

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 900 169**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00** (2006.01)

**G01N 33/15** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.07.2018** **PCT/SE2018/050752**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.03.2019** **WO19045615**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.07.2018** **E 18743606 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.09.2021** **EP 3678638**

54 Título: **Dispositivo de disposición intestinal de fármacos in vitro**

30 Prioridad:

**04.09.2017 SE 1751066**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**16.03.2022**

73 Titular/es:

**ENPHASYS AB (100.0%)**

**Tallrisgatan 14**

**741 46 Knivsta, SE**

72 Inventor/es:

**BERGSTRÖM, CHRISTEL y**

**KEEMINK, JANNEKE**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 900 169 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro*

## 5 CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere en general a un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* y al uso del mismo en un procedimiento de disposición intestinal de fármacos *in vitro*.

## 10 ANTECEDENTES

Un problema general en la industria farmacéutica es la baja solubilidad acuosa de los agentes activos durante el descubrimiento y desarrollo de fármacos. Un enfoque común para combatir este problema de solubilidad ha sido usar formulaciones a base de lípidos (LBF). En un enfoque de formulación de este tipo, las LBF eluden las limitaciones de solubilidad y promueven la solubilización del fármaco cuando el fármaco se presenta en el tubo gastrointestinal.

El rendimiento de dichas LBF se investiga llevando a cabo los denominados estudios de lipólisis *in vitro* que imitan la digestión que tiene lugar en el intestino. Dichos estudios de lipólisis *in vitro* utilizan típicamente un recipiente de digestión que contiene las LBF, enzimas digestivas y una solución intestinal simulada acoplado a una configuración de valoración que comprende un aparato de pH-stat y una bureta automática que contiene NaOH [1-4]. Tras la digestión de las LBF, se liberan ácidos grasos libres (AGL), dando como resultado una disminución del pH. El aparato de pH-stat detecta la caída del pH y ajusta el pH añadiendo NaOH desde la bureta automática. A continuación, se estima el grado de digestión de las LBF en base a la cantidad de NaOH añadida a lo largo del tiempo.

Dichos estudios de lipólisis *in vitro* de la técnica anterior del rendimiento de las LBF proporcionan una correlación *in vitro-in vivo* (IVIVC) en general mala cuando se refieren al rendimiento *in vivo* de las formulaciones.

Las deficiencias de la lipólisis *in vitro* se han abordado en la técnica anterior. Por ejemplo, se han usado enfoques informáticos para simular la digestión de LBF empleando modelado biofarmacéutico [1]. Otros han hecho uso de una combinación de estudios de lipólisis *in vitro* y estudios *in situ*, en los que la biodisponibilidad de un agente activo se determina a partir de muestras de sangre después de la administración de LBF digeridas directamente en el intestino de los animales de prueba [2]. Otro enfoque ha sido complementar los estudios de lipólisis *in vitro* con experimentos de permeación *ex vivo* usando una cámara de Ussing [3]. Se ha propuesto una celda de difusión de Franz para estudiar la absorción y la permeación a través de las membranas mucosas [12].

Sin embargo, dichos enfoques de la técnica anterior requieren experimentos *in vivo* comparativamente costosos, que llevan mucho tiempo y son engorrosos o la necesidad de realizar experimentos *in vitro* y *ex vivo* separados, lo que no es óptimo. En consecuencia, existe una necesidad de una configuración que permita someter a prueba el rendimiento de las LBF y otros compuestos de una manera eficaz que imite la digestión y la absorción que tienen lugar en el intestino.

## 45 SUMARIO

Es un objetivo general proporcionar un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* que puede imitar la digestión y la absorción que tienen lugar en el intestino.

Este y otros objetivos se cumplen por los modos de realización como se divulga en el presente documento.

La presente invención se refiere a un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* y a un procedimiento de disposición intestinal de fármacos *in vitro* como se define en las reivindicaciones independientes. Otros modos de realización de la presente invención se definen en las reivindicaciones dependientes.

El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* comprende una cámara donante configurada para comprender una solución donante y que tiene un extremo inferior y un extremo superior. El dispositivo también comprende una cámara receptora configurada para comprender una solución de absorción y una membrana de absorción dispuesta entremedias y que separa la cámara donante y la cámara receptora. Un primer lado principal de la membrana de absorción está configurado para estar en contacto con la solución donante y un segundo lado principal opuesto de la membrana de absorción está configurado para estar en contacto con la solución de absorción. Una proporción de un volumen interno de la cámara donante con respecto a un área del primer lado principal de la membrana de absorción es igual o inferior a 3 ml/cm<sup>2</sup>. Un área de sección transversal de la cámara donante en el extremo inferior es mayor que un área de sección transversal de la cámara donante en el extremo superior.

Un sistema para la disposición intestinal de fármacos *in vitro* comprende un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con la presente invención. El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* tiene una cámara receptora que comprende una vía de muestreo configurada para proporcionar acceso a un volumen interno de la cámara receptora. La cámara donante del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* comprende una vía de muestreo configurada para proporcionar acceso al volumen interno de la cámara donante. De forma alternativa, o además, el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* comprende una tapa de cámara para la cámara donante. La tapa de cámara comprende una vía de muestreo configurada para proporcionar acceso al volumen interno de dicha cámara donante. El sistema también comprende un dispositivo de análisis que comprende una sonda de análisis dispuesta en una abertura en la tapa de cámara o en la vía de muestreo de la cámara donante.

El procedimiento de disposición intestinal de fármacos *in vitro* comprende añadir una sustancia de prueba a la cámara donante de un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con los modos de realización. La cámara donante del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* comprende una solución donante y la cámara receptora comprende una solución de absorción. El procedimiento también comprende determinar la concentración de la sustancia de prueba y/o un metabolito de digestión de la sustancia de prueba en al menos una de la solución donante y la solución de absorción una o más veces.

El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* imita tanto los procesos de digestión como de absorción que tienen lugar en el intestino. En consecuencia, el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* tiene mayor biopertinencia en comparación con los dispositivos de lipólisis *in vitro* de la técnica anterior.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Los modos de realización, conjuntamente con otros objetivos y ventajas de los mismos, se pueden entender mejor haciendo referencia a la siguiente descripción tomada conjuntamente con los dibujos adjuntos, en los que:

La fig. 1 es una ilustración esquemática de un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con un modo de realización.

La fig. 2 es un diagrama de flujo de un procedimiento de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con un modo de realización.

La fig. 3A es un diagrama que ilustra el perfil de la concentración acuosa frente al tiempo de un compuesto modelo (danazol) en ausencia (cuadrados, indicados por una flecha completa) y presencia (triángulos, indicados por una flecha discontinua) de una membrana de absorción y una cámara receptora para una formulación de prueba de cadena larga de tipo II (II-LC). Los valores se expresan como valores promedio  $\pm$  desviación estándar (DE) ( $n = 3$ ).

La fig. 3B es un diagrama que ilustra la tasa de sobresaturación (TS) frente al tiempo de un compuesto modelo (danazol) en ausencia (cuadrados, indicados por una flecha completa) y presencia (triángulos, indicados por una flecha discontinua) de una membrana de absorción y una cámara receptor para una formulación de prueba de tipo II-LC.

La fig. 3C es un diagrama que ilustra la transferencia de masa de un compuesto modelo (danazol) a través de la membrana de absorción a lo largo del tiempo para una formulación de prueba de tipo II-C. Los valores se expresan como valores promedio  $\pm$  DE ( $n = 3$ ).

La fig. 4A es un diagrama que ilustra el perfil de la concentración acuosa frente al tiempo de un compuesto modelo (danazol) en ausencia (cuadrados, indicados por una flecha completa) y presencia (triángulos, indicados por una flecha discontinua) de una membrana de absorción y una cámara receptora para una formulación de prueba de tipo IIIB-LC. Los valores se expresan como valores promedio  $\pm$  DE ( $n = 3$ ).

La fig. 4B es un diagrama que ilustra la tasa de sobresaturación (TS) frente al tiempo de un compuesto modelo (danazol) en ausencia (cuadrados, indicados por una flecha completa) y presencia (triángulos, indicados por una flecha discontinua) de una membrana de absorción y una cámara receptora para una formulación de prueba de tipo IIIB-LC.

La fig. 4C es un diagrama que ilustra la transferencia de masa de un compuesto modelo (danazol) a través de la membrana de absorción a lo largo del tiempo para una formulación de prueba de tipo IIIB-LC. Los valores se expresan como valores promedio  $\pm$  DE ( $n = 3$ ).

La fig. 5A es un diagrama que ilustra el perfil de la concentración acuosa frente al tiempo de un compuesto modelo (danazol) en ausencia (cuadrados, indicados por una flecha completa) y presencia (triángulos, indicados por una flecha discontinua) de una membrana de absorción y una cámara receptora para una formulación de prueba de tipo IV. Los valores se expresan como valores promedio  $\pm$  DE ( $n = 3$ ).

La fig. 5B es un diagrama que ilustra la tasa de sobresaturación (TS) frente al tiempo de un compuesto modelo (danazol) en ausencia (cuadrados, indicados por una flecha completa) y presencia (triángulos, indicados por una flecha discontinua) de una membrana de absorción y una cámara receptora para una formulación de prueba de tipo IV.

5 La fig. 5C es un diagrama que ilustra la transferencia de masa de un compuesto modelo (danazol) a través de la membrana de absorción a lo largo del tiempo para la formulación de prueba de tipo IV. Los valores se expresan como valores promedio  $\pm$  DE (n = 3).

10 La fig. 6 es un diagrama que ilustra la transferencia de un compuesto modelo (danazol) corregida para los valores de Papa de amarillo lucifer. Los cuadrados, rombos y triángulos representan la transferencia de danazol para el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro*, las placas Transwell y el  $\mu$ Flux, respectivamente.

15 La fig. 7 es un diagrama que compara la eficacia de absorción de danazol cristalino sin procesar (gris claro) y danazol micronizado (gris oscuro).

20 La fig. 8A es un diagrama que ilustra la correlación *in vitro-in vivo* de la exposición al plasma *in vivo* y la distribución de fenofibrato a la fase acuosa en la cámara donante del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* durante la dispersión y la digestión. Los cuadrados, círculos y rombos representan los resultados de una formulación de cadena media de tipo IIIA (IIIA-MC), una de cadena larga de tipo IIIA (IIIA-LC) y una de tipo IV (IV), respectivamente. Los símbolos blancos representan los datos producidos por Griffin *et al.* [6]. Los valores se expresan como valores promedio  $\pm$  DE (n = 3).

25 La fig. 8B es un diagrama que ilustra la transferencia de fenofibrato a través de monocapas a la cámara receptora durante la dispersión (área sombreada en gris) y la digestión (área blanca) en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro*. Los valores se expresan como valores promedio  $\pm$  DE (n = 3).

30 La fig. 8C es un diagrama que ilustra la correlación *in vitro in vivo* de la exposición al plasma *in vivo* y la transferencia de fenofibrato a través de monocapas a la cámara receptora durante la dispersión y la digestión. Los valores se expresan como valores promedio  $\pm$  DE (n = 3).

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA

35 La presente invención se refiere en general a un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* y al uso del mismo en un procedimiento de disposición intestinal de fármacos *in vitro*.

40 El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de la presente invención se basa en tener las cámaras donante y receptora separadas por una membrana de absorción. Este diseño del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* con cámaras separadas refleja más correctamente el entorno en el intestino, correspondiendo la cámara donante al volumen intestinal, imitando la membrana de absorción la mucosa intestinal y correspondiendo la cámara receptora al sistema sanguíneo con los vasos sanguíneos en las paredes del intestino.

45 De este modo, el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* se puede usar no solo para estudiar la lipólisis *in vitro* sino también el proceso de absorción que se produce en el intestino. En consecuencia, la lipólisis o digestión y la absorción están conectadas y se producen en el mismo dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* durante el mismo experimento. Esta es una ventaja principal de la presente invención en comparación con las soluciones de la técnica anterior [1-4], en las que la dinámica de los procesos de digestión y absorción no se puede captar en una única configuración experimental sino que requiere evaluaciones separadas.

50 De este modo, la presente invención refleja y capta más correctamente la digestión y la absorción que tienen lugar en el intestino, contribuyendo eficazmente a una IIVC elevada. Asimismo, los enfoques de la técnica anterior requieren experimentos *in vivo* comparativamente costosos, que llevan mucho tiempo y son engorrosos o la necesidad de realizar experimentos *in vitro* y *ex vivo* separados donde la digestión y la absorción se exploran en paralelo en lugar de en un ensayo, lo que no es óptimo. Otra ventaja de tener una membrana de absorción y una

55 cámara receptora en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de la presente invención es que la absorción reduce el riesgo de precipitación del fármaco que de otro modo se puede producir en los estudios de lipólisis *in vitro* debido a que se logra una alta concentración del fármaco y se alcanza un estado sobresaturado. La absorción continua que tiene lugar sobre la membrana de absorción y hacia la cámara receptora que funciona como sumidero de fármaco, desciende la concentración de fármaco en la cámara donante y evita la precipitación de fármaco no deseada.

60

La fig. 1 es una ilustración esquemática de un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 de acuerdo con un modo de realización. En un aspecto de la presente invención, el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 comprende una cámara donante 2 configurada para comprender una solución donante. La

65 cámara donante 2 tiene un extremo inferior 18 y un extremo superior 19. El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 también comprende una cámara receptora 3 configurada para comprender una solución de

absorción y una membrana de absorción 4 dispuesta entremedias y que separa la cámara donante 2 y la cámara receptora 3. De acuerdo con la invención, un primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4 está configurado para estar en contacto con la solución donante y un segundo lado principal opuesto 6 de la membrana de absorción 4 está configurado para estar en contacto con la solución de absorción.

Una proporción de un volumen interno de la cámara donante 2 y un área del primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4 es igual a o menor que  $3 \text{ ml/cm}^2$ . Asimismo, un área de sección transversal de la cámara donante 2 en el extremo inferior 18 es mayor que un área de sección transversal de la cámara donante 2 en el extremo superior 19.

El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 comprende, de este modo, dos cámaras 2, 3 separadas por la membrana de absorción 4. La primera cámara o cámara superior es la cámara donante 2 que está configurada para comprender una solución donante que imita el entorno intestinal. En consecuencia, la solución donante comprende preferentemente constituyentes o ingredientes que se asemejan al entorno y a las sustancias químicas presentes en el intestino. Por lo tanto, la solución donante se selecciona preferentemente entre los denominados medios de lipólisis o medios intestinales simulados usados en estudios de lipólisis *in vitro*. Un medio de lipólisis de este tipo es típicamente una solución tampón que comprende fluido intestinal simulado con componentes de secreción biliar. La solución donante tiene preferentemente un pH correspondiente al pH en la parte pertinente del intestino. La cámara donante 2 también puede simular la transferencia gástrica a intestinal a través del cambio de pH y la adición de una solución de lipólisis concentrada que imita el fluido intestinal.

De forma correspondiente, la solución de absorción en la cámara receptora 3 como segunda cámara o cámara inferior debe imitar preferentemente la sangre o el plasma sanguíneo en los vasos sanguíneos en el intestino. En consecuencia, la solución de absorción comprende preferentemente constituyentes o ingredientes que se asemejan al plasma sanguíneo y preferentemente al pH del plasma sanguíneo.

El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 tiene una baja proporción del volumen interno de la cámara donante 2 con respecto al área del primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4, y en particular del área de una parte del primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4 encerrada por la cámara donante 2. Por tanto, el área de la parte del primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4 encerrada por y que se encuentra dentro de una circunferencia del extremo inferior 18 de la cámara donante 2. De este modo, esta proporción es igual o inferior a  $3 \text{ ml/cm}^2$ . Esta baja proporción refleja la situación *in vivo* en el intestino, que tiene una gran área de mucosa intestinal en comparación con el volumen en el intestino. Por tanto, la baja proporción del volumen interno de la cámara donante 2 con respecto al área del primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4 simula las condiciones de absorción en el intestino y, de este modo, contribuye a la alta biopertinencia del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1.

En un modo de realización, la proporción del volumen interno de la cámara donante 2 con respecto al área del primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4 es preferentemente igual o inferior a  $2,5 \text{ ml/cm}^2$ , y en particular igual o inferior a  $2,25 \text{ ml/cm}^2$ , y más preferentemente igual o inferior a  $2,1$  o  $2 \text{ ml/cm}^2$ . La proporción puede ser incluso menor, tal como igual o inferior a  $1,5 \text{ ml/cm}^2$  o igual o inferior a  $1 \text{ ml/cm}^2$ . También es posible tener proporciones incluso menores, por ejemplo, una proporción igual o inferior a  $0,9 \text{ ml/cm}^2$ , igual o inferior a  $0,8 \text{ ml/cm}^2$ , igual o inferior a  $0,7 \text{ ml/cm}^2$ , igual o inferior a  $0,6 \text{ ml/cm}^2$  o igual o inferior a  $0,5 \text{ ml/cm}^2$ .

Como se menciona en lo anterior, la cámara donante 2 está configurada para comprender un volumen de la solución donante. En un modo de realización, una proporción del volumen de la solución donante con respecto al área del primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4 es igual o inferior a  $3 \text{ ml/cm}^2$ . En un modo de realización preferente, la proporción del volumen de la solución donante con respecto al área del primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4 es igual o inferior a  $2,5 \text{ ml/cm}^2$ , y más preferentemente igual o inferior a  $2,25 \text{ ml/cm}^2$ , tal como igual o inferior a  $2,1$  o  $2 \text{ ml/cm}^2$ . La proporción puede ser incluso menor, tal como igual o inferior a  $1,5 \text{ ml/cm}^2$  o igual o inferior a  $1 \text{ ml/cm}^2$ . También es posible tener proporciones incluso menores, por ejemplo, una proporción igual o inferior a  $0,9 \text{ ml/cm}^2$ , igual o inferior a  $0,8 \text{ ml/cm}^2$ , igual o inferior a  $0,7 \text{ ml/cm}^2$ , igual o inferior a  $0,6 \text{ ml/cm}^2$  o igual o inferior a  $0,5 \text{ ml/cm}^2$ .

La cámara donante 2 en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 de acuerdo con la presente invención tiene un área comparativamente mayor del extremo inferior 18 en comparación con el área de su extremo superior 19. Por tanto, el área de sección transversal de la cámara donante 2 en el extremo inferior 18 es mayor que el área de sección transversal de la cámara donante 2 en el extremo superior 19. Las áreas de sección transversal en los extremos inferior y superior 18, 19 son preferentemente perpendiculares a un eje que discurre desde el extremo inferior 18 al extremo superior 19 de la cámara donante 2. Este eje es preferentemente perpendicular al primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4. Expresado de forma diferente, las áreas de sección transversal en los extremos inferior y superior 18, 19 de la cámara donante 2 son preferentemente paralelas a la membrana de absorción 4, y en particular paralelas al primer lado principal 5, y preferentemente también al segundo lado principal opuesto 6, de la membrana de absorción 4. El área inferior mayor de la cámara donante 2 en comparación con el área superior contribuye asimismo a tener un volumen interno comparativamente

pequeño de la cámara donante 2 pero un área comparativamente grande del primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4.

En un modo de realización, el área de sección transversal de la cámara donante 2 está disminuyendo de forma continua o gradual desde el extremo inferior 18 hacia el extremo superior 19. Por tanto, cuando se desplaza desde el extremo inferior 18 de la cámara donante 2 a lo largo del eje mencionado anteriormente hacia el extremo superior 19 de la cámara donante 2, el área de sección transversal de la cámara donante 2 preferentemente disminuye. La disminución en el área de sección transversal puede ser continua como se muestra en la fig. 1. Este caso corresponde a tener una cámara donante 2 en forma de cono. En lugar de tener un área de sección transversal que disminuye de forma continua, el área de sección transversal podría disminuir en uno o múltiples, es decir, al menos dos, escalones. Un caso de este tipo correspondería a tener una cámara donante 2 en forma de múltiples cilindros coaxiales con un diámetro siempre decreciente cuando se pasa de un cilindro inferior en el extremo inferior 18 de la cámara donante 2 a un cilindro superior en el extremo superior 19 de la cámara donante 2. También es posible combinar estos dos casos, es decir, tener una cámara donante 2, con un área de sección transversal que disminuye de forma continua a lo largo de una parte de la altura de la cámara donante 2 desde el extremo inferior 18 hasta el extremo superior 19, mientras que otra parte de la altura de la cámara donante 2 tiene un área de sección transversal que disminuye de forma gradual.

En un modo de realización particular, la cámara donante 2 es una cámara donante 2 en forma de cono y la cámara receptora 3 es una cámara receptora 3 en forma de cilindro. En un modo de realización preferente, el diámetro de la cámara donante 2 en forma de cono en su extremo inferior 18 es preferentemente igual o inferior a, preferentemente igual a, el diámetro de la cámara receptora 3 en forma de cilindro en su extremo superior, es decir, el extremo de la cámara receptora 3 en forma de cilindro orientado hacia el segundo lado opuesto 6 de la membrana de absorción 4. El diseño de la cámara donante 2 en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 de acuerdo con la presente invención logra varias ventajas con respecto al dispositivo 1 y los usos del mismo. En primer lugar, el diámetro decreciente de la cámara donante 2 implica que el área inferior de la cámara donante 2 y, de este modo, el primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4 se puede mantener grande mientras que todavía se tiene un volumen interno comparativamente pequeño de la cámara donante 2, por ejemplo, en comparación con tener una cámara donante en forma de cilindro con el mismo diámetro en el extremo superior 19 que en el extremo inferior 18. El diámetro decreciente de la cámara donante 2 implica adicionalmente que la altura de la cámara donante, es decir, desde el extremo inferior 18 hasta el extremo superior 19, puede ser suficientemente grande para incluir una sonda de análisis, tal como una sonda de pH, en la cámara donante 2 para realizar mediciones en la solución donante. Asimismo, o además, se podría incluir un agitador 20 en la cámara donante 2. Por tanto, si la cámara donante 2 en cambio tuviera un diámetro uniforme o incluso un diámetro creciente cuando pasa del extremo inferior 18 al extremo superior 19, la altura de la cámara donante 2 y, de este modo, la profundidad máxima de cualquier solución donante presente en la cámara donante 2 se debe mantener muy bajo para mantener bajo el volumen interno total de la cámara donante 2 y la proporción entre este volumen interno y el área del primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4. La baja altura puede evitar, a continuación, la inserción de una sonda de análisis y/o agitador en la solución donante para que el cabezal de sonda o sensor de la sonda de análisis o el cabezal agitador del agitador estén completamente sumergidos en la solución donante para realizar una medición o mezcla exacta, respectivamente. En tercer lugar, el diseño particular de la cámara donante 2 de la presente invención facilita asimismo el muestreo de la solución donante durante el funcionamiento y el uso del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1, como se describirá además en el presente documento. Además, la altura de la cámara donante suficientemente grande permite además una agitación eficaz en la cámara donante 2. Como se describe además en el presente documento, de este modo se puede disponer un agitador 20 en la cámara donante 2 para lograr una agitación y mezcla eficaz de la solución donante. Una cámara donante 2 de baja altura no posibilitaría tener un agitador 20 de este tipo y, de este modo, adolecería de una mezcla de solución donante deficiente.

En un modo de realización, una proporción del volumen interno de la cámara donante 2 con respecto a un volumen interno de la cámara receptora 3 es inferior a 1. En otras palabras, el volumen interno de la cámara receptora 3 es preferentemente mayor que el volumen interno de la cámara donante 2. Un diseño de este tipo de las dos cámaras 2, 3 implica que la cámara receptora 3 puede funcionar eficazmente como una cámara de sumidero. Por tanto, habrá una fuerza impulsora de absorción de un fármaco o su metabolito desde la cámara donante 2 a través de la membrana de absorción 4 y hacia la cámara receptora 3.

En el intestino, cualquier fármaco o metabolito de fármaco que se absorba por la mucosa intestinal y entre en los vasos sanguíneos en las paredes intestinales se transportará por el sistema sanguíneo a otras partes del cuerpo. En consecuencia, la concentración del fármaco o metabolito de fármaco será en general menor en el lado sanguíneo de la mucosa intestinal en comparación con el lado intestinal. Tener un volumen interno comparativamente mayor de la cámara receptora 3 en comparación con el de la cámara donante 2 imita este gradiente de concentración pero sin la necesidad de un flujo de solución de absorción continuo a través de la cámara receptora 3. Esto significa que a medida que se liberan fármacos o metabolitos de fármacos en la lipólisis *in vitro* que tiene lugar en la solución donante en la cámara donante 2, el gradiente de concentración impulsará la absorción de los fármacos o metabolitos de fármacos a través de la membrana de absorción 4 y hacia la cámara

receptora 3 y la solución receptora presente en la misma. De este modo, esto corresponde a la difusión o transporte que tiene lugar a través de la mucosa intestinal en el intestino.

En un modo de realización preferente, la proporción del volumen interno de la cámara donante 2 con respecto al volumen interno de la cámara receptora 3 es igual o inferior a 1/2 y más preferentemente igual o inferior a 1/3.

En un modo de realización, la cámara donante 2 está configurada para comprender un volumen de la solución donante y la cámara receptora 3 está configurada para comprender un volumen de la solución de absorción. En un modo de realización, la proporción del volumen de la solución donante con respecto al volumen de la solución de absorción es preferentemente inferior a 1, más preferentemente igual o inferior a 1/2, tal como igual o inferior a 1/3.

La cámara receptora 3 debe mantener preferentemente las condiciones de sumidero. En consecuencia, su volumen es preferentemente mayor que el volumen de la cámara donante 2 como se menciona en lo anterior. De forma alternativa, o además, es posible mantener dichas condiciones de sumidero diseñando la cámara receptora 3 como una cámara de flujo pasante. En un caso de este tipo, la cámara receptora 3 comprende una entrada de flujo y una salida de flujo (no mostradas). A continuación, se permite que la solución de absorción fluya, tal como por una o más bombas, a través de la entrada de flujo y hacia la cámara receptora 3 y a continuación más lejos de la cámara receptora a través de la salida de flujo.

En un modo de realización, la cámara donante 2 comprende una primera camisa de fluido 7 configurada para comprender un fluido y la cámara receptora 3 comprende correspondientemente una segunda camisa de fluido 8 configurada para comprender un fluido. Por tanto, las dos cámaras 2, 3 están, en este modo de realización, encerradas por una camisa de fluido 7, 8 respectiva configurada para comprender un fluido. Las camisas de fluido 7, 8 y los fluidos presentes en las mismas se pueden usar de este modo para lograr un control de temperatura de la cámara donante 2 y la cámara receptora 3, y en particular por la solución donante y la solución de absorción presentes en las mismas. Por tanto, el fluido presente en la primera camisa de fluido 7 tiene una temperatura dentro de un primer intervalo de temperatura y el fluido presente en la segunda camisa de fluido 8 tiene una temperatura dentro de un segundo intervalo de temperatura. En un modo de realización, los primer y segundo intervalos de temperatura son los mismos, es decir, la temperatura de los fluidos presentes en las dos camisas de fluido 7, 8 es la misma o al menos sustancialmente la misma, es decir, la diferencia de temperatura de los dos fluidos es inferior a alguna diferencia de temperatura máxima definida, por ejemplo, inferior a 1-5 °C como ejemplo ilustrativo, pero no limitante. Un ejemplo típico sería tener un control de temperatura de las cámaras donante y receptora 2, 3 y de las soluciones donante y de absorción para estar en o al menos cerca de 37 °C correspondientes a la temperatura corporal normal de un ser humano. Si el dispositivo de disposición intestinal *in vitro* 1 se usa para analizar la solubilidad del fármaco y/o el rendimiento de LBF en otros animales no humanos, y en particular en otros mamíferos no humanos, la temperatura de los fluidos en las dos camisas de fluido 7, 8 se establece preferentemente de acuerdo con la temperatura corporal de ese animal particular.

En otro modo de realización, los primer y segundo intervalos de temperatura pueden ser diferentes, es decir, la temperatura del fluido en la primera camisa de fluido 7 puede ser diferente de la temperatura del fluido en la segunda camisa de fluido 8. Como ejemplo, para los estudios de disposición de fármaco sobre la mucosa nasal o la piel, la cámara donante 2 se podría mantener a 32 °C mientras que la cámara receptora 3 se podría mantener a 37 °C.

La primera camisa de fluido 7 tiene preferentemente una entrada de fluido 14 y una salida de fluido 15 para posibilitar un flujo del fluido templado dentro y fuera de la primera camisa de fluido 7. Este flujo continuo de fluido a través de la primera camisa de fluido 7 posibilita un control de temperatura eficaz para lograr una temperatura estable y no variable dentro de la cámara donante 2. De forma correspondiente, la segunda camisa de fluido 8 tiene preferentemente una entrada de fluido 16 y una salida de fluido 17 para posibilitar un flujo correspondiente del fluido templado dentro y fuera de la segunda camisa de fluido 8.

Las entradas de fluido 14, 16 y las salidas de fluido 15, 17 están dispuestas preferentemente en las paredes de la primera y segunda camisas de fluido 7, 8 como se indica en la fig. 1. A continuación, las entradas de fluido 14, 16 se pueden conectar preferentemente a una misma fuente o fuentes de fluido diferentes y las salidas de fluido 15, 17 se pueden conectar preferentemente a un mismo sumidero o sumideros de fluido diferentes. Como ejemplo, las entradas de fluido 14, 16 y las salidas de fluido 15, 17 se pueden conectar a un baño de agua con temperatura controlada. Además, se pueden conectar una o más bombas de fluido a las entradas de fluido 14, 16 y/o las salidas de fluido 15, 17 para lograr un flujo de los fluidos a través de las camisas de fluido 7, 8.

Se puede emplear cualquier fluido, preferentemente líquido o gas, y más preferentemente líquido, que se pueda usar para lograr un control de temperatura en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 de acuerdo con los modos de realización. Un ejemplo actualmente preferente de un fluido de este tipo es el agua, pero se podría usar cualquier fluido dependiendo del intervalo de temperatura deseado particular. Se podría usar el mismo tipo de fluido en ambas camisas de fluido 7, 8 o se podrían usar diferentes tipos de fluidos en las dos camisas de fluido 7, 8.

Otra ventaja de tener una cámara donante 2 con diámetro decreciente cuando se pasa desde el extremo inferior 18 hasta el extremo superior 19 se obtiene cuando se tiene la primera camisa de fluido 7. La conformación particular de la cámara donante 2 permite entonces un mayor volumen de fluido circulante en la primera camisa de fluido 7 y, de este modo, un mantenimiento más eficaz de la temperatura de la cámara donante 2 y la solución donante presente en la misma. La membrana de absorción 4 del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 debe imitar preferentemente la absorción que tiene lugar a través de la mucosa intestinal. En un modo de realización particular, la membrana de absorción 4 es una membrana semipermeable que comprende una capa celular en el primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4. En un modo de realización de este tipo, la capa celular corresponde al revestimiento celular de la mucosa intestinal. El tipo de célula usado en la capa celular depende del experimento particular. Un ejemplo de células que se podrían usar son las células epiteliales del colon, tal como se representa por las células Caco-2. Sin embargo, los modos de realización no se limitan a las mismas, sino que se pueden usar en cambio otras líneas y tipos de células, incluyendo otras líneas de células epiteliales comúnmente usadas para estudios intestinales, tales como células epiteliales de riñón canino Madin-Darby (MDCK). En cualquier caso, la capa celular se proporciona en el lado principal de la membrana de absorción 4 orientada hacia la cámara donante 2 y, de este modo, cuando está en uso, está en contacto con la solución donante, es decir, el primer lado principal 5 de la membrana de absorción 4. La capa celular podría estar en forma de una monocapa, es decir, la capa celular tiene un grosor promedio de una célula, o en forma de una multicapa de células, es decir, que consiste en más de una capa de células. Todas las células de la capa celular pueden ser de la misma línea, cepa o tipo de células. Sin embargo, es posible incorporar células de diferentes líneas, cepas o tipos de células en la capa celular si se desea. Por ejemplo, se podrían añadir microbios para imitar la microbiota presente en el intestino. Las células Caco-2 representan enterocitos. También, o de forma alternativa, se podrían añadir otras células epiteliales intestinales, tales como células productoras de mucosidad, tales como la línea celular HT29. De forma alternativa, o además, se podrían añadir células inmunitarias, tales como monocitos.

En otros modos de realización, la membrana de absorción 4 no es necesariamente una membrana semipermeable que comprende una capa celular. En claro contraste, se podría usar una membrana semipermeable sin células como una membrana artificial que imita la mucosa intestinal. Por ejemplo, se pueden usar membranas artificiales con una capa hidrófoba como membrana de absorción 4, tal como una membrana de hexadecano, una membrana de fosfolípida o celulosa hidrófoba.

En un modo de realización, la cámara donante 2 comprende una vía de muestreo configurada para proporcionar acceso al volumen interno de la cámara donante 2 y la cámara receptora 3 comprende una vía de muestreo 9 configurada para proporcionar acceso a un volumen interno de la cámara receptora 3. Dichas vías de muestreo 9 se pueden disponer entonces en la pared de la cámara donante 2 y la cámara receptora 3 como se ilustra en la fig. 1 para la cámara receptora 3.

En otro modo de realización, el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 comprende una tapa de cámara 10 para la cámara donante 2. La tapa de cámara 10 comprende entonces una vía de muestreo 11 configurada para proporcionar acceso al volumen interno de la cámara donante 2. En este modo de realización, la cámara receptora 3 comprende una vía de muestreo 9 configurada para proporcionar acceso a un volumen interno de la cámara receptora 3. La vía de muestreo 11 en la tapa de cámara 10 puede estar en forma de un orificio pasante en la tapa de cámara 10 para permitir tomar muestras de la solución donante presente en la cámara donante 2. En consecuencia, la vía de muestreo 9 para la cámara receptora 3 podría estar en forma de una vía o tubo que discurre desde una pared en la cámara receptora 3 y a través de la segunda camisa de fluido 8 opcional pero preferente como se muestra en la fig. 1. Esta vía de muestreo 9 posibilita, de este modo, tomar muestras de la solución de absorción presente en la cámara receptora 3.

En un modo de realización, la cámara donante 2 comprende una primera vía de muestreo y la tapa de cámara 10 puede comprender entonces una segunda vía de muestreo 11. Por tanto, en este modo de realización, el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 comprende al menos dos vías de muestreo configuradas para proporcionar acceso al volumen interno de la cámara donante 2.

De forma alternativa, o además, el equipo de análisis, tal como una sonda de análisis, se podría insertar en la solución donante y/o de absorción por medio de la vía de muestreo 9, 11 respectiva.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un sistema para la disposición intestinal de fármacos *in vitro*. Este sistema comprende un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 de acuerdo con la presente invención. El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 tiene una cámara receptora 3 que comprende una vía de muestreo 9 configurada para proporcionar acceso a un volumen interno de la cámara receptora 3. La cámara donante 2 del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 comprende una vía de muestreo configurada para proporcionar acceso al volumen interno de la cámara donante 2. De forma alternativa, o además, el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 comprende una tapa de cámara 10 para la cámara donante 2. La tapa de cámara 10 comprende una vía de muestreo 11 configurada para proporcionar acceso al volumen interno de dicha cámara donante 2. El sistema también comprende un dispositivo

de análisis que comprende una sonda de análisis dispuesta en una abertura 12 en la tapa de cámara 10 o en la vía de muestreo de la cámara donante 2.

Como se menciona en lo anterior, el diseño preferente de la cámara donante 2 permite la inmersión de al menos un cabezal de la sonda de análisis en la solución donante presente en la cámara donante 2 para realizar diversas mediciones. En un modo de realización particular, el dispositivo de análisis es un medidor de pH configurado para medir el pH de la solución donante. En un modo de realización preferente, el sistema también comprende un dispositivo distribuidor configurado para distribuir un agente de ajuste del pH en la solución donante en respuesta a un cambio de pH de la solución donante medido por el medidor de pH. Un ejemplo de un dispositivo distribuidor de este tipo es una bureta automática que comprende una base, tal como NaOH, que se añade a la solución donante en respuesta a cualquier cambio de pH detectado, por ejemplo, reducción del pH, de la solución donante como se mide por el medidor de pH. Por tanto, en el caso de la lipólisis de LBF, se liberan los AGL en la solución donante tras la digestión de las LBF, lo que da como resultado una disminución del pH. Un medidor de pH, tal como parte de un aparato de pH-stat, detecta la caída del pH y ajusta el pH añadiendo, por ejemplo, NaOH desde una bureta automática como ejemplo ilustrativo de un dispositivo distribuidor. La tasa y el grado de la digestión de las LBF se pueden estimar y vigilar en base a la cantidad de NaOH añadida a lo largo del tiempo.

Un medidor de pH se debe ver simplemente como un ejemplo ilustrativo, pero no limitante, de dispositivo de análisis del sistema. Se podrían usar otros dispositivos de análisis en lugar de o como complemento del medidor de pH. En el último caso, la tapa de cámara 10 comprende preferentemente diferentes aberturas 12 para diferentes sondas de análisis como se ilustra esquemáticamente en la fig. 1. Los ejemplos de dichos otros dispositivos de análisis incluyen sondas Raman y UV, etc., para analizar, detectar o medir moléculas, la forma sólida de precipitados, la tasa de formación de, por ejemplo, productos de digestión y, por ende, la cinética de digestión y la tasa de formación de sólidos y, por ende, la cinética de precipitación presente en la solución donante y/o en la solución de absorción.

En un modo de realización, el sistema también comprende una barra de agitación magnética 21 proporcionada en la cámara receptora 3 y un agitador 20 proporcionado en la cámara donante 2 y que tiene un eje dispuesto en una abertura 13 de la tapa de cámara 10. La barra de agitación magnética 21 posibilita una mezcla eficaz y continua de la solución de absorción durante el uso del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1. El agitador 20 posibilita de forma correspondiente una mezcla eficaz y continua de la solución donante durante su uso. Asimismo, la barra de agitación magnética 21 y el agitador 20 se disponen de tal manera que se puedan realizar el muestreo de la solución a través de las vías de muestreo 9, 11 y las mediciones por una sonda de análisis aunque la mezcla esté teniendo lugar en la cámara donante 2 y en la cámara receptora 3. La mezcla o agitación mejorada es una ventaja del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1, que refleja el entorno *in vivo*, incrementando la fiabilidad de las mediciones realizadas por el/los dispositivo(s) de análisis.

A continuación se describe aquí un ejemplo de configuración del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1. Los tubos de un baño de agua están unidos a las vías de entrada y salida 14, 15, 16, 17 de las camisas de fluido 7, 8 para llenar las camisas de fluido 7, 8 con agua circulante tibia. La solución de absorción que se va a usar en la cámara receptora 3 se prepara y se llena en la cámara receptora 3. Se añade una barra de agitación magnética 21 a la cámara receptora 3 para posibilitar la mezcla de la solución de absorción. Opcionalmente, se ponen anillos de goma (no ilustrados) en las ranuras designadas para evitar fugas entre la cámara donante 2 y la cámara receptora 3. Se coloca una membrana de absorción 4 de elección entre las dos cámaras 2, 3 y las cámaras 2, 3 se montan conjuntamente. Se añade la solución donante a la cámara donante 2. Se cierra el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 con la tapa de cámara 10 y se inserta el equipo necesario, tal como el agitador 20, la sonda de pH, la bureta automática, etc., en la solución donante y/o la solución de absorción. A continuación, se puede comenzar el experimento añadiendo la formulación que se va a evaluar a través de la vía de muestreo 11 en la tapa de cámara 10. También se pueden añadir enzimas de digestión. Se pueden vigilar continuamente los parámetros requeridos usando la(s) sonda(s) de análisis. En cualquier momento deseado, se pueden tomar muestras de la cámara donante 2 y la cámara receptora 3.

La fig. 2 es un diagrama de flujo de un procedimiento de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con la presente invención. El procedimiento comprende añadir una sustancia de prueba a la cámara donante 2 de un dispositivo de disposición intestinal *in vitro* 1 de acuerdo con cualquiera de los modos de realización en la etapa S1. La cámara donante 2 comprende una solución donante, tal como una solución donante que imita un entorno intestinal, por ejemplo, un líquido o solución intestinal simulada, y la cámara receptora 3 comprende una solución de absorción, tal como una solución de absorción que imita la sangre o el plasma sanguíneo. Una siguiente etapa S2 comprende determinar la concentración de la sustancia de prueba y/o un metabolito de digestión de la sustancia de prueba en al menos una de la solución donante y la de absorción, al menos, una vez.

El metabolito de digestión podría ser cualquier metabolito o producto de digestión obtenido después de la digestión de la sustancia de prueba en la solución donante. Los ejemplos de dichos metabolitos de digestión en el caso de LBF cargadas con fármaco incluyen el fármaco y los AGL.

En un modo de realización, la etapa S2 comprende determinar la concentración de la sustancia de prueba y/o el metabolito de digestión de la sustancia de prueba en al menos una de la solución donante y la solución de absorción múltiples veces.

En un modo de realización particular, el procedimiento también comprende determinar una transferencia de masa de la sustancia de prueba y/o el metabolito de digestión de la sustancia de prueba sobre la membrana de absorción 4 en base a las concentraciones de la sustancia de prueba y/o el metabolito de digestión de la sustancia de prueba determinadas las múltiples veces. Por tanto, midiendo la concentración de la sustancia de prueba y/o del metabolito de digestión en la solución donante y/o la solución de absorción múltiples veces, es posible determinar una transferencia de masa de la sustancia de prueba y/o del metabolito de digestión sobre la membrana de absorción 4. Dicha transferencia de masa es representativa de la absorción de la sustancia de prueba o de su metabolito de digestión que tiene lugar en el intestino *in vivo*.

En un modo de realización, la etapa S2 comprende determinar la concentración de la sustancia de prueba y/o del metabolito de digestión de la sustancia de prueba en la solución donante y en la solución de absorción múltiples veces.

En un modo de realización particular, el procedimiento también comprende determinar la distribución de la sustancia de prueba y/o del metabolito de digestión de la sustancia de prueba en la solución donante y en la solución de absorción en base a las concentraciones de la sustancia de prueba y/o del metabolito de digestión de la sustancia de prueba determinadas las múltiples veces. Por tanto, es posible determinar y vigilar las digestiones de la sustancia de prueba en la solución donante como se ve como una disminución en la concentración de la sustancia de prueba en la solución donante y un incremento en el metabolito de digestión en la solución donante. En la mayoría de las configuraciones experimentales, la sustancia de prueba no se digiere, sino los lípidos en las LBF. No obstante, la sustancia de prueba se puede metabolizar por enzimas digestivas añadidas, tales como dichas enzimas presentes en las células de la membrana de absorción. Por ende, los metabolitos de digestión, como se usa en el presente documento, podrían ser metabolitos de digestión de lípidos, metabolitos de digestión de la sustancia de prueba o metabolitos de digestión de los lípidos y de la sustancia de prueba. Es posible vigilar la absorción de la sustancia de prueba y/o el metabolito de digestión sobre la membrana de absorción 4 midiendo la concentración de la sustancia de prueba y/o metabolito de digestión en la solución de absorción.

En un modo de realización particular, el procedimiento comprende medir el pH de la solución donante y distribuir un agente de ajuste del pH en la solución donante en respuesta a un cambio de pH de la solución donante.

El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 es útil en la evaluación del rendimiento de las LBF cargadas con fármaco como se describe anteriormente. Sin embargo, el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1 también se puede usar para evaluar la disolución y absorción de otras formulaciones. Estas pueden ser productos farmacéuticos, alimentos y nutracéuticos. Por ejemplo,

- Dispersiones sólidas: dispersión molecular de un fármaco en un vehículo cristalino/amorfo
- Complejos de ciclodextrina solubles
- Nanocristales
- Material mesoporoso ordenado

Se puede evaluar la disolución y la absorción simultáneamente. En lugar de un medidor de pH y una bureta automática, se podría usar una sonda Raman para permitir la caracterización del precipitado y la forma sólida del mismo. De forma alternativa, se podría usar una sonda UV *in situ* para determinar las concentraciones disueltas en tiempo real. La fig. 7 muestra un ejemplo de formulaciones alternativas que se pueden evaluar usando el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* 1. El danazol cristalino sin procesar (gris claro) muestra una absorción mucho menor en comparación con el danazol micronizado, que se molió en un molino de bolas (gris oscuro).

El dispositivo, sistema y procedimiento de la presente invención se han descrito principalmente en relación con la disposición intestinal de fármacos *in vitro* y el uso para imitar la digestión y la absorción que tienen lugar en el intestino. Sin embargo, los modos de realización no se limitan a los mismos. La presente invención también se puede usar para imitar dichos procesos que tienen lugar sobre otras "membranas" en el cuerpo humano o animal, tal como la piel, o una membrana mucosa, tal como la mucosa bronquial, el endometrio, la mucosa esofágica, la mucosa gástrica, la mucosa intestinal, la mucosa nasal, la mucosa olfativa, la mucosa bucal, la mucosa peniana, la mucosa vaginal, el frenillo lingual, etc.

## EXPERIMENTOS

### EXPERIMENTO 1

Se usaron células Caco-2 cultivadas en filtros de policarbonato (tamaño de poro de 0,45  $\mu\text{m}$ , diámetro de 75 mm) como membranas absorbentes en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de los modos de

realización. Esta es una línea celular colorrectal epitelial humana heterogénea derivada de un adenocarcinoma de colon y se asemeja a los enterocitos que revisten el intestino delgado. Después de un período de cultivo de tres semanas, se extrajeron las membranas de absorción del Transwell y se montaron entre las dos semicámaras del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro*. El diámetro de la abertura entre las dos cámaras fue de 6 cm dando como resultado una superficie de absorción de 28,27 cm<sup>2</sup>.

La conformación cónica de la cámara donante permitió niveles suficientemente altos de solución donante para vigilar con exactitud la tasa y el grado de digestión usando una sonda de pH acoplada a un sistema de pH-stat. La valoración con una bureta automática con NaOH permitió la determinación de la tasa y el grado de digestión.

En los siguientes ejemplos, se usaron 60 ml de medio de lipólisis como solución donante y contenía Tris-maleato 2 mM, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 1,4 mM y NaCl 150 mM complementado con 2,24 mg/ml de fluido intestinal simulado en estado de ayuno (FaSSIF) en polvo a pH 6,5. Esta solución donante en la cámara donante imitó el entorno intestinal. La cámara receptora contenía 180 ml de solución salina equilibrada de Hank (SSEH) complementada con seroalbúmina bovina (SAB) al 4 % a pH 7,4 como solución de absorción para imitar la sangre.

El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* y las condiciones usadas en los siguientes ejemplos dieron como resultado una proporción del volumen de la solución donante con respecto al área de la membrana de absorción de 2,1 ml/cm<sup>2</sup> y una proporción del volumen de la solución donante con respecto al volumen de la solución de absorción que imita la sangre de 1/3.

En el experimento se usaron tres LBF cargadas con fármaco que representan diferentes grupos del Sistema de clasificación de formulaciones lipídicas (LFCS). La primera LBF era de tipo II-LC y consistía en lípidos, es decir, un 32,5 % (p/p) de aceite de soja (SBO) y un 32,5 % (p/p) de Maisine 35-1 y un tensioactivo, es decir, un 35 % (p/p) de TWEEN® 85. La segunda LBF era de tipo IIIB-LC y consistía en lípidos, es decir, un 5 % (p/p) de SBO, tensioactivo, es decir, un 45 % (p/p) de TWEEN® 85 y codisolvente, es decir, un 50 % (p/p) de carbitol. La tercera LBF era de tipo IV y solo contenía codisolvente, es decir, un 50 % (p/p) de carbitol y tensioactivo, es decir, un 50 % (p/p) de Cremophor EL. Se cargaron las tres LBF con el fármaco poco soluble danazol, que se ha usado ampliamente para estudiar las LBF. Se cargaron todas las LBF con la misma cantidad de fármaco (11,56 mg de danazol/g de LBF), que correspondía a un 80 % de la capacidad de carga de la LBF de tipo II-LC.

Se dispersaron LBF cargadas con fármaco (1,5 g) en la solución donante durante 10 min (de tiempo -10 min hasta tiempo 0 min) antes de que se iniciara la digestión (en el tiempo 0 min) añadiendo lipasa recombinante inmovilizada en microesferas de polímero (Novozyme 435®; 750 mg (tipo II-LC y IIIB-LC) o 50 mg (tipo IV)). La digestión de lípidos dio como resultado la liberación de AGL, lo que provocó una caída en el pH. La caída de pH se compensó por la adición equimolar de NaOH por la bureta automática. Los experimentos de digestión se realizaron durante 90 min a menos que se terminaran prematuramente debido a daños en la membrana, como se indica a continuación. Se tomaron muestras de ambas cámaras para (i) determinar la distribución del fármaco en las diferentes fases presentes en el intestino y (ii) determinar la transferencia de masa del fármaco a través de la membrana de absorción.

Se realiza un experimento estándar durante 90 minutos. Cualquier daño a la membrana dará como resultado un incremento del pH en la cámara donante debido a la mezcla de la solución donante y la solución de absorción. Un incremento del pH de este tipo se usa como marcador *in situ* de la membrana de absorción dañada e indica en qué momento se debe terminar el experimento.

Se realizó la digestión de las LBF cargadas con fármaco en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* y se comparó con la digestión realizada con el protocolo estándar en un recipiente de digestión de cámara única que no incluía una membrana de absorción que separa una cámara donante y una cámara receptora, véase [1-4]. Se añadió la misma cantidad de LBF cargadas con fármaco a la cámara única en los experimentos de control que a la cámara donante del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro*.

Durante la digestión de las LBF cargadas con fármaco, la concentración del fármaco en la solución donante puede ser mayor que la solubilidad aparente del fármaco. Esto significa que el sistema está sobresaturado. La tasa de sobresaturación (TS) se puede calcular de acuerdo con la ecuación 1:

$$\text{Proporción de sobresaturación} = (\text{concentración de fármaco solubilizado}) / (\text{solubilidad aparente del fármaco}) \quad (1)$$

Un sistema sobresaturado es inestable y, por lo tanto, se producirán precipitaciones. Esto no es deseable, puesto que entonces disminuye la concentración de fármaco solubilizado y se reduce la fuerza impulsora para la absorción.

En presencia de una membrana de absorción y una cámara receptora, la absorción del fármaco proporciona una vía alternativa a la precipitación de fármaco durante el estado sobresaturado, dando como resultado, de este modo,

concentraciones de fármaco menores en la solución donante, menor sobresaturación y aparición del fármaco en la cámara receptora.

Se realizaron los siguientes experimentos:

- Se digirieron las LBF en blanco, es decir, sin ningún fármaco, y se determinó la solubilidad aparente del danazol en diferentes puntos temporales.
- Se digirieron las LBF cargadas con danazol en un recipiente de la técnica anterior [1-4] sin la presencia de una membrana de absorción y una cámara receptora. Se determinó la concentración acuosa de danazol en diferentes puntos temporales para calcular la TS.
- Se digirieron las LBF cargadas con danazol en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con los modos de realización. Se determinó la concentración acuosa de danazol, es decir, en la solución donante, en diferentes puntos temporales para calcular la TS. Además se determinó la aparición de danazol en el receptor.

Las figs. 3A-5C ilustran los resultados de los experimentos. En estas figuras, las figs. 3A, 4A y 5A ilustran la concentración de danazol en la solución donante (concentración acuosa) frente al tiempo en ausencia (cuadrados) y presencia (triángulos) de una membrana de absorción y una cámara receptora. Las figs. 3B, 4B y 5B ilustran la tasa de sobresaturación (TS) frente al tiempo en ausencia (cuadrados) y presencia (triángulos) de una membrana de absorción y una cámara receptora. Finalmente, las figs. 3C, 4C y 5C ilustran la transferencia de masa de danazol a través de la membrana de absorción a lo largo del tiempo en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con los modos de realización.

El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con los modos de realización dio como resultado una concentración acuosa y TS menores de danazol en comparación con el recipiente de la técnica anterior. Para la formulación IIIB-LC, se observó una TS mayor después de 60-90 min de digestión en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con los modos de realización. Esto podría resultar de un cambio en la capacidad de solvatación, es decir, la capacidad del sistema para mantener el danazol solubilizado. Además del danazol, se pueden absorber productos de digestión, tales como AGL o sales biliares, lo que puede cambiar la capacidad de solvatación.

Los niveles de sobresaturación menores obtenidos de acuerdo con los modos de realización en comparación con la técnica anterior indicaron que el danazol reside en una fase diferente a la fase acuosa de la solución donante. De hecho, las figs. 3A-5C también muestran que, además de la digestión, se puede vigilar la absorción en la cámara receptora. Por lo tanto, el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con los modos de realización capta todos los procesos dinámicos que ocurren en el intestino después de la administración de las LBF.

## EXPERIMENTO 2

El presente experimento comparó la eficacia de transferencia de masa de un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con los modos de realización con placas Transwell y  $\mu$ Flux.

### Procedimientos

Se usó danazol micronizado suspendido en tampón de lipólisis (pH 6,5) complementado con 2,24 mg/ml de fluido intestinal simulado en estado de ayuno (FaSSIF) en polvo en el compartimento donante de las tres configuraciones. Se añadió al tampón amarillo lucifer 10  $\mu$ M, que se usó como marcador paracelular para comprobar la integridad de la monocapa. Se usó SSEH que contenía seroalbúmina bovina al 4 % en el compartimento receptor para asegurar las condiciones del sumidero. Se tomaron muestras del lado de receptor para determinar las concentraciones de danazol con espectrometría de masas y la señal de fluorescencia de amarillo lucifer con un lector de placas.

### Dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro*

Se cultivaron células Caco-2 en elementos de inserción de Transwell (75 mm de diámetro) y se montaron en el dispositivo dando como resultado un área de superficie de 28,27 cm<sup>2</sup>. El compartimento receptor contenía 180 ml y el donante 60 ml. Se usó un agitador magnético para mezclar el tampón en el compartimento receptor y una hélice agitadora para mezclar el tampón en el compartimento donante.

### Placa Transwell

Se cultivaron células Caco-2 en elementos de inserción en placas Transwell de 12 pocillos (área de superficie 1,12 cm<sup>2</sup>). Las placas Transwell se usan típicamente para estudios de absorción *in vitro*. El experimento se realizó a 37 °C a 500 rpm con 400  $\mu$ l de tampón en el donante y 1,2 ml de tampón en el lado de receptor.

*μFlux*

μFlux se desarrolló por Pion Inc. para combinar las pruebas de disolución con estudios de permeación usando el perfilador μDISS. Los compartimentos donante y receptor se mantuvieron a 37 °C y típicamente contenían 15 ml de tampón. Se cultivaron células Caco-2 en placas Transwell y se colocaron entre los compartimentos dando como resultado una superficie de 0,78 cm<sup>2</sup>. Se usó agitación magnética para mezclar tanto en el compartimento donante como en el receptor. El perfilador μDISS permitió la vigilancia de la concentración *in situ* con sondas de fibra óptica. Como parte del danazol se une a la SAB en el compartimento receptor, las sondas ópticas no se pudieron usar para determinar las concentraciones totales en el compartimento receptor. Por lo tanto, se determinaron las concentraciones de danazol con espectrometría de masas.

## Resultados

Los valores de permeabilidad aparente (Papa) proporcionan información sobre la integridad de la membrana. Todos los experimentos incluidos dieron como resultado una curva lineal de fracción absorbida frente al tiempo para el amarillo lucifer que indica un flujo constante a través de las membranas y la presencia de células. Los valores de Papa se muestran en la tabla 1.

Tabla 1 - Papa de amarillo lucifer para los tres dispositivos sometidos a prueba

|                                                                   | Papa (x10 <sup>-6</sup> cm/s) |
|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Dispositivo de disposición intestinal de fármacos <i>in vitro</i> | 2,19                          |
| Placa Transwell                                                   | 1,00                          |
| μFlux                                                             | 39,37                         |

La alta Papa para el experimento de μFlux indicó una fuga apreciable cuando se usó esta membrana en el μFLUX. Para permitir una comparación directa del transporte transcelular de danazol en las tres configuraciones diferentes, se corrigió la transferencia de danazol para los valores de Papa de amarillo lucifer, véase la fig. 6.

La transferencia de masa fue más alta para el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro*. Se espera que el flujo relativamente alto en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* en comparación con el μFlux resulte de (i) una proporción menor del volumen de la cámara donante con respecto al área de la membrana de absorción, (ii) una proporción menor del volumen de la cámara donante con respecto al volumen de la cámara receptora y (iii) una agitación mejorada y, por ende, un espesor reducido de la capa de agua sin agitar contigua a las células. Otro hallazgo fue que las células, cuando se montaron en el μFlux, tenían una integridad de membrana reducida, como se muestra a través de los valores de Papa mayores para el amarillo lucifer en el μFlux que en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro*. Se espera que la diferencia entre el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* y las placas Transwell resulte, entre otras cosas, de la diferencia en la homogeneización de la suspensión. Se colocaron las placas Transwell en una placa de agitación para evitar la sedimentación, mientras que se usó una hélice agitadora para el dispositivo de disposición de fármacos *in vitro*. El danazol micronizado se puede haber depositado en la membrana de absorción, evitando la permeación en las placas Transwell. Las placas Transwell se usan típicamente para estudiar la absorción intestinal de compuestos en solución y no están diseñadas para realizar estudios de disolución-permeación.

## EXPERIMENTO 3

Se ha demostrado previamente que la digestión *in vitro* de tres formulaciones a base de lípidos cargadas con fenofibrato en el recipiente de lipólisis estándar no podía predecir la exposición al plasma *in vivo* de fenofibrato en cerdos de raza Landrace. Los perfiles de concentración plasmática frente al tiempo, obtenidos después de la administración oral de las tres formulaciones, fueron similares, mientras que la exposición al fenofibrato en la fase acuosa predijo una exposición apreciablemente menor al fenofibrato con una formulación de tipo IV (fig. 8A, símbolos blancos) [5, 6].

Se repitieron los experimentos de digestión con estas formulaciones en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* para evaluar la capacidad del dispositivo para predecir la exposición *in vivo* de fenofibrato.

## Procedimientos

Se usaron células Caco-2 cultivadas en filtros de policarbonato (tamaño de poro de 0,45 μm, diámetro de 75 mm) como membranas absorbentes en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de los modos de realización. Después de un período de cultivo de tres semanas, se extrajeron las membranas de absorción del Transwell y se montaron entre las dos cámaras del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro*. El diámetro de la abertura entre las dos cámaras fue de 6 cm dando como resultado una superficie de absorción de 28,27 cm<sup>2</sup>.

La forma cónica de la cámara donante permitió niveles suficientemente altos de solución donante para vigilar con exactitud la tasa y el grado de digestión usando una sonda de pH acoplada a un sistema de pH-stat. La valoración con una bureta automática con NaOH permitió la determinación de la tasa y el grado de digestión.

En los siguientes ejemplos, se usaron 60 ml de medio de lipólisis como solución donante y contenía Tris-maleato 2 mM,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1,4 mM y NaCl 150 mM complementado con 2,24 mg/ml de fluido intestinal simulado en estado de ayuno (FaSSIF) en polvo a pH 6,5. Esta solución donante en la cámara donante imitó el entorno intestinal. La cámara receptora contenía 180 ml de solución salina equilibrada de Hank (SSEH) complementada con seroalbúmina bovina (SAB) al 4 % a pH 7,4 como solución de absorción para imitar la sangre.

El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* y las condiciones usadas en los siguientes ejemplos dieron como resultado una proporción del volumen de la solución donante con respecto al área de la membrana de absorción de 2,1 ml/cm<sup>2</sup> y una proporción del volumen de la solución donante con respecto al volumen de la solución de absorción que imita la sangre de 1/3.

En el experimento se usaron tres LBF cargadas con fármaco. La primera LBF era de tipo IIIA-MC y consistía en lípidos, es decir, un 40 % (p/v) de Miglyol y tensioactivos, es decir, un 20 % (p/v) de Cremophor RH y un 40 % (p/v) de TWEEN® 85. La segunda LBF era de tipo IIIA-LC y consistía en lípidos, es decir, un 40 % (p/v) de aceite de oliva y tensioactivos, es decir, un 20 % (p/v) de Cremophor RH y un 40 % (p/v) de TWEEN® 85. La tercera LBF era de tipo IV y solo contenía tensioactivos, es decir, un 35 % (p/v) de Cremophor RH y un 67 % (p/v) de TWEEN® 85. Se cargaron las tres LBF con fenofibrato. Se cargaron todas las LBF con la misma cantidad de fármaco (80 mg de fenofibrato/g de LBF).

Se dispersaron LBF cargadas con fármaco (1,5 g) en la solución donante durante 10 min (de tiempo -10 min hasta tiempo 0 min) antes de que se iniciara la digestión (en el tiempo 0 min) añadiendo lipasa recombinante inmovilizada en microesferas de polímero (Novozyme 435®; 750 mg). La digestión de lípidos dio como resultado la liberación de AGL, lo que provocó una caída en el pH. La caída de pH se compensó por la adición equimolar de NaOH por la bureta automática. Los experimentos de digestión se realizaron durante 90 min a menos que se terminaran prematuramente debido a daños en la membrana, como se indica a continuación. Se tomaron muestras de ambas cámaras para (i) determinar la distribución del fármaco en la fase acuosa del medio de digestión y (ii) determinar la transferencia de masa del fármaco a través de la membrana de absorción.

Se realiza un experimento estándar durante 90 minutos. Cualquier daño a la membrana dará como resultado un incremento del pH en la cámara donante debido a la mezcla de la solución donante y la solución de absorción. Un incremento del pH de este tipo se usa como marcador *in situ* de la membrana de absorción dañada e indica en qué momento se debe terminar el experimento.

Se realizó la digestión de las LBF cargadas con fármaco en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* y se comparó el porcentaje de fenofibrato en la fase acuosa con los datos de la literatura obtenidos con el protocolo estándar en un recipiente de digestión de cámara única que no incluía una membrana de absorción que separa una cámara donante y una cámara receptora.

## Resultados

En consonancia con los hallazgos del estudio previo, las concentraciones acuosas en la cámara de digestión predijeron una exposición significativamente mayor tras la administración de una formulación de cadena media de tipo IIIA y de cadena larga IIIA que tras la administración de la formulación de tipo IV (fig. 8A). Sin embargo, la transferencia de masa de fenofibrato fue similar para las tres formulaciones (fig. 8B), prediciendo una exposición *in vivo* similar de fenofibrato después de la administración de cadena media IIIA, cadena larga IIIA y IV (fig. 8C).

## EXPERIMENTO 4

La cámara donante del dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* en el experimento 1 y 2 tenía forma de cono para optimizar la proporción del área de superficie de absorción con respecto al volumen donante (AN), mientras se alcanzaban niveles suficientemente altos de medio de digestión que permitían las mediciones y la valoración del pH. Los procedimientos *in vitro* actualmente disponibles que combinan estudios de disolución/liberación y permeación (i) proporcionan valores de A/V pequeños (0,04-0,22 cm<sup>-1</sup>) y (ii) no permiten la evaluación de procesos intestinales complejos, incluyendo la digestión [7-9]. La A/V (0,47 cm<sup>-1</sup>) en el dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* en el experimento 1 y 2 fue alta y permitió la medición del grado de digestión así como la transferencia de masa mientras se mantenían las condiciones de sumidero. Se seleccionó inicialmente el volumen actual en la cámara donante (60 ml) para obtener una proporción del volumen donante con respecto al volumen receptor de 1:3, que se usa comúnmente en estudios de permeación [10]. Sin embargo, este volumen se puede disminuir hasta 20 ml, lo que daría como resultado una A/V de 1,41 cm<sup>-1</sup>, que refleja más estrechamente el intestino delgado humano (1,9-2,3 cm<sup>-1</sup>) [11].

Los modos de realización descritos anteriormente se han de entender como unos pocos ejemplos ilustrativos de la presente invención. Se entenderá por los expertos en la técnica que se pueden realizar diversas modificaciones, combinaciones y cambios en los modos de realización sin apartarse del alcance de la presente invención. En particular, se pueden combinar diferentes soluciones parciales en los diferentes modos de realización en otras configuraciones, cuando sea técnicamente posible. Sin embargo, el alcance de la presente invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

#### REFERENCIAS

- 10 [1] Pharmaceutical Research 2014, 31(12): 3426-3444
- [2] Pharmaceutical Research 2016, 33(4): 970-982
- [3] European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2007, 67: 96-105
- [4] Journal of Pharmaceutical Sciences 2012, 101(9): 3360-3380
- [5] Advanced Drug Delivery Reviews 2016, 101: 167-194
- 15 [6] European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2014, 86(3): 427-437
- [7] Pharmaceutical Research 2003, 20(10): 1674-1680
- [8] Journal of Pharmacy and Pharmacology 2005, 57(12): 1565-1573
- [9] Tsinman and Tsinman, Degree and Extent of Supersaturation of amorphous Pharmaceuticals and Their Flux through Lipophilic Membranes, 2016 AAPS Annual Meeting & Exposition, November 13-17, 2016, Denver, CO, U.S. (<http://abstracts.aaps.org/Verify/AAPS2016/PosterSubmissions/34W0300.pdf>)
- 20 [10] Nature Protocols 2007 2(9): 2111-2119
- [11] Biopharmaceutics and Drug Disposition 2012, 33(7): 378-402
- [12] AAPS PharmSciTech 2016, 17(3): 553-571

## REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* (1) que comprende:

- 5 una cámara donante (2) configurada para comprender una solución donante y que tiene un extremo inferior (18) y un extremo superior (19);  
 una cámara receptora (3) configurada para comprender una solución de absorción; y  
 una membrana de absorción (4) dispuesta entremedias y que separa dicha cámara donante (2) y dicha cámara receptora (3), en la que  
 10 un primer lado principal (5) de dicha membrana de absorción (4) está configurado para estar en contacto con dicha solución donante y  
 un segundo lado principal opuesto (6) de dicha membrana de absorción (4) está configurado para estar en contacto con dicha solución de absorción;  
 una proporción de un volumen interno de dicha cámara donante (2) con respecto a un área de dicho primer lado principal (5) de dicha membrana de absorción (4) es igual o inferior a 3 ml/cm<sup>2</sup>; y  
 15 un área de sección transversal de dicha cámara donante (2) en dicho extremo inferior (18) es mayor que un área de sección transversal de dicha cámara donante (2) en dicho extremo superior (19).

20 2. El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha proporción de dicho volumen interno de dicha cámara donante (2) con respecto a dicha área de dicho primer lado principal (5) de dicha membrana de absorción (4) es igual o inferior a 2,5 ml/cm<sup>2</sup>, y preferentemente igual o inferior a 2,25 ml/cm<sup>2</sup>, y más preferentemente igual o inferior a 2 ml/cm<sup>2</sup>.

25 3. El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que una proporción de dicho volumen interno de dicha cámara donante (2) con respecto a un volumen interno de dicha cámara receptora (3) es inferior a 1, preferentemente igual o inferior a 1/2, y más preferentemente igual o inferior a 1/3.

30 4. El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que un área de sección transversal de dicha cámara donante (2) está disminuyendo de forma continua o gradual desde dicho extremo inferior (18) hacia dicho extremo superior (19).

35 5. El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que

dicha cámara donante (2) es una cámara donante en forma de cono (2); y  
 dicha cámara receptora (3) es una cámara receptora en forma de cilindro (3).

40 6. El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que

dicha cámara donante (2) comprende una primera camisa de fluido (7) configurada para comprender un fluido que tiene una temperatura dentro de un primer intervalo de temperatura; y  
 45 dicha cámara receptora (3) comprende una segunda camisa de fluido (8) configurada para comprender un fluido que tiene una temperatura dentro de un segundo intervalo de temperatura.

50 7. El dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicha membrana de absorción (4) es una membrana semipermeable que comprende una capa celular en dicho primer lado principal (5) de dicha membrana de absorción (4).

8. Un sistema para la disposición intestinal de fármacos *in vitro* que comprende:

un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que

- 55 a) dicha cámara receptora (3) comprende una vía de muestreo (9) configurada para proporcionar acceso a un volumen interno de dicha cámara receptora (3); y  
 b1) dicha cámara donante (2) comprende una vía de muestreo configurada para proporcionar acceso a dicho volumen interno de dicha cámara donante (2); y/o  
 60 b2) dicho dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* (1) comprende una tapa de cámara (10) para dicha cámara donante (2), dicha tapa de cámara (10) comprende una vía de muestreo (11) configurada para proporcionar acceso a dicho volumen interno de dicha cámara donante (2); y

65 un dispositivo de análisis que comprende una sonda de análisis dispuesta en una abertura (12) en dicha tapa de cámara (11) o en dicha vía de muestreo de dicha cámara donante (2).

9. El sistema de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicho dispositivo de análisis es un medidor de pH configurado para medir el pH de dicha solución donante, comprendiendo además dicho sistema un dispositivo distribuidor configurado para distribuir un agente de ajuste del pH en dicha solución donante en respuesta a un cambio de pH de dicha solución donante medido por dicho medidor de pH.

5

10. Un procedimiento de disposición intestinal de fármacos *in vitro* que comprende:

añadir (S1) una sustancia de prueba a dicha cámara donante (2) de un dispositivo de disposición intestinal de fármacos *in vitro* (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que

10

dicha cámara donante (2) comprende una solución donante; y  
dicha cámara receptora (3) comprende una solución de absorción; y

determinar (S2) la concentración de dicha sustancia de prueba y/o un metabolito de digestión de dicha sustancia de prueba en al menos una de dicha solución donante y dicha solución de absorción al menos una vez.

15

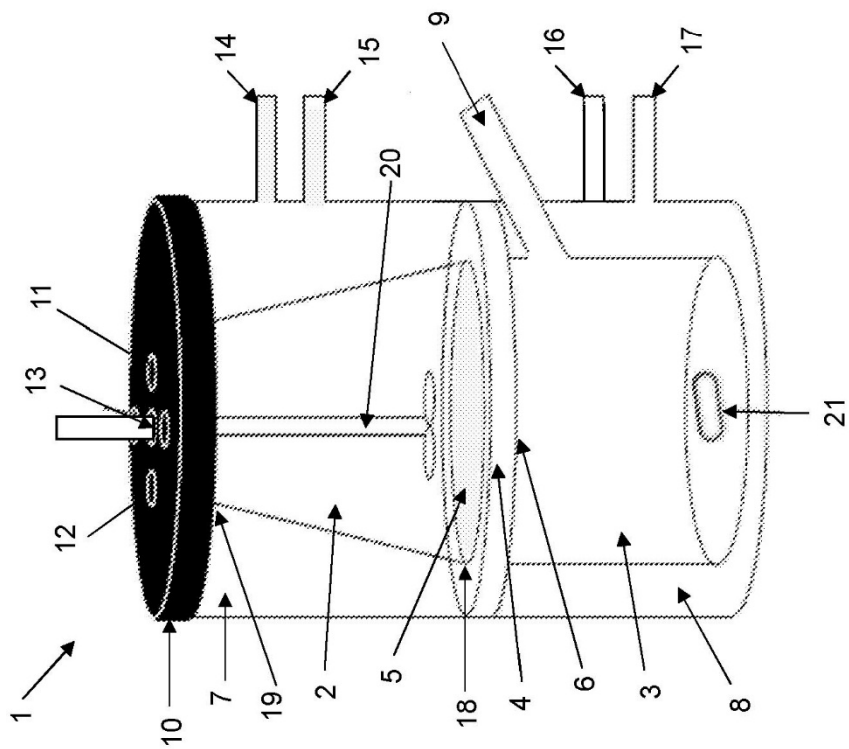


Fig. 1

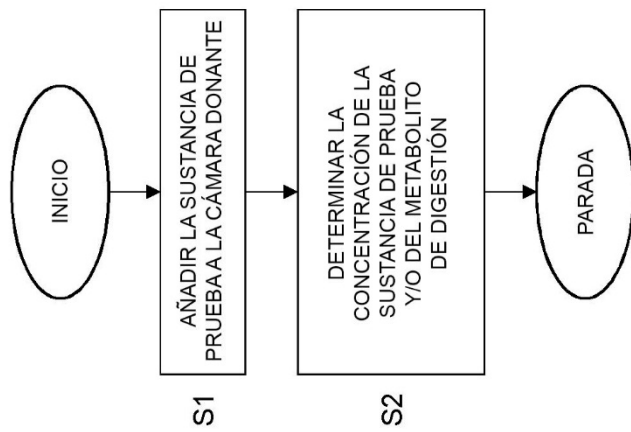


Fig. 2

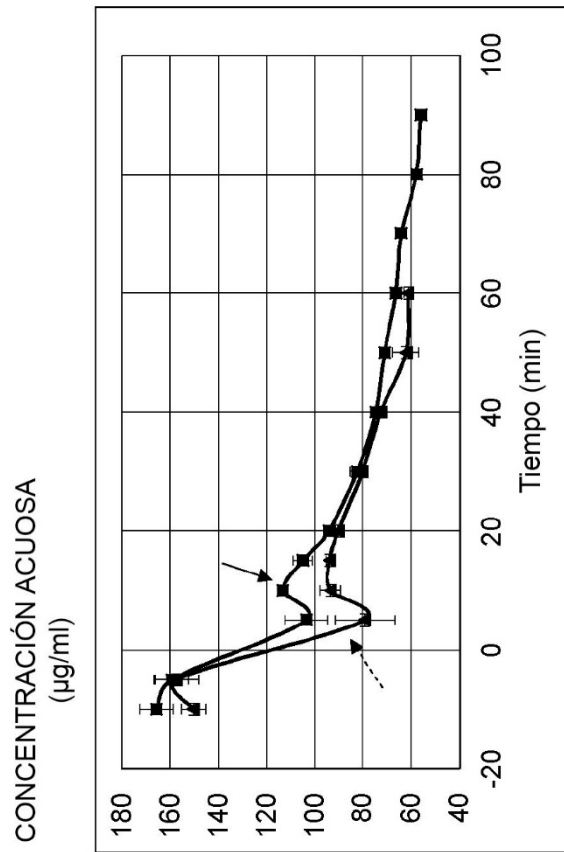


Fig. 3A

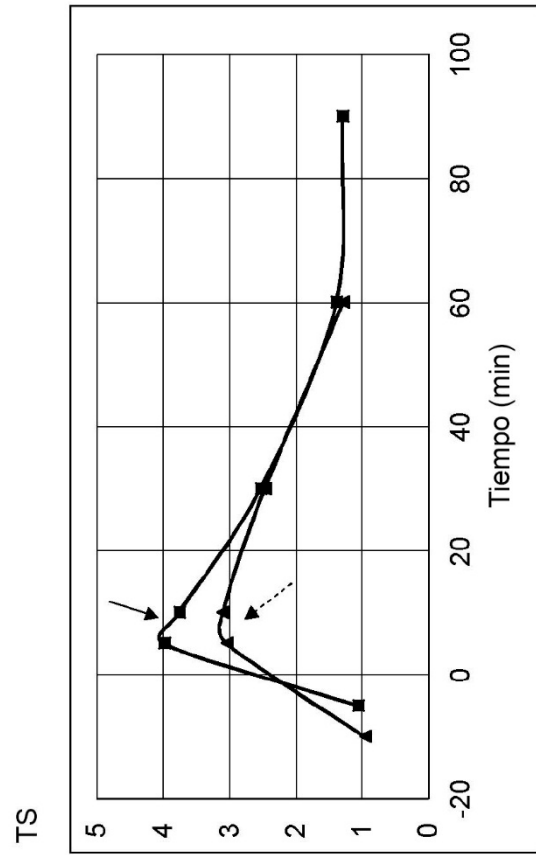


Fig. 3B

TRANSFERENCIA DE MASA  
DE DANZOL ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )

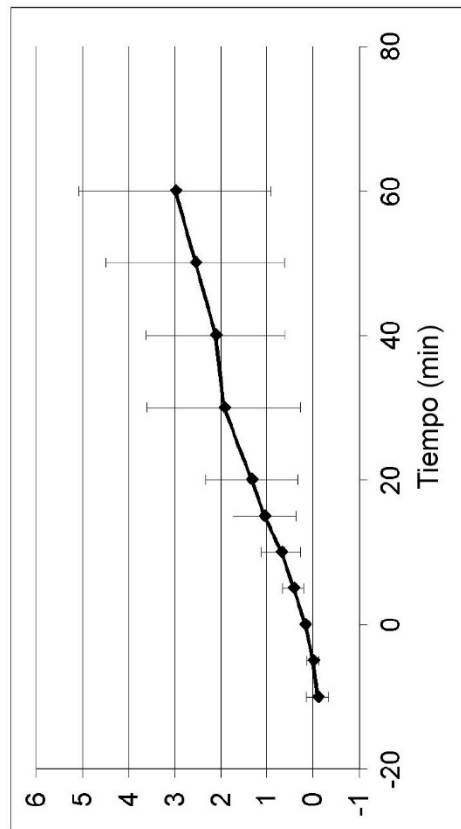


Fig. 3C

CONCENTRACIÓN ACUOSA  
( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

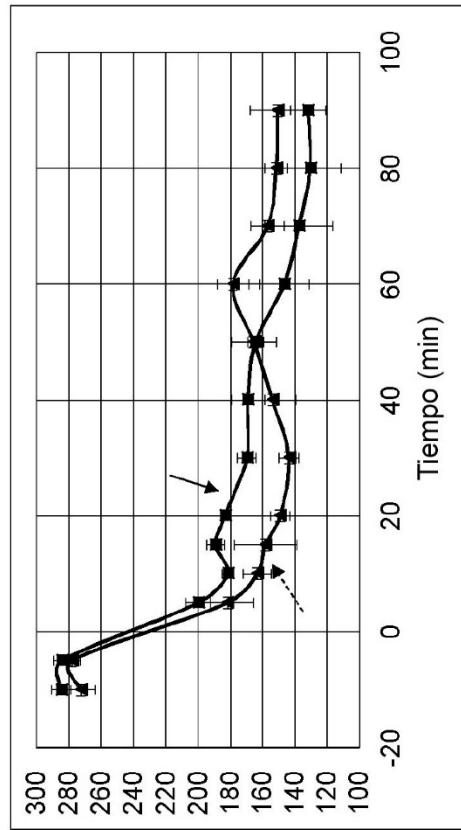


Fig. 4A

TRANSFERENCIA DE MASA  
DE DANZOL ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )

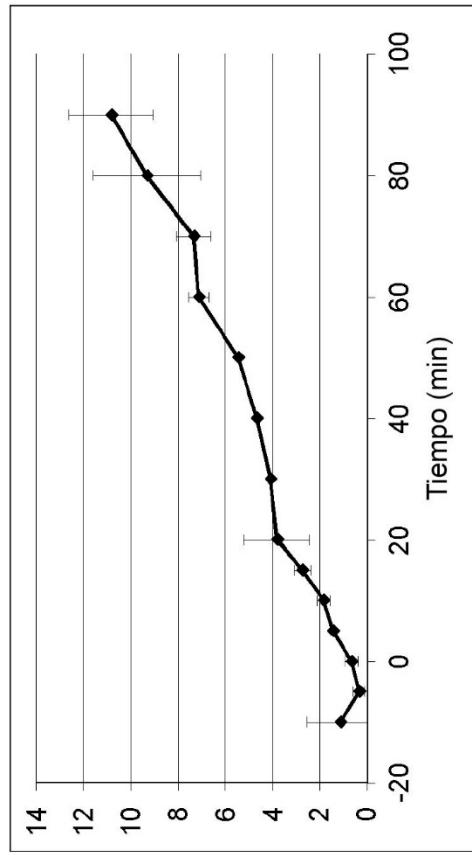


Fig. 4C

TS

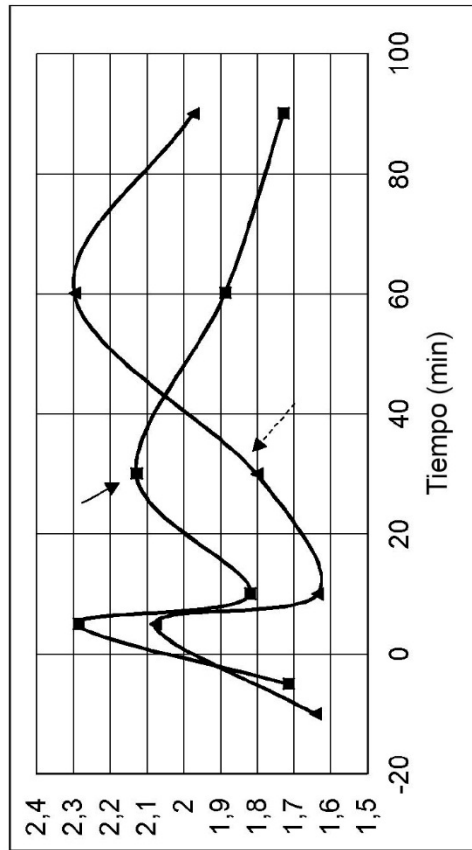
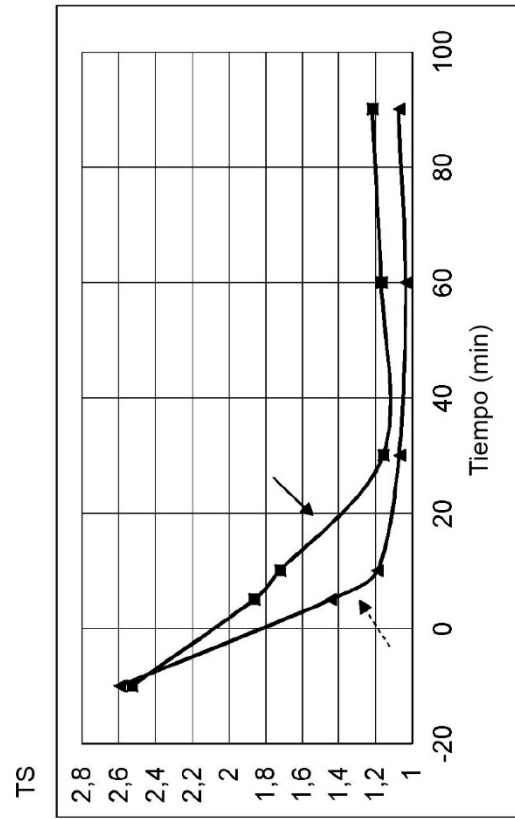
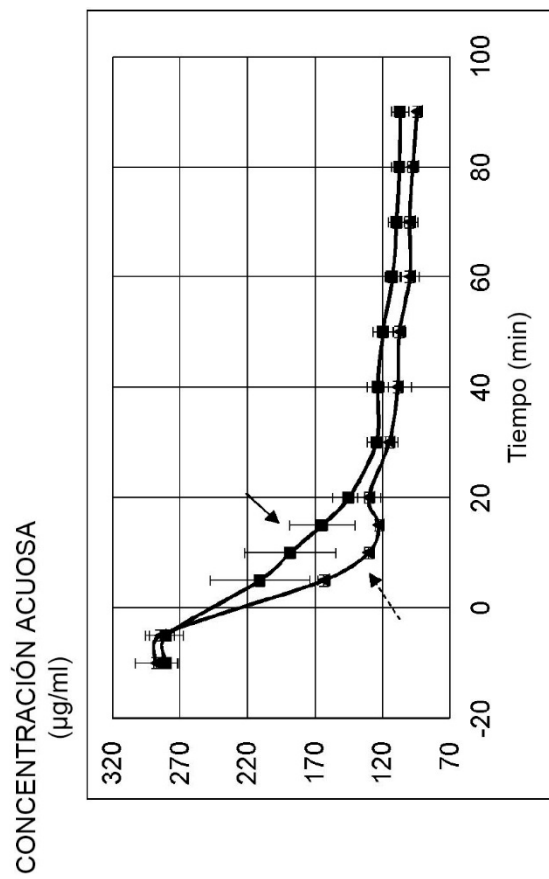


Fig. 4B



TRANSFERENCIA DE DANZOL  
CORREGIDA POR A.L. ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )

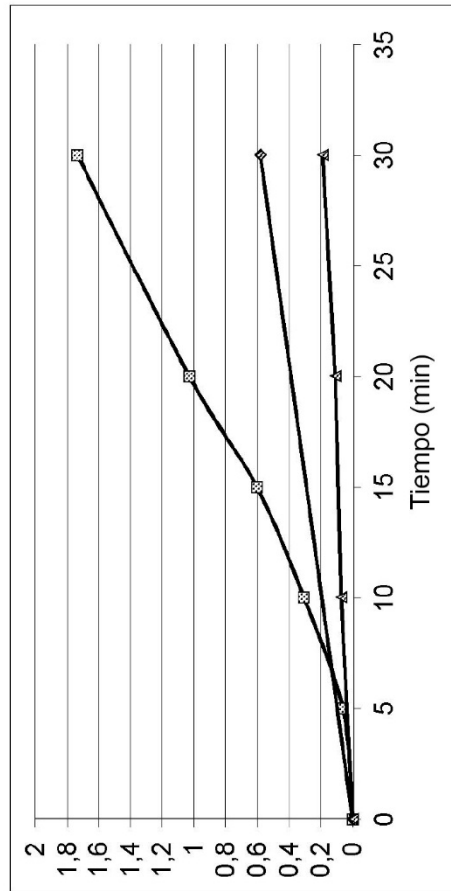


Fig. 6

TRANSFERENCIA DE MASA  
DE DANZOL ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )

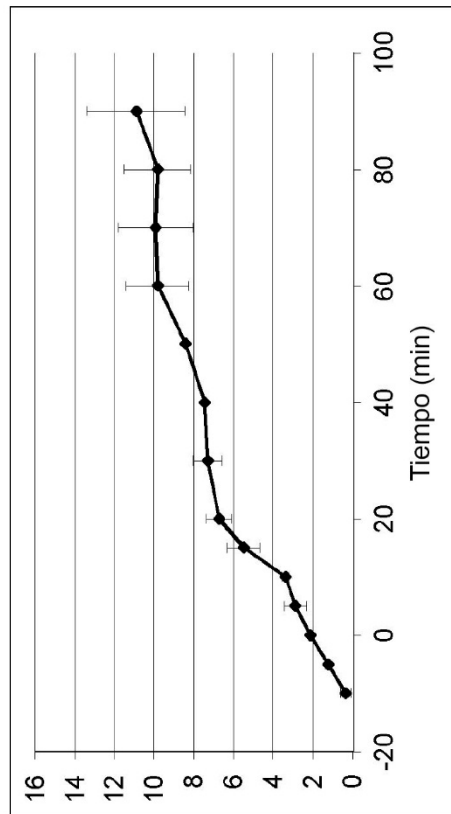


Fig. 5C

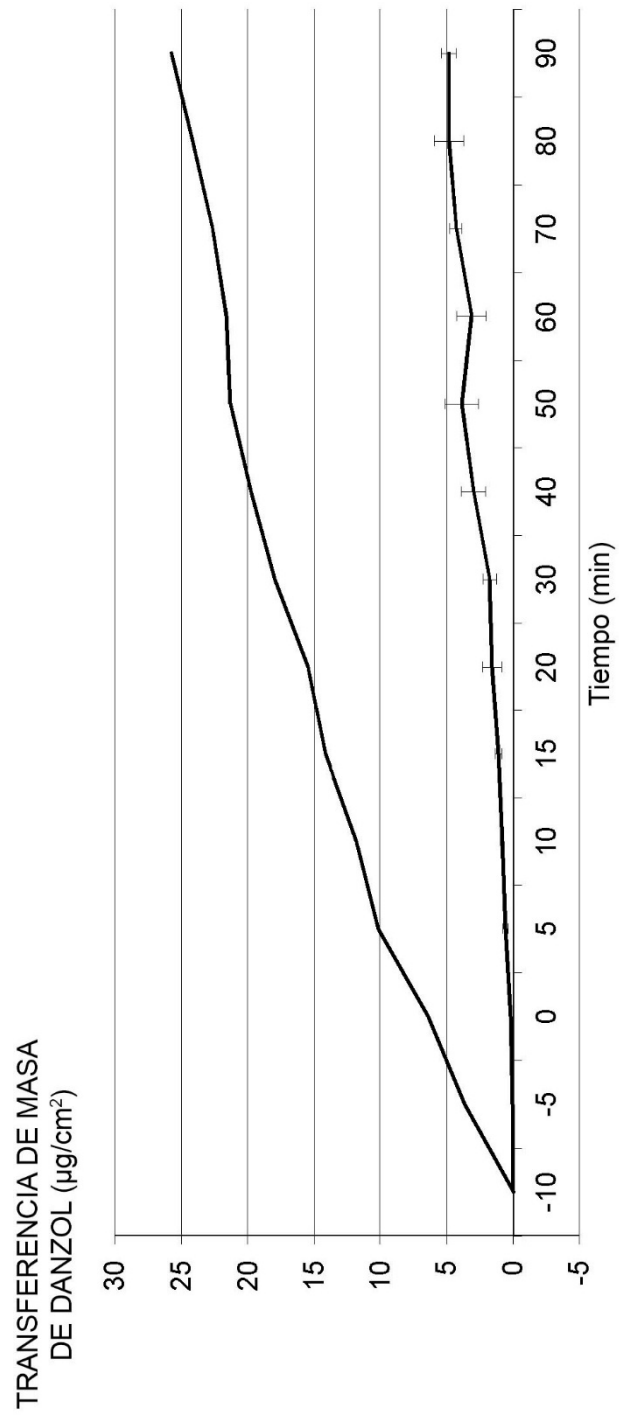


Fig. 7

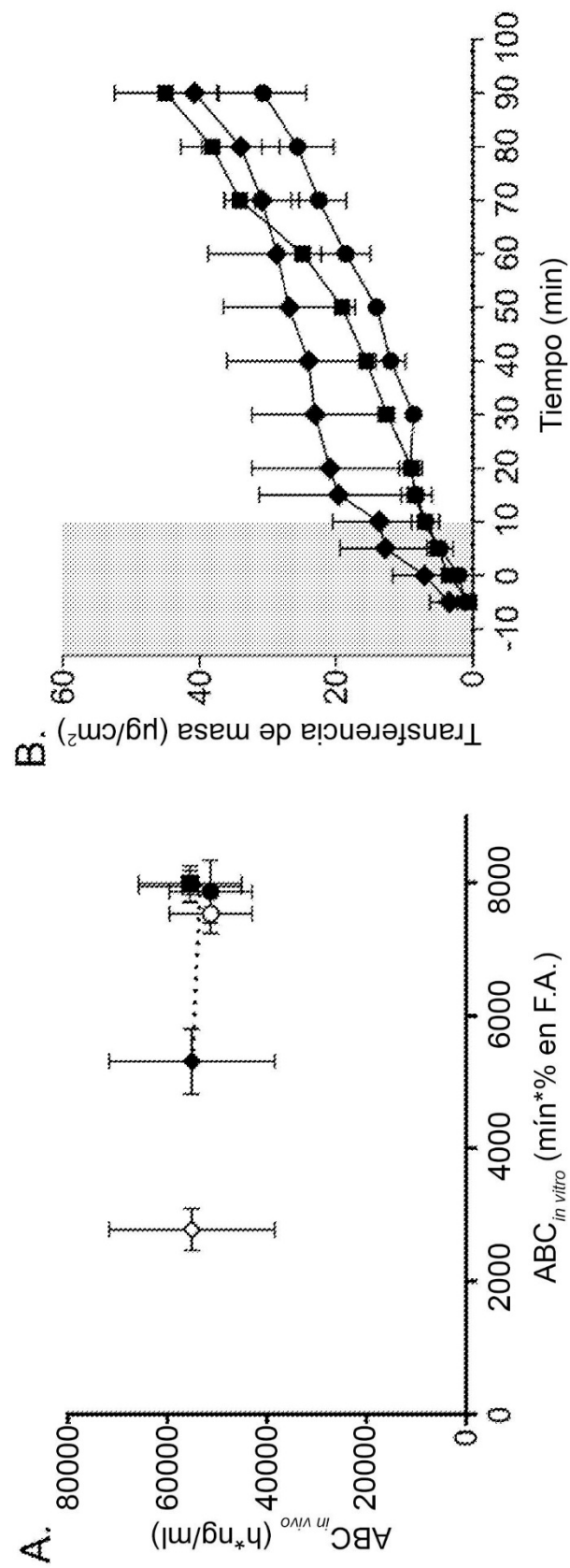


Fig. 8

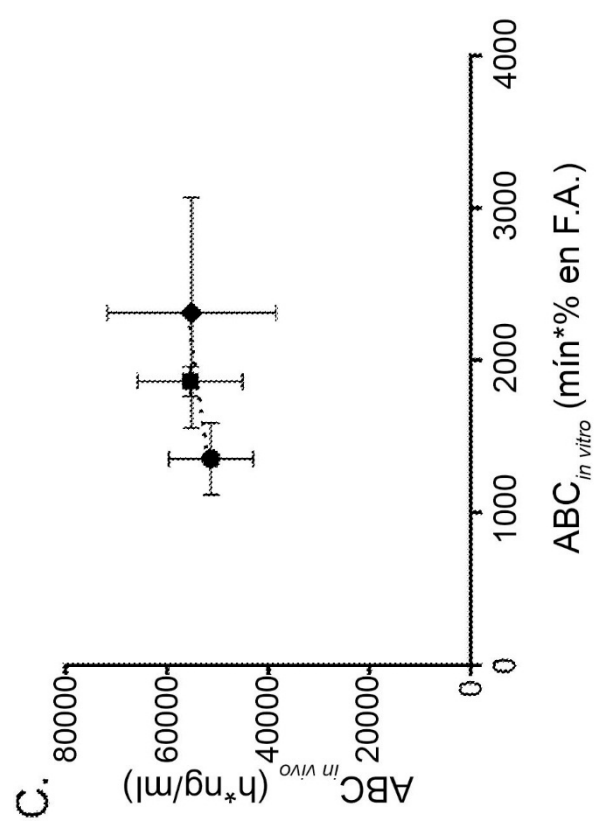


Fig. 8