



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

Revisión bibliográfica de los excipientes y su papel en la absorción de medicamentos

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2015

Autor: Miguel Soler Carreño
Modalidad: Revisión bibliográfica
Tutor/es: Marta González Álvarez
María Isabel González Álvarez
María del Val Bermejo Sanz
Víctor Mangas Sanjuan

Contenido

Resumen.....	2
Materiales y métodos.....	3
Introducción.....	3
La industria farmacéutica.....	3
Legislación sobre los medicamentos genéricos.....	6
Sistema de clasificación biofarmacéutica.....	6
Bioexención.....	8
Medida de los parámetros BCS.....	10
Métodos para determinar la solubilidad.....	10
Determinación de la velocidad de disolución.....	11
Técnicas para determinar la permeabilidad.....	13
Determinación de la velocidad de vaciado gástrico.....	19
Absorción gastrointestinal.....	20
Objetivos.....	23
Resultados y discusión.....	24
Excipientes que afectan la permeabilidad de los fármacos.....	24
Excipientes que afectan la velocidad de disolución de los fármacos.....	32
Excipientes que afectan la velocidad del tránsito intestinal.....	35
Conclusiones.....	40

Resumen

La industria farmacéutica requiere de investigación, desarrollo y herramientas para obtener medicamentos con nuevos principios activos así como genéricos. El Sistema de Clasificación Biofarmacéutica es un marco científico con implicaciones regulatorias para la selección de la metodología apropiada en la demostración de la bioequivalencia pero también tiene utilidad como herramienta en la etapa de desarrollo puesto que define los factores limitantes para la absorción oral. El BCS traslada el punto de atención desde el plasma al lugar de absorción puesto que la liberación en el medio intestinal, la concentración a saturación en dicho medio y la permeabilidad en la membrana intestinal son los determinantes de la velocidad y magnitud de absorción oral. La base del BCS es la hipótesis de que dos medicamentos con el mismo principio activo que produzcan el mismo perfil de concentración/tiempo en la vecindad de la membrana intestinal en cualquier condición luminal tendrán la misma velocidad y magnitud de absorción. Este sistema permite simplificar los ensayos bioequivalencia de medicamentos y establecer los criterios para la concesión de bioexenciones de manera que se garantice la calidad de los medicamentos genéricos. La atención del BCS está centrada en el principio activo de la forma farmacéutica sin tener en cuenta los excipientes que lo acompañan. Sin embargo, diversos estudios puntuales sugieren que este sistema de clasificación es susceptible de mejora ampliando el foco de atención a las sustancias que acompañan al principio activo. De hecho, diversos estudios indican que los excipientes, que habitualmente han sido considerados sustancias inertes, pueden modificar estos parámetros fundamentales que condicionan la biodisponibilidad, como la velocidad de disolución, la permeabilidad, la velocidad de disgregación o la motilidad y velocidad del tránsito intestinal. En este trabajo se ha realizado una búsqueda bibliográfica con el fin de identificar el efecto de determinados excipientes en estos parámetros de referencia y en base a los resultados obtenidos se ha propuesto las modificaciones que se debería incorporar a las guías regulatorias para

garantizar de manera inequívoca la bioequivalencia de los medicamentos que contienen fármacos clase III.

Materiales y métodos

El trabajo se ha llevado a cabo realizando una búsqueda bibliográfica utilizando la base de datos Medline. Como criterio de búsqueda se utilizaron los términos “excipients”, “Drugs”, “Motility”, “Dissolution”, “permeability”, “Doluisio”, “generic” “Biopharmaceutical Classification System” por separado y combinaciones de los mismos.

Después de la lectura de los artículos encontrados y selección de los más relevantes se recopiló a su vez la bibliografía más interesante de cada artículo para añadirla al dossier de artículos. Esta bibliografía se ha utilizado para realizar los antecedentes y el apartado de resultados del presente trabajo.

Introducción

La industria farmacéutica

La industria farmacéutica destina grandes fondos a la investigación para el desarrollo, producción y comercialización de nuevos medicamentos así como a la realización de los controles, ensayos e informes requeridos por los diferentes órganos regulatorios como *The Food and Drug Administration* (FDA) en el caso de los Estados Unidos, *The European Medicine Agency* (EMA) para la mayoría de Europa y *The Committe on Safety o Medicines* (CSM) en el de Reino Unido. El proceso de desarrollo de un fármaco es caro, complejo y largo. Durante los años 80 sacar un fármaco al mercado costaba alrededor de 194 millones de dólares y 12 años de estudios científicos y gestiones burocráticas.

Cuando se lanza un nuevo medicamento en el mercado, la empresa que lo comercializa tiene exclusividad durante el periodo de vigencia de la patente pero una vez que esta ha expirado se pueden desarrollar genéricos.

El sector privado cada vez está menos interesado en este tipo de investigación. De hecho, en la empresa privada se pueden identificar tres tipos de procesos de investigación/ innovación:

- Innovación incremental: la que da lugar a nuevas formas de dosificación y nuevas formulaciones.
- Innovación escalonada: la que da lugar a nuevas moléculas de una familia química que presentan algunas diferencias en sus propiedades, como indicaciones, efectos secundarios y metabolización del fármaco.
- Innovación revolucionaria: la que se refiere a un enfoque verdaderamente nuevo de una enfermedad que implica una nueva entidad química (NEQ).

Esta última modalidad es la más arriesgada y la que requiere mayor esfuerzo e inversión. En las últimas décadas, la investigación financiada con fondos públicos ha sido la que ha hecho posible la realización de este tipo de proyectos de investigación más costosos y arriesgados, de los cuales el resto de la industria privada puede y/o logra beneficiarse. Un informe del *National Institute of Health* (NIH) reveló que solamente el 15% del gasto total en I+D de la industria farmacéutica se destinaba a la investigación básica, mientras que el 38% se destinaba a la investigación aplicada y el 48% al desarrollo de productos (figura 1)

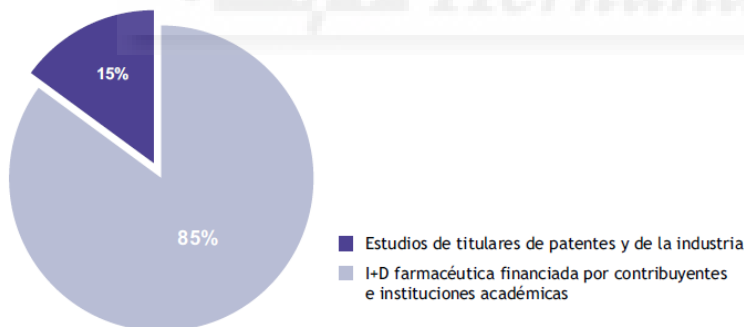


Figura 1. Procedencia de los fondos monetarios para inversiones en la industria farmacéutica.

De hecho, según *“The truth about Drug Companies”*, de Marcia Angell, las empresas farmacéuticas no dependen ya de sus propias investigaciones para desarrollar medicamentos nuevos, y son pocas las grandes empresas que lo hacen, como se muestra en la figura 1. Al menos la tercera parte de los medicamentos comercializados por las grandes empresas farmacéuticas

trabajan actualmente con licencias adquiridas a universidades o pequeñas empresas de biotecnología, que suelen ser las más innovadoras.

Es por ello que para la industria farmacéutica actual resulta más atractivo el mercado de genéricos. Datos publicados indican que estas empresas invierten una media de entre 6-16% de sus ingresos anuales en I+D, llegando en algunos casos al 30%. Como se puede ver en la figura 2, la inversión en I+D ha estado creciendo desde 2002 a 2006.¹

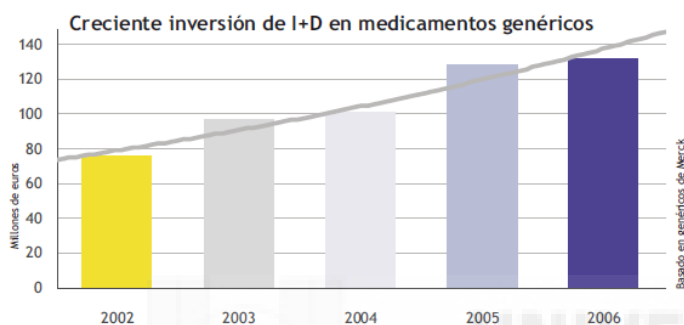


Figura 2. Inversión en I+D por parte de la industria del genérico

Los medicamentos genéricos tienen la misma eficacia, seguridad y calidad que los fármacos innovadores de referencia, de hecho, se demuestra clínicamente su bioequivalencia, así como su capacidad de ser sustituidos por el medicamento de referencia (o viceversa) sin alterar la salud del paciente.

La industria genérica europea se está convirtiendo en la principal proveedora de medicamentos en la Unión Europea. De hecho, según un estudio de mercado en 2006: “Los mercados farmacéuticos genéricos europeos” se estima que el 50% de los medicamentos dispensados son genéricos.

Debido a lo anteriormente expuesto, el sector del fármaco genérico está en pleno de auge en la Unión Europea, desarrollándose plenamente, expandiéndose hacia una mayor cuota de mercado, estableciendo un liderazgo en el campo de los medicamentos biosimilares a nivel global, creando nuevas empresas, puestos de trabajo y aumentando la competitividad industrial de Europa a nivel mundial.

¹ AESEG- Asociación Española de Medicamentos Genéricos [Internet]. Madrid; España.

A pesar de esto, para que la industria del genérico mantenga su crecimiento, los gobiernos de la Unión Europea deben promulgar nuevas leyes en un marco normativo, económico y legislativo que regulen óptimamente la competitividad entre medicamentos genéricos.

Legislación sobre los medicamentos genéricos

Según el reglamento 726/204 y Directiva 2001/83/CE artículo 10, apartado 2, letra b se “entenderá por medicamento genérico todo medicamento que tenga la misma composición cualitativa y cuantitativa en sustancias activas y la misma forma farmacéutica y cuya bioequivalencia con el medicamento de referencia haya sido demostrada por estudios adecuados de biodisponibilidad”. Las diferentes sales, ésteres, éteres, isómeros, mezclas de isómeros, complejos o derivados de una sustancia activa se considerarán una misma sustancia activa, a menos que tengan propiedades considerablemente diferentes en cuanto a seguridad y /o eficacia, en cuyo caso el solicitante deberá facilitar datos suplementarios para demostrar la seguridad y/o eficacia de la diversidad de sales, ésteres, o derivados presentes en una sustancia activa autorizada. Las diferentes formas farmacéuticas orales de liberación inmediata se consideraran una misma forma farmacéutica. El solicitante podrá estar dispensado de los estudios de biodisponibilidad si puede demostrar que el medicamento genérico satisface los criterios pertinentes definidos en las correspondientes directrices.

Los estudios de bioequivalencia demuestran, como su nombre indica, la equivalencia entre el producto ensayado y el producto de referencia. El medicamento genérico y el producto de referencia se consideran bioequivalentes (y, por tanto, intercambiables) cuando el estudio de bioequivalencia demuestra que las dos formulaciones no presentan diferencias significativas en la velocidad y el grado de absorción en el organismo.

Sistema de clasificación biofarmacéutica

El sistema de clasificación biofarmacéutica (BCS) es un marco científico que agrupa los fármacos según ciertas características como su solubilidad en el medio gastrointestinal y su permeabilidad a través del epitelio intestinal. La

tabla 1 muestra las características de los cuatro tipos de fármacos según la clasificación BCS. En el contexto de investigación e industria farmacéutica internacional el BCS es consultado habitualmente, y es el adoptado por la FDA y la EMA como la base para la realización de medicamentos destinados a la administración por vía oral.

El BCS facilita la clasificación y selección de aquellos fármacos con propiedades favorables entre sales y polimorfos. Además, indirectamente, indica la estrategia que debe seguir el desarrollo de una formulación de un determinado fármaco para mejorar tanto su absorción como su permeabilidad. También puede ser útil para evaluar la relevancia de las interacciones entre fármacos y alimentos.

Clase I	Clase II
Alta solubilidad Alta permeabilidad	Baja solubilidad Alta permeabilidad
Clase III	Clase IV
Alta solubilidad Baja permeabilidad	Baja solubilidad Baja permeabilidad

Tabla 1. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica

Un fármaco se considera altamente soluble cuando la dosis terapéutica más elevada es soluble en no más de 250 mL de solución tamponada a pH comprendidos entre 1-7,5. Por otro lado un fármaco se considera altamente permeable cuando la fracción absorbida en humanos es igual o mayor al 85-90% de la dosis administrada según EMA o FDA (pendiente de cambio a 85% en el borrado de mayo 2015) respectivamente.²

La permeabilidad es la capacidad que tiene el fármaco de atravesar la membrana intestinal hacia el torrente circulatorio, de modo que está directamente relacionada con la biodisponibilidad. Estudios realizados han permitido establecer una correlación válida entre la permeabilidad y la fracción oral absorbida.

²Varum FJ, Merchant HA, Basit AW. Oral modified-release formulations in motion: The relationship between gastrointestinal transit and drug absorption. Int J Pharm.2010.VOL 395(1-2):26-36

Según esto, los parámetros que condicionarán la biodisponibilidad de un fármaco son la solubilidad, la velocidad de disolución y la permeabilidad a través de la mucosa intestinal. Cuando un fármaco tiene una solubilidad elevada, su disolución no está limitada por ella, de modo que la absorción no está limitada por dichos factores. Por lo que en los fármacos en los que existe una alta solubilidad y permeabilidad el vaciamiento gástrico y tránsito intestinal son los únicos factores que determinan la velocidad de absorción.

Bioexención

La bioexención consiste en sustituir el ensayo de bioequivalencia de un fármaco *in vivo* por *in vitro*. Además puede ser considerado como un estudio comparativo de los perfiles de disolución *in vitro* entre la formulación que se ensaya y el producto de referencia. Se aplica a formas farmacéuticas orales sólidas de liberación inmediata con acción sistémica.

En un inicio las bioexenciones fueron usadas por los fabricantes de productos innovadores, cuando necesitaban demostrar que cambios post-registro o de escala no afectaban al desempeño de las formulaciones. Posteriormente, se aceptaron también para la aprobación de productos genéricos que contiene principios activos con ciertas características de solubilidad y permeabilidad. Según el BCS en aquellas formulaciones sólidas de liberación inmediata que contengan fármacos de alta solubilidad (Clase I y III), que disuelvan al menos el 85% de la sustancia activa en 15 minutos o menos, se puede asegurar que la biodisponibilidad del fármaco no está limitada por la disolución; en estos casos, el paso limitante de la velocidad de absorción es el vaciado gástrico.

Una bioexención se aplica a formas farmacéuticas sólida de liberación inmediata y acción sistémica que tenga la misma forma farmacéutica que el innovador, que no sean de estrecho margen terapéutico y siempre que cumplan las siguientes condiciones:

- Principios activos con alta solubilidad y alta permeabilidad (clase I) cuyas formulaciones presenten muy rápida ($\geq 85\%$ en 15 minutos) o rápida ($\geq 85\%$ en 30 minutos) disolución *in vitro* y que los perfiles entre el producto de referencia y la formulación ensayada sean similares a pH

1,2; 4,5 y 6,8. En general, se prefiere que los excipientes usados sean los mismo y en cantidades similares.

- Principios activos con alta solubilidad y baja permeabilidad (clase III) cuyas formulaciones presente muy rápida disolución *in vitro* y que los perfiles entre el producto de referencia y la formulación ensayada sea similares a pH 1,2; 4,5 y 6,8.³ Los excipientes que pueden afectar la biodisponibilidad deber ser cualitativa y cuantitativamente los mismos.

La FDA contempla las bioexenciones basadas en el BCS para productos administrativos por vía oral, que se disuelvan rápidamente ($\geq 90\%$ en 15 minutos) o rápida ($\geq 90\%$ en 30 minutos) y contengan fármaco altamente solubles y altamente permeables. Se recomienda que se estudien los perfiles de disolución a pH 1,2, 4,5 y 6,8. En mayo de 2015 se ha publicado el nuevo borrador de la Guía de la FDA en la que se contemplan unas condiciones de bioexención similares a las establecidas por la EMA.

Algunos estudios han tratado de contrastar si formulaciones aprobadas como bioequivalentes mediante estudios *in vivo* hubieran sido también aprobadas mediante estudios *in vitro* en una bioexención. Ramirez et al⁴ publicaron ejemplos de ensayos clínicos de bioequivalencia en los que algunos fármacos clase I como Isoniazida y Zolpidem habían fallado el ensayo *in vivo*. Estos autores argumentaban que los ensayos de disolución habían sido superados con éxito por las formulaciones no equivalentes. Si bien cabe argumentar que dichos estudios de disolución correspondían a los de la metodología de disolución de control de calidad que no es necesariamente predictiva del comportamiento *in vivo*, mientras que para una bioexención se requieren perfiles a diversos pH's. Por otro lado la razón de no bioequivalencia o inequivalencia de estas formulaciones se estudió exhaustivamente y se determinó que se debía a la acción de determinados excipientes. En concreto, la formulación de Isoniazida contenía manitol como diluyente, por lo tanto

³ Gabriela-Colón S. Tesis doctoral: Caracterización biofarmacéutica de zolpidem, cloperastina y pravastatina. Universidad complutense de Madrid.2014

⁴ Ramirez E, Laosa O, Guerra P, Duque B, Mosquera B, Borobia A M, et al. Acceptability and characteristics of 124 human bioequivalence studies with active substances classified according to the Biopharmaceutic Classification System. *Br J Clin Pharmacol* **2010**, 70, (5), 694-702.

nunca habría sido candidato a una bioexención. En el caso de la formulación de Zolpidem las diferencias encontradas en C_{max}, que se consideraron bioequivalentes por aplicarse un intervalo más amplio de aceptación era posible que se tratase de un ensayo fallido por azar si bien estudios más detallados permitieron observar que los excipientes que acompañaban al principio activo en la formulación genérica provocaban, un pequeño retraso en el vaciado gástrico y en la disgregación de los comprimidos⁵. En resumen, estos estudios demuestran que para garantizar la seguridad de las bioexenciones es muy importante no menospreciar la influencia de los excipientes en la permeabilidad y el tránsito intestinal.

Medida de los parámetros BCS

Métodos para determinar la solubilidad

La FDA establece que un fármaco es altamente soluble cuando la dosis más alta que se prescribe es soluble en un volumen igual o menor a 250mL en el intervalo de pH entre 1,2 y 7,5 a 37°C. La EMA establece que un fármaco es altamente soluble cuando la dosis más alta que se administra por vía oral (formulación de liberación inmediata) se disuelve completamente en 250mL de solución amortiguadora en el rango de pH entre 1 y 6,8 a 37± 1°C.

La OMS considera que una sustancia activa es altamente soluble cuando la dosis más alta recomendada en el listado de medicamentos esenciales de la OMS y que se comercializa como forma farmacéutica sólida es soluble en un volumen igual o menos que 250mL en un rango de pH entre 1,2 y 6,8 a 37°C.

Tanto la EMA como la FDA recomiendan el método de agitación del matraz o cualquier otro método debidamente justificado para la determinación de la solubilidad. Se debe considerar ciertos factores antes de la determinación de la solubilidad: el tamaño de partícula, la forma cristalina, la capacidad de ionización y el contra ion en caso de ser una sal. También se debe considerar

⁵ S Colon-Useche, I Gonzalez-Alvarez, V Mangas-Sanjuan, M Gonzalez-Alvarez, P Pastoriza, M. Bermejo, et al. Zolpidem Bioavailability affected by excipients. A BCS-based dissolution approach to explore Biowaiver risks. Molecular Pharmaceutics (accepted)

la capacidad de agregación y formación de micelas que pueda presentar el sólido, así como la adsorción que pueda producirse por exceso del mismo.

Agitación en matraz

Es el método clásico para determinar la solubilidad y es considerado el método de referencia. Se basa en la saturación de un medio con el compuesto a estudiar con el fin de alcanzar el equilibrio. Para ello se coloca un exceso de compuesto sólido en viales de entre 2 y 20mL que contienen el medio que es generalmente una solución amortiguadora, previamente ajustada al pH objeto de estudio. Los viales se tapan y la suspensión resultante se agita a una temperatura constante (25 a 37°C) durante un tiempo determinado. La observación de material no disuelto indica que se ha formado una solución saturada. Una vez alcanzado este equilibrio, la muestra se filtra o centrifuga a fin de separar el sobrenadante del sólido no disuelto y se cuantifica.

Titulación potenciométrica

Este método puede aplicarse a sustancias ionizables y se basa en el cambio característico de una curva de titulación ácido-base provocada por la precipitación de la sustancia estudiada. Para realizar la titulación se adicionan volúmenes exactamente medidos de una solución estandarizada de ácido o base a una solución que contenga la sustancia a estudiar y cloruro potásico 0,15 M, con el fin de que la exactitud en la medida del pH sea la más elevada posible. Se burbujea argón al sistema a fin de evitar que el dióxido de la atmósfera pueda alterar el valor del pH, el cual puede ser medido y controlado constantemente gracias a un electrodo de vidrio. El gráfico se construye con el valor del pH en función del volumen utilizado de ácido o base se denomina como "curva de titulación potenciométrica".

Determinación de la velocidad de disolución

El ensayo de disolución es un ensayo oficial establecido en las distintas farmacopeas para evaluar la liberación del fármaco de formulaciones sólidas y semisólidas. El procedimiento para dicho ensayo se ha homologado internacionalmente pero cada farmacopea nacional tiene alguna sección específica o diferente.

El ensayo de disolución permite estudiar *in vitro* la velocidad con la cual un principio activo se libera de su forma farmacéutica hacia el medio en disolución.

Dichos estudios tienen diversas funciones:

- Permitir una bioequivalencia:
 - En bioexenciones, permite demostrar la similitud entre diferentes formulaciones de un principio activo y el fármaco de referencia.
 - Para investigar la homogeneidad entre los lotes de formulaciones desarrolladas, como base para la selección de los adecuados estudios *in vivo*.
- Establecer un control de calidad:
 - Para evaluar y demostrar la consistencia del proceso de fabricación.
 - Para obtener información sobre el producto de referencia utilizado en estudios de biodisponibilidad/bioequivalencia y estudios clínicos.

Los estudios de disolución como herramienta para demostrar la bioequivalencia, resultan un recurso útil ya que son fáciles de implementar y como se utilizan de forma rutinaria en la industria farmacéutica, generalmente se dispone de la experiencia necesaria por parte del operario para minimizar los errores analíticos.

Para evaluar los efectos de cambios en la formulación, la consistencia del proceso de fabricación y para demostrar la bioequivalencia, es necesario comparar los perfiles de disolución obtenidos. Los perfiles de disolución son gráficos de los porcentajes de fármacos disueltos acumulados en función del tiempo, y éstos se comparan matemáticamente usando el factor de similitud (f_2) que utiliza las diferencias entre la medida del porcentaje disuelto de cada producto a comparar en cada intervalo de muestreo para proporcionar un sólo número en el que se cuantifica la similitud entre ambos perfiles.

Técnicas para determinar la permeabilidad

Mientras que en la clasificación BCS la solubilidad es un parámetro bastante sencillo, la permeabilidad intestinal no lo es tanto, debido a que no se realiza una medición rutinaria de esta. La permeabilidad farmacológica en humanos puede ser determinada mediante balances de masa, biodisponibilidad sistémica, o aproximaciones de perfusión intestinal. De modo que se realizan *in vivo* o *in situ* en perfusión intestinal en un modelo animal, y/o *in vitro* en métodos de permeabilidad usando tejido intestinal mediante una excisión o monocapas de células epiteliales. De hecho, la FDA determinó que el método de perfusión en ratas para la clasificación de permeabilidad BCS es el más fiable y efectivo. Además, otra ventaja de dicho método es que permite conocer la permeabilidad segmentada, es decir, conocer qué permeabilidad tiene el fármaco o sustancia en cada parte del intestino. De hecho, existe más de un método para realizarlo, pues se ha demostrado que el single-pass intestinal perfusión model (SPIP) y el Doluisio (closed-loop) son métodos igual de útiles para obtener los valores de permeabilidad intestinal que puedan ser usados para la predicción de Fabs y para la clasificación BCS⁶.

Para demostrar que dos fármacos son bioequivalentes el C_{max} y el área bajo la curva (AUC) de concentraciones plasmáticas tiempo debe encontrarse dentro de un rango.

In silico

In silico es un término relativamente nuevo usado para referirse a la experimentación realizada mediante técnicas computacionales. Estas técnicas permiten predecir la solubilidad y permeabilidad de ciertas moléculas a partir de modelos computacionales implementados con información recogida en bases de datos a partir de datos obtenidos previamente.

Los modelos de simulación de absorción oral de fármacos están en creciente aumento en el campo de la investigación, de la industria y la regulación legal. Los modelos farmacocinéticos basados en la fisiología están usando

⁶ Lozoya-Agullo I, Zur M, Wolk O, Beig A, González-Álvarez I, González-Álvarez M et al. In-situ intestinal rat perfusions for human Fams prediction and BCS Permeability class determination; Investigation of the single-pass vs. the Doluisio experimental approaches. Int J Pharm. 2015. VOL 480(1-2):1-7.

herramientas de simulación de absorción debido a sus capacidades en la integración de datos y en su gran poder predictivo⁷. La simulación gastrointestinal (GIS; *Gastrointestinal simulation*) basada en el modelo de absorción y el tránsito compartimental avanzado (ACAT; *Advanced Compartmental Absorption*) ofrece ciertas ventajas respecto al modelado de absorción farmacológica basado en los parámetros relacionados con la físico-química y fisiología en condiciones intestinales. Los modelos GIS han sido usados para determinar la media y la extensión de la absorción en una administración oral, facilitar la iniciativa en la elección del candidato, establecer la formulación de una estrategia de desarrollo y apoyar el desarrollo de políticas regulatorias.

In vitro

El término *In vitro* (latín: *dentro del vidrio*) se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.⁸

Ensayo de permeabilidad de Membrana Artificial Paralela (PAMPA)

En esta técnica se utiliza una membrana artificial para simular el comportamiento de la membrana celular y se emplea para predecir la absorción transcelular. En esta técnica se utiliza una placa de microvaloración con numerosos insertos de naturaleza hidrofóbica como soporte y una membrana de permeación de los compuestos en estudio formada por una mezcla de lecitina y un disolvente orgánico inerte.

Al permitir ensayos múltiples, es posible investigar numerosos compuestos por día. En etapas posteriores se han hecho modificaciones en el método para tener en cuenta la difusión paracelular, y se han correlacionado los datos de permeabilidad en Caco-2 con los obtenidos con las membranas artificiales de números compuestos.

⁷ X Jiang, AL Wright, J Wang, Z Li. Long-term tillage effects on the distribution patterns of microbial biomass and activities within soil aggregates. *Science Direct*. 2011. Vol 87; 276-80.

Cultivo celular monocapa Caco-2

Actualmente, las monocapas de las células Caco-2 cultivadas en filtros permeables se utilizan para la realización de estudios de transporte transepitelial de numerosos fármacos y nutrientes. Con este sistema es posible determinar la permeabilidad efectiva y, además, investigar el mecanismo por el cual un fármaco atraviesa el epitelio intestinal.

Esta línea celular posee muchas características similares a la membrana celular: uniones estrechas, polarización (cara apical y basal), enzimas del borde de cepillo como hidrolasas y de fase III como la glicoproteína P (gp-P o P-gp, variando las siglas del castellano al inglés). Así mismo, la membrana basolateral está asociada a actividad ATP-asa dependiente de sodio-potasio y a receptores hormonales. También se encuentran enzimas intracelulares, tanto de fase I (oxidación), como CYP, incluida la CYP3A, y de fase II (conjugación), como la glutatión S-transferasa y sulfottransferasa.

Ciertos estudios indican que este modelo *in vitro* permite clasificar la permeabilidad de los fármacos de forma similar a otros modelos de absorción más complejos, como los tejidos intestinales aislados o los modelos de perfusión *in situ*.

Las ventajas que presentan los cultivos celulares frente a los modelos de absorción convencionales son:

- Rápida determinación de la permeabilidad y metabolismo de los fármacos.
- Estudio de los mecanismos de absorción bajo condiciones controladas.
- Evaluación rápida de métodos que mejoren la absorción de fármacos.
- Realización de estudios con líneas celulares humanas.
- Minimizan la experimentación animal.

Modelos basados en tejidos

Estos modelos de absorción cuantifican el flujo transepitelial de fármacos a través del tejido epitelial intacto. El segmento intestinal que se somete a estudio

se aísla y secciona convenientemente con el fin de obtener capas planas de tejido. Éstas se disponen posteriormente sobre las células de difusión estándar, que se rellenan con un tampón adecuado que simula los fluidos extracelulares. Este sistema experimental es muy versátil y permite la cuantificación de permeabilidad de un tejido, el transporte intestinal paracelular y transcelular, la secreción intestinal y la influencia del metabolismo intestinal en la biodisponibilidad de un fármaco.

In situ

Método de sacos evertidos

Esta técnica se emplea en la realización de estudios de acumulación de fármacos en segmentos intestinales completos. Para ello, los segmentos intestinales se invierten y dividen en pequeñas secciones a modo de anillos. Éstos se incuban en tampones oxigenados que contienen el fármaco problema, en condiciones de agitación y temperatura controladas. Este sistema permite el estudio de las limitaciones que puede presentar un fármaco frente a la absorción intestinal debido a su solubilidad, la evaluación de la conversión de un profármaco en fármaco por la acción del tejido intestinal, o la discriminación de los mecanismos de absorción de fármacos en transporte pasivo o activo.

Técnica Doluisio

El método consiste en crear un compartimento intestinal estanco con la ayuda de dos jeringas y dos válvulas de llave de tres vías y determinar la desaparición de fármaco en el compartimento intestinal acotado.^{9,10}

In vivo

La determinación de la permeabilidad en humanos se realiza mediante un estudio farmacocinético completo con el fármaco radiomarcado. Se realiza en

⁹ Vicente G. Casabó, Esperanza Núñez-Benito, Ana Martínez-Coscollá, Elena Miralles-Loyola, Adela Martín-Villodre, José M. Plá-Delfina. Studies on the reliability of a bihyperbolic functional absorption model. II. Phenylalkylamines. Int J Pharm. 1997, Vol 15 (6): 633-43

¹⁰ Lozoya-Agullo, González-Álvarez I, González-Álvarez M, Bermejo M, Beig A, et al. In-situ intestinal rat perfusion for humans: Fabs prediction and BCS permeability class determination: investigation of the single pass vs. the Doluisio experimental approaches. Int J Pharm. 2015. Vol 480 (1-2):1-7.

voluntarios sanos a los que se les administra por vía oral el fármaco y luego recolectan muestras de sangre, orina, y heces a fin de cuantificar y sus metabolitos en todas las muestras biológicas obtenidas de cada voluntario.

De manera indirecta se estudia determinando la biodisponibilidad absoluta: en este tipo de estudios se compara la biodisponibilidad de un fármaco administrado por vía oral con los datos de una dosis intravenosa, obteniéndose información sobre la distribución y eliminación del fármaco e indirectamente se determina la permeabilidad oral y la influencia de enzimas y transportadores presistémicos.

El estudio directo de la permeabilidad en humanos *in vivo*, se realiza mediante la perfusión de un solo paso sin recirculación de la región del intestino donde se quiere conocer la permeabilidad de un fármaco. La determinación de la permeabilidad se basa en el cálculo de la absorción intestinal como función de la desaparición de un fármaco en el segmento estudiado, por lo que la permeabilidad intestinal reflejará la velocidad de transporte a través de la barrera epitelial del intestino, expresada en centímetros por segundo.

La utilidad de las metodologías *in silico*, *in vitro* e *in situ* viene determinada por la posibilidad de establecer correlaciones con los datos *in vivo* de manera general una vez establecida y validada una correlación se pueda predecir los resultados *in vivo* a partir de un ensayo más simple. Una correlación *in vitro-in vivo* (IVIVC) se define por la EMA como un modelo matemático que describe la relación entre las propiedades de la forma y dosis *in vitro* (principalmente disolución o liberación del fármaco) y la relevancia de la respuesta *in vivo* (principalmente la cantidad de fármaco absorbido o la concentración en el plasma) (EMA/CMP, 2013). Está generalmente aceptado como una herramienta con los siguientes objetivos:

- Cuantificar la liberación del fármaco *in vivo* (IDDP) y la relación entre la formulación y los efectos de absorción.
- Establecer la relevancia clínica de las especificaciones referentes a la disolución.
- Proporcionar un soporte para los estudios de bioequivalencia.

Se ha desarrollado diferentes metodologías para la IVIVC, pero los pasos principales para un modelo correcto de IVIVC son la identificación de una liberación del fármaco *in vivo* y el desarrollo de un test de disolución. El test de velocidad de disolución se utiliza para reflejar la cinética de la liberación farmacológica *in vitro* y puede ser suficientemente discriminatorio para predecir la influencia de la formulación.

Sin embargo, el proceso de absorción puede ser más complicado y puede ser influenciado por diversos factores difíciles de cuantificar¹¹.

Los factores biofarmacéuticos relacionados con el rendimiento *in vivo* de la forma de la dosis como el perfil de liberación API, la absorción API en varios segmentos del intestino grueso, la degradación tanto enzimática como por pH o la influencia de algunos excipientes en el metabolismo y su transporte son aspectos que no están suficientemente claros.

A pesar de las evidentes diferencias entre los métodos *in vitro*, *in silico* e *in vivo*, muchos estudios realizados demuestran una buena correlación entre los datos obtenidos. En los siguientes gráficos (Figura 3) se puede ver un ejemplo de la correlación que existe ente los datos obtenidos para el nifedipino¹²

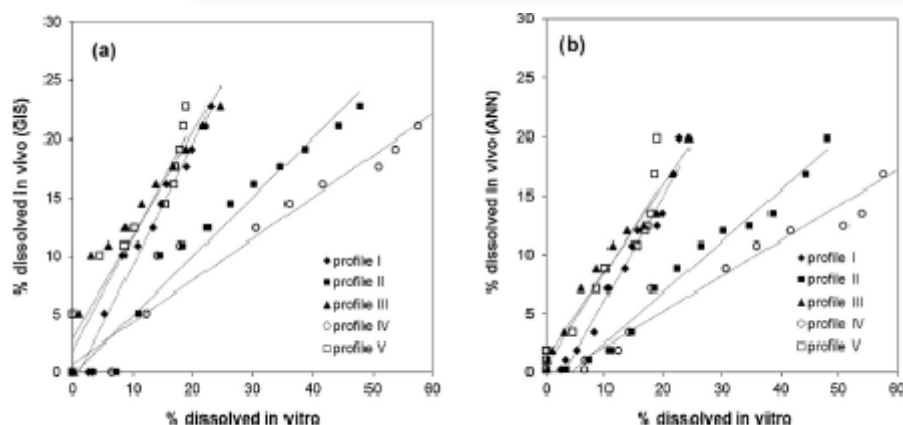


Figura 3. Correlación entre los porcentajes de disolución del nifedipino in vitro e in vivo

¹¹ Ilić M, Đuriš J, Kovačević I, Ibrić S, Parojčić J, et al. In vitro--in silico--in vivo drug absorption model development based on mechanistic gastrointestinal simulation and artificial neural networks: nifedipine osmotic release tablets case study. Eur J Pharm Sci. 2014. Vol 68: 212-8. DOI: 10.1016/j.ejps.

¹² Hans Lennernäs. Regional intestinal drug permeation: Biopharmaceutics and drug development. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014. Vol 57: 333-41.

Determinación de la velocidad de vaciado gástrico

El sulfato de bario pertenece a una clase de medicamentos llamados medios de contraste radiopaco. Funciona al recubrir el esófago, estómago o intestinos con un material que no se absorbe en el cuerpo y permite que las áreas enfermas o dañadas puedan verse claramente mediante el examen de radiografías o tomografía computada.¹³

Para conocer la velocidad de vaciamiento gástrico se utiliza el sulfato de bario. En ratas para evaluar la radioactividad en distintos segmentos estimando de esa forma la velocidad de desplazamiento del contenido gastrointestinal. Esta técnica requiere sacrificar a los animales, abrir la cavidad abdominal y ligar las distintas secciones del tracto gastrointestinal. Como ventaja se obtiene una lectura más precisa del progreso de la sustancia radioactiva en cada sección, ya que ésta, como consecuencia de los movimientos peristálticos se va mezclando con el resto de contenido.

Para realizar dicho método, tras la ingesta del fármaco, excipiente o alimento (o combinación de los anteriores, generalmente tras esperar unos 30 minutos) se suministra una solución de sulfato de bario, y se empieza a tomar radiografías por series. El tiempo entre cada radiografía puede variar pero suele realizarse 1 cada 10 minutos durante el periodo de vaciado gástrico. Cuando los animales testados han completado el vaciado gástrico se aumenta el espacio interválico a 30 minutos hasta comprobar que los animales han comenzado la defecación del sulfato de bario.

Para realizar la anterior prueba se suele dejar en ayuno durante 12 horas de ingesta y 4 horas de líquidos.

Para determinar el tiempo de vaciado gástrico se toma el tiempo en el que se tomó la radiografía en la que todos los estómagos de los animales testados (ya sean grupo 0 o de prueba) han evacuado totalmente la cantidad de sulfato de bario administrada, de modo que se compara el tiempo que han tardado desde que se les suministro el sulfato de bario hasta que lo evacuaron.

Sin embargo, para cuantificar el tiempo de tránsito intestinal se debe medir el tiempo diferencial entre la administración de la sustancia radio opaca hasta el comienzo de la defecación de la misma.¹⁴

Absorción gastrointestinal

El medicamento ingerido vía oral, tras pasar por la boca y el esófago llega al estómago donde, dependiendo de si el individuo se encuentra en ayunas o no el fármaco, se expone a diferentes pH. En estado de ayunas el pH gástrico en humanos adultos está considerado como normal entre 1 y 3^{15, 16}, aunque esto puede variar por enfermedades, etnias o incluso por la edad del paciente¹⁷. Sin embargo, después de la ingesta el pH del contenido gástrico aumenta en varias unidades.¹⁸

En estado de ayunas el complejo motor interdigestivo de migración (IMMC) permite el vaciamiento desde el lumen gástrico¹⁹ hasta el ileon cada 1-2 h.²⁰ Los líquidos y las partículas pequeñas suspendidas son transmitidas al intestino delgado de manera inmediata (a una velocidad de 10-40 mL/min) mientras que las partículas más grandes son retenidas por el tamizado gástrico, pero debido a la diversidad de los parámetros relevantes alimenticios

¹⁴ Método radiológico para evaluar la motilidad gastrointestinal empleando ratones no anestesiados.

Toso, Ricardo E; Boeris, Monica A; Leon, Luis. University of Applied Sciences, Am Krümpel.

¹⁵ Koziolok M, Garbacz G, Neumann M, Weitschies W. Simulating the postprandial stomach: biorelevant test methods for the estimation of intragastric drug dissolution. *Mol Pharm.* 2013. Vol 10(6):2211-21. doi: 10.1021/mp300607e.

¹⁶ Dressman, JB, Yamada, H. Animal models for oral drug absorption. 1991. Welling, PG.G (Ed.), Pharmaceutical Bioequivalence. 235-266

¹⁷ William N. Charman, Christopher JH. Porter, Sabena Mithani, Jennifer B. Dressman: Physicochemical and physiological mechanisms for the effects of food on drug absorption: The role of lipids and pH. William N. Charman, Christopher JH. Porter, Sabena Mithani, Jennifer B. Dressman. *Eur J Pharm Sci.* Vol 86 (3): 269–282. DOI: 10.1021/js960085v

¹⁸ Hrair P. Simonian, Lien Vo PHRMD, Siva Doma MD, Robert S. Fisher MD, Henry P. Parkman MD. Regional Postprandial Differences in pH Within the Stomach and Gastroesophageal Junction. *Digestive Diseases and Sciences* .2005. Vol 50 (12) 2276-2285

¹⁹ Cassilly D¹, Kantor S, Knight LC, Maurer AH, Fisher RS, Semler J, Parkman HP. Gastric emptying of a non-digestible solid: assessment with simultaneous SmartPill pH and pressure capsule, antroduodenal manometry, gastric emptying scintigraphy. 2008. Vol 20(4):311-9. doi: 10.1111/j.1365-2982.2007.01061.x.

²⁰ Sarna SK. Cyclic motor activity; migrating motor complex: *Gastroenterology.* 1985 .Vol 89(4):894-913. PMID:3896912

no es posible definir el tamaño preciso, por el cual unas partículas se quedan tamizadas y otras pasan al intestino²¹.

En el intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon), el fármaco no sólo se ve afectado por el pH y la motilidad intestinal, sino que también por la enorme cantidad de enzimas y transportadores que se encuentran en él. De hecho se ha propuesto que la mucosa intestinal es uno de los lugares del organismo humano con mayor capacidad de metabolización farmacológica²².

El tránsito intestinal de las formas de liberación sólidas depende de la motilidad y flujo del intestino, las cuales depende a su vez de la ingestión de alimentos y de la naturaleza de la formulación.²³

Respecto a la absorción de fármacos, ésta se produce desde la mucosa bucal y sublingual, esófago, tráquea, estómago, intestino delgado, colon hasta la mucosa rectal pero es el intestino delgado donde se produce mayoritariamente la absorción, gracias a la gran superficie disponible. La superficie del intestino está aumentada gracias a pliegues de Kerking, vellosidades y microvellosidades intestinales. Los poros acuosos que aparecen a lo largo de la superficie permiten el paso de moléculas inferiores a 200-250 Daltons.

Mecanismos

Existen diferentes mecanismos de absorción oral, pero los más importantes son la difusión pasiva y los transportadores especializados

Difusión pasiva

Es el mecanismo predominantes y siempre es a favor de gradiente y sin consumo de ATP (Adenosina trifosfato). Además, puede seguir dos rutas:

- Ruta paracelular: Donde sólo las moléculas de bajo peso molecular e hidrofílicas pueden pasar. Se localiza entre células

²¹ Davis SS¹, Norring-Christensen F, Khosla R, Feely LC. J Pharm Pharmacol. Gastric emptying of large single unit dosage forms.1988;Vol 40(3):205-7. PMID:2899152

²² Jiunn H Lin, Anthony YH Lu. Interindividual variability in inhibition an induction of citochrome P450 enzymes. Annual Review of Pharmacology and Toxicology Vol. 41: 535-567 DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.41.1.535

²³Varum FJ¹, Merchant HA, Basit AW. Oral modified-release formulations in motion: The relationship between gastrointestinal transit and drug absorption.2010. Int J Pharm. Vol 16 (395;1-2):26-36. doi: 10.1016/j.ijpharm.2010.04.046

- Ruta transcelular: La cual sucede a través de las células

Transportadores especializados

Transportadores de membrana en el intestino

Además de atravesar la membrana a favor de gradiente de concentración por difusión pasiva muchos fármacos capaces de interactuar con las proteínas transportadoras expresadas en las membranas de los enterocitos a lo largo del intestino que pueden aumentar o reducir la absorción^{24, 25}.

Las células epiteliales, incluyendo a los enterocitos están polarizadas y contienen como dos dominios membranales con diferentes funciones en cada polo. La membrana apical, es decir, la parte luminal contiene constituyentes específicos que son estructural y funcionalmente diferentes a los del lado basal, es decir, al del polo opuesto de la célula, lo cual incluye diferentes expresiones de proteínas transportadoras en cada membrana. El impacto en los transportadores intestinales es mayor cuando la difusión por transporte en la membrana apical de los enterocitos es baja²⁶.

Clasificación de transportadores especializados

Los transportes especializados a su vez se dividen en dos tipos

- Facilitado. Es aquél que utiliza proteínas específicas para el transporte, las cuales pueden formar canales o ser *carriers*. Además siguen una cinética de Michaelis-Menten y pueden seguir una mecánica cotransporte, a diferenciar entre:
 - Simporte. Donde las todas las moléculas son transportadas en el mismo sentido.

²⁴ Sugano K¹, Kansy M, Artursson P, Avdeef A, Bendels S, Di L et al. Coexistence of passive and carrier-mediated processes in drug transport. 2010. *Nature Reviews Drug Discovery*. Vol 9, 597-614. DOI:10.1038/nrd3187

²⁵ Varma MV, Ambler CM, Ullah M, Rotter CJ, Sun H, Litchfield J, Fenner KS, El-Kattan AF. Targeting intestinal transporters for optimizing oral drug absorption. *Current Drug Metabolism*. 2010. Vol 11 (9), 730-742.

²⁶ Darwich AS, Neuhoff S, Jamei M, Rostami-Hodjegan, A. Interplay of metabolism and transport in determining oral drug absorption and gut wall metabolism: A simulation assessment using the "advanced dissolution absorption, metabolism (ADAM)" model. *Current Drug Metabolism*. 2010. Vol 11 (9):716-29

- Antiporte. Donde para que suceda el transporte algunas moléculas deben ser transportadas en sentido opuesto.
- Activo. Es aquél que consume energía, es unidireccional y transporta las moléculas a contracorriente. Además, según su fuente energética se diferencia en dos tipos:
 - Directo. En el que el ATP sirve para transportar la molécula a contracorriente.
 - Indirecto. En el que el ATP sirve para crear un gradiente que posteriormente será utilizado para transportar la molécula deseada.

Objetivos

Las guías regulatorias contemplan la posibilidad de obtener una bioexención para fármacos clase I y fármacos clase III con velocidad de disolución muy rápida. Esto implica que se sustituyan los ensayos de bioequivalencia *in vivo* por bioequivalencia *in vitro*. La bibliografía recoge evidencias de que, en determinados casos, existe el riesgo de que el ensayo *in vitro* no pueda detectar diferencias entre formulaciones lo que daría lugar a la aprobación de formulaciones no bioequivalentes. Por ello para conceder una bioexención se deben exigir ciertas condiciones para garantizar la seguridad de esta aproximación. Estas precauciones ya se incluyen en las guías tanto de la FDA como de la EMA. La razón principal de estos posibles fallos de bioequivalencia que el ensayo *in vitro* no puede detectar es la composición en excipientes que acompañan a estos principios activos que pueden afectar a la permeabilidad intestinal o a la motilidad gastrointestinal.

En este trabajo se pretende:

- Realizar una búsqueda bibliográfica sobre los excipientes que afectan a los parámetros fundamentales que permiten la clasificación de los fármacos mediante el BCS.
- Proponer las modificaciones pertinentes a la guía vigente para solicitar los ensayos necesarios que permitan otorgar bioexenciones a los fármacos clase III con plenas garantías de bioequivalencia.

Resultados y discusión

Aunque el BCS ha demostrado ser un marco científico adecuado para clasificar los fármacos y permitir el desarrollo de genéricos hay que tomar precauciones a la hora de fijar los criterios para concretar las bioexenciones. Si bien hay una conformidad de criterios en las agencias reguladoras en lo que se refiere a exigir ensayos *in vivo* para demostrar bioequivalencia en fármacos clase II y IV, parece adecuado aceptar perfiles de disolución superponibles para demostrar bioequivalencia en fármacos de clase I y III. Estos criterios de aceptación de bioexención deben estar en continua revisión para garantizar que los medicamentos aceptados como genéricos apoyándose en una bioexención no presentan ninguna deficiencia.

A continuación se clasifican los excipientes según puedan afectar a la permeabilidad, la velocidad de disolución o la motilidad gastrointestinal.

Excipientes que afectan la permeabilidad de los fármacos

La fracción no ionizada es capaz de atravesar las membranas biológicas. En el caso de principio activos ionizables son sensibles al pH del entorno. Estos fármacos ven afectada su permeabilidad en presencia de excipientes que modifiquen el pH (como el succinato) o de alimentos. Uno de estos fármacos es la metformina, que presenta un $pK_a = 12,4$, su absorción por vía oral es incompleta, dosis-dependiente y además se ve afectada por la presencia de alimento^{27,28}. Por lo que en fármacos fácilmente ionizables hay que tener cuidado con el pH, ya que cualquier excipiente que provoque pH extremos puede afectar a la permeabilidad del fármaco. Respecto a estos fármacos ionizables, se debe tener en cuenta también en la selección de excipientes la carga de los mismos a los pH del tracto gastrointestinal si queremos que la formulación que estamos diseñando sea bioequivalente con el innovador. La presencia de excipientes con carga opuesta puede dar lugar a la formación de

²⁷ Ching-Ling Cheng, Lawrence X Yu Hwei-Ling Lee, Chyun-Yu Yang, Chang-Sha Lue, Chen-Hsi Chou. Biowaiver extension potential to BCS Class III high solubility-low permeability drug bridging evidence for metformin. J Pharm Sci. 2004. Vol 22 (4): 297-304. PMID:15196586

²⁸ Stepensky D, Friedman M, Srour W, Raz I, Hoffman A. Preclinical evaluation of pharmacokinetic-pharmacodynamic rationale for oral CR metformin formulation. J Control Release. 2001. Vol 12;71(1):107-15. PMID:11245912

un par iónico que permita el paso del principio activo en proporciones mucho más elevadas. Sameie et al²⁹ publicaron el ejemplo de Amifostina, que es un principio activo cargado positivamente al pH intestinal. La permeabilidad de la Amifostina se incrementa enormemente en presencia de determinados contraiones como el Ácido Succínico. La figura 4 muestra el incremento de permeabilidad de la Amifostina en presencia de distintos contraiones.

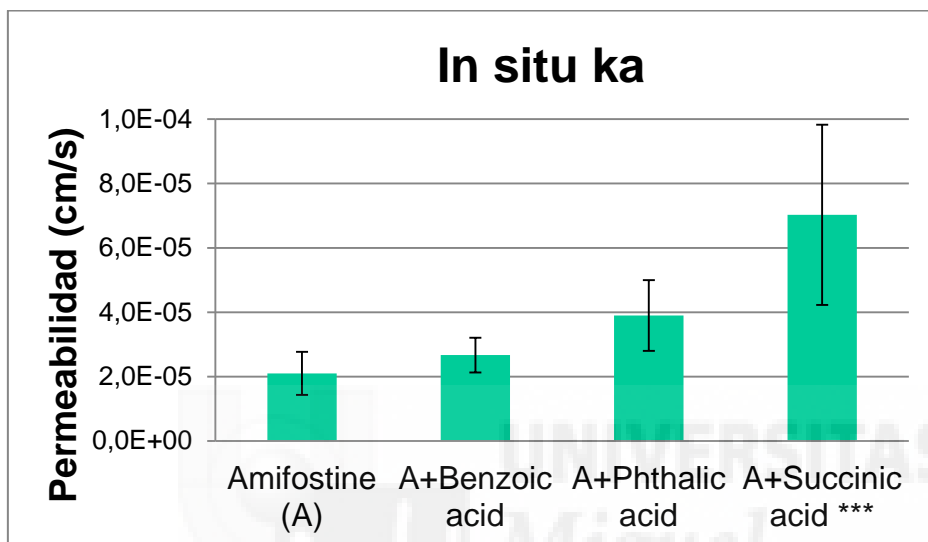


Figura 4. Permeabilidad de la Amifostina sólo y en presencia de distintos contraiones con los que forma par iónico

Sin embargo, la gran familia de excipientes que produce cambios en la permeabilidad es la de los tensioactivos. Estudios realizados con monocapas de células Caco-2 indican que algunos tensioactivos no-iónicos (Solulan y polisorbato) son útiles para aumentar la permeabilidad de los fármacos y este aumento de permeabilidad es dosis-dependiente. De hecho, se comprobó que el Solulan C24 y 16 eran más efectivos que los polisorbatos 20,60 o 85, dado que aumentan el transporte de Metformina de la luz intestinal al torrente circulatorio³⁰.

²⁹Samiei N, Mangas-Sanjuan V, González-Álvarez I, Foroutan M, Shafaati A, Zarghi A, Bermejo M. Ion-pair strategy for enabling amifostine oral absorption: Eur. J. Pharm. Sci. 49(4) 499-504. 2013

³⁰Dimitrijevic D¹, Shaw AJ, Florence AT. Effects of some non-ionic surfactants on transepithelial permeability in Caco-2 cells. J Pharm Pharmacol. 2000. Vol 52(2):157-62. PMID:10714945

Algunos estudios han realizado análisis exhaustivos del efecto de los excipientes en monocapas de células Caco-2 utilizando diferentes principios activos (Atenolol, Aciclovir, Furosemida, Hidroclorotiazida y Cimetidina). La tabla 2 muestra los datos de permeabilidad obtenidos cuando se realizó el ensayo de transporte de manitol en presencia de una batería de excipientes. Los datos muestran un gran incremento de la permeabilidad en presencia del tensioactivo aniónico lauril sulfato sódico²⁸. Este compuesto, que es uno de los más utilizados en formulaciones sólidas como humectante, ha demostrado en diferentes estudios que aumenta considerablemente la permeabilidad, ya que afecta a las uniones intercelulares provocando un aumento de la distancia intercelular.³¹

Excipient	$P_{app} (\pm SEM) \times 10^6$ (cm/s)
Control	0.688 ± 0.026
Lactose	0.775 ± 0.065
Sodium lauryl sulfate (in AP chamber only)	0.755 ± 0.062
Sodium lauryl sulfate (in both AP and BL chambers)	3.35 ± 0.78
Tween 80	0.788 ± 0.020
HPMC	0.800 ± 0.044
Docusate sodium	0.813 ± 0.047
EDTA	0.646 ± 0.033
Propylene glycol	0.710 ± 0.052
PEG 400	0.689 ± 0.058
Anhydrous cherry flavor	0.615 ± 0.062

Tabla 2. Permeabilidad del manitol en presencia de diferentes excipientes

En el caso de la Hidroclorotiazida, si se comparan los datos incluidos en la tabla 11 que, aunque el laurilsulfato sódico también produce un aumento de permeabilidad, es el Tween 80 el que consigue un incremento de permeabilidad de mayor magnitud. Se cree que este efecto se debe a que inhibe el transporte de dichos fármacos hacia la luz intestinal⁴¹. Diversos

³¹ Bhagwant D, Lawrence X, Ajaz S, James E. Effect of common excipient on Caco-2 Transport of Low-Permeability Drugs. J Pharm Sci. 2001 Nov;90(11):1776-86

estudios muestran que este compuesto (utilizado de manera habitual como humectante, solubilizante y emulsificante en sólidos y líquidos) aumenta significativamente la permeabilidad y biodisponibilidad de fármacos que son sustrato de la glicoproteína P como la Furosemda y Cimetidina (tabla 3 y 4; figura 5), Ranitidina y otros muchos fármacos³².

Excipient	$P_{app} (\pm SEM) \times 10^6$ (cm/s)
Control	0.710 ± 0.063
Lactose	0.837 ± 0.003
Sodium lauryl sulfate ^a	1.01 ± 0.10 ^a
Tween 80	1.81 ± 0.06 ^b
HPMC	0.790 ± 0.027
Docusate sodium	0.777 ± 0.046
EDTA	0.818 ± 0.025
Propylene glycol	0.636 ± 0.017
PEG 400	0.549 ± 0.007
Anhydrous cherry flavor	0.715 ± 0.028

Tabla 3. Permeabilidad de la hidroclorotiazida en presencia y ausencia de diferentes excipientes.

Excipient	$P_{app} (\pm SEM) \times 10^6$ (cm/s)		
	AP-BL	BL-AP	Ratio B/A
Control (0.01 mM Furosemide)	0.466 ± 0.029	6.46 ± 0.12	13.8 ± 0.9
Lactose	0.537 ± 0.091	4.79 ± 0.38	8.92 ± 1.68
Sodium lauryl sulfate	1.74 ± 0.02	8.29 ± 0.06	4.70 ± 0.07
Tween 80	3.49 ± 0.35	4.48 ± 0.17	1.28 ± 0.17
HPMC	0.428 ± 0.048	8.34 ± 0.45	19.4 ± 2.4
Docusate sodium	0.629 ± 0.022	4.95 ± 0.25	7.86 ± 0.49
EDTA	0.596 ± 0.023	8.64 ± 0.23	14.4 ± 1.4
Propylene glycol	0.531 ± 0.036	6.01 ± 0.03	11.3 ± 0.8
PEG 400	0.658 ± 0.006	8.24 ± 0.08	12.5 ± 0.2
Anhydrous cherry flavor	0.463 ± 0.035	8.46 ± 0.10	18.2 ± 1.4

Tabla 4. Permeabilidad de la furosemda en presencia de diferentes excipientes

³² Lents KA, Polli JW, Wring SA, Humphreys JE, Polli JE. Influence of passive permeability on apparent P-glicoprotein kinetics. Pharm Res.2000. Vol 17: 1456-60.

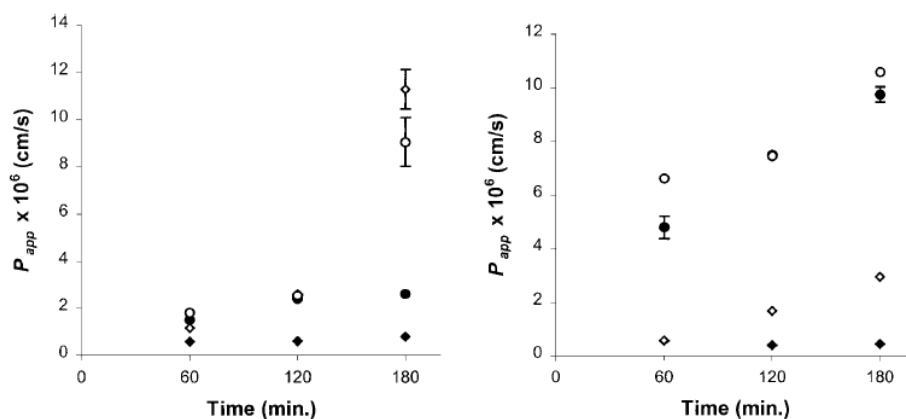


Figura 5. Permeabilidad efectiva de la cimetidina (izq.) y de la furosemida (dcha.) en presencia y ausencia de laurilsulfato sódico. Los signos negros significan el p.a. sin tensiactivo; los blancos con laurilsulfato; los diamantes significan el flujo AP-BL y los círculos el opuesto.

Un efecto similar al observado con laurilsulfato sódico se ha descrito para el dioctilsulfonato sódico. En este caso, el incremento de permeabilidad se ha relacionado con la inhibición de transportadores de secreción²⁸.

De hecho, los surfactantes con alto HLB, concretamente los que tienen valores entre el 10 y el 17 (Spam 80, Brij 30, tragacanth, Tween 80, Myrl y laurilsulfato sódico) inhiben la P-gp en mayor magnitud, de modo que estos son los que permiten una mayor la biodisponibilidad de los fármacos³³. Parece que los más efectivos aumentando la permeabilidad son los que contienen en su molécula una cadena de polyoxoetileno y ácidos grasos o alcohol (figura 6)⁴⁶

³³ Lo YL. Relationships between the hydrophilic-lipophilic balance values of pharmaceutical excipients and their multidrug resistance modulating effect in Caco-2 cells and rat intestines.. 2003. J Control Release. Vol 90(1):37-48.

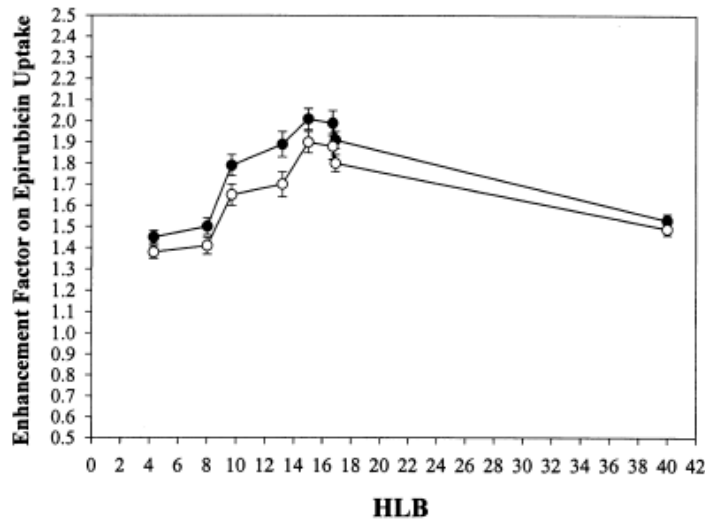


Figura 6. Relación entre HLB de excipientes y el factor de absorción de Epirubicina. $P < 0,05$

Respecto a otros grupos de excipientes, se ha descrito que la hidroxipropilmetilcelulosa que se utiliza frecuentemente en formas de liberación modificada para conseguir perfiles concretos de determinados principios activos y también, en menores cantidades como aglutinante, es capaz de aumentar la permeabilidad de algunos principios activos. Este aumento de permeabilidad puede llegar a alcanzar valores de hasta 38% en algunos principios activos como la cimetidina³¹. Estudios *in vitro* utilizando células Caco-2 han evidenciado este mismo efecto para la carboximetilcelulosa (carmelosa) cuando acompaña a la Ranitidina. Sin embargo, estos resultados no se han confirmado *in vivo*.³⁴

El D- α -tocoferol polietilenglicol 1000 succinato (TPGS), es un excipiente usado como solubilizante, emulsionante, y como vehículo para la liberación en formulaciones lipídicas. Puede inhibir modestamente la P-gp³⁵, debido a una inhibición estérica³⁶ produciendo un aumento en la permeabilidad efectiva de muchos fármacos sustrato de esta proteína de secreción. Los datos publicados

³⁴ Ginski MJ, Taneja R, Polli JE. Prediction of dissolution/Caco-2 system. J Pharm Sci. 1999. Vol 1(2): E3.

³⁵ Joachim Brouwers, Jan Tack, Frank Lammert, Patrick Augustijns. Intraluminal drug and formulation behavior and integration in *in vitro* permeability estimation: A case study with amprenavir. J Pharm Sci. 2006. Vol 95 (2): 372-83. DOI: 10.1002/jps.20553

indican que el aumento de permeabilidad depende de la dosis, pero que no es directamente proporcional como se muestra en la tabla 5⁴⁹.

	P_{app} ($\times 10^6$ cm/s)		Efflux ratio
	A-B	B-A	
Control	10.2 \pm 1.2	11.4 \pm 1.9	1.1
+Verapamil (200 μ M)	11.3 \pm 0.9	11.8 \pm 0.9	1.0
+TPGS (0.002 mg/ml)	10.9 \pm 1.5	9.2 \pm 1.1	0.8
+TPGS (0.02 mg/ml)	12.1 \pm 1.2	8.4 \pm 1.6	0.7
+TPGS (0.1 mg/ml)	12.4 \pm 2.1	13.6 \pm 1.0	1.1
+TPGS (0.2 mg/ml)	9.9 \pm 1.6	12.4 \pm 1.8	1.2
+TPGS (0.5 mg/ml)	10.1 \pm 1.8	9.1 \pm 1.2	0.9
+TPGS (1.0 mg/ml)	12.9 \pm 2.0	10.7 \pm 0.8	0.8

Tabla 5. Permeabilidad del Verapamil (Clase III), frente a diferentes concentraciones de TPGS. A-B simboliza el flujo del espacio luminal al organismo y B-A viceversa.

Otros muchos excipientes de naturaleza muy diversa como el ácido etildiaminotetraacético, también denominado EDTA, utilizado como gelatinizante y estabilizador también ha demostrado afectar la unión celular intestinal y producir, por tanto, un aumento de la permeabilidad de los principios activos³¹. Del mismo modo, algunos polímeros como el quitosán aumenta la permeabilidad de algunos fármacos clase III, como el atenolol por un mecanismo similar.³⁷

En sentido contrario, también se ha encontrado excipientes que producen una disminución de la permeabilidad tales como el polietilenglicol 400 (PEG400) utilizado como cosolvente en disoluciones acuosas o como estabilizante, plastificante y viscosizante que es capaz de reducir la permeabilidad de principios activos como la cimetidina³¹. También se ha observado que algunos saborizantes utilizados en pequeñas cantidades para mejorar las características organolépticas de formulaciones destinadas a la vía oral pueden disminuir la permeabilidad. Es el caso del saborizante de cereza anhidro que es

³⁶ Collnot EM, Baldes C, Schaefer UF, Edgar KJ, Wempe MF, Lehr CM. Vitamin E TPGS P-glycoprotein inhibition mechanism: influence on conformational flexibility, intracellular ATP levels, and role of time and site of access. Mol Pharm. 2010.Vol7(3):642-51.

³⁷ M Thanou, JC Verhoef P Marbach HE Junginger. Intestinal absorption of octreotide: N-trimethyl chitosan chloride (TMC) ameliorates the permeability and absorption properties of the somatostatin analogue *in vitro* and *in vivo*. PharmSci Vol 89 (7): 951-7.

capaz de reducir la permeabilidad de algunos principios activos como la Cimetidina o Atenolol. Sin embargo, este efecto es aislado y no se puede generalizar a otras familias de fármacos ni tan siquiera a otros fármacos de las mismas familias³¹.

El problema de que los excipientes modifiquen la permeabilidad del principio activo se incrementa cuando se trata de un fármaco con estrecho margen terapéutico como Digoxina. Estudios publicados indican que los excipientes utilizados en las formulaciones de Digoxina hacen que varíe enormemente la biodisponibilidad del principio activo. La tabla 6 nos da un ejemplo de ello. Como puede observarse en los datos presentados algunos excipientes como Cremophor EL o Acconon producen enormes variaciones en los parámetros farmacocinéticos de Digoxina como C_{max}, t_{max} y AUC.

Administered compound	C _{max} (µg/L)	t _{max} (min)	AUC _[0-480] (µg min/L)
Digoxin alone	20.0	90	4011.2
Digoxin + Cremophor EL	8.7	120	2050.4
Digoxin + TPGS	18.1	20	3688.7
Digoxin + Acconon E	13.7	20	2338.1
Digoxin + Innwitor 742	20.3	120	4530.8
Digoxin + Softigen 767	17.0	20	5532.8

Tabla 6. Concentración máxima, tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima y biodisponibilidad de la digoxina frente a diferentes excipientes.

Se ha constado que otros excipientes como Softigen 767 aumentan la concentración de digoxina porque también es sustrato de la Pg-P al igual que el principio activo. Estos mismos excipientes pueden tener un efecto diferente con otros principios activos. En la tabla 7 se muestran datos de permeabilidad con los mismos excipientes, pero en este caso con el celirolol.

	Excipient concentration (% w/v)		
	0.05	0.1	0.5
Control (no excipient)	100%	100%	100%
Cremophor EL	91% ± 58% NS	87% ± 68% NS	66% ± 18% NS
TPGS	52% ± 11%*	53% ± 15% NS	215% ± 20%**
Acconon E	92% ± 17% NS	50% ± 12% NS	96% ± 34% NS
Innwitor 742	141% ± 22% NS	123% ± 20% NS	189% ± 24%**
Softigen 767	120% ± 22% NS	96% ± 13% NS	282% ± 32%**

Tabla 7. Porcentaje de celirolol que atraviesa el intestino en su absorción. NS: diferencia no significativa en comparación con el control. * P < 0,05 (ANOVA). **P < 0,01.

Como se puede ver, en este caso el Inwitor 742 y el Softigen 767 proporcionan un aumento de permeabilidad significativa. Sin embargo, otros como el Cremphor en este caso no producen variaciones respecto al control. El TPGS disminuye la permeabilidad a bajas dosis pero la aumenta enormemente a altas concentraciones, se cree que este efecto está producido porque el TPGS torna rígida la membrana de las células en las que se sitúan la P-gp.

Excipientes que afectan la velocidad de disolución de los fármacos

Para que un principio activo se disuelva, previamente se debe disgregar el comprimido que lo contiene. El proceso de disgregación está controlado por los excipientes y aspectos tecnológicos del proceso de fabricación. Numerosos estudios publicados avalan la función de los excipientes en el proceso de disgregación del medicamento y por tanto, a la velocidad de disolución.

Por ejemplo, la lactosa es un excipiente muy utilizado por sus propiedades de flujo. Se demostró que el Fast-flo lactose producía una menor velocidad de disolución y disgregación que el FlowLac 100 debido a que el primero estaba formado por agregados esféricos de α -lactosa microcristalina monohidratada y el segundo de partículas esféricas amorfas de α -lactosa monohidratadas secadas³⁸.

Algo similar ocurre con la celulosa. En los años 50 se usaba el Solka-folk que era una celulosa tratada sintéticamente a partir de la α -celulosa que se extraía de la corteza de árboles y se cristalizaba a una concentración de 15-45%. Pero actualmente ha sido reemplazado por la celulosa microcristalina (MCC) que se sintetiza a partir de un tipo especial de α -celulosa, la cual es sometida a una fuerte hidrólisis para eliminar parte de la celulosa amorfa, lo cual produce una cristalinidad de entre el 69-80%. Se ha demostrado que la celulosa microcristalina reduce la liberación y, en consecuencia, el porcentaje disuelto de opioides encapsulados³⁹.

³⁸ Giorgio Pifferi, Paola Santoro, Massimo Pedrani. Quality and functionality of excipients. Il Farmaco.1999.Vol 54 (1-2): 1-14.

³⁹ Crowley P, Martini L. Drug-excipient Interactions. Pharmaceutical Technology.2001. Vol 0582

Otro de los grupos de excipientes más utilizados son los polisacáridos. Muchas de las enzimas del intestino son capaces de degradarlos (Amilosa, inulina, pectina o guar gum) alterando su función respecto a liberación correcta del principio activo. Las modificaciones químicas para evitar la digestión de los mismos los convierte en compuestos más hidrófobos que enlentecen el proceso de disolución.

Los excipientes que enlentezcan la velocidad de disolución de fármacos clase III podrían producir problemas de no bioequivalencia en formulaciones susceptibles de bioexención, debido a que uno de los requisitos es que los principios activos sean de velocidad de disolución muy rápida y no se contempla la posibilidad de que la propia formulación entorpezcan el proceso. Sin embargo en este caso dado que el ensayo de disolución es precisamente el adecuado para discriminar las diferentes velocidades de disolución la propia “bioexención” es decir realizar el ensayo de bioequivalencia *in vitro* garantiza que no exista riesgo de no equivalencia.

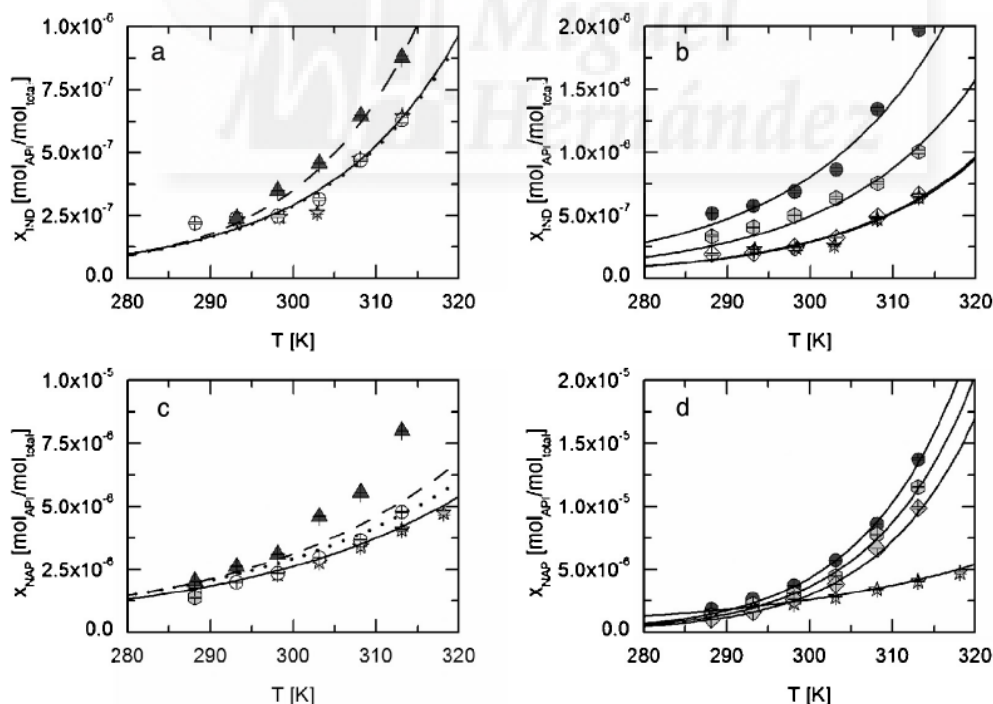


Figura 7. Solubilidad de la indometacina (a y b) y el naproxeno (c-d).a) Estrella gris: en agua pura; Círculos grises: 2% de manitol; Triángulo negro: 2% de PVP K25. b) Estrella gris: en agua pura; Círculos grises 2% de PEG 2000; Triángulo negro: 2% de PEG 6000. c) Estrella gris: en agua pura; Círculos grises 2% de manitol; Triángulo negro: 2% de PVP K25.d) Estrella gris: en agua pura; Círculos grises 2% de PEG 2000; Pentágonos negros: 2% de PEG 6000; Cuadrados grises: 2% de PEG 12000.

En la figura 7 se presentan gráficas que muestran cómo afectan diferentes excipientes a la solubilidad de Indometacina y Naproxeno a diferentes temperaturas⁴⁰. Es de especial interés la temperatura de 310 K por ser la del cuerpo humano (37 °C).

Como se puede ver en las gráficas anteriores, la mayoría de ellos aumentan satisfactoriamente la disolución del principio activo. A su vez, también hay multitud de estudios que han demostrado mediante método *in vivo* que las ciclodextrinas aumentan la velocidad de disolución de diferentes fármacos en ratas, perros y humanos.⁴¹

Por último la viscosidad puede ser muy relevante en los clase 3. Los excipientes que aumentan la viscosidad pueden reducir la velocidad de disolución con los problemas que hemos comentado que ello conlleva. La presencia de alimentos también puede contribuir a aumentar la viscosidad de los fluidos biológicos afectando a la disgregación de la formulación y posterior velocidad de disolución del principio activo. En la figura 8 se muestra los tiempos de disgregación de tres preparados comerciales de cloruro de tropsio que aumentan en fluidos de viscosidad superior que simulan la presencia de alimentos o el desayuno FDA. Este incremento de la velocidad de disgregación se ha asociado a una clara disminución de la velocidad de disolución. Esto confirma el llamado “efecto comida” de esta sustancia que en presencia de alimentos se disgrega y disuelve con mayor lentitud y al tener una ventana de absorción, pasa sin disolverse en grado suficiente por lo que no se puede absorber del mismo modo que en ayunas. En presencia de alimentos se obtienen valores menores de Cmax y AUC⁴²

⁴⁰ Paus R, Ji YH, Braak F, Sadowski G. Dissolution of crystalline pharmaceuticals-experimental investigation and thermodynamic modeling. *Ing Chem Res.*2015. Vol 54;731-41

⁴¹ Kimberley Jackson, David Young, Sonia Pant. Drug-excipient interaction and their affect on absorption.PSTT biodisponibilidad del fármaco ingerido. Además, la lactosa puede interaccionar con aminas 1ª y 2ª originando una reacción de Maillard, como se ha demostrado con la fluoxetina⁴⁹.2000. Vol 3 (10); 336-45.

⁴² A Radwan, G L. Amidon, and P Langguth. Mechanistic investigation of food effect on disintegration and dissolution of BCS class III compound solid formulations: the importance of viscosity.. *Biopharm. Drug Dispos.* 33: 403–416 (2012)

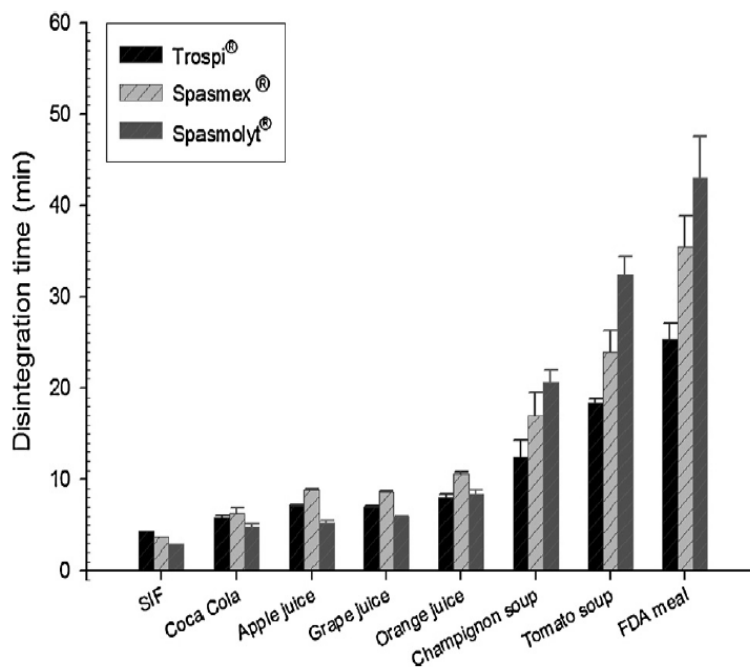


Figura 8. Tiempos de disgregación de distintas formulaciones de cloruro de trospio en presencia de distintos alimentos

A la vista de los resultados publicados cabe preguntarse si sería relevante el parámetro viscosidad para explicar las diferencias observadas en algunos fármacos clase III.

Excipientes que afectan la velocidad del tránsito intestinal

Se ha demostrado que ciertos excipientes pueden modificar el tránsito gastrointestinal y por lo tanto la absorción de fármacos de baja permeabilidad como los clase III, como Cimetidina, Amoxicilina o Atenolol ⁴³.

Entre los excipientes que afectan al tránsito intestinal encontramos los polímeros mucoadhesivos que provocan que el fármaco tenga un paso intestinal más lento, Ejemplos conocidos serían los derivados del ácido acrílico y metacrílico (Carbopol 974 p y 971 P), la celulosa microcristalina, derivados de celulosa, polisacáridos naturales como la goma acacia y goma guar entre otros o hidrogeles formados a base de quitosan o derivados del mismo. ⁴⁴

En el extremo opuesto encontramos excipientes como el polietilenglicol 400 (PEG 400), sorbitol, manitol y ácido pirophosphato sódico que aumentan la

⁴³ Yasuhiro Tsume, L Amidon. The Biowaiver Extension for BCS Class III Drugs; The effect of Dissolution Rate on the Bioequivalence of BCS Class III Immediate-Release Drugs Predicted by Computer Simulation. *Mol Pharm.* 2010. Vol 7(4):1235-43.

velocidad del dicho tránsito debido a la estimulación de la motilidad gastrointestinal.

Es sobradamente conocido que el PEG 400 afecta a la motilidad y tránsito intestinal. Dicho efecto es dosis dependiente, de modo que dosis entre 2,5-10 g reducen el tiempo del fármaco en el intestino, con su consiguiente disminución de absorción. Sin embargo, otros estudios demuestran que a dosis menores (1 g) de PEG 400 aumenta la biodisponibilidad de un fármaco clase III como la ranitidina⁴⁴.

Los resultados publicados indican la dificultad de predecir la acción de los excipientes en la motilidad intestinal y la necesidad, por ello, de diseñar herramientas que permitan evaluar el efecto sobre la formulación

Un estudio *in vivo* en perros en el que se analizó la influencia de distintos excipientes en el tiempo de tránsito intestinal, mostró que efectivamente algunos excipientes afectan a dicho parámetro⁴⁹. Los resultados se muestran en la tabla 8.

Treatment	Dog				Mean ± S.D.	P-value
	One	Two	Three	Four		
Control	123	271	157	181	183 ± 63	
PEG 400	154	131	180	249	179 ± 51	0.929
Propylene glycol	117	216	224	222	195 ± 52	0.692
Vitamin E-TPGS	129	167	175	202	168 ± 30	0.656
Labrasol	121	154	138	201	154 ± 34	0.401

Tabla 8 .Tiempo de tránsito intestinal de la digoxina expresado en minutos⁴⁹

Como se observa en estas tablas el PEG 400 en este caso reduce ligeramente el tiempo de tránsito intestinal. Se cree que el mecanismo producido por el PEG 400 se basa en una actividad osmótica de los polímeros y una absorción incompleta en el intestino delgado. Además este excipiente aumenta el volumen del líquido luminal debido a una retención acuosa, la cual estimula la motilidad y el tránsito intestinal. Sin embargo, el intestino canino absorbe mejor el PEG 400 que el intestino humano, esta es la razón por la que en la gráfica

⁴⁴ Schulze JD, Waddington WA, Eli PJ, Parsons GE, Coffin MD, Basit AW. Concentration-dependent effects of polyethylene glycol 400 on gastrointestinal transit and drug absorption. *Pharm Res.* 2003. Vol 20(12):1984-8

anterior el PEG 400 no disminuye tanto la velocidad de tránsito como cabría esperar.

En el caso del TPGS se ve una reducción del tiempo de tránsito intestinal. Su mecanismo no está del todo claro, pero se cree que es similar al del PEG 400.

En cuanto al Labrasol, es una mezcla de cadenas de glicéridos, las cuales son inmediatamente hidrolizadas por la lipasa gástrica y un complejo de lipasa/colipasa pancreática⁴⁵, lo que libera ácidos grasos libres, caprílico y cáprico, lo cual enlentece el tiempo del tránsito intestinal⁴⁶.

La lactulosa, es un excipiente ya extensamente documentado. Se sabe que debido a su no absorción provoca un efecto laxante, de modo que se utiliza como tal, ya que aumenta la velocidad y motilidad del tránsito intestinal. De modo, que este excipiente y azúcares similares y/o derivados como el xilitol, el sorbitol y el manitol también producen un efecto similar, especialmente cuando se encuentran en comprimidos efervescentes y masticables porque es en estos cuando existe una mayor concentración. En la tabla 9 se muestran las dosis a las cuales los excipientes anteriores aumentan la velocidad de tránsito.

Excipiente	Cantidad
Xilitol	30 gramos en 200mL de agua
Manitol	2,264 gramos en 200mL de agua
Sacarosa	4,08 gramos en 200mL de agua
Ácido pirofosfato sódico (SAPP)	1,1 gramos en 200mL de agua

Tabla 9. Cantidad de excipiente que produce un aumento de motilidad intestinal

De hecho, diversas publicaciones han reportado el porcentaje de reducción de tiempo de tránsito intestinal que producen determinadas dosis de este tipo de excipientes con respecto a un control⁴⁷ (tabla 10).

Excipiente	Dosis/preparación	% reducción del tiempo en el intestino
Xilitol	30 g/ 200 mL de agua	NA

⁴⁵ Sek L¹, Porter CJ, Kaukonen AM, Charman WN. Evaluation of the in-vitro digestion profiles of long and medium chain glycerides and the phase behaviour of their lipolytic products. 2002. J Pharm Pharmacol. Vol: 54(1):29-41.

⁴⁶ Dobson CL, Davis SS, Chaunhan S, Sparrow RA, Wilding IR. Does the site of intestinal delivery of oleic acid alter the ileal brake response?. 2000. J Pharm. 195:63-70.

⁴⁷ Kah-Hay Yuen. The transit of dosage forms through the small intestine. Int J Pharm . 2010. Vol 395 (1-2): 9-16

Manitol	0,755 g/200 mL de agua	11 ⁴⁸
	1,509 g/200 mL de agua	23
	2,264/200 mL de agua	34
Ácido pirofosfato sódico	1,1 g/200 mL de agua	39 ⁵²
Ácido pirofosfato sódico	1,132/200 mL de agua	44 ⁴⁹
PEG 400	10/150 mL de zumo de naranja	35 ⁵⁰
PEG 400	10/150 mL de zumo de naranja	37 ⁵¹
PEG 400	1 g/150 mL de agua	9 ⁴⁹
	2,5 g/150 mL de agua	20 ⁴⁹
	5 g/150 mL de agua	23 ⁴⁹
Ácido oleico	1,2 gramos (en dos cápsulas de liberación modificada)	45 ⁵²

Tabla 10. Reducción del tiempo del tránsito intestinal según el excipiente y la dosis

Un caso aparte es el de la lactosa monohidratada que es, sin duda uno de los excipientes más utilizados como relleno en las formas sólidas como comprimidos y polvos para disolución. Es altamente soluble pero puede alterar la osmolaridad en el tracto gastrointestinal si se usa en altas cantidades y afectar a la motilidad intestinal de aquellos individuos que sea intolerantes a la lactosa³¹.

Existe una enorme escasez de estudios que expliquen satisfactoriamente el efecto que producen los excipientes en el intestino a todos los niveles. Como se comentaba al principio del trabajo, los excipientes se han considerado tradicionalmente sustancias inertes y es a partir de datos concretos cuando se ha ido realizando estudios específicos pero es necesario realizar ensayos estandarizados con todos los excipientes de uso habitual en lo que respecta a la modificación de la permeabilidad, solubilidad, velocidad de disolución,

⁴⁸ Adkin DA, Davis SS, Sparrow RA, Huckle PD, Phillips AJ, Wilding IR. Pharm Res. The effect of different concentrations of mannitol in solution on small intestinal transit: implications for drug absorption. 1995. Pharm Res. Vol 12(3):393-6. PMID:7617527

⁴⁹ Koch KM¹, Parr AF, Tomlinson JJ, Sandefer EP, Digenis GA, Donn KH, Powell JR. Effect of sodium acid pyrophosphate on ranitidine bioavailability and gastrointestinal transit time. Pharm Res. 1993. Vol10(7):1027-30.

⁵⁰ Basit AW, Newton JM, Short MD, Waddington WA, Eil PJ, Lacey LF. The effect of polyethylene glycol 400 on gastrointestinal transit: implications for the formulation of poorly-water soluble drugs. 2001. Vol 18(8):1146-50.

⁵¹ Basit AW, Podczeczek F, Newton JM, Waddington WA, Eil PJ, Lacey LF. Influence of polyethylene glycol 400 on the gastrointestinal absorption of ranitidine. Pharm Res. 2002. Vol 19(9):1368-74.

⁵² Dobson CL, Davis SS, Chauhan S, Sparrow RA, Wilding IR. Pharm Res. The effect of oleic acid on the human ileal brake and its implications for small intestinal transit of tablet formulations. 1999. Pharm Res. Vol 16(1):92-6.

velocidad de disgregación, viscosidad, tiempo de vaciado gástrico y tiempo de tránsito intestinal.

La EMA estableció como requisito indispensable para una bioexención de fármacos clase III con velocidad de disolución muy rápida un ensayo de disolución satisfactorio. Adicionalmente y para evitar los problemas asociados a los excipientes la EMA también exige para los clase III que deseen recibir una bioexención que la composición cuali- y cuantitativa de excipiente entre referencia y problema sea prácticamente la misma. La revisión bibliográfica realizada ha demostrado que este segundo requisito es imprescindible y que el ensayo de disolución no es suficiente, por lo que habría que realizar otros estudios.

- 1) Determinación de la velocidad de disgregación. Este parámetro permite determinar si el comprimido se disgrega a la misma velocidad que la referencia. La importancia de la disgregación estriba en que el proceso de disolución no comienza hasta que se ha disgregado el comprimido. Este parámetro sería relevante para anticipar la posible influencia de la presencia de alimentos en la formulación referencia y la problema y sería de interés en el caso de principios activos que requieran su administración con alimentos.
- 2) Determinación de la permeabilidad en presencia de los excipientes incluidos en ambas formulaciones.

Para el estudio de permeabilidad habría que efectuar el siguiente proceso:

- Primero habría que realizar un estudio *in silico* como ACAT o GIS para realizar un filtro de posibilidades y descartar ciertos excipientes.
- Posteriormente se podría utilizar un método *in vitro*, como monocapas Caco-2 o PAMPA, con el fin de medir la permeabilidad que tiene el nuevo medicamento, dado que éste método es el más utilizado para medir dicha cualidad a lo largo de los diferentes estudios citados y expuestos con anterioridad. Gracias a él, no sólo se mide la influencia de la P-gp, sino que también la de algunas

enzimas como la ATP-asa dependiente de Sodio- Potasio, la glutatión transferasa y la CYP3A4.

- Por último, en caso de dudas, se podría realizar un estudio *in situ* como Doluisio para acercarse más a las condiciones *in vivo*.

3) Determinación de la viscosidad

Se podría solicitar una medida de viscosidad para comprobar que el test y la referencia tienen excipientes que proporcionan un entorno similar en ambos casos

Todos los anteriores estudios se deben realizar con el producto referencia y el test. En caso de que se quiera investigar las razones de fallo de bioequivalencia se puede ensayar también el principio activo con y sin excipientes a fin de encontrar las razones de la no bioequivalencia.

Conclusiones

- 1) La revisión bibliográfica realizada muestra que muchos de los excipientes utilizados habitualmente tienen una influencia sobre los parámetros fundamentales que caracterizan a los principios activos
- 2) Esta revisión corrobora la necesidad de exigir la misma composición cuali-cuantitativa en excipientes para los fármacos clase III a fin de que sean candidatos a una bioexención dado que los excipientes también pueden afectar a la disgregación, la permeabilidad, la viscosidad del medio, la motilidad y a la velocidad de vaciamiento gástrico y tránsito intestinal.

Anexo

Excipiente	Permeabilidad	Velocidad de Tránsito	Velocidad de disolución	Cita
Ácido succínico	↓*	—	—	29
Soluban y polisorbatos	↑*	—	—	30
Lauril sulfato sódico	↑	—	—	28 y 31
Tween 80	↑	—	—	41
Diocil sulfonato sódico	↑	—	—	27
Spam80	↑	—	—	33
Brij 30	↑	—	—	33
Tragacanth	↑	—	—	33
Myrl y laurilsulfato sódico	↑	—	—	33
Hidroxipropilmetilcelulosa	↑	—	—	33
Carmelosa	↑	—	—	34
TPGS	↑	—	—	35,36 y 49

EDTA	↑	—	—	31
Chitosán	↑	—	—	37
Saborizante cereza anhidro	↓	—	—	31
PEG 400	↓	—	↑	44 y 47
Cremophor EL o Acconon	↕	—	—	49
Inwitor 742	↑	—	—	49
Softigen 767	↑	—	—	49
Celulosa microcristalina	↓	—	—	39
Amilosa	—	—	↓	40
Inulina	—	—	↓	40
Pectina	—	—	↓	40
Guargum	—	—	↓	40
Acido acrílico y metacrílico (Carbopol 974 p y 971 P)	—	↓	—	44
Celulosa microcristalina	—	↓	—	44
Derivados de celulosa	—	↓	—	44

Sorbitol	—	↑	—	44 y 47
Manitol	—	↑	—	44 y 47
Ácido pirofosfato sódico	—	↑	—	44 y 47
Labrasol	—	↑	—	47 y 49
TPGS	—	↑	—	47 y 49

***Ácido succínico:** solo en p.a. ionizables.

***Polisorbatos y soluban:** en metformina

***Cremophor El:** alternación de parámetros farmacocinéticos como C_{max} , AUC...

