



Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

# ***In vitro* potens i förhållande till terapeutisk plasmakoncentration för nio etablerade läkemedel**

*Melinda Johannesson*

---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 04

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2013

---





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## ***In vitro* potens i förhållande till terapeutisk plasmakoncentration för nio etablerade läkemedel**

*In vitro* potency compared to effective plasma concentration for nine marketed drugs

*Melinda Johannesson*

**Handledare:**

Johan Gabrielsson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Examinator:**

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2013

**Omslagsbild:** -

**Serienamn, delnr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 04  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** *In vitro* potens, terapeutisk plasmakoncentration, etablerade läkemedel, läkemedelsutveckling, estimering, brister.

**Key words:** *In vitro* potency, effective plasma concentration, marketed drugs, drug discovery process, prediction, flaws.



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning .....	1
Summary .....	2
Inledning.....	3
Läkemedelsutvecklingsprocessen .....	3
Frågeställningar.....	4
Material och metoder .....	4
Behandling av <i>in vitro</i> potens-data.....	5
Litteraturoversikt.....	5
<i>In vitro</i> potens.....	5
Sammanställning av <i>in vitro</i> potens-data .....	6
Acetylsalicylsyra och Naproxen.....	6
Ketamin .....	7
Klonidin.....	7
Klorpromazin .....	8
Midazolam.....	8
Pindolol .....	9
Skopolamin.....	9
Timolol.....	10
Teorier kring brister i dagens läkemedelsutvecklingsprocess.....	13
Diskussion .....	13
Att skatta terapeutiska plasmakoncentrationer.....	13
Att relatera <i>in vitro</i> potens till terapeutisk plasmakoncentration .....	15
Källor till osäkerhet.....	15
För- och nackdelar med tillvägagångssättet .....	16
Vad visar resultatet? .....	16
Litteraturlista.....	18

## SAMMANFATTNING

Antalet läkemedel som lanseras på marknaden har minskat under mer än ett decennium, vilket väcker frågan om huruvida det finns brister i de metoder och resonemang som används vid utvecklingen av ett nytt läkemedel. Syftet i den här litteraturstudien var att utreda delar av frågan kring eventuella brister med hjälp av följande frågeställningar:

- Vilka *in vitro* potenser kan man hitta vid en litteratursökning för några på marknaden etablerade humana och/eller veterinära läkemedelssubstanser?
- Hur förhåller sig *in vitro* potensen för dessa substanser till den terapeutiska plasmakoncentrationen/det terapeutiska intervallet som har fastställts för dem?
- Vad finns det i dagsläget för teorier kring eventuella brister i den rådande läkemedelsutvecklingsprocessen?

*In vitro* potens-data för nio etablerade läkemedelssubstanser samlades in och jämfördes med respektive substans terapeutiska plasmakoncentration och en kvot erhöles som sedan relaterades till det resultat som presenterades i en mastersuppsats i farmaci av Fabian Göransson där motsvarande kvot genererades för 150 etablerade läkemedelssubstanser. Det sammanvägda resultatet, med tyngdpunkt på Fabians Göranssons resultat, visar att antagandet att den terapeutiska plasmakoncentrationen är minst tre gånger högre än *in vitro* potensen kan leda till främst överestimering men också underestimering av den terapeutiska plasmakoncentrationen och att substanser tenderar att vara mer potenta *in vivo* än *in vitro*. Därför behövs en högre grad av flexibilitet när ovan nämnda antagande praktiseras under läkemedelsutvecklingsprocessen.

Efter en kortare utblick över några teorier kring brister i dagens läkemedelsutvecklingsprocess verkar det som att läkemedelsindustrin behöver revidera samt ifrågasätta lämpligheten hos de principer som idag praktiseras inom området.

## SUMMARY

The number of drugs introduced on the market has been decreasing for the past decade. This raises a question of whether there are flaws amongst the methods applied in today's drug discovery process. The objective of the present study was to explore parts of the above mentioned problem by focusing on the following questions:

- What *in vitro* potency values can be found for a small number of marketed drugs when searching in different databases?
- How does the *in vitro* potency relate to the effective plasma concentration for this set of drugs?
- What theories are there that describes possible flaws in today's drug discovery process?

The objective was achieved by collecting *in vitro* potency data for nine drugs already out on the market and comparing these data to the effective plasma concentration for each drug.

The results were related to the results presented by Fabian Göransson in a master's thesis in pharmacy that included 150 different drugs that were evaluated in the same manner as in the present study. The combined results, with emphasis on the results based on 150 drugs, indicates that the assumption that the effective plasma concentration of a drug is at least three times higher than the *in vitro* potency of the same drug, can result in the effective plasma concentration being overestimated but also at times underestimated. It also indicates that drugs tend to be more potent *in vivo* than *in vitro*. This means that more flexibility is needed when this assumption is to be applied in the drug discovery process.

Finally, a sample of different theories on existing flaws in today's drug discovery process were compiled, and it seems that the drug discovery industry needs to re-evaluate the principles being practiced and question their suitability in today's drug discovery process.

## INLEDNING

I dagens moderna samhälle finns det möjlighet att bota och behandla en rad sjukdomstillstånd som tidigare varit förödande för såväl människor som djur. Här spelar läkemedel en viktig roll. Läkemedel används också för att hantera mer vardagliga åkommor så som huvudvärk eller för att sänka febern när man under vintern drabbas av influensan. Läkemedel har förbättrat livskvaliteten för många som lider av kroniska åkommor och de har gett en trygghet i att många allvarliga sjukdomstillstånd kan behandlas.

Men ännu finns ett flertal sjukdomstillstånd hos både människor och djur som inte kan behandlas på ett bra sätt. Därför krävs det ständigt nya läkemedel för att täcka fler terapiområden såväl som för att förbättra redan befintliga behandlingsmetoder.

### Läkemedelsutvecklingsprocessen

I början av utvecklingsprocessen av ett nytt läkemedel valideras först det tänkta målet, exempelvis den receptor läkemedelssubstansen ska verka på. Det fastställs då att målet har en relevant roll i det sjukdomstillstånd som man vill behandla. Därefter söks så kallade *hits*, substanser med en biologisk aktivitet mot det tänkta målet. Bland dessa *hits* väljs sedan ledande substanser, *leads*, ut. Deras egenskaper optimeras och bland dem selekteras sedan en lämplig läkemedelskandidat för vidare utveckling mot ett färdigt läkemedel (Smith, 2003; Lobmardino & Lowe, 2004; Keserü & Makara, 2009).

En rad krav ställs på de substanser som till slut ska ge upphov till ett nytt läkemedel. Hit hör önskvärda farmakokinetiska och farmakodynamiska egenskaper (McGinnity *et al.*, 2007). Ett viktigt steg tidigt i utvecklingsprocessen är att studera en substans förmåga att *in vitro* binda till det tänkta målet, alltså dess affinitet till exempelvis en receptor (Göransson, 2012).

Utvecklingsprocessen av ett nytt läkemedel kräver mycket resurser och tid, varför det är önskvärt att processen blir så effektiv som möjligt (Lobmardino & Lowe, 2004; Göransson, 2012) och att inte för många potentiella läkemedelskandidater förloras på vägen för att de uppvisat ej önskvärda eller ej tillräckliga egenskaper (McGinnity *et al.*, 2007).

I dagsläget når endast ett fåtal av de substanser som tas fram som läkemedelskandidater ut till konsumenten på marknaden som ett färdigt läkemedel. Till detta hör också att under det senaste årtiondet eller mer har antalet nya läkemedel som lanseras på marknaden minskat (Lobmardino & Lowe, 2004). Syftet med den här litteraturstudien var att, med hjälp av nedanstående frågeställningar, utreda huruvida det inom läkemedelsindustrin skulle behövas nya sätt att resonera kring vad det är som gör en substans till en lämplig läkemedelskandidat.



## Frågeställningar

- Vilka *in vitro* potenser kan man hitta vid en litteratursökning för några på marknaden etablerade humana och/eller veterinära läkemedelssubstanser?
- Hur förhåller sig *in vitro* potensen för dessa substanser till den terapeutiska plasmakoncentrationen/det terapeutiska intervallet som har fastställts för dem?
- Vad finns det i dagsläget för teorier kring eventuella brister i den rådande läkemedelsutvecklingsprocessen?

Den här litteraturstudien var ämnad att utgöra en del i ett större projekt där *in vitro* potens och terapeutisk plasmakoncentration jämförs för etablerade läkemedelssubstanser. Därför relaterades resultatet i den här litteraturstudien till det resultat som presenterades i en mastersuppsats av Göransson (2012), som även den utgör en del i detta större projekt.

## MATERIAL OCH METODER

En lista med 70 möjliga substanser att inkludera i litteraturstudien erhöles av handledaren. Målet var att vid sökning i databaser hitta *in vitro* potens-data för fem till tio substanser från den ursprungliga listan. Som utgångspunkt för sökningen användes International Union of Basic and Clinical Pharmacology's databas (IUPHAR database) där en sökning på substansnamnet gav upphov till *in vitro* potens-data med tillhörande referens. Denna referens letades upp vid en sökning i databaserna Web of Knowledge eller PubMed och materialet bedömdes sedan med avseende på relevans för ändamålet.

Även sökningar direkt på substansnamnet i databaser genomfördes. De databaser som användes var: Web of Knowledge (i vilken Web of Science och CAB Abstracts ingår), Scopus, PubMed, SLU-bibliotekens söktjänst Primo, Google och Google Scholar.

Två sökaspekter användes. Den ena utgjordes av det engelska substansnamnet och i vissa fall det kemiska namnet på engelska. Den andra sökaspekten utgjordes av engelska synonymer för *in vitro* potens. Dessa var: "*in vitro potency*", "*in vitro affinity*", "*in vitro receptor binding*", "*in vitro binding*", "*in vitro IC<sub>50</sub>*", "*in vitro K<sub>i</sub>*" samt "*in vitro characterization*".

För att hitta information om läkemedelsutvecklingsprocessen ur ett övergripande perspektiv användes samma databaser och nu med sökorden: "*drug discovery process*" och "*drug development process*" i kombination med "*problem(s)*" och "*solution(s)*".

En annan källa till information i det här ämnet var en mastersuppsats med tillhörande referenslista av Göransson (2012). Göranssons (2012) sätt att jämföra *in vitro* potens med terapeutisk plasmakoncentration användes också i den här litteraturstudien.

Molekylvikt hämtades från IUPHAR database (2012a-i). Terapeutisk plasmakoncentration och fri fraktion hämtades från Goodman and Gilman's pharmacological basis of therapeutics

(Hardman *et al.*, 1995). Information om substansernas användning i humana och veterinära läkemedel hämtades från FASS.se

## Behandling av *in vitro* potens-data

Under litteratursökningen hittades *in vitro* potens-data för nio substanser. Dessa jämfördes med den terapeutiska plasmakoncentrationen (eller mitten av det terapeutiska plasmakoncentrationsintervallet om det var angivet) enligt Ekvation 1 och en kvot erhöles. Därefter sammanställdes kvoterna tillsammans med övriga insamlade data i Tabell 1.

$$Ratio = \frac{f_u \cdot C_{therapeutic}}{Mw} \cdot \frac{1}{IC_{50,invitro}} \quad (1)$$

där  $f_u$  är fri fraktion,  $C_{therapeutic}$  är terapeutisk plasmakoncentration ( $g \cdot L^{-1}$ ),  $Mw$  är molekylvikt ( $g \cdot mol^{-1}$ ) och  $IC_{50,invitro}$  är *in vitro* potens ( $M, mol \cdot L^{-1}$ ). I de fall *in vitro* potens angivits som ett  $K_i$ - eller  $K_d$ -värde användes det istället.

## LITTERATURÖVERSIKT

### *In vitro* potens

Potens i den levande organismen (*in vivo*) är en substans förmåga att åstadkomma en önskad effekt och uttrycks som den koncentration som ger 50% av den maximala läkemedels-inducerade effekten i en vävnad eller ett organ, det så kallade  $EC_{50}$ -värdet (*effective concentration 50*). En substans med en hög potens kan åstadkomma den önskade effekten vid en lägre koncentration än en substans med en låg potens (Neubig *et al.*, 2003). Förmågan hos en substans att åstadkomma en effekt beror bland annat av dess förmåga att binda till målet i fråga (Rang *et al.*, 2012a), exempelvis en receptor, alltså dess affinitet till receptorn. Med *in vitro* potens menas den här affiniteten till det tänka målet.

*In vitro* potens kan uttryckas på olika sätt:

- $IC_{50}$  (*inhibitory concentration 50*) är den koncentration av substansen som till 50% inhiberar bindningen av en radioaktivt märkt ligand (radioligand) genom att konkurrera om bindningsstället på receptorn (Neubig *et al.*, 2003).
- $K$  är den jämviktsdissociationskonstant som uppkommer mellan associationskonstanten ( $k_{+1}$ ) och dissociationskonstanten ( $k_{-1}$ ) vid jämvikt i en substans-receptorbindningsreaktion. Det kan sedan förtydligas från vilken typ av bindningsstudie  $K$  har genererats (Neubig *et al.*, 2003).
  - $K_d$ : I bindningsstudier där substansen av intressen själv är märkt, exempelvis radioaktivt, kan jämviktsdissociationskonstanten  $K_d$  genereras (Neubig *et al.*, 2003).

- $K_i$ : I kompetitiva radioligandbindningsstudier (*displacementstudier*) kan en substans förmåga att konkurrera ut bindningen av en radioligand mätas och jämviktsdissociationskonstanten  $K_i$  genereras (Neubig *et al.*, 2003).

Genom att använda Cheng-Prusoffs formel (Ekvation 2) (Cheng & Prusoff, 1973) är det möjligt att från  $IC_{50}$ -värden, design- och koncentrationsoberoende, generera  $K_i$ -värden.

$$K_i = \frac{IC_{50}}{S} \cdot \left( 1 + \frac{S}{K_d} \right) \quad (2)$$

där  $S$  är koncentrationen av radioliganden och  $K_d$  är radioligandens jämviktsdissociationskonstant.

Man kan också betrakta  $IC_{50}$  som en funktion av substansens sanna  $K_i$ -värde och den aktuella koncentrationen av radioliganden  $S$  (Ekvation 3) (Cheng & Prusoff, 1973).

$$IC_{50} = K_i \cdot \left( 1 + \frac{S}{K_d} \right) \quad (3)$$

*In vitro* potens studeras under den prekliniska delen av läkemedelsutvecklingsprocessen både på humana *targets* och motsvarande *targets* hos försöksdjur. Den används sedan för att dels, tillsammans med farmakokinetikdata från *in vitro*-studier (exempelvis clearance-data från hepatocyter (Huang *et al.*, 2007)), förutsäga hur den tänkta läkemedelskandidaten kommer att verka i försöksdjur *in vivo*. *In vitro* potensen används även för att, tillsammans med bland annat *in vivo* potensen hos försöksdjur, estimerar den dos och den plasmakoncentration som behövs för att ge den önskade effekten i de kliniska studierna (Göransson, 2012) hos den tänkta patientgruppen.

## Sammanställning av *in vitro* potens-data

### **Acetylsalicylsyra och Naproxen**

Acetylsalicylsyra och naproxen är hämmare av cyclooxygenas (COX) –enzymer (Warner *et al.*, 1999) och används som smärtstillande, antiinflammatoriska och febernedsättande medel, exempelvis vid huvudvärk och smärta i muskler och leder (FASS.se, 2009a; FASS.se, 2010a) Acetylsalicylsyra används även som trombocytagerationshämmande medel vid exempelvis trombosprofilax (FASS.se, 2011).

Warner *et al.* (1999) presenterade *in vitro* potens-data för acetylsalicylsyra och naproxen i försök där *human whole blood assay* (WBA) och *William Harveys modifierade assay* (WHMA) användes, vilket innebar att försöken inte ägde rum i en plasmaproteinfri miljö. I studien uppmättes *in vitro* potens både till COX-1 och COX-2. Dock innebar acetylsalicylsyras instabilitet i helblod att *in vitro* potens-data till COX-2 endast kunde genereras vid WHMA-studierna. Som mått på COX-aktiviteten i WBA mättes halterna av

tromboxan B<sub>2</sub>. Som mått på COX-aktiviteten i WHMA mättes halterna av prostaglandin E<sub>2</sub>. Det framgick dock inte tydligt vilken/vilka den/de radioaktivt märkta substansen/substanserna var. *In vitro* potensen presenterades i form av *IC*<sub>50</sub>-värden som för COX-1 bestod av poolade resultat från WBA och WHMA och för COX-2 presenterades resultat från WBA och WHMA separat.

Kvoten mellan den terapeutiska plasmakoncentrationen och *in vitro* potensen (Tabell 1) beräknades enligt Ekvation 4 och 5. För acetylsalicylsyra användes ett medelvärde av *in vitro* potensen till COX-1 och COX-2. För naproxen användes ett medelvärde av *in vitro* potensen till COX-1 och COX-2 (från WBA och WHMA).

$$Ratio_{\text{acetylsalicylic acid}} = \frac{0.51 \cdot 225 \cdot 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}}{180.04} \cdot \frac{1}{4.6 \cdot 10^{-6} \text{ M}} \approx 140 \quad (4)$$

$$Ratio_{\text{naproxen}} = \frac{0.003 \cdot 50 \cdot 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}}{230.09} \cdot \frac{1}{24.1 \cdot 10^{-6} \text{ M}} \approx 0.027 \quad (5)$$

### **Ketamin**

Ketamin verkar genom att blockera den excitatoriska transmittorsubstansen glutamats NMDA-receptor (Rang *et al.*, 2012b) och används som ett snabbverkande allmänanestetikum för induktion och underhåll av anestesi (FASS.se, 2012a).

Shiver *et al.* (1998) studerade en möjlig radioaktivt märkt substans ((+)-3-[<sup>1</sup>C]-cyano-dizocilpine) för PET (*positron emission tomography*)-studier där NMDA-receptorn var målet. Shiver *et al.* (1998) studerade även den inhiberande effekt som ketamin kunde ha på PET-substansens bindning till receptorn. *In vitro* potens-data genererades från pelletterade cerebrala cellmembran från Sprague-Dawley råttor. *Displacementstudierna* ägde rum i närvaro av L-glutamat och glycin som möjliggjorde bindning av de testade substanserna till NMDA-receptorn. Innan försöken mättes proteinkoncentrationen i cellmembranpelleten och det utfördes försök där enbart PET-substansens *in vitro* potens studerades. Vid *displacementstudierna* tillsattes ketamin i stigande koncentrationer vid 37°C, gammastrålningen från PET-substansen mättes och *IC*<sub>50</sub>-värdet beräknades. De värden som presenterades var medelvärden från tre separata försök som utfördes i duplikat.

Kvoten mellan den terapeutiska plasmakoncentrationen och *in vitro* potensen (Tabell 1) beräknades enligt Ekvation 6.

$$Ratio_{\text{ketamine}} = \frac{0.88 \cdot 125 \cdot 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}}{237.09} \cdot \frac{1}{3.91 \cdot 10^{-6} \text{ M}} \approx 0.12 \quad (6)$$

### **Klonidin**

Klonidin är en α<sub>2</sub>-receptoragonist (Jasper *et al.*, 1998) och används som centralt verkande blodtryckssänkande medel vid hypertoni (FASS.se, 2012b).

Jasper *et al.* (1998) presenterade *in vitro* potens-data för klonidin från *displacementstudier* utförda vid rumstemperatur med pelleterade cellmembran från *Humana Embryo Kidney* celler (HEK 293-celler) som uttryckte de humana  $\alpha_{2a}$ -,  $\alpha_{2b}$ - och  $\alpha_{2c}$ -adrenerga receptorerna. [ $^3H$ ]MK-912 användes som radioligand. Gammastrålningen från radioliganden mättes,  $IC_{50}$ -värden togs fram och via Cheng-Prusoffs formel (Ekvation 2) (Cheng & Prusoff, 1973) beräknades  $K_i$ -värden. De värden som presenterades var medelvärden från tre till fyra separata försök.

Kvoten mellan den terapeutiska plasmakoncentrationen och *in vitro* potensen (Tabell 1) beräknades enligt Ekvation 7. För klonidin användes ett medelvärde av *in vitro* potensen till  $\alpha_{2a}$ -,  $\alpha_{2b}$ - och  $\alpha_{2c}$ -receptorerna.

$$Ratio_{\text{clonidine}} = \frac{0.8 \cdot 1.1 \cdot 10^{-6} \text{ g} \cdot L^{-1}}{229.02} \cdot \frac{1}{88.6 \cdot 10^{-9} M} \approx 0.043 \quad (7)$$

### **Klorpromazin**

Klorpromazin är en dopamin  $D_2$  antagonist (Freedman *et al.*, 1993) och används vid behandling av olika psykoser som exempelvis schizofreni (U.S. National Library of Medicine – National Institute of Health – MedLinePlus, 2011). Substansen ingår för närvarande inte i några registrerade läkemedel i Sverige (FASS.se, 2007).

Freedman *et al.* (1993) presenterade *in vitro* potens-data för klorpromazin från *displacementstudier* utförda vid 30°C med pelleterade cellmembran från *Chinese Hamster Ovary* celler (CHO-celler) som uttryckte de humana  $D_2$ - och  $D_3$ -receptorerna. [ $^{125}I$ ]iodosulpiride användes som radioligand. Dopaminreceptorantagonisten haloperidol användes för att bestämma den specifika bindningen och därefter mättes gammastrålningen från radioliganden. De bindningsresultat som erhöles analyserades statistiskt med regressionsanalys och parade t-test. De  $K_i$ -värden som redovisades var medelvärden från åtta separata försök.

Kvoten mellan den terapeutiska plasmakoncentrationen och *in vitro* potensen (Tabell 1) beräknades enligt Ekvation 8. För klorpromazin användes *in vitro* potensen till  $D_2$ -receptorn.

$$Ratio_{\text{chlorpromazine}} = \frac{0.035 \cdot 190 \cdot 10^{-6} \text{ g} \cdot L^{-1}}{318.1} \cdot \frac{1}{8.0 \cdot 10^{-9} M} \approx 2.6 \quad (8)$$

### **Midazolam**

Midazolam är ett bensodiazepinderivat som verkar stimulerande på  $\gamma$ -aminobutyric acid's (GABA)  $GABA_A$ -receptorer i CNS (Rang *et al.*, 2012c) och används som lugnande medel och sömnmedel (FASS.se, 2010b).

Arendt *et al.* (1987) presenterade *in vitro* potens-data för midazolam från *displacementstudier* utförda vid 0°C med en fast proteinkoncentration av pelleterade cellmembran från kortikala regioner i CNS hos Sprague-Dawley råttor. (<sup>3</sup>H)-flunitrazepam användes som radioligand. Gammastrålningen från radioliganden mättes och via Cheng-Prusoffs formel (Ekvation 2) (Cheng & Prusoff, 1973) genererades  $K_i$ -värden. De  $K_i$ -värden som redovisades var medelvärden från två till tre separata mätningar.

Enheten för den *in vitro* potens som presenterades var inte angiven, varför enheten nM antogs i den här litteraturstudien baserat på enheten hos de övriga data som presenterades i Arendt *et al.*'s (1987) beräkningar.

Kvoten mellan den terapeutiska plasmakoncentrationen och *in vitro* potensen (Tabell 1) beräknades enligt Ekvation 9.

$$Ratio_{\text{midazolam}} = \frac{0.05 \cdot 50 \cdot 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}}{325.08} \cdot \frac{1}{0.44 \cdot 10^{-9} \text{ M}} \approx 17 \quad (9)$$

### **Pindolol**

Pindolol är en  $\beta_1$  - och  $\beta_2$ -receptorantagonist och används vid behandling av supraventrikulär takyarytmi, kärlkramp samt hypertoni (FASS.se, 2010c).

Tejani-Butt och Brunswick (1986) presenterade *in vitro* potens-data för pindolol från *displacementstudier* utförda vid 37°C med pelleterade cerebellara och kortikala cellmembran från CNS hos Sprague-Dawley råttor. (-)-[<sup>125</sup>I]iodopindolol (IPIN) användes som radioligand. Pindolols förmåga att konkurrera ut IPIN's bindning till receptorerna mättes i närvaro av GTP. Detta för att minimera möjligheten till flera affinitetsstadier hos receptorerna. Gammastrålningen från radioliganden mättes och isoproterenol användes för att mäta den specifika bindningen. Därefter beräknades  $IC_{50}$ -värden och  $K_i$ -värden för substanserna och de värden som redovisades var medelvärden av liknande värden från minst två separata försök.

Kvoten mellan den terapeutiska plasmakoncentrationen och *in vitro* potensen (Tabell 1) beräknades enligt Ekvation 10. För pindolol användes ett medelvärde av *in vitro* potensen till  $\beta_1$  - och  $\beta_2$ -receptorerna.

$$Ratio_{\text{pindolol}} = \frac{0.49 \cdot 4.5 \cdot 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}}{248.15} \cdot \frac{1}{1 \cdot 10^{-9} \text{ M}} \approx 8.9 \quad (10)$$

### **Skopolamin**

Skopolamin är en antagonist mot acetylcholins muskarinreceptorer och används i depåplåster som profylax mot rörelsesjuka (FASS.se, 2013). Skopolamin förekommer även i kombination med morfin i preparat för postoperativ behandling där det har en sekretionshämmande funktion (FASS.se, 2009b).

Bolden *et al.* (1991) presenterade *in vitro* potens-data för skopolamin från *displacementstudier* utförda vid 37°C med pelleterade cellmembran från *Chinese Hamster Ovary* celler (CHO-K1) som uttryckte acetylkolins muskarinreceptorer (M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub>, samt M<sub>4</sub> och M<sub>5</sub>). [<sup>3</sup>H]quinuclidinyl benzilate användes som radioligand. Innan försöken mättes proteinkoncentrationen i cellmembranpelleten. Den specifika bindningen av radioliganden erhöles från beräkningar av dess totala och ospecifika bindning. Därefter beräknades *K<sub>d</sub>*-värden. De *K<sub>d</sub>*-värden som presenterades var medelvärden från minst tre separata försök som utfördes i duplikat.

Analyser utfördes av det mRNA som CHO-K1 cellerna uttryckte där det säkerställdes att det var rätt muskarinreceptor-subtyp som uttrycktes i försöken.

Kvoten mellan den terapeutiska plasmakoncentrationen och *in vitro* potensen (Tabell 1) beräknades enligt Ekvation 11. Då den fria fraktionen för skopolamin inte fanns definierad i Hardman *et al.* (1995) sattes den till 1. För skopolamin användes ett medelvärde av *in vitro* potensen till M<sub>1</sub>-, M<sub>2</sub>- och M<sub>3</sub>-receptorerna.

$$Ratio_{\text{scopolamine}} = \frac{1 \cdot 40 \cdot 10^{-9} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}}{303.15} \cdot \frac{1}{1.18 \cdot 10^{-9} \text{ M}} \approx 0.11 \quad (11)$$

### **Timolol**

Timolol är en β<sub>1</sub>- och β<sub>2</sub>-adrenoreceptorantagonist och används i läkemedel som sänker det intraokulära trycket vid glaukom och andra ögonsjukdomar med ett förhöjt intraokulärt tryck (FASS.se, 2012c).

Baker (2005) presenterade *in vitro* potens-data för timolol från *displacementstudier* utförda vid 37°C i serumfri miljö med hela *Chinese Hamster Ovary* celler (CHO-K1) som uttryckte de humana β<sub>1</sub>-, β<sub>2</sub>- och β<sub>3</sub>-adrenoreceptorerna. <sup>3</sup>H-CGP 12177 användes som radioligand. Alla försök utfördes i triplikat och varje 96-hålsplatta innehöll tredubbla uppsättningar för att inkludera bedömning av total och ospecifik bindning. Från *IC<sub>50</sub>*-värden beräknades *K<sub>d</sub>*-värden.

Kvoten mellan den terapeutiska plasmakoncentrationen och *in vitro* potensen (Tabell 1) beräknades enligt Ekvation 12. För timolol användes ett medelvärde av *in vitro* potensen till β<sub>1</sub>- och β<sub>2</sub>-receptorerna.

$$Ratio_{\text{timolol}} = \frac{0.4 \cdot 15 \cdot 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}}{316.16} \cdot \frac{1}{2.79 \cdot 10^{-9} \text{ M}} \approx 6.8 \quad (12)$$

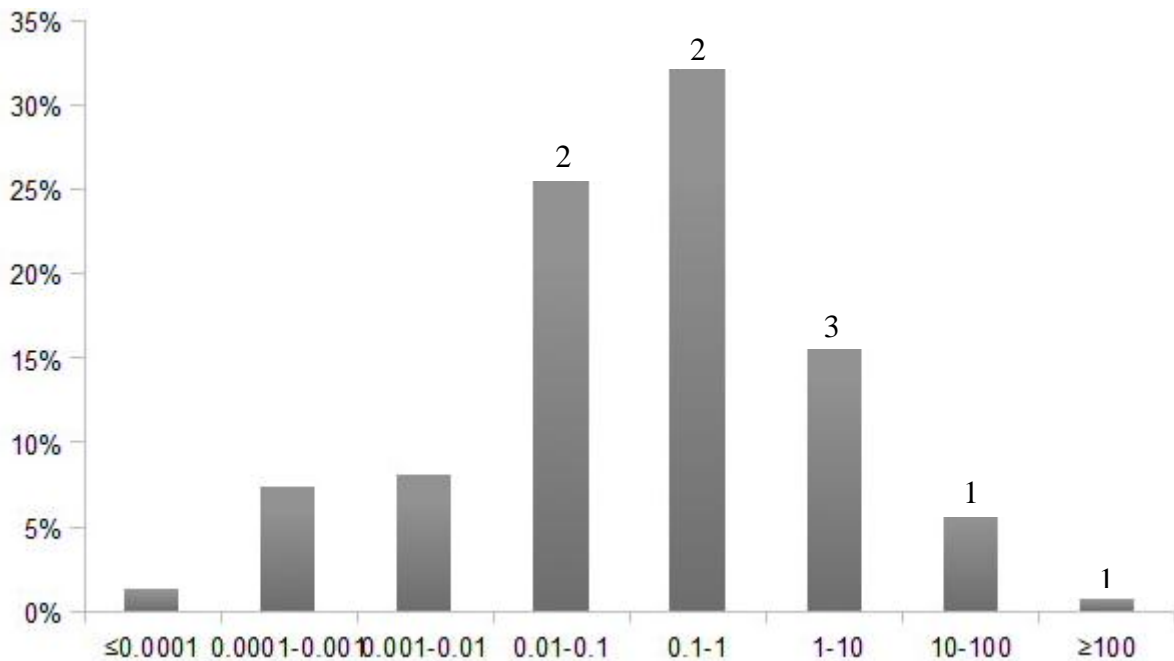
Tabell 1. Molekylvikt, *in vitro* potens, terapeutisk plasmakoncentration, fri fraktion, kvot mellan terapeutisk plasmakoncentration och *in vitro* potens, uttryck för *in vitro* potens samt verkningsmekanism för de nio inkluderade substanserna

Substans	Molekylvikt ( $g \cdot mol^{-1}$ )	<i>In vitro</i> potens ( $M$ )	Terapeutisk Plasmakon- centration ( $\mu g \cdot L^{-1}$ )	Fri fraktion ( $f_u$ )	Kvot: terapeutisk plasma- koncentration / <i>in vitro</i> potens	Uttryck för <i>in</i> <i>vitro</i> potens	Verknings- mekanism
Acetylsalicylsyra <sup>1</sup>	180.04 <sup>#a</sup>	$4.6 \cdot 10^{-6}$	$225 \cdot 10^3$	0.51	140	$IC_{50}$	Enzymshämmare <sup>1</sup>
Ketamin <sup>2*</sup>	237.09 <sup>#b</sup>	$3.91 \cdot 10^{-6}$	125	0.88	0.12	$IC_{50}$	Antagonist <sup>9</sup>
Klonidin <sup>3</sup>	229.02 <sup>#c</sup>	$88.6 \cdot 10^{-9}$	1.1	0.8	0.043	$K_i$	Agonist <sup>3</sup>
Klorpromazin <sup>4</sup>	318.1 <sup>#d</sup>	$8.0 \cdot 10^{-9}$	190	0.035 <sup>q</sup>	2.6	$K_i$	Antagonist <sup>4</sup>
Midazolam <sup>5*</sup>	325.08 <sup>#e</sup>	$0.44 \cdot 10^{-9}$	50	0.05	17	$K_i$	Agonist <sup>10</sup>
Naproxen <sup>1</sup>	230.09 <sup>#f</sup>	$24.1 \cdot 10^{-6}$	$50 \cdot 10^3$	0.003	0.027	$IC_{50}$	Enzymshämmare <sup>1</sup>
Pindolol <sup>6*</sup>	248.15 <sup>#g</sup>	$1 \cdot 10^{-9}$	4.5	0.49	8.9	$K_i$	Antagonist <sup>11</sup>
Skopolamin <sup>7</sup>	303.15 <sup>#h</sup>	$1.18 \cdot 10^{-9}$	0.04	N.D.	0.11	$K_d$	Antagonist <sup>7</sup>
Timolol <sup>8</sup>	316.16 <sup>#i</sup>	$2.79 \cdot 10^{-9}$	15	0.4	6.8	$K_d$	Antagonist <sup>8</sup>

Terapeutisk plasmakoncentration och fri fraktion hämtades från Hardman et al. (1995), \* data från råttor, # IUPHAR database (2012a, b, c, d, e, f, g, h, i), <sup>q</sup> mitten av ett intervall, <sup>1</sup> Warner et al. (1999), <sup>2</sup> Shiver et al. (1998), <sup>3</sup> Jasper et al. (1998), <sup>4</sup> Freedman et al. (1993), <sup>5</sup> Arendt et al. (1987), <sup>6</sup> Tejani-Butt och Brunswick (1986), <sup>7</sup> Bolden et al. (1991), <sup>8</sup> Baker (2005), <sup>9</sup> Rang et al. (2012b), <sup>10</sup> Rang et al. (2012c), <sup>11</sup> FASS.se (2010c), N.D. Not defined.



De kvoter som erhöles i den här litteraturstudien relaterades till det resultat Göransson (2012) presenterade (Figur 1).



Figur 1. Frekvensdiagram av Göransson (2012). Visar fördelningen av 150 substanser i olika intervall baserat på kvoten mellan terapeutisk plasmakoncentration och *in vitro* potens. Siffran över staplarna indikerar antalet substanser från den här litteraturstudien som placerar sig i respektive intervall.

De kvoter som beräknades mellan den terapeutiska plasmakoncentrationen och *in vitro* potensen för de nio substanserna är tänkta att illustrera hur terapeutisk plasmakoncentration och *in vitro* potens förhåller sig till varandra. Vissa substanser, exempelvis acetylsalicylsyra, hade en kvot större än 100 (Tabell 1). Detta i kontrast till exempelvis naproxen och klonidin, vilka visade en kvot mindre än 0.1 (Tabell 1).

Substanser med en *in vitro* potens på *nM*-nivå hade över lag en terapeutisk plasmakoncentration på  $ng \cdot mL^{-1}$ -nivå. På samma sätt hade substanser med en *in vitro* potens på  $\mu M$ -nivå över lag en terapeutisk plasmakoncentration på  $\mu g \cdot mL^{-1}$ -nivå. Fyra av substanserna hade en kvot mindre än 1 och fem av substanserna hade en kvot större än 1.

## Teorier kring brister i dagens läkemedelsutvecklingsprocess

Det finns ett antal olika teorier som beskriver begränsningarna i dagens läkemedelsutvecklingsprocess. Nedan följer en sammanställning av några sådana teorier.

- *High-throughput screening* (HTS) för selektion av substanser för vidare utveckling baserat på hög *in vitro* potens ger ogynnsamma farmakokinetiska egenskaper (Lombardino & Lowe, 2004), då de fysikalkemiska egenskaperna som gynnar *in vitro* potens respektive farmakokinetiska egenskaper skiljer sig åt (Gleeson *et al.*, 2011).
- Låg löslighet hos de substanser som väljs ut under tidig screening skapar svårigheter senare i utvecklingsprocessen (Keserü & Makara, 2009).
- Fokus på en låg plasmaproteinbindningsgrad i tron att det ger en hög fri koncentration för det färdiga läkemedlet kan innebära att fel substanser selekteras till vidare utveckling (Smith *et al.*, 2010).
- Selektion av substanser efter fysikalkemiska egenskaper baserat på en tillämpning av *The Rule of Five* (Lipinski *et al.*, 2001) (där substanser bedöms med avseende på molekylvikt, lipofilitet samt möjlighet att bilda vätebindningar) med för skarpa gränser och utan olika tyngd lagd till de olika fysikalkemiska egenskaperna ger inte en rättvisande bedömning av substanser (Petit *et al.*, 2012).
- Kravet att snabbt generera många *leads* till vidare utveckling och optimering bidrar till dåliga grundförutsättningar, då exempelvis de metoder som används inte alltid kan skräddarsys för att passa substanser med fysikalkemiska egenskaper som skiljer sig från normen. Detta kan vara en del i orsaken till ej önskvärda fysikalkemiska egenskaper hos *leads* (Keserü & Makara, 2009).
- Antagandet att den terapeutiska plasmakoncentrationen är minst tre gånger högre än *in vitro* potensen är inte optimalt och när det tillämpas bör det ske mer flexibelt (Göransson, 2012).

## DISKUSSION

### Att skatta terapeutiska plasmakoncentrationer

Det finns olika sätt att resonera när man skattar den terapeutiska plasmakoncentrationen *in vivo*. Ett allmänt vedertaget tillvägagångssätt är att utgå från att den terapeutiska plasmakoncentrationen kommer att vara minst tre gånger högre än *in vitro* potensen för att därigenom garanterat ge en god effekt (McGinnity *et al.*, 2007; Göransson, 2012).

Detta är ett antagande värt att grundligare studera för att optimera läkemedelsutvecklingen och ett fåtal sådana studier har genomförts (McGinnity *et al.*, 2007; Göransson, 2012).

McGinnity *et al.* (2007) menar att det med tillförlitliga *in vitro* potens-data går att skatta den terapeutiska plasmakoncentrationen och att när detta vägs samman med farmakokinetikparametrar, som clearance och halveringstid, möjliggör skattning av den terapeutiska dosen

med acceptabel noggrannhet. Samtidigt visade samma studie att det för en på marknaden etablerad substans, går att skatta en dos som är mellan tre och fem gånger högre än den dos som idag anses ge upphov till en terapeutisk plasmakoncentration (McGinnity *et al.*, 2007).

Göransson (2012) visade vid studier av *in vitro* potens och terapeutisk plasmakoncentration för etablerade substanser att de tenderade att vara mer potenta *in vivo* än *in vitro* då kvoten terapeutisk plasmakoncentration / *in vitro* potens var mindre än 1 för en majoritet av substanserna. Därför menar han att mer flexibilitet behövs vid tillämpning av antagandet att den terapeutiska plasmakoncentrationen är minst tre gånger högre än *in vitro* potensen, men att antagandet fortfarande utgör ett bra verktyg vid utvecklingen av en potentiell läkemedelskandidat.

Det finns också antaganden inom läkemedelsindustrin att en substans med en hög *in vitro* potens skulle generera ett läkemedel med en lägre terapeutisk dos (Gleeson *et al.*, 2011). Här bör beaktas att terapeutisk dos inte är det samma som terapeutisk plasmakoncentration då farmakokinetikparametrar påverkar hur mycket av dosen som når det systemiska kretsloppet och sedan målorganet. Gleeson *et al.* (2011) kom fram till att det saknas ett starkt samband mellan *in vitro* potens och terapeutisk dos men att det förmodligen har sin grund i att farmakokinetiska egenskaper och *in vitro* potens gynnas av olika fysikalkemiska egenskaper. Gleeson *et al.* (2011) brister i att det inte var den terapeutiska plasmakoncentrationen som jämfördes med *in vitro* potensen, utan istället den terapeutiska dosen. Gleeson *et al.* (2011) menar också att det inte gynnar läkemedelsindustrin att fokusera på höga *in vitro* potenser då det kan ske på bekostnad av sämre farmakokinetiska egenskaper och därmed inte öka andelen av potentiella läkemedelskandidater som slutligen blir färdiga läkemedel.

Huang *et al.* (2007) menar att det är möjligt att från *in vitro* potens-data förutsäga vilken dos som behövs *in vivo* för att få önskad effekt med en bra säkerhet när man väger in farmakokinetiska data som visar på exponeringen i målorganismen. Detta påstående grundar sig på en mindre studie som enbart innefattade 10 substanser och där den dos som estimerades under prekliniska studier var 1.2 till 2.3 gånger högre än den faktiska dos som observerades under kliniska studier. Återigen bör skillnaden mellan terapeutisk dos och terapeutisk plasmakoncentration beaktas.

Att resultatet från den här litteraturstudien tyder på att en *in vitro* potens på  $\mu M$ -nivå ger en terapeutisk plasmakoncentration på  $\mu g \cdot mL^{-1}$ -nivå och en *in vitro* potens på  $nM$ -nivå ger en terapeutisk plasmakoncentration på  $ng \cdot mL^{-1}$ -nivå motsäger inte Gleeson *et al.*'s (2011) konklusioner angående avsaknaden av ett starkt samband mellan terapeutisk dos och *in vitro* potens, eftersom det i den här litteraturstudien var terapeutisk plasmakoncentration och inte terapeutisk dos som jämfördes med *in vitro* potensen och det kan hända mycket med ett läkemedel från det att det ges tills att det når målorganet.

## Att relatera *in vitro* potens till terapeutisk plasmakoncentration

### Källor till osäkerhet

Först och främst bör påpekas att de *in vitro* potens-värden som anges som ett  $K_d$ -värde för skopolamin och timolol mer framstår som ett  $K_i$ -värde enligt respektive studies metodbeskrivning. Detta illustrerar en felanvändning av dessa två begrepp som har kunnat följas som en röd tråd vid insamlingen av *in vitro* potens-data under den här litteraturstudien.

När en substans *in vitro* potens anges som ett  $IC_{50}$ -värde har det inte skett någon korrigerings för den koncentration i vilken den konkurrerande radioaktivt märkta liganden tillsattes. Detta korrigeras genom att använda Cheng-Prusoffs formel (Ekvation 2) (Cheng & Prusoff, 1973) för att generera ett  $K_i$ -värde från  $IC_{50}$ -värdet.  $K_i$ -värdet är oberoende av koncentrationen av den konkurrerande liganden (Gabrielsson, J., SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, pers. med., 2013-02-27). Detta gäller i den här litteraturstudien för ketamin, men troligtvis inte för acetylsalicylsyra och naproxen då dessa inte testades i displacementstudier.

Även Göransson (2012) använde sig av  $IC_{50}$ -värden vid beräkningarna av de kvoter som presenterades. Kanske hade valet av ett annat uttryck för *in vitro* potens varit att föredra.

### Värt att notera angående *in vitro* potens-studierna

- En del *in vitro* potens-data kom från studier som inte var fria från plasmaproteiner och i en del studier framgick det inte om det förekom proteinrester från cellodlingsmediet eller inte. Trots detta togs den fria fraktionen,  $f_u$ , med i beräkningarna i den här litteraturstudien av praktiska skäl.
- *In vitro* potens-data för ketamin, midazolam och pindolol erhöles från studier på receptorer från råttor och inte humana receptorer.
- Pindolols *in vitro* potens studerades på  $\beta_1$ - och  $\beta_2$ -receptorer i CNS, trots att pindolol är menad att verka utanför CNS. Dessutom utfördes studierna inte i en miljö med bara  $\beta_1$ - eller  $\beta_2$ -receptorer, utan endast med en betydande majoritet av den ena eller den andra receptortypen.
- Alla studier utfördes heller inte vid kroppstemperatur (ca 37°C), vilket skulle ha varit bättre för att återspegla förhållandena *in vivo*.
- NMDA-receptorerna aktiverades innan ketamins *in vitro* potens studerades, vilket kanske inte motsvarade den verkliga situationen *in vivo*.
- Hela celler användes när timolol studerades, vilket Baker (2005) menade gav en mer rättvisande bild av affiniteten till det studerade receptorn befinner sig i kroppen där GTP finns närvarande. Tejani-Butt och Brunswick, (1986) tillsatte istället GTP i försöket där pindolol studerades vilket bör ha gett en liknande påverkan på resultatet.

- Det finns också en risk att beskrivningen av studierna har tolkats fel i samband med litteraturinsamlingen.

### **För- och nackdelar med tillvägagångssättet**

En fördel med tillvägagångssättet i den här litteraturstudien och Göranssons (2012) studie är att *in vitro* potens relaterades till terapeutisk plasmakoncentration och inte till terapeutisk dos. Därmed tilläts inte resultatet påverkas av exempelvis en låg biotillgänglighet.

Att hänsyn togs till den fria fraktionen för substanserna innebar att *in vitro* potens relaterades till den fria plasmakoncentrationen som driver den farmakologiska effekten (Smith *et al.*, 2010).

Nackdelar med det här tillvägagångssättet framgår dels i all den osäkerhet som uppkom när data från flera olika källor användes. Att flera olika uttryck för *in vitro* potens användes var inte optimalt.

I den här litteraturstudien har substanser med olika *targets* och olika administreringsvägar inkluderats. Kanske hade en fokus på exempelvis en viss administreringsväg, vilket var fallet i Göranssons (2012) studie, eller ett visst *target* varit att föredra. Syftet var heller inte att hitta *in vitro* potens-data för substanser som motsvarar fördelningen bland marknadsförda substanser idag när det gäller *targets*, verkningsmekanismer eller administreringsvägar. Detta kräver en mer omfattande litteraturstudie.

När *in vitro* potens-data för en substans fanns presenterat för flera subtyper av ett *target* gjordes en förenkling genom att ett medelvärde av dessa *in vitro* potenser användes. Alternativt användes data från det *target* substansen främst är menad att verka på. Detta kan påverka korrektheten i resultatet.

Enbart *in vitro* potens-data för moderssubstanserna inkluderades, vilket bortser från eventuella metaboliter som också har en farmakologisk aktivitet (Göransson, 2012).

Göransson simulerade den terapeutiska plasmakoncentrationen från tidigare fastställd dosering och farmakokinetikparametrar, till skillnad från tillvägagångssättet i den här litteraturstudien där den terapeutiska plasmakoncentrationen hämtades från Goodman and Gilman's pharmacological basis of therapeutics (Hardman *et al.*, 1995). Göransson (2012) diskuterade den osäkerhet som uppkom vid simuleringen när hänsyn endast togs till ett fåtal farmakokinetikparametrar och det gjordes ett antagande att receptorerna är jämt fördelade i kroppen. Det är möjligt att denna osäkerhet blev mindre betydande i den här litteraturstudien, eftersom den terapeutiska plasmakoncentrationen inte simulerades.

### **Vad visar resultatet?**

När kvoterna som erhöles vid den här litteraturstudien relaterades till det resultat som Göransson (2012) presenterade (Figur 1) överensstämde dessa inte helt och hållet med varandra. I den här litteraturstudien hade fyra av substanserna en kvot mindre än 1 och fem av substanserna en kvot större än 1. I motsats till Göranssons (2012) konklusion att etablerade substanser tenderar att vara mer potenta *in vivo* än *in vitro*, skulle substansernas fördelning i den här litteraturstudien kunna tyda på det motsatta, det vill säga en högre potens *in vitro* än *in vivo*.

Dock innebär det faktum att den här litteraturstudien var av sådan ringa omfattning, den lilla skillnaden i antal substanser med en kvot mindre än 1 respektive större än 1 samt att en blandning av olika uttryck för *in vitro* potens användes, att studien bör ses i ett större sammanhang hellre än för sig själv. Därför verkar det rimligare att utfallet stödjer Göranssons (2012) resultat såväl som konklusioner.

Då det fanns både låga och höga kvoter bland substanserna i Göranssons (2012) studie (och även i den här litteraturstudien), kan det indikera att antagandet att den terapeutiska plasmakoncentrationen är minst tre gånger högre än *in vitro* potensen kan ge både över- och underestimeringar av den terapeutiska plasmakoncentrationen. Utfallet i Göranssons (2012) studie tyder på att överestimeringar troligtvis är vanligare än underestimering.

Om Göranssons (2012) konklusion att substanser är mer potenta *in vivo* än *in vitro* stämmer, ger estimeringen att den terapeutiska plasmakoncentrationen är minst tre gånger högre än *in vitro* potensen en överestimering av den terapeutiska plasmakoncentrationen. Det skulle också innebära att substanser inte behöver uppvisa en väldigt hög *in vitro* potens för att fortfarande ge önskad effekt vid inte allt för höga plasmakoncentrationer. I enlighet med Gleeson *et al.* (2011) skulle en mindre intensiv jakt på höga *in vitro* potenser generera substanser med bättre farmakokinetiska egenskaper.

Att binda till en receptor är inte samma sak som att aktivera den (Rang *et al.*, 2012a), vilket är viktigt att komma ihåg vid estimering av den terapeutiska plasmakoncentrationen.

Konceptet *spare receptors* innebär att det kan finnas fler receptorer i en vävnad än vad som behövs för att ge upphov till vävnadens maximala svar (Rang *et al.*, 2012a). Det kan därför krävas att färre receptorer binder en ligand för att nå det önskade svaret än vad som estimerats från *in vitro* potens-data. Detta stödjer Göranssons (2012) konklusion att substanser är mer potenta *in vivo* än *in vitro*.

Även när *in vitro* potens används för att estimerar den terapeutiska dosen verkar det ofta ske överestimeringar (Huang *et al.*, 2007; McGinnity *et al.*, 2007), även när antagandet att *in vitro* potensen är minst tre gånger högre än den terapeutiska plasmakoncentrationen inte används (Huang *et al.*, 2007). Att relatera *in vitro* potens till terapeutisk plasmakoncentration istället för terapeutisk dos är dock att föredra. Detta eftersom den mängd av en substans som når ut i blodet påverkas av många faktorer och det är den slutgiltiga plasmakoncentrationen som har betydelse för effekten.

Man skulle kunna tänka sig att fördelningen av substanserna i den här litteraturstudien (fyra substanser med en kvot mindre än 1 och fem substanser med en kvot större än 1) kan ha sin grund i verkningsmekanismerna för substanserna. Det är möjligt att det exempelvis krävs en högre plasmakoncentration *in vivo* (och alltså en högre kvot mellan terapeutisk plasmakoncentration och *in vitro* potens) för att nå den önskade effekten om substansen är en antagonist eller en enzymhämmare. Detta eftersom substansen då ska blockera en fysiologisk signaleringsväg, till skillnad från agonister som verkar stimulerande. Dock verkar inget sådant mönster kunna urskiljas i resultatet från den här litteraturstudien. I Göranssons (2012) studie ses tendenser till ett sådant mönster, om än inte helt övertygande.

Resultatet baserat på de nio substanserna från den här litteraturstudien är tänkt att ses om en del i ett större projekt, där etablerade substanser studeras med avseende på förhållandet mellan *in vitro* potens och terapeutisk plasmakoncentration. Resultatet bör därför vägas samman med Göranssons (2012) resultat, (vilket också är en del i detta större projekt) som är baserat på 150 substanser, för att några slutsatser ska kunna dras.

Baserat på Göranssons (2012) resultat, verkar det som att antagandet att den terapeutiska plasmakoncentrationen är minst tre gånger högre än *in vitro* potensen kan ge främst överestimeringar men också underestimeringar av den terapeutiska plasmakoncentrationen. Det tycks också möjligt att substanser är mer potenta *in vivo* än *in vitro*.

En kortare utblick över olika teorier kring vad som brister i dagens läkemedelsutvecklingsprocess gav intrycket att det finns ett behov av revidering samt ifrågasättande av lämpligheten hos de principer som idag är praxis inom läkemedelsutvecklingen.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Arendt, R. M., Greenblatt, D. J., Liebisch, D. C., Luu, M. D. & Paul, S. M. (1987). Determinants of benzodiazepine brain uptake: lipophilicity versus binding affinity. *Psychopharmacology*, 93, 72-76.
- Baker, J. G. (2005). The selectivity of  $\beta$ -adrenoceptor antagonists at the human  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  and  $\beta_3$  adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology*, 144, 317-322.
- Bolden, C., Cusack, B. & Richelson, E. (1991). Antagonism by antimuscarinic and neuroleptic compounds at the five cloned human muscarinic cholinergic receptors expressed in chinese hamster ovary cells, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 260, 576-580.
- Cheng, Y. & Prusoff, W. H. (1973). Relationship between the inhibition constant ( $K_I$ ) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition ( $I_{50}$ ) of an enzymatic reaction. *Biochemical Pharmacology*, 22, 3099-3108.
- FASS.se. Hibernol produktresumé. [online] (2007-12-31). Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk.t.jsp?NplID=19550228000057&DocTypeID=6](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk.t.jsp?NplID=19550228000057&DocTypeID=6)  
. [2013-02-28].
- FASS.se. Naproxen BMM Pharma produktresumé. [online] (2009-03-20a). Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk.t.jsp?NplID=19871211000206&DocTypeID=6](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk.t.jsp?NplID=19871211000206&DocTypeID=6)  
. [2013-02-28].
- FASS.se. Morfin-Skopolamin Meda produktresumé. [online] (2009-03-11b). Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk.t.jsp?NplID=19731214000033&DocTypeID=6](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk.t.jsp?NplID=19731214000033&DocTypeID=6)  
. [2013-02-28].
- FASS.se. Aspirin produktresumé. [online] (2010-07-02a). Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk.t.jsp?NplID=19350131000010&DocTypeID=6](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk.t.jsp?NplID=19350131000010&DocTypeID=6)  
. [2013-02-28].

- FASS.se. Midazolam Panpharma produktresumé. [online] (2010-05-28b). Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk.t.jsp?NplID=20051112000017&DocTypeID=6](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk.t.jsp?NplID=20051112000017&DocTypeID=6)  
. [2013-02-28].
- FASS.se. Pindolol Mylan produktresumé. [online] (2010-02-08c). Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk.t.jsp?NplID=19870327000117&DocTypeID=6](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk.t.jsp?NplID=19870327000117&DocTypeID=6)  
. [2013-02-28].
- FASS.se. Acetylsalicylsyra Actavis produktresumé. [online] (2011-05-27). Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk.t.jsp?NplID=20100310000142&DocTypeID=6](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk.t.jsp?NplID=20100310000142&DocTypeID=6)  
. [2013-02-28].
- FASS.se. Ketalar produktresumé. [online] (2012-01-23a). Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk.t.jsp?NplID=19730302000016&DocTypeID=6](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk.t.jsp?NplID=19730302000016&DocTypeID=6)  
. [2013-02-28].
- FASS.se. Catapresan produktresumé. [online] (2012-09-30b). Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk.t.jsp?NplID=19700925000021&DocTypeID=6](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk.t.jsp?NplID=19700925000021&DocTypeID=6)  
. [2013-02-28].
- FASS.se. Ganfort produktresumé. [online] (2012-10-30c). Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk.t.jsp?NplID=20050706000013&DocTypeID=6](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk.t.jsp?NplID=20050706000013&DocTypeID=6)  
. [2013-02-28].
- FASS.se. Scopoderm produktresumé. [online] (2013-01-28). Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk.t.jsp?NplID=19830909000010&DocTypeID=6](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk.t.jsp?NplID=19830909000010&DocTypeID=6)  
. [2013-02-28].
- Freedman, S. B., Patel, S., Marwood, R., Emms, F., Searbrook, G. R., Knowles, M. R. & McAllister, G. (1993). Expression and pharmacological characterization of the human D<sub>3</sub> dopamine receptor. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 268, 417-426.
- Göransson, F. (2012). Quantitative comparisons of effective drug concentrations – clinically, preclinically *in vivo*, and *in vitro*. Master's thesis. Göteborgs Universitet.
- Gleeson, M. P., Hersey, A., Montanari, D. & Overington, J. (2011). Probing the links between *in vitro* potency, ADMET and physicochemical parameters. *Nature reviews drug discovery*, 10, 197-208.
- Hardman, J. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W. & Goodman Gilman, A. (1995). *Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*. 9. uppl. New York. McGraw-Hill.
- Huang, C., Zheng, M., Yang, Z., Rodrigues, A. D. & Marathe, P. (2007). Projection of exposure and efficacious dose prior to first-in-human studies: how successful have we been?. *Pharmaceutical Research*, 25, 713-726.
- International Union of Basic and Clinical Pharmacology database. Aspirin. [online] (2012-11-26a). Tillgänglig: <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/LigandDisplayForward?ligandId=4139>. [2013-03-08].
- International Union of Basic and Clinical Pharmacology database. Ketamine. [online] (2012-11-26b). Tillgänglig: <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/LigandDisplayForward?ligandId=4233>. [2013-03-08].



- International Union of Basic and Clinical Pharmacology database. Clonidine. [online] (2012-11-26c). Tillgänglig: <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/LigandDisplayForward?ligandId=516>. [2013-03-08].
- International Union of Basic and Clinical Pharmacology database. Chlorpromazine. [online] (2012-11-26d). Tillgänglig: <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/LigandDisplayForward?ligandId=83>. [2013-03-08].
- International Union of Basic and Clinical Pharmacology database. Midazolam. [online] (2012-11-26e). Tillgänglig: <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/LigandDisplayForward?ligandId=3342>. [2013-03-08].
- International Union of Basic and Clinical Pharmacology database. Naproxen. [online] (2012-11-26f). Tillgänglig: <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/LigandDisplayForward?ligandId=5230>. [2013-03-08].
- International Union of Basic and Clinical Pharmacology database. Pindolol. [online] (2012-11-26g). Tillgänglig: <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/LigandDisplayForward?ligandId=91>. [2013-03-08].
- International Union of Basic and Clinical Pharmacology database. Scopolamine. [online] (2012-11-26h). Tillgänglig: <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/LigandDisplayForward?ligandId=330>. [2013-03-08].
- International Union of Basic and Clinical Pharmacology database. Timolol. [online] (2012-11-26i). Tillgänglig: <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/LigandDisplayForward?ligandId=565>. [2013-03-08].
- Jasper, J. R., Lesnick, J. D., Chang, L. K., Yamanishi, S. S., Chang, T. K., Hsu, S. A. O., Daunt, D. A., Bonhaus, D. W. & Eglen, R. M. (1998). Ligand efficacy and potency at recombinant  $\alpha_2$  adrenergic receptors – agonist-mediated [ $^{35}\text{S}$ ]GTP $\gamma$ S binding. *Biochemical Pharmacology*, 55, 1035-1043.
- Keserü, G. M. & Makara, G. M. (2009). The influence of lead discovery strategies on the properties of drug candidates. *Nature reviews drug discovery*, 8, 203-212.
- Lombardino, J. G. & Lowe, J. A. (2004). The role of the medicinal chemist in drug discovery - then and now. *Nature reviews drug discovery*, 3, 853-861.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W. & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46, 3-26.
- McGinnity, D. F., Collington, J., Austin, R. P. & Riley, R. J. (2007). Evaluation of human pharmacokinetics, therapeutic dose and exposure predictions using marketed oral drugs. *Current Drug Metabolism*, 8, 463-479.
- Neubig, R. R., Spedding, M., Kenakin, T. & Christopoulos, A. (2003). International union of pharmacology committee on receptor nomenclature and drug classification. XXXVIII. Update on terms and symbols in quantitative pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 55, 597-606.
- Petit, J., Meurice, N., Kaiser, C. & Maggiora, G. (2012). Softening the rule of five – where to draw the line? *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20, 5343-5351.

- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., Flower, R. J. & Hnederson, G. (2012a). How drugs act: general principles: *Rang and Dale's Pharmacology*. 7. uppl. Edinburgh. Elsevier Churchill Livingstone. Kap. 2.
- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., Flower, R. J. & Hnederson, G. (2012b). General anaesthetic agents: *Rang and Dale's Pharmacology*. 7. uppl. Edinburgh. Elsevier Churchill Livingstone. Kap. 40.
- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., Flower, R. J. & Hnederson, G. (2012c). Anxiolytic and hypnotic drugs: *Rang and Dale's Pharmacology*. 7. uppl. Edinburgh. Elsevier Churchill Livingstone. Kap. 43.
- Smith, C. (2003). Drug target validation: Hitting the target. *Nature*, 422, 341-347.
- Shiver, S., Shiver, W., Andersson, Y., Murata, T., Bergsström, M., Onoe, H., Matsumura, K., Tsukada, H., Orelund, L., Långström, B. & Watanabe, Y. (1998). *In vitro* and *in vivo* characterization of (+)-3- $^{14}\text{C}$ cyano-dizocilpine. *Journal of Neural Transmission*, 105, 117-131.
- Smith, D. A., Di, L. & Kerns, E. H. (2010). The effect of plasma protein binding on *in vivo* efficacy: misconceptions in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9, 929-939.
- Tejani-Butt, S. M. & Brunswick, D. J. (1986). Synthesis and  $\beta$ -adrenergic receptor blocking potency of 1-(substituted amino)-3-(4-indolyloxy)propan-2-ols. *Journal of Medicinal Chemistry*, 29, 1524-1527.
- U.S. National Library of Medicine – National Institute of Health – MedLinePlus. Chlorpromazine. [online] (2011-05-16). Tillgänglig: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/meds/a682040.html>. [2013-02-28].
- Warner, T. D., Giuliano, F., Vojnovic, I., Bukasa, A., Mitchcell, J. A. & Vane, J. R. (1999). Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full *in vitro* analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96, 7563-7568.