dela naprave v Sloveniji. V okviru fakultete in z zunanjimi sodelavci so nastali pogonski sestavni deli in številni drugi elementi, ki sestavljajo to izvirno simulacijsko napravo s pripadajočo računalniško opremo. Ker so na fakulteti ves čas tesno sodelovali z naročniki, so tako lahko tudi razvili za uporabnike prijazno in vsestransko uporabno aplikacijo.

Inovaciji, kot sta umetni želodec in umetno črevo, v strokovnih krogih nista bili neopaženi. Na 11. industrijskem forumu IRT, strokovnem dogodku slovenske industrije, na katerem podeljujejo priznanja

za projekte, ki jih podjetja ustvarijo v sodelovanju z domačimi znanstvenoraziskovalnimi partnerji, je farmacevtska družba Lek z razvojnima partnerjema, **Fakulteto za strojništvo** in Fakulteto za farmacijo Univerze v Ljubljani, prejela priznanje taras za projekt umetni želodec. Ocenjevalci so poudarili, da je razvoj te tehnično zahtevne in izvirne simulacijske naprave zglede primer multidisciplinarnega sodelovanja med gospodarskim in raziskovalno-razvojnimi oziroma akademskim okoljem.

Dolgoletne izkušnje na fakulteti za farmacijo

»Na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani razvijamo področje biorelevantnega sproščanja zdravilnih učinkovin iz farmacevtskih oblik več kot deset let. To pomeni, da razvijamo modele za testiranje sproščanja iz farmacevtskih oblik, s katerimi opredelimo, kako po zaužitju farmacevtske oblike, na primer tablete, zdravilna učinkovina zapusti farmacevtsko obliko in je tako na voljo za absorpcijo v krvni obtok. To pomeni, da se morajo modeli, s katerimi testiramo oblike, ki jih zaužijemo skozi usta, z izvedbo in pogoji testiranja čim bolj približati pogojem v prebavnem traktu.« sta to področje raziskovanja pojasnila Jurij Trontelj in Marija Bogataj.

Poudarila sta, da so biorelevantni modeli testiranja sproščanja zelo pomembni pri razvoju novih farmacevtskih oblik, saj z njihovo pomočjo predvidevajo obnašanje farmacevtskih oblik po aplikaciji in tako pospešijo njihov razvoj. Ker so pogoji v človeškem želodcu zelo kompleksni in njihov prenos *in vitro* sistem testiranja zelo zahteven ter zahteva poglobljene raziskave, je to bila dobra osnova za izdelavo doktorske naloge. Tako je v sodelovanju z Lekom raziskovalka Melita Hribar vpisala doktorski študij in napisala doktorsko nalogo na fakulteti za farmacijo, mentorstvo je prevzel član katedre za biofarmacijo in farmakokinetiko Jurij Trontelj, delo pa spada na področje biorelevantnega sproščanja, ki ga na tej katedri vodi Marija Bogataj. Odgovorni koordinator dela v okviru te doktorske naloge v Leku je bil Igor Legen.

Melita Hribar je, kot sta poudarila Jurij Trontelj in Marija Bogataj, z disertacijo uspešno premagala pričakovane začetne težave modela, zato je lahko sledil nagel razvoj, da bi zagotovili čim večjo podobnost eksperimentalnih pogojev znanim

ali vsaj predvidenim luminalnim pogojem *in vivo* po zaužitju trdnih farmacevtskih oblik. Pri tem se je osredotočila na fiziološko relevantne volumne medijev ter zlasti na vzorce in jakost stiskanja »vreče«, ki posnemajo peristaltične gibe v človekovih prebavilih. Tako je mogoče v dobrišem obsegu posnemati z njimi povezane hidrodinamske in mehanske obremenitve, ki jih izvajata medij in stena prebavil na farmacevtske oblike *in vivo*, torej v živo, v človekovem organizmu. Stiskanje zaslonk oziroma zažem, ki deluje v sosedstvu, namreč ustvari specifične hidrodinamske pogoje in nastanek gibanja tekočine znotraj »vreče«, ki skuša posnemati vzorec peristaltičnega gibanja stene in vsebine v želodcu; te procese so raziskovali tudi v ločenem modelu tankega črevesa.

Natančno uravnavanje gibanja zaslonk ...

»Nastavitve parametrov, kot so amplituda zaprtja zaslonk, hitrost in zakasnitev med njimi, je mogoče uravnavati z računalniško programsko opremo. S posebno kapsulo smartpill, ki v lumnu organa lahko meri tlak in mu je izpostavljena, nam je uspelo dokazati, da so izmerjene vrednosti tlaka, kakršne stena modela želodca izvaja na tableto, primerljive s tistimi, ki so bile izmerjene *in vivo*. Z veliko eksperimentalnimi pogoji, kot so na primer fizična oblika in z njo povezan volumen, temperatura in sestava medijev ter mehanske obremenitve, se je bilo torej z novim modelom mogoče približati fiziološkim pogojem *in vivo*. Ti pogoji seveda niso ves čas konstantni, temveč se skozi čas spreminjajo – že če samo pomislimo na prisotnost raznolike hrane in pijače, zato je treba pri iskanju ključnih pogojev eksperimenta, ki hkrati pomembno vplivajo na kinetiko sproščanja učinkovine iz farmacevtske oblike, imeti veliko znanja in izkušenj,« sta pojasnila Jurij Trontelj in Marija Bogataj.

Poudarila sta, da je doktorici Meliti Hribar »iskanje teh pogojev zelo dobro uspevalo in rezultat so bile uspešne *in vitro* – *in vivo* korelacije, to so ujemanja med parametri sproščanja, izmerjenimi *in vitro*, z opaženimi profili absorbirane učinkovine v centralni krvni obtok pri prostovoljcih v kliničnih raziskavah«. Poleg tega je bila po njenih besedah Melita Hribar zelo uspešna tudi pri razvoju nadaljnjih možnosti poskusov, kot je na primer simuliranje praznjenja želod-

ca po zaužiti tekočini.

»In ker vsako dobro delo odpre nove možnosti za raziskave, področje pa se je pokazalo za zelo aktualno ter hkrati kompleksno, njeno delo v okviru sodelovanja Leka in Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani nadaljuje raziskovalka doktorandka Helena Vrbanac, prav tako pod mentorstvom Jurija Tron-

tlja in koordinatorstvom Igorja Legna iz Leka, sta dodala Jurij Trontelj in Marija Bogataj, ki sta prepričana, da sta nadaljnji razvoj in optimizacija vsekakor smiselna, saj »bliže ko smo dejanskim pogojem v želodcu, bolje lahko napovemo obnašanje farmacevtske oblike zdravilne učinkovine po aplikaciji«.

RAZVOJ SIMULATORJA PREBAVNEGA TRAKTA

Igor Legen, Sandra Berglez, Alenka Bevc in Uroš Klančar iz Leka, člana skupine Sandoz, ter Janez Diaci in Lovro Kuščer s sodelavci z ljubljanske fakultete za strojništvo so razvili tehnično zahtevna in povsem nova simulatorja prebavnega trakta. Umetni želodec in umetno črevo omogočata simulacije realnih dimenzij ter peristaltičnih gibanj želodca in tankega črevesa pri človeku ter se tako približata dejanskemu stanju v prebavi ljudi. Simulatorja sta pomembna pridobitev v procesu razvoja in analize zdravil. Podobnih naprav, ki bi primerljivo simulirale prebavila, niso zaznali, zato je skupina znanstvenikov za inovacijo vložila tudi patentno prijavo.

Umetni želodec in umetno črevo, ki sta zaščitena s patentno prijavo, omogočata hitrejši razvoj generičnih zdravil, manj testiranj na zdravih prostovoljcih in prinašata tudi finančne učinke.

Bioekvivalenčne študije so drage in zamudne, je pojasnil Igor Legen iz Sandozovega razvojnega centra v Ljubljani.



Za razvoj simulacijske naprave umetni želodec in črevo je bilo ključno odlično sodelovanje med Sandozovim razvojnim centrom Slovenija v Ljubljani ter sodelavci na Fakulteti za strojništvo in Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani.



Simulator umetnega želodca je pomembna pridobitev v procesu razvoja in analize zdravil. FOTO ARHIV PODJETJA LEK