

10. Streszczenie

I. Streszczenie w języku polskim

Biofarmaceutyczny System Klasyfikacji (ang. *Biopharmaceutical Classification System*, BCS) kategoryzuje substancje lecznicze do czterech grup na podstawie ich rozpuszczalności w roztworach wodnych oraz przenikalności przez bariery biologiczne. BCS jest powszechnie wykorzystywany w przemyśle farmaceutycznym w badaniach związanych z rozwojem produktów generycznych i ustalania ich strategii rejestracyjnych. Klasyfikacja substancji aktywnej leku generycznego do I grupy BCS lub w uzasadnionych przypadkach do grupy III umożliwia zastosowanie w procesie rejestracyjnym procedury „*biowaiver*”, czyli odstąpienia od badań biorównoważności *in vivo* z lekiem referencyjnym.

Linia komórkowa Caco-2 jest powszechnie wykorzystywana do oceny przenikalności związków przez bariery biologiczne w warunkach *in vitro*. Z uwagi na podobne właściwości morfologiczne i funkcjonalne do enterocytów, linia komórkowa Caco-2 została zaakceptowana przez Europejską Agencję Leków (ang. *European Medicines Agency*, EMA) oraz Agencję ds. Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*, FDA) jako wiarygodny model oceny przenikalności substancji leczniczych w warunkach *in vitro*. Jednak z uwagi na zmienność tego modelu komórkowego, jego zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym wymaga walidacji. W odniesieniu do wytycznych „*biowaiver*”, walidacja modelu Caco-2 polega na uzyskaniu odpowiednich zależności pomiędzy eksperymentalnymi wartościami przenikalności związków modelowych a ich stopniem wchłania u ludzi. Ponadto aby zapewnić funkcjonalną hodowlę linii komórkowej Caco-2 oraz ograniczyć zmienność tego modelu biologicznego konieczna jest standaryzacja metod hodowli, procesu różnicowania komórek oraz warunków transportu.

Celem rozprawy doktorskiej była charakterystyka dwóch substancji aktywnych, naftidrofurylu wodoroszczawian (ang. *naftidrofuryl oxalate*, NF) oraz perindopril argininy (ang. *perindopril arginine*, PA), umożliwiającą ich klasyfikację do grup BCS.

NF i PA stanowią substancje aktywne dwóch opracowywanych przez firmę Ethifarm produktów generycznych. Wykazano, że minimalna rozpuszczalność najwyższej pojedynczej dawki NF wynosiła 169,0 mg/ml w medium o pH=4,5. Obliczony stosunek dawki do rozpuszczalności NF określono na 1,2 ml, co nie przekroczyło wartości krytycznej wynoszącej 250 ml. Badania transportu NF wykazały jego bardzo dobrą przenikalność przez bariery biologiczne. Wartości P_{app} dla obu

testowanych stężeń w kierunku A→B były wyższe niż 100×10^{-6} cm/s. Przeprowadzone testy rozpuszczalności i przenikalności NF wskazują, że może on być klasyfikowany jako substancja I grupy BCS z uwagi na jego bardzo dobrą rozpuszczalność i przenikalność w warunkach *in vitro*.

Badania przenikalności przez monowarstwę Caco-2 oraz biomimetyczną membranę PermeaPad wskazują na niską przenikalność PA. Wykazano dużo słabsze wchłanianie PA przez monowarstwę Caco-2 ($P_{app} = 1,94 \times 10^{-6}$ cm/s dla 2,0 mg/ml oraz $P_{app} = 0,72 \times 10^{-6}$ cm/s dla 1,0 mg/ml) w porównaniu do membrany PermeaPad ($P_{app} = 43,9 \times 10^{-6}$ cm/s dla 2,0 mg/ml i $35,7 \times 10^{-6}$ cm/s dla 1,0 mg/ml), co może być związane z obecnością transporterów błonowych specyficznych dla linii komórkowej Caco-2. W związku z udokumentowaną wysoką rozpuszczalnością i niską przenikalnością, PA może być klasyfikowany do III grupy BCS.

Procedura rejestracyjna „*biowaiver*” może mieć zastosowanie dla leków generycznych w postaci natychmiastowego uwalniania zawierających PA lub NF.