

# Primerjava pogojev v prebavnem traktu med človekom in nekaterimi laboratorijskimi živalmi s stališča ciljane dostave v kolon

## Comparison of gastrointestinal conditions of human and laboratory animals from the colon delivery viewpoint

Polona Smrdel, Marija Bogataj, Aleš Mrhar

**Povzetek:** Ciljana dostava učinkovine v kolon se v zadnjem obdobju zelo intenzivno raziskuje tako z namenom lokalnega zdravljenja različnih bolezni debelega črevesa kot tudi za sistemsko dostavo učinkovine. Vsi danes poznani pristopi izkoriščajo značilnosti prebavnega trakta, ki omogočajo dostavo učinkovine v kolon. Tako govorimo o pH-, časovno-, encimsko- in tlačno nadzorovanih sistemih. S tega vidika je poznavanje pogojev prebavnega trakta ključnega pomena tako za načrtovanje dostavnih sistemov kot tudi za razvoj *in vitro* modela za vrednotenje tovrstnih sistemov. Tako kot nove učinkovine tudi nove farmacevtske oblike v predklinični fazi preskusimo na različnih laboratorijskih živalih, zato je poznavanje gastrointestinalnih pogojev pri laboratorijskih živalih enakovrednega pomena poznavanju pogojev pri človeku. Namen članka je primerjati pogoje prebavnega trakta med človekom in nekaterimi laboratorijskimi živalmi z vidika načrtovanja sistemov za dostavo učinkovine v kolon.

**Ključne besede:** ciljana dostava v kolon, pogoji v prebavnem traktu, medvrstne razlike, živalski model

**Abstract:** Colon delivery has received a significant interest in recent years for local treatment of various large bowel diseases as well as for systemic delivery of drugs. All known approaches exploit gastrointestinal conditions, which enable colon delivery. Colon delivery systems could be classified into pH-, time-, enzyme- and pressure- controlled systems. From this point of view, the understanding of gastrointestinal conditions is of crucial importance for design as well as for *in vitro* evaluation of these systems. In preclinical trials, all new drugs as well as new dosage forms are tested in different animal models. For this purpose, it is necessary to be familiar with gastrointestinal conditions in animals and in humans. The aim of this article is therefore to compare the gastrointestinal conditions between human and different laboratory animals from the colon delivery point of view.

**Key words:** colon delivery, gastrointestinal conditions, interspecies differences, animal model

### 1 Uvod

Ciljana dostava učinkovine na zeleno mesto ima vrsto prednosti pred farmacevtskimi oblikami z nenadzorovanim sproščanjem, saj omogoča doseganje terapevtske koncentracije učinkovine na zelenem mestu z bistveno manjšimi odmerki in posledično zmanjša neželene učinke povezane s sistemsko dostavo učinkovine.

S tega stališča predstavlja lokalna dostava učinkovine v kolon učinkovitejši način zdravljenja različnih bolezni debelega črevesja kot so kronični iritabilni kolitis, Chronova bolezen, ulcerativni kolitis, novotvorbe debelega črevesja, infekcije debelega črevesja, in druge.

Dostava učinkovine v kolon je prav tako dobrodošla, ko je s terapevtskega vidika zaželeno zakasnjena absorpcija učinkovine. Tak primer so bolezni, ki so vezane na cirkadiani ritem in imajo najmočnejše izražene simptome zgodaj zjutraj, npr. nočna astma, angina pectoris ali artritis (1, 2). Obenem pa zaradi nizke proteolitične aktivnosti peptidaz in pankreatičnih encimov debelo črevo v primerjavi s tankim predstavlja boljše možnost tudi za dostavo in absorpcijo peptidnih in proteinskih molekul. Poleg tega je z daljšim časom zadrževanja učinkovine v debelem črevesu na razpolago več časa za absorpcijo učinkovin, vse to pa lahko pomembno prispeva k večji biološki uporabnosti (1 - 4).

Polona Smrdel, mag. farm., Katedra za biofarmacijo s farmakokinetiko, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana in Lek d.d., Verovškova 57, 1526 Ljubljana  
izr. prof. dr. Marija Bogataj, mag. farm., Katedra za biofarmacijo s farmakokinetiko, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana  
prof. dr. Aleš Mrhar, mag. farm., Katedra za biofarmacijo s farmakokinetiko, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

Dostavo učinkovin v kolon lahko dosežemo tako s peroralno kot tudi z rektalno aplikacijo, vendar ima slednja več pomanjkljivosti. Glavna omejitev rektalnih farmacevtskih oblik je omejena distribucija le teh po debelem črevesju in posledično učinkovina le redko ali pa sploh ne doseže proksimalnega dela kolona. Poleg tega je rektalna aplikacija pacientu bistveno manj sprejemljiva v primerjavi s peroralno (1, 2). Prav zato je razvoj sistemov za dostavo učinkovine v kolon usmerjen v oblike za peroralno aplikacijo, ki pa morajo za uspešno dostavo učinkovine premagati vrsto ovir pred prihodom v kolon.

Danes je poznanih več pristopov izdelave sistemov za dostavo učinkovine v kolon, ki na različne načine preprečijo absorpcijo in/ali razpad učinkovine v zgornjih predelih gastrointestinalnega (GI) trakta ter omogočajo njeno dostavo v debelo črevo. Tehnologije izkoriščajo lastnosti prebavnega trakta kot so spreminjanje pH vzdolž prebavnega trakta, zahtevan čas potovanja skozi prebavni trakt do debelega črevesa, specifična bakterijska mikroflora v kolonu ali višji pritisk zaradi peristaltičnih valov, ki sprožijo sproščanje učinkovine v debelem črevesu. Tako govorimo o sistemih, katerih sproščanje učinkovine je pH-, časovno-, encimsko- ali s pritiskom- nadzorovano (5).

Glede na to, da sistemi za dostavo učinkovine v kolon temeljijo na specifičnih lastnostih prebavnega trakta, je potrebno za njihov razvoj natančno poznavanje in razumevanje tako anatomskih kot fizioloških pogojev v prebavnem traktu. Enakovredno poznavanju pogojev v človeškem prebavnem traktu je tudi poznavanje GI pogojev pri laboratorijskih živalih, na katerih testiramo farmacevtske oblike v predklinični fazi, saj le izbira primernega živalskega modela omogoča ekstrapolacijo tako pridobljenih informacij na človeka (2, 6, 7). Poleg tega je temeljito poznavanje GI pogojev poglobitvenega pomena za razvoj *in vitro* testa raztapljanja, na osnovi katerega sklepamo o *in vivo* obnašanju farmacevtske oblike. Za dobro napoved *in vitro/in vivo* korelacije mora *in vitro* test raztapljanja čim bolj posnemati *in vivo* pogoje v prebavnem traktu, kar v primeru *in vitro* vrednotenja sistemov za dostavo učinkovine v kolon pomeni čim bolj posnemati *in vivo* pogoje v smislu pH, bakterij, tipa encimov, encimske aktivnosti, volumna tekočine in intenzitete mešanja (5).

S tem namenom so v članku predstavljene temeljne lastnosti prebavnega trakta človeka in nekaterih laboratorijskih živali, na katere moramo biti pozorni tako pri načrtovanju kot tudi vrednotenju sistemov za dostavo učinkovin v kolon. To so pH, čas prehoda skozi prebavni trakt in bakterijska mikroflora.

## 2 pH vzdolž prebavnega trakta

pH tekočin v prebavnem traktu ima ključen pomen pri raztapljanju, topnosti in absorpciji ionizirajočih učinkovin (6), vpliva pa tudi na obnašanje zlasti tistih farmacevtskih oblik, ki so pripravljene iz pH občutljivih sestavin. pH vrednosti različnih predelov prebavnega trakta pri človeku in eksperimentalnih živalih so zbrane v preglednici 1. Kot je razvidno iz preglednice so že pri posamezni vrsti pH vrednosti podane v nekem intervalu, kar nakazuje variabilnost znotraj vrste, velika variabilnost pa je tudi pri posamezniku.

Kljub variabilnosti je pri vseh vrstah opazna podobna dinamika sprememb pH vzdolž prebavnega trakta. Želodec je tako pri človeku kot pri živalih najbolj kisel predel prebavnega trakta. Na območje pH v želodcu ima zelo pomemben vpliv zaužita hrana, ki nevtralizira

želodčno kislino in posledično povzroči dvig pH-ja (8). Prav omenjen porast pH-ja spodbudi intenzivnejše izločanje želodčnih sokov, ki postopoma povrnejo pH želodca na vrednost pred hranjenjem. Čeprav so pH vrednosti na tešče primerljive, se vpliv hrane na pH v želodcu med vrstami precej razlikuje (preglednica 1). Pri ljudeh zaužitje hrane povzroči hiter dvig pH na vrednosti od 3 do 7 (2). Podobno je pri prašičih in opicah, medtem ko je pri psih vpliv hrane bistveno manjši, saj se pH v želodcu v prvi uri po zaužitju hrane ne spremeni izrazito. K temu naj bi prispevala intenziteta sekrecije želodčne kisline. Psi imajo v primerjavi s človekom, prašičem in opico zelo nizko bazalno sekrecijo, po stimulaciji (hrana, histamin) pa se ta hitro in občutno poveča (in celo preseže človeško, prašičjo in opičjo) ter prepreči dvig pH. Večje spremembe želodčnega pH so pri psu opazne ob praznjenju želodca, saj lahko predvsem zaradi duodenalnega refluksa pH naraste celo na vrednosti 6 oziroma 7 (8). Zaradi nizke bazalne sekrecije v stanju, ko v želodcu ni več prisotne hrane, lahko tako visoke vrednosti pH v želodcu ostanejo tudi več ur, vse do naslednjega migracijskega mioelektričnega kompleksa (7 - 9).

Pri podganah zelo težko govorimo o vrednostih pH na tešče, ker podgane s še nekaterimi glodalci spadajo med ti. »kontinuirane jedce«, in zato njihov želodec ni praktično nikoli prazen. Poleg tega so koprofagi, kar pomeni, da si z zaužitim fecesem priskrbijo dodatne encime, ki jim omogočajo prebavo celuloze in absorpcijo esencialnih hranil in vitaminov iz rastlinskega materiala (8). Prav zato je pH vrednost podganjega želodca višja v primerjavi s človekom. Če bi želeli izvajati poskus na podganah popolnoma na tešče, bi poleg odtujitve hrane morali preprečiti tudi dostop do lastnega fecesa.

Poleg hrane pa na vrednost želodčnega pH vplivajo tudi drugi dejavniki, med katerimi je zelo pomemben stres. Za eksperimentalne živali zagotovo predstavlja vsak poskus stresno situacijo. Tako je znano, da se pri Old World opicah, kamor spada tudi družina makakov (Rhesus in Cynomolgus opice), želodčna sekrecija drastično zmanjša oz. skoraj ustavi, če so le ti pripti (v kletkah). Ustavi se tudi motiliteta prebavnega trakta. Posledično je lahko pH želodca nevtralen ali celo rahlo alkalen. Nasprotno pa se s priptjem New World opic želodčna sekrecija zelo poveča (9).

pH želodca je zlasti pomemben pri preskušanju gastrorezistentnih farmacevtskih oblik in vse zgoraj naštetih razlike dokazujejo, da je za ustrezno razumevanje in vrednotenje rezultatov potrebno zelo dobro poznati živalski model in pogoje, pri katerih farmacevtsko obliko preskušamo.

Največja sprememba pH vzdolž prebavnega trakta je opazna na prehodu iz želodca v tanko črevo – v duodenumu, kjer pankreatični sok bogat z encimi in bikarbonatnimi ioni nevtralizira želodčno kislino. Pankreatična sekrecija je pri človeku, psu, prašiču in opici podobna (9), za podgano v literaturi nismo našli podatkov. Na splošno pH vzdolž tankega črevesja pri vseh vrstah postopno narašča do ileocekalnega dela, kjer je opazen padec pH (preglednica 1). Na tešče je pri psu in prašiču pH tankega črevesa približno za 1 pH enoto višji, medtem ko je po hranjenju predvsem v duodenumu pH bolj kisel kot pri človeku (7, 9).

V začetnem delu debelega črevesja pH pri vseh vrstah pade zaradi prisotnih kratkoveržnih maščobnih kislin, ki nastanejo ob fermentaciji polisaharidov (10). Do rektuma pH postopoma naraste približno do 7.

## Pregledni članki - Review Articles

Preglednica 1: pH vrednosti prebavnega trakta človeka in nekaterih laboratorijskih živali.

Table 1: pH of gastrointestinal tract of human and some laboratory animals

		Človek	Podgana	Pes	Prašič	Opica
<b>Želodec</b>	Na tešče	1,5– 2,0 <sup>(2, 9)</sup>	*4 – 4,3 <sup>(6)</sup>	0,9 – 2,4 <sup>(9)</sup>	2,7 <sup>(7)</sup>	°1 – 3 <sup>(25)</sup>
		1,5 – 3,5 <sup>(6)</sup>			1,6 – 1,8 <sup>(7)</sup>	
		1,4 – 2,1 <sup>(7)</sup>			3,75 – 4 <sup>(7)</sup>	
Po hrani		3,0 – 7,0 <sup>(2)</sup>	3,8 - 5 <sup>(18)</sup>	2,1 <sup>(7, 9)</sup>	2,6 – 6 <sup>(7)</sup>	°5 – 7 <sup>(25)</sup>
		5,0 <sup>(20)</sup>	*3,1 - 5 <sup>(6)</sup>		1,3 – 3 <sup>(7)</sup>	
		4,3 – 5,4 <sup>(7)</sup>	# 2,3 – 4,5 <sup>(6)</sup>			
	ND		3,3 – 5 <sup>(6, 8)</sup>		2,2 – 4,3 <sup>(6)</sup>	2,8 – 4,8 <sup>(6)</sup>
<b>Tanko črevo</b>	ND*		6,2 – 7,5 <sup>(8)</sup>	6,0 – 7,5 <sup>(8)</sup>	+ 7 – 9 <sup>(7)</sup>	
	Duodenum Na tešče	4,9 – 6,5 <sup>(2)</sup>	*7,1 <sup>(6)</sup>	4,5 – 7,5 <sup>(8)</sup>	+ 5,5 – 6 <sup>(7)</sup>	
		5-7 <sup>(6)</sup>		5 – 7,6 <sup>(24)</sup>	7,2 <sup>(7, 8)</sup>	
	5,4 <sup>(20)</sup>					
Po hrani		5,0 – 5,6 <sup>(2)</sup>	*6,9 <sup>(6)</sup>	2,5 <sup>(24)</sup>	3 – 4 <sup>(7)</sup>	
			# 6,9 <sup>(6)</sup>	5,5 – 7,2 <sup>(24)</sup>		
			6,5 <sup>(6, 21)</sup>	6,6 <sup>(6)</sup>	6,0 <sup>(6)</sup>	5,6 <sup>(6)</sup>
ND						
	Jejunum Na tešče	4,4 – 6,5 <sup>(2)</sup>	*8 <sup>(6)</sup>	6,2 – 7,3 <sup>(24)</sup>		
		6-7 <sup>(6)</sup>				
	5,2 – 6,2 <sup>(2)</sup>	*7,4 <sup>(6)</sup>				
		# 7,8 <sup>(6)</sup>				
	ND		6,7 – 6,8 <sup>(6)</sup>	6,6 – 6,8 <sup>(6)</sup>	6,2 - 6,9 <sup>(6)</sup>	5,8 - 6,0 <sup>(6)</sup>
Ileum Na tešče		6,5 – 8,0 <sup>(2)</sup>	*8 <sup>(6)</sup>	6,6 – 7,9 <sup>(24)</sup>		
		7,5 <sup>(20)</sup>				
		7 <sup>(6)</sup>				
Po hrani		6,8 – 8,0 <sup>(2)</sup>	*7,4 <sup>(6)</sup>			
			# 7,8 <sup>(6)</sup>			
			7,1 <sup>(6, 23)</sup>	7,5 <sup>(6)</sup>	7,5 <sup>(6)</sup>	6,0 <sup>(6)</sup>
	ND					
<b>Debelo črevo</b>	Cekum Na tešče		*7,2 <sup>(6)</sup>	6,4 <sup>(8)</sup>	6,3 <sup>(8)</sup>	
Po hrani			*6,4 <sup>(6)</sup>			
			# 6,7 <sup>(6)</sup>			
ND		6,0 <sup>(23)</sup>	6,6 <sup>(23)</sup>	6,4 <sup>(6, 8)</sup>	6,3 <sup>(6)</sup>	5,0 <sup>(6)</sup>
		5,9 <sup>(23)</sup>	6,3 <sup>(6)</sup>			
Kolon Na tešče			*7,6 <sup>(6)</sup>	6,5 <sup>(8)</sup>	6,8 <sup>(8)</sup>	
			*6,8 <sup>(6)</sup>			
			# 7,1 <sup>(6)</sup>			
Po hrani						
			6,6 <sup>(6, 23)</sup>	6,5 <sup>(6)</sup>	6,8 <sup>(6)</sup>	5,5 <sup>(6)</sup>
			7,1 <sup>(8)</sup>			
	ND	6(proks) <sup>(7)</sup>				
		7.5 (dist) <sup>(7)</sup>				
		5,5 – 7 <sup>(6, 8)</sup>				
		7,5 <sup>(20)</sup>				

ND – stanje glede hrane ni opredeljeno, ND\* - segment tankega črevesa ni opredeljen, \* Lister hooded podgane, # Wistar podgane, + Rhesus opica, °Cynomolgous opica

Znano je, da se lahko pH debelega črevesa zelo spremeni zlasti v bolezenskih stanjih. Tak primer je vnetna črevesna bolezen, kjer se pri človeku pH kolona spusti na 4,7, ali celo še nižje in sicer na 2,3 do 3,4 (11, 12).

Naraščanje pH proti koncu tankega črevesa izkoriščajo sistemi za dostavo učinkovine v kolon, pripravljene iz polimerov, ki se raztapljajo

pri nekoliko višjih vrednostih pH kot običajni gastrozistentni polimeri. Prav zaradi variabilnosti pH je zanesljivost dostave učinkovine v kolon s pH odvisnimi sistemi negotova, saj učinkovine pogosto ne dostavijo na želeno mesto, ker se le ta bodisi prehitro ali pa se sploh ne sprosti in se farmacevtska oblika s še vsebujočo učinkovino izloči iz organizma. Kljub temu so pH-odvisni sistemi za dostavo učinkovin v

kolon trenutno na tržišču najbolj zastopani predvsem zaradi enostavne tehnologije in širokega nabora pH občutljivih polimerov (1).

### 3 Čas prehoda

Čas prehoda skozi prebavni trakt oz. do zelenega mesta v prebavnem traktu je drugi dejavnik, ki ga izkoriščamo z namenom ciljane dostave. Farmacevtske oblike za aplikacijo v kolon s časovno pogojenim sproščanjem so načrtovane in pripravljene tako, da začnejo sproščati učinkovino po določenem času (1). Za razliko od pH-nadzorovanih sistemov, pripravljenih iz sestavin, ki se raztopijo pri določenem pH, so časovno nadzorovani sistemi za aplikacijo v kolon pripravljeni iz polimerov, ki neodvisno od pH nabrekajo, erodirajo ali se raztopijo po v naprej določenem času. Zelo znan primer farmacevtske oblike s časovno nadzorovanim sproščanjem je Pulsincap™, sestavljen iz nepermeabilne kapsule zaprte s čepom iz hidrofilnega polimera, ki v stiku z vodnim medijem nabreka in po izstopu iz kapsule omogoči sprostitve učinkovine. Začetek sproščanja učinkovine je mogoče spreminjati z dolžino čepa (1, 2). V primeru, ko tovrstne polimere uporabimo za oblaganje farmacevtskih oblik, je začetek sproščanja učinkovine pogojen z debelino obloge.

Podatkov o časih prehodov skozi prebavni trakt predvsem laboratorijskih živali je v literaturi relativno malo, zbrani so v preglednici 2. Tako kot pri pH vrednostih je tudi pri časih prehodov opazna velika intra- in inter-individualna variabilnost in sicer predvsem na račun spremenljivega prehoda skozi želodec.

Pri vseh obravnavanih živalskih vrstah ločimo gibanje želodca na tešče in ob prisotnosti hrane. Izjema so glodalci (podgane, zajci), ki zaradi svojih prehranjevalnih navad nimajo praktično nikoli praznega želodca (8).

V teščem stanju je motiliteta želodca pri človeku sestavljena iz štirih faz, ki se periodično ponavljajo približno vsaki dve uri. V tretji fazi migracijskega mioelektričnega kompleksa (MMC), ki po različnih virih traja od 4 do 6 minut (10), od 5 do 15 (13, 14) oz.  $18,6 \pm 4$  minute (9), je intenziteta kontrakcij želodca največja. V tej fazi se iz želodca izloči neprebavljena želodčna vsebina (10). Človeku primerljiv način in periodiko gibanja želodca na tešče imajo tudi psi, prašiči in opice (7). Bistveno hitrejšo periodiko MMC (vsakih 20 minut) pa so zasledili pri teščaj podganah (15).

Zaužitje hrane ali tekočine z zadostno kalorično vrednostjo prekine MMC in želodec preide v gibanje z močnimi toničnimi kontrakcijami, ki vsebino med mešanjem z želodčnimi sekreti drobijo in potiskajo proti pilorusu (9).

Prav zaradi izrazitega vpliva na način gibanja želodca je hrana tisti dejavnik, ki v največji meri pogojuje čas prehoda farmacevtskih oblik skozi želodec. Če farmacevtsko obliko apliciramo s hrano, bo čas, ki je potreben, da se ta izloči iz želodca, odvisen od njene velikosti. Manjši delci se izločijo s hrano, večji delci pa šele s tretjo fazo MMC, ko želodec ponovno preide v način gibanja na tešče (10). Velikost delcev, ki lahko prehaja v duodenum s hrano, je odvisna od velikosti oz. premera pilorusnega sfinktra pri posamezni živalski vrsti (6). Literaturni podatki o vplivu hrane na prehod majhni delcev skozi želodec se precej razlikujejo. Nekateri avtorji navajajo, da se lahko čas prehoda majhnih delcev kot so pelete skozi želodec s hrano pri

človeku in živalih manj upočasniti kot večjim delcem, kjer velja da večji kot so delci, daljši je čas praznjenja iz želodca (8, 9). Potemtakem naj bi z uporabo majhnih večnotenih farmacevtskih oblik zmanjšali variabilnost povezano s praznjenjem želodca (14). Davis s sodelavci je ugotovil, da se po zaužitju pelet z lahkim obrokom (1000–2000 kJ) le te po kratki zakasnitvi izločajo iz želodca z linearno kinetiko (16, 17). Rezultati drugih poskusov pa nakazujejo, da je lahko izločanje pelet apliciranih s hrano, zlasti visoko kaloričnim obrokom (16, 18), izrazito zadržano in da se te izločijo šele s prvim valom MMC (14). Čas, da se želodec po obroku vrne v stanje na tešče (MMC), je tako pri človeku kot pri psu sorazmeren s kalorično vrednostjo obroka, vendar je vpliv hrane na podaljšanje časa zadrževanja v želodcu pri psu bistveno bolj izrazit (preglednica 2, (9)).

Poleg velikosti farmacevtske oblike je pri prehodu skozi želodec pomemben dejavnik tudi gostota, saj je bilo pri ljudeh ugotovljeno, da se težki delci (npr.  $2,8 \text{ g/cm}^3$ ) izločajo počasneje v primerjavi z delci, ki imajo gostoto primerljivo želodčni vsebini (npr.  $1,5 \text{ g/cm}^3$ ) (19).

Za razliko od človeka in psa, kjer po obroku praznjenje želodca poteka kontinuirano, je pri prašiču praznjenje želodca bimodalno, kar pomeni, da se približno 30 – 40% vsebine izprazni v prvih 15 minutah, približno čez eno uro pa sledi počasno praznjenje preostale vsebine. Zelo pogosto se želodec pri prašiču ne izprazni popolnoma in hrana ostaja v želodcu celo 24 ur. Prav zato svetujejo praznjenje prašičjega želodca pred poskusom, da si zagotovimo tešče pogoje (7). Podatki o opicah so zelo redki, glede na rezultate poskusov Konda in sodelavcev pa je hitrost praznjenja tekočine iz želodca pri *Cynomolgus* opicah primerljiva s človekom (20).

Z namenom čim bolj zmanjšati vpliv hitrosti praznjenja želodca na mesto začetka sproščanja učinkovine iz sistemov s časovno pogojenim sproščanjem ima danes večina tovrstnih sistemov gastrorezistentno oblogo. Le ta ščiti sistem v želodcu in se hitro raztopi v tankem črevesu ter odkrije notranjo oblogo, ki zadrži sproščanje za določen čas, zahtevan za prihod farmacevtske oblike na želeno mesto. Prav zato so sistemi s kombinacijo pH- in časovno kontroliranega sproščanja bistveno bolj predvidljivi v smislu dostave učinkovine na želeno mesto v primerjavi s samo časovno kontroliranimi sistemi. Čas prehoda skozi tanko črevo pri ljudeh je namreč veliko bolj konstanten v primerjavi z želodcem in je neodvisen od prisotnosti/odsotnosti hrane ter velikosti in oblike dostavnega sistema (2, 9). Hitrost praznjenja želodca, ki je pogojena s kalorično vrednostjo obroka, ne vpliva na hitrost potovanja skozi tanko črevo, temveč vpliva na distribucijo večnotenih farmacevtskih oblik. In sicer, v primeru zaužitja večnotenega dostavnega sistema z obrokom višje kalorične vrednosti, se želodec prazni počasneje in zato se pelete razširijo po tankem črevesu v večji meri kot če jih zaužijemo z lahkim obrokom, ki se iz želodca izloči hitreje (10).

Razlike v času prehoda skozi črevo med človekom in laboratorijskimi živalmi so vsaj deloma povezane z različnimi anatomskimi razmerji med dolžino telesa in dolžino črevesa (21). Tako je na primer čas prehoda skozi tanko črevo pri psu in *Cynomolgus* opicah približno polovico krajši v primerjavi s človekom, medtem ko lahko pri prašiču pričakujemo daljši čas prehoda, glede na to da ima skoraj trikrat daljše tanko črevo kot človek (7, 9, 20). Hitrost potovanja vzdolž tankega črevesa se pri človeku zmanjša s  $4,7 \pm 1,8 \text{ cm/min}$  na  $0,9 \pm$

## Pregledni članki - Review Articles

Preglednica 2: Čas prehoda (h) skozi posamezne predele prebavnega trakta pri človeku in nekaterih laboratorijskih živalih  
Table 2: Gastrointestinal transit times (h) of human and some laboratory animals

		Človek	Podgana	Pes	Prašč	Opica	
<b>Želodec (h)</b>	Na tešče	Delci	$0,45 - 2,9^{(14)}$ $2^{(21)}$ $3,1 \pm 2,1 (1,45 - 7,95)^{(19)}$ $2^{(18)}$		$2^{(21)}$	$>6^{(21)}$ $1,5^{(21)}$ $10^{(6)}$ $2,2^{(27)}$	
		Tablete, kapsule	$0,5 - 2,2^{(14)}$ $2^{(21)}$ $1,2 \pm 0,4 (7 \times 20 \text{mm})^{(24)}$ $1,3 \pm 0,3^{(9)}$		$1,5^{(21)}$ $1,2 \pm 0,8 (7 \times 20 \text{mm})^{(24)}$ $1,2 \pm 0,5^{(9)}$	$>6^{(21)}$ $1,5 - 6^{(27)}$	
	Tekočina		$0,17 - 0,5^{(20)}$ $0,2^{(24)}$			$2^{(6)}$ $1,3 - 1,6^{(27)}$	$0,36 \pm 0,14$ $(20 \text{ ml})^{(20)}$ $0,45 \pm 0,3$ $(60 \text{ ml})^{(20)}$
		Po hrani	Delci	$1 - 4 (1 \text{mm})^{(9)}$ $4,25 \pm 0,75 (900 \text{kcal}, 0,7 - 1,2 \text{ mm pelete})^{(9)}$ $2 (60 \text{g zrezek}, 30 \text{ g jeter})^{(9)}$ $2,3 - 5,6 (>2000 \text{kJ})^{(14)}$ $1,2 - 5,8 (<2000 \text{kJ})^{(14)}$ $4 - 12 (5000 \text{kJ})^{(18)}$ $1,3 \pm 0,14 (1500 \text{kJ})^{(16)}$ $2,83 \pm 0,16 (3600 \text{kJ})^{(16)}$	$0,7 - 2,1^{(26)}$	$3 (60 \text{g zrezek}, 30 \text{ g jeter})^{(9)}$	$3 - 4,5^{(27)}$
		Tablete	$3 - >12 (14 \text{ mm})^{(9)}$ $1,1 - 13 (<2000 \text{kJ})^{(14)}$ $2,1 - 10,2 (>2000 \text{kJ})^{(14)}$				
	ND			$1,5^{(23)}$			
<b>Tanko črevo (h)</b>	Na tešče	Delci	$3 - 4^{(1,6)}$ $4^{(5)}$ $2,7 - 9,2^{(6)}$			$3 - 4^{(27)}$	
		Tablete	$4 \pm 0,25^{(9)}$		$2 \pm 0,25^{(9)}$	$3 - 4^{(27)}$	
	Tekočina	$4^{(10)}$			$3 - 4^{(27)}$	$2,5 (1,5 - 6)^{(20)}$	
	Po hrani	Delci	$3 (0,7 - 1,2 \text{ mm pelete})^{(9)}$	$2,6 - 3,3^{(26)}$			
Tablete		$4,5^{(9)}$					
	Tekočina	$<3^{(9)}$					
	ND	$4^{(23)}$ $3 - 4^{(3)}$	$1,5^{(26)}$ $4 - 5^{(3)}$	$2^{(23)}$ $0,5 - 2^{(8)}$		$6 - 10^{(28)}$	
<b>Debelo črevo (h)</b>	Cekum		$1,9 - 0,9^{(26)}$				
	Kolon	$20 - 30^{(2)}$ $10 - 78^{(3)}$ $6,2 - 54,7^{(8)}$	$6,0 - 7,2^{(8)}$				
<b>Celotni GIT (h)</b>				$12,8^{(23)}$		$17 - 50^{(7)}$ $+38,6 - 55,6^{(29)}$	
						$12 - 24$ $(4 \text{ tedne})^{(7)}$ $35$ $(10 \text{ tednov})^{(7)}$	
	Delci	$46^{(21)}$	$29^{(21)}$	$23^{(21)}$		$48^{(21)}$ $24 - 48^{(27)}$	
	Tekočina					$39^{(21)}$	

ND – pogoji določanja časa prehoda (hrana, aplicirana oblika) niso definirani, <sup>†</sup>Rhesus opica, <sup>°</sup>Cynomolgous opica, <sup>a</sup>t<sub>50%</sub> - čas, ko se izloči 50% delcev, <sup>b</sup> čas, ko je večina delcev še v želodcu

0,2 cm/min v terminalnem ileumu (10). Podoben gradient in hitrosti potovanja skozi tanko črevo so opazili tudi pri podganah (6).

Prehod vsebine iz tankega v debelo črevo nadzoruje ileocekalni sfinkter, ki preprečuje vstop vsebine tankega črevesa v kolon pred zaključkom absorpcije in onemogoča vračanje kolonske vsebine v tanko črevo. Prav zato se večernotne farmacevtske oblike pred vstopom v kolon ponovno združijo in skozi kolon potujejo skupaj (kot bolus). Raziskave na ljudeh so pokazale, da ileocekalni sfinkter za razliko od pilorusnega ne razlikuje med velikostjo farmacevtskih oblik (10).

Čas zadrževanja v debelem črevesu je glede na celokupen čas prehoda skozi prebavni trakt pri vseh živalskih vrstah najdaljši. Raziskave so pokazale, da večje farmacevtske oblike skozi debelo črevo potujejo hitreje kot majhne (2). Prav dolg čas zadrževanja in nizka proteolitična aktivnost sta poglaviti lastnosti debelega črevesa, ki naj bi omogočili boljšo biološko uporabnost učinkovinam z ustreznimi fizikalno-kemijskimi lastnostmi za absorpcijo v kolonu kljub temu, da ima debelo črevo bistveno manjšo absorptivno površino v primerjavi s tankim črevesom in da je difuzija molekul otežena zaradi zelo goste vsebine (2, 4). Tudi za učinkovine z lokalnim delovanjem dolg čas zadrževanja učinkovine na mestu delovanja prispeva k boljši učinkovitosti.

Medvrstne razlike v času prehoda skozi debelo črevo so pogojene z načinom prehranjevanja oz. z različnimi razmerji v velikosti posameznih predelov prebavnega trakta, ki so evolucijska posledica različnih prehranjevalnih navad. Tako je na primer pri rastlinojedcih cekum večji in je zato čas prehoda skozenj bistveno daljši kot pri mesojedcih, kjer je cekum zelo majhen in pri prebavi nima pomembne vloge (6, 7). Poleg tega imajo glodalci v kolonu posebne anatomsko izražene gube, ki omogočajo transport črevesne vsebine, dušika in živih bakterij iz kolona nazaj v cekum, kar dodatno pripomore k metabolizmu v cekumu (cekotrofija). Tak retrograden transport lahko pomembno prispeva k podaljšanju časa potovanja skozi prebavni trakt in s tem k večji biološki uporabnosti predvsem počasi absorbirajočih učinkovin (3). Na drugi strani pa se lahko zaradi krajšega časa potovanja skozi debelo črevo psa farmacevtska oblika namenjena človeku izloči nerazpadla.

Kljub dokaj konstantnemu času prehoda skozi tanko črevo je uporaba časovno odvisnih sistemov za ciljano dostavo v kolon omejena predvsem zaradi velike variabilnosti praznjenja želodca in nezmožnosti prilagajanja individualnim časom prehodov. Učinkovina se namreč iz sistema začne sproščati po nekem v naprej določenem času ne glede na to ali v tem času farmacevtska oblika prispe v kolon ali ne (1).

## 4 Bakterijska mikroflora

Tretji fiziološki dejavnik, ki se zlasti v zadnjem času intenzivno raziskuje za razvoj sistemov s ciljano dostavo v kolon, je bakterijska mikroflora v prebavnem traktu. Bolj natančno, tovrstni sistemi izkoriščajo anaerobne bakterije, specifično prisotne le v debelem črevesju. Te bakterije izločajo vrsto encimov, ki lahko fermentirajo različne endogene in eksogene substrate z azo- in glikozidnimi vezmi, med katerimi najdemo vrsto naravnih di-, oligo- in polisaharidov. Ta značilnost človeškega debelega črevesa ponuja možnost uporabe različnih na tem mestu biorazgradljivih polimerov (polisaharidov) ter

azo- in glukuronil konjugatov za tvorbo predzdravil, kot polimere za oblaganje jedrnega materiala ali kot nosilne ogrodne sisteme, ki specifično dostavijo učinkovino v kolon (1 - 3).

Mikroflora v prebavnem traktu človeka je kompleksen ekosistem, sestavljen iz več kot 400 vrst anaerobnih in aerobnih bakterij. Pomemben vpliv na porazdelitev bakterij vzdolž prebavnega trakta ima tudi pH. Tako je pri človeku v želodcu, duodenumu, jejunumu in zgornjem ileumu le malo bakterij. Nasprotno je pri podgani, ki je koprofag in ima v želodcu višji pH, v zgornjem delu prebavnega trakta prisotnih veliko več bakterij (3, 8).

Tako pri človeku kot tudi pri laboratorijskih živalih je v debelem črevesu bakterijska mikroflora najobilnejša v celotnem prebavnem traktu in se med vrstami bistveno ne razlikuje. Prevladujejo anaerobne bakterije, med katerimi so najštevilčnejše *Bacteroides*, *Lactobacillus* in *Bifidobacteria*, *Clostridium* pa se nahajajo le pri mesojedcih (8).

Kar se tiče bakterijskih encimov v debelem črevesju, pomembnih za razgradnjo različnih polisaharidov, med človekom in laboratorijskimi živalmi ni večjih razlik. Dodatno je za presnovo polisaharidov poleg bakterijske populacije zelo pomemben tudi čas zadrževanja polisaharida na mestu, kjer poteka fermentacija (20), ki pa se med živalskimi vrstami zelo razlikuje.

Nikakor pa ne smemo zanemariti medvrstnih razlik v aktivnosti nekaterih encimov v preostalih predelih prebavnega trakta. Tak primer je  $\alpha$ -glikozidaza, ki je pri podgani v proksimalnem delu tankega črevesa kar 36000-krat, v distalnem delu pa 4000-krat aktivnejša v primerjavi s človekom. To je zlasti pomembno pri preskušanju glikozidnih predzdravil, saj bo pri podgani potekla hidroliza že v tankem črevesju, medtem ko lahko pri človeku pričakujemo, da bo večina nehidroliziranega predzdravila prišla v cekum oz. kolon. Podobno kot pri podganah je tudi pri miših, medtem ko je aktivnost  $\alpha$ -glikozidaze pri zajcih in morskih prašičkih primerljiva s človekom. Nasprotno je encim azoreduktaza, ki je odgovorna za sprostitve učinkovine vezane na nosilec z azo vezjo, tako pri podgani kot človeku aktivna le v debelem črevesju (3).

Encimsko nadzorovanim sistemom daje prav specifična razgradnja večjo zanesljivost za uspešno dostavo učinkovine v kolon v primerjavi s pH in časovno odvisnimi sistemi. Glavna pomanjkljivost v kolonu razgradljivih polimerov je ta, da so to v večini hidrofilni polisaharidi, ki sami po sebi ne uspejo zadržati sproščanja učinkovine do kolona. Zato so potrebne dodatne obloge ali kemijske modifikacije polimerov, ki pa pogosto vodijo k manjši biorazgradljivosti polimera. Poleg tega se moramo zavedati, da lahko tudi pri encimsko nadzorovanih sistemih za dostavo v kolon pričakujemo določeno variabilnost med posamezniki, saj je aktivnost bakterijske mikroflora močno pogojena s starostjo, bolezenskim stanjem (aktivnost azoreduktaz in glikozidaz je pri Chronovih bolnikih manjša), uživanjem antibiotikov ter tudi prehrano, pogostnostjo defeciranja, in drugim (2, 8, 12).

## 5 Zaključek

Ciljana dostava učinkovine v kolon omogoča lokalno zdravljenje bolezni debelega črevesa, lahko pa prispeva tudi k učinkovitejši sistemski terapiji. V literaturi so podatki o tem, katere farmacevtske oblike za ciljano dostavo v kolon so že na tržišču in kakšen je njihov mehanizem doseganja ciljane dostave, redki. Na tržišču so registrirane farmacevtske oblike s pH-nadzorovanim sproščanjem,

pripravljene iz gastrozistentnih polimerov, ki se raztopijo pri višjih pH vrednostih od običajnih gastrozistentnih polimerov, in naj bi omogočali sproščanje učinkovine na koncu tankega črevesa (1, 2, 12). V primerjavi s sistemi s pH nadzorovanim sproščanjem, katerih mehanizem, ki sproži sproščanje učinkovine, ne izkorišča specifične lastnosti debelega črevesa, so prednostni dostavni sistemi, ki vsebujejo tudi polisaharide, razgradljive z encimi bakterijske mikroflore v kolonu, vendar na tržišču še niso dostopni (1). Že dalj časa pa so v uporabi predzdravila, iz katerih se lahko farmakološko aktivni del učinkovine sprostijo le s pomočjo encimov bakterijske mikroflore prisotne v debelem črevesu.

Pri razvoju farmacevtske oblike je vsekakor ključnega pomena izbira ustreznega živalskega modela. V članku zbrani podatki nakazujejo, da se laboratorijske živali precej razlikujejo po fizioloških lastnostih v prebavnem traktu. Seveda izbiro živalskega modela pogojujejo tudi anatomske razlike, saj je že velikost farmacevtske oblike tisti parameter, ki lahko skrči nabor primernih laboratorijskih živali. Tako na primer večjih tablet ali kapsul ne moremo preskušati na majhnih laboratorijskih živalih kot so miši, podgane ali zajci, ker je peroralna aplikacija otežena oz. nemogoča, v primeru intragastralne aplikacije takih farmacevtskih oblik pa je zelo spremenjeno ali pa celo zavrtlo potovanje farmacevtske oblike vzdolž prebavnega trakta. Tako se na primer 11 mm tableta, aplicirana zajcu, iz želodca v 24 urah sploh ne izloči (7).

Izbira živalskega modela, ki bi popolnoma posnemal človeka, je pravzaprav nemogoča, vendar nam je kljub temu lahko dobro poznavanje medvrstnih razlik in podobnosti prebavnega trakta v veliko pomoč tako pri načrtovanju izdelave dostavnega sistema in razvijanju *in vitro* modela za preskušanje farmacevtske oblike kot tudi pri izbiri *in vivo* modela in vrednotenju rezultatov poskusa.

## 6 Literatura

1. Basit W. Advances in colonic drug delivery. *Drugs* 2005; 65 (14): 1991–2007.
2. Van den Mooter G. Colon drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv* 2006; 3 (1): 111–125.
3. Friend DR. Colon-specific drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 1991; 7: 149–99.
4. Mrsny RJ. The colon as site for drug delivery. *J Control Release* 1992; 22: 15–34.
5. Yang L, Chu JS, Fix JA. Colon-specific drug delivery: new approach and *in vitro/in vivo* evaluation. *Int J Pharm* 2002; 235: 1–15.
6. Kararli TT. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharm Drug Dispos* 1995; 16: 351–380.
7. Dressman JB, Yamada K. Animal models for oral drug absorption. In Welling P, Tse FL. *Pharmaceutical bioequivalence*. Marcel Dekker, 1991: 235–266.
8. De Zwart LL, Rompelberg CJM, Sips AJAM et al. Anatomical and physiological differences between various species used in studies on the pharmacokinetics and toxicology of xenobiotics. *RIVM report* 1999.
9. Dressman JB. Comparison of canine and human gastrointestinal physiology. *Pharm Res* 1986; 3 (3), 123–131.
10. Wilding I. Site-specific drug delivery in the gastrointestinal tract. *Crit Rev Ther Drug Carr Syst* 2000; 17 (6):557–620.
11. Shimono N, Takatori T, Ueda M et al. Chitosan dispersed system for colon-specific drug delivery. *Int J Pharm* 2002; 245: 45–54.
12. Friend DR. New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. *Adv Drug Deliv Rev* 2005; 57: 247–265.
13. Shargel L, Wu-Pong S, Yu ABC. Physiologic factors related to drug absorption. In *Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics* 5th edition. Mc Graw Hill Companies, Inc., 2005: 371–409.
14. Follonier N, Doelker E. Biopharmaceutical comparison of oral multiple-unit and single-unit sustained-release dosage forms. *S T P Pharma Sciences* 1992; 2 (2): 141–158.
15. Smits GJM, Lefebvre RA. Influence of aging on gastric emptying of liquids, small intestine transit, and fecal output in rats. *Experim Gerontol* 1996; 31 (5): 589–596.
16. Davis SS, Khosla R, Wilson CG et al. Gastrointestinal transit of a controlled-release pellet formulation of tiaprofenic acid and the effect of food. *Int J Pharm* 1987; 35: 253–258.
17. Wilding IR, Coupe AJ, Davis SS. The role of  $\alpha$ -scintigraphy in oral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 46: 103–124.
18. Marvola M, Kannikoski A, Aito H et al. The effect of food on gastrointestinal transit and drug absorption of a multiparticulate sustained-release verapamil formulation. *Int J Pharm* 1989; 53: 145–155.
19. Clarke GM, Newton JM, Short MB. Comparative gastrointestinal transit of pellet systems of varying density. *Int J Pharm* 1995; 114: 1–11.
20. Kondo H, Takahashi Y, Watanabe T et al. Gastrointestinal transit of liquids in unfed *Cynomolgus* monkeys. *Biopharm Drug Dispos* 2003; 24: 131–140.
21. Martinez M, Amidon G, Clarke L et al. Applying the biopharmaceutics classification system to veterinary pharmaceutical products Part II. Physiological considerations. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54: 825–850.
22. Sunvold GD, Hussein HS, Fahey GC et al. *In vitro* fermentation of cellulose, beet pulp, citrus pulp and citrus pectin using fecal inoculum from cats, dogs, horses, humans and pigs and ruminal fluid from cattle. *J Anim Sci* 1995; 73: 3639–3648.
23. Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm Res* 1993; 10: 1093–1095.
24. Sutton SC. Companion animal physiology and dosage form performance. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56: 1383–1398.
25. Kondo H, Takahashi Y, Nakashima H et al. Characteristics of the gastric pH profiles of unfed and fed *Cynomolgus* monkeys as pharmaceutical product development subjects. *Biopharm Drug Dispos* 2003; 24: 45–51.
26. Tuleu C, Andrieux C, Boy P et al. Gastrointestinal transit of pellets in rats: effect of size and density. *Int J Pharm* 1999; 180: 123–131.
27. Davis SS, Illum L, Hindcliffe M. Gastrointestinal transit of dosage forms in the pig. *J Pharm Pharmacol* 2001; 53: 33–39.
28. Forenbacher S. Klinička fiziologija želuca i crijeva. In Topolnik E. *Klinička patologija probave i mijene tvari domaćih životinja, Svezak 4, Klinička patologija probave i resorpcije*. Jugoslavenska akademija znanosti i umjetnosti, 1980: 15–57.
29. Rabot S, Viso M, Martin F et al. Effect of chair restraint on gastrointestinal transit time and colonic fermentation in male rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J Med Primatol* 1997; 26: 190–195.