

Avances en Tecnología Farmacéutica

A. DOMÍNGUEZ-GIL HURLÉ y
A. MARTÍN SUÁREZ

*Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica.
Universidad de Salamanca*

1. INTRODUCCIÓN

La terapéutica farmacológica, por su impacto en el cuidado de la salud y en la prevención de la enfermedad, constituye uno de los avances científicos más relevantes de la segunda mitad del siglo XX. Actualmente, los medicamentos reducen la mortalidad prematura, disminuyen la morbilidad y en el tratamiento de las enfermedades crónicas, mejoran la calidad de vida. Además, han contribuido al progreso de la cirugía y de los trasplantes que han aumentado las expectativas de salud para muchos pacientes (1). Los progresos más recientes y con mayor repercusión se han producido en el tratamiento del SIDA, hepatitis C, cáncer, infarto de miocardio y artritis reumatoide (2).

La terapéutica farmacológica se ha visto favorecida por el progreso científico y el desarrollo tecnológico que se han incorporado progresivamente a la producción de medicamentos durante las últimas décadas, tal como se recoge en la figura 1.

La industria farmacéutica innovadora, mediante el impulso a la investigación básica y clínica, ha promovido el desarrollo del 90% de los medicamentos utilizados en la actualidad, siendo atribuido el 10% restante a diversos organismos públicos de carácter sanitario (3). Para desarrollar esta actividad, los laboratorios farmacéuticos invierten importantes recursos que han llegado a alcanzar en los últimos años, el 18% de sus ventas en EE.UU. y porcentajes algo inferiores en Europa y Japón.

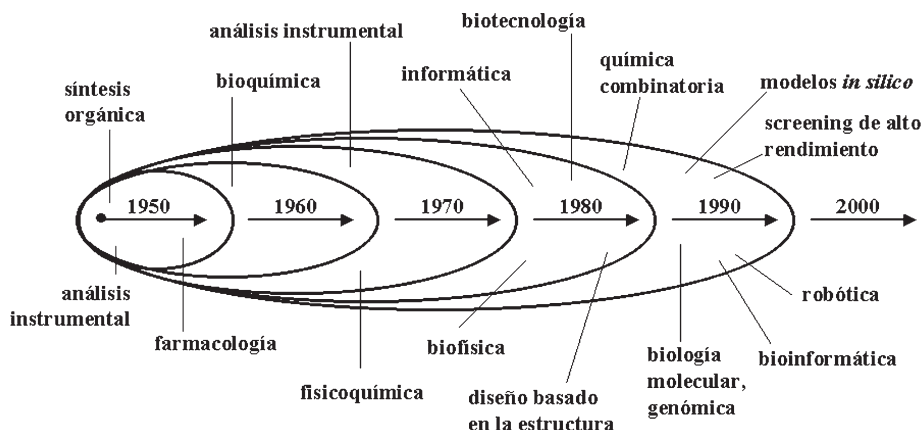


FIGURA 1. La aportación científica al desarrollo y producción de medicamentos en el siglo XX.

Las compañías farmacéuticas de EE.UU. invirtieron en I+D en el año 2002 más de 32.000 millones de dólares, un 7,7% más que en 2001 y tres veces más que en 1990 adquiriendo una posición de liderazgo entre las industrias innovadoras superando incluso a la aeronáutica y electrónica, en las que figuran compañías como Microsoft, Boeing e IBM (4).

El desarrollo de nuevos medicamentos nace de una idea empresarial basada en la existencia de lagunas terapéuticas y en la posible extensión de su uso, a amplias poblaciones de pacientes, basándose en los resultados de estudios epidemiológicos. Sin embargo, el hecho más singular es el desarrollo de una idea innovadora que requiere una importante inversión en tiempo y recursos, tanto humanos como económicos. El objetivo final de estos estudios es poder llegar a establecer la eficacia y seguridad de una nueva alternativa terapéutica, requisito previo a su comercialización y utilización clínica (5).

La figura 2 recoge las diferentes fases implicadas en el desarrollo de nuevos medicamentos. La síntesis química continua representado la mayor fuente de candidatos seguida por la biotecnología y los productos naturales. El *screening* de alto rendimiento y los modelos *in silico* facilitan la selección de sustancias activas, reduciendo sensiblemente los riesgos de fracaso en las siguientes fases del desarrollo. El primero, mediante el uso de sistemas multiensayo automatizados, permite realizar más de

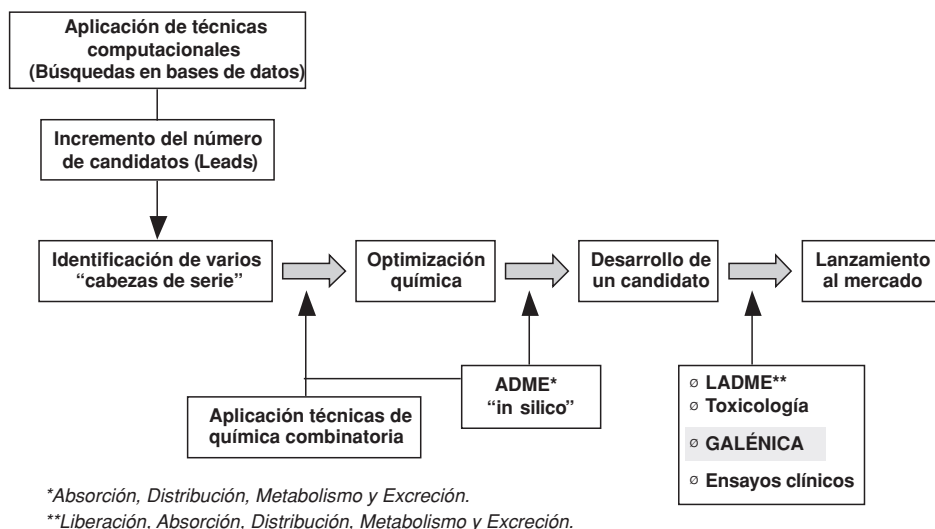


FIGURA 2. Fases del desarrollo de medicamentos en la actualidad.

100.000 pruebas en 2 semanas y detectar simultáneamente diferentes actividades en miles de nuevas sustancias. Los modelos *in silico* utilizan algoritmos que relacionan la estructura química y las propiedades físico-químicas de una molécula con procesos fisiológicos, que permitan predecir su comportamiento farmacocinético *in vivo* mediante el uso de recursos informáticos (6).

Para el desarrollo de un candidato se requiere realizar estudios toxicológicos, establecer la vía y forma de dosificación, así como definir el perfil farmacocinético y la eficacia mediante los ensayos clínicos controlados.

El principal objetivo de la Galénica, denominación ya clásica que engloba a la Tecnología Farmacéutica, es el diseño, fabricación y control de formulaciones farmacéuticas. Éstas se consideran el producto resultante del proceso tecnológico que confiere a los medicamentos las características adecuadas para facilitar su administración, asegurar una correcta dosificación y alcanzar una eficacia terapéutica óptima. Por tanto, los comprimidos, cápsulas, parches transdérmicos, etc. no son simples soportes de principios activos sino que pueden llegar a modular la eficacia terapéutica y la seguridad de uso de los principios activos.

Durante los últimos años se ha producido un importante desarrollo de la formulación farmacéutica que ha permitido mejorar la efectividad y/o seguridad clínica de numerosos medicamentos, especialmente aquéllos indicados en el tratamiento de enfermedades crónicas como las cardiovasculares, psiquiátricas, etc. En ocasiones, las formulaciones farmacéuticas han conseguido prolongar la exclusividad de medicamentos ante la proximidad de caducidad de la patente. En este sentido su aportación ha sido fundamental para el desarrollo de los conocidos como supergenéricos que presentan ventajas, en ocasiones importantes, sobre aquellos fármacos que llegaron a ser importantes innovaciones terapéuticas. Es éste, el caso del MR-4 tacrolimus, una formulación de liberación controlada del agente inmunosupresor cuya patente caducará en 2007 (7). La aparición de los medicamentos biotecnológicos ha planteado la necesidad de incorporar nuevas formulaciones farmacéuticas que permitan superar algunas de las limitaciones que presentan los péptidos y proteínas para su utilización clínica. Finalmente, algunas estrategias terapéuticas nuevas como la terapia celular, la interferencia ARN o bloqueo génico post-transcripcional y la terapia génica, obligan a tomar en consideración las posibilidades que ofrecen las formulaciones farmacéuticas desarrolladas a partir de la micro y nanotecnología y de la microfabricación (8).

2. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y BIOFARMACÉUTICAS DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS

«It is now almost a century since Overton and Meyer first demonstrated the existence of a relationship between the biological activity of a series of compounds and some simple physical property common to its members»

PJ TAYLOR*

La actividad biológica de un fármaco está condicionada, principalmente, por dos factores: la estructura química, que determina la actividad intrínseca o potencia y la capacidad para alcanzar el lugar de acción, descrita por su perfil farmacocinético.

* Taylor PJ. Hydrophobic properties of drugs. In: Hansch C, Sammes PG, Taylor JB. Comprehensive Medical Chemistry 1990; 4: 241-94.

La fabricación de medicamentos exige disponer de principios activos de calidad contrastada que respondan a las exigencias recogidas en el Drug Master File (DMF), en las Farmacopeas o en otras disposiciones oficiales en materia de medicamentos, cuando ello sea necesario. En este sentido, es oportuno citar el contenido de la directiva 75/318 CEE que hace referencia a la caracterización de principios activos farmacéuticos y que está recogida en la figura 3.

- | | |
|---|------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> ➤ Identificación: nomenclatura y descripción (estado físico, peso molecular) ➤ Fabricación: descripción del proceso ➤ Control de calidad de la síntesis: materias primas e intermedios ➤ Desarrollo químico: <ul style="list-style-type: none"> – Estructura química – Propiedades físico-químicas: solubilidad, polimorfismo, solvatación – Desarrollo analítico ➤ Impurezas: tipo de impurezas, estudios toxicológicos ➤ Especificaciones del principio activo: <ul style="list-style-type: none"> – Características físicas (color, tamaño, etc.) – Identificación, límites de contenido – Límites de impurezas ➤ Análisis de lotes | <p><i>Directiva 75/318/CEE</i></p> |
|---|------------------------------------|

FIGURA 3. Caracterización de principios activos (75/318 CEE).

Debe destacarse la importancia que concede esta disposición, de ámbito europeo, a las propiedades físico-químicas como la solubilidad, el polimorfismo, la solvatación, el estado físico, tamaño de partícula, etc. Algunas de estas propiedades, no siempre consideradas en las Farmacopeas, pueden tener impacto sobre la producción industrial de los medicamentos y sobre su perfil terapéutico, por lo que deben analizarse cuidadosamente (9).

La figura 4 recoge un esquema de la interrelación de diferentes propiedades de los principios activos y la dependencia de un parámetro de importancia clínica, la biodisponibilidad, con su posible repercusión en la eficacia y/o toxicidad de los medicamentos.

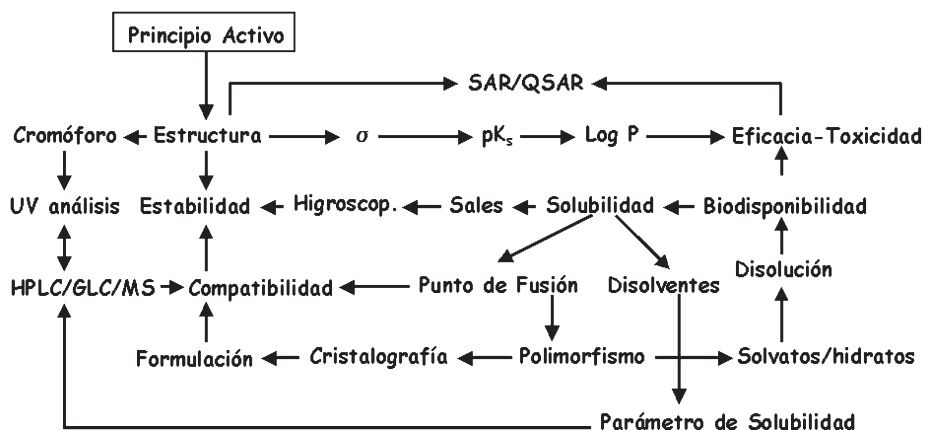


FIGURA 4. Interrelación de diferentes propiedades de los principios activos.

Las propiedades físico-químicas de los principios activos constituyen, sin duda, un elemento esencial en el desarrollo de formulaciones farmacéuticas destinadas a la administración de medicamentos por vía oral. JB Dressman* señalaba acertadamente: «*The physical chemical properties of a compound have a strong influence on its dissolution in the gastrointestinal tract, and hence on whether or not dissolution will be the rate limiting step to its absorption*».

La absorción gastrointestinal está condicionada por: la solubilidad (que limita la concentración de un fármaco que puede encontrarse en disolución y la velocidad a la que las moléculas se disuelven), el carácter ácido/base (que define la carga de las moléculas en disolución a un determinado pH), la lipofilia (que cuantifica la distribución de una molécula entre las fases oleosas y acuosas de los componentes orgánicos) y la permeabilidad (que determina la facilidad con la que las moléculas atraviesan las membranas que separan los compartimentos corporales) (10-12).

Cuando se inicia el desarrollo de un nuevo fármaco, los estudios de preformulación ponen, con frecuencia, de manifiesto diversos problemas relacionados con las propiedades físico-químicas del principio activo. Entre ellos destacan los siguientes (13):

* Dressman JB. Dissolution testing as a prognostics tool for oral absorption immediate dosage forms. Pharm Res 1998; 15: 11-22.

1. La solubilidad del principio activo en fluidos biológicos es demasiado baja, lo que impide una velocidad de disolución adecuada para alcanzar su lugar de acción.
2. El coeficiente de reparto del principio activo es demasiado bajo, o demasiado alto, para facilitar una rápida transferencia de las moléculas a través de las capas alternativas acuosas y lipídicas, que constituyen las membranas biológicas.
3. El principio activo presenta una baja permeabilidad, lo que dificulta su absorción gastrointestinal, o su acceso a órganos y tejidos con transporte selectivo.
4. El fármaco presenta una baja estabilidad química en los fluidos biológicos antes de alcanzar el lugar de acción, lo que limita su utilidad clínica.
5. El fármaco puede sufrir una degradación metabólica por sistemas enzimáticos en la luz intestinal, en la superficie de la mucosa, en el plasma o en el hígado, antes de alcanzar la circulación sistémica. Es el efecto de «primer-paso», cuyas consecuencias pueden comprometer la eficacia clínica.
6. El fármaco presenta unas características organolépticas desagradables, como el olor o el sabor, que pueden conducir a un rechazo por el paciente, lo que se asocia al incumplimiento de la prescripción y al posible fracaso terapéutico.
7. El fármaco presenta un margen terapéutico estrecho que requiere un estricto seguimiento durante el tratamiento.
8. El fármaco puede presentar efectos tóxicos cuya frecuencia y magnitud pueden incrementarse cuando su uso es inadecuado (ej.: dosis incorrecta, interacciones, etc.).

Estos problemas deben ser cuidadosamente valorados durante la preformulación para adoptar las decisiones más convenientes con el fin de asegurar una estabilidad y biodisponibilidad óptimas del principio activo en la formulación farmacéutica seleccionada.

La biodisponibilidad es un parámetro farmacocinético que expresa la capacidad de acceso de los fármacos incorporados a una formulación a la circulación sistémica. Generalmente no se modifica con la dosis y per-

manece constante en el curso de un tratamiento, aunque está condicionada por factores fisicoquímicos, farmacéuticos y fisiopatológicos, cuyo efecto debe ser analizado (14).

La figura 5 recoge la relación entre el valor del área bajo la curva concentración sérica-tiempo (ABC), representativo de la exposición de un fármaco al organismo y, por tanto, de la biodisponibilidad y la respuesta clínica definida por una variable subrogada o final (15).

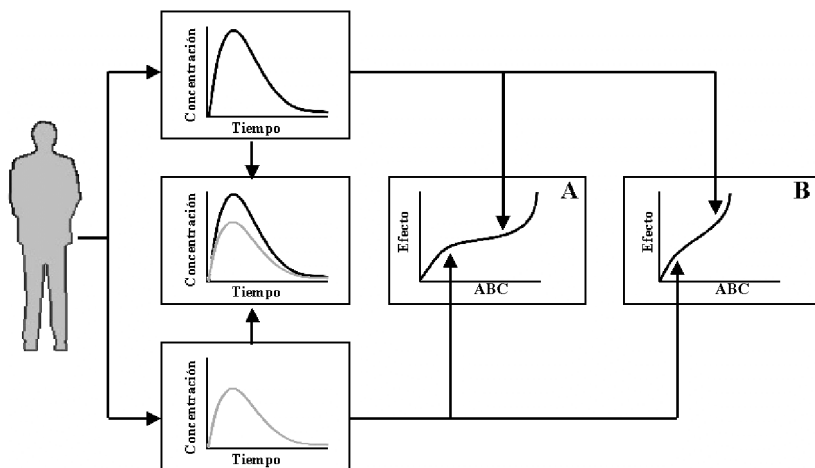


FIGURA 5. Efecto del cambio en la biodisponibilidad en la eficacia clínica de los medicamentos.

En el caso A, en el que no se producen cambios significativos en la respuesta al modificar el valor del ABC, los cambios en la biodisponibilidad van a tener escasa relevancia clínica. Sin embargo en el caso B, pequeñas variaciones en el valor de ABC pueden llegar a tener una importante repercusión en la evolución clínica del paciente.

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB) agrupa los fármacos en función de su solubilidad acuosa y permeabilidad intestinal cuando se combinan con la información de disolución *in vitro*, el SCB toma en consideración, por tanto, tres factores fundamentales: solubilidad, permeabilidad y velocidad de disolución, factores que controlan la velocidad y extensión de la absorción de fármacos incorporados a formulaciones de liberación inmediata (16, 17). La figura 6 muestra una re-

presentación del SCB incluyendo algunos ejemplos representativos. Esta clasificación ha sido adoptada, primero, por la FDA y en 1998 por la EMEA, siendo de gran utilidad no sólo en el desarrollo preclínico de nuevos medicamentos sino también en la planificación de estudios de bioequivalencia a partir de las relaciones *in vivo/in vitro* y para el diseño de las formulaciones farmacéuticas (18).

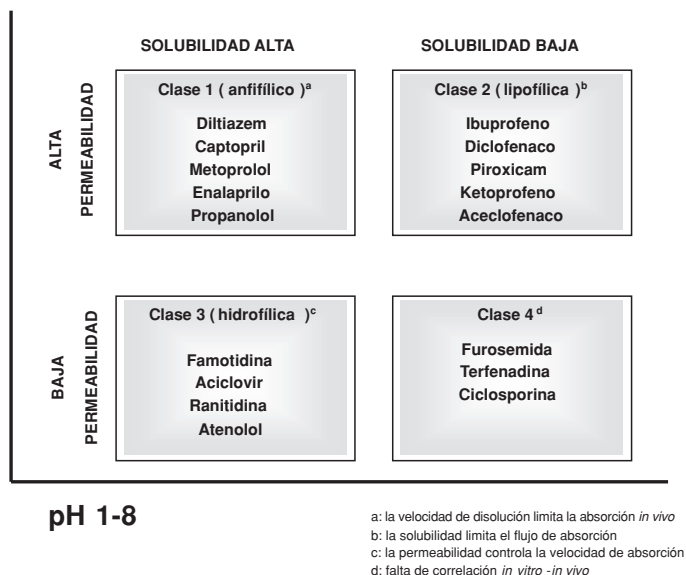


FIGURA 6. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB).

Lobenberg y Amidon (19) han establecido la relación entre dosis, características de disolución, solubilidad y absorción de fármacos utilizando tres parámetros adimensionales:

1. *Número de dosis (Do)*: es la relación de la dosis y la cantidad de fármaco que podría disolverse en 250 mL de fluido al pH de más baja solubilidad entre pH=1 y 8.
2. *Número de disolución (Dn)*: es la relación entre el tiempo de tránsito en el intestino delgado y el tiempo necesario para su disolución, el cual incluye la solubilidad (Cs), difusión (D), densidad (p) y radio inicial de partícula de la molécula.

3. *Número de absorción (An)*: relaciona el tiempo de tránsito respecto al tiempo necesario para completar la absorción en el intestino delgado.

La figura 7 representa el esquema seguido con la utilización de estos parámetros en la predicción de la absorción de medicamentos por vía oral. Nuestro grupo ha estudiado un modelo *in silico*, GASTROPLUS® (<http://www.simulations-plus.com>), para la predicción de absorción de medicamentos que se administran por vía oral a partir de D_o , D_n y A_n (20).

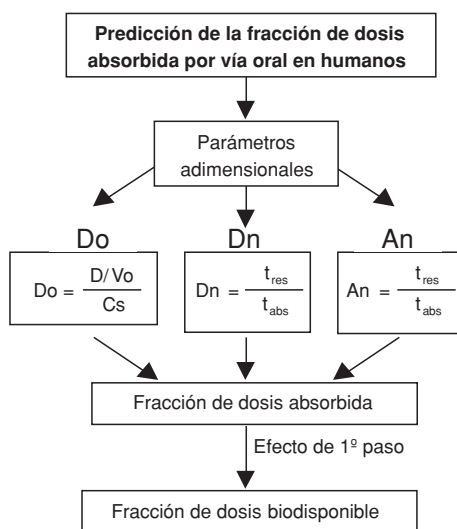


FIGURA 7. Predicción de la absorción oral de medicamentos.

Ibuprofeno, piroxicam, ketoprofeno, etc., están incluidos, de acuerdo con su solubilidad y permeabilidad, en la clase II con otros fármacos que presentan baja solubilidad y alta permeabilidad. Según Dressman*: «*The rate of dissolution of the drug was almost certain to be the principal limitation to its oral absorption for class II drugs*». Para estos fármacos, el valor de su hidrosolubilidad es bajo y por ello también presentan un valor de D_n bajo, ya que este índice está indirectamente relacionado con

* Dressman JB. Dissolution testing as a prognostics tool for oral absorption immediate dosage forms. *Pharm Res* 1998; 15: 11-22.

el tiempo de disolución y, en este caso, este valor es alto. En estas condiciones, la velocidad de disolución del fármaco *in vivo* es el factor limitante de su absorción. Los estudios de velocidad de disolución *in vitro* deberán, por tanto, estudiar el perfil de disolución de la curva representativa del proceso. Es posible obtener correlaciones *in vivo/in vitro* si la velocidad de disolución *in vitro* es similar al proceso *in vivo*. Ello facilita la optimización en el proceso de preformulación de aquellos medicamentos que se administran por vía oral.

La figura 8 recoge una de las pantallas de la aplicación GASTROPLUS® (destinada a la evaluación de la Ranitidina, la cual, por su número de absorción, tiene una importante limitación en su biodisponibilidad por vía oral.

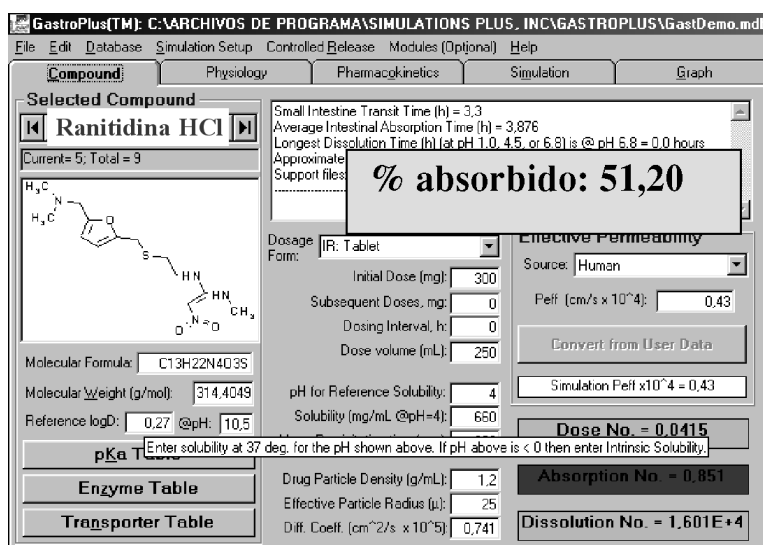


FIGURA 8. Aplicación del sistema GASTROPLUS® a Ranitidina.

Recientemente se ha desarrollado diverso software para los modelos *in silico* con diferentes aplicaciones como la predicción de diferentes parámetros y procesos cinéticos: absorción y distribución (GRID), lipofilia y pKa (PALLAS) y metabolismo con el sistema experto MetabolExpert LADMES (QiKProp) (21).

3. MODIFICACIÓN DE LA BIODISPONIBILIDAD POR VÍA ORAL

Numerosos principios activos, de indudable valor terapéutico por su elevada actividad intrínseca, pueden presentar importantes limitaciones para su utilización clínica por sus características biofarmacéuticas y farmacocinéticas, especialmente por su baja biodisponibilidad. Ello puede afectar a los 5 parámetros que definen una respuesta terapéutica: 1. Magnitud del efecto terapéutico con el tiempo; 2. Probabilidad de obtener una respuesta clínica significativa; 3. Probabilidad de distribución del tiempo de iniciación del efecto; 4. Probabilidad de distribución de la supresión del efecto; y 5. Probabilidad de distribución de la duración del efecto (22).

Para mejorar la biodisponibilidad de los principios activos puede recurrirse a diferentes estrategias según sea la disolución o la permeabilidad de los factores limitantes, tal como se recoge en la figura 9. Entre los primeros puede recurrirse a modificar algunas características físico-químicas del principio activo o a optimizar la formulación mediante la aplicación de la Tecnología Farmacéutica.

Cuando la permeabilidad es el factor limitante se plantean mayores dificultades aunque se han conseguido algunos progresos con el uso de

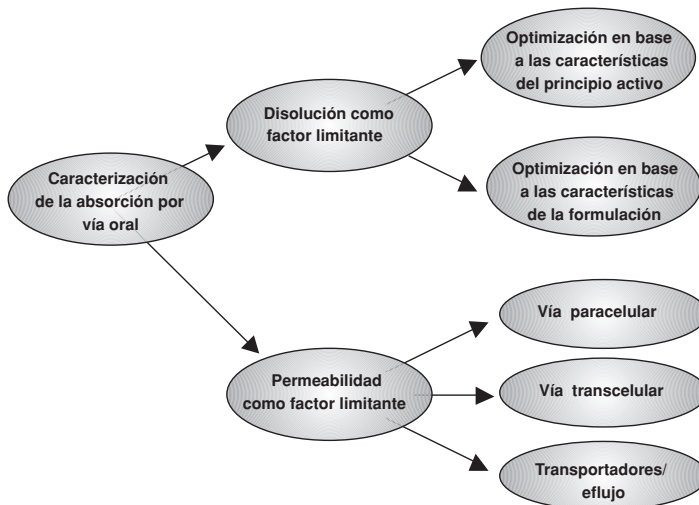


FIGURA 9. Estrategias dirigidas a mejorar la absorción gastrointestinal de fármacos con problemas de biodisponibilidad.

sistemas bioadhesivos, promotores de absorción o incorporando inhibidores de las «bombas de eflujo» y concretamente de la P-glicoproteína (23, 24).

Cuando las modificaciones químicas no son factibles, los cambios en las propiedades físico-químicas del principio activo o en la formulación pueden incrementar la biodisponibilidad por vía oral. Una de las soluciones más interesantes consiste en mejorar la solubilidad de un fármaco escasamente soluble en agua mediante la formación de sales solubles o recurriendo a la selección del polimorfo más adecuado y a determinados enantiómeros o utilizando otras estrategias, de base físico-química, aportadas por la Tecnología Farmacéutica (25-27).

3.1. Sales farmacéuticas

«Salt formation is a means of altering the physical, and biological characteristics of a drug without modifying its chemical structure»

DONAL C. MONKHOUSE, 1997*

El cambio de un ácido o base libre a la forma de sal es uno de los mecanismos utilizados para modificar las propiedades físico-químicas y biológicas de una sustancia sin cambiar su estructura química (28, 29).

El cambio en la estructura cristalina, que se produce con la formación de sales, puede tener los siguientes efectos: incrementar la solubilidad en agua de las sustancias con grupos ácidos o bases libres y mejorando su biodisponibilidad, mejorar la estabilidad física o química de los componentes ácidos, favorecer los procesos de purificación de principios activos y facilitar las operaciones de manipulación industrial de los medicamentos ácidos o básicos.

La selección de las sales farmacéuticas requiere la realización de diferentes estudios que confirmen su idoneidad no sólo por una mayor solubilidad sino también por diversas propiedades como higroscopicidad, estabilidad, polimorfismo, etc. Tal como se recoge en la figura 10 (30).

* Central Research, Pfizer Inc. Groton, CT. (EE.UU).

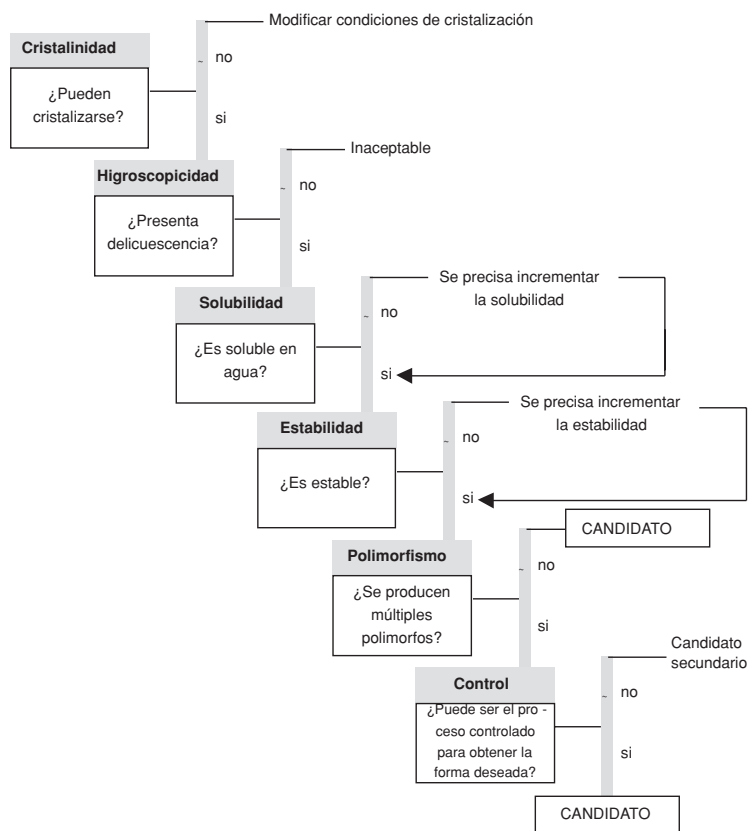


FIGURA 10. *Árbol de decisión en la selección de sales farmacéuticas.*

El uso de las sales farmacéuticas exige un conocimiento de las consecuencias que pueden derivarse en sus propiedades físico-químicas y biológicas (31). Entre ellas hay algunas muy significativas:

1. Algunas sales de principios activos modifican significativamente la velocidad y duración de la respuesta (p.ej. ibuprofeno-arginina, penicilina-procaína, etc.). Estas diferencias pueden ser críticas para las indicaciones establecidas.

2. Las diferentes sales de un mismo principio activo pueden presentar distinta intensidad del efecto farmacológico (p.ej. la reformulación del propoxifeno al comprobarse que el napsilato tiene mayor potencia y más larga duración del efecto analgésico que el clorhidrato).

3. Las diferentes sales de un mismo principio activo pueden presentar diferente biodisponibilidad. Así, el agente vasodilatador naftidrofuriolo presenta una mayor biodisponibilidad cuando se administra como citrato que como oxalato.

4. Algunos aniones y cationes están asociados a determinados efectos tóxicos. Así los aniones tartrato, los cuales son habitualmente poco absorbidos por vía oral, pueden provocar nefrotoxicidad si alcanzan altas concentraciones en la circulación sistémica.

5. Diferentes sales de un mismo principio activo pueden presentar distinta capacidad para producir irritación esofágica o gástrica (p.ej., el efecto irritante del clorhidrato de alprenolol puede provocar ulceración esofágica, mientras que el benzoato de alprenolol no tiene este efecto.

6. Una determinada sal puede afectar a la estabilidad del principio activo. Por ejemplo, las sales de ácidos minerales, como clorhidratos, sulfatos y metansulfonatos son altamente polares. Los grupos polares ionizados localizados en la superficie de los cristales favorecen la humectación y promueven la higroscopicidad. Ello puede ser causa de degradación de fármacos sensibles a los procesos hidrolíticos.

La selección de la sal apropiada es un factor importante durante las fases iniciales del desarrollo de un nuevo fármaco y cualquier cambio en el anión o catión requiere la realización de estudios preclínicos y clínicos que aporten la evidencia científica necesaria (32).

3.2. Estado cristalino: desarrollo de polimorfos

Muchos compuestos orgánicos son capaces de adoptar una forma amorfa o bien una o más formas cristalinas, con diferentes disposiciones espaciales de las moléculas en la red cristalina; y a estas formas cristalinas se las conoce como polimorfos. Dos polimorfos de un mismo compuesto pueden ser tan diferentes en estructura y propiedades como dos compuestos químicamente diferentes. Los puntos de fusión, las densidades, solubilidades, forma de los cristales, propiedades eléctricas, y los espectros de difracción de rayos X son características que pueden variar con la forma polimórfica (33).

Teniendo en cuenta consideraciones teóricas, las formas amorfas presentan una velocidad de disolución más rápida que las formas cristalinas

y, por lo tanto, en general son mejor absorbidas. Estas consideraciones se basan en las energías relativas involucradas en el proceso de disolución. Un sólido amorfo carece de fuertes uniones entre sus moléculas; las moléculas se distribuyen espacialmente en el sólido de forma aleatoria, por lo que se requiere menos energía que en el sólido cristalino para que se produzca su separación, la cual tiene lugar durante el proceso de disolución. Por otro lado, las técnicas empleadas para la preparación de fármacos en estado amorfo implican generalmente una reducción del tamaño de partícula, lo cual favorece aún más el aumento de la velocidad de disolución de estas formas frente a las cristalinas.

La figura 11 recoge los difractogramas correspondientes a la diacetilmidecamicina amorfa y cristalina y los correspondientes perfiles de disolución. El estado amorfo es predeciblemente inestable, dado que existe una gran tendencia a pasar a un estado termodinámicamente más estable, con una entropía menor, como es el estado cristalino, poco soluble y cuya biodisponibilidad oral es muy baja. Por ello, este macrólido, en estado amorfo, debe ser adecuadamente estabilizado mediante la incorporación de un polímero, habitualmente la carboximetilcelulosa.

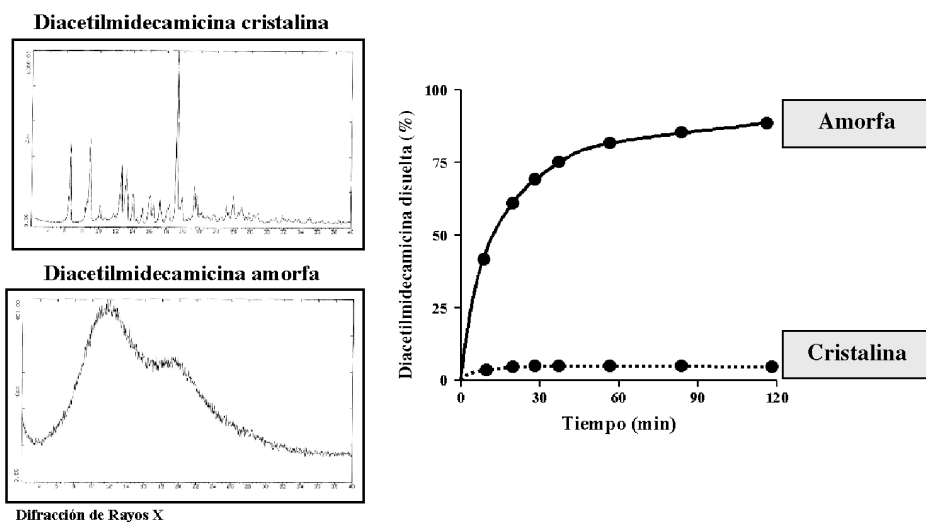
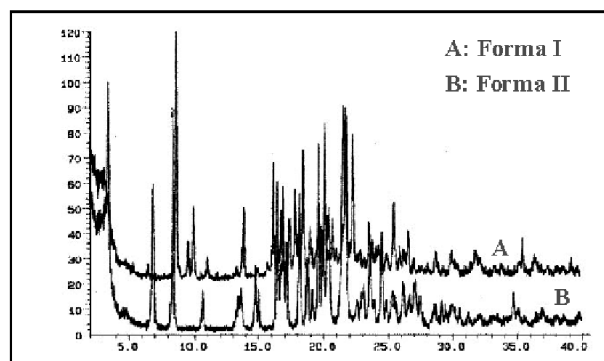


FIGURA 11. Difractogramas y velocidad de disolución de la diacetilmidecamicina amorfa y cristalina (cedido por Laboratorios Menarini, Barcelona).

La existencia de polimorfos es una de las principales fuentes de variación en el comportamiento de la disolución de los fármacos. La influencia del polimorfismo sobre la velocidad de disolución viene determinada por los cambios en la solubilidad de los distintos polimorfos. Uno de los ejemplos mejor conocidos es el caso del ritonavir (Norvir®) por el impacto que ha tenido en su producción industrial, debido al cambio de solubilidad en disoluciones hidroalcohólicas, tal como se aprecia en la figura 12. Aunque la Forma II era inicialmente desconocida, la no conformidad de varios lotes de Norvir® fue la causa de iniciar estudios de polimorfismo para validar el proceso de fabricación (34).



Solubilidad						
Etanol/Agua	99/1	95/5	90/10	85/15	80/20	75/25
Forma I	90 mg/mL	188	234	294	236	170
Forma II	19 mg/mL	41	60	61	45	30

FIGURA 12. Polimorfismo de Ritonavir. Efecto en la solubilidad.

En muchos casos la adecuada selección y preparación del polimorfo apropiado puede incrementar de forma significativa la absorción y el valor terapéutico de los fármacos, particularmente de aquellos que presentan una baja solubilidad.

Debido a las diferencias conformacionales o de empaquetamiento los cristales polimórficos se diferencian en sus propiedades físicas (densidad, dureza, índice de refracción, punto de fusión, entalpia de fusión, solubi-

lidad y velocidad de disolución) y otras propiedades termodinámicas, cinéticas e incluso, el color (35). A presión y temperatura ambiente, un polimorfo puede ser termodinámicamente más estable que otro. En general, se cumple que las formas polimórficas metaestables presentan una mayor solubilidad y, en consecuencia, una mayor velocidad de disolución (36). Además, los polimorfos pueden presentar diferencias en la biodisponibilidad que son de interés para mejorar su rendimiento clínico. La selección de un determinado polimorfo puede permitir prolongar la vida de la patente o ampliarla a otros países.

3.3. Fármacos quirales: desarrollo de enantiómeros

En 1848, Luis Pasteur al lograr la separación, por medios mecánicos, de enantiómeros inicia el estudio de las propiedades físicas y químicas de las moléculas asimétricas. Además, también puede atribuirse a Pasteur la primera evidencia de las diferencias existentes entre distintos isómeros ópticos. En 1858 describe que la forma dextro del tartrato amónico es más rápidamente destruida por el *Penicillium glaucum* que el isómero levo y establece, por primera vez, el papel que desempeña la estereoquímica en los mecanismos que regulan los procesos vitales (9, 37).

Las implicaciones de la estereoquímica en la terapéutica han sido bien establecidas durante las últimas décadas. La mayoría de los sistemas biológicos tienen preferencia por una forma estereoquímica sobre otra, en numerosos procesos bioquímicos. Quizás el ejemplo mejor conocido es el hecho de que, únicamente, los α -aminoácidos son utilizados en la biosíntesis de las proteínas. Las proteínas que están frecuentemente implicadas en los procesos reactivos poseen una estructura tridimensional y establecen interacciones específicas con fármacos quirales, en su denominación actual, término procedente del griego, que significa mano (38, 39).

Los enantiómeros presentan, con frecuencia, características diferenciales que pueden llegar a tener una importante repercusión clínica. A continuación recogemos algunas situaciones de interés en diversos campos de la terapéutica:

1. Toda la actividad farmacológica puede residir en uno de los enantiómeros. Un ejemplo es la α -metildopa que es un fármaco quiral ob-

tenido por síntesis química. Sólo el S-enantiómero de la α -metildopa actúa como sustrato para la aromáticoaminoácido descarboxilasa y produce el efecto antihipertensivo. El R-enantiómero puede ser considerado, en este caso, una impureza isomérica (40).

2. Los enantiómeros presentan efectos farmacodinámicos similares aunque pueden presentar diferente farmacocinética. El esomeprazol, recientemente registrado en España, es un enantiómero que presenta un aclaramiento 3 veces más lento que el omeprazol racémico lo cual tiene implicaciones posológicas. Además, la nueva formulación favorece las condiciones de administración, especialmente en niños, viejos y en pacientes que deben recibir un inhibidor de la bomba de protones por sonda nasogástrica (41).

3. Los enantiómeros pueden tener una actividad farmacodinámica similar aunque con potencias intrínsecas muy diferentes. Ejemplos representativos de esta situación son el propranolol y el verapamilo. El S(-)-propranolol es, aproximadamente 100 veces más potente que el R(+)-propranolol bloqueando la actividad cronotrópica e inotrópica del isoproterenol. La disposición del propranolol es estereoselectiva, ya que el S(-)-propranolol se une en mayor proporción a las proteínas plasmáticas que el R(+)-propranolol. El verapamilo contiene un centro quiral único dando lugar a dos isómeros: R(+)-verapamilo y S(-)-verapamilo. En este caso el metabolismo es estereoselectivo, siendo eliminado preferentemente el S(-)-enantiómero y con mayor permanencia en el organismo el R(+)-enantiómero (42).

4. Ambos enantiómeros pueden tener efectos terapéuticos diferentes como ocurre con el propoxifeno. El dextropropoxifeno es un agente analgésico, mientras el levopropoxifeno, aunque también posee actividad analgésica, es un agente antitusígeno. Otro ejemplo representativo lo constituye el labetalol, que al poseer dos centros quirales posee cuatro isómeros. El isómero R,R-labetalol es un β -bloqueante adrenoreceptor no selectivo, mientras que el isómero R,S-labetalol es un β_1 -bloqueante adrenoreceptor y el isómero S,S-labetalol tiene una actividad farmacológica escasa. El compuesto racémico con la mezcla de los cuatro isómeros, es un agente antihipertensivo con efectos bloqueantes α_1 y β . El desarrollo del isómero R,R-labetalol, para ser utilizado como enantiómero puro, fue interrumpido debido a su hepatotoxicidad (43).

5. El distómero (enantiómero de un compuesto quiral que es menos potente para una acción particular) puede ser responsable de efectos adversos indeseables. En algunos casos, el distómero provoca efectos tóxicos que no son característicos del eutómero (enantiómero de un compuesto quiral que es más potente para una acción determinada). El trágico ejemplo de la talidomida es uno de los casos más representativos de esta situación producida a consecuencia de la quiralidad. La talidomida fue registrada hace más de 40 años como racémico por sus efectos sedantes. El R-enantiómero tiene realmente efecto sedante, mientras que el S-enantiómero posee efectos teratogénicos y fue el responsable de las anomalías fetales sobradamente conocidas. La ketamina es otro ejemplo de esta situación, ya que mientras que la S(+)-ketamina presenta efectos analgésicos y anestésicos, el R(-) distómero produce importantes efectos secundarios, incluyendo agitación y alucinaciones (44).

6. Algunos enantiómeros presentan ventajas terapéuticas evidentes. Durante los últimos años se han registrado diversos enantiómeros que presentaban ventajas significativas respecto a las mezclas racémicas. Algunos ejemplos significativos son el levofloxacino, el S-ketoprofeno, la S-ketamina, el S-ibuprofeno, el R-salbutamol, etc. (45). Las causas más frecuentes para seleccionar un enantiómero es su mayor actividad intrínseca, mayor rapidez de acción y menores efectos adversos.

7. Algunos enantiómeros pueden presentar actividades farmacodinámicas opuestas. En esta situación los componentes de una mezcla racémica presentan efectos opuestos pudiendo predominar uno u otro modificando las condiciones de administración. Los calcioantagonistas derivados de la dihidropiridina han sido desarrollados como racémicos a excepción del nifedipino, que carece de centro quiral (46).

8. Algunos enantiómeros tienen efectos tóxicos. Lamentablemente los dos primeros fármacos desarrollados como isómeros para reemplazar a mezclas racémicas tuvieron que ser retirados por problemas de toxicidad. El dilevalol, un agonista parcial β_2 , es uno de los cuatro isómeros R₁R del labetalol, un $\alpha_1\beta$ -bloqueante que presentó una hepatotoxicidad no detectada con el labetalol, lo que impidió su utilización clínica. Otro ejemplo significativo es el de la fenfluramina, cuyos efectos anoréxicos son debidos, fundamentalmente, al D-isómero, mientras que el L-isómero parece ser responsable de muchos de las reacciones adversas del ra-

cémico. Recientemente, fenfluramina y dexrofenfluramina fueron retirados de su utilización clínica debido a que producían hipertensión pulmonar (40).

3.4. Pseudopolimorfos, formas anhidras y formación de complejos

Las distintas formas cristalinas bajo las cuales puede existir un determinado fármaco pueden venir determinadas, como se ha visto, por el polimorfismo, pero además por la incorporación estequiométrica de disolventes en la red cristalina del fármaco durante el proceso de cristalización, originando los denominados solvatos, o hidratos, cuando el disolvente es el agua. Estas formas cristalinas del fármaco cuando se asocian con moléculas de disolvente se conocen también como pseudopolimorfos (47).

La presencia de moléculas de agua influye en las interacciones moleculares (afectando a la energía interna y entalpía) y en el desorden cristalino. Por ello influyen en la energía libre, actividad termodinámica, solubilidad, velocidad de disolución, estabilidad y biodisponibilidad.

Las formas anhidras de los fármacos presentan una mayor actividad termodinámica que sus correspondientes hidratos, por lo que, consecuentemente, las formas anhidras tienen una mayor solubilidad y una mayor velocidad de disolución que las formas hidratadas y, con frecuencia, una mayor biodisponibilidad. Esta situación se ha producido con amplicilina, teofilina, nitrofuratoína, azitromicina, paracetamol, etc.

La complejación puede definirse como la asociación reversible de moléculas de un substrato con las de un ligando para formar una nueva especie, denominada complejo, que muestra una estequiometría definida y unas propiedades físico-químicas que pueden ser, y en muchos casos lo son, sustancialmente diferentes de las de los compuestos que lo han formado.

Existen muchas posibilidades de formación de complejos, entre los que destacan los de inclusión, que se forman por interacción molecular entre una molécula denominada huésped que se incluye en el interior de otra denominada hospedador (48). Entre los compuestos que pueden actuar como hospedadores están las ciclodextrinas (CD), que por sus ca-

racterísticas estructurales, adecuado tamaño, estabilidad y ausencia de efectos secundarios han alcanzado una notable importancia en los últimos años.

En disolución acuosa, la cavidad interna apolar de las CD está ocupada por moléculas de agua que se encuentran en un estado energético desfavorable (elevada entalpía) por la repulsión polar-apolar. Esto hace que dichas moléculas puedan ser fácilmente reemplazadas por otras presentes en la solución de carácter menos polar y con un tamaño adecuado para adaptarse al interior. Las características que debe presentar un fármaco para formar complejos de inclusión con CD son, pues, el carácter polar y el tamaño adecuado para acceder a su interior (Pm 100-400) (49).

Cuando el complejo CD-fármaco se pone en contacto con un medio acuoso se disocia provocando la liberación del fármaco. La constante de estabilidad del complejo condiciona la cantidad de fármaco libre y, por tanto, la velocidad de absorción en el organismo (50). Además, pueden incrementar la estabilidad química, la solubilidad y la biodisponibilidad (51). La tabla 1 recoge algunos ejemplos de la aplicación de CD en la formulación farmacéutica.

TABLA 1

Ventajas de la formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas

<i>Propiedades farmacéuticas</i>	<i>Ejemplos</i>
Incremento de solubilidad y velocidad de absorción	AINE; inhibidores de la COX2; hormonas esteroídicas; hipoglucemiantes orales; benzodiazepinas citotóxicos...
Inhibición de reacciones químicas de Degradación	Hidrólisis: ácido acetilsalicílico, indometacina Fotodescomposición: fenotiazinas, vitaminas liposolubles, clofibrato, metronidazol... Deshidratación: prostaglandinas E1 y E2
Aumento de la biodisponibilidad	Vía oral: espironolactona, indometacina, ketoprofeno, Ibuprofeno, etc. Vía rectal: indometacina, fenobarbital, etc. Vía transdérmica: prednisona, betametasona, dipropionato de beclometasona, etc. Vía ocular: flurbiprofeno, indometacina, etc.

En definitiva, existen en la actualidad numerosas estrategias dirigidas a modificar la solubilidad de los principios activos utilizados en la fabricación de medicamentos, que no exigen cambios en la estructura química pero que pueden modificar su biodisponibilidad. El desarrollo de profármacos, aunque va asociado a un cambio en la estructura química, debido a su inestabilidad en el organismo, recuperan la estructura original del principio activo y pueden producir cambios en la eficacia, seguridad, facilidad de administración o en la posología de los medicamentos (52).

4. FORMULACIONES DE LIBERACIÓN MODIFICADA

«The pills may pass through the stomach without dissolving, owing to the patient's condition, the composition of the tablet or type of coating»

PROCTOR, 1862

El desarrollo experimentado en los últimos años por la tecnología farmacéutica ha facilitado el diseño y producción de formulaciones farmacéuticas de liberación modificada, que ha permitido mejorar el perfil terapéutico de numerosos medicamentos cuya eficacia y seguridad habían sido previamente establecidas en ensayos clínicos controlados y, posteriormente, contrastados en la práctica clínica. Ello ha sido posible gracias a la introducción de nuevos materiales, especialmente los polímeros biocompatibles, al mejor conocimiento de las características farmacocinéticas y farmacodinámicas de los medicamentos, así como su aplicación a la optimización de la respuesta y al progreso experimentado por las operaciones industriales necesarias para la fabricación de estas formulaciones (53, 54).

El desarrollo de materiales poliméricos biocompatibles se ha producido durante los últimos cincuenta años en un intento de superar las limitaciones de algunas intervenciones médicas, especialmente en cirugía cardiovascular. Actualmente, son numerosos los que se utilizan en los sistemas de liberación modificada de fármacos que se agrupan en: polímeros no degradables [siliconas, copolímeros del óxido de etileno y el acetato de vinilo (EVAc), poliuretanos, etc.]; polímeros biodegradables [poliésteres (polímeros pLGA), copolímeros de metil-vinil éter y anhí-

drido maleico, poliortoésteres, polianhidridos, poliaminoácidos, etc.]; polímeros hidrosolubles (derivados celulósicos, quitosan, dextranos, acrilatos, acrilamidas, polietilenglicoles, etc.).

Los modelos farmacocinéticos-farmacodinámicos relacionan la dosis de fármaco administrada, la concentración alcanzada en fluidos corporales y el efecto farmacológico, expresado como variables clínicas subrogadas o finales de la respuesta. Esta relación puede ser sencilla, como ocurre con los antibióticos, analgésicos, etc. o en ocasiones muy compleja, como es el caso de la eritropoyetina, la hormona del crecimiento, etc. Los primeros modelos se desarrollaron para caracterizar efectos rápidos, directos y reversibles. Posteriormente, se han descrito modelos para fármacos con mecanismos de acción indirectos que dan lugar a un retraso en la respuesta farmacológica. El uso de estos modelos permite hacer predicciones de posibles cambios en la intensidad y duración de la respuesta cuando se modifican las características de una formulación farmacéutica (55).

Los cambios recientes que se han producido en la fabricación industrial de medicamentos se han dirigido principalmente al aumento de la productividad incorporando sistemas automatizados que incluyen, en ocasiones, la robótica y a mejorar la seguridad del producto.

Los objetivos clínicos que se plantean al diseñar una formulación de liberación modificada son, de acuerdo con el *National Prescribing Center* del Reino Unido (2000), los siguientes (56):

- Aumentar el intervalo de dosificación con el fin de mejorar el cumplimiento de la prescripción médica.
- Reducir las fluctuaciones de las concentraciones séricas de los fármacos (C_{\max}/C_{\min}) con objeto de disminuir los efectos adversos y/o mejorar la efectividad terapéutica.
- Controlar el lugar de liberación del fármaco para incrementar su efectividad terapéutica.

Además, algunas formulaciones de liberación controlada pueden mejorar las condiciones de administración como ocurre con los liotabs^(c) de piroxican, fenotidina y rizatriptan, especialmente en pacientes geriátricos o aquéllos que tienen dificultades para la deglución.

4.1. Formulaciones orales

El proceso de liberación de los principios activos desde las formas de dosificación constituye un factor limitante de la absorción de aquellos medicamentos que se administran por vía extravascular. En el caso de las formulaciones orales, la liberación es un proceso previo a la absorción gastrointestinal y puede modificar su biodisponibilidad, tanto en magnitud como en velocidad y, en consecuencia, condicionar la intensidad y duración del efecto terapéutico.

La vía oral es de elección en aquellos tratamientos crónicos que deben ser administrados durante meses o años como, antihipertensivos, hipocolesterolémicos, antiarrítmicos, antipsicóticos, inmunosupresores, antirreumáticos, etc. En este tipo de tratamientos el incumplimiento es un hecho bien conocido aunque su repercusión sanitaria y económica no ha sido suficientemente evaluada (57).

El incumplimiento es responsable de fracasos terapéuticos con progresos de la enfermedad, y en ocasiones, de reacciones adversas de los medicamentos. Ello puede producir una mayor utilización de recursos sanitarios principalmente hospitalizaciones, visitas médicas, precauciones en el seguimiento, tratamientos alternativos, etc. (58).

El denominado efecto de la «primera dosis» se produce con algunos fármacos como antihipertensivos o antipsicóticos y ocasionan reacciones adversas que obligan a adoptar precauciones especiales para mejorar el perfil de tolerancia y asegurar el cumplimiento de la prescripción. Con los antihipertensivos se puede producir hipotensión ortostática, síncope y otros efectos posturales. En estas situaciones, las formulaciones de liberación modificada mejoran la seguridad de uso de los medicamentos.

Las formulaciones orales son también utilizadas en el tratamiento de procesos agudos de gravedad moderada, como muchas infecciones respiratorias que no requieren ingreso hospitalario. Durante la última década, la disponibilidad de medicamentos con elevada biodisponibilidad oral ha promovido su utilización en pacientes hospitalizados y en aquéllos que deben completar el tratamiento en el medio ambulatorio.

La selección de fármacos candidatos para ser incorporados a formulaciones orales de liberación controlada debe estar basada en criterios fí-

sico-químicos, biofarmacéuticos, farmacocinéticos y clínicos. Las características ideales que deben presentar son: semivida de eliminación corta, buena absorción gastrointestinal con escaso efecto de «primer-paso», baja dosificación por alta actividad intrínseca y riesgo de toxicidad asociado a frecuentes oscilaciones de las concentraciones séricas (C_{\max}/C_{\min}).

Para fármacos con una semivida de eliminación ($t_{1/2}$) inferior a 8 horas, las formulaciones de liberación controlada permiten reducir la frecuencia de la administración y mantienen relativamente constantes las concentraciones séricas. Para fármacos con margen terapéutico estrecho, las formulaciones de liberación controlada permiten incrementar la eficacia y reducir las reacciones adversas. El intervalo de dosificación (τ) puede relacionarse con la $t_{1/2}$ y con el margen de concentraciones séricas (C_{\max}/C_{\min}) por la siguiente ecuación:

$$\tau \leq 1.44 \cdot t_{1/2} \ln C_{\max}/C_{\min}$$

Debido a que el proceso de liberación se realiza gradualmente a través del tracto gastrointestinal, el fármaco debe absorberse en un determinado segmento intestinal. Los medicamentos con «ventanas de absorción» pueden ver limitada su capacidad para incorporarse a formulaciones de liberación controlada.

Los fármacos ampliamente metabolizados presentan dificultades adicionales que pueden limitar las ventajas potenciales de estas formulaciones. Si el efecto de «primer-paso» alcanza la saturación con una formulación convencional, su biodisponibilidad puede descender si se alcanza el nivel de no-saturación con la formulación de liberación controlada. Finalmente, se prefieren fármacos con elevada actividad y dosis baja para desarrollar formulaciones que puedan ser ingeridas cómodamente por el paciente.

Un requerimiento básico en este tipo de formulaciones es que el proceso de liberación del fármaco *in vivo* pueda ser predecible. Para ello se requiere conocer los mecanismos implicados en el proceso y la posibilidad de modularlo aplicando principios físico-químicos. Estos mecanismos se agrupan en los siguientes tipos de sistemas: los controlados por disolución, los controlados por difusión, los erosionables con difusión y disolución y los controlados osmóticamente.

Resulta evidente que se puede lograr una baja velocidad de disolución recurriendo a la formación de sales o derivados, utilizando materia-

les de recubrimiento o incorporando a la formulación excipientes que retrasen la velocidad de disolución. Algunas formulaciones de fenilpropranolamina, clorfeniramina, clorpromazina y azetazolamida se diseñaron utilizando sistemas controlados por disolución.

Los sistemas controlados por difusión se caracterizan por utilizar una barrera, habitualmente un polímero insoluble, para controlar el proceso de liberación. En ocasiones, el núcleo de la formulación está recubierto por una membrana semipermeable aunque, más frecuentemente, se recurre a matrices poliméricas a las que se incorpora el fármaco cuya liberación va a ser controlada.

La formulación de principios activos utilizando polímeros hidrofílicos, como los derivados celulósicos o los carbómeros, constituyen una alternativa interesante en las formulaciones de liberación controlada destinadas a la administración por vía oral. La liberación del principio activo a partir de estos sistemas se produce después de un proceso de hidratación de las macromoléculas por erosión de la matriz y disolución-difusión del principio activo.

La figura 13 recoge los perfiles de disolución y la evolución de las concentraciones séricas de claritromicina en una formulación de liberación inmediata y en otra liberación controlada por erosión combinada con difusión y disolución. La claritromicina unidía es una excelente alternativa al tratamiento de las infecciones respiratorias con ventajas farmacocinéticas y farmacodinámicas (59).

Los sistemas terapéuticos gastrointestinales (GITS) están formulados como comprimidos constituidos por un sistema osmótico conocido como «push-pull» que controla la velocidad de salida del fármaco en el lumen gastrointestinal. La velocidad de liberación se ajusta, aproximadamente, a una cinética aparente de orden cero, durante un periodo de 12-16 horas, con objeto de conseguir concentraciones plasmáticas del medicamento relativamente constantes durante un intervalo de dosificación de 24 horas (60).

El comprimido consta de una capa superior «pull» que contiene el fármaco y excipientes osmóticos y una segunda capa «push» formada únicamente por excipientes osmóticos. Ambas capas se unen durante el proceso de compresión para formar un comprimido mononúcleo. Este núcleo está recubierto de una membrana rígida de naturaleza celulósica, permea-

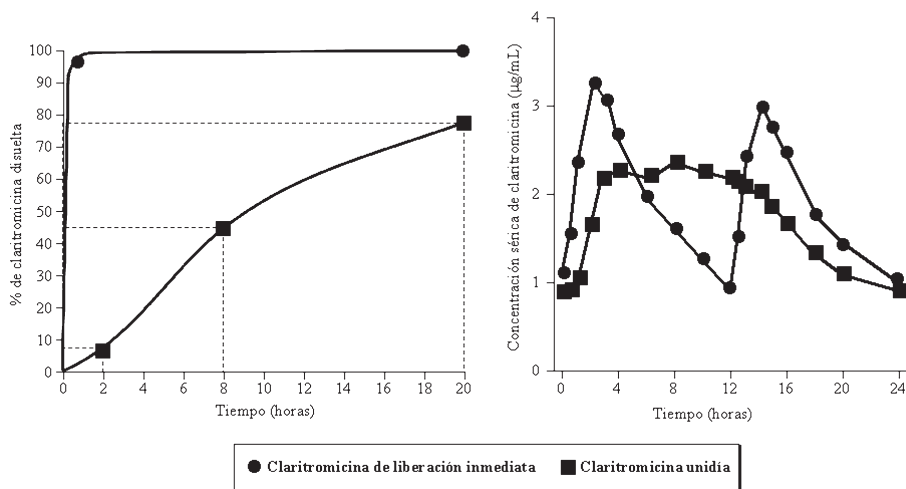


FIGURA 13. Velocidad de disolución y perfil de concentraciones séricas de claritromicina ($\tau = 12$ h) y claritromicina unidosis ($\tau = 24$ h).

ble al agua e impermeable a los iones, al fármaco y a los excipientes osmóticos incluidos en la formulación, que presenta, sobre la capa que contiene el fármaco, un orificio de diámetro perfectamente definido (61).

Cuando el sistema se pone en contacto con un medio acuoso, el agua penetra a través de la membrana, debido a la existencia de un gradiente de presión osmótica a una velocidad constante por la naturaleza de la membrana. En la capa «push» se genera «in situ» una disolución o suspensión de fármaco micronizada, mientras que en la capa «pull» los excipientes osmóticos, de naturaleza polimérica, se empiezan a expandir. Como consecuencia de la expansión de la capa «pull» la suspensión del fármaco se expelle a través del orificio perforado en la cubierta. El volumen del sistema permanece esencialmente constante durante este proceso, de forma que la velocidad de liberación del fármaco se hace igual a la velocidad a la cual el agua difunde a través de la membrana. Por este mecanismo los fármacos se liberan de forma continua cuando el comprimido GITS progresa a lo largo del tracto gastrointestinal (60).

En definitiva, estas formulaciones han sido diseñadas para proporcionar tasas de liberación de fármaco independientes de la erosión, desintegración, pH o motilidad del tracto gastrointestinal, ya que es debida fundamentalmente a un proceso osmótico a través de la membrana semipermeable. El

control de estos factores para la doxazosina, un antihipertensivo α -adrenérgico, ha sido demostrado mediante estudios de disolución *in vitro* y en estudios farmacocinéticos que se recogen en la figura 14 (60).

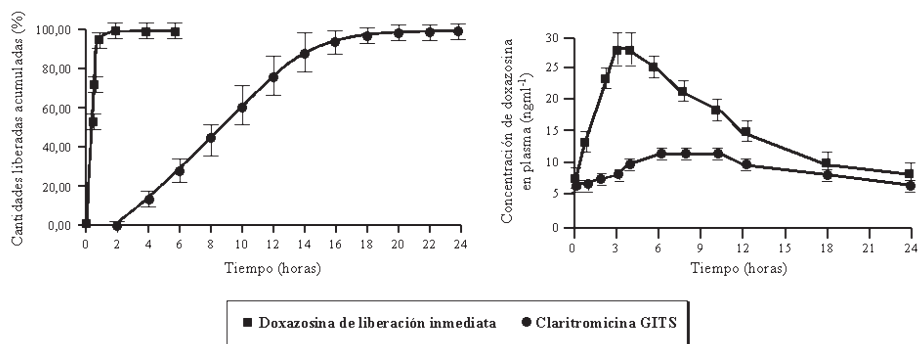


FIGURA 14. Perfil de disolución y concentraciones plasmáticas de doxazosina con la formulación de liberación inmediata y con el GITS.

Esta tecnología ha sido también aplicada en el desarrollo de Ditropan XL, Adalat XL, Concerta, Minipres XL, Volmax, etc.

Las primeras formulaciones orales de liberación controlada se desarrollaron en la terapéutica antihipertensiva, aunque recientemente su aplicación se ha ampliado a otros campos de la terapéutica como es el tratamiento de las enfermedades psiquiátricas, tal como se recoge en la tabla 2.

TABLA 2

Formulaciones orales con liberación controlada de psicofármacos (62)

<i>Ventajas</i>	
Antidepresivos	
Paroxetina	Reduce náuseas y mejora el perfil de tolerancia
Venlafaxina	$\tau = 24$ h. Reduce náuseas y mejora el perfil de tolerancia
Fluoxetina	$\tau = 1$ semana
Bupropion	$\tau = 12$ h. Reduce convulsiones y mejora el perfil de tolerancia
Bupropion	$\tau = 24$ h. En desarrollo clínico
Gepirona	$\tau = 12$ h. En desarrollo clínico. Se asociaría con buspirona. Mejor tolerancia.
Selegilina	En desarrollo clínico. Mejor perfil farmacocinético. Menores interacciones.

TABLA 2 (Cont.)

Formulaciones orales con liberación controlada de psicofármacos (62)

<i>Ventajas</i>	
Estimulantes	
Metilfenidato	Liberación durante 12 h. No efecto de alimentos. Mayor duración de efecto. OROS®
Metilfenidato	Liberación durante 8 h. No efecto de alimentos. SODA®
Metilfenidato	Liberación durante 4 h. Interferencia con alimentos
S-Anfetamina	Liberación durante 9 h.
Antipsicóticos	
Litio	$\tau = 24$ h. Elimina efectos adversos asociados a C_{\max}
Divalproex	$\tau = 12$ h. Mejor perfil de tolerancia
Alprazolam	$\tau = 12$ h. Reduce «clock watching»
Indiplon	En desarrollo clínico como hipnótico

τ = intervalo posológico.

4.2. Formulaciones parenterales

La vía parenteral presenta, en relación a la vía oral, una serie de ventajas para la administración de medicamentos. Entre ellas destacan la rapidez de acción con la vía intravenosa, su elevada biodisponibilidad y la ausencia del efecto de «primer-paso». Además, con el uso de la vía intramuscular o subcutánea es posible controlar el proceso de liberación durante largos periodos de tiempo, que pueden alcanzar varios meses. Ello presenta indudables ventajas en el tratamiento de enfermedades crónicas especialmente en aquellos pacientes en los que existe alto riesgo de incumplimiento o en determinadas situaciones clínicas que requieren una permanencia muy prolongada de los medicamentos en determinados órganos o tejidos (63).

Las formulaciones parenterales de liberación modificada, conocidas como «depot» están constituidas por disoluciones en vehículos oleosos o suspensiones acuosas u oleosas destinadas a la administración subcutánea o intramuscular.

En las primeras, la velocidad de liberación del fármaco depende, fundamentalmente, del coeficiente de reparto aceite/agua y a medida que este

aumenta se reduce la velocidad de transferencia a los espacios tisulares. El coeficiente de reparto se puede incrementar recurriendo a la formación de profármacos, generalmente ésteres con ácidos grasos de cadena corta, como acetato o valerato o de cadena media, como decanoato. La asociación de diferentes ésteres de un nuevo fármaco hace posible modular la rapidez y duración de los efectos como ha ocurrido con formulaciones de testosterona de liberación controlada (64).

Igualmente, se han desarrollado suspensiones acuosas que contienen principios activos de baja solubilidad o cuya solubilidad ha sido reducida por formación de derivados como ácidos o bases orgánicas. La velocidad de liberación está controlada por la disolución de las partículas en los fluidos tisulares, por lo cual las características como tamaño, estado cristalino, etc., deben ser cuidadosamente controladas. Ejemplos bien conocidos son las suspensiones que combinan insulina-Zn-protamina e Insulina-Zn-cristalina y amorfa.

Para fármacos de elevada solubilidad es posible recurrir a suspensiones mediante la incorporación del fármaco en partículas esféricas de matrices poliméricas biocompatibles y biodegradables. Las características del polímero van a controlar la velocidad de liberación del fármaco por distintos mecanismos: difusión a través de canales y poros (cuando se trata de matrices poliméricas), difusión a través de membranas (cuando se utilizan reservorios) o degradación del polímero. Una nueva formulación «depot» de risperidona, formulada como una suspensión acuosa de partículas poliméricas en las que está disperso el fármaco, permite su administración cada dos semanas, disminuye los efectos adversos, incrementa el cumplimiento del tratamiento y reduce las hospitalizaciones en relación a las formulaciones convencionales (65).

Para administración i.v. también se han utilizado formulaciones de liposomas y micropartículas de antibióticos (ampicilina, amikacina y anfotericina B) y de agentes anticancerosos (doxorubicina y daunorrubicina) consiguiéndose disminuir la toxicidad sistémica y algunas mejoras en la eficacia (66).

El desarrollo de polímeros implantables, que liberan agentes citotóxicos de forma controlada en el sistema nervioso central, abre nuevas posibilidades en el tratamiento de neoplasias malignas intracraneales que tienen, actualmente, un mal pronóstico. Estos sistemas de liberación ase-

guran elevadas concentraciones en la proximidad del tejido tumoral superando las limitaciones en eficacia y seguridad que ofrecen los agentes citotóxicos cuando se administran por vía oral o intravenosa.

Gliadel® es un dispositivo constituido por un copolímero biodegradable, el polifeprosan 20®, que consiste en poli [bis(p-carboxifenoxi)] propano: ácido sebácico en relación molar 20:8, que permite controlar la liberación local de carmustina. Este tipo de polímeros presentan algunas características interesantes, como la posibilidad de controlar fácilmente la degradación modificando la proporción del monómero. Ello significa que la liberación de carmustina puede controlarse desde algunos días a semanas o incluso meses. Además, el proceso de liberación se ajusta a una cinética próxima al orden cero, lo que asegura concentraciones constantes en la proximidad del lugar de acción. Mediante este sistema de administración las concentraciones de carmustina en el tejido tumoral alcanzan valores de 100 a 1000 veces más altos que cuando se recurre a la vía intravenosa. Aproximadamente, 62 mg de carmustina liberada desde Gliadel® alcanzan concentraciones cerebrales más altas que las que se consiguen con una dosis de 3000 mg de carmustina administrada por vía intravenosa y además, con menores efectos adversos. Gliadel® fue aprobado en septiembre de 1995 por la FDA para el tratamiento del glioblastoma multiforme recurrente y actualmente esta disponible en nuestro país (67). En el 2003, la FDA lo aprobó en glioma maligno de alto grado, diagnosticado de «novo».

Se han comercializado diferentes implantes poliméricos de inserción en el tejido subcutáneo para obtener niveles de fármaco sostenidos durante largo tiempo para goserelin, levonorgestrel, testosterona y estradiol.

4.3. Formulaciones transdérmicas

En 1981 se comercializaba en EE.UU. el primer parche transdérmico (*Transderm Scop*) y en el año 2000, entre los 7 fármacos entonces aprobados por la FDA para su uso por vía transdérmica, se movía un mercado mundial superior a los 200 millones de dólares. En el momento actual, no sólo se está estudiando administrar por esta vía nuevos fármacos, también se plantea para fármacos administrados por otras vías o para moléculas muy potentes que por problemas asociados con la forma de dosificación no han llegado a utilizarse en terapéutica (68).

La liberación del principio activo desde un sistema transdérmico es continua y a velocidad controlada, idealmente con cinética de orden cero. De este modo, la cantidad que llega al lugar de absorción será constante manteniéndose los niveles plasmáticos durante el tiempo de aplicación del sistema. Las principales ventajas que presenta esta vía de administración frente a la oral, es el acceso del fármaco a la circulación sistémica, sin atravesar el tracto gastrointestinal ni presentar efecto de «primer-paso», ser una vía no invasiva, de fácil administración, muy bien aceptada por los pacientes, y con posibilidad de interrumpir la administración si aparecen efectos adversos graves.

La absorción de los fármacos administrados por esta vía se efectúa por difusión pasiva, a través de las distintas capas de la piel, hasta alcanzar los capilares sanguíneos de la endodermis. La velocidad de absorción depende de su concentración en la superficie de la piel, lo cual condiciona el gradiente de concentraciones. Para mantener constante este gradiente, que daría lugar a una velocidad de absorción de orden cero, la velocidad de liberación del fármaco por el dispositivo debe ser inferior a la velocidad de absorción.

La principal limitación es que no todos los fármacos pueden administrarse por esta vía sino sólo aquéllos con unas determinadas características fisicoquímicas. Por las grandes diferencias en contenido acuoso y lipídico entre el estrato córneo y la epidermis-dermis, únicamente presentan una absorción adecuada los fármacos con un balance hidrofilia-lipofilia intermedio con coeficientes de reparto octanol/agua comprendidos entre 10 y 1000. Igualmente, es necesario que presenten solubilidad acuosa mayor de 1mg/ml, masa molecular menor de 500 Da y suficiente potencia para no necesitar una velocidad de administración mayor de 10 mg/día, dada la lenta difusión del fármaco desde la superficie de la piel a los vasos sanguíneos. Cuando se cumplen estos criterios esta ruta es útil para tratamiento crónico con moléculas de baja biodisponibilidad oral y corta semivida, que necesitarían recurrir a administraciones parenterales muy frecuentes. Algunos inconvenientes que puede presentar la administración transdérmica es una alta frecuencia de irritación y sensibilización, dificultad de adhesión en ciertos tipos de piel, así como la complejidad de su fabricación y alto coste (69).

Los sistemas terapéuticos transdérmicos se suelen clasificar en sistemas matriciales, con reservorios o mixtos. En el primer tipo, el fármaco está dis-

perso homogéneamente en una matriz polimérica y para su liberación debe difundir a través de ella hasta la superficie de la piel, siendo la velocidad de difusión en el polímero la que controle la velocidad de liberación. En los sistemas con reservorio existe un depósito de fármaco rodeado de una membrana polimérica que controla la velocidad de liberación.

A finales de 2002 se encontraban en diversas fases de desarrollo clínico diferentes sistemas transdérmicos, parches y geles de los siguientes medicamentos: alprostadilo, dexametasona, diclofenaco, dihidrotestosterona, estradiol, metilfenidato, hormona paratiroidea, flubiprofeno, estradiol/progrestina, rotigotina, testosterona, etc. (70).

Existen algunas técnicas físicas que permiten aumentar la permeabilidad de la piel, entre ellas la más desarrollada es la iontoforesis, que consiste en utilizar una corriente eléctrica de baja intensidad para favorecer el paso de moléculas a través de la piel (71). Por ejemplo, Iomed Inc (www.iomed.com) ha desarrollado Phoresor[®] un sistema que utiliza la iontoforesis para la administración de lidocaína como anestésico local.

4.4. Formulaciones pulmonares, nasales y oculares

La vía inhalatoria presenta algunas características ideales para la consecución de efectos sistémicos como elevada superficie de absorción, unos 100 m² y pequeño espesor, de 100-200 nm. Sin embargo, la mucosa pulmonar constituye una barrera importante para el paso de aquellos fármacos que están destinados a alcanzar el epitelio, que se ve acentuada en presencia de procesos inflamatorios o infecciosos.

Diversos factores dependientes del fármaco como carga de las partículas, solubilidad y tamaño, así como las propiedades biofísicas del mucus afectan a la capacidad para atravesar esta barrera (72). Así, se ha demostrado la existencia de una relación inversa entre el peso molecular del fármaco y la difusión a través del mucus, que es especialmente manifiesta a partir de 30 kDa. La difusión a través del mucus se ve dificultada por la fijación a algunos componentes como la mucina, ADN, etc. y al efecto de diversas enzimas. Entre los factores que aumentan la capacidad de difusión figuran la superficie efectiva de tensoactivo y el incremento en el tiempo de retención de las partículas.

La vía inhalatoria ha ocupado, durante las últimas décadas, un lugar destacado en el tratamiento de las enfermedades respiratorias como el asma, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica o los procesos infecciosos asociados a la fibrosis quística. Para ejercer un efecto localizado, el fármaco debe alcanzar de forma eficiente la superficie a través del flujo aéreo, penetrando o incluso atravesando la barrera mucosa para alcanzar su lugar de acción. La tecnología de aerosoles ha alcanzado en los últimos años tal desarrollo que permite el control de las variables que pueden reducir el rendimiento del proceso y aumentar la utilidad clínica.

Los agentes mucolíticos (dornasa- α) y las antiproteasas (inhibidores leucoproteasa, proteínasa- α_1 , etc) son más efectivos cuando se dispersan en las secreciones del flujo aéreo en aquellas zonas en las que se produce una mayor obstrucción. Los antioxidantes y los factores de crecimiento precisan, sin embargo, alcanzar las células epiteliales mientras que la terapia de transferencia génica precisa no sólo alcanzar el epitelio pulmonar sino también alcanzar las glándulas submucosas o las células progenitoras de epitelio.

La administración de formas de liberación sostenida en el pulmón presenta el inconveniente adicional de la necesidad de retrasar la retirada de las partículas por los mecanismos normales de aclaramiento del pulmón. Incorporando fosfolípidos en la superficie de las partículas depositadas en los alveolos se pueden camuflar las partículas y reducir su captura por los macrófagos alveolares (73).

Actualmente se encuentran en desarrollo formulaciones que incorporan fármacos encapsulados en diferentes tipos de vectores. El ácido retinoico encapsulado en liposomas ha visto reducida su toxicidad pulmonar y sistémica en relación a los aerosoles convencionales. Además, se han conseguido concentraciones en el tumor más elevadas lo que ha aumentado su efectividad en el tratamiento de neoplasias (74). Conjuntamente se están estudiando por diversos grupos los sistemas de aerosolización que puedan aumentar su biodisponibilidad local (75). Actualmente, se está investigando la utilización de partículas porosas de mayor tamaño para liberación sostenida de fármacos por vía pulmonar en el tratamiento de la tuberculosis. Estas partículas, de naturaleza lipídica o polimérica, por su tamaño y baja densidad se pueden depositar en la región alveolar y acceder a la circulación sistémica (76).

Otro problema al que se enfrenta la administración de fármacos por vía pulmonar es que sólo una pequeña proporción del fármaco que sale del inhalador llega a la zona adecuada de los pulmones. Esto, además de ineficacia, da lugar a efectos secundarios por acción sistémica de fármacos administrados para tratamiento local en los pulmones. Por este motivo, es necesario que con las nuevas formulaciones se desarrollen nuevas generaciones de inhaladores que consigan una liberación del fármaco más eficaz y reproducible. Ya existen en el mercado los llamados inhaladores inteligentes que, aunque con mayor coste, consiguen una mayor precisión en la liberación del fármaco (77).

La administración nasal ha recibido en los últimos años considerable atención, especialmente para conseguir efecto sistémico de fármacos con dificultad para su administración por vías no parenterales. Esto es debido a algunas características diferenciales respecto al tracto gastrointestinal y otras mucosas, como la escasa actividad proteolítica, la reducida cobertura mucosa, el pH, que se mantiene próximo a la neutralidad y la ausencia de alimentos o productos de la digestión que pueden reducir la biodisponibilidad. Sin embargo, presenta algunos inconvenientes como la rápida eliminación debida al aclaramiento muco-ciliar, la irritación nasal, la variabilidad en la biodisponibilidad y los fracasos asociados a una incorrecta administración.

Recientemente se ha producido un gran incremento en el mercado mundial de fármacos de acción sistémica comercializados como formulaciones nasales. Por ejemplo, fármacos para el tratamiento de la migraña, donde es necesario un rápido comienzo del efecto, (sumatriptan, zolmitriptan, dehidroergotamina y butorfanol), fármacos como estradiol que presenta mayor biodisponibilidad que administrado por vía oral o péptidos como desmopresina, y calcitonina evitando los problemas de baja permeabilidad y degradación en el tracto gastrointestinal. Están en desarrollo nuevas formulaciones de administración nasal para morfina, midazolam, fentanilo, AINEs, leuprolide, insulina, hormona paratiroidea e interferón, así como diferentes tipos de vacunas (78). Además, se ha demostrado que los fármacos pueden llegar al sistema nervioso central desde la cavidad nasal por transporte directo a través de la región olfativa. Esto abre una interesante posibilidad de rápido acceso de fármacos al cerebro para tratamiento del dolor, Parkinson, Alzheimer..., pero será necesario desarrollar nuevas formulaciones que consigan aumentar la fracción de fármaco absorbida.

Para aumentar la absorción, sobre todo de fármacos polares, se utilizan promotores, viscosizantes y sistemas bioadhesivos que consiguen retrasar el aclaramiento mucociliar prolongando el contacto entre la formulación y los lugares de absorción. Con este fin se han utilizado en formulaciones de morfina con quitosán y ciclodextrinas, que presentan propiedades bioadhesivas y promotoras de la absorción intercelular (79).

Los sistemas habituales de administración ocular de fármacos incluyen aplicación local (inyecciones subconjuntivales, perioculares intravítreas e implantes) y el uso de vías sistémicas. Sin embargo, ambos métodos tienen importantes limitaciones para su aplicación en diferentes indicaciones clínicas. La administración de fármacos por vía oral y sistémica no permite alcanzar, en la mayoría de las ocasiones, concentraciones terapéuticas en los tejidos oculares y los incrementos de dosis tienen limitaciones de tipo toxicológico. Los sistemas de aplicación local permiten alcanzar concentraciones eficaces en el tejido ocular si la formulación está bien diseñada, pero por tratarse de métodos invasivos se corren riesgos debidos a posibles hemorragias, infecciones, desprendimiento de retina y otras lesiones localizadas. Recientemente, se ha desarrollado un sistema que utiliza la iontoforesis para la liberación ocular de fármacos (OcuPhor[®]) que ofrece un sistema reproducible y no invasivo para medicamentos amónicos como los antiinflamatorios no esteroides (80).

5. FORMULACIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES

«I'm very excited by the fact that the first protein delivery systems are coming on the market and that a lot of a protein delivery systems are moving into the clinic...»

ROBERT S. LANGER*

Los medicamentos obtenidos por Biotecnología constituyen una clase terapéutica emergente en la clínica que presenta unas características diferenciales no sólo por su origen, sino también por su estructura química y algunas propiedades farmacológicas.

* Robert S. Langer es profesor de ingeniería química y biomédica en el Instituto Tecnológico de Massachussets (Boston).

Aunque la Biotecnología moderna nace en 1953 al conocerse la estructura del ácido desoxirribonucleico (ADN), su incorporación a la terapéutica humana no se produce hasta comienzos de los años 80 con la utilización de la insulina y de la hormona de crecimiento recombinantes en terapia sustitutiva. Desde entonces se han incorporado al arsenal terapéutico unos 80 medicamentos, aunque cerca de 400 biomoléculas para el diagnóstico y tratamiento de unas 200 enfermedades se encuentran en diferentes fases de investigación clínica. (81).

Los medicamentos biotecnológicos incluyen proteínas obtenidas por ingeniería genética, anticuerpos monoclonales producidos mediante la tecnología del hibridoma, vectores para el transporte de material genético, fragmentos de anticuerpos, oligonucleótidos antisentido, vacunas, etc. (82).

La estructura química que presentan la mayoría de los productos biotecnológicos condiciona algunas propiedades que pueden limitar su utilización terapéutica y que se reflejan en su perfil farmacocinético. Entre ellas destacan la baja biodisponibilidad por vía oral, dificultades para su distribución tisular y celular y un aclaramiento plasmático elevado. Las proteínas recombinantes son degradables, por enzimas proteolíticas, pueden ser rápidamente excretadas a través del riñón, generan anticuerpos neutralizantes y presentan una semi-vida de eliminación corta (factor de necrosis tumoral: 3-10 minutos, estreptoquinasa: 4-10 minutos, factor activador del plasminógeno: 8-12 minutos, hormona del crecimiento: 15-30 minutos, etc.).

La investigación en biotecnología sanitaria se mantiene muy activa y actualmente está dirigida no solo a la búsqueda de nuevas moléculas con fines diagnósticos y terapéuticos, sino también al estudio de nuevas indicaciones y a la mejora del rendimiento terapéutico mediante cambios en la formulación farmacéutica.

5.1. Formulaciones orales

Los péptidos y proteínas presentan una baja biodisponibilidad por vía oral, generalmente inferior al 1%, por lo que en principio no son candidatos idóneos para utilizar esta vía de administración. Ello es debido a su inestabilidad en el medio fuertemente ácido del estómago, al efecto pro-

ducido por las peptidasas intestinales, y especialmente a su escasa permeabilidad como consecuencia del tamaño molecular, la carga eléctrica y la elevada polaridad. La mayoría de las proteínas recombinantes se incluyen dentro de la clase III del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, solamente algunas pertenecen a la clase IV y es excepcional que algunas biomoléculas se incluyan en la clase I. Es decir, los productos obtenidos por biotecnología suelen presentar una solubilidad en agua alta o moderada y una permeabilidad intrínseca baja o muy baja (83).

La capacidad de los fármacos para atravesar las barreras biológicas constituye un parámetro biofarmacéutico de gran interés del que depende no sólo la absorción, sino también la distribución, el metabolismo y la excreción. Aunque las diferentes membranas biológicas presentan unas características específicas, los principales constituyentes siempre son: fosfolípidos, colesterol, esfingolípidos y glicolípidos. Por tanto, para que un fármaco supere las diferentes membranas biológicas y alcance su lugar de acción debe presentar un balance adecuado entre hidrofilia y lipofilia, que se expresa habitualmente por el coeficiente de reparto octanol-agua (P) o más fácilmente por $\log P$. Este parámetro es, como ya hemos anticipado, un buen predictor de la permeabilidad de muchos fármacos y puede ser correlacionado con diversos parámetros farmacocinéticos. Ello no es posible cuando se trata de péptidos y proteínas debido a que en su estructura están presentes numerosas funciones polares que forman puentes hidrógeno con los grupos hidroxilo de la fase acuosa. Los péptidos presentan, en consecuencia, coeficientes de reparto más altos, que no se corresponden con la permeabilidad. No obstante pueden obtenerse buenas correlaciones cuando se determina el número de puentes de hidrógeno potenciales que pueden establecerse con el agua. De esta forma es posible anticipar el efecto de las modificaciones estructurales en la absorción oral de péptidos de interés terapéutico, lo que es de gran utilidad en el desarrollo de nuevas moléculas. La desolvatación potencial que presentan diferentes péptidos ha podido ser relacionada con parámetros farmacocinéticos que describen el proceso de absorción como C_{\max} y AUC.

Factores fisiológicos como el tiempo de tránsito gastrointestinal, la dilución y las interacciones con componentes de los alimentos reducen la fracción de dosis disponible para la absorción de péptidos y proteínas. Finalmente, el efecto del «primer-paso» y las «bombas de eflujo» también

son responsables de la escasa biodisponibilidad oral que presentan los productos obtenidos por biotecnología.

Pese a esta situación sabemos que algunos medicamentos con estructura peptídica como antibióticos β -lactámicos, inhibidores de la ECA o la ciclosporina presentan valores de biodisponibilidad que permiten su administración por vía oral y tienen acreditado su valor terapéutico. Asimismo, pequeños péptidos procedentes de la digestión de las proteínas de la dieta o incluso algunos antígenos naturales solubles se absorben intactos.

A diferencia de otros fármacos, algunas proteínas recombinantes presentan una actividad intrínseca muy elevada hasta el punto de poder admitir que una biodisponibilidad del 10% podría ser suficiente para alcanzar los objetivos terapéuticos cuando se administran por vía oral.

Se han desarrollado diferentes estrategias para incrementar la biodisponibilidad oral de péptidos y proteínas mediante el control de alguno de los factores anteriormente mencionados. Entre ellos destacan los cambios estructurales para modificar la polaridad o reducir el efecto de «primer-paso» sin que su actividad biológica se vea comprometida. Con el mismo objetivo se ha recurrido a la asociación con sustancias bioadhesivas que retrasan sensiblemente el tránsito intestinal e incrementan el tiempo de contacto con la superficie de la mucosa. Entre ellos destacan los biopolímeros glucídicos, como el quitosán y sus derivados, que incrementan la absorción de macromoléculas por bioadhesión y modulan la permeabilidad al actuar en los espacios intercelulares (84).

En estos últimos años se han realizado importantes progresos en la formulación farmacéutica de péptidos y proteínas que van a permitir disponer de importantes medicamentos que pueden ser administrados por vía oral. Actualmente, se encuentran en un avanzado estado de desarrollo numerosas formulaciones: las que utilizan la tecnología de micropartículas, aquéllas que dirigen el fármaco a zonas específicas del tracto intestinal para acceder a los sistemas de transporte y las destinadas a conseguir una liberalización colónica (85, 86).

Las micropartículas y nanopartículas están diseñadas para conseguir la captación y traslocación intestinal de proteínas de interés terapéutico como enzimas, hormonas, vacunas, etc. Las micropartículas se absorben

por distintos mecanismos: persorción, endocitosis, transporte paracelular y a través del tejido linfoide asociado al intestino (GALP). Las placas de Peyer son estructuras linfoepiteliales que constituyen un elemento esencial en el intestino para la adquisición de inmunidad. Actualmente, se considera que las células M de las placas de Peyer son la diana para las vacunas orales y micropartículas que contienen proteínas de alto interés terapéutico. El diámetro de las partículas es uno de los factores que condiciona el paso a través de la mucosa intestinal y la mayoría de estudios sugieren que debe ser inferior a 0,5 μm . Por debajo de este valor crítico se produce una selectividad en la captación por las placas de Peyer frente a los enterocitos. Otros factores que potencian la captación por el GALP son la estabilidad de las partículas en la luz intestinal, la ausencia de carga superficial, la hidrofobicidad superficial, conseguida frecuentemente por la absorción de diferentes polímeros y la presencia de ligandos específicos como las lectinas.

Por último, es interesante destacar los resultados obtenidos, en estudios experimentales, cuando se asocian a proteínas terapéuticas, las denominadas «moléculas transportadoras». Se trata de derivados N-acetilados de aminoácidos no aromáticos (p.e. 4-[4-[(2-hidroxibenzoil) amino] fenil] butírico), que incrementan sensiblemente la biodisponibilidad por vía oral de la insulina, la hormona de crecimiento, el interferón α -2b, etc. Aunque el mecanismo de acción no es bien conocido, al parecer son responsables de cambios conformacionales que facilitan la traslocación de proteínas a través de las membranas biológicas (85).

Diversas compañías (Emisphere Technologies, Amarillo Biosciencias, Endorex, Elan Pharmaceuticals, Enerex, etc.) han diseñado y desarrollado formulaciones orales de péptidos y proteínas (hormona de crecimiento, insulina, calcitonina, interferón-, alergenos, etc.) incorporadas en micropartículas biodegradables. La compañía Acambis está desarrollando nuevas vacunas orales frente a la fiebre tifoidea y fiebre del viajero que se encontraban en fase III a finales del año 2002.

La compañía Novex (<http://www.novexcorp.com>) ha desarrollado una tecnología basada en la formación de conjugados con pequeños polímeros que ha permitido el desarrollo de una formulación de insulina oral, con absorción dosis-dependiente cuya eficacia ya ha sido demostrada en pacientes diabéticos en ensayos clínicos.

5.2. Formulaciones parenterales

Debido a las limitaciones de la vía oral, los péptidos y proteínas se administran habitualmente por vía parenteral, preferentemente endovenosa. La mayoría de estas moléculas presentan un rápido aclaramiento, lo que conduce a valores bajos en la semi-vida de eliminación

Los problemas que surgen con la administración parenteral de macromoléculas que presentan un rápido aclaramiento ha estimulado el desarrollo de diferentes actuaciones dirigidas, en principio, a modificar el perfil farmacocinético y en consecuencia, facilitar su administración. Ello se ha conseguido mediante conjugación con diversos polímeros, por hiperglicosilación de las proteínas y con el desarrollo de formulaciones parenterales de liberación controlada (87, 88).

La conjugación de péptidos y proteínas con diversos polímeros constituye actualmente un área de gran interés especialmente en la terapéutica oncológica a la que se han incorporado proteínas antitumorales, enzimas, citoquinas, etc. La conjugación con polímeros produce cambios significativos en el perfil farmacocinético de las macromoléculas, permitiendo superar algunas de las limitaciones que presentaban para su utilización clínica. El principal cambio es un incremento en la semi-vida de eliminación con un aumento de la captación celular por endocitosis. Una vez en sangre, se produce la liberación del conjugado a los compartimentos endosómicos y lisosómicos de la célula con descenso del pH (5,5-6,0). Una vez alcanzado el lisosoma se produce la degradación metabólica por acción de las hidrolasas intracelulares.

La pegilación de proteínas con una o varias cadenas de polietilenglicoles (PEG) es, posiblemente, el mecanismo de conjugación más desarrollado. Los PEG son polímeros lineales o ramificados constituidos por unidades de óxido de etileno (-CH₂-O-CH₂-) que presentan dos grupos hidroxilo terminales, los cuales pueden ser activados químicamente (89). La reacción de pegilación más frecuente implica al grupo ε-amino de la lisina o los grupos amino terminales de las proteínas, aunque actualmente se dispone de diversas alternativas englobadas dentro de la pegilación de segunda generación. Las biomoléculas conjugadas presentan propiedades físico-químicas diferentes de las proteínas originales como cambios conformacionales, impedimento estérico, capacidad de unión electrostática

ca, valores de pK locales de la lisina, hidrofobicidad punto isoeléctrico, etc. Estos cambios pueden quedar reflejados, en principio, por alteraciones en la actividad detectada mediante ensayos «*in vitro*» y en la eficacia, establecida utilizando ensayos «*in vivo*». La fijación a receptores se reduce progresivamente al aumentar la masa molecular del polímero lo que produce un descenso de la actividad cuando se utilizan ensayos «*in vitro*» con tiempos de incubación cortos. Sin embargo, la eficacia de la proteína se incrementa como consecuencia de los siguientes mecanismos:

- a) Retraso en el aclaramiento renal de la proteína que produce un incremento en la semi-vida de eliminación y en el valor del área bajo la curva de niveles séricos. Este último parámetro refleja el «periodo de exposición» y se relaciona, en ocasiones, con la eficacia en modelos pK-pD.
- b) Mayor estabilidad frente a las enzimas responsables de la degradación de péptidos y proteínas frecuentemente como consecuencia del impedimento estérico.
- c) Menores efectos adversos debido a que el PEG reduce significativamente la inmunogenicidad y antigenicidad de las proteínas.

La pegilación produce importantes cambios en el perfil pK-pD de los péptidos y proteínas utilizados en clínica. Actualmente se dispone de seis proteínas pegiladas aunque, al menos, más de doce se encuentran en diferentes fases de desarrollo clínico. La PEG-ADA (adenosin desaminasa) está aprobada para el tratamiento de la deficiencia de ADA en pacientes con inmunodeficiencia combinada grave. Se trata de un conjugado de ADA con múltiples cadenas de PEG de un peso molecular de 5kDa. La consecuencia más inmediata es un cambio en la semi-vida de eliminación de la enzima de unos pocos minutos a aproximadamente 24 horas.

La asparraginasa pegilada o pegaspargasa ha sido aprobada en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica y se obtiene mediante unión covalente de la enzima con múltiples cadenas lineales de PEG con un peso molecular de 5kDa, lo que produce una molécula más estable cuya semivida de eliminación se incrementa en 14 veces en relación a la enzima no conjugada (90).

La pegilación de interferones también produce cambios significativos en el perfil farmacocinético-farmacodinámico que han supuesto un pro-

greso en el tratamiento de la hepatitis C y otras indicaciones (91). Actualmente, la asociación de interferones pegilados y rivabirina es el tratamiento de referencia aceptado por la comunidad científica internacional.

La pegilación de los factores de crecimiento hematopoyético ha conducido a un cambio en las pautas de dosificación que han podido ser adaptadas a la duración de los ciclos en la quimioterapia del cáncer.

Durante los pasados 20 años han sido estudiados numerosos conjugados de proteínas con PEG (citotóxicos, antioxidantes, enzimas, trombolíticos, citoquinas, etc.) aunque sólo algunos se encuentran en fase de desarrollo clínico. La conjugación con PEG ha sido aplicada también a oligonucleótidos y lípidos para aumentar su solubilidad, estabilizar las moléculas, incrementar la permeabilidad o disminuir el aclaramiento (92).

Estrategias futuras en el desarrollo de la pegilación estarán orientadas a la pegilación inestable «PEG-prodrugs», pegilación híbrida «PEG-TNF α », PEG-inmunoconjugados, hidrogeles, etc.

Los glicoconjugados son aquellos compuestos resultantes de la unión covalente de una fracción glucídica con otro compuesto que puede ser protídico o lipídico. La eritropoyetina recombinante es una glicoproteína utilizada desde hace más de 10 años en el tratamiento de la anemia renal. Su excreción renal es mínima, pero es ampliamente metabolizada en el hígado vía receptores de la galactosa. Los residuos de ácido sialico eliminados en el proceso de biotransformación aseguran la estabilidad de la hormona y su actividad biológica. El metabolito desprovisto de ácido siálico es rápidamente eliminado, siendo la semi-vida de eliminación de la eritropoyetina de 4-8 horas.

Diversos estudios experimentales han demostrado que hay una relación directa entre el contenido de ácido siálico y la semivida de eliminación de las glicoproteínas, lo que ha sido un estímulo para la búsqueda de nuevas moléculas.

La darbepoetina es un análogo hiperglicosilado de eritropoyetina que presenta distintas propiedades físico-químicas y biológicas. La figura 15 recoge la estructura de ambas moléculas estimulantes de la eritropoyesis, así como la evolución de los niveles séricos obtenidos tras su administración por vía intravenosa. La principal consecuencia del cambio producido en el perfil farmacocinético será la modificación del intervalo posológico que pasará de 3 a 4 días con la eritropoyetina a 7-14 días con la darbepoetina (93).

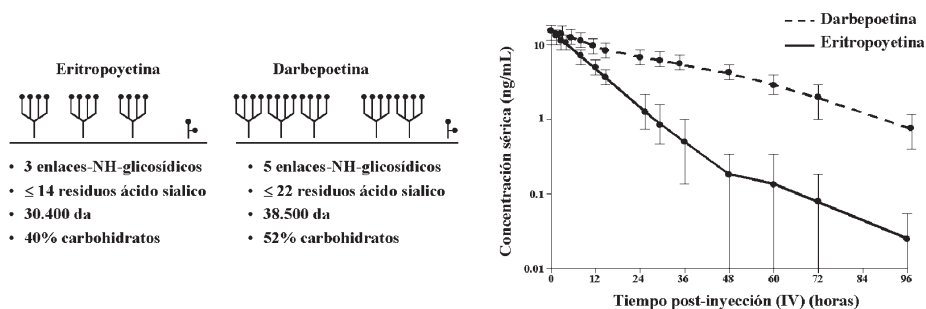


FIGURA 15. Estructura y farmacocinética de eritropoyetina y darbepoetina.

En los últimos años, se han desarrollado numerosas matrices poliméricas biodegradables y biocompatibles que se han incorporado a microcápsulas, microesferas, nanoesferas e implantes para conseguir una liberación prolongada de pequeñas moléculas. Actualmente, algunos de estos polímeros se utilizan en el diseño de formulaciones parenterales de medicamentos obtenidos por biotecnología (94). Entre ellos destacan los poli (α -hidroxiácidos) como el ac. poliláctico y el ac. polihidroxibutírico y co-polímeros, especialmente del ac. láctico-ac. glicólico. Estos productos no son inmunogénicos y permiten, por sus propiedades físico-químicas, controlar la velocidad de liberación de péptidos y proteínas. El diseño y fabricación de estas formulaciones difiere de los habitualmente utilizados con fármacos de bajo peso molecular que presentan, en general, una mayor estabilidad durante los procesos de separación de fases, evaporación de disolventes, emulsión, atomización, etc. Estos procesos exigen temperaturas elevadas, concentraciones altas de tensoactivos, mezcla de disolventes, etc. que provocan, en muchos casos, una degradación acelerada de proteínas. Para evitar la pérdida de actividad asociada a la degradación química debe recurrirse a la liofilización de las proteínas, homogeneización de la suspensión proteína-polímero, secado por atomización en nitrógeno líquido, eliminación del disolvente del polímero con etanol y filtración y secado bajo vacío (95). Estas técnicas han sido utilizadas en el desarrollo de microesferas de liberación controlada de proteínas recombinantes, como la hormona de crecimiento interferón- α , interleuquina-2, calcitonina, hormona liberadora de tirotrina, etc.

Los ensayos clínicos en fase I con una formulación de hormona del crecimiento demostraron que, en pacientes adultos con deficiencia hormonal, se mantienen los niveles séricos en valores superiores a los basales un promedio de 23 días. La figura 16 recoge la evolución de las concentraciones séricas de una dosis de Nutropin Depot, una formulación de liberación controlada utilizando tecnología proleasa y de la formulación convencional que debe administrarse una vez al día.

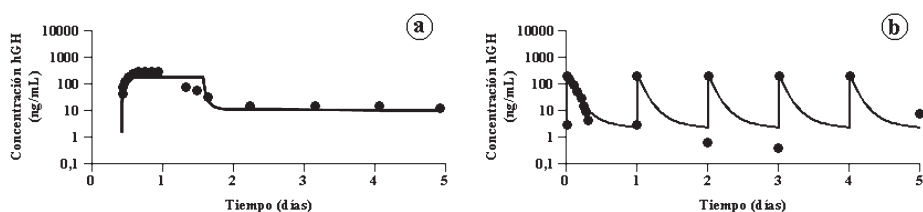


FIGURA 16. Concentraciones séricas de hormona de crecimiento (hGH).
 a) inyección subcutánea de 160 mg de Nutropin depot (24,00 mg de rhGH);
 b) inyección subcutánea de rhGH 0,86 mg/día

Los estudios clínicos en fase II y III han demostrado la eficacia de la formulación mediante variables intermedias como la IGF-1, que fueron confirmados posteriormente a su aprobación por la FDA.

La liberación de las proteínas microencapsuladas en el organismo es un proceso complejo e incluye habitualmente la hidratación de las partículas, disolución del fármaco con difusión a través de los poros de la matriz polimérica y biodegradación del polímero. La duración del proceso de liberación está condicionada por diversos factores como la composición del polímero, la presencia de modificadores de la liberación, etc.

La posibilidad de modular el proceso de liberación ha permitido el diseño de vacunas para administración en dosis únicas. Las micropartículas (1-200 μm) del copolímero láctico-glicólico están siendo utilizadas como portadores de antígenos para la inmunización frente a bacterias, virus y parásitos. Sin embargo, el progreso es lento debido a que no existe un consenso sobre la cinética óptima de liberación y por las dificultades para mantener la estabilidad física y química de los antígenos.

La mayor complejidad de estas formulaciones en relación con las de liberación inmediata obliga a adoptar precauciones especiales en la optimización de su producción industrial. Los principales puntos críticos son la integridad de la proteína y el valor de la C_{\max} en ratas, utilizada como parámetro farmacocinético que refleja la eficacia del proceso de encapsulación.

5.3. Formulaciones pulmonares y nasales

La vía pulmonar constituye una alternativa a la vía oral para la administración de péptidos y proteínas destinados tanto a conseguir una acción local en el sistema respiratorio como para producir efectos sistémicos. El uso de biomoléculas se inició hace más de 70 años cuando se comprobó la absorción parcial de la insulina administrada en forma de aerosol (96).

Las moléculas pequeñas se absorben por difusión pasiva o transporte mediado por receptores. En el caso de macromoléculas, los péptidos pequeños, con un peso molecular inferior a 40 kDa pueden absorberse por transporte paracelular, mientras que para valores superiores participa la transcitosis, mediada, en algunos casos, por receptores de membrana. El proceso puede ser relativamente rápido, con valores de C_{\max} de 10-30 minutos para pequeños péptidos solubles, hasta varias horas cuando se trata de grandes proteínas. La compañía Inhale Therapeutics Systems desarrolla actualmente la fase I de una formulación para administración pulmonar de Avonex, interferón β -1a, que evita las dolorosas inyecciones intramusculares en el tratamiento de la esclerosis múltiple. La insulina inhalatoria puede representar, en los próximos años, una alternativa en el tratamiento de la diabetes tipo I. Actualmente, se conoce su perfil farmacocinético incluyendo la variabilidad inter e intraindividual, su efectividad clínica y la preferencia por los pacientes en relación a la vía subcutánea. La figura 17 muestra la evolución de las concentraciones séricas de insulina obtenidas después de la administración de una dosis única utilizando distintas vías de administración (97).

La vía nasal puede ser también utilizada para la administración de péptidos y proteínas destinadas a ejercer efectos sistémicos. Para molé-

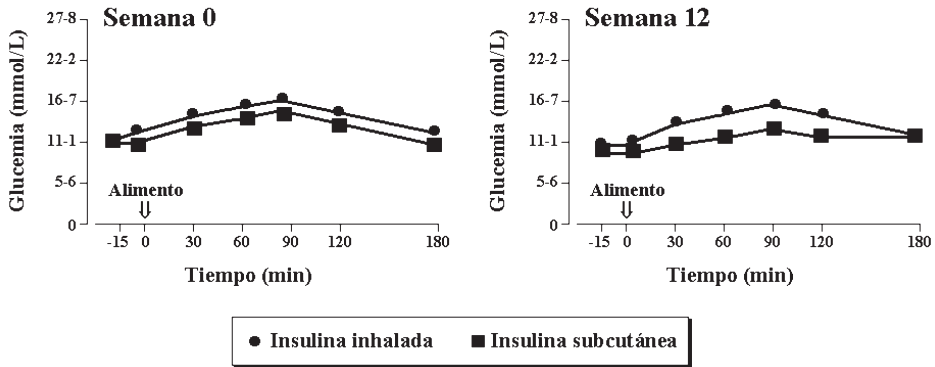


FIGURA 17. Evolución de la respuesta a la insulina administrada por vías subcutánea e inhalatoria.

culas pequeñas, constituidas por 10 aminoácidos, la biodisponibilidad es elevada alcanzando, en algunos casos, el 100%. Sin embargo, para moléculas mayores de 25 aminoácidos se produce un descenso muy acusado de la biodisponibilidad hasta el 1% o incluso valores inferiores.

Las posibilidades de la vía nasal para la administración de biomoléculas pueden verse aumentadas con la incorporación de agentes viscosizantes que aumentan su tiempo de contacto con la mucosa y moléculas bioadhesivas que incrementan la permeabilidad.

La vía nasal ha sido utilizada por sus ventajas para la administración de hormonas peptídicas (desmopresina, occitocina, calcitonina, etc.) aunque debe asegurarse el cumplimiento por los pacientes. En un avanzado estado de desarrollo se encuentran formulaciones para administración endonasal de glucagón, insulina, hormona de crecimiento, hormona liberadora de hormona de crecimiento, somatostatina, etc. La formulación de insulina ha tenido mayores dificultades debido a su tendencia a la agregación de hexámeros en disolución acuosa y a su naturaleza hidrofílica. Por ello, para su introducción en clínica ha precisado de la incorporación de promotores de absorción.

La vía nasal parece ofrecer buenas expectativas para la administración de vacunas. Los antígenos administrados por vía intranasal pueden absorberse a través de los nódulos linfáticos cervicales, pasar directamente a la circulación sistémica debido a la alta densidad en la vascula-

rización de la mucosa o ser captados por el tejido linfoide nasal (NALT) rico en células M con capacidad para el transporte vesicular transcelular de partículas y macromoléculas.

Se han aplicado diversos métodos para incrementar la respuesta de anticuerpos a antígenos liberados en la mucosa nasal: encapsulación de antígenos y coadministración con adyuvantes como la enterotoxina del cólera, la toxina termolabil de *E. coli*, etc. En Junio de 2003 la FDA aprobó para su comercialización FluMist[®] la primera vacuna con virus vivos de la gripe para administración intranasal, destinada a la prevención de los virus A y B (98).

Los ensayos clínicos han demostrado que la vacunación intranasal de la gripe es una buena alternativa a los sistemas de inmunización parenteral. Las ventajas de la vacuna recombinante intranasal no son sólo logísticas, sino también inmunológicas en niños y jóvenes sin inmunidad sustancial preexistente (99).

5.4. Vectorización de proteínas recombinantes

La incorporación de los fármacos a órganos y tejidos corporales es un proceso cinético complejo con una gran repercusión en la respuesta terapéutica. La velocidad de distribución puede estar limitada por la perfusión sanguínea o por la permeabilidad lo que condiciona el acceso y permanencia en su lugar de acción. La fracción de la dosis de un fármaco que alcanza finalmente los tejidos o incluso los espacios intracelulares depende de numerosos factores, muchos de ellos dependientes de sus propiedades físico-químicas. Por ello, las pequeñas moléculas con un óptimo coeficiente de reparto acceden con facilidad a los compartimentos periféricos y presentan valores elevados del volumen aparente de distribución, a diferencia de los péptidos y proteínas que presentan valores relativamente pequeños. El elevado peso molecular de algunas biomoléculas constituye un factor limitante de la distribución tisular. Sin embargo, en algunos casos es posible alcanzar el lugar de acción en concentración suficiente para producir una respuesta terapéutica adecuada.

La especificidad en la localización del lugar de acción de muchos fármacos obtenidos por biotecnología obliga a mayores exigencias en su per-

fil de distribución. El desarrollo de los factores de crecimiento y genes recombinantes para promover la angiogénesis en el infarto de miocardio es un buen ejemplo de la importancia de esta característica farmacocinética (100). La administración endovenosa del factor de crecimiento de fibroblastos (FCF) no produce respuesta angiogénica en modelos experimentales de isquemia miocárdica. Por ello, ha sido necesario recurrir a la administración directa en el miocárdio, en el saco pericárdico o en el espacio perivascular para alcanzar la respuesta terapéutica deseada.

Una situación más problemática se plantea cuando se precisa el acceso intracelular de genes y oligonucleótidos antisentido cuya diana está localizada en el compartimento citosol/núcleo (101). En el momento actual la escasa capacidad de internalización y la inadecuada compartimentalización intracelular constituyen un problema básico en el progreso de la terapéutica antisentido. Recientemente, se han desarrollado diferentes métodos físicos (microinyección, bombardeo de partículas o «pistola génica», permeabilización, electroporización, etc.), que mejoran la captación celular de los oligonucleótidos en relación a los métodos convencionales de conjugación o aquellos que recurren a transportadores (liposomas, lipoplexes, policationes, etc.).

La selectividad en la distribución permite mejorar la relación beneficio-riesgo de numerosos medicamentos lo que puede incrementar su potencial terapéutico. Esta última consideración ha vuelto a poner de actualidad el concepto de «bala mágica» idealización introducida por Paul Erlich hace casi un siglo y que gracias a la biotecnología puede convertirse en una realidad (102).

Los sistemas de transporte coloidal como liposomas, nanopartículas, microsferas, etc. han sido utilizados para prolongar el tiempo de circulación de numerosas moléculas, protegerlas de la degradación y dirigirlas a tejidos diana. Estos sistemas tienen dificultades para acceder a los tejidos sanos, debido, entre otros factores a su tamaño especialmente si supera 20 nm, considerado el tamaño crítico para la mayoría de los tejidos.

Los liposomas son opsonizados por las proteínas plasmáticas en la circulación sistémica y reconocidos por el sistema retículoendotelial (SRE) acumulándose preferentemente en el hígado. Los liposomas son vehículos adecuados para el transporte de péptidos y proteínas inmunomoduladoras debido a su absorción linfática y a la captación y metabo-

lismo por los macrófagos. Ello ha impulsado el desarrollo de liposomas conteniendo interleuquina-2, factores de crecimiento eritropoyético e interferones. Además, los liposomas como algunas macromoléculas, pueden acumularse también en los tumores debido a la falta de drenaje linfático normal y a la lenta velocidad de difusión.

Para evitar o reducir la captación por el SRE se ha optado preferentemente por incrementar la hidrofiliidad superficial mediante sialoconjugados sintéticos y más recientemente con PEG. Estos liposomas de lento aclaramiento conocidos como «stealth» han sido utilizados para la vectorización activa y pasiva de medios diagnósticos y terapéuticos.

Las mayores dificultades se plantean para dirigir los liposomas a aquellos tejidos donde normalmente no se acumulan. Ello ha obligado al desarrollo de diferentes tipos de vectores como oligosacáridos, oligonucleótidos, péptidos, proteínas, vitaminas, anticuerpos monoclonales y receptores.

En principio sería posible dirigir los liposomas a todo tipo de células siempre que los vectores sean adecuados, aunque algunos problemas como el acceso a los tejidos y el rápido aclaramiento pueden disminuir las posibilidades terapéuticas.

El desarrollo de los anticuerpos monoclonales representa una de las técnicas más poderosas para dirigir fármacos, tóxicos, isótopos y enzimas a su lugar de acción. El Gemtuzumab es un anticuerpo recombinante humanizado dirigido frente al antígeno CD33 y unido a la calicheamicina, un potente antibiótico tumoral. Se trata del primer fármaco vectorizado introducido en quimioterapia y ha sido aprobado por la FDA a finales del año 2000 en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda en casos de recidivas. El gemtuzumab se une al antígeno CD33, expresado en el 80-90% de los pacientes con leucemia mieloide aguda, penetrando en la célula y liberando el agente citotóxico que provoca la muerte celular.

El potencial terapéutico de estos agentes se ha incrementado desde la introducción de la tecnología del hibridoma en los años 70 y actualmente se dispone de fármacos inhibidores de la reactividad aloimmune y autoimmune, antitumorales, antiplaquetarios antivirales etc. En España se han introducido recientemente el transtuzumab, el infliximab y el rituzimab, aunque otros muchos se encuentran en diferentes fases de desarro-

llo, alcanzando casi un 25% de todos los productos obtenidos por biotecnología (103).

A pesar de las ventajas potenciales que presentan al fijarse selectivamente a las células diana, su incorporación a la terapéutica presentó mayores dificultades de las inicialmente previstas. Entre ellas figuran la capacidad limitada de penetración tisular que depende, entre otros factores, de las dimensiones del anticuerpo. Los anticuerpos convencionales son proteínas de elevado peso molecular que presentan una baja capacidad de acceso a tejidos especialmente aquéllos que tienen escasa vascularización. En terapéutica oncológica con anticuerpos monoclonales, la relación de concentraciones entre el tumor y la circulación sistémica se incrementa lentamente durante varios días debido a la eliminación del anticuerpo y en menor grado a la captación tumoral (104).

La extravasación de los anticuerpos monoclonales se produce fundamentalmente por difusión o convección a través de los poros en el endotelio vascular y en menor medida por transcitosis. Los vasos sanguíneos de los tejidos tumorales presentan una mayor permeabilidad que las paredes vasculares de los tejidos normales. La inflamación está asociada con cambios regionales de la estructura, composición química y permeabilidad del endotelio vascular. Sin embargo, a la convección a través del endotelio vascular se opone la presión de los fluidos en el nódulo tumoral.

El incremento del transporte de macromoléculas en la inflamación es debido a la producción de poros (0,08-1,4 μ m) en el endotelio de las vénulas postcapilares asociado a la contracción de las células epiteliales. Se admite que las macromoléculas con un peso molecular hasta 37.000 pasan por procesos relacionados con la difusión. Con un peso molecular superior a 50.000 quedaría limitada la permeabilidad en tejidos normales aunque, no necesariamente, en tejidos inflamatorios o tumorales (105).

La patofisiología de los tejidos tumorales difiere significativamente de la de los tejidos normales que los rodean. En el tejido tumoral persisten dos tipos de vasos: la vasculatura persistente junto con los vasos resultantes de la respuesta angiogénica inducida por las células tumorales. Hay importantes diferencias en la composición celular, la forma de la membrana basal y el tamaño de los espacios interendoteliales. Una vez que la molécula alcanza el espacio intersticial su transporte es regulado por las propiedades fisiológicas locales. El intersticio tumoral se caracteriza por su gran volumen intersticial,

una alta capacidad de difusión y ausencia de drenaje linfático. La elevada presión intersticial de los tejidos tumorales retrasa la extravasación de macromoléculas, mientras que la gran permeabilidad y la alta difusibilidad intersticial de las macromoléculas facilitan su migración a los tejidos tumorales. Adicionalmente, la ausencia de drenaje linfático facilita la acumulación de las macromoléculas en el tumor y en los tejidos que rodean el lecho vascular.

Diversos estudios han demostrado que la captación de los anticuerpos monoclonales por los tejidos tumorales es baja y representa el 0,0001 al 0,01% de la dosis administrada. No obstante, la relación concentración tumoral/concentración en tejidos normales es habitualmente >3:1 alcanzando valores de 30-40:1 en algunas localizaciones (105).

Se han realizado considerables esfuerzos para superar algunas de las limitaciones que presentan los anticuerpos monoclonales para su utilización clínica, entre ellas la reducción de su tamaño. Así se han desarrollado fragmentos de anticuerpos obtenidos por digestión química y tecnología recombinante como son los fragmentos F(ab')₂, Fab y Fv, los cuales presentan la ventaja de mejorar la penetración tumoral, aumentar el aclaramiento plasmático y reducir el poder inmunogénico.

La conjugación de anticuerpos monoclonales con liposomas, denominados inmunoliposomas, presenta algunas ventajas respecto al complejo anticuerpo monoclonal-fármaco. Los liposomas pueden contener una gran variedad de medios diagnósticos y terapéuticos tanto de carácter hidrofílico como lipofílico, contienen una alta cantidad de principio activo por unidad de peso, protegen el agente encapsulado y facilitan el acceso a células antigénicas (106, 107).

Pese a estas ventajas, demostradas en estudios *in vitro*, su disposición *in vivo* presenta importantes limitaciones, que han podido ser superadas asociando diversos ligandos. Actualmente se están realizando importantes progresos con el uso de fragmentos Fab' incorporados a liposomas estabilizados con PEG.

6. EL FUTURO DE LA FORMULACIÓN FARMACÉUTICA

Actualmente se está produciendo un importante incremento en el desarrollo de formulaciones de liberación modificada, hecho impulsado, en

parte, por la expiración de más de 50 patentes en 2005 entre las que se incluyen importantes medicamentos susceptibles de mejorar su rendimiento terapéutico. Este incremento afecta también a principios activos protegidos por patente, especialmente dentro del grupo de fármacos biotecnológicos, según se deduce de los resultados recogidos en el reciente informe del *Centre for Medicines Research International* de 2003 (108).

Las formulaciones orales de liberación modificada continúan ocupando el primer lugar dentro de los programas de I+D de las compañías farmacéuticas, según informaba *The Pharmaceutical R&D Compendium* en 2000 (109). Las formulaciones destinadas a la administración por vía oral ocupan un lugar destacado seguidas de aquéllas que se administran por vía intravenosa, pulmonar y transdérmica. Dicho informe señala que en 2001 se destinó un 15% del presupuesto total en I+D al desarrollo de formulaciones de liberación modificada, las cuales representaban casi el 50% de todos los proyectos de I+D de la industria farmacéutica en EE.UU.

El futuro de la formulación farmacéutica no sólo es previsible, sino que ya se ha convertido en un presente, calificado de apasionante, por el Prof. Teruo Okano del *Institute of Advanced Biomedical Engineering* de Tokio, al hacer referencia a las aportaciones de la nanociencia en la optimización del proceso de liberación de los medicamentos desde las nuevas formas de dosificación. Para los lectores interesados en este tema les remitimos a la página web del *Institute of Nanotechnology* (<http://www.nano.org.uk>).

La aplicación de la micro y nanotecnología a la biomedicina ofrece un enorme potencial para el desarrollo de nuevos medios diagnósticos y terapéuticos. En los últimos años, la tecnología de la microfabricación ha sido aplicada con éxito en algunas áreas sanitarias incluyendo agentes de diagnóstico (*lab-on-a-chip*), así como a sistemas, técnicas y aparatos para el *screening* de alto rendimiento en la búsqueda de candidatos a nuevos medicamentos (110).

Aunque la investigación en dispositivos microfabricados para aplicaciones biomédicas (BIOMEMS) se ha desarrollado significativamente, todavía son escasas las experiencias en las aplicaciones terapéuticas de la microtecnología (111).

La tecnología de la microfabricación ha sido aplicada para controlar el proceso de liberación en dispositivos programables que pueden ser implan-

tados en el organismo como son los microchips. La primera descripción de las aplicaciones potenciales de los microchips en este área de la terapéutica fue publicada en 1999 en *Nature* por Rober S. Langer (112). El prototipo consistía en una pequeña lamina de silicio de 17 mm x 17 mm x 310 μm (superficie de una moneda de 2 céntimos de euro) que contenía 34 reservorios de fármaco. Los reservorios de 25 nl estaban sellados con una fina lámina de oro para servir de ánodo en una reacción electroquímica de apertura, incorporándose posteriormente válvulas poliméricas. Los primeros estudios están siendo dirigidos al tratamiento del cáncer y la hepatitis B, habiéndose iniciado recientemente los primeros ensayos clínicos (113, 114).

Otras aplicaciones de la tecnología de la microfabricación son: las microagujas de silicio para aplicación transdérmica (115), las micropartículas bioadhesivas para sistemas de liberación por vía oral (116) y las biocápsulas para el alotransplante en ausencia de inmunosupresión, que ha sido recientemente aplicado al tratamiento de la diabetes (117).

Numerosas enfermedades están asociadas con deficiencias en las funciones metabólicas o secretoras desempeñadas por las células. La infusión o transplante de células constituye, desde la introducción de las transfusiones sanguíneas, una alternativa para la liberación de factores, hormonas o enzimas que no pueden ser producidas por células o tejidos. La microencapsulación de células es una estrategia basada en la inmovilización de células en matrices poliméricas recubiertas por membranas semipermeables. Estas matrices permiten proteger las células de la respuesta inmune del huésped y aumentar la producción de los factores que las células secretan. En principio, presenta ventajas sobre la encapsulación de proteínas por la posibilidad de regular el proceso de liberación en función de los requerimientos fisiológicos. Esta técnica exige trabajar con materiales altamente biocompatibles que no estimulen la respuesta inmune del huésped ni interfieran en la homeostasis celular. Por otra parte, resulta prioritario adaptar el sistema de inmovilización, en este caso las microcápsulas a las propiedades intrínsecas de la línea celular a inmovilizar. El alginato sódico es considerado el polímero ideal para generar tanto la matriz como la cubierta externa de las microcápsulas, mientras que se recurre a la poli-L-lisina como el polication destinado a recubrir la matriz de alginato. En los últimos años diferentes tipos de células (fibroblastos, islotes pancreáticos, mioblastos, etc.) han sido encap-

suladas dando lugar al desarrollo de páncreas e hígado bioartificiales, así como posibles alternativas al tratamiento de la enfermedad de Parkinson, cáncer, diabetes, etc. (118).

La terapia génica, cuyas posibilidades, excesivamente optimistas, se apuntaron desde finales de los años 80 al conocerse los resultados de los primeros estudios experimentales lleva asociada una importante complejidad técnica que incluye la obtención de sistemas eficaces de transferencia (119). Aunque, hasta el momento se han desarrollado numerosos vectores, principalmente virales, ninguno alcanza las exigencias requeridas para que la terapia génica llegue a un nivel de desarrollo que la permita ser considerada una alternativa a la terapéutica farmacológica. Los vectores no virales presentan algunas ventajas relacionadas con una mayor bioseguridad y facilidad de manipulación, así como no presentar limitación inicial de tamaño del ADN a transportar. Entre estos vectores destacan los policonjugados, como los dendrímeros de polian-doaminas, los conjugados moleculares (poliplexes), los liposomas catiónicos (lipoplexes y algunos derivados peptídicos (peptiplexes) (120)

Diferentes compañías han surgido, principalmente en EE.UU., Alemania y Francia, que se han especializado en el diseño y fabricación de nuevas formulaciones que utilizan una avanzada tecnología.

TABLA 3

Principales compañías especializadas en nuevas formulación de liberación modificada (121)

<i>Compañía</i>	<i>Tecnología</i>	<i>Descripción del producto</i>
NanoSpectra Biosciences (Houston, TX)	Nanopartículas	Nanopartículas en terapias oculares.
Sontra Medical Corporation (Franklin)	Tecnología ultrasonidos	Sono Prep ^l ultrasonidos vía transdérmica.
MacroMed Inc. (Sandy, UT) EE.UU.	Microesferas PLGA	Mejoras en la biodisponibilidad
Neurotech SA (Evry) Francia	Células encapsuladas	Microencapsulación de células humanas
CellMed (Alzenau, Alemania)	Células encapsuladas	Terapéutica ocular y tumoral
MicroCHIPS Inc. (Bedford, MA) EE.UU.	Microchips	Dispositivos microfabricados. Vía parenteral
Nektar Therapeutics (S. Carlos, CA) EE.UU.	Pegilación	PEG-proteínas, oligonucleótido
Insert Therapeutics (Pasadena, CA) EE.UU.	Ciclodextrinas	Complejos con ciclodextrina
ALZA (Mountain view, CA) EE.UU.	Nanotecnología	Doxil ^l nanopartículas-PEG
Advectus Life Sci (W Vancouver) EE.UU.	Nanotecnología	Citotóxicos para tumores cerebrales
Eurand (Nogent-Cedex). Francia	Glytech	Inhibición o bloqueo reversible de la P-glicoproteína

Las nuevas formulaciones farmacéuticas además de su interés sanitario, al permitir mejorar la efectividad clínica y/o la seguridad de uso de los medicamentos, tienen también un gran interés desde el punto de vista industrial por su elevado impacto económico.

El mercado de las formulaciones de liberación modificada en EE.UU. experimentará un crecimiento desde los 34.400 millones de dólares en el año 2001 hasta los 74.400 millones de dólares previstos en el año 2008 (122). La tabla 4 recoge la previsión de ventas de formulaciones de liberación controlada en EE.UU. para el periodo 2001-2008.

TABLA 4
Previsión de ventas de formaulaciones de liberación controlada en EE.UU. en millones de dólares

	2001	2002	2003	2008	IMA (%)
Formulaciones de liberación controlada (vías oral, inyectable y tópica)	17.710,2	19.482,8	21.475,6	34.102,6	9,7
Implantes y dispositivos intrauterinos	1.000	1.185	1.387,2	2.485,4	12,4
Fármacos de liberación transdérmica	2.010,3	2.311,9	2.648,1	4.485,4	11,1
Vectorización de fármacos	6.271,3	7.309,2	8.317,7	15.471,9	13,2
Fármacos de liberación transmucosa	7.358,8	8.409,9	9.714,8	17.713,6	12,8
Otros	107,8	119,5	131	211,1	10
Total	34.458,4	38.818,3	43.674,4	74.470	11,3

* Incremento Medio Anual.

Las posibilidades de la formulación farmacéutica en el futuro parecen ilimitadas y están asociadas al desarrollo tecnológico que tiene tan alto impacto en nuestra sociedad en el comienzo del nuevo milenio. Los momentos actuales son considerados críticos para la industria farmacéutica innovadora, al haber descendido, de forma alarmante, el número de nuevas entidades químicas que hagan aportaciones interesantes en los diferentes campos de la terapéutica. Por ello, la Tecnología Farmacéutica se encuentra en una situación inmejorable para aplicar su potencial en el desarrollo de nuevas formulaciones que permitan mejorar el perfil terapéutico de los medicamentos que siguen siendo considerados un elemento esencial de la asistencia sanitaria.

Cuando finalizábamos la redacción de este capítulo se publicaba en el *Journal of the American Medical Association* (123) un artículo sobre la capacidad del ET-216, una proteína obtenida mediante ingeniería genética, para reducir la placa de ateroma en las arterias de pacientes que habían sufrido un síndrome coronario. ¿Será éste un nuevo desafío para la Tecnología Farmacéutica?

7. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Pharmaceutical Research and Manufacturers of America. (2003) Toward the future: visionary policies for the next 25 years. (<http://www.phrma.org>).
- (2) Gibaldi, M. (2002) *Gibaldi's Drug Therapy. A Critical Review of Therapeutics*. McGraw-Hill. Health Professions Division. New York.
- (3) Pharmaceutical Research and Manufacturers of America. (2003) A Decade of Innovation. Advances in the pharmaceutical treatment. (<http://www.phrma.org>).
- (4) Pharmaceutical Research and Manufacturers of America. (2003) Dramatic Growth of Research and Development. (<http://www.phrma.org>).
- (5) Banker, G.S. (1996) Drug products: their role in the treatment of disease, their quality and their status as drug delivery systems. En: *Modern Pharmaceutics 3.^a ed. Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, vol. 72. Marcel Dekker. New York.
- (6) Waterbeemd, H., Gifford, E. (2003) ADMET in silico modelling: towards prediction paradise? *Nat. Rev. Drug Discovery* 2: 192-204.
- (7) Tymchak, W. (2003) Clinical trial of FK506E (MR4). Discussion of *Cardiol. University of Alabama*.
- (8) Orive, G., Hernández, M.R., Gascón, A., et al. (2003) Drug delivery in biotechnology: present and future. *Curr. Opin. Biotechnol.* (en preparación).
- (9) Byrns, S., Pfeiffer, R., Ganey, M. (1995) Pharmaceutical solids: a strategic approach to regulatory considerations. *Pharm. Res.* 12: 945-953.
- (10) Avdeef, A. (2001) Physicochemical profiling (Solubility, Permeability and Charge State). *Curr. Topics Med. Chem.* 1: 277-351.
- (11) Hörter, D., Dressman, J.B. (1997) Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 25: 3-14.
- (12) Zhao, Y.H., Abraham, M.H., Lee, J. (2002) Rate limited steps on human oral absorption an QSAR studies. *Pharm. Res.* 17: 1446-1457.
- (13) Kerns, E.H. (2001) High throughput physicochemical profiling for drugs discovery. *J. Pharm. Sci.* 90: 1838-1858.

- (14) Washington, N., Washington, C., Wilson, C. (2001) *Physiological pharmaceuticals*. En: *Barriers to drug absorption*. 2.^a ed. Taylor and Francis, London.
- (15) Kanfer, I. (2002) Report on the international workshop on the biopharmaceutics classification system (BCS): scientific and regulatory aspects in practice. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 5: 1-4.
- (16) Waiver of in vivo Bioavailability and Bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System. FDA Center for Evaluation and Research (CDER), Agosto 2000.
- (17) Martínez, M.N., Amidon, G.L. (2002) A Mechanistic approach to understanding the factors affecting drug absorption: a review of fundamentals. *J.Clin. Pharmacol.* 42: 620-643.
- (18) Seip, M. (2003) *Biopharmaceutics classification system «State of the art in development and practice»*. Master for regulatory and practice.
- (19) Löbenberg, R., Amidon, G.L. (2000) Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption. *Pharm. Res.* 17: 439-450.
- (20) García Sánchez, M.J. (2003) Predicción de la absorción de medicamentos por vía oral: aplicación de modelos «in silico». Real Academia de Medicina de Valladolid.
- (21) En: <http://www.nature.com/review/drugdisc>. Último acceso Marzo, 2003.
- (22) Lippman, M. (1995) On set of analgesic agent revisited. *Clin. Pharmacol. Ther.* 57: 366.
- (23) Leonard, G.D., Polgar, O., Bates, S.E. (2002) ABC transports inhibitors: new targets, new agents. *Curr. Opin. Invest. Drugs* 3: 1652-1659.
- (24) Varma, M.V., Ashokray, Y., Dey, C.S. (2003) P-glycoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. *Pharmacol. Res.* 48: 347-359.
- (25) Desarrollo farmacéutico de las formulaciones con Ibuprofeno-Arginina. Laboratorio Zambón. Barcelona.
- (26) Tong, W.Q., Whitesell, G. (1998) In situ salt screening; a useful technique for discovery support and preformulation studies. *Pharm. Dev. Technol.* 3: 215-223.
- (27) Byrn, S., Pfeiffer, R., Ganey, M., et al. (1995) Pharmaceutical solids: a strategic approach to regulatory considerations. *Pharm. Res.* 12: 945-955.
- (28) Davies, G. (2001) Changing the SALT, changing the drug. *Pharm. J.* 266: 322-323.
- (29) Davies, G. (2001) Different salt, different product-implications for drug approval and public health in Europe. *ESRA Reporteur* 8: 28-32.

- (30) Salt selection. (Último acceso: <http://www.ssci-inc.com>).
- (31) Stahl, P.H., Wermuth, C.G. (2003) Handbook of pharmaceutical salts. IUPAC. Wiley-VHC, New York.
- (32) Wells, J. (1996) Pharmaceutical preformulation: the physicochemical properties of drug substances. In Scientific principles of dosage form design. Marcel Dekker. New York.
- (33) Vippagunta, S.R., Brittain, H.G., Grant, D.J.W. (2001) Crystalline solids. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 48: 3-26.
- (34) Bauer, J., Spanton, S., Henry, R. (2001) Ritonavir: an extraordinary example of conformational polymorfism. *Pharm. Res.* 18: 859-866.
- (35) Zhan, G.Z., Gu, C.H., Zell, M. (2002) Crystallization and transitions of sulfamerazine polymorphs. *J. Pharm. Sci.* 91: 1089-1100.
- (36) Gu, C.H., Young, V., Grant, D.J. (2001) Polymorfism Screening: influence of solvents on the rate of solvent-mediated polymorfic transformation. *J. Pharm. Sci.* 90: 1878-1890.
- (37) Caldwell, J. (1992) The importance of stereochemistry in drug action and disposition. *J. Clin. Pharmacol.* 32: 925-929.
- (38) Brocks, D., Jamali, F. (1995) Stereochemical aspects of pharmacotherapy. *Pharmacotherapy* 15: 551-564.
- (39) Stoschitzky, K., Koshucharova, G., Lercher, P., et al. (2001) Stereoselective effects of (R) —and (S)— carvedilol in humans. *Chirality* 13: 342-346.
- (40) Aboul-Enein, H.Y., Abou Basha, L.I. (1997) Chirality and drug hazards. En: *The Impact of Stereochemistry on Drug Development and Use*. Chapter 1. Aboul-Enein, H.Y., Wainer, I.W. (eds). John Wiley and Sons, Inc. New York. Pág. 1-17.
- (41) Gentar, R.M., Rinoli, G., Fioccar, R. (2003) Effects of 6-12 months of esomeprazol treatment on the gastric mucosa. *Am. J. Gastroenterology* 98: 1257-1265.
- (42) Gal, J. (1993) Indirect methods for the chromatographic resolution of drug enantiomers: Synthesis and separation of diastereomeric derivatives. En: *Drug Stereochemistry: Analytical Methods and Pharmacology*, 2nd edition. Wainer, I.W. (ed). Marcel Dekker, New York. Pág. 65-106.
- (43) Abernethy, D.R., Andrawis, N.S. En: *Stereochemistic Drugs in Therapeutics Clinical Perspectives*, 2nd edition. Living, W., Wainer, I.W. (eds). Marcel Dekker, New York. Pág. 386-394.
- (44) Kroemer, H., Fromm, M., Eichelbaum, M. (1996) Stereoselectivity in drug metabolism and action: effects of enzyme inhibition and induction. *Ther Drug Monit.* 18: 388-392.

- (45) Brocks, D.R., Jamali, F. (1995) Stereochemical aspects of pharmacotherapy. *Pharmacotherapy* 15: 551-564.
- (46) Powell, J.R., Ambre, J.J., Ruo, T.I. (1988) The efficacy and toxicity of drug stereoisomers. En: *Drug Stereochemistry. Analytical Methods and Pharmacology*. Wainer, I.W., Drayer, D.E. (eds). Marcel Dekker, New York. Pág. 245-268.
- (47) Panchaluga, R., Sumil Thomas, N. (2000) Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. *Int. J. Pharm.* 200: 131-150.
- (48) Uekama, K. (1999) Cyclodextrins in drug delivery system. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 36: 1-2.
- (49) Szente, L., Szejtli, J. (1999) Highly soluble cyclodextrin derivatives: chemistry, properties, and trends in developments. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 36: 17-28.
- (50) Stella, V.J., Rao, V.M., Zannou, E.A., et al. (1999) Mechanisms of drug release from cyclodextrin complexes. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 36: 3.-16.
- (51) Stella, V.J., Rao, M.V., Jannon, E.A. (1999) Mechanisms of drug release from ciclodextrin complex. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 36: 3-16. MAL
- (52) Testa, B., Caldwell, L. (1996) Prodrug revisited: the «ad hoc» approach as a complement to ligand desing. *Med. Res. Rev.* 16: 233-241.
- (53) Urquhart, J. (2000) Controlled drug delivery: therapeutic and pharmacological aspects. *J. Int. Med.* 248: 357-376.
- (54) Benson, H., Prankerd, R. (1997) Optimisation of drug delivery. 3. Sustained/controlled-release oral drug delivery. *Australian J. Hosp. Pharmacy* 27: 381-389.
- (55) Meibohm, B., Derendorf, H. (2002) Pharmacokinetic/pharmacodynamic studies in drug product development. *J. Pharm. Sci.* 91: 18-31.
- (56) National Prescribing Centre. (2000) McRec Bulletin. Modified-release preparations. 11: 13-15.
- (57) Hughes, D.A., Bagust, A., Haycox, A., et al. (2001) Accounting for noncompliance in pharmaco-economic evaluations. *Pharmacoeconomics* 19: 1185-1197.
- (58) Hughes, D.A., Gagcust, A., Hagcox, A. (2001) Accounting for noncompliance in pharmaco-economic evaluations. *Pharmacoeconomics* 19: 1185-1197. MAL
- (59) Adam, D., Glaser-Caldow, E., Wachter, J., et al. (2001) Compative efficacy of clarithromycin modified-release and clarithromycin immediate-release formulations in the treatment of lower respiratory tract infection. *Clin. Ther.* 23: 585-595.
- (60) Chung, M., Vashi, V., Puente, J., et al. (1999) Clinical pharmacokinetics of doxazosin in a controlled-release gastrointestinal therapeutic system (GITS) formulation. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 48:678-687.

- (61) Shionoiri, H., Yasuda, G., Yoshimura, H., et al. (1987) Antihypertensive effects and pharmacokinetics of single and consecutive administration of doxazosine in patients with mild to moderate essential hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 10: 90-95.
- (62) Stalth, S.M. (2003) At long last, long lasting psychiatric medications: an overview of controlled-release technologies. *J. Clin. Psychiat.* 64: 355-356.
- (63) Reddy, K.R. (2000) Controlled-release, pegylation, liposomal formulations: new mechanisms in the delivery of injectable drugs. *Ann. Pharmacother.* 34: 915-923.
- (64) Benson, H., Pranker, R. (1998) Optimisation of drug delivery. 6. Modified-release parenterals. *Australian J. Hosp. Pharm.* 28: 99-104.
- (65) Love, R. (2002) Strategies for increasing treatment compliance: the role of long-acting antipsychotics. *Am. J. Health Sist. Pharm.* 59 (Supl 8): S10-S15.
- (66) Murillo, M., Espuelas, S., Prior, S., et al. (2001) Liberación controlada de principios activos mediante el empleo de formulaciones galénicas. *Rev. Med. Univ. Navarra* 45: 19-34.
- (67) Olivi, A., Grossman, S.A., Tatter, S. (2003) Dose escalating of carmustine in surgically implanted polymers in patients with recurrent malignant glioma: a new approach to brain tumor therapy CNS consortium trial. *J. Clin. Oncol.* 21: 1845-1849.
- (68) Naik, A., Kalia, Y.N., Guy, R.H. (2000) Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharm. Sci. Technol. Today* 3: 318-326.
- (69) Asbill, C.S., El-Kattan, A.F., Michniak, B. (2000) Enhancement of transermal drug delivery products. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 17: 621-658.
- (70) Gordon, R.D. (2003) 4 Myths about transdermal drug delivery transdermal drug delivery. *Drug Delivery Technol.* 8: 28-35.
- (71) Allen, L.V. (2002) Basic of compounding: Iontophoresis. *Int. J. Pharm. Compound* 6: 194-197.
- (72) Suárez, S., Hickey, J.A. (2000) Drug properties affecting aerosol behavior. *Respir. Care* 45: 652-666.
- (73) Carveth, H.J., Kanner, R.E. (1999) Optimizing deposition of aerosolised drugs in the lung: a review. *Medscape Gen. Med.* 1: 1-10.
- (74) Brooks, A.D., Tong, W., Benedetti, F., et al. (1999) Inhaled aerosolization of all-trans-retinoic acid for targeted pulmonary delivery. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 44: 277-283.
- (75) Parthasarathy, R., Gilbert, B., Mehta, K. (1999) Aerosol delivery of liposomal all-transv-retinoic acid to the lungs. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 44: 187-192.

- (76) Ardf, J.G., Chadwick, T.S. (2000) Sustained release drug delivery to the lungs. An option for the future. *Clin. Pharmacokinet.* 39: 1-4.
- (77) Lawrence, R.N. (2001) Intelligent inhalers for systemic administration? *Drug Discov. Today* 6: 445-446.
- (78) Illum, L. (2003) Nasal drug delivery possibilities, problems and solutions. *J. Contr. Releas.* 87: 187-198.
- (79) Illum L. (2002) Nasal drug delivery: new developments and strategies. *Drug Discov. Today* 7: 1184-1189.
- (80) Fischer, G.A., Parkinson, T.M., Sziel, M. (1998) The future of ocular drug delivery. *Drug Technology* 62: 1-10.
- (81) *Convergence: Ernst & Young Biotechnology Industry, Millennium Edition, 2000.*
- (82) Steinberg, F.M., Raso, J. (1998) Biotech Pharmaceuticals and Biotherapy: An overview. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 1998; 1: 48-59.
- (83) Norris, D.A., Puri, N., Sinko, P.J. (1998) The effect of physical barriers and properties on the oral absorption of particulates. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 34: 135-154.
- (84) Brayden, D.J., O'Mahony DJ. (1998) Novel oral drug delivery gateways for biotechnology products: polypeptides and vaccines. *Pharm. Sci. Technol. Today* 1: 291-299.
- (85) Stoll, B.R., Leipold, H.R. (2000) A mechanistic análisis of carrier-mediated oral delivery of proteins therapeutics. *J Control Release* 64: 217-30.
- (86) Burke, P.A., Putney, S.D. (1998) Improving protein therapeutics with sustained-release formulations. *Nat. Biotchnol.* 16: 153-157.
- (87) Bartus, R.T., Tracy, M.A., Emerich, D.F. (1998) Sustained delivery of proteins for novel therapeutic products. *Science* 281: 1161-1162.
- (88) Langer, R. (1998) Drug delivery and targeting. *Nature* 392: 5-10.
- (89) Milton, H. (ed). (1997) *Poly (ethylenglycol) Chemistry and Biological Applications.* American Chemical Society. Washington DC.
- (90) Holle, L. (1997) Pegaspargase: an alternative? *Ann. Pharmacother.* 31: 616-623.
- (91) Charles, S., Harris, J., Milton, C. Improving hepatitis C. (2000) *Ther Modern Drug Discov.* 5: 59-67.
- (92) Mehvar, R. (2000) Modulation of the pharmacokintics and pharmacodynamics of protein by polyethylene glycol conjugation. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 3: 125-136.
- (93) Macdongall, I.C. (2000) Novel erythropoiesis stimulating factor. *Semin. Nephrol.* 20: 375-381.

- (94) Reddy Rajender, K. (2000) Controlled-release, Pegylation, Liposomal formulations: new mechanisms in the delivery of injectable drugs. *Ann. Pharmacother.* 34: 915-923.
- (95) Kumar, M.N. (2000) Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 3: 234-258.
- (96) Bruce, K.R. (2000) Experimental macromolecular aerosol therapy. *Respiratory Care* 45: 684-694.
- (97) Skyler, J.S., Cefalu, W.T., Kourides, I.A. (2001) Efficacy of inhaled human insulin in type 1 diabetes mellitus: a randomised proof-of-concept study. *Lancet* 357: 331-335.
- (98) <http://www.flumist.com> (consultado 14-11-2003).
- (99) Cohen, G.M., Nettelman, M.D. (2000) Economic impact of influenza vaccination in preschool children. *Pediatrics* 106: 973-976.
- (100) Kornowski, R., Fuchs, S., Martín, L. (2000) Delivery strategies to achieve therapeutic myocardial angiogenesis. *Circulation* 101: 454-458.
- (101) Prankerd, R.J., Benson, G., Haerther, A.E. (1999) Optimisation of Drug Delivery 12. Delivery of gene therapy. *Australian J. Hosp. Pharm.* 29: 149-154.
- (102) Francis, G.E. (ed). (2000) *Drug Targeting Strategies, Principles and applications.* Humana Press Totowa. New Jersey.
- (103) Alpaugh, K., Von Mehern, M. (1999) Monoclonal antibodies in cancer treatment. A Review of Recent Progress. *Biodrugs* 12: 209-236.
- (104) Reilly, R.M., Sandhu, J. (1995) Problems of delivery of monoclonal antibodies. Pharmaceutical and pharmacokinetics solutions. *Clin. Pharmacokin.* 28: 126-142.
- (105) Takakura, Y., Mahato, R., Hashida, M. (1998) Extravasation of macromolecules. *Adv. Drug Deliver. Rev.* 34: 93-108.
- (106) Forssen, E., Willis, M. (1998) Ligand-targeted liposomes. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 29: 249-271.
- (107) Oku, N., Tokudome, Y., Asai, T. (2000) Evaluation of Drug Targeting strategies and liposomal trafficking. *Current Pharmaceutical Desing* 6: 1669-1691.
- (108) Kermani, F., Findlay, G. (2003) Making drug delivery alliances successful. *Drug Delivery Technology.*
- (109) Findlay, G., Dermeni, F. (ed). *The Pharmaceutical R&D Compendium 2000: CMR International/Scrip's Complete Guide to trends in R&D.* <http://www.cmr.org/r&dcompendium.html>.
- (110) Drews, J. (2000) Drug discovery: a historical perspective. *Science* 287: 1960-1964.

- (111) Tao, S.L., Desai, T.A. (2003) Microfabricated drug delivery systems: from particles to pores. *Adv. Drug Deliver. Rev.* 55: 315-328.
- (112). Santini, J.T., Cima, M.J., Langer, R. (1999) A controlled-release microchip. *Nature* 397: 335-338.
- (113) Santini, J.T., Richards, A.C., Scheidt, R., et al. (2000) Microchips as controlled drug-delivery devices. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 39: 2396-2407.
- (114) Zhan, J.D., Peshmukh, A.A., Pisano, A.P., et al. (2001) Continuous on-chip micropumping through a microneedle. En: *Int. 14th Conf. MEMS*. Pág. 503-506.
- (115) Saffran, M., Kumar, G.S., Neckers, D.C., et al. (1990) Biodegradable azopolymer coating for oral delivery of peptide drugs. *Biochem. Soc. Trans.* 18: 752-754.
- (116) Henry, S., McAllister, D.V., Allen, M.G., et al. (1998) Microfabricated micro-needles: a novel approach to transdermal drug delivery. *J. Pharm. Sci.* 87: 922-925.
- (117) Desai, T.A., Chu, W.H., Tu, J.K., et al. (1998) Microfabricated immunisolating biocapsules. *Biotechnol. Bioeng.* 57: 118-120.
- (118) Orive, G., Hernández, M.R., Gascón, A., et al. (2003) Cell encapsulation: promises and progress. *Nat. Med.* 9: 104-107.
- (119) Anderson, W.F. (1998) Human gene. *Therapy* 392: 25-31.
- (120) Luo, D., Saltzman, M. (2000) Synthetic DNA delivery systems. *Nat. Biotech.* 18: 33-39.
- (121) Business Communications Company: Industry research and technical market analysis. (<http://www.bccresearch.com>).
- (122) Baichwal, A., Neville, D.A. (2003) Adding value to products Life-Cycle management: product end through drug delivery systems. *Drug Deliver. Technol. FAL-TAN VOL Y PGS.* (LO HE BUSCADO EN PUB MED Y NO APARECE)
- (123) Nissen, S.E., Tsunoda, T., Tuzcu, E.M. (2003) Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes. *J. Am. Med. Assoc.* 290: 2292-2300.

