

Оценка цитотоксичности и
проницаемости назальных
составов *in vitro* как инструмент
скрининга, трансляционность

Из *in vitro* в *in vivo*

Эффективность и безопасность лекарственного препарата определяются свойствами действующего вещества и состава

→ Efficacy and Safety by Design

Цитотоксичность компонентов состава и состава в целом

→ местнораздражающее действие

Физико-химические свойства компонентов состава и состава в целом + способ введения + анатомические и физиологические особенности объекта + параметры окружающей среды → биодоступность

Задача

Разработка состава назального спрея системного действия

Исходные данные

- Референт – таблетки 10 мг, BCS III класс
- АФС: соль; Mw ~ 400; растворимость в воде ~ 34 мг/мл; горький вкус
- Относительная назальная биодоступность водного раствора ~ 96 %

Целевой профиль продукта

- Концентрация АФС 5 мг / 0,1 мл или 10 мг / 0,1 мл
- Минимальное раздражение назальной полости
- Максимально быстрая абсорбция (для быстрого действия)
- Оптимальный pH ~ 5,5

Ограничения

- Небольшое количество усилителей проницаемости, солюбилизаторов и соразтворителей, которые разрешены для назального применения
- Осмолярность состава <500

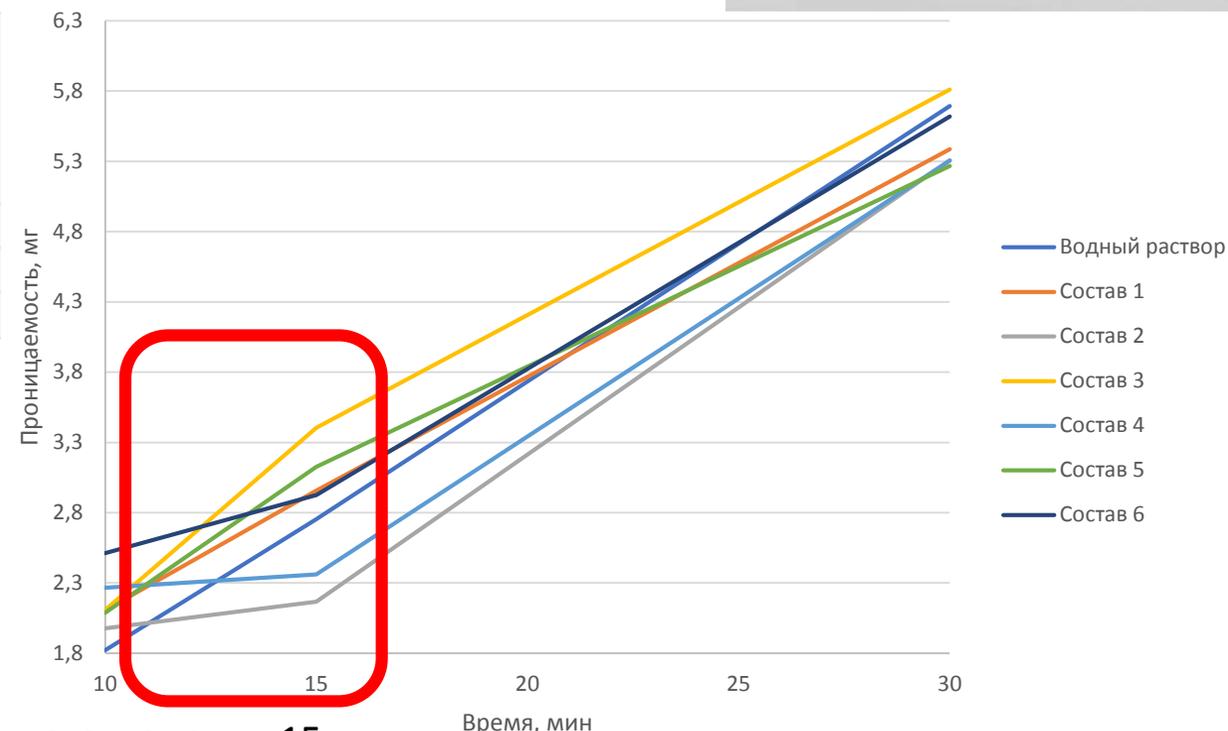
Первичная оценка проницаемости

С использованием искусственных мембран

Стандартизованный тест для назальных составов отсутствует, возможно использовать методологию, схожую с тестами для трансдермальных форм



Время, мин	Водный раствор 34,4 мг/мл АФС	1	2	3	4	5	6
10	1,8215	2,1065	1,9780	2,1070	2,2650	2,0865	2,5125
15	2,7540	2,9570	2,1675	3,4050	2,3615	3,1260	2,9245
Сумма	4,5755	5,0635	4,1455	5,512	4,6265	5,2125	5,437

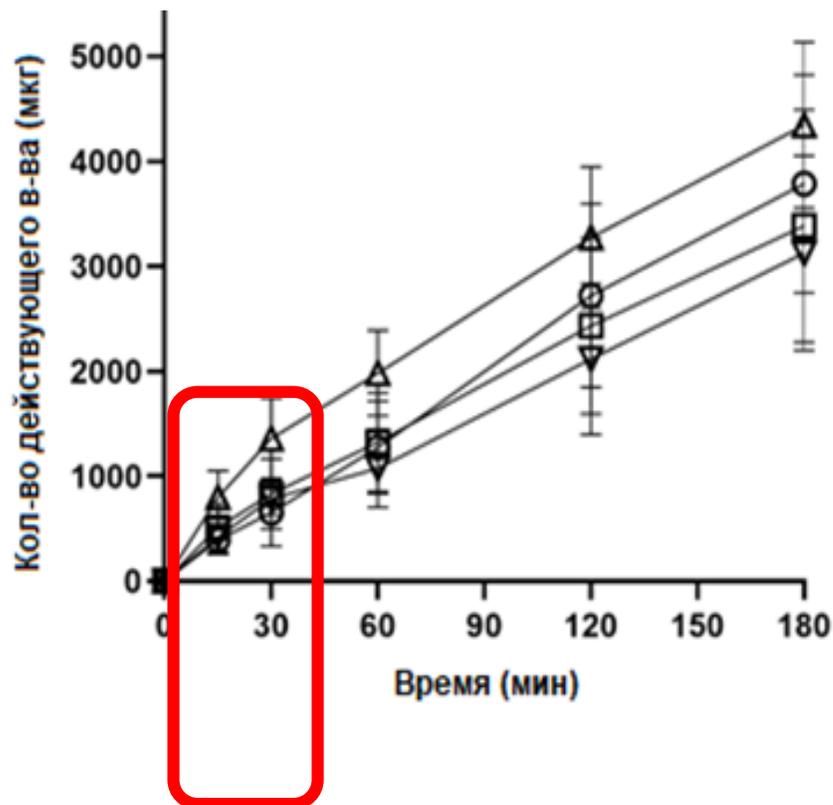


Составы 1, 3, 5 и 6 обладают наилучшей проницаемостью по результатам оценки 15-минутного воздействия. Состав 5 не обладает агрегационной устойчивостью, поэтому был исключен из дальнейшего рассмотрения.

Увеличение степени релевантности модели

Наиболее распространены исследования проницаемости *in vitro* на эпителиальных клетках или *ex vivo* на ткани назального эпителия овцы

Эксперимент на клеточной линии RPMI 2650

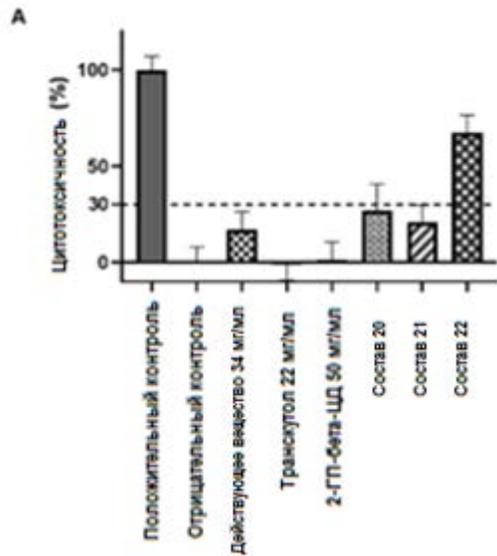


Время (мин)	Действующее вещество 34 мг/мл	Состав 20 (адапт.6)	Состав 21 (адапт. 3)	Состав 22 (адапт.1)
0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
15	391,48 ± 112,59	509,04 ± 188,87	796,86 ± 207,97	422,35 ± 138,66
30	652,10 ± 262,07	828,79 ± 273,35	1360,29 ± 310,93	782,06 ± 124,86
60	1273,20 ± 359,70	1324,75 ± 383,88	1979,33 ± 332,17	1073,78 ± 305,98

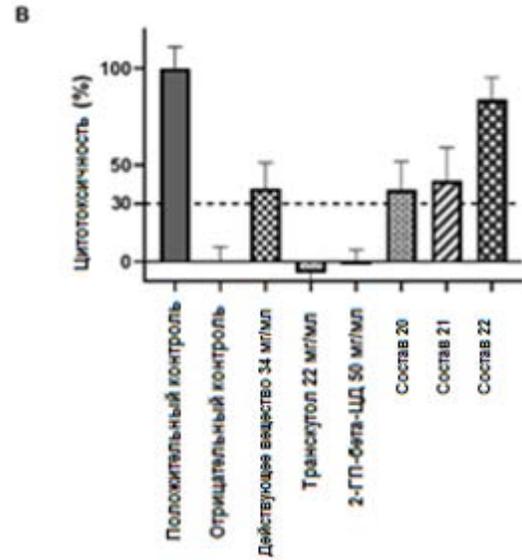
Оценка безопасности

Оценка местнораздражающего действия без воздействия на живые организмы

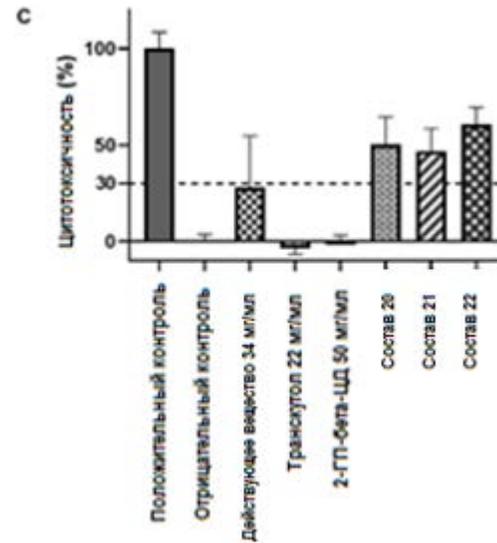
Применение культивированных клеток человеческого назального эпителия RPMI 2650 соответствует концепции 3R (replace, reduce, refine)



15 мин



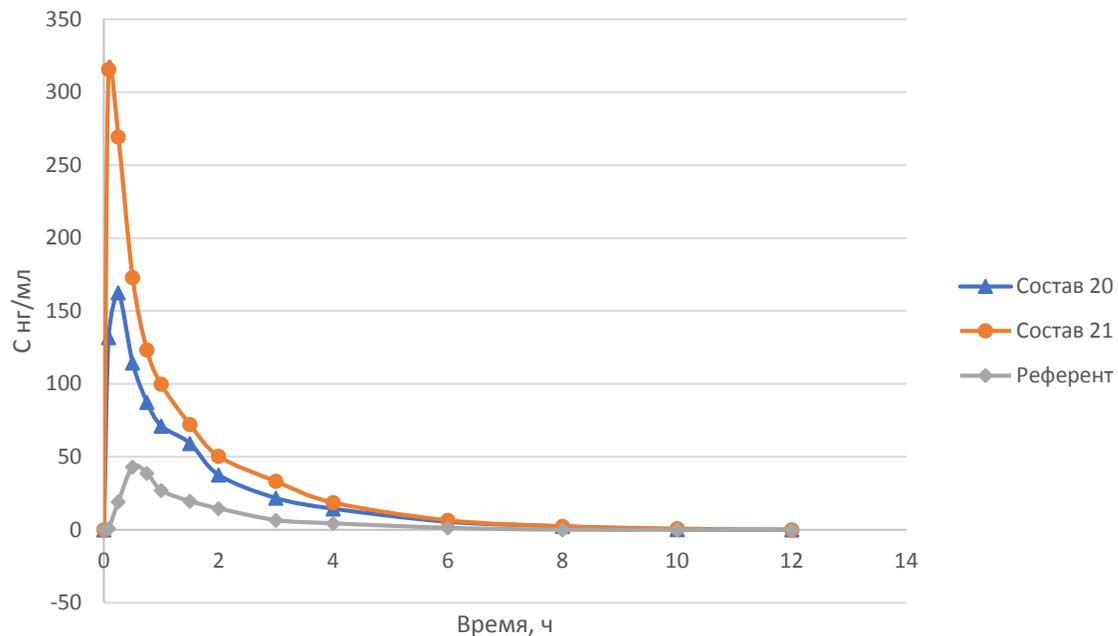
30 мин



60 мин

Исследование фармакокинетики на кроликах

Белые новозеландские кролики, введено одинаковое количество действующего вещества



Параметры	Состав 20	Состав 21	Референт (таблетки)
T_{max} (ч)	0,25 (0,08-0,5)	0,08 (0,08-0,25)	0,5 (0,5-0,75)
C_{max} (нг/мл)	179,52	325,62	44,26
AUC_{0-last} (нг.ч/мл)	241,76	360,7	69,6
AUC_{0-inf} (ng.h/ml)	248,52	364,1	72,59
$AUC_{\%Extrap_obs}$	3,17	1,11	4,14
$AUC_{0-0.25}$ (нг.ч/мл)	30,04	61,95	1,71
$AUC_{0-0.5}$ (нг.ч/мл)	64,67	117,25	9,51
AUC_{0-1} (нг.ч/мл)	109,75	182,21	27,98
AUC_{0-2} (нг.ч/мл)	166,57	255,9	48,2

Выводы

- Тесты проницаемости *in vitro* с использованием искусственных мембран (например, целлюлозных) и/или релевантных клеточных линий могут быть использованы для целей скрининга составов, так как позволяют сократить ресурсные затраты, а также соблюсти принцип 3R
- Исследования проницаемости на искусственных мембранах и клетках RPMI2650 показывают схожие результаты (в относительных значениях)
- Тенденции, полученные в исследованиях проницаемости *in vitro*, в случае составов для назального применения, позволяют прогнозировать его сравнительную биодоступность при введении в живой организм