

TÉCNICAS NO INVASIVAS PARA EL ESTUDIO DE NUEVAS FORMAS DE ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS

J.M. AIACHE, S. AIACHE, E. BEYSAC, J-M. CARDOT

Departamento de Biofarmacia, de la Facultad de Farmacia,
28 Place Henri Dunant, F-63001 Clermont - Ferrand CEDEX, Francia.

Antes de escribir este trabajo el primer problema fue establecer una definición precisa de la expresión «no invasiva». Según el diccionario, se puede ver que la «invasión» es una entrada violenta en un país o en el cuerpo. Es así como normalmente se deben presentar los métodos *in vitro* para el estudio de las nuevas formas de administración. Sin embargo, no es eso lo que la gente espera. Se considera las técnicas no invasivas como «técnicas no violentas, no traumatizantes», porque se hacen en seres humanos sanos a quienes se administran las formas farmacéuticas cuyo destino es estudiado directamente *in situ*. Estas técnicas no presentan peligro para el voluntario, no son violentas y además tienen una gran sensibilidad ya que durante el trabajo se puede tomar muchas muestras, y emplear dispositivos para facilitar la observación directa.

¿Cuál es el fundamento de estas técnicas?

Se han escrito muchos trabajos para explicar los procesos de fabricación y las propiedades de las formas sólidas de administración oral. Sin embargo, el desarrollo de dichas formas es todavía empírico, aunque al presente existen métodos para aumentar el carácter científico de éstas.

Pero este empirismo es muy complejo ya que los datos de estudios científicos para los sistemas más simples no pueden aplicarse de manera directa a los otros. Además, el destino de las formas farmacéuticas después de su administración es todavía poco conocido.

De otro lado, es bien conocido que la biodisponibilidad de un fármaco, a partir de una formulación, se encuentra influenciado por un conjunto de factores fisiológicos y físico - químicos. Sin embargo, el primer factor que influye sobre la absorción es la velocidad de liberación del fármaco a partir de la formulación, seguida de la velocidad de disolución que depende a su vez, de la velocidad de disgregación (por ejemplo, para los comprimidos) o de las propiedades de los excipientes usados que pueden influenciar la cantidad de fármaco que entra en contacto con el medio de disolución. El fármaco debe disolverse en los fluidos del tracto gastrointestinal antes de ser absorbido, en estas condiciones, la absorción de numerosos fármacos que tienen una baja solubilidad en el agua, es limitada por la velocidad de disolución. La posibilidad de controlar la velocidad de liberación y, al mismo tiempo, el destino de la forma en el organismo, utilizando excipientes particulares en la formulación, es ahora, un eficaz instrumento para la formulación, que ha impuesto la necesidad de desarrollar ensayos *in vitro* que permitan estudiar los efectos de las variables de fabricación.

Por una parte, la posibilidad de cuantificar el fármaco en la sangre, permite a los investigadores estudiar las variaciones de la biodisponibilidad en función de las formulaciones las que no pueden determinarse sólo por medio de ensayos *in vitro*.

Por otra parte, los médicos y los pacientes están pidiendo nuevas formas mucho más sofisticadas por tres razones :

- En primer lugar, numerosos fármacos son absorbidos de manera irregular en el tracto gastrointestinal, lo que fue atribuido al concepto de «ventanas de absorción» en el tracto gastrointestinal o a la calidad del epitelio del tracto gastrointestinal que puede aumentar la absorción. Así, el farmacéutico debe tomar en cuenta estos factores para aumentar la biodisponibilidad de las formas de dosificación .
- Segundo, para disminuir la toxicidad local, se emplean cada vez más los recubrimientos entéricos y los productos de liberación controlada .
- Tercero, para asegurar el cumplimiento de los pacientes con el tratamiento y reducir la aparición de variaciones en las curvas de niveles plasmáticos. Se han desarrollado nuevos sistemas que pueden reducir el número de dosis por día, y que liberan el fármaco lentamente en el tracto gastrointestinal durante un período largo. Estas preparaciones se presentan sea en forma única (comprimido) o en forma múltiple (micro-esferas).
- Pero, y esto es muy importante, que todas estas formas contengan la dosis de fármaco que debe ser usado en un día la que no debe liberarse en una sola vez lo que podría producir una toxicidad, significativa (*dose dumping*).
- Al presente, estamos recibiendo nuevos productos de la biotecnología para los cuales es necesario estudiar las otras vías de administración diferentes a la vía oral por ejemplo, la vía nasal, ocular, vaginal, rectal o pulmonar .
- Es por eso que hay que observar lo que ocurre después de la administración de una forma farmacéutica y seguir la absorción del fármaco a partir de estas vías de administración lo cual representa una nueva área de investigación en el desarrollo de las nuevas formas farmacéuticas y un parámetro útil indispensable para el registro.

ESTUDIO DE LAS FORMAS FARMACÉUTICAS

Consideraciones generales

Las formas sólidas perorales se ingieren con un vaso de agua. Las formas atraviesan el esófago hasta el estómago donde se van a mantener durante un período determinado. Durante este tiempo, la forma puede desagregarse y el fármaco disolverse. El tiempo de residencia en el estómago y la cantidad de fármaco disuelto son importantes, porque los fármacos deben estar disueltos para ser absorbidos y el sitio de absorción más importante es el intestino delgado. Sin embargo, la absorción de un fármaco no puede ocurrir de manera idéntica a todo lo largo del

intestino delgado y es por eso que la velocidad de tránsito a lo largo del intestino es también importante. Para las otras vías de administración ocurre algo similar. El fármaco debe ser liberado de su forma y debe alcanzar el sitio de absorción (la membrana) en función de la calidad y de las propiedades de la forma y de los excipientes.

Consideraciones técnicas

La mayoría de las técnicas propuestas, fueron diseñadas inicialmente para las formas farmacéuticas pero, ahora, pueden usarse para el estudio de la absorción de los fármacos. Pueden clasificarse en métodos directos y técnicas con imágenes.

Los métodos directos

El primer método directo fue publicado por Gruber et al (1958) y Steinberg et al (1965). Los autores emplean comprimidos pegados a un hilo. El comprimido puede ser retirado a diferentes tiempos y examinado para observar su disgregación (método del yo-yo). Steinberg había incorporado una sustancia emética para facilitar la recuperación del comprimido y el examen de su aspecto. La observación directa de un comprimido o de una cápsula en el estómago puede realizarse usando un fibroscopio o un gastroscopio, la gastroscopia mientras que permite una observación directa de la forma en el estómago, es un proceso invasivo, que puede producir un devenir anormal de la forma.

El empleo de pacientes con ileostomía para estudiar el tiempo de tránsito en el tracto gastrointestinal también ha sido descrito. El examen del contenido de los vasos de ileostomía a diferentes intervalos de tiempo, después de la administración de una forma farmacéutica puede dar informaciones sobre el tiempo de tránsito (esencialmente de la boca al colon).

Otro método para medir el tiempo del tránsito de la boca al colon, consiste en la administración de lactulosis como referencia. Este glúcido no absorbible es metabolizado rápidamente por la flora del colon y al mismo tiempo produce hidrógeno que es evacuado de manera parcial con los otros gases del tracto. El pico de concentración de hidrógeno en los gases expulsados corresponde a la llegada de lactulosis al colon, sin embargo no es un método muy empleado.

Fue propuesta también la radiometría con la cápsula de Heidelberg para la determinación de la velocidad del vaciamiento gástrico por el estudio de los perfiles de pH o por la desagregación in vitro de formas entéricas que contienen sustancias amortiguadoras de ácidos.

Otros métodos de investigación que han sido utilizados son el empleo de alta frecuencia o la epigastrografía de impedancia.

Las técnicas con imágenes:

La primera técnica propuesta fue la de los rayos X. La inclusión de una sustancia como el sulfato de bario en una forma sólida permita ser visualizada por medio de rayos X. Este método



fue propuesto por primera vez por Losinsky y Driver (1933) y empleado después por muchos investigadores.

En nuestro laboratorio hemos demostrado la validez de la preparación de cápsulas entéricas y de la ventana de absorción de la tetraciclina. Este método tiene limitaciones porque el paciente se encuentra expuesto a alta dosis de radiación porque se toman muchas fotografías y, además, no se puede obtener la observación de manera continua.

Próxima a los rayos X pero con menos problemas, conviene mencionar la ecografía de los comprimidos en el estómago. El comprimido debe contener calcio para poder ser visualizado.

Al presente el mejor método, es la centellografía que permite, después de la inclusión de un radionucleido de emisión gamma, la visualización externa de una forma farmacéutica.

Definición y área de interés

La gamma centellografía permite el estudio de una formulación a todo lo largo del tracto gastrointestinal. Así, se puede visualizar fácilmente su tránsito, sus cambios de posición y la importancia de su dispersión en el tracto la que puede relacionarse a los niveles plasmáticos del fármaco. Estos perfiles farmacocinéticos y centellográficos para una formulación, representan un gran avance en el desarrollo de las formas que contienen fármacos de disponibilidad débil.

La centellografía puede hacerse de dos maneras, imágenes estáticas que son imágenes únicas y las imágenes dinámicas en las cuales las formaciones en secuencia pueden obtenerse durante varios tiempos. Esta última técnica se utiliza para seguir una liberación rápida, por ejemplo, de un fármaco en el ojo. Pero, normalmente, el tránsito gastrointestinal es bastante lento para ser seguido por imágenes estáticas. Sin embargo, las imágenes dinámicas se emplean para el tránsito en el esófago.

Una ventaja de esta técnica es que el campo de visualización puede estar arbitrariamente dividido en áreas y la cantidad de isótopo en estas áreas puede cuantificarse y así, el movimiento y la distribución, pueden seguirse más fácilmente.

Para mejorar la calidad de las imágenes y dar una idea de la cuantificación se colocan sobre el abdomen dos puntos de referencia que son dos fuentes de productos marcados, de tal modo que permitan apreciar cada parte del estómago a la vez.

La única limitación conocida de esta técnica de centellografía es la poca información que puede ser recogida para el conocimiento de la anatomía del tracto gastrointestinal y del sitio exacto de la forma. Cuando se estudia un sistema que no va a disgregarse, la identificación de la posición de la forma es difícil y es necesario administrar un segundo producto marcado con una energía diferente que permita la visualización del tracto gastrointestinal.

Existen también otras técnicas muy próximas a la centellografía. Como por ejemplo: la tomografía.

Tomografía:

La cámara puede moverse alrededor del voluntario tomando imágenes cada diez o quince grados de rotación. El voluntario está en una cama situada en el dispositivo y el detector toma las vistas con intervalos de más o menos doce minutos para obtener una imagen. Estos datos pueden ser tratados de tal manera que se puede cortar el cuerpo en láminas finas a varios niveles y puede emplearse para identificar estructuras especiales que no pueden verse por la centellografía normal.

Tomografía por emisores de positrones

Es una técnica diferente a la anterior que comprende la detección de los rayos gamma obtenidos por emisores de positrones. La tomografía por emisores de positrones necesita el uso de un ciclotrón que produce radionucleicos usados para la síntesis rápida de radio - fármacos.

Espectroscopía con modificación de ángulo

No se trata de una técnica de imágenes pero puede emplearse de manera simultánea con una técnica con imágenes. Esta técnica está basada en la degradación en cascada de dos rayos gamma del indium 111.

En efecto, el indium 111 puede emitir dos rayos formando un ángulo entre sí, que puede ser alterado por la modificación del ambiente físico, las modificaciones del núcleo (por ejemplo durante la disolución). Así puede permitir determinar y visualizar la localización y la disolución de una forma farmacéutica *in vivo*, para el empleo simultáneo de la centellografía y de la técnica de espectroscopía especial. Así, la disolución de un isótopo a partir de una formulación, puede ser estudiada *in vivo* o *in vitro*.

¿ Cuáles son los elementos marcados que se usan?

El tecnecium-99m es el más empleado (no emite rayos alfa o beta) con una media de vida de 6,03 horas.

Otro producto se usa también, el indium 113m o 111 que es mejor. Tiene una gran importancia en centellografía porque su energía puede distinguirse del tecnecium - 99m, lo que permite una experiencia con dos elementos marcados de manera simultánea.

¿Cómo introducir estos elementos en la forma farmacéutica?

1/ Es posible introducir el elemento marcado directamente en el fármaco por sustitución. Por ejemplo, el yodo 127 puede ser reemplazado por yodo 123 o por el yodo 131 en los productos que contienen yodo.

2/ Es posible marcar un elemento inerte cuya conducta física puede imitar la del fármaco. Muchas veces, estos elementos son resinas absorbidas por el tracto gastrointestinal, por ejemplo los quelatos del ácido dietilnetriaminepentaacético con el tecnecium - 99m o el indium. Las

resinas «Amberlite» en las cuales los radioisótopos incorporados por intercambio de iones son otra categoría usada para el estudio de formulaciones y particularmente, el de las suspensiones o esferas.

3/ Para estudiar las propiedades farmacocinéticas de los fármacos se puede marcar por incorporación de tecnecium - 99 m en ciertos alimentos como huevos, hígado, hongos, harina u otros. Para los estudios del tránsito gastrointestinal es importante que los productos marcados no sean absorbidos en la sangre.

Un gran inconveniente de los métodos de introducción de elementos marcados es que el isótopo debe introducirse en la forma farmacéutica un momento antes de la fabricación y así, el aparato de producción debe estar situado en un laboratorio expuesto a los radiosótopos, lo que es, algunas veces, muy difícil.

Estos métodos pueden ser reemplazados por el uso de la técnica de la activación de neutrones en la formulación. Un producto no radioactivo estable de un elemento adecuado, está incorporado en la formulación que puede ser así realizado en una planta normal. Después, la formulación se encuentra expuesta a una irradiación de neutrones en un reactor atómico. Los isótopos estables pueden absorber los neutrones para producir un isótopo inestable cuya emisión gamma puede ser detectada de manera normal. Las sustancias que se usan en éste son el bario 138, el erbio - 120 y el samarium - 152 que es el más empleado en la actualidad.

¿ Cuáles son las aplicaciones de la centellografía?

La centellografía fue usada para estudiar el destino de numerosas formas farmacéuticas como comprimidos, cápsulas, suspensiones, esferas, aerosoles, espumas rectales, supositorios, bombas osmóticas, implantes oculares etc.

Como ejemplos tenemos:

Los geles o suspensiones de sucralfato: el gel se mantiene en el estómago durante un tiempo más largo que la suspensión.

- Las matrices hidrofílicas que contienen teofilina. Este trabajo realizado en Clermont - Ferrand, ha demostrado buena correlación entre la velocidad de liberación de la teofilina y del tecnecium - DTPA por el método de la paleta, en solución de pH 7,2 y la liberación *in vivo* de este fármaco en voluntarios sanos. La vida media de liberación *invitro/in vivo* era de 176 y 156 minutos respectivamente.

En la misma experiencia se demostró también que la matriz no es influida por la toma de alimentos con un contenido importante de materias grasas.

Las cápsulas entéricas con o sin alimento

La liberación se produce en el colon , así por ejemplo: el sistema «Chronotropic» que es una formulación matricial especial en la que la liberación del fármaco se produce en el colon.

Otras vías de administración importantes son:

La vía ocular

Para los medicamentos que se administran en los ojos la actividad debe ser, ya sea directamente en el ojo (como para el tratamiento del glaucoma) donde la penetración a través de la córnea es el requisito predominante, o al exterior del ojo (como por ejemplo, el tratamiento de la conjuntivitis, de la blefaritis o de la keratitis). La forma farmacéutica que más se utiliza son los colirios aunque presentan inconvenientes. En efecto, el fármaco se elimina de manera rápida por la vía naso - lagrimal en los primeros 15 o 30 segundos. Es por eso que la investigación actual está tratando de desarrollar formas farmacéuticas que sean capaces de liberar el fármaco de manera más lenta y continua, como por ejemplo los implantes oculares.

Otras vías menos empleadas son la nasal y la bucal que emplean algunos recubrimientos que alargan el tiempo de contacto como por ejemplo el sistema «Expidet».

La vía pulmonar

Con los nebulizadores clásicos, los pulmones se encuentran llenos con el fármaco por completo en pocos minutos (entre 18 y 20). Al contrario, con las bombas - aerosol, sólo el 10 por ciento de la dosis puede alcanzar los pulmones y el estómago. Este porcentaje puede ser aumentado por el empleo de prolongadores.

La vía rectal

El tipo de recubrimiento del supositorio determina la superficie de liberación del fármaco a partir de esta forma de dosificación . Además, la posición del supositorio dentro del recto, puede determinar el porcentaje de fármaco liberado capaz de alcanzar el hígado donde ocurre el primer metabolismo, esto se observa en estudios comparativos con la gama centellografía.

Un enema puede recubrir la totalidad del recto y una parte del colon mientras que una espuma rectal no puede dar los mismos resultados, dependiendo del volumen de la espuma administrada.

La vía vaginal

Fue estudiada la capacidad de recubrimiento de un gel (Replens) administrado a mujeres en fase post - menopáusica durante un período de 6 horas para determinar las propiedades bioadhesivas de este producto.

Los resultados han demostrado una variabilidad importante entre diferentes pacientes. Por ejemplo, en algunas mujeres alrededor del 80% del producto se mantiene, mientras que en menos del 2% se mantiene después de 6 horas.

Finalmente, la centellografía parece ser una técnica universal para estudiar todas las formas farmacéuticas de manera directa. Sin embargo , dos nuevas técnicas fueron propuestas hace poco tiempo para solucionar los inconvenientes de la centellografía.

La primera es el método de « imagen por resonancia magnética ». Se trata de una técnica no invasiva y no radioactiva que permite la observación de estructuras anatómicas con todo detalle. La mayor ventaja de esta técnica en comparación con las otras, es su poder de resolución («soberbio» como dicen los autores). La visualización del tracto gastro - intestinal puede ser mejorada por aplicación de sustancias de contraste que contienen Gd - DTPA (Magnevist, Aldrich) que se usan para visualizar el perfil de los órganos digestivos.

Las formas orales sólidas pueden ser visualizadas en un modelo de rata por el uso de la técnica de doble contraste con H - MRI (microcomprimidos marcados con magnetita) y una combinación de H - y F- MRI (minicápsulas marcadas con fluorina).

La segunda técnica es el método de « imagen por fuente magnética ». Es posible visualizar de manera continua, el tránsito gastrointestinal de formas sólidas orales marcadas de manera magnética con un sistema de multicanales o por un método de imágenes con una fuente magnética.

Para los estudios presentados, un comprimido de sacarosa fue recubierto con magnetita en polvo (Fe_3O_4) en un polimetil - metacrilato. Luego el comprimido es incorporado en una cápsula preparada a partir de goma de silicona y magnetizado para obtener un momento de dipolo magnético neto. Después de la ingestión de la cápsula, la distribución del campo magnético en el abdomen puede registrarse a varios intervalos de tiempo con un magnetómetro de 37 canales («superconducting quantum interference device(SQUID). Magnetometer»). A cada intervalo de tiempo, la posición de la cápsula en el tracto gastrointestinal puede calcularse a partir de la distribución del magneto que viene en el modelo. Con esta técnica no invasiva, es posible estudiar el tránsito gastrointestinal de las formas farmacéuticas orales con una resolución temporal del orden del milisegundo y una resolución espacial del orden del milímetro.

ESTUDIOS DE ABSORCIÓN

Como se indicó previamente, las primeras investigaciones fueron realizadas directamente con formas farmacéuticas pero hoy día, el costo elevado del desarrollo de una nueva forma farmacéutica que puede contener nuevas drogas, ha modificado completamente el plan de desarrollo y ha impuesto el método de la velocidad de absorción, de la cantidad absorbida y del nivel de absorción de los principios activos en el tracto gastrointestinal. Además, la administración de formas orales es la preferida a las otras vías de administración, no puede ser para la mayoría de las nuevas drogas como péptidos o proteínas porque son destruidas por las secreciones gástricas o las enzimas del tracto gastrointestinal. Pero, si se mantiene la idea de administrar estos péptidos por vía oral, hay que determinar, de manera precisa, el sitio especial de absorción (su ventana de absorción en el tracto gastrointestinal). El colon puede ser uno de estos sitios particularmente importantes en relación con la secreción de enzimas, proteolíticas. Así, el diseño de formas farmacéuticas adecuadas para la administración de péptidos y proteínas va a depender esencialmente de los sitios específicos del tracto gastrointestinal donde la absorción es máxima, de tal manera que su biodisponibilidad sea

más importante sin o con el uso de sustancias que pueden modificar la permeabilidad de la membrana (promotor de absorción).

¿Cuáles son las técnicas usadas?

Se han utilizado numerosas técnicas *in situ* como *in vivo*.

Los métodos *in situ* pueden incluir técnicas de circuito abierto como la percusión simple, la perfusión con recirculación o la perfusión con oscilación o las técnicas de circuito cerrado.

Los métodos *in vivo* incluyen:

La perfusión empleando doble o triple juego de tubos introducidos en el tracto gastrointestinal, así como también tubos con multicanales asociados a valores oclusivos para una perfusión segmentaria.

La intubación de catéteres en el intestino a través de la nariz. Esta última técnica fue desarrollada hace más de diez años por Jean Hirtz y sus colaboradores en París, diez años antes de ella fue propuesta por Gordón Amidon y Lenermas para la clasificación biofarmacéutica de las drogas.

Sin embargo, el problema más importante de estas técnicas es su naturaleza invasiva. En efecto, la intubación (con tubos) puede modificar de manera profunda la funcionalidad o las funciones del tracto gastrointestinal y además, no es muy conveniente ni confortable para los voluntarios: es una técnica invasiva. Es por eso que fueron desarrolladas otras técnicas como la cápsula de alta frecuencia y la telemétrica. La cápsula de alta frecuencia fue considerada como la más interesante: el tránsito en el tracto gastro intestinal, de esta cápsula puede ser visualizado por fluoroscopia de rayos X. Cuando la cápsula alcanza el sitio predeterminado de liberación de la droga en el tracto gastrointestinal, el fármaco es liberado con una señal de alta frecuencia que conduce a la destrucción de un globo de goma que contiene el fármaco. El inconveniente de esta técnica es la exposición de los voluntarios a los rayos X muchas veces y las dificultades de llenar el globo de goma con el fármaco. Además, no es posible administrar polvos con esta técnica.

Conviene mencionar otra técnica muy similar, denominada «the shuttle», « la nave»: vehículo desarrollado en Francia.

La última, recientemente desarrollada en Inglaterra, llamada «Intelsite» Ò, es una cápsula que permite la obtención de información sobre la absorción de manera no invasiva por la liberación, por un dispensador exterior, del fármaco en solución o en polvo en sitios específicos en el tracto gastrointestinal. La cápsula tiene 10 milímetros de diámetro y 35 cm de largo y se construye en el laboratorio. Contiene un sistema electrónico y un reservorio de fármaco de 0,8 ml de volumen capaz de liberar una solución, sea una suspensión o un polvo. Esta cápsula fue estudiada en voluntarios por la liberación simultánea de dos fármacos diferentes, la teofilina y la

furosemida, introducidos en polvo en el reservorio de la cápsula. Esta liberación fue realizada en el intestino delgado y en la primera parte del colon.

La teofilina demuestra ser bien absorbida a lo largo del tracto gastrointestinal. Al contrario, la furosemida, como es sabido, tiene su principal sitio de absorción en la primera parte del intestino delgado (duodeno). Eso fue demostrado por intubación colónica y por las cápsulas de alta frecuencia.

Los voluntarios recibieron la cápsula después de una noche en ayunas. Después de la visualización de la localización de la cápsula, en la región determinada del tracto gastrointestinal, la cápsula se encuentra abierta al inicio del intestino delgado y en el colon. Las imágenes de centellografía y las muestras de sangre fueron tomadas simultáneamente a lo largo del estudio. Fue demostrada así la buena absorción de la teofilina a lo largo del tracto y no la de la furosemida.

CONCLUSIÓN

Estamos al inicio del tercer milenio y por tanto necesitamos o requerimos saber todo lo referente al destino de las drogas y de las formas farmacéuticas. Pero hoy día no se trata de un sueño el poder visualizar lo que ocurre en el tracto gastrointestinal, sino de un hecho normal para todo el mundo.