

Calidad Biofarmacéutica. Estudios *in vitro* e *in vivo*.

Aquiles ARANCIBIA

*Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéuticas.
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.
Casilla 233, Santiago, Chile.*

RESUMEN. La optimización de los preparados farmacéuticos para su administración al organismo constituye uno de los objetivos fundamentales de la biofarmacia. El diseño de un preparado farmacéutico es un problema de gran complejidad, siendo necesario considerar numerosos factores para lo cual se requiere un adecuado análisis de las propiedades físicas y fisicoquímicas de los principios activos y de los excipientes, como asimismo del empleo de métodos *in vivo* que den cuenta de la biodisponibilidad. Las experiencias que configuran estos estudios deben considerarse dentro de un sistema integral que tiende a garantizar la calidad del medicamento.

SUMMARY. "Biopharmaceutical Quality. *In vitro* and *in vivo* Studies". The optimization of pharmaceutical dosage forms to be administered to the body is one of the main objectives of biopharmaceutics. The design of pharmaceutical formulations is a problem with a high degree of complexity, being necessary to take into account a number of factors, for which it is required a proper analysis of the physical and physicochemical properties of both the active principles and the excipients, as well as the use of *in vivo* methods to assess the bioavailability of the products. The experiments necessary to accomplish these studies must be considered inside an integral and general system of quality assurance of the drug products.

Generalmente se utiliza la curva dosis-respuesta para expresar la cuantía de los efectos de los medicamentos en el organismo¹. Esta ha sido la manera clásica de considerar el problema de la relación que existe entre la cantidad de medicamento administrado y la respuesta que se obtiene en el organismo (Figura 1).

Sin embargo, en los últimos años hemos aprendido que los efectos que producen los medicamentos en el cuerpo no son sólo el resultado de las propiedades intrínsecas de éstos, sino que la forma farmacéutica en que se administran tiene fundamental importancia en las acciones que ellos producen.

PALABRAS CLAVE: Biofarmacia; Desarrollo de Formulaciones Farmacéuticas; Calidad Biofarmacéutica; Biodisponibilidad.

KEY WORDS: Biopharmaceutics; Dosage Form Development; Biopharmaceutical Quality; Bioavailability

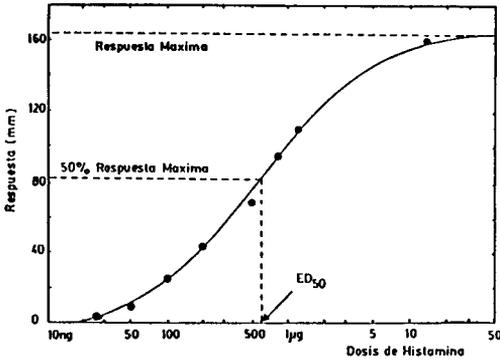


Figura 1. Curva típica de dosis (logarítmica) vs. respuesta de histamina actuando sobre ileon de cobayo. (Adaptado¹).

La Figura 2 es un esquema, desarrollado por el Dr. Barr hace algunos años, que describe los principales eventos que ocurren en diferentes partes del organismo en su trayectoria desde el punto en que el fármaco se administra hasta llegar al sitio de acción². Este esquema es la base de la biofarmacia, que estudia la influencia de las características físicas y físico-químicas de los medicamentos y de las formas farmacéuticas en que se administran, en los efectos biológicos que éstos producen.

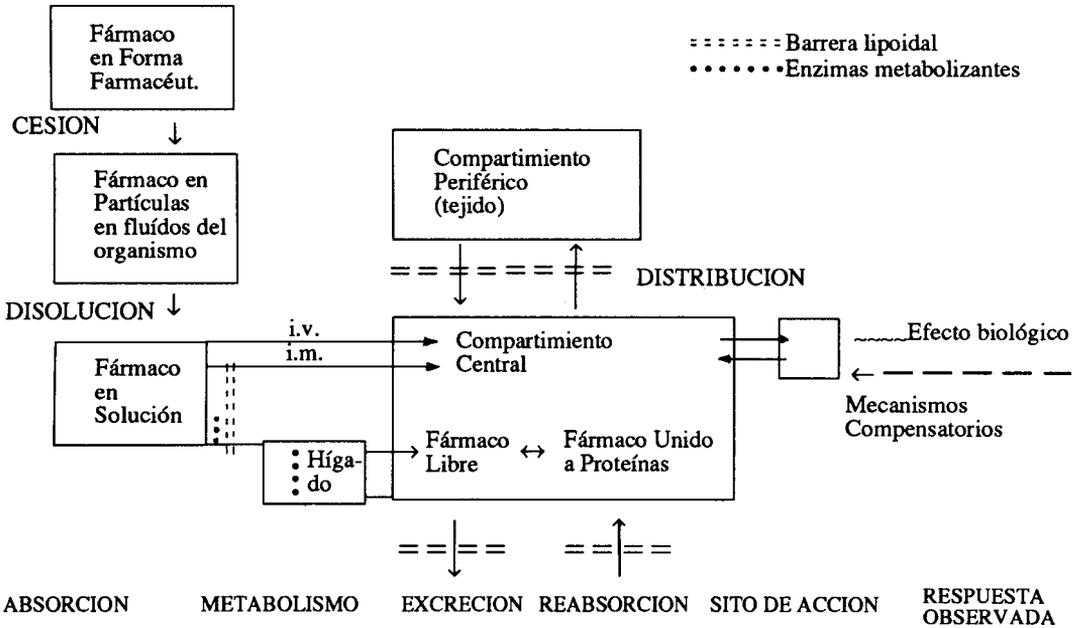


Figura 2. Esquematización del destino de los medicamentos administrados al organismo. (Adaptado²).

Cuando se habla de calidad de los medicamentos, en general debe entenderse como un sistema integral de control de calidad, que se puede definir como “un conjunto de esfuerzos efectivos de los diferentes grupos de una organización para la integración del desarrollo, mantenimiento y superación de calidad de un producto, con el fin de hacer posible, fabricaciones y servicios, a satisfacción completa del consumidor y al nivel más económico”³. A diferencia de los conceptos antiguos de control de calidad del producto terminado, en la actualidad la concepción es la de un sistema integral de calidad del medicamento.

La Figura 3 esquematiza cómo se relacionan las diferentes etapas que constituyen lo que se denomina la espiral de la calidad de un producto. Puede advertirse que

existe una retroalimentación continua que orienta el sentido de la investigación y el desarrollo. Se trata en realidad de un verdadero circuito de calidad que debe estar presente en todas las etapas del producto. Debe haber una "calidad de objetivo", una "calidad del programa que se desarrolla para cumplir ese objetivo", una "calidad de diseño", una "calidad en la fabricación", una calidad en la distribución", una "calidad de servicio", de los "problemas relacionados con los servicios después de la venta", y la retroalimentación" que cierra el circuito. Esta es la concepción moderna del control de la calidad ³.

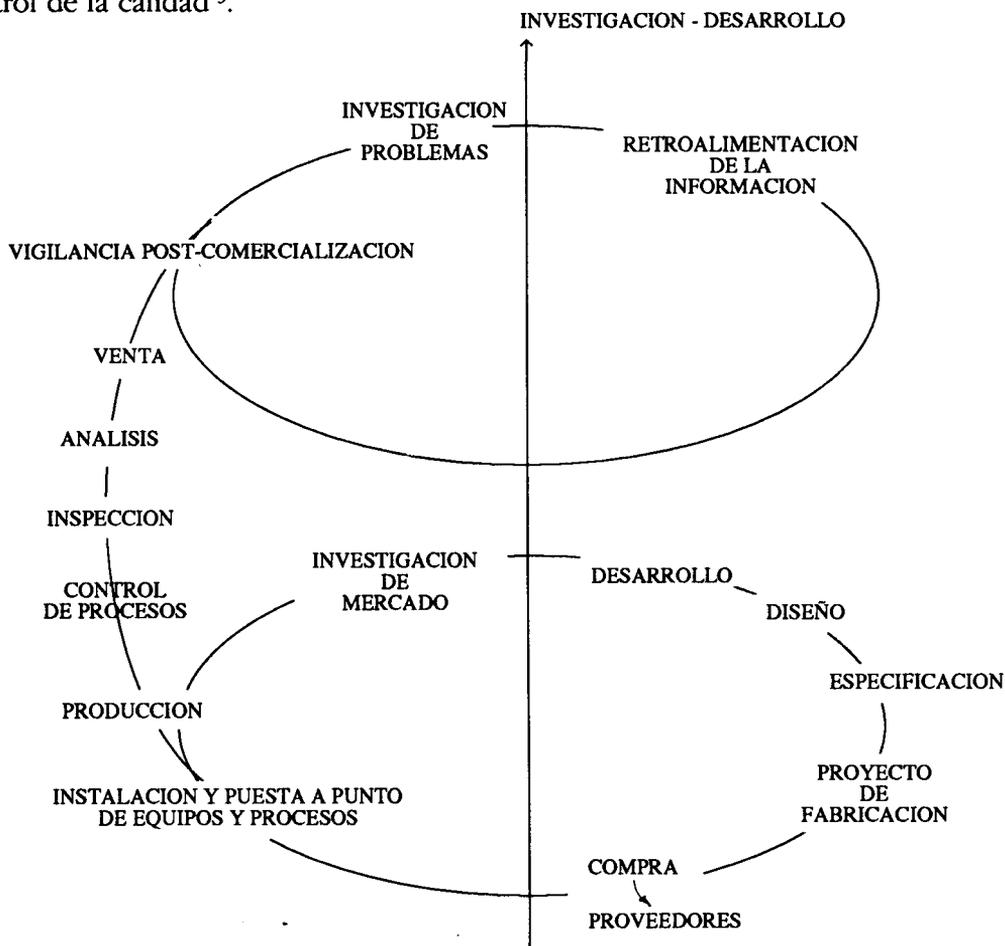


Figura 3. Espiral de desarrollo de la calidad de un producto farmacéutico ³.

Cuando se habla de calidad de los productos farmacéuticos nos referimos a conceptos bastante bien definidos.

¿Qué es lo que el consumidor espera de la calidad de un producto en general?

Funcionalidad, es decir que el producto sirva para lo que él lo adquiere, que sea durable, que tenga seguridad, y que sea aceptable, es decir, que sea una cosa que le agrada tener, y, evidentemente le preocupa el costo que es siempre un aspecto interesante de considerar.

Cuando hablamos de medicamentos, podríamos decir que la *funcionalidad* corresponde a la *biodisponibilidad* del producto, la *durabilidad* tiene su contraparte en la *estabilidad*, la *seguridad* corresponde a la *toxicidad* y la *aceptabilidad* se refiere a ese concepto que denominamos *elegancia farmacéutica* que, como también sabemos, tiene tanta importancia en el cumplimiento de los tratamientos por parte del paciente.

La Tabla 1 resume algunas características de los productos farmacéuticos que son peculiares y los hacen diferentes de otros ítems de consumo.

-
1. El producto farmacéutico, es claramente diferente a otros productos de consumo, tanto por su objetivo como por su destino.
 2. El consumidor prácticamente no tiene posibilidad de elección.
 3. El comprador carece de los conocimientos técnicos para evaluar la calidad del producto.
 4. La calidad del producto incide dramáticamente en el bienestar del consumidor.
 5. Razones económicas tanto a nivel personal, industrial y nacional.
-

Tabla 1. Particularidades de la calidad de medicamentos.

En la industria farmacéutica generalmente se distingue la llamada *calidad de diseño*, que se refiere a todas las operaciones que tienden a la creación y al desarrollo de un preparado con las características y propiedades que se desean, y la *calidad de conformación* que vela por el cumplimiento real de esas características en el producto.

En la etapa de calidad de diseño es necesario fijar los objetivos, evaluar los parámetros farmacocinéticos necesarios para cumplir esos objetivos, determinar las características físico-químicas del principio activo, elaborar formulaciones experimentales utilizando la información disponible, seleccionar la formulación más promisorias y, posteriormente, validar los procesos tecnológicos.

DISEÑO DE UN PRODUCTO FARMACEUTICO

El diseño de un preparado farmacéutico es un problema de gran complejidad. Es necesario tomar en cuenta innumerables factores. A continuación, a través de la consideración del desarrollo de una forma farmacéutica para uso oral, se analizan algunos de los problemas que se presentan con mayor frecuencia. La Figura 4 esquematiza los procesos que ocurren en el organismo después de la administración de una forma farmacéutica. Si el punto de partida es una tableta que se desintegra en el tubo digestivo, el medicamento tiene que disgregarse en partículas más finas, posteriormente disolverse, atravesar luego las barreras del tracto gastrointestinal e ingresar en la sangre, desde donde se elimina por metabolización o excreción.

Cuando se diseña una formulación de administración oral, es necesario definir una serie de aspectos: el estado sólido del fármaco, su forma cristalina, punto de fusión, solubilidad en el tracto gastrointestinal, el coeficiente de partición del medicamento, como asimismo la influencia que pueden tener estas variables en el produc-

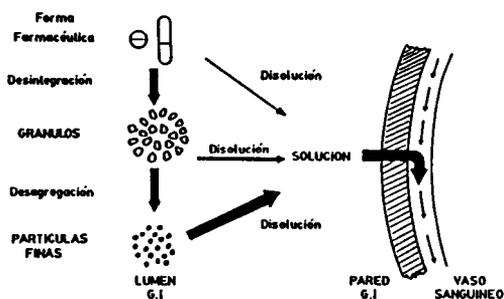


Figura 4. Esquematación de los procesos que ocurren en el organismo luego de la administración de una forma farmacéutica por vía oral.

del principio activo para seleccionar la más apropiada. El polimorfismo puede generar una serie de problemas en una formulación, como por ejemplo, el crecimiento de cristales y pérdida de estabilidad física de una suspensión, variaciones de la biodisponibilidad, modificaciones del estado cristalino por procesos tecnológicos y problemas de estabilidad química.

Un problema fundamental cuando se administran fármacos al estado sólido es el de la velocidad de disolución del principio activo. La ecuación de Noyes y Whitney se ha empleado tradicionalmente para considerar este fenómeno:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{D \cdot A}{h} (C_s - C_t) \quad (1)$$

en la que dc/dt es la velocidad de disolución, D el coeficiente de difusión, h el grosor de la capa de difusión en la interfase sólido-líquido, A el área de la partícula, C_s la concentración de saturación del sólido en el medio de disolución y C_t la concentración de la solución a un tiempo t .

Se puede incrementar la velocidad de disolución de los principios activos mediante el aumento del área expuesta al medio de disolución: la molienda es una forma de hacerlo, la deposición por solventes es otra. El aumento de la solubilidad puede lograrse por métodos químicos a través de la formación de sales o complejos, o por procedimientos físicos que actualmente son utilizados por la industria farmacéutica tales como el empleo de mezclas eutécticas, soluciones sólidas, la formación de coprecipitados y, más recientemente, el uso de las ciclodextrinas.

En la literatura farmacéutica existen muchos ejemplos en los que se muestra la influencia de estos factores en la velocidad de disolución y biodisponibilidad de un gran número de medicamentos.

Otro problema importante es la estabilidad del principio activo en el tubo digestivo. Hay que estudiar el comportamiento *in vitro* del producto a distintas condiciones de pH, como asimismo el efecto que pueden ejercer los componentes normales del tubo digestivo. Es importante estudiar si existe influencia de las enzimas, como también los mecanismos de degradación del principio activo y los eventuales procedimientos de protección que pueden aplicarse.

Un ejemplo clásico es el de la estabilidad en el tubo digestivo de la eritromicina. A pH relativamente constante, el propionato de eritromicina laurilsulfato es capaz de soportar la acción del jugo gástrico durante un tiempo prolongado sin perder prác-

to final y las limitaciones que ellas pueden imponer en la selección de los excipientes. Algunos ejemplos pueden ilustrar esta búsqueda de las características que es necesario definir para desarrollar una formulación farmacéutica.

Los fármacos al estado sólido pueden presentar diferentes formas cristalinas, fenómeno que se denomina polimorfismo. Cuando se estudia el diseño de una formulación, es necesario saber si existen diferentes formas cristalinas

ticamente su actividad (Tabla 2). Es decir, modificaciones menores de la molécula química, como es la producción de ésteres, pueden hacer variar la estabilidad del producto en el tubo digestivo ⁴.

	Estabilidad en medio gástrico		
	pH	Tiempo de exposición (minutos)	% de Actividad
Eritromicina	1,28	5	3,5
Estearato de Eritromicina	1,28	5	2,0
Propionato de Eritromicina	1,10	5	5,4
Propionato de Eritromicina Laurilsulfato	1,10	40	97,3

Tabla 2. Estabilidad de eritromicina en el líquido gastrointestinal 3.

El coeficiente de partición también es una característica importante, especialmente cuando los medicamentos se absorben por simple difusión. En un estudio de diseño de formulación se suele determinar la hidrofobicidad/hidrofilicidad en relación con la partición del principio activo en solventes lipofílico y acuoso. También es importante el efecto del pH en las características de partición; es sabido que de acuerdo con la hipótesis de partición por pH, desarrollada por el Dr. Brodie hace unos 30 años, el pH tiene una influencia importante en el coeficiente de partición de los medicamentos, especialmente los que son ácidos y bases débiles.

Los estudios de disolución *in vitro* constituyen una de las herramientas fundamentales para la evaluación de las propiedades biofarmacéuticas de las formulaciones desarrolladas. La Farmacopea Norteamericana ha oficializado las pruebas de disolución, estableciendo los métodos del canastillo (Método I) y de la paleta (Método II).

Cuando se estudia la disolución de las formas farmacéuticas en la etapa de diseño hay que establecer el método que se empleará en el control de calidad del producto; seleccionar la velocidad de giro del equipo, el volumen del medio, la composición del mismo, los intervalos de muestreo, el método de análisis para valorar el principio activo que se va liberando y resolver las dificultades analíticas que se puedan presentar. Un caso especial lo constituyen las formas farmacéuticas de liberación prolongada.

Un problema que se presenta con frecuencia, cuando se trata de establecer un método de control de la disolución de una forma farmacéutica sólida, es el de la baja solubilidad en agua de muchos principios activos. En estos casos, si se emplea agua el proceso de disolución se frena porque la solución se satura rápidamente, a menos que se use un volumen muy grande de líquido o se emplee un procedimiento de continua dilución o de condición "sink", como se denomina. Los métodos que se emplean en la práctica utilizan lo que se llama una condición "pseudo sink", en el que la concentración del principio activo durante el desarrollo de la prueba no sobrepasa el 20% de la concentración de saturación. Para lograr esta condición "pseudo sink" se realizan modificaciones en el solvente mediante cambios del pH, el empleo de aditivos como tensioactivos utilizando diferentes mezclas de solventes.

En los estudios de diseño de formulaciones y en el control de calidad de las formas farmacéuticas sólidas se emplea el equipo descrito en la Farmacopea Norteamericana para los estudios de disolución. Este es el procedimiento clásico y es apropiado para comprimidos, grageas y cápsulas. En los últimos años se ha venido utilizando también con frecuencia el equipo de disolución denominado de "flujo a través de la forma farmacéutica" (flow-through equipment). Este equipo consta de una cámara en la que se coloca la forma farmacéutica y a través de la cual se hace circular el líquido de disolución. Empleando cámaras diferentes el equipo puede emplearse para estudios de disolución de supositorios, cápsulas blandas, polvos y suspensiones, cápsulas duras, comprimidos y grageas ⁵.

La Farmacopea Norteamericana expresa la disolución mediante el valor Q, que expresa el porcentaje disuelto a un determinado tiempo.

Se pueden utilizar otros procedimientos, como por ejemplo, el concepto de eficiencia de disolución, que corresponde a la razón entre el área bajo la curva de disolución en el tiempo y el área total de rectángulo, como puede apreciarse en la figura 5. Una forma más rigurosa de expresar la disolución es mediante la constante de velocidad de disolución que se obtiene en estudios cinéticos.

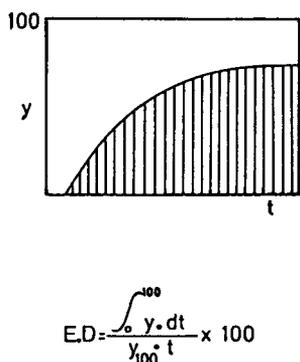


Figura 5. Eficiencia de disolución.

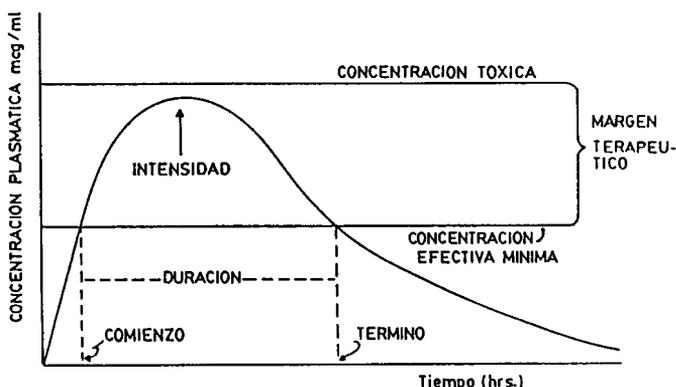


Figura 6. Concentración plasmática en el tiempo luego de la administración de un fármaco por vía extravascular.

ESTUDIOS IN VIVO

En la literatura se pueden encontrar datos de velocidades de absorción, y de vida media de absorción en perros, que correlacionan bien con datos obtenidos en humanos. Sin embargo, muchas veces esta correlación no es buena. Durante mucho tiempo se ha tratado de buscar modelos animales que sustituyan al hombre como objeto de experimentación ^{5,6}. Los logros todavía no han sido satisfactorios. Se está trabajando mucho este campo tratando de sustituir los estudios de biodisponibilidad en humanos -que son muy costosos y a veces restrictivos- por estudios en animales. En la actualidad los estudios de biodisponibilidad se realizan en humanos.

Estudios de Biodisponibilidad

La Figura 6 muestra una curva de concentración plasmática versus tiempo que se obtiene cuando se administra un producto por vía extravascular. En esta curva se define un margen terapéutico: es decir, cuando la concentración plasmática se en-

cuenta dentro de este margen existe en el sitio de acción una cantidad suficiente de medicamento para producir el efecto terapéutico. En la curva se señala el comienzo, el término, la duración, y la intensidad del efecto farmacológico. En los estudios de biodisponibilidad se trata de determinar algunos parámetros farmacocinéticos, en el convencimiento de que éstos se correlacionan bien con los efectos terapéuticos de los medicamentos en el organismo.

Hay tres parámetros importantes en los estudios de biodisponibilidad: la *concentración pico* ($C_{m\acute{a}x}$), el *tiempo para alcanzar la concentración pico* (t_{pico}) y el *área bajo la curva de concentración plasmática versus tiempo* (ABC). Estos permiten apreciar los dos factores importantes de la biodisponibilidad: la cantidad de fármaco disponible, que está relacionada con el ABC y la velocidad a la cual se hace biodisponible que está ligada a t_{pico} y $C_{m\acute{a}x}$.

La biodisponibilidad se determina siempre en forma comparativa. Si la comparación se efectúa con una inyección intravenosa -en la que por definición el medicamento se encuentra cien por ciento disponible-, se obtiene la *biodisponibilidad absoluta*. En cambio cuando se compara con otra forma de administración extravascular, se obtiene la *biodisponibilidad relativa* ^{7,8}.

Es interesante enfatizar algunos aspectos importantes en los estudios de biodisponibilidad, que muchas veces no se toman suficientemente en cuenta. Estos estudios se desarrollan fundamentalmente por dos procedimientos: el de las áreas correspondientes y el de las excreciones urinarias correspondientes. En ambos casos se determina la fracción F de la dosis administrada que llega a la circulación sistemática. Las ecuaciones 2 y 3 son expresiones farmacocinéticas que definen F y la biodisponibilidad de una formulación o preparado problema (F_p) en relación con otro de referencia (F_r), respectivamente. El término Cl es el "clearance" o depuración del medicamento desde el organismo y que corresponde a un parámetro que expresa la eliminación del fármaco a través de todos los órganos que participan en este proceso.

$$ABC = \frac{F \text{ Dosis}}{Cl} \quad (2)$$

$$\frac{F_p}{F_r} = \frac{ABC_p}{ABC_r} \cdot \frac{Cl_r}{Cl_p} \cdot \frac{Dosis_r}{Dosis_p} \quad (3)$$

Ahora bien, para que la comparación de las áreas bajo la curva tenga realmente significado, es necesario y condición *sine qua non*, que el clearance del medicamento desde el organismo se mantenga constante cuando se realizan ambas experiencias. Sólo si esta condición se cumple la comparación de las áreas (ABC) será válida. Por esta razón en los estudios de biodisponibilidad es necesario ser muy rigurosos para controlar una serie de factores que permitan tener la máxima seguridad de que el clearance sea efectivamente el mismo en las distintas experiencias.

Otra condición que debe cumplirse rigurosamente se refiere a que el área bajo la curva debe ser directamente proporcional a la dosis que se administra. Este requisito puede no cumplirse cuando el medicamento presenta una cinética "dosis dependiente".

Cuando se hacen estudios de excreción urinaria las expresiones farmacocinéticas corresponden a las ecuaciones 4 y 5.

$$F = \frac{Cl_R \cdot X_u}{Cl \cdot \text{Dosis}} \quad (4)$$

$$F_p = \frac{[X_u]_p}{[X_u]_r} \cdot \frac{(f_u)_p}{(f_u)_r} \quad (5)$$

En estas ecuaciones f_u y X_u corresponden a la fracción de la dosis administrada y a la cantidad total de fármaco, respectivamente, que se excretan en forma inalterada en la orina y Cl_R es el clearance renal que expresa la contribución del riñón a la depuración del medicamento desde el cuerpo.

En este caso la validez del método reside en que la fracción de la dosis que se excreta por la orina permanezca constante en las diferentes situaciones experimentales que involucra el estudio de biodisponibilidad.

Factores que influyen la biodisponibilidad

Son muchos los factores que pueden afectar la biodisponibilidad de una forma farmacéutica. La descripción y análisis de ellos no es posible en esta presentación. La Tabla 3 contiene un resumen de aquellos más relevantes.

-
- Tipo de forma farmacéutica
 - Sólida (comprimido, cápsula, gragea, etc.)
 - Líquida (solución, emulsión, suspensión)
 - Tamaño de las partículas (área superficial específica)
 - Forma geométrica
 - Tipo y cantidad de excipientes
 - Tiempo de desintegración
 - Velocidad de disolución
 - Variables del proceso de manufactura
 - Equipos empleados
 - Condiciones ambientales durante la manufactura
 - Condiciones y duración del almacenamiento
-

Tabla 3. Características de la forma farmacéutica que pueden afectar la biodisponibilidad de los medicamentos.

La mayor parte de la absorción se produce en el intestino delgado, de manera que la motilidad del tubo gastrointestinal es fundamental; ésta se puede modificar por cirugía, por estados de enfermedad, por infecciones, por la acción de medicamentos y por la interacción con los alimentos y líquidos ⁹.

La Figura 7 muestra la absorción de aspirina en sujetos gastrectomizados con distintos tipos de operaciones. La de tipo Billroth II presenta una absorción completamente distinta de los sujetos normales y también diferente de los que han sufrido la operación del tipo Billroth I y la gastrectomía total. Estos factores tienen que tomarse en cuenta cuando se seleccionan los voluntarios en los cuales se van a hacer los estudios de biodisponibilidad. También constituye información útil comprender el

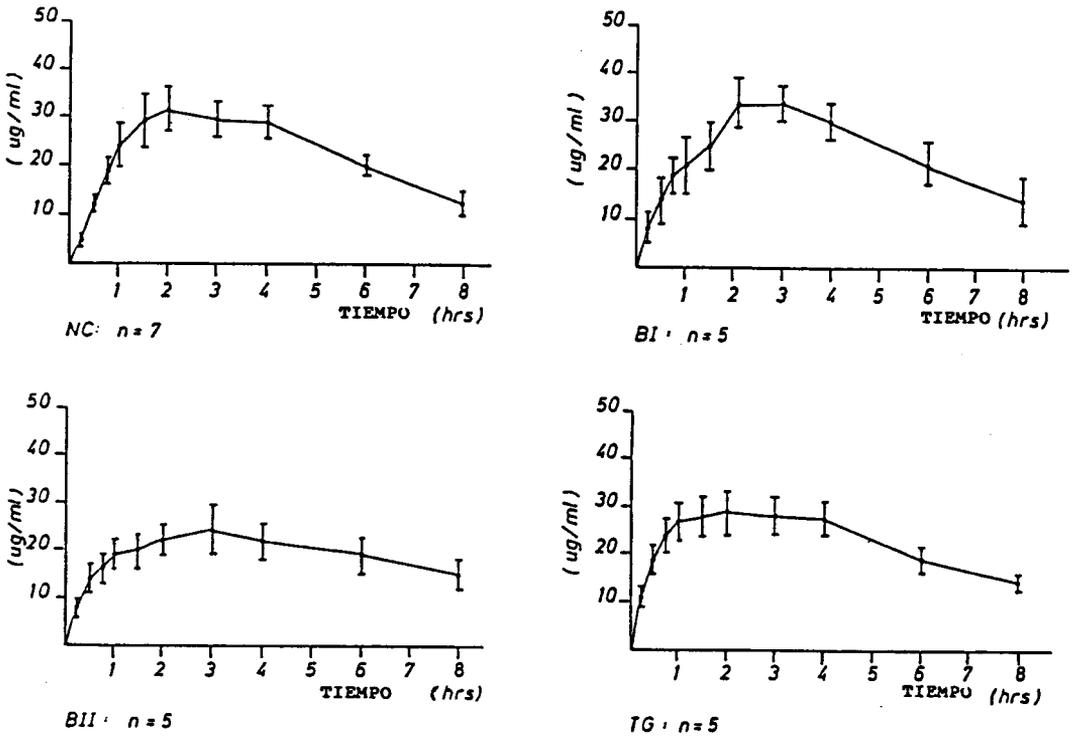


Figura 7. Concentración plasmática de salicilato (Media \pm ESM) vs. tiempo en pacientes gastrectomizados: Billroth I (BI) Billroth II (BII) y Gastrectomía total (TG) y en sujetos normales (control normal, NC) ⁹.

efecto de los medicamentos en el organismo y las variaciones de ellos que pueden producirse en los sujetos.

La absorción de fármacos es afectada de manera importante por el pH del tubo digestivo. La Tabla 4 muestra el efecto de los alimentos en el pH del tubo gastrointestinal.

a) pH del trazo gastrointestinal en ayunas	
Estómago	1 - 3
- Intestino delgado	6,0 - 7,5
- Intestino grueso	- 6,5
b) Influencia de alimentos en pH del estómago	
- En ayunas	1 - 3
- Comida liviana	3 - 4
- Comida grasa	4 - 6

Tabla 4. Variaciones del pH en el trácto gastrointestinal

Hay una serie de variables clínicas, entre las cuales destacan el estado nutricional del sujeto, el sexo, la edad, los estados de enfermedad y las variaciones diurna y nocturna que pueden alterar el pH. Por otra parte, el tiempo de residencia en el estómago en la mujer es más alto que en el hombre, en los ancianos es más alto que en los jóvenes, y en la posición supina es menor que en la ambulatoria. De la mis-

ma manera los estados de enfermedad tales como la diabetes, la enfermedad celíaca, la enfermedad de Crohn y otras afecciones pueden modificar el tránsito intestinal.

El conocimiento generado por las investigaciones biofarmacéuticas y farmacocinéticas es de mucha utilidad en el estudio y diseño de formulaciones farmacéuticas y ha contribuido de manera considerable al mejoramiento de la calidad y al buen uso de los medicamentos.

Agradecimientos: Financiado por Fondecyt, Proyecto 1279-88.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ariens, E.J. (1974) *Clin. Pharmacol. Ther.* **16**: 155-74
2. Barr, W.H. (1965) *Am. J. Pharm.* **32**: 958-81
3. Gaete, G. (1991) Apuntes del Curso Control de Calidad de Medicamentos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. No editados
4. Stephens, V.C., J.W. Conine y H.W. Murphy (1959) *J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.)* **48**: 620-2
5. Möller, H. (1983) *Pharm. Ind.* **45**: 617-22
6. Skelly, J. (1988) "Development of animal models which may be used to establish bioequivalence for the approval of generic drugs in lieu of human studies". I Simposio Internacional sobre Biodisponibilidad de Medicamentos, Santiago de Chile, octubre de 1988
7. Arancibia, A. (1978) *Rev. Med. Chile* **106**: 788-96
8. Arancibia, A. (1981) *Asoc. Uruguaya Farm. Bioq. Ind.* **4**: 10-25
9. Hurtado, C., C. Acevedo, C. Domecq, P. Brundiles, A. Csendes y A. Arancibia (1988) *Med. Sci. Res.* **16**: 1241-3