capaz de atravesar las membranas biológicas. En este trabajo se ha estudiado la permeabilidad de Terazosina cuyo pKa es 7.2 y estará no ionizado en el tramo intestinal estudiado.

## 6.1 Técnica experimental seleccionada

La permeabilidad de la Terazosina y el efecto sobre la absorción de los excipientes utilizados en las formulaciones se estudiaron, mediante técnica de perfusión *in situ* sin recirculación. Gracias a esta metodología se logra obtener mayor exactitud en los datos de absorción porque mantiene indemne las condiciones fisiológicas de la barrera epitelial del intestino delgado en cada ensayo. Tal precisión en las mediciones es posible al llevarse a cabo sin recirculación, lo que permite conservar intacta la capa acuosa de difusión adherida a la membrana intestinal. El contacto de la solución con la membrana no sufre interrupciones durante todo el ensayo (30 minutos) permitiendo así un rendimiento de la absorción superior al alcanzado por otras técnicas en las cuales el contacto de la solución con la membrana intestinal es discontinuo. La toma de muestras resulta cómoda y reproducible al realizarse in situ con el animal anestesiado. Entre las mejoras proporcionadas por esta técnica se encuentra proporcionar un flujo sanguíneo adecuado, las secreciones intestinales y los movimientos peristálticos, con lo cual mantiene las características que existen *in vivo*, siendo una técnica sencilla, económica y con una dedicación de 60 minutos por experimento (cirugía y toma de muestras).

La técnica experimental permite medir la longitud del tramo intestinal en el que se administra el fármaco, por lo tanto se pueden transformar los datos de constante de velocidad de absorción en permeabilidad para poder comparar valores obtenidos en distintos tramos o por distintas técnicas experimentales.

Los inconvenientes en esta técnica son que requiere el sacrificio de animales de experimentación, con los problemas éticos y económicos que conlleva. Otro inconveniente es que el fármaco o formulación se administra disuelta o en suspensión en el lumen intestinal y se crea un compartimento estanco, por lo tanto no permite considerar variaciones en el vaciado gástrico o en la velocidad

de tránsito intestinal. Otra limitación es que la permeabilidad intestinal se calcula a partir de las concentraciones remanentes en el lumen intestinal, por ello es necesario comprobar que la desaparición se produce únicamente por absorción y no por degradación o metabolismo.

En el tracto gastrointestinal, tiene lugar un proceso de reabsorción de agua paralelo al de absorción del fármaco. En algunos casos supone la reducción de más del 10% del volumen al finalizar el ensayo de absorción, sigue una cinética de orden cero y es necesario tenerlo en cuenta para el cálculo adecuado de la permeabilidad intestinal.

## 6.2 Interpretación de resultados

Los resultados obtenidos en la figura 6 muestran que la permeabilidad en duodeno es estadísticamente diferente a la permeabilidad de yeyuno e íleon. Esto sugiere que existen transportadores intestinales que están facilitando el paso del fármaco a nivel del tramo intestinal distal, lo que concuerda con los datos bibliográfico que describen que este compuesto es substrato del transportador MRP1 que se localiza principalmente en íleon y es un transportador de absorción activa[35,7].

El Metoprolol ha sido ampliamente usado como modelo para clasificar los fármacos según su permeabilidad ya que ha sido estudiado con la técnica de intubación en humanos, demostrando que es un fármaco que se absorbe bien tanto en duodeno como en yeyuno. La fracción de dosis absorbida de Metoprolol está muy bien documentada en estudios realizados mediante la excreción del fármaco y metabolitos radiomarcados, después de su administración oral e intravenosa[8].

Como la permeabilidad del Metoprolol en tramos intestinales de rata Wistar se determinó recientemente por el grupo de trabajo[36] y si comparamos los datos de permeabilidad de Metoprolol y los de Terazosina en cada tramo intestinal podemos concluir que la Terazosina se comporta como un fármaco de baja permeabilidad en los tramos intestinales fisiológicos de duodeno y yeyuno y dichos transportadores parecen estar saturados en el tramo distal del intestino delgado, ya que no existe diferencias significativas entre el valor de

permeabilidad de Metoprolol y Terazosina en este tramo a las concentraciones ensayadas.

Para esclarecer si el fallo de bioequivalencia en humanos se debió a que los excipientes distintos en ambas formulaciones afectaban al proceso de absorción de Terazosina se realizaron ensayos de fármaco en presencia de los distintos excipientes por separado (sorbitol, propilenglicol y ciclamato).

Las diferencias apreciadas *in vivo* donde las formulaciones de referencia y test no son bioequivalentes porque los valores de Cmax y AUC son superiores para la formulación test, se pueden deber a la presencia de propilenglicol en la formulación que incrementa la permeabilidad del fármaco en duodeno y yeyuno (figura 7). Este incremento de permeabilidad se ha comprobado administrando propilenglicol junto con una solución de Atelolol (fármaco de baja permeabilidad intestinal y que atraviesa la membrana a favor de gradiente de concentración) donde se duplica la permeabilidad de Atenolol en presencia de la misma cantidad de propilenglicol.

En la figura 7 se puede observar que el sorbitol no afecta a la permeabilidad de Terazosina. Nuestro grupo de trabajo ha estudiado la permeabilidad de otros compuestos como Atenolol o Rhodamina en presencia y ausencia de sorbitol y se han obtenido resultados similares (dato no publicado). Así pues, los datos farmacocinéticos determinados tras los ensayos *in vivo* no pueden atribuirse a un efecto directo de sorbitol sobre la membrana absorbente, que implique un cambio en la permeabilidad.

Como ya se ha explicado anteriormente, una de las limitaciones de esta técnica experimental es que se administra el fármaco disuelto y se crea un compartimento estanco, con lo cual no se pueden evaluar fallos de Bioequivalencia debidos a cambios de disgregación del comprimido o determinar si los excipientes tienen algún efecto sobre la velocidad de vaciado gástrico o tránsito intestinal que pudiera afectar a la absorción. Koch y colaboradores[37] realizaron un estudio *in vivo* en perros en el que se analizó la influencia de distintos excipientes en el tiempo de tránsito intestinal y demostraron que excipientes como el polietilenglicol 400 (PEG 400), sorbitol,

manitol y ácido pirofosfato sódico aumentan la velocidad del tránsito debido a la estimulación de la motilidad gastrointestinal. Los excipientes que modifican el tránsito intestinal de fármacos clase III podrían producir problemas de no bioequivalencia en formulaciones diseñadas. Por esa razón habría que realizar más estudios para completar el estudio del efecto del cambio de excipientes en ambas formulaciones

## 7. CONCLUSIONES

1. A través del método experimental de absorción intestinal sin recirculación *in situ* aplicado a los distintos tramos intestinales se ha demostrado que Terazosina es un fármaco de baja permeabilidad según el sistema de clasificación biofarmacéutico y es substrato de MRP1 transportador de absorción que se encuentra localizado en íleon principalmente.
2. El aumento de Cmax y AUC de la formulación test de Terazosina se puede deber a la presencia de propilenglicol en la formulación test, ya que este excipiente aumenta la permeabilidad intestinal de la Terazosina y no estaba en la formulación comercial con la que se comparaba.

## 8. BIBLIOGRAFÍA


1. AESEG. Asociación Española de Medicamentos genéricos. [sede web]. Madrid, España. Disponible en: http://www.aeseg.es/es/.
2. Hall J.E, Guyton A.C. Digestión y absorción en el tubo disgestivo. En: Hall J.E, Guyton A.C. Tratado de fisiología médica. 12a ed. Barcelona, España: Editorial Eselvier; 2011. p. 789-97.
3. Plá Delfina J.M., Martín Villodre A. Absorción gastrointestinal. En: José Doménech Berrozpe J, Martínez Lanao J, Plá Delfina J.M. Biofarmacia y Farmacocinética. Volumen II. Madrid, España: Editorial Sintesis; 1999. p.124-44.
4. Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza J.C, Moro M.A, Portolés A. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 18a ed. Madrid, España: Editorial médica panamericana; 2008.
5. Hall J.E, Guyton A.C. Transporte de sustancias a través de membranas celulares. En: Hall J.E, Guyton A.C. Tratado de fisiología médica. 12a ed. Barcelona, España: Editorial Eselvier; 2011. p. 45-52.
6. Terao T, Hisanaga E, Sai Y, Tamai I, Tsuji A. Active secretion of drugs from the small intestinal epithelium in rats by P-glycoprotein functioning as an absorption barrier. J Pharm Pharmacol 1996; 48: 1083-9.
7. González-Álvarez I, Cabrera MÁ, Bermejo-Sanz M. Metodologías Biofarmacéuticas en el Desarrollo de Medicamentos. España: Editorial Universidad Miguel Hernández; 2015.
8. Amidon G.L, Lennernas H, Shah V.P, Crison J.R .A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. Pharm Res.1995; 12(3): 413-20.
9. EMA. European Medicines Agency. [sede web]. Londres, Reino Unido. [acceso 25 de mayo 2017] Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf.
10. Kansy M, Senner F, Gubernator K. Physicochemical high throughput screening: parallel artificial membrane permeability assay in the

description of passive absorp- tion processes. J. Med. Chem. 1998;41(7):1007–10.

11. 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; 480(1-2): 1-7.
12. Cabrera Pérez M, Bermejo Sanz M, Ramos Torres L, Grau Ávalos R, Pérez Gonzalez M, González Diaz H. A topological sub-structural approach for predicting human intestinal absorption of drugs. Eur J Med Chem. 2004; 39 (11): 905-16.
13. Pubchem [base de datos de internet]. Bethesda: National Library of Medicine (USA); 2017 [acceso 14 mayo 2017]. National Center for Biotechnology Information, Pharmacology [aprox una pantalla]. Disponible en: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5401#section=Top.
14. Florez J, Armijo J, Mediavila A. Farmacología Humana. 6ª edición. Barcelona, España: Editorial Eselvier; 2014.
15. AEMPS. Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios[sede web]. Madrid,España. [14 mayo 2017] Disponible en: https://www.aemps.gob.es/cima/dochtml/ft/63458/FichaTecnica_63458.html.
16. AEMPS. Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios[sede web].Madrid,España. [30 de mayo 2017] Disponible en: https://www.aemps.gob.es/cima/fichasTecnicas.do?metodo=buscar.
17. Zarmpi T, Flanagan T, Meehan E, Mann J, Fotaki N. Biopharmaceutical aspects and implications of excipient variability in drug product performance. Eur J Pharm Biopharm, 2017; 111: 1-15.
18. Strickley RG. Solubilizing excipients in oral and injectable formulations. Pharm Res. 2004; 21(2) 201–30.
19. A. Dahan, Miller JM, Hoffman A, Amidon GE, Amidon GL.The solubility-permeability interplay in using cyclodextrins as pharmaceutical

solubilizers: mechanistic modeling and application to progesterone. J. Pharm. Sci. 2010; 99 (6):2739–49.

20. Yuen KH. The transit of dosage forms through the small intestine. Int J Pharm . 2010;395 (1–2): 9–16.
21. 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; 20(12):1984-8.
22. Basit AW, Podczeck F, Newton J.M, Waddington W.A, Eli P.J, Lacey P.F. Influence of polyethylene glycol 400 on the gastrointestinal absorption of ranitidine. Pharm. Res. 2002;19 (9):1368–74.
23. Parr A, Hidalgo I, Bode C, Brown W, Yazdanian M, González M, et al. The Effect of Excipients on the Permeability of BCS Class III Compounds and Implications for Biowaivers. Pharm Res. 2016; 33: 167–176.
24. Rege BD, Yu LX, Hussain AS, Polli JE. Effect of Common Excipients on Caco-2 Transport of Low-Permeability Drugs. J Pharm Sci.2011;90(11):1776-86.
25. Takizawa Y, Kishimoto H, Nakagawa M, Sakamoto N, Tobe Y, Furuya T, et al. Effects of pharmaceutical excipients on membrane permeability in rat small intestine. Int J Pharm. 2013;453(2):363-70.
26. Cornaire G, Woodley J.F, Hermann P, Cloarec A, Houin G. Impact of excipients on the absorption of P-glycoprotein substrates in vitro and in vivo. Int. J. Pharm. 2004; 278: 119–131.
27. Gole J, Lindley DJ, Roth W, Carl SM, Amighi K, kauffmann JM, et al. The effects of excipients on transporter mediated absorption. Int J Pharm 2010;393(1-2):17-31.
28. Buggins TR, Dickinson PA, Taylor G.The effects of pharmaceutical excipients on drug disposition. Adv Drug Deliv Rev.2007; 59(15): 1482-503
29. Schulze JD, Peters EE, Vickers AW, Staton JS, Coffin MD, Parsons E, et al. Excipient effects on gastrointestinal transit and drug absorption in beagle dogs, Int. J. Pharm. 2005; 300(1-2) 67–75.

30. Panakanti R, Narang AS. Impact of excipient interactions on drug bioavailability from solid dosage forms. Pharm Res. 2012; 29(10): 2639-59.
31. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 5a ed. Londres, Reino Unido: Pharmaceutical Press; 2006.
32. Doluisio JT, Billups NF, Dittert LW, Sugita ET, Swintosky JV. Drug absorption.I.An in situ rat gut technique yielding realistic absorption rates. J Phrm Sci. 1969; 58:1196-200.
33. Schanker LS, Tocco DJ, Brodie BB, Hogben CAM. Absorption of drugs from rat small intestine. J Pharmacol Exp Ther 1958; 123: 81-88.
34. Martin-Villodre A, Plá-Delfina JM, Moreno J, Pérez-Buendía D, Miralles J, Collado EF, et al. Studies on the reliability of a bihyperbolic functional absorption model I Ring-substituted anilines. J Pharmacokinet Biopharm 1986; 14(6): 615-33.
35. DrugBank. DrugBank [sede web]. [13 junio 2005;19 mayo 2017]. Disponible en: https://www.drugbank.ca/drugs/DB01162.
36. Lozoya-Agullo I, Zur M, Beig A, Fine N,Cohen Y, González-Álvarez M, et al.Segmental-dependent permeability throughout the small intestine following oral drug administration: Single-pass vs. Doluisio approach to in-situ rat perfusion. Int J Pharm. 2016; 515 (1-2): 201-8.
37. Koch KM, Parr AF, Tomlinson JJ, Sandefer EP, Digenis GA, Donn KH, et al. Effect of sodium acid pyrophosphate on ranitidine bioavailability and gastrointestinal transit time. Pharm Res. 1993; 10(7): 1027-30.