Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud

Gobierno de Chile

100 AÑOS SALUD Y SEGURIDAD SOCIAL

Seminario: Estudios de permeabilidad en línea celular basados en el SCB para optar a bioexención de estudios de bioequivalencia in vivo

10 de Julio 2024

Sección: Sección de Bioequivalencia e Intercambiabilidad
Departamento: Agencia Nacional de Medicamentos (ANAMED)

QF. Andrés Figueroa Campos, PhD
QF. Michelle Bone Benítez
QF. Eduardo Tapia Rivera

DEPARTAMENTO AGENCIA NACIONAL DE MEDICAMENTOS

CONTENIDOS

1. Instituto de Salud Pública de Chile

2. Bioexención de estudios de bioequivalencia in vivo

3. Justificación de diferencias cuali/cuantitativas en fármacos clase I y III del SCB

4. Estudios de permeabilidad

5. Nota técnica Nº16: Detalla modelo experimental para determinar la permeabilidad intestinal en monocapas celulares

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

Misión:

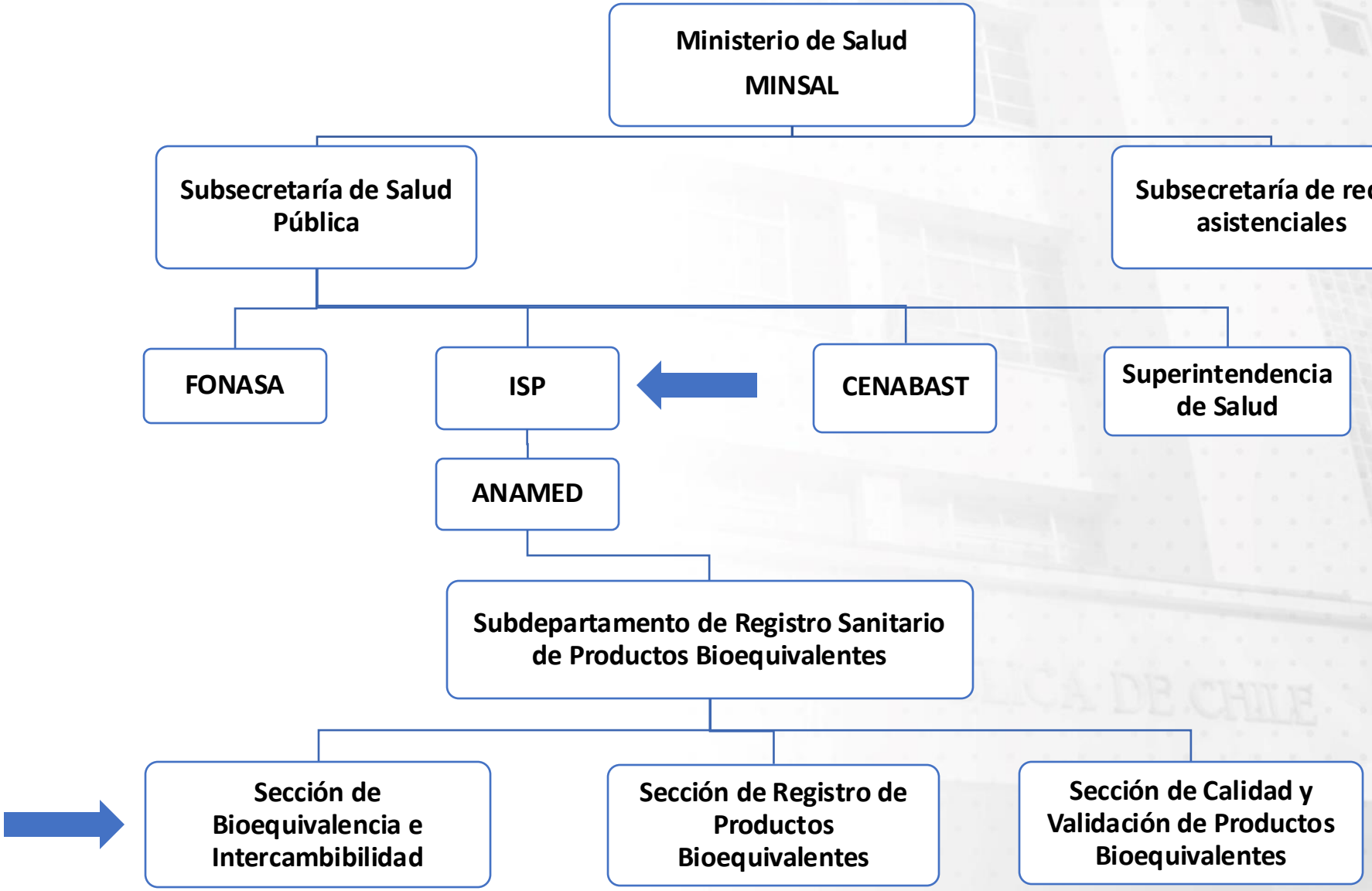
El Instituto de Salud Pública de Chile es el organismo de referencia del Estado, que promueve y protege la salud de la población, fortaleciendo el control sanitario a través de la vigilancia, autorización, fiscalización, investigación y transferencia tecnológica; con enfoque de género, territorialidad e interculturalidad; cumpliendo ello con altos estándares de calidad, transparencia, innovación y equipo humano comprometido con el servicio público.

Visión

Ser la institución científico-técnica de referencia en salud pública de Chile, que desarrolla sus procesos con: servidores públicos comprometidos, altos estándares tecnológicos, calidad certificada e innovación permanente.

https://www.ispch.cl/

ORGANIGRAMA



SITIO WEB BIOEQUIVALENCIA

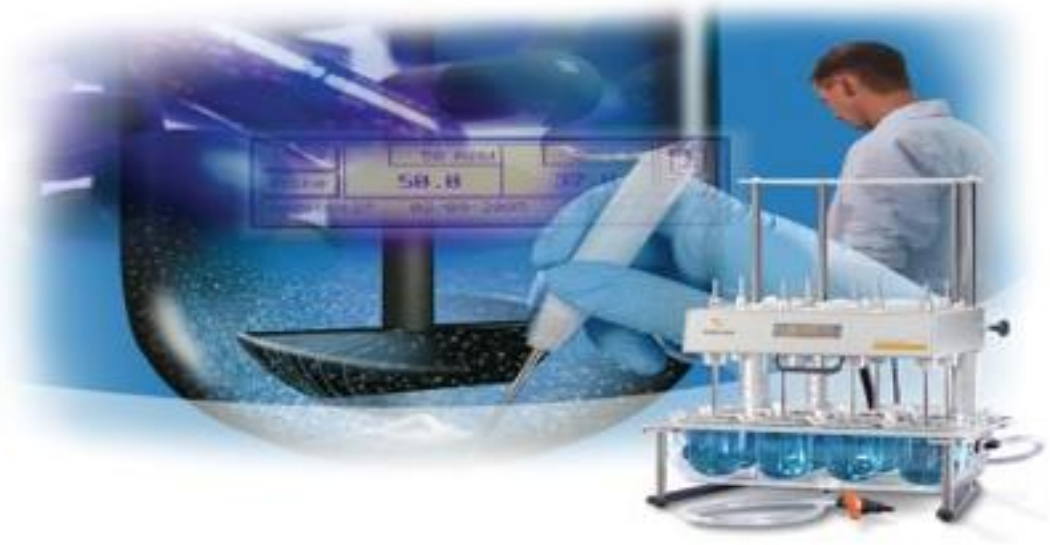
INFORMACIÓN DISPONIBLE

https://www.ispch.cl/anamed/bioequivalencia/

- Notas técnicas
- Listado de exigencia de principios activos
- Productos farmacéuticos Bioequivalentes
- Centros de Bioequivalencia autorizados/reconocidos y con alertas internacionales
- Formularios y prestaciones asociadas para presentación de protocolo/ resultados estudios bioequivalencia/bioexención,
- Formularios y prestaciones asociadas autorización/reconocimiento centros de bioequivalencia
- Otros relativos a la validación del proceso productivo y modificaciones post aprobación.

BIOEXENCIÓN DE ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA *(IN VIVO)* POR SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA

BASADOS EN GUÍA TÉCNICA G-BIOF-02 (D.E. 17/19)



Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud
Gobierno de Chile

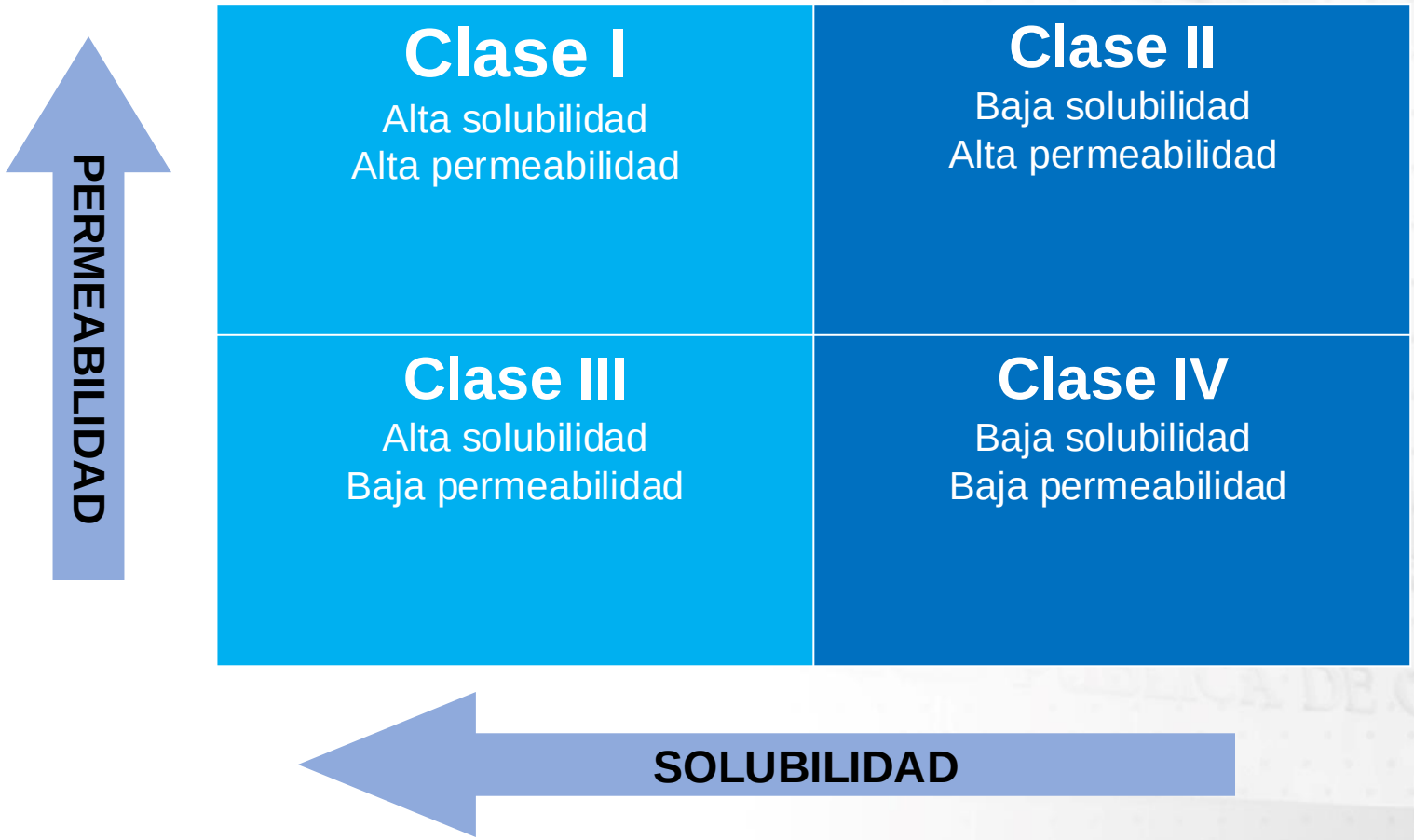
Guía Técnica G-BIOF 02

Guía para optar a bioexención de estudios de biodisponibilidad comparativa.

Departamento Agencia Nacional de Medicamentos
Instituto de Salud Pública de Chile
Diciembre 2018

Página 1 de 23

SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA



BCS: Biopharmaceutics Classification System) fue propuesto en el año 1995, por Gordon Amidon.

DEPARTAMENTO AGENCIA NACIONAL DE MEDICAMENTOS

BIOEXENCIONES SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICO

Demostrar bioequivalencia a través de ensayos ***in vitro***

Propiedades biofarmacéuticas que controlan la absorción

Atributos del fármaco y formulación

SCB	Solubilidad acuosa	Permeabilidad intestinal
I	alta	alta
II	baja	alta
III	alta	baja
IV	baja	baja

Bioexenciones SCB

- Solubilidad

- Permeabilidad

- Disolución

- Excipientes

DEPARTAMENTO AGENCIA NACIONAL DE MEDICAMENTOS

Método de agitación de matraces

• Cuantificación del fármaco en al menos los medios tamponados pH 1,2; 4,5 y 6,8, y si corresponde, a los pH=pKa y pH=pKa ±1 condiciones de pH

• Tres matraces por pH, cada muestra por triplicado

• Temperatura controlada (validación estabilidad a 37 °C)

•Variación de pH máximo 0,1 unidades

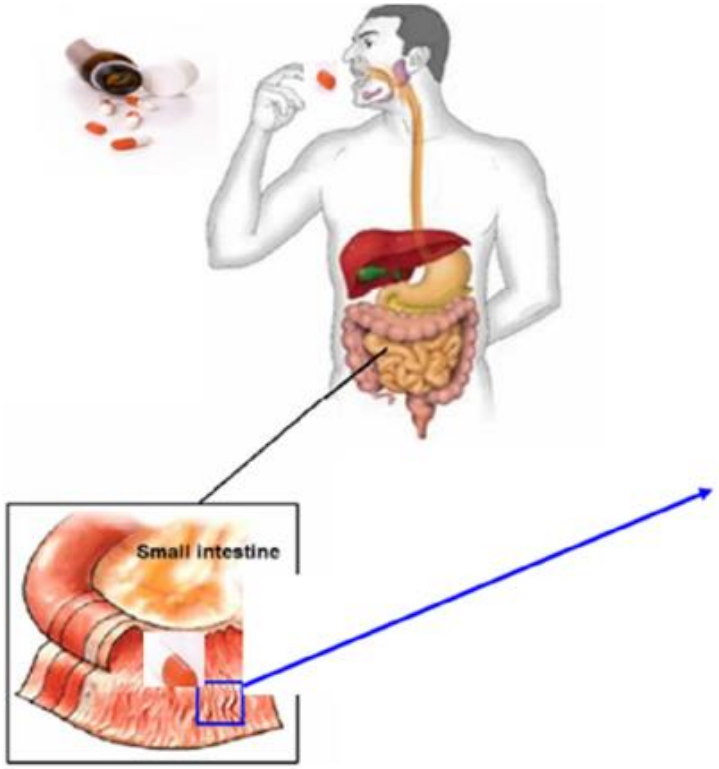
•Cálculo de Do

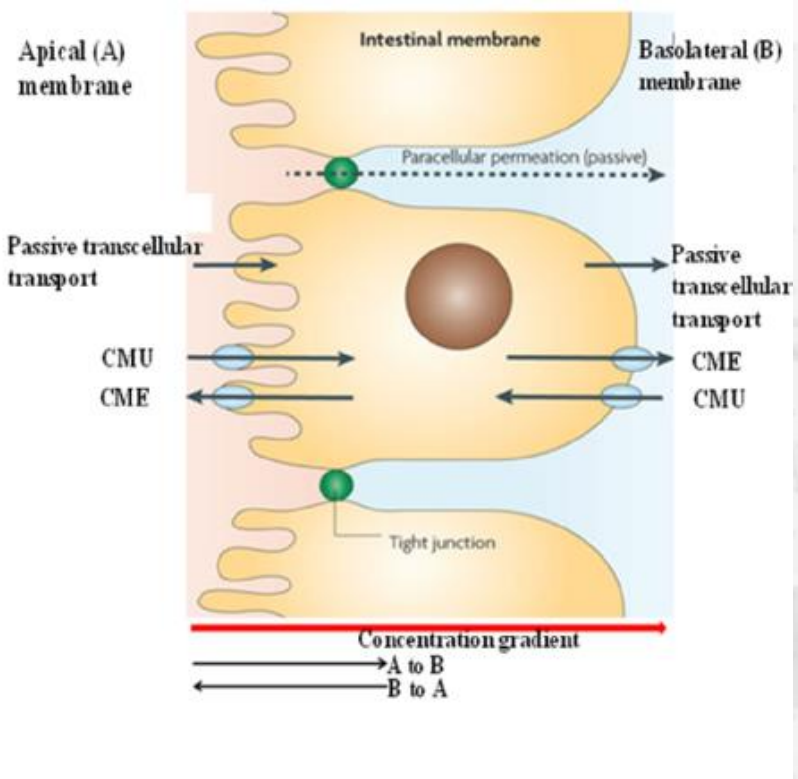
•Un principio activo (fabricante específico) se considerará altamente soluble cuando la potencia más alta del medicamento registrada en el país, sea soluble en 250 mL de medio acuoso o menos, dentro de todo el rango de pH fisiológico.

PERMEABILIDAD

- Alta permeabilidad : Fracción oral absorbida > 85%

- Justificación bibliográfica→ Clasificación





DEPARTAMENTO AGENCIA NACIONAL DE MEDICAMENTOS

DISOLUCIÓN

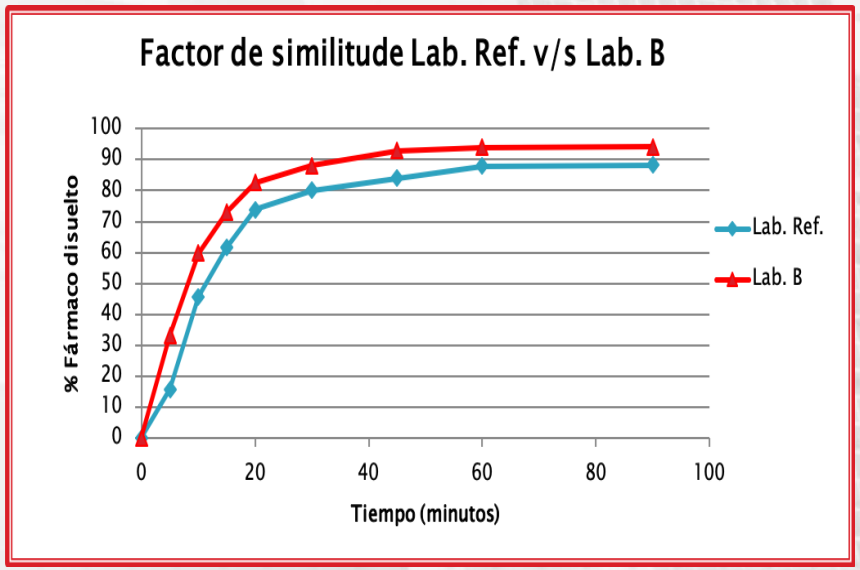
Condiciones de disolución

- Solución de HCl 0.1 N o fluido gástrico simulado USP sin enzimas pH 1,2
- Tampón acetato pH 4,5
- Tampón fosfato pH 6,8

- Volumen 900 mL o menos (ej: 500 mL)
- Velocidad agitación:
  - 50 rpm con aparato II
  - 100 rpm con aparato I
- Temperatura: 37ºC+/-0,5ºC

<u>Comparación de perfiles de disolución</u>

- Al menos un lote del producto en estudio y referente
- n = 12 unidades posológicas
- Factor de similitud (f2)
- Muy rápida disolución, 85% del fármaco disuelto antes de los 15 minutos, ambos productos, no es necesario calcular f2. (Mandatorio para fármacos clase III)



BIOEXENCIÓN SCB

Requisitos

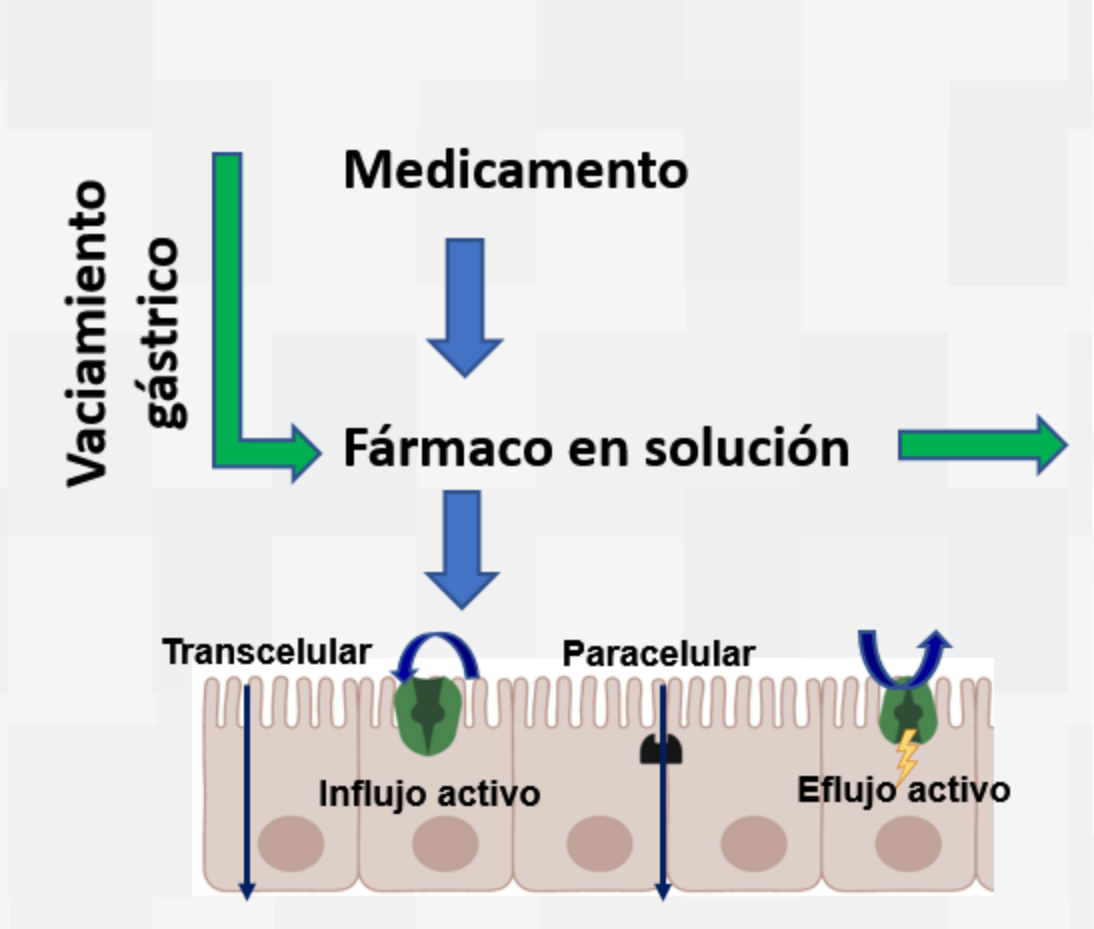
- Alta solubilidad materia prima activa
- No ser de estrecho margen terapéutico
- No ser de liberación modificada
- Clasificar Permeabilidad (Alta/Baja)

→ **Clase I y Clase III**

Formulación comparativa contra referente

- Similitud Q1 de la formulación para Clase I.
- Similitud Q1 y Q2 de la formulación para Clase III.
- Excipientes críticos (+/- 10 %) Clase I y III

¿Cómo pueden impactar los excipientes en la absorción?



LIBERACIÓN/DISOLUCIÓN
- Velocidad de desintegración y disolución
- pH local
- Complejos excipiente-fármaco

TRANSITO INTESTINAL
- Velocidad de vaciamiento gástrico
- Motilidad gastrointestinal
- Efecto osmótico

PERMEABILIDAD INTESTINAL
- Transcelular
- Paracelular
- Transportadores de membrana

T. Flanagan, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, (2019)

DEPARTAMENTO AGENCIA NACIONAL DE MEDICAMENTOS

REQUISITO DE SIMILITUD DE FÓRMULAS

BASADOS EN GUÍA TÉCNICA G-BIOF-02 (D.E. 17/19) e ICH M9

Clase I --> cumplir Q1
Clase III --> cumplir Q1/Q2

Gobierno de Chile

TABLA 1. LIMITES EN LA CANTIDAD RELATIVA DE EXCIPIENTES PARA FÁRMACOS QUE CONTENGAN PRINCIPIOS ACTIVOS CLASE III.

EXCIPIENTE (Categoría y Tipo)	PORCENTAJE (P/P) DE EXCIPIENTE EN EL PESO TOTAL DE LA FORMA FARMACÉUTICA
Desintegrantes Almidón * Otros.	± 6 ± 2
Aglutinantes	± 1
Lubricantes Estearato calcio Estearato magnesio Otros	± 0,5 ± 0,5 ± 2
Antiadherente Talco Otros	± 2 ± 0,2
Deslizantes Dióxido de silicio coloidal Otros	± 0,5 ± 0,2
Diluyente	± 10

**El almidón glicolato de sodio o carboximetilalmidón se considera superdesintegrante, por lo tanto su clasificación dentro de los desintegrantes es en "otros".*

Nota: están permitidos cambios en el grado técnico de los excipientes.

Considerar

- El impacto de los excipientes sobre la absorción de principios activos es considerado como poco probable, no puede ser completamente excluido de un análisis.
- Debe demostrar que los excipientes con los cuales es formulado el producto de fuente múltiple no afecta la biodisponibilidad del activo.
- Diferencia de excipientes conocidos que puedan afectar la absorción +/- 10 % respecto referente. (Aplica a clase I y III)
- Diferencia total absoluta, incluyendo excipientes que puedan afectar la absorción: +/- 10 % (Aplica a clase III)

GUÍA ICH M9 EJEMPLO EVALUACIÓN FÓRMULAS Q1 FÁRMACO CLASE I

ICH M9 Guideline

EXAMPLES OF ACCEPTABLE DIFFERENCES IN EXCIPIENTS

Example 1: BCS Class I biowaiver

The formulation of the test product is qualitatively the same as that of the reference product. Additionally, it contains sorbitol, an excipient with known or suspected effects on drug absorption. The amount of sorbitol in the test formulation is within the permitted range of 45 mg to 55 mg based on the amount of sorbitol in the reference formulation (i.e., 50 mg ± 10%).

Component	Amount (mg) reference	Amount (mg) test
Drug substance	100	100
Microcrystalline cellulose (filler)	100	95
Sorbitol (filler)	50	55
HPMC (binder)	10	10
Talc (glidant)	5	5
Total	265	265

2%

https://database.ich.org/sites/default/files/M9_Guideline_Step4_2019_1116.pdf

DEPARTAMENTO AGENCIA NACIONAL DE MEDICAMENTOS

GUÍA ICH M9 EJEMPLO EVALUACIÓN FÓRMULAS Q1/Q2 FÁRMACO CLASE III

Example 2: BCS Class III biowaiver

The test formulation is qualitatively the same as the reference formulation. Additionally, it contains sorbitol, an excipient with known or suspected effects on drug absorption. The amount of sorbitol in the test formulation is within the permitted range of 9 mg to 11 mg based on the amount of sorbitol in the reference formulation (i.e., 10 mg ± 10%). Differences in the amount of other excipients are within the criteria outlined in Table 1, Section 3.1.

Component	Reference Product		Test Product		Absolute % difference relative to core weights
	Composition (mg)	Proportion relative to core weight (%w/w)	Composition (mg)	Proportion relative to core weight (%w/w)	
Drug substance	100	49.3%	100	46.5%	--
Lactose monohydrate (filler)	85	41.9%	97	45.1%	3.2%
Sorbitol (filler)	10	4.9%	9	4.2%	0.7%
Croscarmellose sodium (disintegrant)	6	3.0%	7	3.3%	0.3%
Magnesium stearate (lubricant)	2	1.0%	2	0.9%	0.1%
Total	203	100%	215	100%	
				Total change:	**4.3%**

https://database.ich.org/sites/default/files/M9_Guideline_Step4_2019_1116.pdf

DEPARTAMENTO AGENCIA NACIONAL DE MEDICAMENTOS

EJEMPLO EVALUACIÓN FÓRMULAS EJ: FÁRMACO CLASE III: ESZOPICLONA

BASADOS EN GUÍA TÉCNICA G-BIOF-02 (D.E. 17/19)

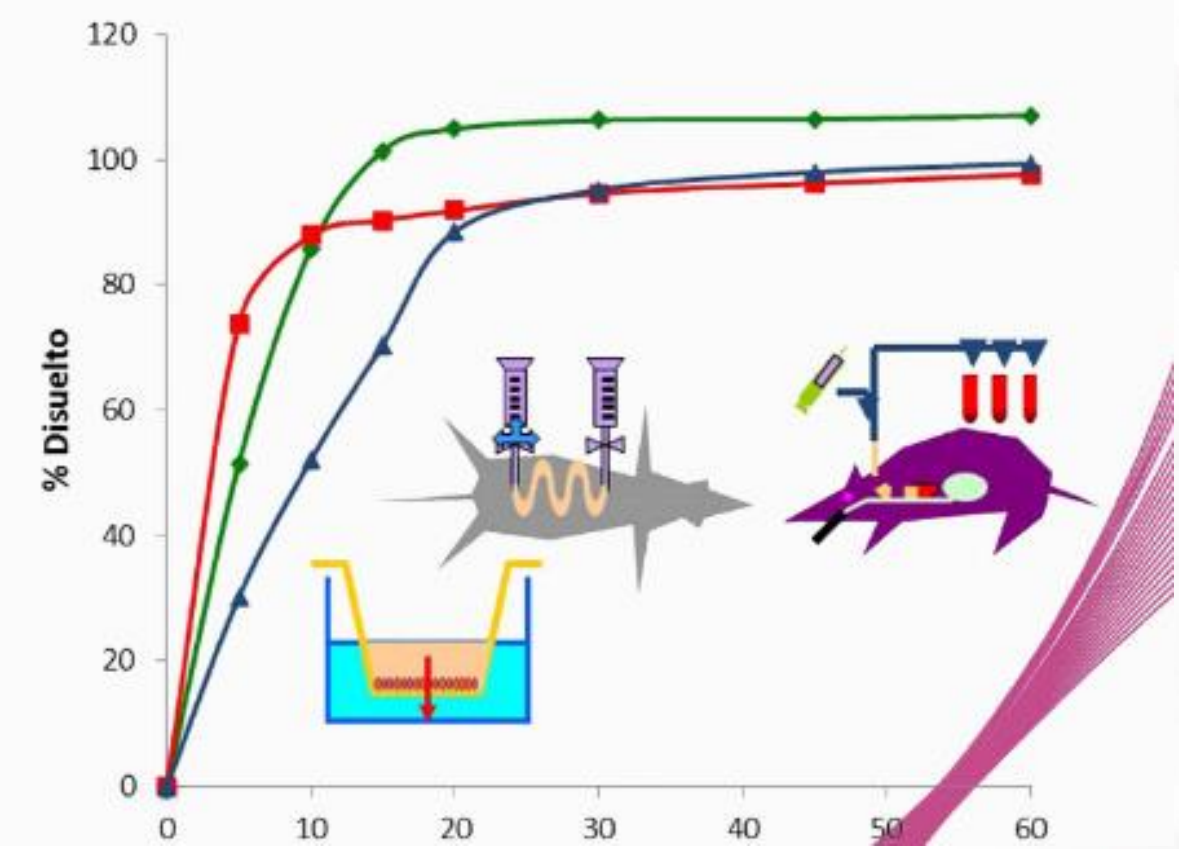
Diferencias cualitativas
Diferencias cuantitativas
Total absoluto superior al +/- 10 %

FÓRMULA	FUNCIÓN	TEST (PRODUCTO A)			REFERENTE (PRODUCTO		FUNCIÓN	FÓRMULA
		mg	% P/P	Diferencia %	% P/P	mg		
Núcleo								
Principio activo	API	10,00				10,00	API	Principio activo
Dióxido de silicio colidal	Glidante	0,20	0,2	0,2	-	-		
Lactosa monohidrato	Diluyente	49,00	45,4	28,0	17,3	15,87	Diluyente	Lactosa monohidrato
Celulosa microcristalina	Diluyente	29,80	27,6	8,5	19,1	17,46	Diluyente	Celulosa microcristalina
Croscarmelosa sódica	Superdesintegrante	3,00	2,8	3,9	6,7	6,14	Desintegrante	Crospovidona
Estearato de magnesio	Lubricante	1,00	0,9	0,2	1,1	1,00	Lubricante	Estearato de magnesio
Almidón pregelatinizado	Aglutinante/ Desintegrante	15,00	13,9	31,0	44,8	41,03	Aglutinante/ Desintegrante	Almidón pregelatinizado
	TOTAL	108,00	100,00	71,76	100,00	91,50		

METODOLOGÍAS DE PERMEABILIDAD

METODOLOGÍAS DE PERMEABILIDAD

GBIOF-02 Anexo 2: (D.E. 17/19)
MODELOS EXPERIMENTALES PARA DETERMINAR LA PERMEABILIDAD INTESTINAL



Metodologías Biofarmacéuticas en el Desarrollo de Medicamentos, 2015.

- Perfusión intestinal en humanos
- Perfusión intestinal en animales o in situ:

- Método de paso único sin recirculación
- Método de Doluisio o in situ
con recirculación (close loop)

- Permeabilidad a través de cultivo de monocapas de células epiteliales

PERMEABILIDAD A TRAVÉS DE CULTIVO DE MONOCAPAS DE CÉLULAS EPITELIALES

La línea celular Caco---2 fue establecida en 1977 por Fogh y col. a partir de carcinoma de colon humano. Es la unica línea celular capaz de diferenciarse morfologica y funcionalmente como celulas con gran similitud a enterocitos de manera espontanea.

Presencia de enzimas del borde de cepillo como hidrolasas y enzimas de fase III como la Glicoproteina-P (eflux)

Ventajas

- ✓ Realización de estudios con líneas celulares humanas
- ✓ 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
- ✓ Minimizan la experimentación animal.

Existen diferencias entre los valores de permeabilidad obtenidos para un mismo fármaco en distintos laboratorios, debido a la variabilidad en las condiciones experimentales y en las propias líneas celulares

Líneas celulares adecuadas según sitio de absorción, por ejemplo, productos farmacéuticos oftalmicos no aplican en este tipo de línea celular.

NOTA TÉCNICA N°16: Detalla modelo experimental para determinar la permeabilidad intestinal en monocapas celulares

Buscador de contenidos

Inicio > Agencia Nacional de Medicamentos > **Bioequivalencia**

Bioequivalencia

Un medicamento equivalente terapéutico es aquel que cumple con: tener el registro sanitario actualizado, tener el proceso de manufactura validado y haber presentado un estudio farmacocinético de biodisponibilidad comparativa (o las bioexenciones cuando apliquen), por lo tanto, posee la misma eficacia y seguridad que el producto comparador. Esta condición hace que un producto equivalente terapéutico sea intercambiable, cuando además sea equivalente farmacéutico o alternativa farmacéutica (sobre definiciones ver marco legal vigente).

Actualmente las formas farmacéuticas en exigencia son sólidos orales y soluciones acuosas. En el caso de las soluciones acuosas sólo es exigible la demostración de la reproducibilidad del proceso de manufactura, no siendo necesario un estudio comparativo.

- Nota Técnica N° 13: "Reitera respecto de exigencia de equivalencia terapéutica- alternativas farmacéuticas odt/masticables/otros"
- Nota Técnica N° 14: "Acerca de las modificaciones post validacion del proceso de manufactura para la mantención de la condición de equivalente terapéutico de un producto farmacéutico"
- Nota Técnica N° 15: "Directrices para la elaboración de Documento de Trazabilidad del Lote utilizado en el Estudio de Bioequivalencia/Bioexención"
- Nota Técnica N°16:"Detalla modelo experimental para determinar la permeabilidad intestinal en monocapas celulares"

https://ispch.cl/anamed/bioequivalencia/

NOTA TÉCNICA N°16:

Instituto de Salud Pública, Ministerio de Salud, Gobierno de Chile; 100 AÑOS SALUD Y SEGURIDAD SOCIAL	DEPARTAMENTO AGENCIA NACIONAL DE MEDICAMENTOS SUBDEPARTAMENTO DE REGISTRO SANITARIO DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS BIOEQUIVALENTES	Fecha: Mayo 2024
	NOTA TÉCNICA N°16 Versión 1	

DETALLA MODELO EXPERIMENTAL PARA DETERMINAR LA PERMEABILIDAD INTESTINAL EN MONOCAPAS CELULARES

El Subdepartamento de Registro Sanitario de Productos Farmacéuticos Bioequivalentes, perteneciente al Departamento Agencia Nacional de Medicamentos (ANAMED), ha considerado necesario indicar lineamientos para la ejecución y presentación de resultados de estudios de permeabilidad en monocapas celulares en el contexto de estudios de bioexención basados en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (SCB), mencionado como modelo experimental en la Guía Técnica G-BIOF 02.

1. INTRODUCCIÓN

Describe ensayos experimentales para determinar la **permeabilidad intestinal en monocapas celulares** que pueden ser empleados en una solicitud de bioexención basada en el SCB para:

- Determinar la clasificación de permeabilidad de un fármaco.
- Demostrar experimentalmente que las diferencias cualitativas y/o cuantitativas de los excipientes utilizados en la formulación no influyen en la absorción del fármaco clase I o III, según sea el caso.

Recoge los lineamientos internacionales armonizados sobre los requisitos para la realización de ensayos de permeabilidad en líneas celulares de los lineamientos del documento *"Annex I: Caco-2 cell permeability assay method considerations. Biopharmaceutics Classification System-Based Biowaiver (M9) ICH (Internationalcouncil For Harmonisation Of Technical Requirements For Pharmaceuticals For Human Use) Harmonised"*; adoptada desde el año 2019.

La implementación de este enfoque metodológico únicamente puede llevarse a cabo por centros bioexención autorizados/reconocidos por el Instituto de Salud Pública para este fin.

2. FUNDAMENTO DEL ENSAYO EN MONOCAPAS CELULARES

Los estudios de permeabilidad en monocapas celulares de la línea Caco-2 o células epiteliales justificadas y validadas, proporcionan una metodología de estimación de la absorción oral de fármacos.

Estas monocapas celulares deben presentar uniones estrechas (*tight junctions*), además, de una clara polarización (cara apical y basolateral) que imite la estructura del epitelio intestinal.

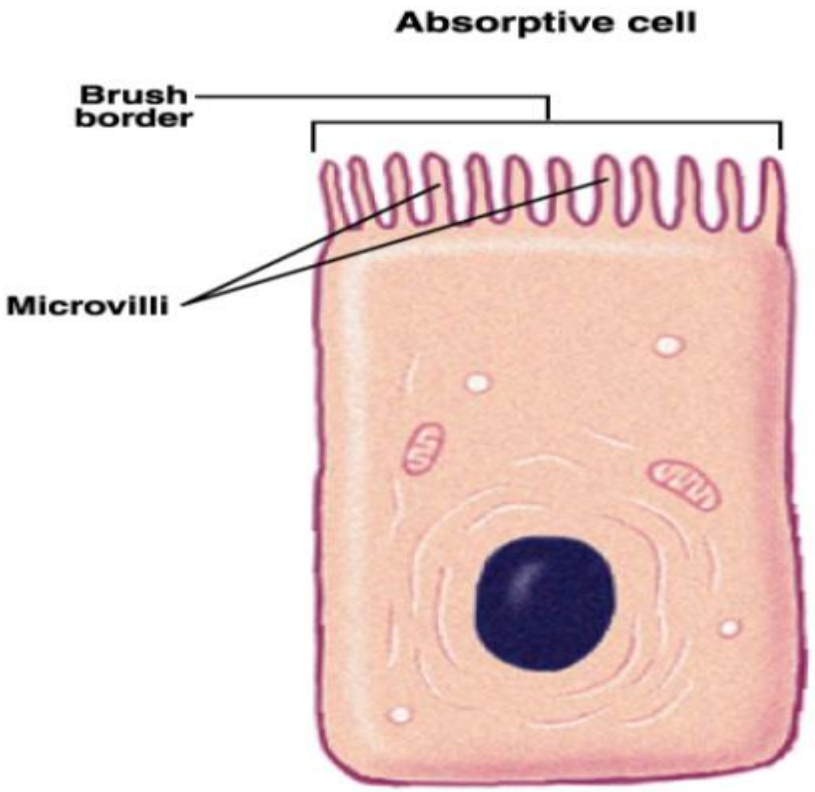


Figura 2. Enterocito

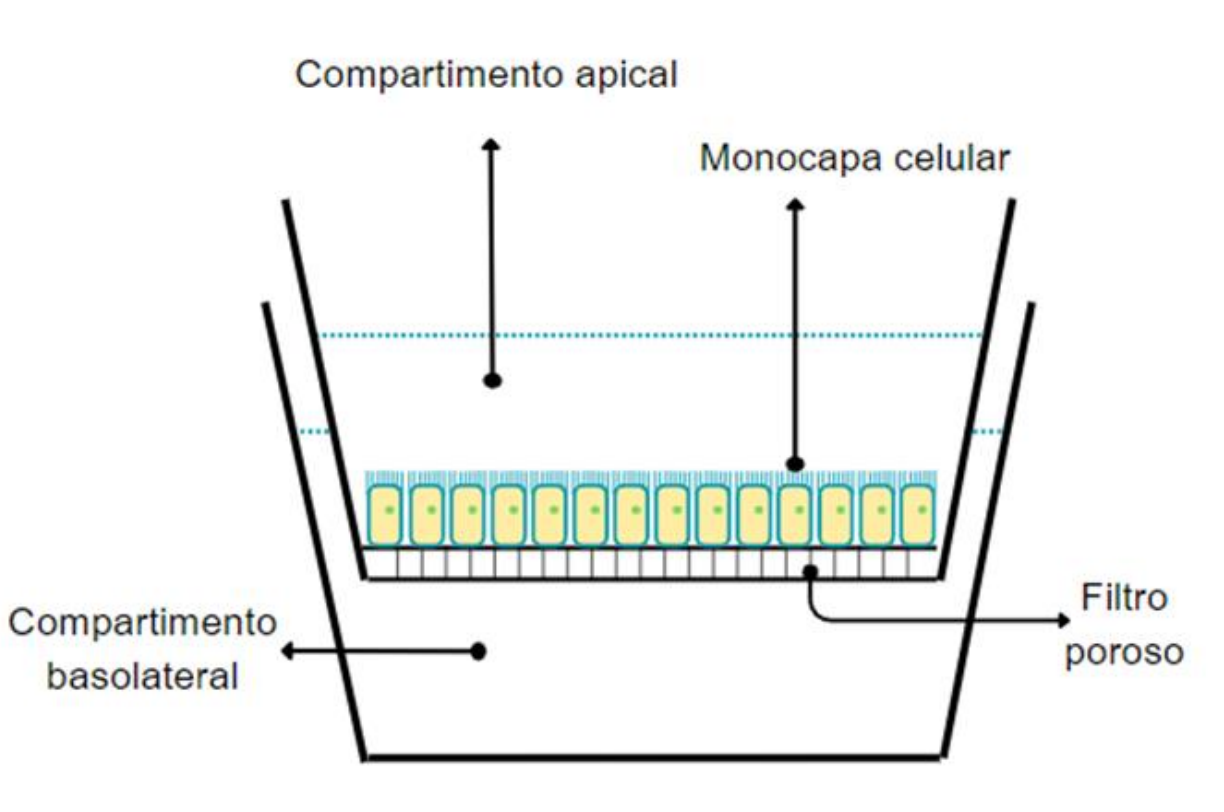


Figura 1. Esquema de un inserto empleado en el sistema de ensayo.

4. DEMOSTRACIÓN DE COMPETENCIA - VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA (ANEXO 1)

Antes de validar la técnica, se debe llevar a cabo una caracterización de la línea celular. Esto implica la evaluación del patrón de expresión de transportadores de eflujo (ej. P-gp, BCRP, MRP2) y de captación (ej. PepT1, OATP2B1, MCT1). Además, es necesario establecer el número de pasaje, las condiciones de cultivo y criterios de aceptación para los diferentes controles de calidad del ensayo (integridad de la monocapa, controles internos y fármaco modelo sustrato de eflujo).

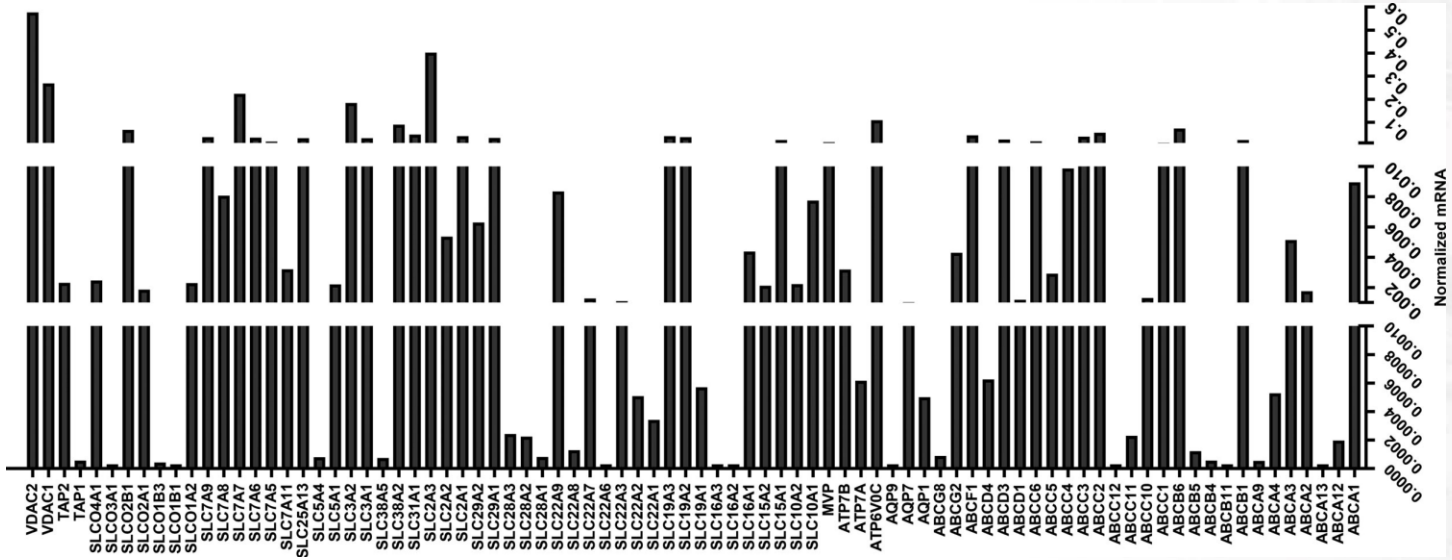


Figura 2. A list of the drug transporters evaluated and their gene expression in Caco-2 cell line after 3 weeks.

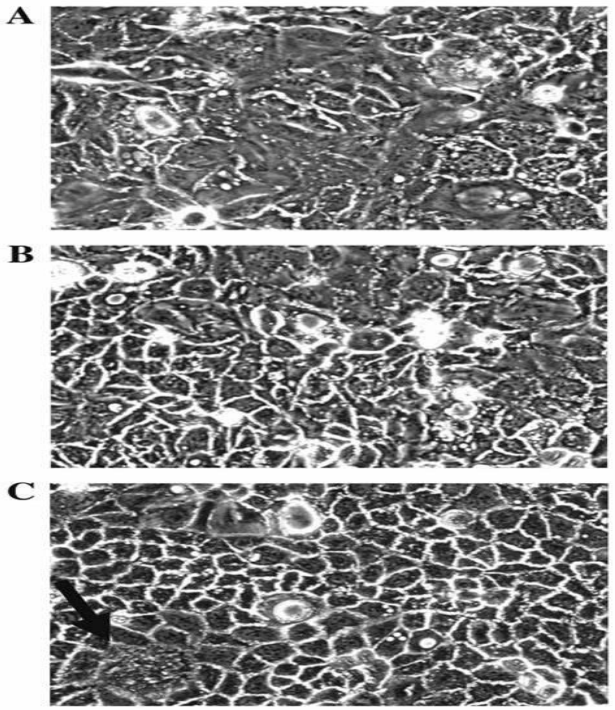


Figura 3. Cell images of sub-culture at passage 6 (panel A); passage 24 (panel B) and passage 41 (panel C). The arrow indicates the presence of a dome.

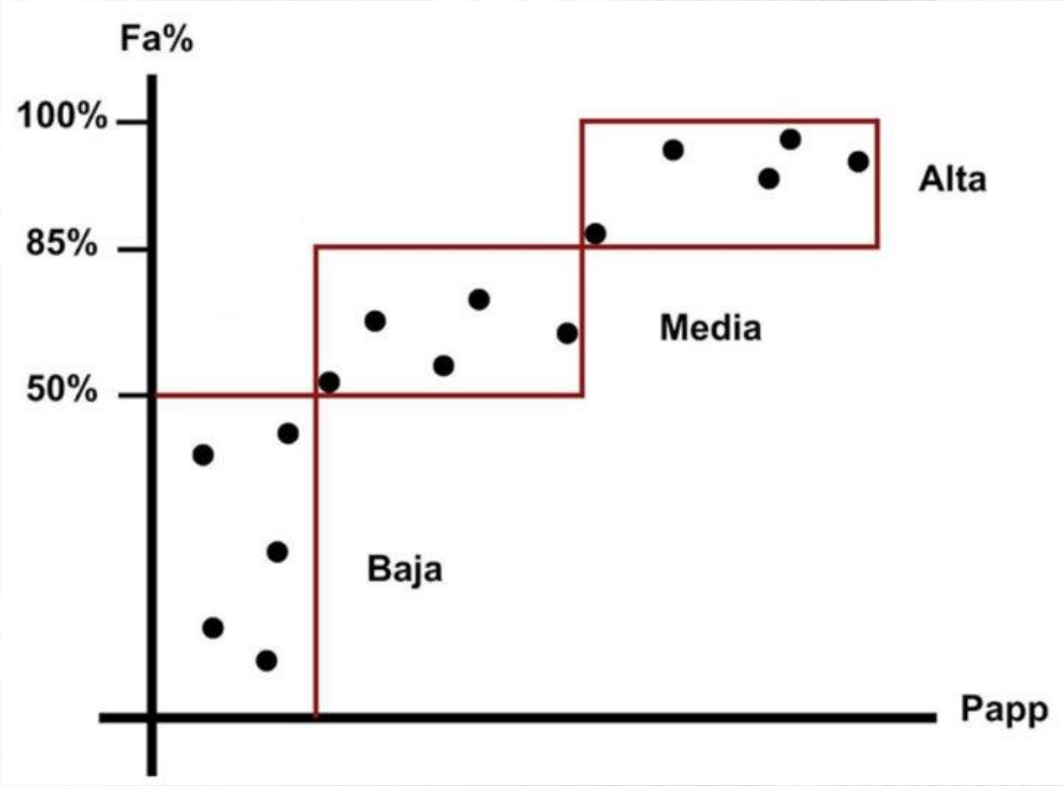
2019 Royal Pharmaceutical Society, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 71 (2019), pp. 1231–1242

Anticancer Research 27, 3919-3926 (2007)

4. DEMOSTRACIÓN DE COMPETENCIA - VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA

El centro de permeabilidad debe establecer un *ranking* entre los valores de permeabilidad experimentales obtenidos con los valores de fracción absorbida (Fa) observada *in vivo* en humanos para al menos 15 fármacos modelos (véase con mayor detalle en Anexo I), según clasificación ICH.

Rango	Fármacos modelo	
Alta Permeabilidad (Fa ≥ 85%)	Antipirina Cafeína Ketoprofeno Naproxeno Teofilina Metoprolol	Propranolol Carbamazepina Fenitoína Disopiramida Minoxidilo
Media Permeabilidad (Fa = 50-84%)	Clorfenamina Creatinina Terbutalina Hidroclorotiazida Enalapril	Furosemida Metformina Amilorida Atenolol Ranitidina
Baja Permeabilidad (Fa < 50%)	Famotidina Nadolol Sulpirida Lisinopril Aciclovir	Foscarnet Manitol Clorotiazida Polietilenglicol 400 Enalaprilato
Permeabilidad Cero	FITC-Dextrano Amarillo Lucifer Lactulosa	Inulina Polietilenglicol 4000
Sustratos de eflujo	Digoxina Paclitaxel	Quinidina Vinblastina



3. SITUACIONES EN LAS QUE UN ESTUDIO DE PERMEABILIDAD EN MONOCAPAS CELULARES NO ES APLICABLE PARA UNA BIOEXENCIÓN:

Limitaciones propias de la técnica

- La formulación que contenga excipientes que afecten la motilidad intestinal (**por ejemplo: sorbitol, manitol, PEG**), no es posible evaluar en este tipo de ensayos.

- El producto farmacéutico que contenga un principio activo con **mecanismo de transporte preferentemente activo** o con una alta actividad como sustrato de una bomba de eflujo de xenobióticos (por ejemplo: Digoxina, Paclitaxel, Quinidina, Vinblastina).

- La formulación y/o principio activo de un producto sólido de administración oral que **no cumpla con los requisitos de una bioexención basada en el SCB** (numeral 4.1 de la guía técnica G-BIOF 02).

→ En los casos descritos, corresponderá realizar un estudio in **vivo de biodisponibilidad comparativa.**

5. METODOLOGÍA. 5.1 CONSIDERACIONES

1.- Antecedentes de propiedades biofarmacéuticas del API y de la formulación en estudio.

2.- Condiciones del ensayo, procedimientos de cultivo y manejo de línea celular para los ensayos, deben ser los mismos que los utilizados durante la validación de la técnica. De no ser así, el cambio de las condiciones debe ser debidamente justificado mediante una validación parcial.

3.- Se debe evaluar la recuperación de los fármacos incorporados en los estudios (fármacos en estudio, controles, modelos de sustrato de eflujo). La recuperación promedio no debe ser inferior al 80% con coeficiente de variación inferior al 15%. En caso de no cumplir este criterio, debe justificarse mediante un balance de masas.

4.- Concentración a estudiar (ver siguiente diapositiva).

La permeabilidad aparente (Papp) puede ser calculada utilizando dos enfoques diferentes:

- **Cinético**: Cuantificando la cantidad de fármaco acumulado en el compartimento receptor en diferentes intervalos de tiempo.

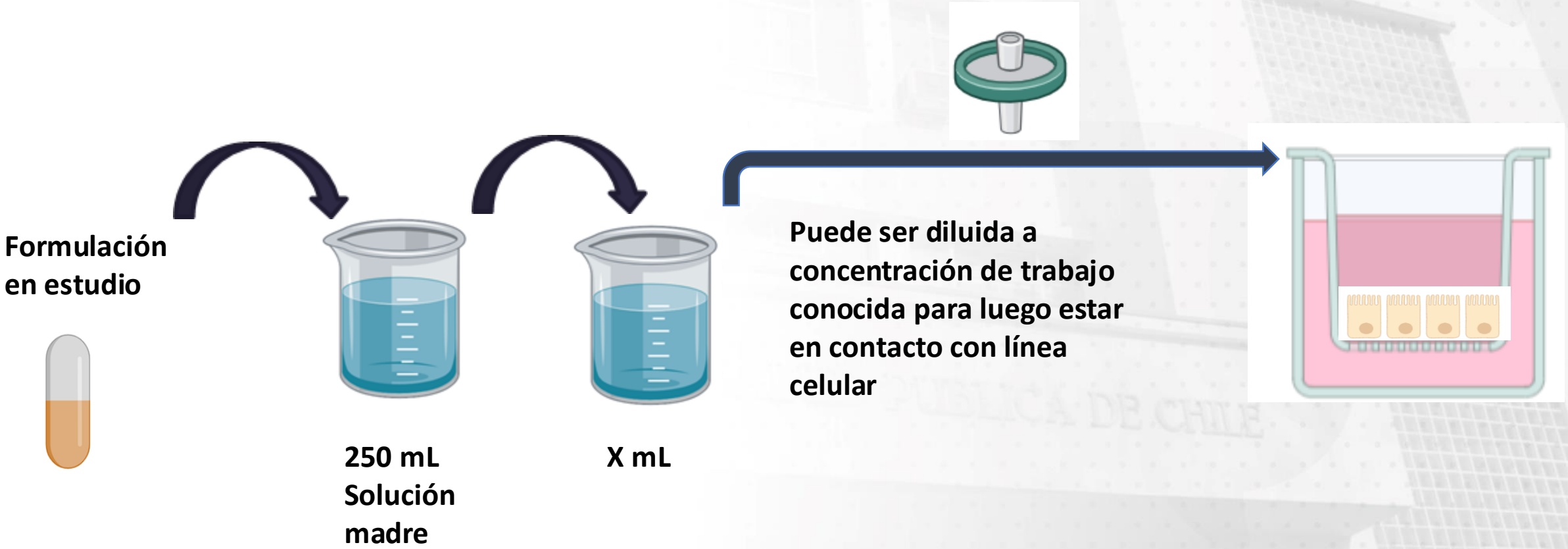
- **En estado estacionario:** Cuantificando la cantidad de fármaco acumulado en el compartimento receptor en un tiempo final de ensayo. Esta aproximación debe demostrar que el principio activo en su matriz en estudio alcanza el estado estacionario al tiempo de realización del estudio de permeabilidad.

Se recomienda realizar un ensayo de viabilidad celular para verificar que la monocapa es viable.

- **Ambos enfoques proporcionan información para comprender el paso de una sustancia a través de una membrana biológica**

5. METODOLOGÍA:

4.- Respecto de la concentración de la muestra a estudiar, se recomienda comenzar con una solución madre obtenida al disolver la formulación en estudio en 250 mL. Con el objetivo de que aquellos excipientes no solubilizados no se encuentren presentes en el ensayo de permeabilidad, las muestras deberán filtrarse con un tamaño de poro de 5um o mayor.



DEPARTAMENTO AGENCIA NACIONAL DE MEDICAMENTOS

5.2 CONTROLES DE CALIDAD DEL ENSAYO

5.2.1. Integridad de la monocapa

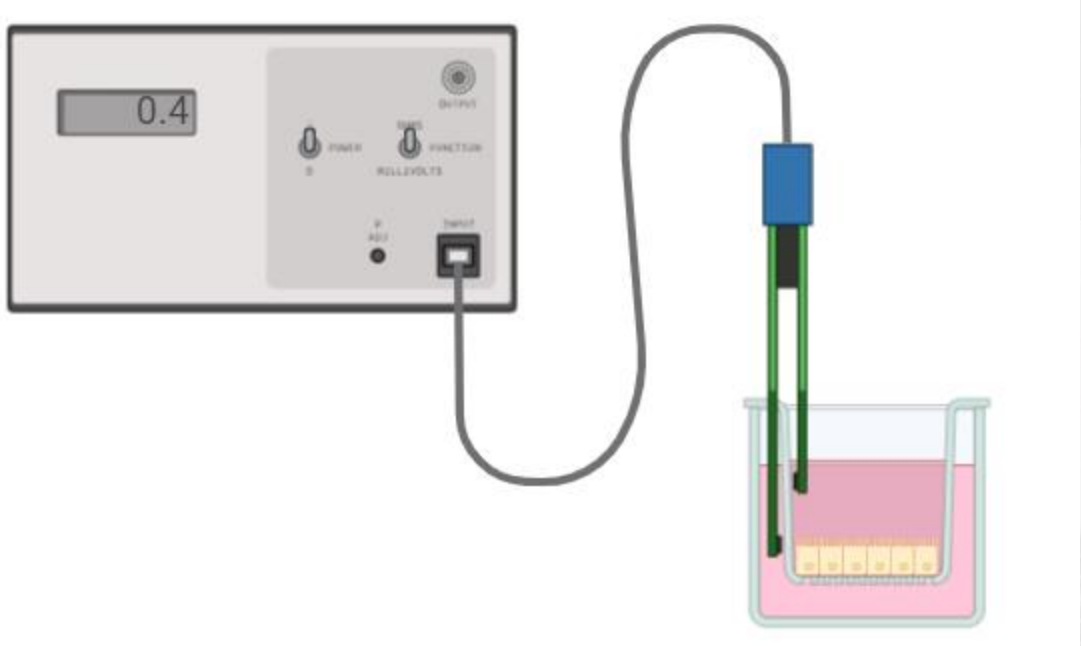
Demostrar integridad monocapa previo y posterior al ensayo.

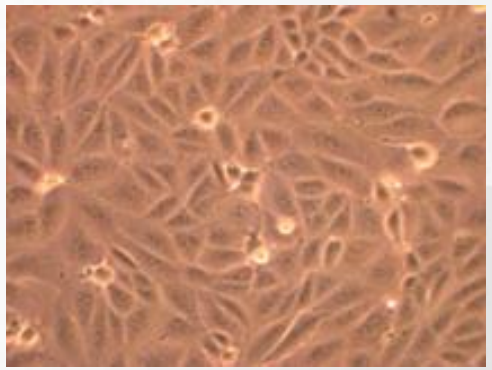
- Previo al ensayo y al finalizar ensayo--> Medición de la Resistencia Eléctrica Transepitelial (TEER, de sus siglas en inglés).

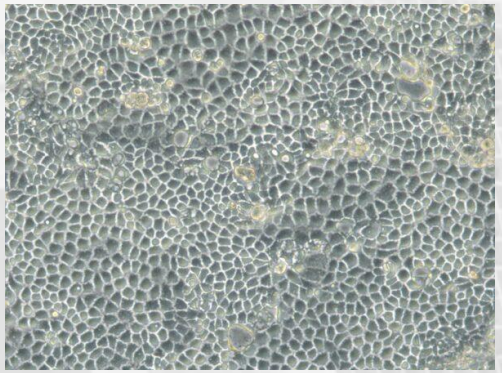
- O bien, incorporar una evaluación de permeabilidad de un fármaco modelo que sea transportado a través de la **vía paracelular**, permitiendo evaluar el desarrollo de uniones estrechas.

Además, se debe evaluar **fármaco modelo de permeabilidad cero** a través de la monocapa en todos los insertos utilizados en el estudio.(Ej: Amarillo Lucifer).

El criterio de aceptación de este fármaco modelo debe ser establecido durante la validación de la técnica.







5.2 CONTROLES DE CALIDAD DEL ENSAYO

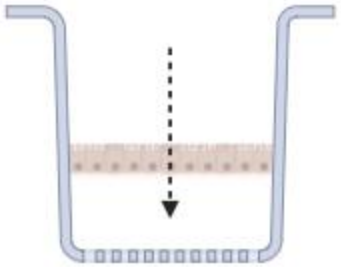
5.2.2. Controles internos

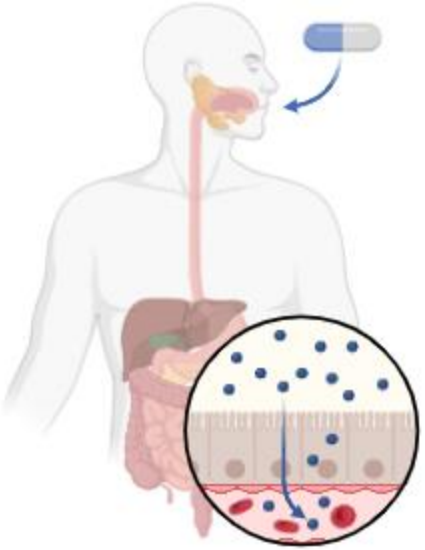
El ensayo debe incluir un fármaco modelo de alta y uno de media permeabilidad como controles internos. Los valores Papp de estos fármacos modelos deben ser consistentes entre los distintos ensayos y con los valores reportados durante la validación de la técnica.

Por ejemplo:

Ketoprofeno --> Alta permeabilidad (Fa ≥ 85%)
Enalapril --> Moderada permeabilidad (Fa = 50-84%)

Marcador (Fa)	Papp validación de la técnica	Papp ensayo
Ketoprofeno (Fa ≥ 85%)	X1 (cm/s)	X2 (cm/s)
Enalapril (Fa = 50-84%)	Y1 (cm/s)	Y2 (cm/s)





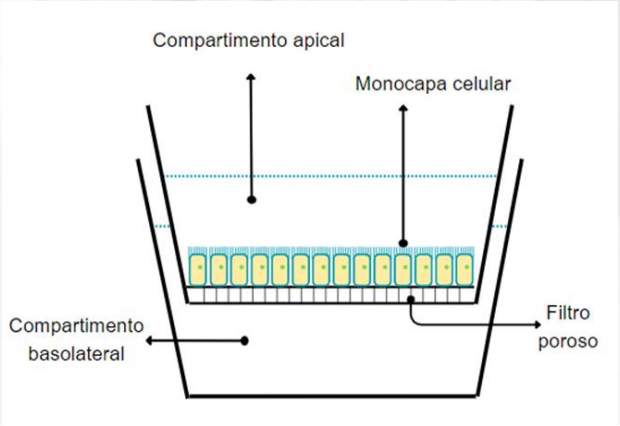
5.2 CONTROLES DE CALIDAD DEL ENSAYO

5.2.3. Evaluación del mecanismo de transporte del principio activo

Demostrar el transporte pasivo aparente de un principio activo, se puede emplear uno de los siguientes procedimientos:

a) Razón de eflujo: Permeabilidad del principio activo es independiente de la dirección de transporte. (Evaluación A->B y B->A). El principio activo será considerado sustrato de transporte activo cuando la RE sea ≥ 2.

b) Saturación de transportador: Demostrar que la permeabilidad del principio activo es independiente de su concentración (Ej: 0,01; 0,1 y 1 veces máxima potencia registrada en el país en 250 mL)

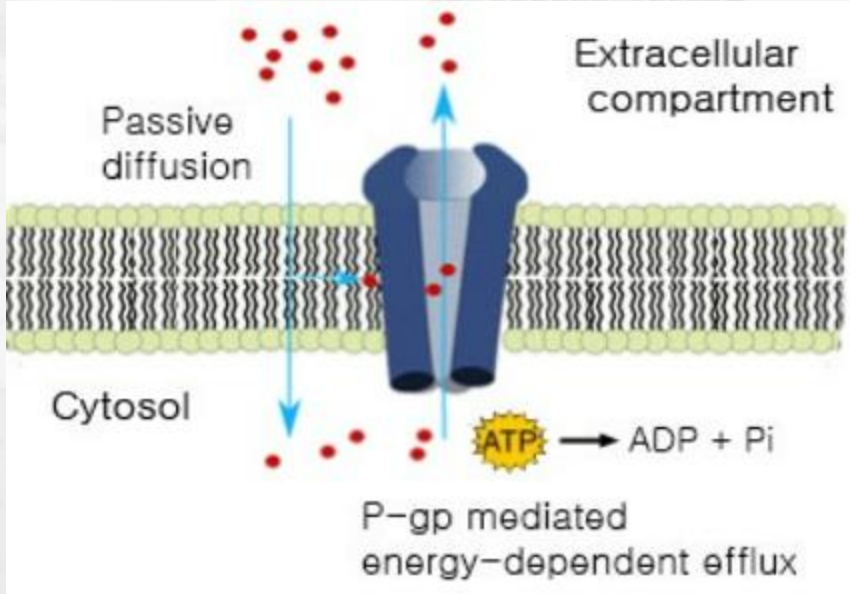


$$Razon\ de\ eflujo\ (RE) = \frac{Papp_{B\rightarrow A}}{Papp_{A\rightarrow B}}$$

5.2.4 Expresión funcional de transportadores de eflujo

Demostrar la expresión funcional de transportadores de eflujo.

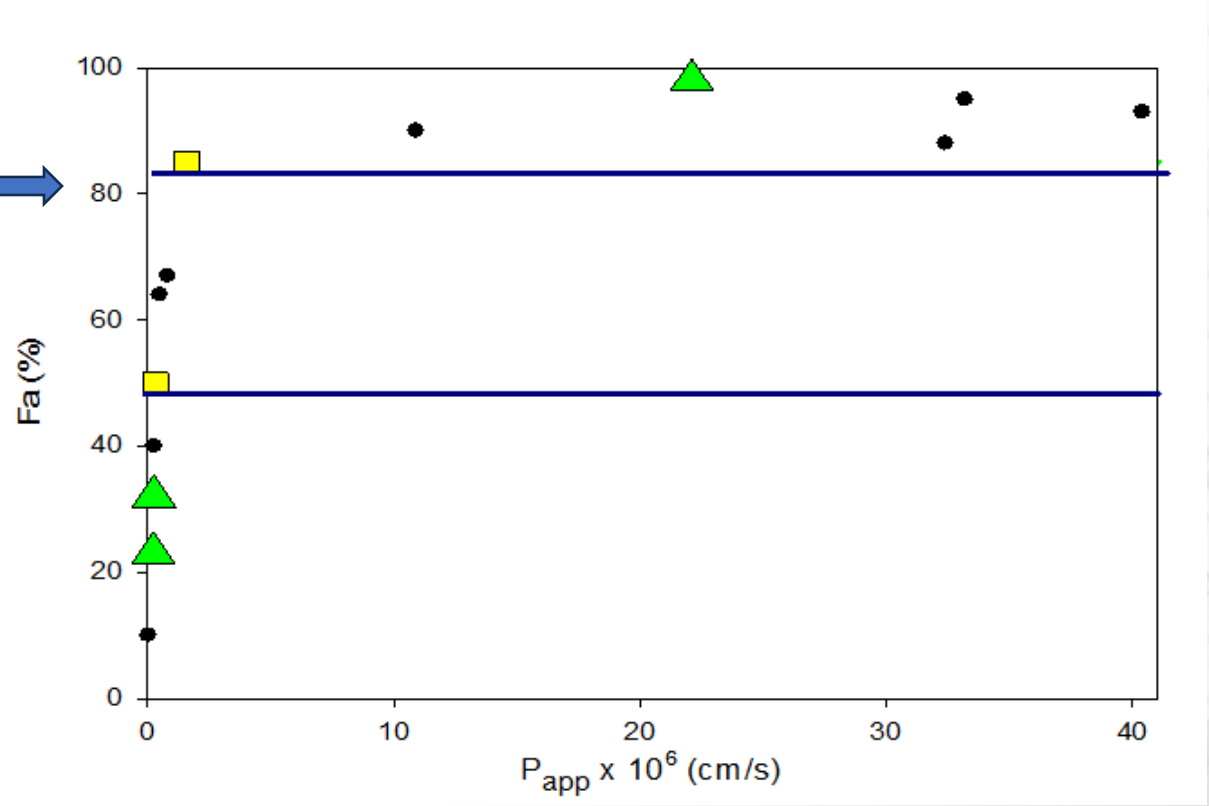
Para ello debe realizar el procedimiento "a)Razón de eflujo" con el fármaco modelo sustrato de eflujo validado, por ejemplo: digoxina, obteniendo resultados consistentes con lo validado.



5.3 Ensayo para determinar la clasificación de permeabilidad del principio activo

Para obtener una estimación confiable de la permeabilidad, es necesario considerar un mínimo de 12 insertos del API de prueba. Se considera que un API es altamente permeable cuando su valor de Papp es igual o mayor que el del control interno seleccionado de alta permeabilidad (ver Anexo 1).

Marcador de alta permeabilidad

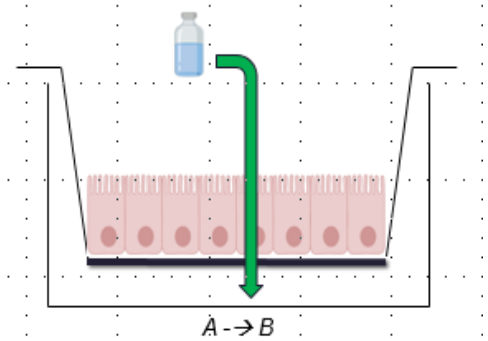


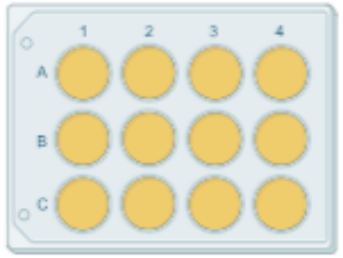
Fármacos de alta permeabilidad

Fármacos de baja permeabilidad

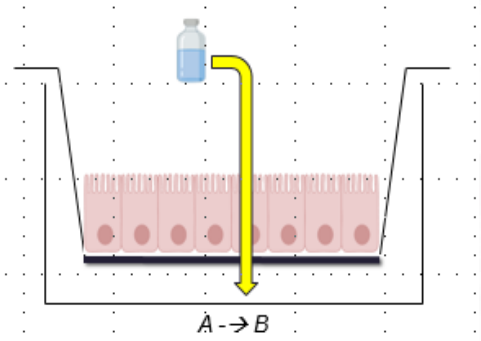
5.4 Ensayo comparativo para demostrar que los excipientes utilizados en la formulación no afectan a la absorción del API

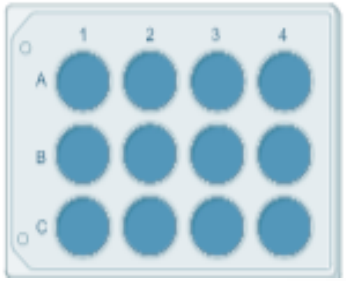
Producto Test:
12 unidades, 12 insertos





Producto Referente:
12 unidades, 12 insertos





Prueba estadística resultado: Test vs Referente

DEPARTAMENTO AGENCIA NACIONAL DE MEDICAMENTOS

5.3 Resumen de nota técnica: ensayos de permeabilidad comparativa en monocapas celulares

Estudios de permeabilidad comparativa en monocapas celulares

Análisis de aplicabilidad y de fórmula Q1 y Q2

Diferencias permitidas en G-BIOF 02, para formulaciones BCS I y III.

Centro de permeabilidad certificado ISP

Centro con validación de técnica ICH. Generación de protocolo de estudio

Validación de la metodología analítica

Metodología analítica debe estar previamente validada para los fármacos en estudio

Controles previos/ posteriores al ensayo

Integridad monocapa
Controles internos
Transporte pasivo aparente
Expresión funcional de transportadores

Estudio comparativo de permeabilidad

12 unidades de R vs 12 de producto T, en insertos diferentes. Condiciones de enesayo de acuerdo a validación de la técnica

Etapa Estadística

Comparación de resultados de permeabilidad de formulación R vs T

Presentación de Reporte

Validación de metodología analítica.
Resultados de controles del ensayo
Resultado comparativo, estadística
Conclusiones

Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud

Gobierno de Chile

GRACIAS