

Absorción de Fármacos. Modelos *in vitro* e *in situ*.

Claudia G. MARANO, María I. REINOSO y Pablo LUFRANO

Area Producción y Ensayo de Medicamentos, Departamento de Ciencias Biológicas,
Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.
Calles 47 y 115, La Plata 1900, Argentina.

RESUMEN. En la presente revisión analizamos una serie de publicaciones referidas a las técnicas utilizadas para el estudio de transferencia de fármacos, deteniéndonos en aquellas que emplean modelos *in vitro* e *in situ*. Dichas técnicas son también empleadas para el estudio de la influencia de factores fisiológicos y farmacotécnicos en la absorción de drogas, persiguiéndose como objetivo fundamental la optimización de una forma farmacéutica.

SUMMARY. "Drug absorption. *In vitro* and *in situ* models". In the present review papers dealing with techniques used to study drug transference are analyzed, specially those using *in vitro* and *in situ* models. These techniques are also employed to study influence of physiological and pharmacotechnical factors on drug absorption where the principal objective is the optimization of a pharmaceutical form.

El desarrollo de una forma farmacéutica necesita conjugar equilibradamente una serie de aspectos con el fin de lograr un producto que, además de ser estable desde un punto de vista físico y químico, posea una adecuada disponibilidad biológica. Por consiguiente son numerosos los estudios que se efectúan a fin de optimizar un fármaco. A nuestro juicio debería incorporarse el análisis de la absorción como un criterio selectivo en la etapa preclínica. La bibliografía es abundante respecto a las técnicas utilizadas en el seguimiento de la transferencia de un principio activo, entre las que se destacan técnicas *in vitro* con membranas naturales y artificiales, técnicas *in situ*, preparaciones celulares y también aquellas que emplean elementos subcelulares. Todas ellas permiten en breve tiempo contar con valiosa información referida a la absorción de una droga, como así mismo a la influencia de diversos factores.

En el presente trabajo nos detenemos a analizar una serie de publicaciones que describen el uso de una metodología relativamente simple, utilizando pequeños animales de laboratorio como la rata y el conejo. Se hace énfasis tan sólo en aquellas comunicaciones referidas a absorción de drogas empleando modelos *in vitro* e *in situ*.

PALABRAS CLAVE: Absorción de fármacos; Modelos *in vitro*; Modelos *in situ*.

KEY WORDS: Drug Absorption; *in vitro* Models; *In situ* models.

Técnicas *in vitro*

En esta metodología la técnica del intestino aislado de rata es la más utilizada en el estudio de absorción de drogas. La figura 1 muestra la preparación del saco intestinal empleado por Wiseman¹, utilizando un trozo de intestino que es lavado y evertido. El preparado es colocado en un recipiente de vidrio con una solución buffer conteniendo la droga a una temperatura de 37 °C, bajo agitación constante y aireada con gas carbógeno.

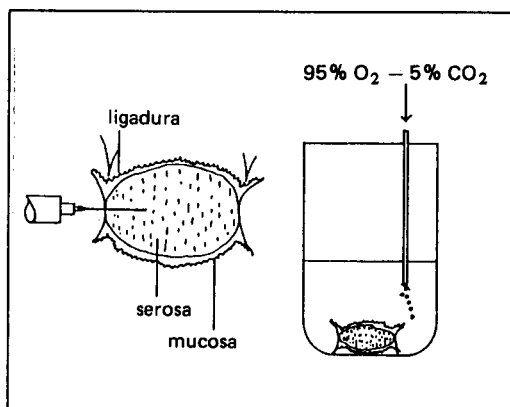


Figura 1. Técnica para la preparación del intestino evertido.

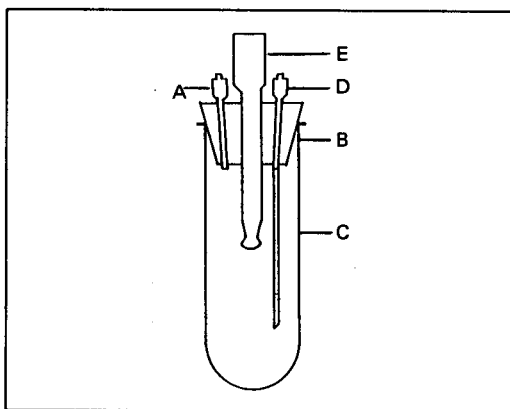


Figura 2. Diagrama del aparato utilizado en la técnica de intestino *in vitro*. A: aguja despuntada; B: tapón de goma; C: tubo de centrifuga; D: aguja con una prolongación de polietileno por donde se introduce la solución de la droga; E: tubo de vidrio en cuyo extremo se coloca el intestino.

Otra de las técnicas empleadas en las primeras investigaciones de absorción *in vitro*, es la ideada por Crane y Wilson²; el aparato es mostrado esquemáticamente en la figura 2. En la década de los años setenta se registran numerosos trabajos sobre transporte de drogas, Turner *et al.*³ analizan la absorción *in vitro* de nueve sustancias, empleando intestino aislado evertido y no evertido con el objeto de estudiar la dirección de la permeabilidad y relacionan el transporte entre ambas preparaciones. Para ello utilizan la técnica de perfusión *in vitro* preparada a partir de ratas macho Sprague Dowley de 250 g de peso sometidas a un ayuno de 24 hs, antes de ser sacrificadas mediante un golpe. Se separan trozos intestinales de las zonas del yeyuno e ileon y utilizando dos segmentos adyacentes de 12 cm de longitud se construye el modelo experimental, que emplea en cada ensayo alternativamente un segmento evertido y otro sin evertir. La figura 3 esquematiza el preparado con el cual se estudia la cinética de las sustancias seleccionadas y se evalúan las relaciones de los coeficientes de permeabilidad. En base al valor de dichas relaciones, los autores clasifican a las especies químicas en tres grupos:

1. Drogas con una relación de coeficiente de permeabilidad próximo a 1: fármacos que no están ionizados al pH en el cual se realiza la experiencia.

2. Drogas con una relación próxima a 1,3: son sustancias iónicas que atraviesan la membrana empleando por un lado transporte pasivo y además otro mecanismo que estaría relacionado con el movimiento del ion sodio.

3. Cuando se reemplaza el ion sodio por potasio se encuentra que la relación de los coeficientes de permeabilidad es cercano a 1 (1,08).

Los autores concluyen que en el ensayo *in vitro* la transferencia de las especies iónicas ocurre con mayor intensidad que en las experiencias *in vivo*.

Lovering y Black⁴ estudian la velocidad de permeación de la fenilbutazona empleando un preparado con intestino evertido aislado de ratas Sprague Dowley de un peso entre 180-250 g, sacrificadas luego de un ayuno de 24 hs. El intestino evertido aislado fue montado como muestra la figura 4. Las mediciones de la transferencia fueron realizadas en un rango de pH de 2 a 8. Pudieron comprobar que el coeficiente de permeabilidad, estimado mediante una modificación de la ecuación de Higuchis, no obedece a la clásica hipótesis de partición de pH. En éste estudio pudo ponerse de manifiesto que el pasaje a través de las membranas de la fenilbutazona fue mejorada por efecto de sales biliares empleando concentraciones inferiores a la Concentración Crítica Micelar (C.M.C.) y también por mucina de porcino. Una dificultad señalada en este trabajo se refiere a la variabilidad de los resultados, y a fin de reducirla se compara la permeabilidad seguida, en un mismo preparado, durante 50 minutos bajo una determinada condición y durante otros 50 minutos bajo otra condición, tomando como criterio para analizar diferencias significativas si la relación entre ambas condiciones escapa de los valores $1 \pm 0,1$.

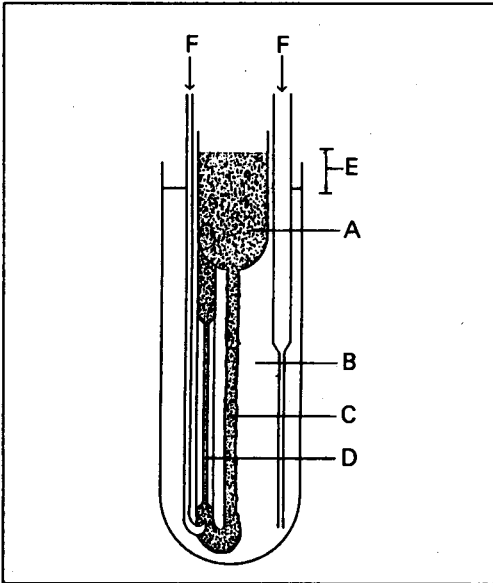


Figura 3. Diagrama que representa el aparato de perfusión *in vitro*. A: compartimiento interno (15 ml); B: compartimiento externo (140 ml); C: segmento de intestino (10 cm); D: tubo capilar; E: diferencia entre las alturas de compartimiento interno y externo; F: entrada de oxígeno.

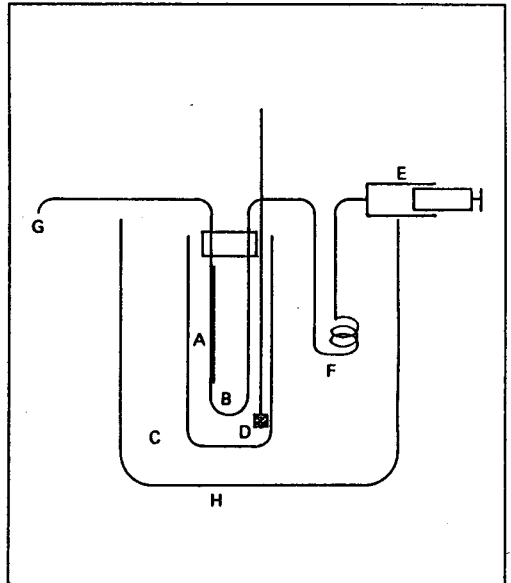


Figura 4. Esquema del aparato de perfusión. A: segmento de intestino evertido. B: cánula de vidrio. C: tubo de 50 ml; D: tubo de vidrio burbujeador; E: jeringa; F: solución mucosal precalentada; G: punto de colección de las muestras; H: baño termostático.

Branford⁵, Jordana y Ponz⁶ y Robinson y Felber⁷ destacan la utilidad del modelo *in vitro* pero abren interrogantes acerca de la integridad del preparado a medida que transcurre la experiencia. Utilizando ileon y yeyuno de ratas demuestran que los tejidos mantienen su capacidad metabólica por un término de dos a tres horas luego de ser aislados.

Gibaldi y Grundhofer⁸, si bien aceptan que la medida metabólica proporciona información sobre la integridad del preparado, plantean que quizás la transferencia de drogas está más relacionada a la plenitud de la estructura de la membrana que a la capacidad metabólica de los tejidos. Los autores citan en un trabajo los hallazgos de Levine *et al.*⁹ respecto a los cambios del tejido epitelial según el modo de sacrificar a las ratas; es así como órganos aislados de animales decapitados, cuando son utilizados en los preparados, a los 60 minutos de haberse iniciada la experiencia manifiestan un total desprendimiento del "borde epitelial", mientras que cuando se anestesian los animales con éter solamente aparecen dañadas de un 10 al 15 % de las células. Gibaldi y Grundhofer⁸ proponen a la velocidad de transferencia como un marcador válido del estado funcional del intestino evertido, medida a lo largo de la experiencia. Aunque destacan que si bien este parámetro no permite considerar la acumulación de la droga en el tejido ni el tiempo requerido para lograr el estado estacionario, constituye un método útil e informativo acerca de la integridad del preparado.

Feldman y Reinhard¹⁰ estudiaron la influencia de agentes tensioactivos en la transferencia de fármacos empleando un modelo *in vitro* que utiliza intestino evertido de ratas Sprague Dowley de 250-350 gramos de peso, ayunadas 20- 24 horas y anestesiadas con éter. Los sacos intestinales son preparados siguiendo la técnica descrita por Fedman *et al.*¹¹ en una publicación anterior.

Estos autores observan que surfactantes alquilsulfatos aumentan la liberación de fosfolípidos y proteínas desde el intestino evertido a la vez que aumenta la permeabilidad de las drogas. El laurilsulfato de sodio a concentraciones superiores a la CMC, provoca un marcado cambio en las características estructurales de las membranas. Por otra parte los investigadores hallan que el Polisorbato 80 al 1% (P/V) no provoca cambio alguno y el Polisorbato 188 a la misma concentración solamente origina ligeras variaciones. A fin de cuantificar los cambios utilizan como marcador la transferencia del salicilato de sodio.

Carelli *et al.*¹² destacan el uso de las técnicas *in vitro* por la simplicidad y reproducibilidad de los resultados tanto como los métodos *in vivo*, pero no dejan de señalar contradicciones entre los hallazgos experimentales referentes a mecanismos de absorción de drogas reportados en la literatura científica. Los autores sostienen que la utilización de distintos procedimientos experimentales y la complejidad del fenómeno implicado en la transferencia a través de intestino aislado, son los que originan la variabilidad de los resultados. Señalan que se pueden emplear indistintamente sacos intestinales evertidos y no evertidos en los estudios de transferencia de fármacos a través de órganos aislados de rata. Establecen que la velocidad de transferencia constituye un indicador adecuado de la integridad del preparado, coincidiendo en esta apreciación con Gibaldi y Grundhofer⁸. El modelo utilizado por Carelli *et al.*¹² se muestra en la figura 5.

Feldman *et al.*¹³ destacan así mismo la importancia de la integridad estructural de la mucosa, pues el consumo de oxígeno no varía durante un período de 3 a 7 horas después de aislado el órgano. Interpretan la acción peristáltica del intestino como indicativa de la viabilidad del preparado y establecen que el peristaltismo se mantiene por períodos de 1 a 2,5 horas cuando se emplean sacos intestinales evertidos y no evertidos respectivamente.

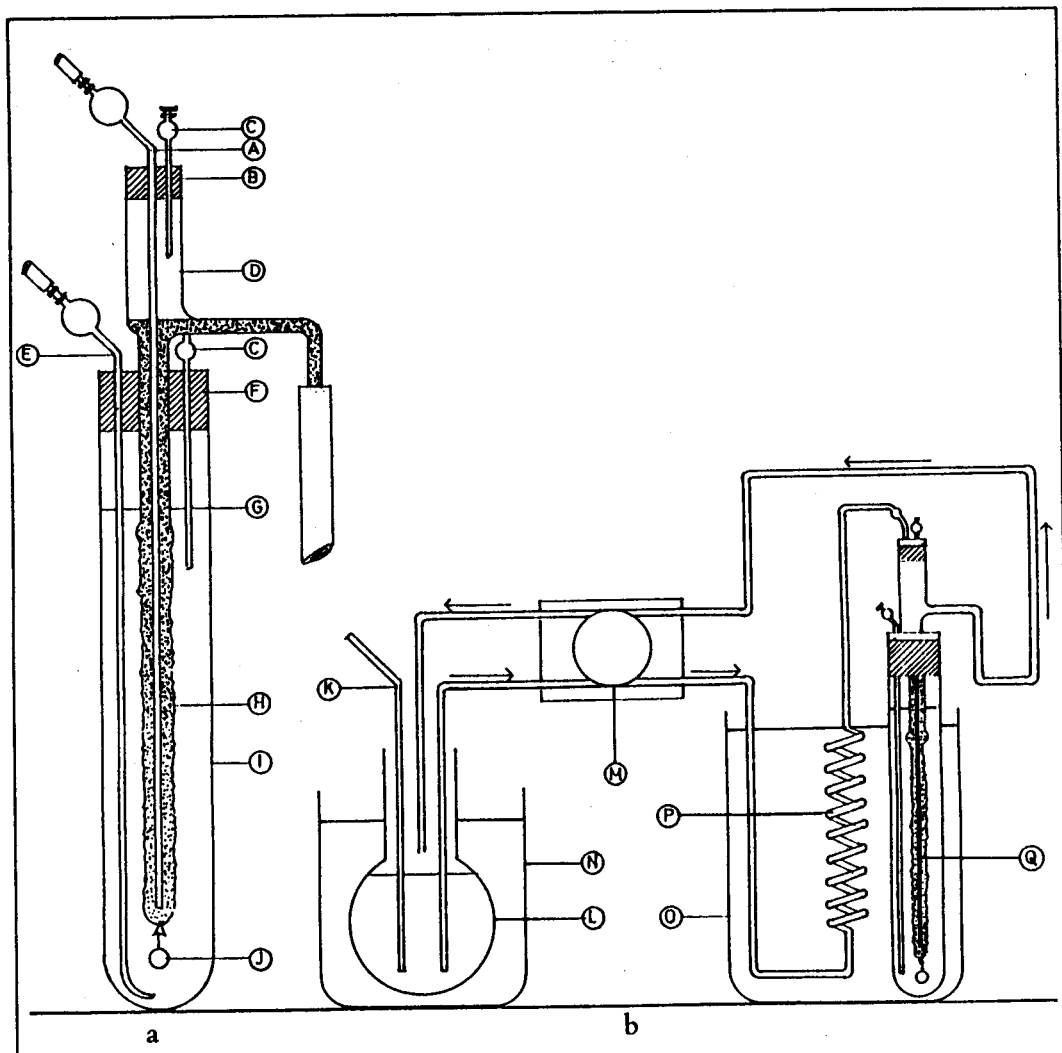


Figura 5. Esquema que representa el aparato usado en estudios que emplean segmentos intestinales de rata.

Parte a: A: aguja por donde penetra la solución mucosal. B, F: tapones de goma. C: orificio de salida de aire. D: tubo de vidrio. E: aguja para entrada de carbógeno y salida de la solución serosal. G: nivel de solución serosal. H: saco intestinal. I: tubo de vidrio. J: pesa de 5 g.

Parte b: aparato completo. K: tubo burbujeador. L: reservorio de solución mucosal. M: bomba peristáltica (4,5 ml/min). N, O: baño termostático a 37 °C. P: espiral de vidrio. Q: unidad de perfusión.

Chowhan y Amaro¹⁴ utilizan un modelo *in vitro* con sacos intestinales evertidos de rata para evaluar la absorción de nuevas drogas previamente a la realización de ensayos clínicos y al diseño de formulaciones. Para estos estudios emplean el modelo presentado en la figura 6. Los autores analizan la influencia de excipientes, tensioactivos y pH en la transferencia de drogas análogas.

En dos publicaciones anteriores hemos empleado un modelo que utiliza membranas naturales para estudiar el efecto del ayuno¹⁵ y de colato de sodio¹⁶ en la absorción gastrointestinal de clorhidrato de metoclopramida.

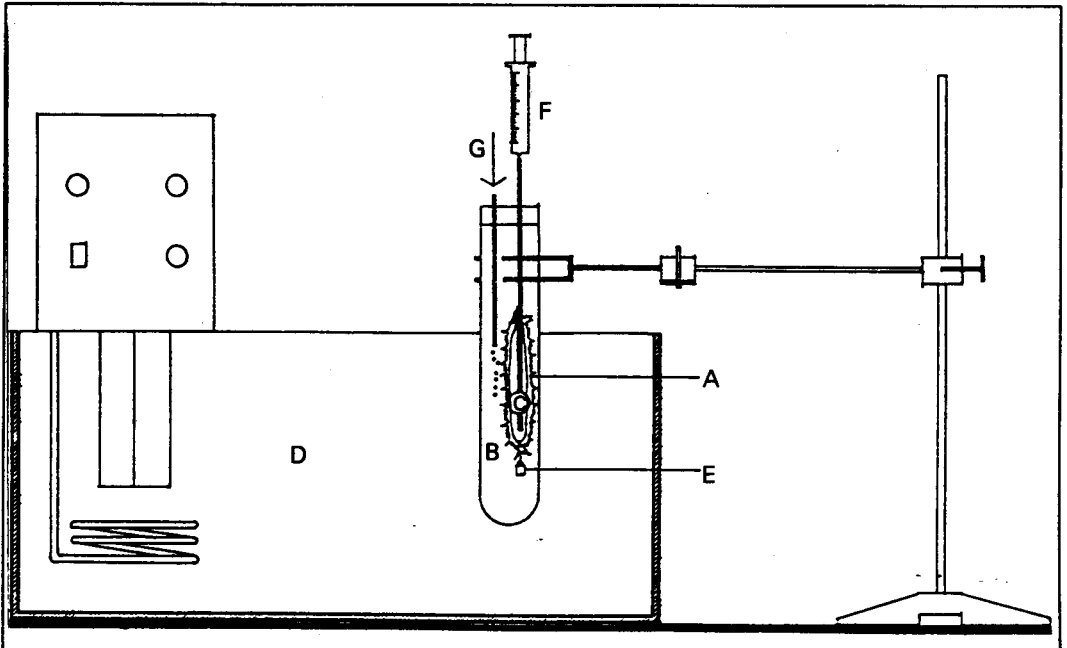


Figura 6. Diagrama del equipo utilizado en el modelo de absorción *in vitro* - intestino evertido. A: intestino. B: solución mucosal. C: solución serosal. D: baño termostático a 37 °C. E: pesa de 5 g. F: jeringa. G: burbujeo de aire.

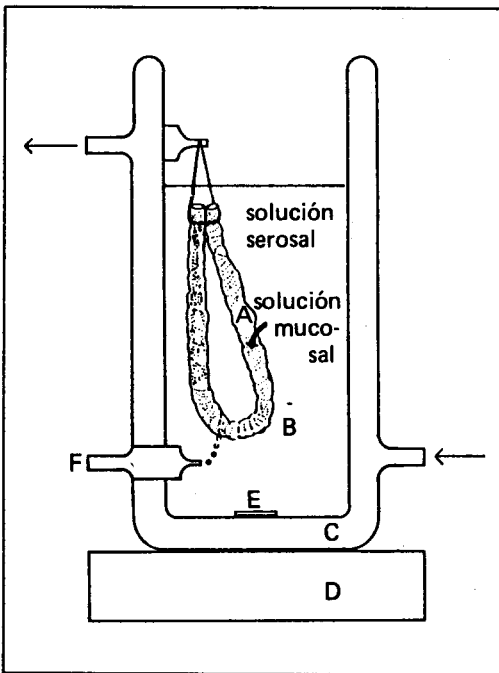


Figura 7. Diagrama del equipo utilizado en el modelo de absorción *in vitro*. A: intestino. B: solución plasmática. C: circulación de agua a 37 °C. D: agitador magnético. E: buzo. F: burbujeo de aire.

El modelo empleado en ambos estudios consiste en la preparación de sacos estomacales e intestinales de ratas sin evertir, en los cuales se coloca la solución del fármaco a estudiar. Los sacos se sumergen en medio plasmático artificial a 37 °C con burbujeo constante de aire y agitación magnética (Figura 7). Se determinó el perfil de la cinética de transferencia, valorando el principio activo con un método colorimétrico y se concluyó que existe mayor velocidad de transferencia en segmentos intestinales provenientes de ratas ayunadas comparándola con la de ratas que han sido alimentadas a voluntad. A la vez se verificó mayor transferencia en intestino de rata que en estómago.

En el estudio de influencia de la sal biliar se emplea el mismo modelo experimental, colocando en el interior del saco intestinal la solución del fármaco en presencia de la misma a una concentración adecuada. De este trabajo experi-

mental concluimos que el tensioactivo ejerce influencia en la transferencia del principio activo y que la misma depende de que la concentración de colato de sodio resulte inferior o superior a la CMC. Pudimos apreciar que la técnica de saco intestinal sin evertir, a pesar de no ser tan empleada por otros autores, permite estimar la influencia de factores fisiológicos y farmacotécnicos en la transferencia de drogas, conservándose la integridad estructural de las membranas naturales durante los 120 minutos de la experiencia.

Benet *et al.*¹⁷ analizan hasta qué punto la absorción de drogas ionizables está asociada al transporte del ion sodio. Utilizan intestino aislado para llevar a cabo la técnica de perfusión. Mediante éste modelo estudian la incidencia del ion sodio en la transferencia del salicilato y acetanilida, encontrándose mayor dependencia por parte del salicilato.

Técnicas *in situ*

Numerosos autores han empleado los modelos *in situ* para estudiar la absorción de distintas sustancias a través del tracto gastrointestinal, como así también la influencia de diversos factores en la transferencia de drogas. Entre los modelos más utilizados podemos citar:

Perfusión de simple paso. En ésta técnica se expone el intestino del animal mediante una incisión en el abdomen; a continuación se hacen pequeños cortes en el extremo proximal y distal del intestino a fin de poder adaptarlo mediante cánulas a una bomba peristáltica. Se hace circular la solución que contiene el fármaco a una velocidad de flujo determinado y se colecta en el otro extremo todo el volumen perfundido para ser analizado posteriormente.

Técnica de recirculación. Este modelo emplea segmentos intestinales de animales anestesiados, los cuales son adaptados mediante cánulas a una bomba de perfusión que permite hacer circular la solución del fármaco a velocidad constante durante toda la experiencia. Se extraen muestras a distintos tiempos manteniendo el volumen de perfusión mediante la reposición con solución fresca¹⁸.

Técnica del loop cerrado. Consiste en seleccionar un trozo de intestino de una longitud determinada y mediante una cánula se unen ambos extremos: el "loop" así formado contiene la solución de la droga a estudiar. La absorción del fármaco puede seguirse tomando muestras del torrente sanguíneo, como así mismo del interior del "loop".

Empleando modelos *in situ*, Crouthamel *et al.*¹⁹ estudian la influencia del pH sobre la velocidad de absorción de drogas débilmente ácidas en el tracto gastrointestinal. La técnica desarrollada consiste en la formación de un loop que contiene una solución isotónica del fármaco a pH 6 para el caso de intestino y a pH 3 para el estómago. Una vez anestesiadas las ratas con uretano se expone la zona abdominal y se canula el intestino en la región de duodeno e ileon, como se muestra en la figura 8.

El modelo permite extraer muestras a distintos tiempos de ambos extremos del intestino accionando alternativamente las jeringas. Durante toda la experiencia se mantiene una temperatura constante de 37° C. En el caso del estómago se emplea el mismo modelo ligando el cardias y el píloro²⁰.

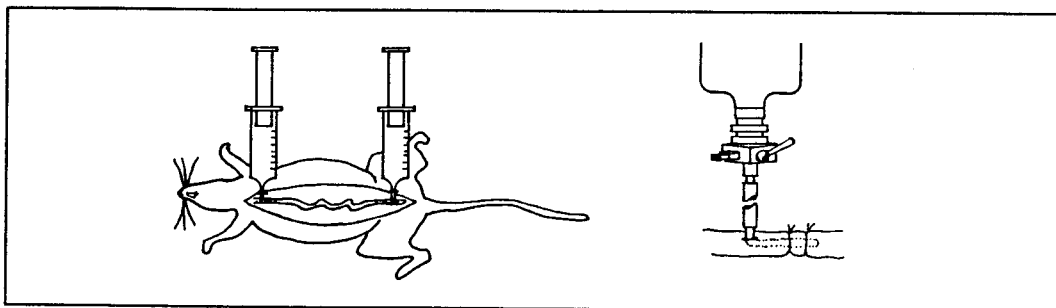


Figura 8. Modelo experimental para determinar la velocidad de absorción de drogas desde el lumen intestinal de ratas. Modelo *in situ*.

Venho ²¹ empleó el mismo modelo experimental *in situ* para estudiar el efecto de clorhidrato de metoclopramida en la absorción de drogas desde el lumen intestinal de rata, concluyendo que dosis de 50 mg/kg no modifican la transferencia de fármacos como la isoniazida y quinidina.

Schurges *et al.* ²² han publicado un interesante trabajo experimental que compara técnicas empleadas en estudios de absorción de fármacos con modelos *in situ* con el objeto de cotejar la velocidad de absorción en relación a la velocidad de flujo. También establecen que en los procesos de transferencia existe una relación lineal entre la velocidad de transferencia, la concentración y la longitud del segmento perfundido. Debido a que surgen diferencias en la cantidad absorbida según la técnica que se emplee, es necesario definir las condiciones de trabajo y mantenerlas constante durante toda la experiencia.

Cid ²³ ha estudiado el efecto de dimetilsulfóxido y dimetilformamida sobre la absorción gástrica de ácido salicílico empleando ratas macho ayunadas durante 24 horas. Los animales fueron anestesiados con uretano y luego de realizar una incisión en el abdomen se dejó expuesto el estómago; el órgano se canula a nivel del píloro y cardias y se lava con solución salina isotónica antes de colocar la solución del fármaco a estudiar. La experiencia se realiza durante 90 minutos y con el fin de mantener una temperatura adecuada se emplea una lámpara infrarrojo. El modelo empleado por el autor permite la medición del fármaco que resta por absorberse desde el estómago a cada uno de los tiempos establecidos para la toma de muestra.

Muchos autores utilizan comparativamente modelos *in vitro* e *in vivo* para estudiar factores fisiológicos que pueden incidir en la absorción de fármacos; así Barr y Riegelman ²⁴ analizan la absorción y metabolismo de salicilamida. En el modelo *in vitro* emplean un segmento intestinal de 10 cm de longitud extraído de conejo que se lava con solución bicarbonato -Ringer-Krebs pH 7,4 y se evierte; un extremo del mismo es ligado y el otro unido a un dispositivo constituido por un tubo de polietileno (Figura 9). El intestino se sumerge en fluido mucosal conteniendo una solución de la droga a 37° C y saturado con carbógeno. Se extraen muestras de ambos fluidos, mucosal y serosal para ser analizadas posteriormente por una técnica espectrofluorimétrica. El modelo empleado en este trabajo experimental surge como una modificación del propuesto por Crane y Wilson ².

La preparación intestinal *in vivo* se realiza anestesiando conejos de 2-3 kg de peso con fenobarbital o uretano; se expone el intestino y se canula el mismo para ser perfundido o bien para formar un loop cerrado (Figura 10). Se cánula la vena mesen-

Figura 9. Aparato usado en la técnica *in vitro*. a: jeringa plástica (1 ml) usada para coleccionar el fluido serosal. b: aguja hipodérmica. c: tapón de goma. d: recipiente de 125 ml. e: tubo de polietileno. f: baño de agua (37 °C). g: intestino evertido. h: entrada de gas carbógeno (O₂-CO₂, 95% - 5%). i: jeringa plástica (1 ml) usada para coleccionar el fluido mucosal.

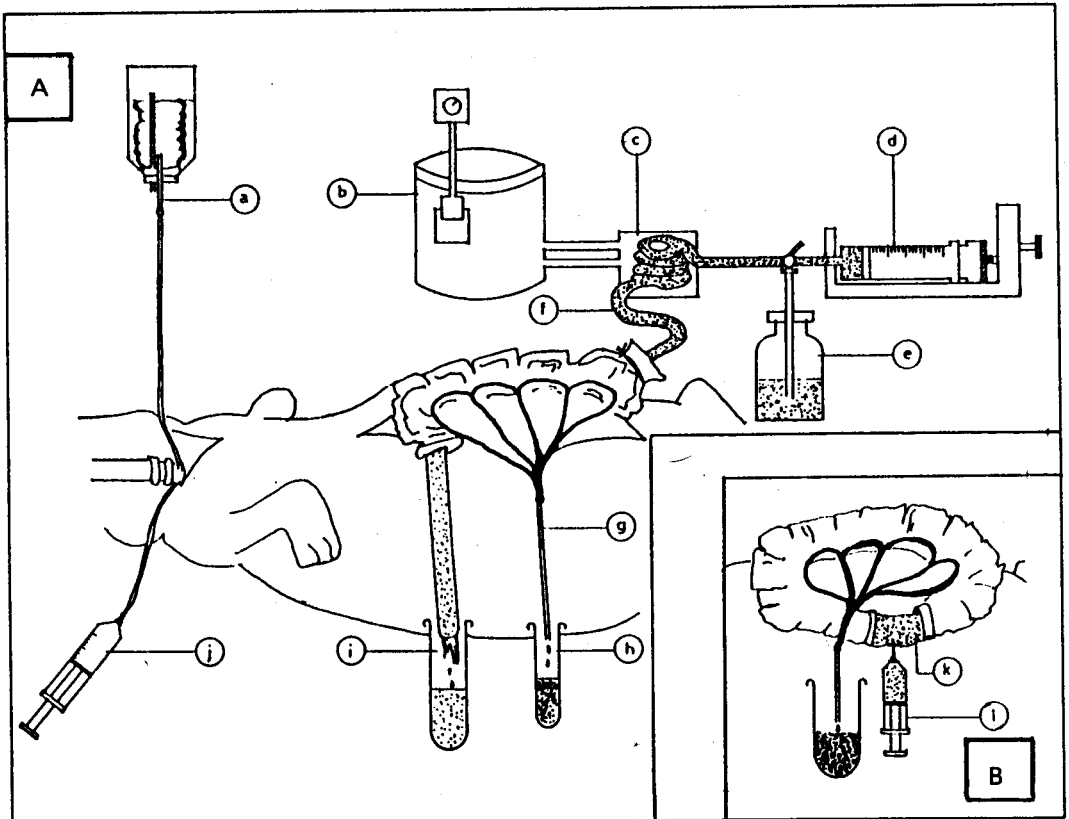
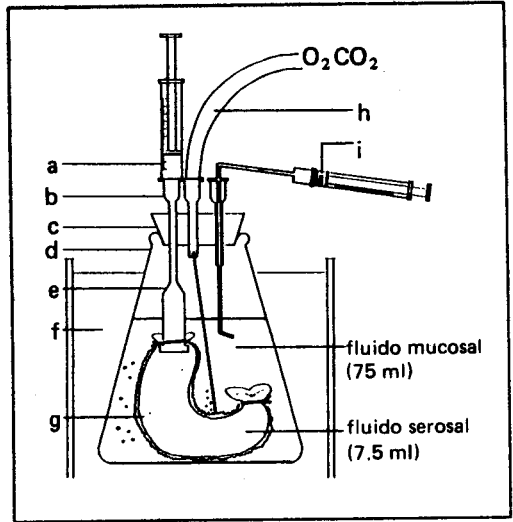


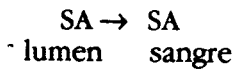
Figura 10. Preparación intestinal *in vivo*.

A: intestino perfundido. a: sangre/sangre - mezcla salina; b: baño termostático; c: espiral de calentamiento; d: bomba de infusión; e: solución a perfundir; f: sistema de conexión al intestino; g: cánula de polietileno para coleccionar sangre de la vena mesentérica; h: tubo de centrifuga calibrado (15 ml); i: tubo de centrifuga para coleccionar el efluente perfundido; j: carótida canulada. **B: Loop cerrado.** k: tubo que une los extremos intestinales para formar el "loop"; l: jeringa para coleccionar muestras del fluido mucosal y mezclar periódicamente el contenido intestinal.

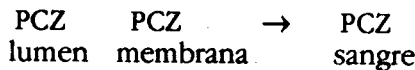
térica y a través de ella se colectan las muestras de sangre que posteriormente se analizan. La sangre perdida se repone por infusión continua, con una mezcla de sangre heparinizada y solución salina o bien con sangre entera, a través de la vena yugular. Toda la preparación es mantenida a temperatura de 37° C mediante una lámpara ubicada a una distancia adecuada.

Savina *et al.*²⁵ han empleado modelos animales *in vitro* e *in situ* para efectuar un estudio de los factores que influyen sobre la absorción de drogas, con el objeto de mejorar la terapéutica desde el punto de vista de la dosificación, eficacia y seguridad. Establecen que los principales factores son: la constitución de la solución perfundida, el pH, las sales biliares y la velocidad de flujo a través del intestino. El trabajo realizado por estos autores estuvo destinado a determinar la velocidad de flujo óptima a la cual se obtiene la mínima variabilidad en la absorción de solutos. Para ello emplearon el modelo experimental descrito por Schanker *et al.*²⁶.

Doluisio *et al.*²⁷ realizaron un trabajo experimental en el cual comparan la absorción de drogas empleando preparaciones intestinales *in vitro* e *in situ*. Evaluaron también el rol de la acumulación de fármaco en la membrana durante la transferencia a través de la misma, concluyendo que la absorción de principios activos como el ácido acetilsalicílico sigue una cinética aparente de primer orden en forma irreversible; en cambio, otros como la proclorperazina lo hacen de acuerdo a un perfil cinético biexponencial.



SA = ácido acetilsalicílico



PCZ = proclorperazina.

Fleisher *et al.*²⁸ han empleado un modelo de perfusión *in situ* para estudiar la posibilidad de lograr una adecuada concentración plasmática cuando se administran corticoides solubles por vía oral. Si bien los esteroides son bien absorbidos en el tracto gastrointestinal, existen importantes variaciones en los niveles plasmáticos cuando se administran en altas dosis; ésto se debe a la limitada solubilidad de los fármacos y a la variabilidad en la velocidad de disolución. Para ello se compara la absorción de tres prodrogas: succinato, fosfato y lisinato, con la de hidrocortisona y prednisolona.

Los modelos empleados en este estudio fueron por un lado la técnica de perfusión de intestino delgado de rata y por el otro la medición de niveles plasmáticos de fármacos en perros, previa administración de la forma farmacéutica por vía oral. El modelo de perfusión intestinal fue elaborado con ratas macho Holtzman de 200-300 gramos de peso, las cuales fueron anestesiadas con etilcarbamato (150 mg/100 g). Se localizó el ligamento de Treitz y se entubó el intestino a 2 centímetros del mismo; a los 6-8 centímetros se colocó una segunda cánula y todo el preparado se mantuvo hú-

medo colocando una gasa embebida con solución isotónica a temperatura corporal. La entrada de la solución a perfundir se realiza por la parte superior del yeyuno a una velocidad constante de 0,382 ml/min y en el nivel inferior del intestino se coloca un tubo colector que permite la toma de muestras a tiempos regulares.

Los autores concluyeron que el éster lisinato no reporta ventajas respecto a los esteroides originales debido a su inestabilidad química. La absorción del succinato, que es estable, es muy escasa debido a su limitada polaridad y resistencia a la actividad de las esterasas. Los fosfatos de esteroides son estables químicamente y son bien absorbidos en la parte superior del intestino, pero esto depende del nivel de fosfatasa alcalina presente en el medio intestinal.

Los modelos *in situ* son empleados no sólo para realizar estudios de absorción gastrointestinal sino también son de utilidad para cuantificar el metabolismo presistémico de fármacos. El preparado experimental empleado por Karl *et al.*²⁹ utiliza ratas de 300-350 gramos de peso, ayunadas durante 14-16 horas; las mismas fueron anestesiadas con 60 mg de Clorhidrato de Ketamina y 21 mg de pentobarbital sódico por kg de peso. Se canularon la vena porta y yugular con el fin de extraer muestras de sangre a distintos tiempos; la vena gastroesplécnica se ligó a 1 cm de la vena porta y mediante un catéter se conectan las mismas. En el intestino delgado se instalan dos cánulas, una en el fin proximal del duodeno y otra en el extremo distal del íleon. Esta técnica fue descripta previamente por Suzuki *et al.*³⁰ y reportado también por Doluisio²⁰.

Por último destacamos el trabajo de Hu y Amidon³¹, quienes estudian el mecanismo de absorción del captopril empleando el modelo de perfusión de simple paso en ratas ayunadas. Mediante esta técnica se estudió la transferencia del principio activo en ausencia y presencia de sustancias inhibitoras de transportes activos. Si bien los estudios de biodisponibilidad en humanos y en ratas se muestran independientes de la dosis ensayada, los autores arriesgan la participación de un transporte mediado en base a la similitud estructural del captopril con los aminoácidos. Los experimentos fueron realizados a nivel de yeyuno y colon, hallándose una disminución de la permeabilidad del captopril en presencia de 2,4-dinitrofenol y de antibióticos β -lactámicos que son transportados por un sistema carrier, suponiendo que la droga antihipertensiva utiliza en parte un mecanismo de absorción mediado.

El análisis de los trabajos citados permite señalar la utilidad de los modelos experimentales *in vitro* e *in situ* en una serie de estudios de interés para la disciplina farmacéutica, destacándose entre ellos los siguientes:

Mecanismo de transferencia de fármacos, empleando principalmente la técnica de órgano aislado; en el caso del intestino, se lo emplea tanto evertido como no evertido. La integridad de estos preparados se mantiene durante un tiempo de aproximadamente 180 minutos, suficiente como para definir la cinética de absorción.

Correlación entre las variaciones de la estructura química de una molécula activa y la absorción. Este estudio es de especial interés en el diseño farmacológico, puesto que no solo debe considerar el mejoramiento de las propiedades farmacológicas sino que debe contemplar la disponibilidad biológica.

Incidencia de drogas no activas y activas en la absorción de un fármaco. Este análisis es de suma importancia en el diseño farmacotécnico permitiendo evaluar aquellos factores que pueden mejorar la biodisponibilidad.

Influencia de factores fisiológicos tales como: ayuno, pH, tensioactivos fisiológicos y variaciones del flujo sanguíneo.

Metabolismo preclínico, utilizándose especialmente modelos in situ, que permiten evaluar la degradación del principio activo a nivel hepático, afectando consecuentemente la biodisponibilidad de la forma farmacéutica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Gervasi, G. B. (1980) *Problematiche nello studio del metabolismo dei farmaci* (Di Esse Ed.) pág. 68
2. Gervasi, G. B. (1980) *Problematiche nello studio del metabolismo dei farmaci* (Di Esse Ed.) pág. 69
3. Turner, R.H., S.M. Chandrakant y L. Benet. (1970) *J. Pharm. Sci.* **59**: 590-3
4. Lovering, E.G. y D.B. Black (1974) *J. Pharm. Sci.* **63**: 671-675
5. Branford, D.R. (1966) *Proc. Roy. Soc. Ser. B*, 166, 30-4
6. Jordana, R. y F. Ponz. (1969) *Rev. Españ. Fisiol.* **25**: 225-7
7. Robinson, J.W.L. y P. Felber (1966) *Gastroenterología* **69**: 105-8 (17)
8. Gibaldi, M., B. Grundhofer (1972) *J. Pharm. Sci.* **61**: 116-9
9. Levine, R.R., W.F. McNary, P.J. Kornguth, R. Le Blanc (1970) *Eur. J. Pharmacol.* **9**: 21-5
10. Feldman, S. y M. Reinhard (1976) *J. Pharm. Sci.* **65**: 1460-2
11. Feldman, S., M. Reinhard y C. Wilson (1973) *J. Pharm. Sci.* **62**: 1961-6
12. Carelli, V., G. Dicolo, E. Nanipieri (1980) *Il Farmaco* **36**: 166-80
13. Feldman, S., J. Richardson, C. Freeman, S. Pollock, J. Berger, F. Kaplan y G. Rhoa (1974) *J. Pharm. Sci.* **63**: 454-6
14. Chowhan, Z.T. y A.A. Amaro (1977) *J. Pharm. Sci.* **66**: 1249-3
15. Volonté, M.G., S.A. Taylor, C.G. Marano, M.I. Reinoso y P. Lufrano (1988) *Acta Farm. Bonaerense* **7**: 169-74
16. Volonté, M.G., S.A. Taylor, C.G. Marano, M.I. Reinoso y P. Lufrano (1990) *Acta Farm. Bonaerense* **9**: 95-100
17. Benet, L.Z., J.M. Orr, R.H. Turner y H.S. Webb (1971) *J. Pharm. Sci.* **60**: 234-237
18. Akira, T., (1978) *J. Pharm. Sci.* **67**: 1701-4
19. Crouthamel, W.G., G.H. Tan, L.W. Dittert y J.T. Doluisio (1971) *J. Pharm. Sci.* **60**: 1160-63
20. Doluisio, J.T., N.F. Billups, L.W. Dillert, E.T. Sugila, J.V. Swintosky (1969) *J. Pharm. Sci.* **58**: 1196-200
21. V.M.K. Venho. (1979) *J. Pharm. Sci.* **68**: 517-8
22. Schurgers, N., J. Bijdendik, J.J. Tukker, D.J.A. Crommelin (1986) *J. Pharm. Sci.* **75**: 123-6
23. Cid, E. (1987) *Il Farmaco* Ed. Pr. **42**: 179-83
24. Barr, W.H. y S. Riegelman. (1970) *J. Pharm. Sci.* **59**: 154-63
25. Savina, P.M., A.E. Staubus, T.S. Gaginella y D.F. Smith (1981) *J. Pharm. Sci.* **70**: 239-43
26. Schanker, L.S., D.J. Tocco, B.B. Brodie y C.A.M. Hogben. (1958) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **123**: 81-5
27. Doluisio, J.T., W.G. Crouthamel, G.H. Tan, J.V. Swintosky y L.W. Dittert. (1970) *J. Pharm. Sci.* **59**: 72-76
28. Fleisher, D., K.C. Johnson, B.H. Stewart y G.L. Amidon. (1986) *J. Pharm. Sci.* **75**: 934-9
29. Karl, A. Y., J.F. Pritchard, N.L. Renzi y B.H. Dvorchik. (1986) *J. Pharm. Sci.* **75**: 869-72
30. Suzuki, T., Y. Saitoh, S. Isozaki y R. Ishida (1973) *J. Pharm. Sci.* **62**: 345-7
31. Hu, M. y G. L. Amidon (1988) *J. Pharm. Sci.* **77**: 1007-011