

## ESTUDIO DEL MECANISMO DE ABSORCIÓN DEL DANOFLOXACINO

Raul Molmeneu, Ricardo Nalda, Adela Martín-Villodre, Teresa M<sup>a</sup> Garrigues

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Valencia.

### Introducción

El danofloxacinó es una quinolóna derivada del ciprofloxacino, de amplia utilización en Veterinaria. Presenta un perfil bactericida muy amplio y características farmacocinéticas sensiblemente mejores que su precursor, lo que determina su aplicabilidad.

Se ha descrito que en presencia de infección intestinal su absorción se modifica drásticamente (1). Asimismo, se ha publicado que la absorción de algunas quinolonas no es un proceso de difusión pasiva simple, sino que intervienen portadores activos tanto de absorción (2) como de secreción (3).

Con el fin de profundizar en el mecanismo de absorción de esta quinolóna se diseñó un estudio con los siguientes objetivos:

1. Estudiar la linealidad del proceso de absorción de danofloxacinó en intestino de rata Wistar
2. Caracterizar la influencia de la glicoproteína-P en el proceso de absorción, mediante estudio de inhibición con verapamilo, en intestino de rata.
3. Determinar la permeabilidad efectiva del danofloxacinó en monocapas de Caco-2, tanto para la difusión apical-basal como para la basal-apical, y en presencia de inhibidor.

### Materiales y Métodos

El danofloxacinó se valoró mediante cromatografía líquida de alta resolución y detección fluorescente, según un método validado de antemano, puesto a punto para este estudio (4)

Los ensayos de absorción se realizaron mediante una técnica de perfusión in situ sin

recirculación, utilizando el intestino completo de ratas Wistar macho de 2-3 meses de edad (5). Se perfundieron soluciones de danofloxacinó de 40 mg/L, 4 mg/L y 0.4 mg/L, a pH 7.00. También se ensayó la solución mixta de danofloxacinó 0.4 mg/L y verapamilo 4mM.

Como parámetro representativo de la absorción se ha utilizado la constante aparente de velocidad del proceso ( $k_{ap}$ ) que se obtiene por ajuste de la cinética de primer orden a los datos obtenidos en cada serie de experiencias, utilizando el programa SigmaPlot 5.0®. Los valores  $k_{ap}$  se han comparado entre sí mediante ANOVA de una vía y posterior test de Scheffé.

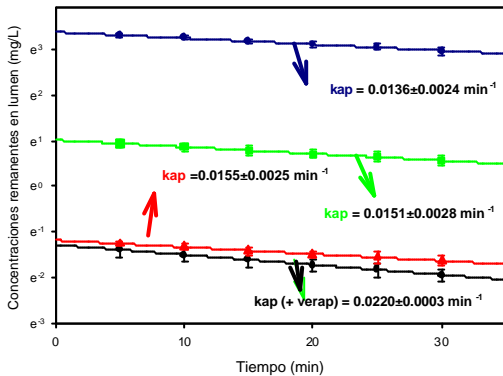
El estudio in vitro consistió en experiencias de difusión sobre monocapas celulares Caco-2 dispuestas sobre filtros de policarbonato en pocillos bicamerales, utilizando condiciones sumidero y dosis infinita. Se controló tanto la agitación del medio, como la temperatura y la integridad de la monocapa por medida de la TEER (Millicell-ERS®).

Como parámetro representativo se utilizó la permeabilidad efectiva (P) que corresponde a la pendiente de la recta que definen las cantidades acumuladas en la cámara receptora frente al tiempo, dividida por la concentración inicial y la superficie del inserto. Se estiman tanto en sentido apical-basal ( $P_{ab}$ ) como en sentido basal-apical ( $P_{ba}$ ). También se calculó el cociente r como relación de los coeficientes de permeabilidad ( $P_{ba}/P_{ab}$ ).

### Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos en las experiencias con animales se presentan gráficamente en la Figura 1. En la Tabla 1 se muestran los

resultados del estudio estadístico de los mismos.



**Figura 1.** Cinética de absorción de danofloxacino en las diferentes condiciones

**Tabla 1.** Resultados de la prueba de Scheffé

Concentración (mg/L)	40	4	0.4	0.4+V
40	-			
4	NS	-		
0.4	NS	NS	-	
0.4+V	S	S	S	-

De acuerdo con las constantes de absorción en solución libre, la cinética de absorción del danofloxacino se puede describir como una difusión pasiva. Sin embargo, el aumento significativo que provoca la adición del verapamilo sugiere la existencia de un proceso de secreción simultáneo, probablemente mediado por la glicoproteína-p.

Los resultados obtenidos con las experiencias in vitro se muestran en la Tabla 2.

En estas condiciones se observa también el efecto del inhibidor selectivo de la glicoproteína-p, que conduce a un aumento significativo ( $p < 0.001$ ) del flujo apical basal al tiempo que provoca una disminución del flujo en sentido inverso (también significativa,  $p < 0.039$ ).

**Tabla 2.** Permeabilidad efectiva de danofloxacino 50  $\mu$ M en las condiciones estudiadas.

	Sin verapamilo	Con verapamilo 100 $\mu$ M
$P_{ab}$ (cm/s)	$9.161e-6 \pm 5.38e-7$	$1.260e-5 \pm 5.42e-7$
$P_{ba}$ (cm/s)	$1.929e-5 \pm 1.53e-7$	$1.657e-5 \pm 1.02e-7$
Cociente r	$2.106 \pm 0.124$	$1.357 \pm 5.72e-2$

La hipótesis de un componente de secreción activa en el proceso de absorción de danofloxacino se confirma asimismo en el análisis del cociente r, que resulta superior a la unidad incluso en presencia del inhibidor.

En conclusión cabría destacar la diferente sensibilidad de los dos métodos experimentales utilizados, y la coherencia de los resultados obtenidos. Parece que los estudios con inhibidores específicos del transporte son más adecuados para poner de manifiesto procesos de secreción que los estudios de linealidad, especialmente si la afinidad del sistema es baja, como ocurre con la quinolona ensayada.

**Bibliografía**

1. Lindecrona RH, Friis C, Nielsen JP, *Res Vet Sci*, 68(3): 211, 2000.
2. Prieto JG, Barrio JP, Álvarez AI, Gómez G, *J Pharmacol*, 211, 1998.
3. Kazumasa N, Ikumi T, Natsuko I, Hiromi M, Yoschimichi S, Nagao S, Akira T, *J. Pharm Pharmacol*, 53, 699, 2001.
4. Trabajo de investigación DEA. "Estudi de l'absorció del danofloxacino". Raúl Molmeneu Soler. Noviembre 2002.
5. Doluisio JT, Bilups NF, Dittert LW, Sugita ET, Swintosky JV, *J Pharm. Sci.*, 58, 1196, 1969.

**Autor de contacto:**

Teresa M<sup>a</sup> Garrigues  
 teresa.garrigues@uv.es  
 Universidad de Valencia  
 Av. V. A. Estellés,sn Ciudad 46100 Burjassot (Valencia)  
 Telf.: 963544916 Fax 963544911