

ESTUDIO IN SITU DE LA INFLUENCIA DEL DIMETILSULFÓXIDO (DMSO) SOBRE LA PERMEABILIDAD INTESTINAL DEL SAQUINAVIR

Matilde Merino, Fco. Javier Mañez, Rocío Lledó, M^a José Muñoz, Vicente G. Casabó y Amparo Nácher.

Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad de Valencia, Avda. Vicente A. Estellés s/n 46100. Burjassot (valencia).

Introducción

El saquinavir es un fármaco antirretroviral que actúa inhibiendo la proteasa del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), impidiendo, de ese modo, la replicación del mismo.

Uno de los problemas que presenta el saquinavir, al igual que otros antirretrovirales, es su baja hidrosolubilidad, lo que dificulta los estudios de transporte, llevados a cabo tanto *in situ* como *in vitro*, del fármaco en disolución.

Para solucionar este problema se suelen emplear cosolventes, de los que en muchas ocasiones se desconoce como pueden influir sobre el proceso de absorción del fármaco que se estudia.

En la bibliografía revisada, se encuentran estudios de permeabilidad *in vitro* que utilizan dimetilsulfóxido (DMSO) como cosolvente. Los estudios publicados indican resultados controvertidos. Mientras que en unos se concluye que la presencia de un 1% de DMSO en las disoluciones ensayadas no modifica la integridad de las membranas celulares (1, 2), en otros estudios se evidencia que el DMSO ejerce un efecto promotor en la penetración de fármacos administrados sobre la piel. (3).

El objetivo de este trabajo es estudiar y cuantificar, si existe, la influencia de distintas proporciones de DMSO sobre la absorción intestinal del saquinavir, utilizando como modelo animal la rata.

Materiales y Métodos

Los ensayos de absorción se han realizado utilizando la técnica de perfusión *in situ* (4).

Se perfundieron 10ml de solución isotónica de saquinavir, preparada a partir de la sustancia en polvo, a la concentración de 15 μ M, sin cosolvente y adicionadas de un 0.16%, 0.33%, 0.66% y 1% de dimetilsulfóxido (DMSO).

La valoración del saquinavir en las muestras intestinales se realizó mediante cromatografía líquida, utilizando un detector UV ($\lambda= 235$ nm) y una columna cromatográfica de fase inversa (Symmetry C-18, 150x4.6 mm). La fase móvil empleada para la cuantificación del saquinavir consistió en una mezcla de acetonitrilo y de una solución formada por un 99% de agua bidestilada y un 1% de tampón fosfato 1/15 M (pH 6.9). La proporción utilizada en la valoración fue de 70:30 (V/V).

Con objeto de establecer la influencia del DMSO sobre la permeabilidad intestinal en la incorporación gastrointestinal del saquinavir, se calcularon las constantes de velocidad de absorción del fármaco de primer orden, mediante regresión no lineal a partir de las concentraciones de saquinavir remanentes en el lugar de absorción a los distintos tiempos de muestreo. Posteriormente las constantes de velocidad de absorción, obtenidas para cada disolución perfundida, se compararon estadísticamente mediante la realización de un ANOVA de una vía.

Resultados y Discusión

En el cuadro 1 se muestran las constantes de velocidad de absorción promedias de primer orden (k_a), acompañadas de su desviación estandar, obtenidas para las disoluciones de saquinavir perfundidas, el número de animales ensayados (n), así como el resultado del análisis estadístico.

Tabla 1. Constantes de velocidad de absorción medias (k_a), ($\pm SD$) obtenidas en intestino de rata tras la perfusión de disoluciones de saquinavir (15 μM) adicionadas de DMSO (0-1%) y análisis estadístico de diferencias (test ANOVA de una vía).

saquinavir 15 μM con % DMSO	k_a (h^{-1}) ($\pm SD$)	n	Análisis estadístico	
			F	P
0	2.022 \pm 0.278	9	2.009	0.123
0.16	2.631 \pm 0.661	5		
0.33	2.380 \pm 0.478	6		
0.66	2.736 \pm 0.837	5		
1	2.131 \pm 0.528	6		

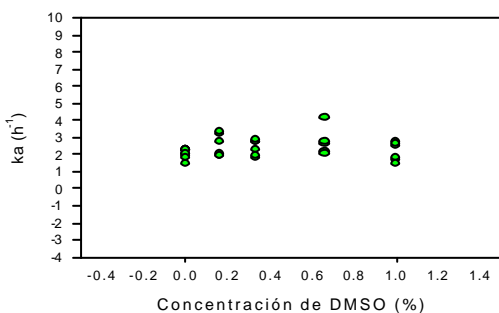


Figura 1. Representación gráfica de las k_a del saquinavir obtenidas para las diferentes proporciones de DMSO ensayadas.

El ANOVA de una vía no detecta diferencias significativas entre el valor de las constantes de velocidad de absorción (k_a), ($p=0.123$), lo que indica que el DMSO a las concentraciones

ensayadas (desde 0 a 1% de DMSO), no influye en el proceso de absorción, ya que la k_a , tomada como índice de la velocidad de absorción del fármaco no varía en las distintas condiciones ensayadas.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede concluir que el DMSO puede emplearse como cosolvente, en el ámbito de concentraciones ensayadas, en la realización de ensayos de absorción *in situ*, en investigación básica; ya que la presencia de este cosolvente en las disoluciones no altera la permeabilidad de la membrana intestinal absorbente en la rata.

Bibliografía

1. Ranaldi G., K. Islam, and Y. Sambuy. Epithelial cells in culture as a model for the intestinal transport of antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36:1374-1381 (1992).
2. Watanabe E., Sudo R., Takahashi M., Hayashi M. Evaluation of absorbability of poorly water-soluble drugs: calidity of the additives. *Biol Pharm Bull* 23(7): 838-43 (2000).
3. Franz T.J, Lehman P.A., Kagy M.K. Dimethylsulfoxide EnPercutaneous Penetration Enhancers. Eds. E.W. Smith, H.I. Maibach pp 115-127.(1995) CRC Press, Inc.
4. Doluisio J.T., Billups N.F., Ditter L.W., Sugita E.T., Swintosky J.V. Drugs absorption. I. an in situ rat gut technique yielding realistic absorption rates. *J. Pharm. Sci.* 58 (1969)

Autor de contacto:

Matilde Merino.
matilde.merino@uv.es.
Universidad de Valencia.
Avda. Vicente A. Estellés s/n 46100. Burjassot.
Valencia.
Telf.: 963544916
Fax: 963544911