

MODELOS «IN SILICO» PARA LA PREDICCIÓN DE LA ABSORCIÓN DE FÁRMACOS ADMINISTRADOS POR VÍA ORAL (SIMCYP®): ESTATINAS

Oral Drug Absorption Predictions Using «In Silico» Models (SIMCYP®): Statins

Adrián LÓPEZ; María Dolores SANTOS; María José GARCÍA

Departamento de Ciencias farmacéuticas: Farmacia y Tecnología Farmacéutica.
Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca. Campus Miguel de Unamuno,
Calle Lic. Méndez Nieto, s/n, 37007 Salamanca.

Avenida de Salamanca, n.º 35, 1.º B, Plasencia (Cáceres). C. P.: 10600.

Teléfono fijo: 927406467. Teléfono móvil: 680179102.

Correo-e: adrianlopez@usal.es

RESUMEN: Utilizando el programa Simcyp®, se realizaron estudios de simulación con objeto de evaluar la capacidad de este *software* para predecir *a priori* las evidencias clínicas en relación al perfil de absorción de dos estatinas: simvastatina y rosuvastatina. En concreto evaluamos la influencia del tiempo de tránsito y la abundancia de sistemas transportadores y enzimas responsables del metabolismo en el tracto gastrointestinal. En primer lugar, se procedió a una búsqueda de información bibliográfica sobre el perfil de absorción de los fármacos. Posteriormente se llevaron a cabo diversas simulaciones en diferentes grupos de población, principalmente, en poblaciones normales, con tránsito intestinal acelerado y metabolizadores pobres. En el caso de rosuvastatina también se bloqueó el flujo de su transportador (ABCG2) y se modificó su permeabilidad. Los resultados obtenidos son acordes con las observaciones extraídas de la experiencia clínica. Muestran que la velocidad de tránsito condiciona notablemente la fracción absorbida de simvastatina, pero no la de rosuvastatina; sin embargo, la abundancia de sistemas transportadores y la permeabilidad

son de especial relevancia en la absorción de rosuvastatina. La isoenzima CYP3A4 se muestra como responsable mayoritaria de la biotransformación de simvastatina, ratificándose el hecho de que dicha isoenzima no participa en el metabolismo intestinal de rosuvastatina.

Palabras clave: *in silico*; absorción oral; rosuvastatina; Simcyp; simvastatina.

ABSTRACT: Using Simcyp® software, simulation studies were done in order to evaluate the capacity of this software to predict clinical evidence related to absorption profile of two statins: simvastatin and rosuvastatin. Specifically, we evaluate the influence of intestinal transit time, transporter abundance and enzymes responsible of metabolism in gastrointestinal tract. First of all we looked for bibliographic information about the absorption profile of these drugs. Then we carried out simulations in different population groups, mainly in normal populations, populations with accelerated intestinal transit and poor metabolizers. For rosuvastatin its efflux transporter (ABCG2) was also blocked and its permeability altered. The results are consistent with observations drawn from clinical experience. They show that the transit rate significantly affects the absorbed fraction of simvastatin, but not the rate of rosuvastatin; however the transporter abundance and permeability value are relevant in the absorption of rosuvastatin. CYP3A4 is shown as the most important isoenzyme responsible of the biotransformation of simvastatin, confirming that CYP3A4 does not participate in rosuvastatin intestinal metabolism.

Key words: *In silico*; Oral Absorption; Rosuvastatin; Simcyp; Simvastatin.

1. INTRODUCCIÓN

La absorción comprende el paso del fármaco a través de las biomembranas a la circulación sistémica. Este proceso, que puede estar alterado por diferentes factores tecnológicos, fisiopatológicos y clínicos, está condicionado por la vía de administración y a veces se encuentran implicados algunos mecanismos de transporte. Conocer las características de absorción de un fármaco es útil para seleccionar tanto la vía como la forma farmacéutica óptimas, y anticipar las repercusiones que pueden tener sobre la respuesta los factores que alteran la velocidad o magnitud de la absorción.

La vía de administración oral es la más habitual, segura y económica para la mayoría de medicamentos. Por tanto, en la fase preclínica de desarrollo de nuevas

moléculas con potencial interés farmacológico, la velocidad y el grado de absorción intestinal son clave para desarrollar formulaciones para este tipo de administración.

Conocer la interacción de las moléculas con las diferentes partes del tracto gastrointestinal (TGI) es esencial para predecir su absorción. En este sentido disponer de herramientas informáticas que permitan realizar simulaciones basadas en información fisiológica es de gran importancia para realizar un primer cribado de moléculas candidatas y probar su viabilidad de manera rápida, sin recurrir a ensayos *in vivo*, que suponen un aumento de la duración y coste de la investigación.

Estos factores suelen producir modificaciones en la velocidad de absorción y, en consecuencia, en la concentración máxima y el tiempo en que esta se alcanza, cambios que tienen mayor repercusión en la administración de dosis única y para fármacos de semivida de eliminación corta.

En la bibliografía se encuentran numerosas revisiones del proceso de absorción y los factores que lo condicionan y publicaciones que muestran la utilidad de programas de simulación basados en información fisiológica como el Simcyp®. En este sentido se han desarrollado diversos métodos de predicción de la absorción basados en las propiedades fisicoquímicas: área de superficie polar (PSA) y número de donadores de enlaces de Hidrógeno (HDB). Otros sistemas se basan en el uso de membranas artificiales, así por ejemplo, la membrana artificial PAMPA, una mezcla de lecitina y un solvente orgánico, permite predecir la permeabilidad por difusión pasiva, muy útil en ensayos de cribado de alto rendimiento (*high throughput screening*- HTS). Sin embargo, este sistema está limitado por la ausencia de proteínas transportadoras.

Existen también modelos celulares *in vitro*, como Caco-2, MDCK II y LLC-PK1 comúnmente usados para predecir la permeabilidad del epitelio intestinal a los fármacos. Una ventaja de estos sistemas es que permiten evaluar la influencia de ciertas proteínas como la glicoproteína P (P-gp) en la permeabilidad de los fármacos.

Basándose en información obtenida con los métodos anteriores se han desarrollado diferentes modelos de absorción más complejos que consideran algunas de las características anatomofisiológicas del TGI que pretenden *in silico* predecir la capacidad de absorción de nuevas moléculas en sus fases iniciales de I+D. Así, por ejemplo el programa Simcyp® incorpora modelos de primer orden en un único compartimento, o dividiendo el TGI en compartimentos dinámicos diferenciados por flujo sanguíneo, tiempo de permanencia, abundancia de enzimas y transportadores. El modelo más completo de este tipo es el denominado ADAM (*Advanced Dissolution, Absorption and Metabolism*), que incorpora además los procesos de liberación y metabolismo en los sectores del TGI comprendidos entre el estómago y el colon.

La predicción *in silico* utiliza métodos computacionales para generar y comprobar diferentes hipótesis sobre los mecanismos de absorción de los fármacos. Sus aplicaciones son diversas y permiten, entre otras, la predicción de la farmacocinética de un compuesto, el diseño de nuevas entidades químicas o fármacos, cribados de diferente tipo, estudios virtuales en varias poblaciones... Presentan la ventaja de ser técnicas rápidas de HTS virtual, en evolución constante y que disminuyen notablemente el tiempo y la inversión comparado con test *in vitro* e *in vivo*.

2. OBJETIVO

Comprobar mediante estudios de simulación, con el programa Simcyp®, la capacidad de este *software* para predecir *a priori* las evidencias clínicas en relación al distinto perfil de absorción de dos estatinas ampliamente utilizadas: simvastatina y rosuvastatina. En concreto, se trata de evaluar la influencia del tiempo de tránsito y de la abundancia de sistemas transportadores y enzimas responsables del metabolismo de estos fármacos en el TGI.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

a) Fuentes de información:

La revisión bibliográfica se realizó mediante búsqueda de información en herramientas disponibles en la Biblioteca de la USAL, como Medline/Pubmed, y otros recursos accesibles de manera gratuita como Google Académico y la base de datos DrugBank v.4.5.

b) Software utilizado:

i. Simcyp®

Simcyp® es un software desarrollado en 2001 por los profesores Rostamin-Hodjegan, Tucker y Evans de la Universidad de Sheffield, para simular, a nivel preclínico, el perfil cinético de los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación (ADME) de una molécula, a partir de datos clínicos e *in vitro*, tanto demográficos como fisiológicos y genómicos. Esto ayudará a anticipar posibles problemas que pudiesen surgir en la práctica clínica y servirá de apoyo a la hora de tomar decisiones relacionadas con el desarrollo de fármacos.

Gracias al gran consorcio de empresas que alimentan la base de datos que utiliza Simcyp® para sus simulaciones (algunas de primera línea internacional

como AstraZeneca, Johnson & Johnson, Novartis o Pfizer y universidades de distintos países), ha revolucionado el campo de los ensayos preclínicos, en el cual mantiene un reconocido liderazgo. En la actualidad es la empresa desarrolladora de *software* y consultoría científica Certara® quien gestiona este proyecto.

ii. Office®

Como procesador de textos y hoja de cálculo se emplearon los programas Microsoft Word® y Microsoft Excel® de la suite Office 2013.

c) *Fármacos seleccionados:*

Se seleccionaron dos estatinas, simvastatina y rosuvastatina con distintos perfiles de absorción, derivados de sus diferentes propiedades físicoquímicas, en particular en lo que se refiere a solubilidad, coeficiente, reparto y superficie polar.

d) *Simulaciones:*

Para caracterizar las posibles modificaciones en el proceso de absorción de ambas estatinas derivadas de la influencia del tiempo de tránsito intestinal y de la reducción de la actividad metabólica del CYP3A4 se procedió a la realización de las simulaciones:

Tanto para simvastatina como para rosuvastatina se realizaron ensayos en:

- Población normal (actividad normal del CYP3A4).
- Población con tránsito acelerado (distribución de Weibull: $\alpha = 10$; $\beta = 1,2$).
- Población de metabolizadores pobres (actividad reducida del CYP3A4).
- Estudio combinado de metabolizadores pobres y tránsito acelerado.

Por las sus características diferenciales también se realizaron los siguientes con rosuvastatina:

- Población con el transportador ABCG2 bloqueado (bloqueo del flujo).
- Estudio con aumento de la permeabilidad hasta valores de simvastatina.

Todas las simulaciones se realizaron con el modelo ADAM, en las condiciones por defecto del programa: 5 ensayos con 5 individuos por ensayo, administración oral en ayunas de una dosis única de 40 mg en el caso de simvastatina y de 20 mg en el caso de rosuvastatina.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parece clínicamente que la fracción absorbida de simvastatina es mayor en pacientes celiacos, lo que se atribuye a una reducción del metabolismo de primer paso intestinal consecuencia del menor tiempo de contacto con la enzima CYP3A4 y de la menor actividad de esta en las células del TGI. Por el contrario, otra estatina más actual, la rosuvastatina, no se metaboliza por esta enzima, por lo que es de suponer que su absorción no se verá afectada en pacientes celiacos, debido a la reducción de la actividad de esta enzima, aunque sí puede afectarle la reducción del tiempo de tránsito. Asimismo, sabemos que rosuvastatina es un fármaco con baja permeabilidad y sujeto a la influencia de transportadores intestinales, concretamente el ABCG2¹.

En el presente estudio las simulaciones con simvastatina en la población normal reflejan un AUC de 45,97 ng·mL⁻¹·h⁻¹ y una Fa de 0,83, mientras que los valores para estos parámetros en una población con el tránsito acelerado se redujeron a 30,14 ng·mL⁻¹·h⁻¹ y 0,52, respectivamente, lo que se atribuye al menor tiempo de permanencia en el intestino (tabla 1, figura 1).

En los metabolizadores pobres para la enzima CYP3A4, el AUC aumenta de manera importante, hasta 1414,40 ng·mL⁻¹·h⁻¹, lo que significa que la reducción en la actividad de CYP3A4 disminuye considerablemente la biotransformación (tabla 1, figura 1).

TABLA 1. Valores interensayo de la fracción absorbida (Fa) para simvastatina y rosuvastatina.

FÁRMACO	POBLACIÓN	Fa	AUC (ng·mL ⁻¹ ·h ⁻¹)
Simvastatina	Normal	0,83	45,97
	Tránsito acelerado	0,52	30,14
	Metabolizadores pobres	0,83	1414,40
	Tránsito acelerado + metabolizadores pobres	0,52	894,04

1. El transportador ABCG2 también conocido como BCRP (Breast Cancer Resistant Protein) juega un papel muy importante en la absorción y distribución de fármacos. BCRP, igual que la P-gp, es una bomba de eflujo que actúa impidiendo que algunos fármacos penetren tejidos como el cerebro, el intestino o distintos tumores. Principalmente el BCRP se tiene en consideración por su rol en la absorción intestinal, ya que presenta un alto grado de expresión en tejidos barrera como el colon o el intestino delgado.

FÁRMACO	POBLACIÓN	Fa	AUC (ng·mL ⁻¹ ·h ⁻¹)
Rosuvastatina	Normal	0,68	73,64
	Tránsito acelerado	0,63	67,30
	Metabolizadores pobres	0,68	73,64
	Tránsito acelerado + metabolizadores pobres	0,63	67,30
	ABCG2 (BCRP) bloqueado	0,89	101,54
	ABCG2 (BCRP) bloqueado + tránsito acelerado	0,79	87,52
	Aumento permeabilidad hasta 1,618·10 ⁻⁴ cm·s ⁻¹	0,97	112,40

Fa: fracción absorbida; AUC: área bajo la curva

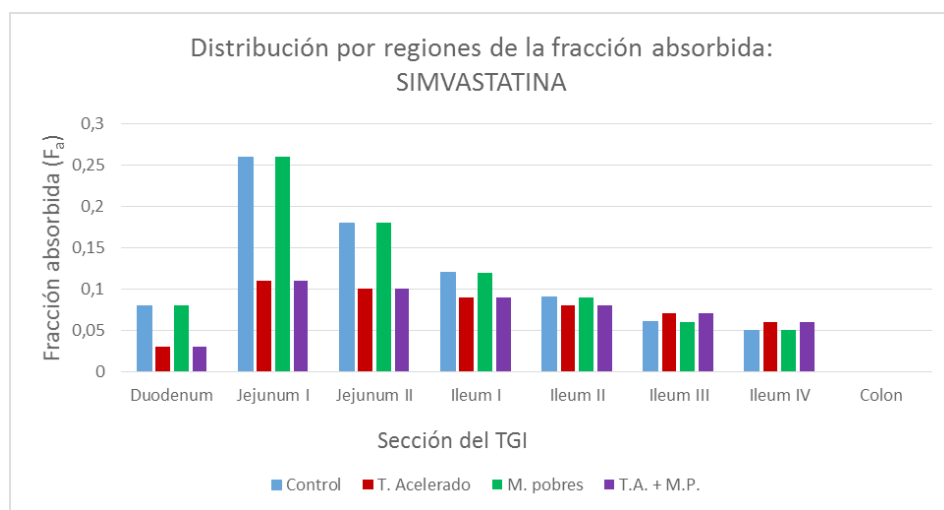


FIGURA 1. Comparación de la fracción absorbida predicha para simvastatina en los diferentes tramos del tracto gastrointestinal, en las distintas condiciones de simulación. T. Acelerado y T.A.: tránsito acelerado; M. pobres y M.P.: metabolizadores pobres.

Al realizar un estudio combinado con una población de tránsito acelerado y de metabolización pobre, la Fa no varía con respecto al estudio simple de tránsito acelerado, pero aumenta el AUC (tabla1, figura 1), por lo que podemos pensar que el metabolismo intestinal vía CYP3A4 tiene menos influencia sobre la Fa que

la velocidad de tránsito. El incremento observado en el AUC es coherente con el déficit de la enzima responsable, en gran medida, de la eliminación del fármaco.

Las simulaciones con rosuvastatina no muestran una alteración tan notable en los parámetros registrados como en el caso de simvastatina. La Fa se ve modificada ligeramente en metabolizadores pobres respecto a pacientes con tránsito acelerado, pero no con respecto a la población de referencia (tabla 1, figura 2) acorde con el hecho de que rosuvastatina no es metabolizada por la isoenzima CYP3A4. El AUC de rosuvastatina se mantiene prácticamente constante en ambas situaciones, aunque se observa una cierta tendencia a disminuir en el caso de tránsito acelerado (tabla 1).

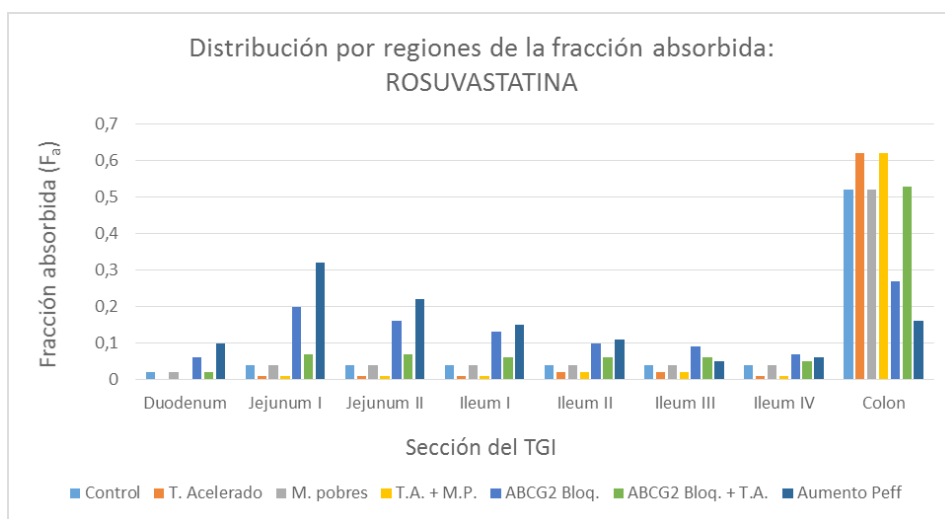


FIGURA 2. Comparación de la fracción absorbida predicha para rosuvastatina en los diferentes tramos del tracto gastrointestinal, en las distintas condiciones de simulación.

T. Acelerado y T.A.: tránsito acelerado; M. pobres y M.P.: metabolizadores pobres; ABCG2 Bloq.: bloqueo del transportador ABCG2; Peff: permeabilidad efectiva.

El bloqueo del transportador ABCG2 influye de forma sustancial en la Fa (tabla 1, figura 2), confirmando su función como bomba de eflujo devolviendo el fármaco al lumen. En cuanto a la permeabilidad, es conocido que la rosuvastatina es un fármaco poco permeable, $0,855 \cdot 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, entonces si aumentamos su permeabilidad a valores similares a los de simvastatina debería aumentar su Fa; de hecho, en este caso, la Fa muestra el mayor valor observado en el estudio, aproximándose a la unidad y un incremento en el AUC de más del 50%, respecto a la población de referencia (tabla 1).

5. CONCLUSIONES

1.- El modelo ADAM implementado en el programa Simcyp® permite realizar predicciones fiables acerca de la magnitud del proceso de absorción; ya que los resultados obtenidos en las simulaciones realizadas en distintas condiciones son acordes con las observaciones extraídas de la experiencia clínica con el uso de los fármacos estudiados.

2.- Los estudios de simulación *in silico* realizados para evaluar el perfil de absorción de simvastatina y rosuvastatina en diferentes poblaciones muestran que la velocidad de tránsito gastrointestinal condiciona de manera notable la Fa de simvastatina, pero no la de rosuvastatina; sin embargo la abundancia de sistemas transportadores, así como el valor de la permeabilidad, son de especial relevancia en la absorción de rosuvastatina.

3.- Se confirma la importancia de la isoenzima CYP3A4 como responsable mayoritaria de la biotransformación de simvastatina, tanto por su participación en el metabolismo presistémico como en el proceso de eliminación de este fármaco. Asimismo, se ratifica el hecho de que dicha isoenzima no participa en el metabolismo intestinal de rosuvastatina.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Drugbank 4.5. [en línea]. Alberta, Canadá: Universidad de Alberta, 2006 [Fecha de acceso: 03/06/2016] Disponible en: <http://www.drugbank.ca/>
- Fujikawa M, Ano R, Nakao K, Shimizu R, Akamatsu M. Relationships between structure and high-throughput screening permeability of diverse drugs with artificial membranes: application to prediction of Caco-2 cell permeability. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2005; 13(15):4721-4732. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15936203>
- Giacomini KM, Huang SM, Tweedie DJ, Benet LT, Brouwer K, Chu X *et al*. Membrane transporters in drug development. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2010; 9: 215-236. Disponible en: http://www.nature.com/nrd/journal/v9/n3/fig_tab/nrd3028_F1.html
- Horio M, Chin KV, Currier SJ, Goldenberg S, Williams C, Pastan I *et al*. Transepithelial transport of drugs by the multidrug transporter in cultured Madin-Darby Canine Kidney cell epithelia. *Journal of Biological Chemistry*. 1989; 264(25):14880-14484. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2570070>
- Hwang KK, Martin NE, Jiang L, Zhu C. Permeation prediction of M100240 using the parallel artificial membrane permeability assay. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2003; 6(3):315-320. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14738711>
- Irvine JD, Takahashi L, Lockhart K, Cheong J, Tolan JW *et al*. MDCK (Madin Darby Canine Kidney) Cells: A tool for membrane permeability screening. *Journal of*

- Pharmaceutical Sciences. 1999; 88(1):28-33. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9874698>
- Jamei M, Turner D, Yang J, Neuhoff S, Polak S, Rostami-Hodjegan *et al.* Population-Based Mechanistic Prediction of Oral Drug Absorption. *The AAPS Journal*. 2009; 11(2):225-237. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2691459/>
- Kansy M, Senner F, Gubernator K. Physicochemical High Throughput Screening: Parallel Artificial membrane Permeation Assay in the Description of Passive Permeation Process. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1998; 41(7):1007-1010. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9544199>
- Kato. Intestinal first-pass metabolism of CYP3A4 substrates. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2008; 23(2):87-94. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18445987>
- Lennernäs H. Intestinal permeability and its relevance for absorption and elimination. *Xenobiotica*. 2007; 37(10-11):1015-1051. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17968735>
- Maliepaard M, *et al.* Subcellular localization and distribution of the breast cancer resistance protein transporter in normal human tissues. *Cancer Res*. 2001; 61(8): p. 3458-64. Disponible en: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/61/8/3458.long>
- Ranaldi G, Islam K, Sambuy Y. Epithelial Cells in Culture as a Model for the Intestinal Transport of Antimicrobial Agents. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*. 1992; 36(7):1374-1381. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC191589/>
- SimCyp Simulator (v. 16) [software]. 2011-2016. Princeton: Certara USA, Inc. Obtenido de: <https://support.certara.com>
- Wang I, Hopper I. Celiac disease and drug absorption: Implications fo cardiovascular therapeutics. *Cardiovascular Therapeutics*. 2014; 32:253-256. Sede web: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1755-5922.12094/epdf>
- Wishart DS, Knox C, Guo AC, Shrivastava S, Hassanali M, Stothard P *et al.* DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic Acids Res*. 2006 Jan 1; 34(Database issue):D668-72. 16381955.



ANEXO 1. CUESTIONARIO DE ACEPTABILIDAD DE DMF

FECHA DE INICIO DEL TRATAMIENTO: __/__/__

Tratamientos previos al actual:

Quién tomó la iniciativa para el cambio de tratamiento:

1. Medico prescriptor
2. Propio paciente.

Motivo del cambio de tratamiento a DMF:

1. Intolerancia a tratamientos anteriores (efectos adversos).
2. Vía de administración (preferencia por administración vía oral).
3. Ineficacia de tratamientos anteriores.
4. Avances terapéuticos.

Aceptación por parte del paciente al cambio de tratamiento:

MALA	REGULAR	BUENA	MUY BUENA	EXCELENTE

Calidad de la vida del paciente:

MALA	REGULAR	BUENA	MUY BUENA	EXCELENTE

Efectos adversos más destacados:

- | | |
|-----------------------|--------------------|
| 1. Molestias GI | 6. Genitourinarios |
| 2. Rubefacción | 7. Alérgicos |
| 3. Hepáticos | 8. Dermatológicos |
| 4. CV | 9. Infecciosos |
| 5. Neuro/Psicológicos | 10. Otros |

Medicación adicional :

