



UNIVERSIDAD DE QUINTANA ROO

División de Ciencias de la Salud



“INVESTIGACIÓN DOCUMENTAL: IMPORTANCIA DE LA
BIODISPONIBILIDAD EN EL PROCESO DE DESARROLLO DE
MEDICAMENTOS”

MONOGRAFÍA

Para obtener el grado de
LICENCIADO EN FARMACIA

Presenta

Manuel Acelotl Azcárate Castillo

ASESORES

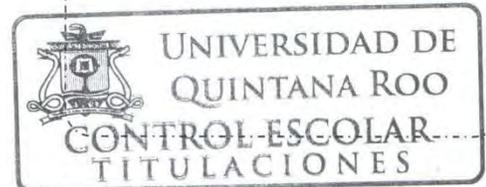
DR. AURELIO ROMERO CASTRO

DRA. KARLA DEL CARMEN GARCÍA UITZ

DR. DAVID ABRAHAM ALAM ESCAMILLA



Chetumal, Quintana Roo, México, Noviembre de 2018.





UNIVERSIDAD DE QUINTANA ROO



División de Ciencias de la Salud

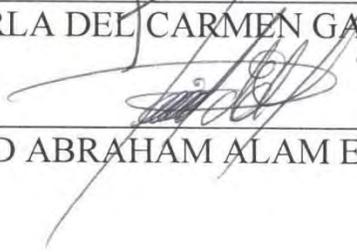
Monografía elaborada bajo la supervisión del comité de revisor del programa de Licenciatura y aprobada como requisito para obtener el grado de:

LICENCIADO EN FARMACIA

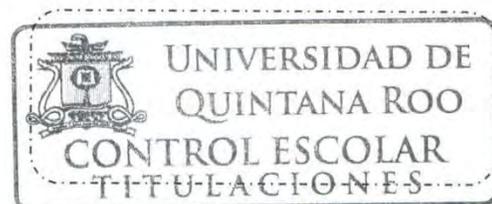
COMITÉ

ASESOR: 
DR. AURELIO ROMERO CASTRO

ASESOR: 
DRA. KARLA DEL CARMEN GARCÍA UITZ

ASESOR: 
DR. DAVID ABRAHAM ALAM ESCAMILLA

Chetumal, Quintana Roo, México, Noviembre de 2018.



I. INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN-----	11
2. ANTECEDENTES -----	12
2.1. DESARROLLO DE NUEVOS MEDICAMENTOS. -----	12
2.2. VÍAS DE ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS. -----	13
2.3. ASPECTOS GENERALES DE FARMACOCINÉTICA.-----	15
2.4. ESTUDIOS DE FARMACOCINÉTICA Y BIODISPONIBILIDAD. -----	16
2.5. BIODISPONIBILIDAD DE FÁRMACOS. -----	18
2.5.1. LAS REGLAS DE LIPINSKI (Ro5).-----	20
2.6. CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA.-----	21
2.7. ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA SOLUBILIDAD Y LA PERMEABILIDAD. -----	22
3. JUSTIFICACIÓN -----	23
4. OBJETIVOS-----	24
4.1. OBJETIVO GENERAL -----	24
4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS -----	24
4.3. METAS Y ALCANCES -----	24
5. ASPECTOS ÉTICOS -----	25
6. METODOLOGÍA-----	26
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----	27
7.1. Biodisponibilidad absoluta y relativa -----	27
7.2. Biodisponibilidad durante el desarrollo de medicamentos -----	28
7.3. Propiedades fisicoquímicas que influyen en la biodisponibilidad de fármacos 30	
7.4. Propiedades fisicoquímicas que influyen en la permeabilidad-----	30
7.4.1. Volumen molecular y tamaño -----	31
7.4.2. Afinidad de enlaces de hidrógeno -----	32
7.4.3. Área polar superficial-----	33
7.4.4. Hidrofobicidad-----	33
7.4.5. Permeabilidad y los postulados de Lipinski -----	35
7.4.6. Solubilidad -----	38

7.4.6.1.	Factores que afectan la solubilidad -----	40
7.4.6.2.	Medición de la solubilidad -----	43
7.4.6.3.	Métodos para determinar solubilidad -----	44
7.5.	Metabolismos en el tracto gastrointestinal -----	47
7.6.	Transporte activo -----	51
7.7.	Metabolismo hepático -----	55
7.8.	Métodos para estudiar permeabilidad -----	57
7.8.1.1.	Método por membranas artificiales PAMPA -----	57
7.8.1.2.	Método por línea celular Caco 2. -----	59
7.9.	Estudios de farmacocinética en animales -----	61
8.	CONCLUSIÓN -----	70
9.	BIBLIOGRAFÍA -----	71
Artículo I.	New avenue in the treatment of temporal lobe epilepsy by classical anti-epileptics: A hypothetical establishment of executioner Caspase 3 inactivation by molecular modeling. -----	74

I. ABREVIATURAS

AUC. Área bajo la curva.

NOM. Norma oficial mexicana.

FDA. Food and Drug Administration.

CDER. Centro para la Evaluación e Investigación de Medicamentos.

COFEPRIS. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios.

IV. Intravenosa.

IG. Intragástrica.

II. GLOSARIO DE TERMINOLOGÍA ESPECIALIZADA.

Biodisponibilidad. Es la proporción de fármaco que se absorbe a la circulación general después de la administración de un medicamento y el tiempo que requiere para hacerlo.

Fármaco. Toda sustancia natural, sintética o biotecnológica que tenga alguna actividad farmacológica, y que se identifique por sus propiedades físicas, químicas o acciones biológicas, que no se presenten en forma farmacéutica y que reúna las condiciones para ser empleada como medicamento o ingrediente de un medicamento.

FDA. La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA o USFDA con sus siglas en inglés) es una agencia federal del Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos; uno de los departamentos ejecutivos federales de los Estados Unidos. La FDA es responsable de proteger y promover la salud pública a través del control y supervisión de la inocuidad de los alimentos, productos de tabaco, suplementos dietéticos, medicamentos farmacéuticos recetados y de venta libre, vacunas, productos biofarmacéuticos, transfusiones de sangre, dispositivos médicos, radiación electromagnética (ERED), cosméticos, alimentos animales y productos veterinarios.

COFEPRIS. La Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios es un órgano administrativo desconcentrado de la Secretaría de Salud, con autonomía técnica, administrativa y operativa, responsable del ejercicio de las atribuciones en materia de regulación, control y fomento sanitarios en los términos de la Ley General de Salud y demás disposiciones aplicables.

Sistema de Clasificación biofarmacéutica (SCB). El SCB es un marco científico para clasificar a los principios activos en base de su solubilidad

acuosa y su permeabilidad intestinal, considerando tres factores: disolución, solubilidad y permeabilidad intestinal que gobiernan la velocidad y cantidad de absorción del principio activo desde una forma farmacéutica sólida oral de liberación inmediata.

Solubilidad. Es la cualidad de soluble (que se puede disolver). Se trata de una medida de la capacidad de una cierta sustancia para disolverse en otra. La sustancia que se disuelve se conoce como soluto, mientras que aquella en la cual este se disuelve recibe el nombre de solvente o disolvente. La concentración, por otra parte, hace referencia a la proporción existente entre la cantidad de soluto y la cantidad de disolvente en una disolución.

Permeabilidad. Este concepto se usa como sinónimo de absorción intestinal y representa el paso de fármacos a través de membranas biológicas, principalmente a nivel de tracto gastrointestinal.

Dendrímero. Los dendrímeros son moléculas poliméricas, versátiles y tridimensionales de síntesis química con forma bien definida, tamaño nanoscópico y con propiedades físico-químicas que recuerdan a las de las biomoléculas.

Micelas. Una micela es una formación geométrica de moléculas que tienen una "cabeza" polar y una "cola" de naturaleza no polar adheridas a una partícula o glóbulo de una sustancia que se encuentra en un medio en el cual no es soluble.

Ciclodextrina. Las ciclodextrinas son una familia de oligosacáridos cíclicos naturales, constituidos por 6, 7, u 8 unidades de glucopiranosas unidas por enlaces glicosídicos que se denominan α -, β - y γ -ciclodextrina, respectivamente. Las ciclodextrinas se obtienen a partir de la degradación del almidón. A veces también son llamadas cicloamilosas.

1. INTRODUCCIÓN

La búsqueda y desarrollo de nuevos fármacos y medicamentos es una actividad vigorosa por la comunidad científica mundial, tanto las industrias farmacéuticas como los institutos de investigación o las universidades invierten miles de millones de dólares al año para desarrollar y comercializar nuevos medicamentos. La mayor parte de los medicamentos que son aprobados en el mundo para su comercialización son para el tratamiento de enfermedades que tienen un alto impacto negativo en la población, principalmente crónico-degenerativas como: cardiovasculares, diabetes mellitus o cáncer.

Las principales estrategias o fuentes para desarrollar nuevos fármacos son: biotecnología, productos naturales y síntesis química. Se ha desarrollado una estrategia general, sistematizada y práctica que permite acelerar el proceso de desarrollo de nuevos medicamentos. Al desarrollar un medicamento se tiene que valorar su seguridad y eficacia, por lo tanto, los aspectos fundamentales por evaluar de las moléculas candidatas a fármacos son: actividad farmacológica, toxicología y farmacocinética.

En México anualmente se publican cientos de artículos científicos de moléculas con importante actividad farmacológica, desafortunadamente, gran parte de estos no son tomados en cuentas por las industrias farmacéuticas porque carecen de estudios toxicológicos, farmacocinéticos y/o de formulación. Por lo antes descrito, el esfuerzo e inversión económica aplicados a la investigación básica en nuestro país, queda solamente a nivel de publicación y no a nivel de patentes o registros de medicamentos. La biodisponibilidad es una característica fundamental para que los fármacos ejerzan su efecto en el organismo, por lo tanto, en este trabajo, se muestra la problemática que representa la biodisponibilidad durante el proceso de desarrollo de medicamentos, los factores que la afectan, así como, las estrategias novedosas para mejorarla.

2. ANTECEDENTES

2.1. DESARROLLO DE NUEVOS MEDICAMENTOS.

El desarrollo de nuevos medicamentos es un proceso muy laborioso y costoso en la cual la industria farmacéutica invierte un promedio de 2.6 billones de dólares para sacar un medicamento a la venta. La Food and Drug Administration por sus siglas en inglés FDA, es la agencia reguladora en Estados Unidos de América del Norte que realiza la regulación y control sanitario de alimentos y medicamentos. La FDA tiene un Centro para la Evaluación e Investigación de Medicamentos (CDER) que tiene la tarea de verificar que los medicamentos (de patente y genéricos) sean seguros y efectivos para el consumo humano, el CDER es el encargado de aprobar los medicamentos para su venta.^{1,2}

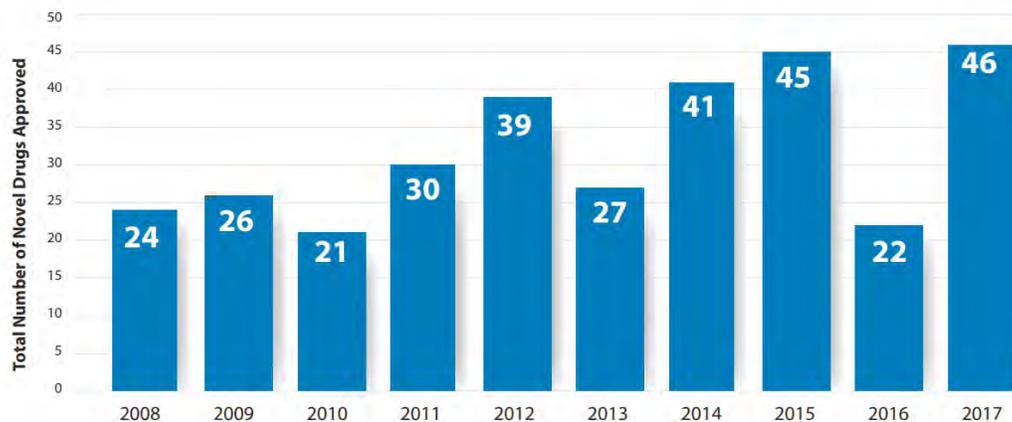


Figura 1. Medicamentos aprobados por la FDA para su comercialización en Estados Unidos de Norte América.³

Se realizó una consulta a la base de datos de la FDA, de acuerdo con la Figura 1 se encontró que, en los años 2015, 2016 y 2017 fueron aprobados únicamente 45, 22 y 46 nuevos medicamentos, respectivamente. Y en los últimos 10 años se ha aprobado tan solo 324 nuevos medicamentos han sido

aprobados para la venta. Los datos anteriores reflejan que esta actividad es muy compleja, laboriosa y son pocos los medicamentos que salen a la venta.³

Los fármacos que se encuentran actualmente en el mercado son principalmente de origen sintético, derivados de productos naturales, productos naturales y biológicos o biotecnológicos. De acuerdo con la FDA el proceso de desarrollo de fármacos consta de cinco etapas: (1) descubrimiento y desarrollo; (2) investigación preclínica; (3) investigación clínica; (4) revisión de expedientes y aprobación de medicamentos para su venta; y (5) monitoreo de seguridad de medicamentos post-mercado.⁴

2.2. VÍAS DE ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS.

De manera general existen dos vías de administración de medicamentos: la vía parenteral (intravenosa, intramuscular, etc.) en la cual se utilizan jeringas para inyectar el medicamento y en este proceso se atraviesan membranas, mientras que en la vía enterales (sublingual y oral) no se usan jeringas para la administración.

La vía de administración oral es la más común debido a que es la más cómoda para el paciente, tiene otras ventajas como su inocuidad y que no se necesita de personal capacitado para realizar el procedimiento de administración (el paciente lo realiza sin ayuda), en cuanto a sus desventajas se encuentran que el paciente debe estar consciente y con capacidad para tragar y/o beber, tiene otras desventajas como la destrucción del fármaco por actividad enzimática, una absorción irregular del fármaco en los pacientes y el fármaco pasa por el hígado donde sufre de metabolismo de primer paso.⁵

En cambio, la vía de administración intravenosa (IV) que también es muy empleada, se utiliza para diferentes circunstancias y propósitos. Mediante esta vía, el fármaco llega de manera inalterada al torrente sanguíneo evitando el metabolismo de primer paso, por lo tanto, la disponibilidad del fármaco es

rápida y predecible, y por tanto la biodisponibilidad por esta vía es del cien por ciento. Esta vía de administración es la más útil para pacientes inconscientes o que no cooperan con la administración, dentro de las desventajas se encuentran las siguientes: causa dolor al paciente, es necesaria la asistencia de personal capacitado, es más costosa que la vía oral. En la Figura 2, se representan las principales diferencias entre las vías de administración oral e intravenosa.⁵

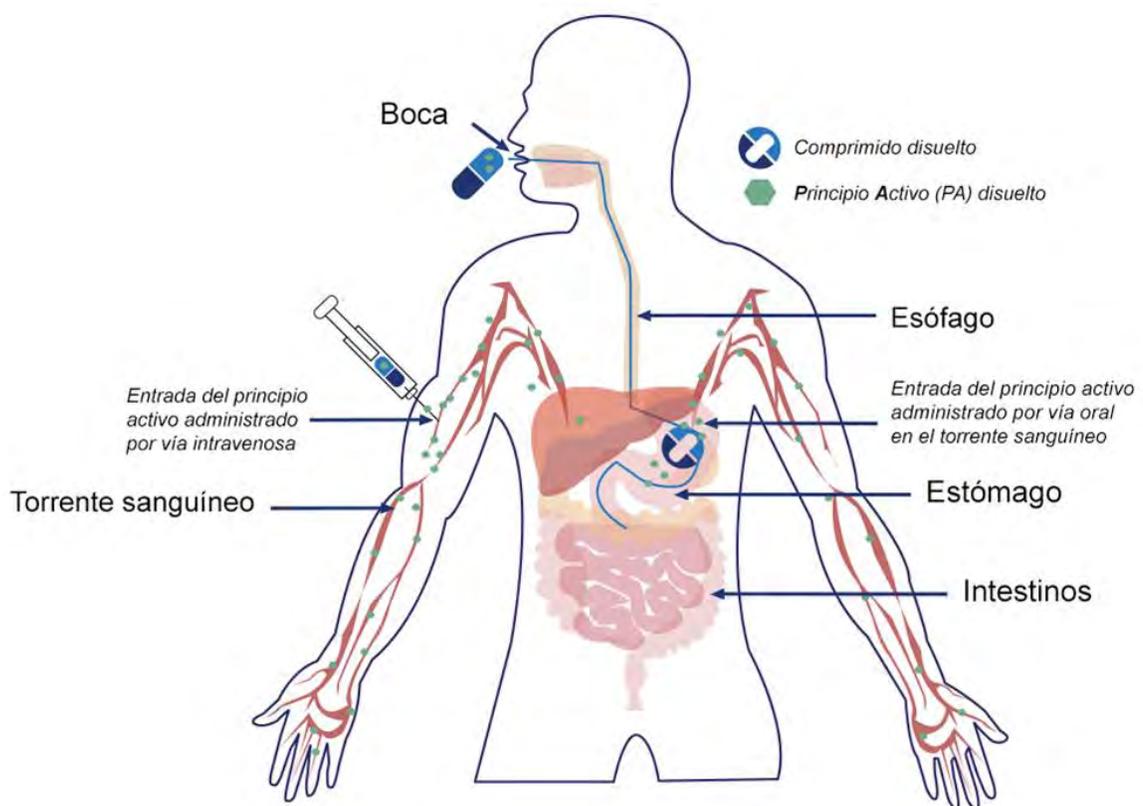


Figura 2. Vías de administración oral e intravenosa.⁶

Se observa como el principio activo llega directamente al torrente sanguíneo en la administración IV, en cambio en la administración oral el principio activo pasa por el tracto gastrointestinal y el hígado antes de llegar a la circulación.⁶

2.3. ASPECTOS GENERALES DE FARMACOCINÉTICA.

Como se observa en la figura 3, estudio de la farmacocinética comprende diferentes etapas: absorción, distribución, metabolismo (biotransformación) y eliminación (excreción). Si se pretende utilizar a la molécula candidata a fármaco por la vía parenteral es necesario que se investigue su biodisponibilidad por vía oral.⁷

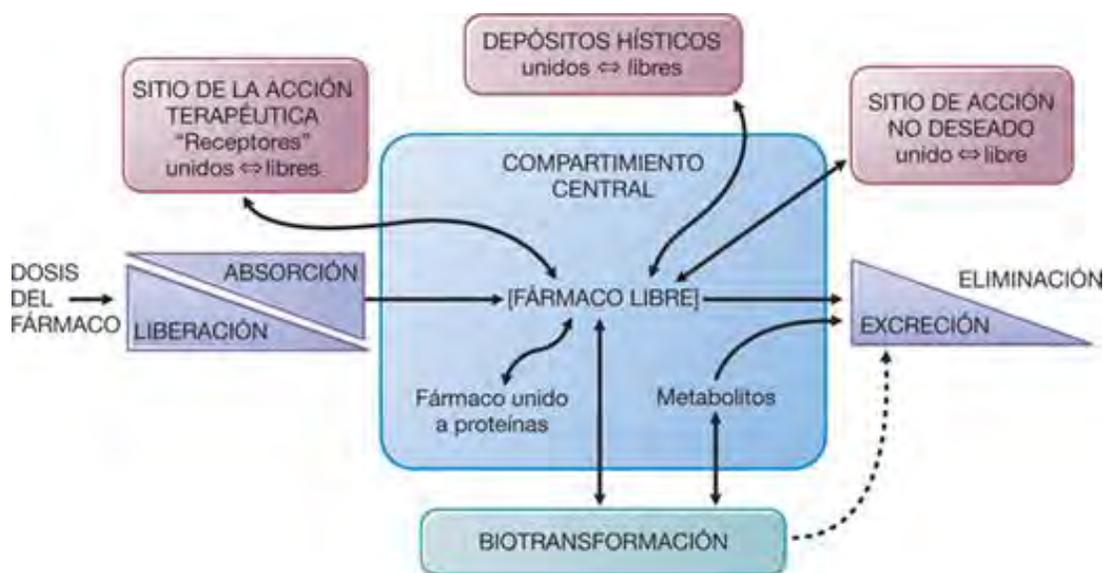


Figura 3. Procesos farmacocinéticos que sufren los fármacos en el organismo.⁷

La absorción describe el paso de un fármaco desde el sitio de administración hasta el compartimiento central, así como la medida y tiempo en que esto ocurre. Para las formas farmacéuticas de administración oral (capsulas, tabletas o polvos) es necesario que primero se desintegren liberando el fármaco, segundo que el fármaco se disuelva, sin embargo, solamente una fracción de la dosis de fármaco pasa por el hígado (sufriendo metabolismo de primer paso) y finalmente alcanza la circulación sistémica desde el cual tiene acceso al sitio de acción, esta fracción se conoce como fracción biodisponible.^{5,7,8}

Después de la llegar a circulación general el fármaco se distribuye hacia los órganos y tejidos por medio de los líquidos intersticial e intracelular. La distribución de cada fármaco depende principalmente de las características fisicoquímicas como liposolubilidad, carácter ácido o básico, capacidad para atravesar membranas biológicas y su unión a proteínas plasmáticas. Al llegar a circulación el fármaco se distribuye primero a órganos bien irrigados como hígado, riñones, encéfalo, y posteriormente se distribuye a otros órganos menos irrigados como piel, grasa y el resto de las vísceras.^{5,7,8}

El metabolismo o biotransformación de fármacos (principalmente ocurre en el hígado) tiene dos propósitos principales. El primero es terminar con la actividad biológica del fármaco y el segundo producir metabolitos más hidrófilos o de mayor tamaño que faciliten su eliminación del organismo, en casos particulares se producen moléculas con potente actividad biológica o con propiedades tóxicas. Las reacciones de metabolismo son de dos tipos, las de fase I o de biosíntesis y las de fase II o de conjugación.^{5,7,8}

El último proceso farmacocinético es la eliminación, algunos fármacos se eliminan del organismo sin cambios y otros se eliminan en forma de metabolitos, siendo los riñones los órganos más importantes para la excreción de fármacos y sus metabolitos. La segunda vía de eliminación de fármacos es por medio de las heces, eliminándose principalmente por esta vía medicamentos ingeridos no absorbidos o metabolitos excretados en la bilis o secretados directamente en las vías intestinales. Otras vías de eliminación la constituyen la leche materna, el sudor y los pulmones.^{5,7,8}

2.4. ESTUDIOS DE FARMACOCINÉTICA Y BIODISPONIBILIDAD.

La biodisponibilidad tradicionalmente se define como la proporción o fracción del fármaco que se absorbe y alcanza la circulación sistémica después de la

administración de un medicamento por vía oral. Como se observa en la Figura 4, la biodisponibilidad se valora con el área bajo la curva (AUC).⁹

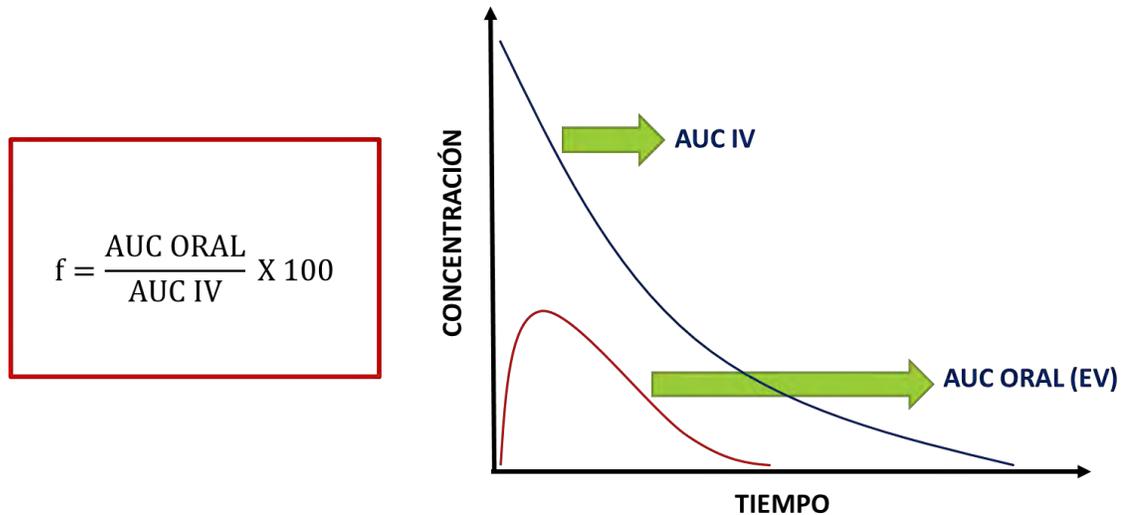


Figura 4. Fórmula simplificada para cálculo de la biodisponibilidad, la biodisponibilidad EV u oral es representada por f. Representación de dos perfiles farmacéuticos y de sus respectivas AUC tras una administración IV y una vía extravascular (EV).

Tras administrar un fármaco por vía oral, este se absorbe en diferentes secciones del estómago e intestinos y la fracción que alcanza la circulación sistémica no en todos los casos es del cien por ciento. La variabilidad de la biodisponibilidad entre uno u otros fármacos depende de las características fisicoquímicas del fármaco como la solubilidad, permeabilidad, estado de ionización, los mecanismos de transporte a través de membranas, y su unión a proteínas plasmáticas. Si se trata de medicamentos dependerá de la composición de la forma farmacéutica y de las características particulares del paciente.¹⁰

La biodisponibilidad se determina durante los estudios farmacocinéticos, y estos se llevan a cabo en dos etapas del proceso de desarrollo de

medicamentos: en la etapa preclínica utilizando modelos animales y en la etapa clínica en humanos (principalmente en los estudios de fase I). En estudios preclínicos se utilizan principalmente dos especies de mamíferos, siendo de los más utilizados ratones y ratas, aunque también se utilizan perros y primates.¹¹

De forma general un estudio de farmacocinética típico se realiza mediante la administración de una dosis fija del medicamento al sujeto de investigación ya sean animales o humanos y la colección de muestras de sangre a diferentes tiempos posteriores a la administración. Finalmente, utilizando métodos analíticos validados se determina la concentración del principio activo y de sus metabolitos.¹²

2.5. BIODISPONIBILIDAD DE FÁRMACOS.

La problemática es que aproximadamente el 40 % de los medicamentos que se comercializan actualmente en el mercado tienen baja biodisponibilidad lo cual se traduce en una falta de eficacia de los medicamentos para aliviar a los pacientes, dentro de este grupo encontramos medicamentos contra el cáncer, la diabetes y la hipertensión principalmente.^{13,14}

Además, de las moléculas candidatas a fármaco que se encuentran en fase de investigación solamente el 25% no tienen problemas de biodisponibilidad. Por lo anterior, es un reto para los investigadores lograr que los nuevos fármacos tengan buena biodisponibilidad cuando son administrados por vía oral, ya que por baja biodisponibilidad aproximadamente el 40 % de las moléculas en estudio son rechazadas durante la evaluación preclínica o durante los estudios clínicos de fase I en humanos.^{14,15,16}

En las últimas tres décadas esta problemática ha llamado la atención a nivel mundial y se han generado estrategias que han dado paso a nuevas

estrategias y formas farmacéuticas novedosas, como resultado se ha logrado incrementar la biodisponibilidad de fármacos y moléculas candidatas a fármacos.

La biodisponibilidad depende de directamente de dos parámetros la solubilidad y la permeabilidad. De acuerdo con la biofarmacia para estudiar estos dos aspectos se deben tomar consideraciones particulares ya que al aplicarlos a los sistemas biológicos se presentan limitantes como por ejemplo la temperatura (37°C) o el pH (cercano a 7), etc.¹⁷

Tradicionalmente la solubilidad se define como la cantidad de soluto que se puede disolver en 100 mL (cm³) de disolvente. De acuerdo con la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) y la Farmacopea de los Estados Unidos de Norte América (USP), la solubilidad de una sustancia en otra es una medida del grado de mezcla molecular entre las dos sustancias puras en equilibrio termodinámico. La solubilidad puede expresarse en unidades de concentración tales como: molalidad, fracción molar, relación molar, peso / volumen o peso / peso.^{18,19}

En este sentido, el estudio de la solubilidad de fármacos y moléculas candidatas a fármacos debe realizarse en sistemas acuosos y pH cercano a 7. Y los principales factores que la afectan son la superficie de contacto o tamaño de partícula, forma del soluto (sólidos amorfos o cristalinos).²⁰

Por otro lado, se debe considerar que el proceso de distribución de fármacos es un proceso que involucra el transporte a través de membranas, los mecanismos principales son: transporte activo, y transporte pasivo ya sea por difusión simple, mediada por canales o mediada por transportadores. Se considera que para que una molécula pueda atravesar membranas biológicas esta debe cumplir con los siguientes criterios: estar en estado soluble, no estar en estado ionizado y no estar unido a proteínas plasmáticas.⁷⁻¹⁰

2.5.1. LAS REGLAS DE LIPINSKI (Ro5).

Para que una molécula tenga buena disponibilidad, esta debe tener la capacidad de atravesar las membranas biológicas y se sabe que dentro de los factores que influyen en el comportamiento biológico de un compuesto se encuentran las propiedades fisicoquímicas. Debido a esto, las moléculas candidatas a fármacos deben ser capaces de transportarse a través de membranas biológicas deben de cumplir con los requerimientos de liposolubilidad, polaridad, carga eléctrica, solubilidad acuosa, tamaño molecular, etc.²¹⁻²³

La regla de Lipinski, también llamada regla del 5 (Rule of five, Ro5), es una regla ampliamente aceptada para detectar y predecir el comportamiento de las sustancias relacionado a la permeabilidad en membranas biológicas. Esta regla se derivó de un análisis de más de 2245 sustancias candidatas a fármacos y que se encontraban en pruebas de fase II.²²⁻²⁴

Esta regla predice que si un compuesto viola 2 o más de los siguientes postulados, tendrá problemas de absorción, los cuatro postulados de Lipinski son los siguientes:

1. Peso Molecular menor de 500.
2. Número de donadores de enlace (puente) de hidrógeno igual o menos a 5 (suma de grupos OH y NH en la molécula).
3. Número de aceptores de enlace (puente) de hidrógeno igual o menor a 10 (suma de O y N en la molécula).
4. Log P calculado (C log P) menor a 5.²²⁻²⁴

2.6. CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA.

Se ha desarrollado una serie de clasificaciones que describen la absorción o paso a través de membranas de las moléculas. Amidon y cols encontraron una fuerte correlación entre la permeabilidad y la fracción de fármaco absorbido en estudios de farmacocinética por vía oral en humanos creando el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BSC), en esta clasificación los parámetros determinantes para la absorción son la permeabilidad intestinal y la solubilidad, como se observa en la Figura 5, esta clasificación es la más aceptada a nivel mundial e incluye cuatro grupos: clase I (alta solubilidad, alta permeabilidad), clase II (baja solubilidad, alta permeabilidad), clase III (alta solubilidad, baja permeabilidad) y clase IV (baja solubilidad y baja permeabilidad).²⁵⁻²⁸

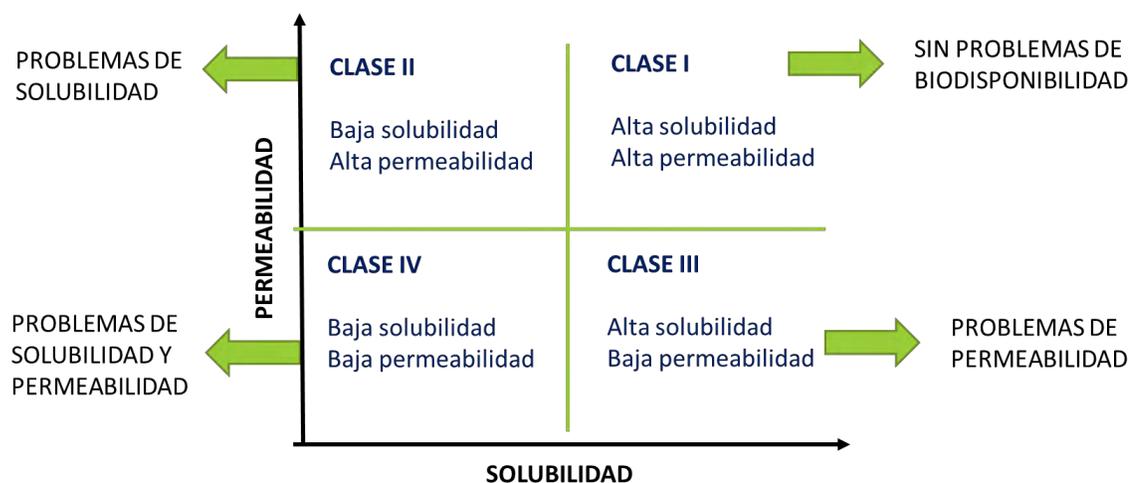


Figura 5. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica y problemática que representa cada grupo con respecto a la absorción por vía oral de fármacos.

Desde que fue publicada, la BCS se ha utilizado como herramienta para conducir estudios clínicos de bioequivalencia. Y se han desarrollado metodologías para medir la permeabilidad intestinal, dentro de las cuales encontramos, ensayos de permeabilidad empleando membranas artificiales en paralelo (PAMPA) y monocapa de la línea celular Caco-2 (de cáncer de colón).

Es importante mencionar que hasta la fecha la FDA no ha aceptado a los métodos *in silico* como válidos para cuantificar la permeabilidad en humanos.^{29,30}

2.7. ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA SOLUBILIDAD Y LA PERMEABILIDAD.

Durante la etapa de descubrimiento y desarrollo del fármaco un alto porcentaje de las moléculas tienen problemas de solubilidad acuosa y en ocasiones muchos científicos las disuelven en DMSO (sustancia ampliamente toxica para los organismos vivos) para realizar las pruebas *in vitro*, lo anterior es un problema y puede ser considerado una mala práctica ya que la solubilidad de un candidato a fármaco debe ser de preferencia en agua y utilizando excipientes de uso farmacéutico.³¹

Se ha estimado que de los fármacos que se encuentran en el mercado, solamente el 25 % corresponde a la clase I de la clasificación biofarmacéutica, esto representa una amplia área de trabajo para mejorar la absorción y permeabilidad de fármacos ya existentes para mejorar su biodisponibilidad.²⁶

Existen varias estrategias para superar los problemas de solubilidad y permeabilidad sin modificar la molécula original, para mejorar la solubilidad se considera el uso de surfactantes, o de cosolventes como el etanol, tween o propilenglicol, inclusive realizar ligeras variaciones de pH, hasta disminuir el tamaño de partículas. También, existen varias estrategias que han demostrado resultados positivos para mejorar la permeabilidad como el uso de acarreadores de tipo nanotecnológico dentro de las cuales encontramos profármacos, liposomas, nanopartículas lipídicas sólidas, nanopartículas inorgánicas, micelas poliméricas, dispersiones y dendrímeros.^{32,33}

3. JUSTIFICACIÓN

El reto actual que representa el diseño de nuevos fármacos y medicamentos con buena biodisponibilidad oral es una temática actual y de gran relevancia para la comunidad científica que se dedica al desarrollo de nuevos medicamentos para consumo humano. La problemática se ha identificado claramente y consiste en que el 40 % de los medicamentos que se comercializan actualmente en el mercado tienen baja biodisponibilidad oral, lo cual se traduce en una falta de eficacia de los medicamentos para aliviar a los pacientes.

Desde hace tres décadas se han desarrollado estrategias para realizar el diseño de medicamentos con buena biodisponibilidad por vía oral, se incluyeron métodos in silico, ensayos in vitro y ensayos in vivo utilizando modelos animales. Las metodologías antes mencionadas son aplicadas en la etapa preclínica del desarrollo de medicamentos y las tendencias mundiales apuntan hacia el desarrollo de técnicas de alto rendimiento que permitan optimizar el tiempo y los recursos empleados.

En la etapa preclínica es necesaria la evaluación de la solubilidad, la permeabilidad y el metabolismo de primer paso, que son los factores que pueden contribuir a una biodisponibilidad oral incompleta de las moléculas candidatas a fármacos.

En este trabajo, se realizará una revisión detallada y actualizada de las estrategias para el diseño de fármacos con buena biodisponibilidad oral, las metodologías actualizadas para el estudio de la solubilidad, la permeabilidad y el metabolismo de primer paso, así como, las estrategias novedosas que se utilizan para mejorar la biodisponibilidad oral de fármacos y moléculas candidatas a fármacos.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Realizar una revisión bibliográfica detallada y actualizada de las estrategias para el diseño de fármacos con buena biodisponibilidad, el incremento de la biodisponibilidad oral, así como, de las técnicas de evaluación de los factores que la afectan.

4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- A. Describir los lineamientos internacionales que se siguen para el desarrollo de medicamentos.
- B. Realizar una investigación documental sobre los temas citados en el objetivo general en artículos científicos con énfasis en la información menor a 5 años de antigüedad.
- C. Analizar y sistematizar la información para presentarla en la presente monografía.

4.3. METAS Y ALCANCES

- A) Escribir un artículo de revisión sobre biodisponibilidad y enviarlo a una revista de carácter científico.

5. ASPECTOS ÉTICOS

El código de ética para el farmacéutico mexicano establece que este profesional tiene influencia directa sobre la promoción de la salud, el diagnóstico de la enfermedad y la investigación, desarrollo, producción, custodia, control, suministro, seguimiento y regulación de los medicamentos, además en educación e investigación por lo que en su práctica puede enfrentar problemas éticos y de valor.

La ética del farmacéutico debe abstenerse de realizar cualquier acto o actitud que sea susceptible de desacreditar la profesión, aunque no tenga relación alguna con su labor profesional. En toda circunstancia, deben velar por la conservación y el respeto a la dignidad e independencia a la profesión. Y debe de respetar las normas éticas de la profesión, siguiendo a su vez los siguientes principios: excelencia, innovación, compromiso, respeto y honestidad.

Por lo anterior los aspectos éticos aplicables a este trabajo monográfico deben estar dirigidos a socializar el conocimiento científico y gestionar acciones éticas que integren, progresivamente, la docencia e investigación con miras a promover la formación de equipos interdisciplinarios que permitan la producción científica con beneficio social.

6. METODOLOGÍA

El presente trabajo será una monografía de revisión documental, sobre el estado del arte de las estrategias que se siguen para mejorar la biodisponibilidad en moléculas candidatas a fármaco durante el proceso de desarrollo de medicamentos.

Se llevará a cabo una investigación bibliográfica detallada en internet, consultando bases de datos principalmente en artículos de revisión, artículos de investigación originales, tesis, y páginas de internet oficiales y de divulgación. Lo anterior abarcara principalmente información de los últimos cinco años y se utilizarán las siguientes palabras clave: Biodisponibilidad, solubilidad, permeabilidad, clasificación biofarmacéutica, desarrollo de medicamentos, formulación de medicamentos, nanopartícula y profármaco.

Se realizará un análisis sistematizado y detallado de la información para posteriormente plasmarlo en el presente trabajo.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Biodisponibilidad absoluta y relativa

En términos de farmacocinética la biodisponibilidad se expresa como la fracción absorbida del fármaco que se administra (F%), la Agencia Europea de Evaluación de Medicamentos (EMA), define la biodisponibilidad como “la velocidad y el grado en que el principio activo se absorbe de una forma farmacéutica, y queda disponible en la circulación sistémica”.³⁴

En la literatura actual se emplea el termino en dos contextos diferentes, es decir, se reconocen dos tipos de biodisponibilidad:

- ✓ Biodisponibilidad absoluta, se refiere a la fracción de la dosis extravascular que llega a la circulación sistémica sin cambios en referencia a una dosis intravenosa. Este parámetro se determina por estudios farmacocinéticos comparando perfiles de una administración extravascular como la administración intravenosa del mismo fármaco. Generalmente se determina calculando el AUC respectivo después de la administración oral e intravenosa, como se representa en la siguiente ecuación, esta ecuación considera que el fármaco sigue una cinética lineal.

$$\text{Biodisponibilidad absoluta} = \frac{\text{AUC}_{\text{po}}}{\text{AUC}_{\text{iv}}} \times \frac{\text{DOSIS}_{\text{iv}}}{\text{DOSIS}_{\text{po}}}$$

En la ecuación anterior “AUC” es al área bajo la curva, “po” es administración por vía oral, “iv” es la administración intravenosa.³⁵⁻³⁷

- ✓ Biodisponibilidad relativa, se refiere a la fracción de una dosis del fármaco que alcanza la circulación sistémica en relación con un

producto de referencia, es decir se utiliza para la comparación de dos medicamentos (medicamento A vs medicamento B), la biodisponibilidad relativa se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Biodisponibilidad relativa} = \frac{\text{AUC prueba}}{\text{AUC referencia}} \times \frac{\text{DOSIS referencia}}{\text{DOSIS prueba}}$$

La biodisponibilidad oral está determinada por la fracción de dosis absorbida (fa) en el tracto gastrointestinal y la fracción de la dosis que no sufre metabolismo en el tracto intestinal (FG) y ni en el hígado.³⁸⁻⁴⁰

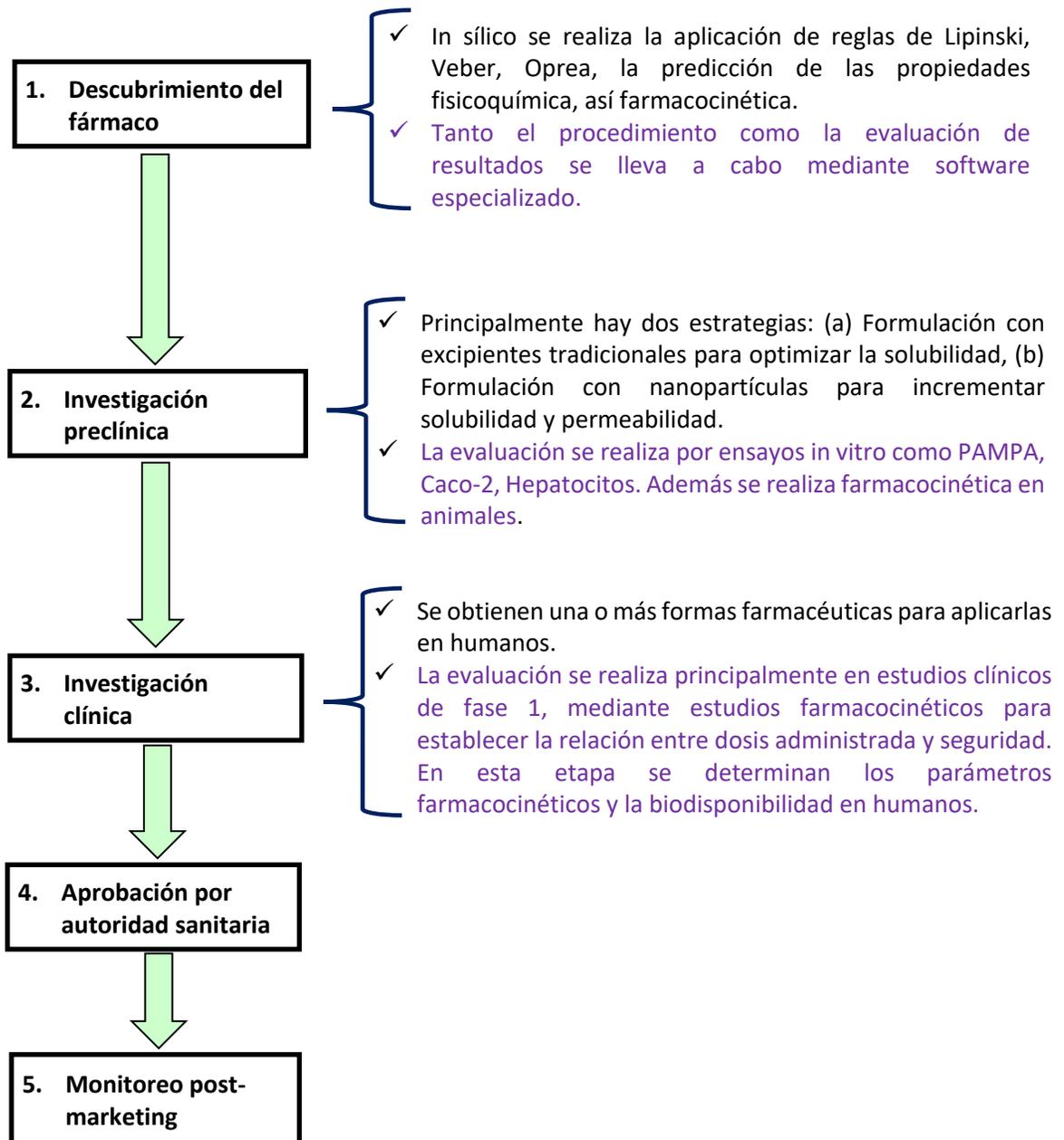
7.2. Desarrollo de medicamentos y biodisponibilidad

Descubrir agentes terapéuticos novedosos es un proceso cada vez más costoso y que lleva más tiempo, la mayoría de las estimaciones indican que se necesitan aproximadamente de 10 a 15 años y más de \$ 800 millones de dólares norteamericanos para descubrir y desarrollar un producto farmacéutico exitoso. Durante la última década, la industria farmacéutica ha utilizado métodos de química farmacéutica novedosos y de detección de alto rendimiento, así como programas in silico mejorados, este enfoque permitió la creación de millones de compuestos que fueron examinados contra cientos de objetivos (dianas farmacológicas) potenciales.⁴¹

A pesar de que el nuevo enfoque del proceso de desarrollo de medicamentos ha disminuido el tiempo del desarrollo del medicamento a 8 o 10 años, una de las principales limitaciones de este enfoque es que las nuevas entidades químicas descubiertas recientemente tienden a tener un alto peso molecular y lipofilia con baja solubilidad acuosa, dando como resultado una biodisponibilidad oral deficiente siendo esta una de las principales causas de falla del compuesto en el desarrollo preclínico y clínico. Como se observa en la figura 6 actualmente el proceso de desarrollo de medicamentos consta de

cinco etapas: (1) descubrimiento y desarrollo; (2) investigación preclínica; (3) investigación clínica; (4) revisión de expedientes y aprobación de medicamentos para su venta; y (5) monitoreo de seguridad de medicamentos post-mercado.^{4, 42}

Figura 6. Importancia de la biodisponibilidad durante el proceso de desarrollo de medicamentos.



7.3. Propiedades fisicoquímicas que influyen en la biodisponibilidad

De acuerdo con la figura 6, el descubrimiento del fármaco comienza con el diseño in silico de las nuevas entidades químicas, en el cual se consideran las propiedades fisicoquímicas y biológicas que influyen en la biodisponibilidad.

En la figura 7 se observa que la biodisponibilidad depende directamente del grado de absorción de fármaco a través del tracto gastrointestinal y del metabolismo hepático o de primer paso. La absorción depende directamente de la permeabilidad intestinal, el transporte de eflujo, el transporte de influjo y del metabolismo que ocurre en el tracto digestivo en la pared intestinal.⁴³⁻⁴⁵

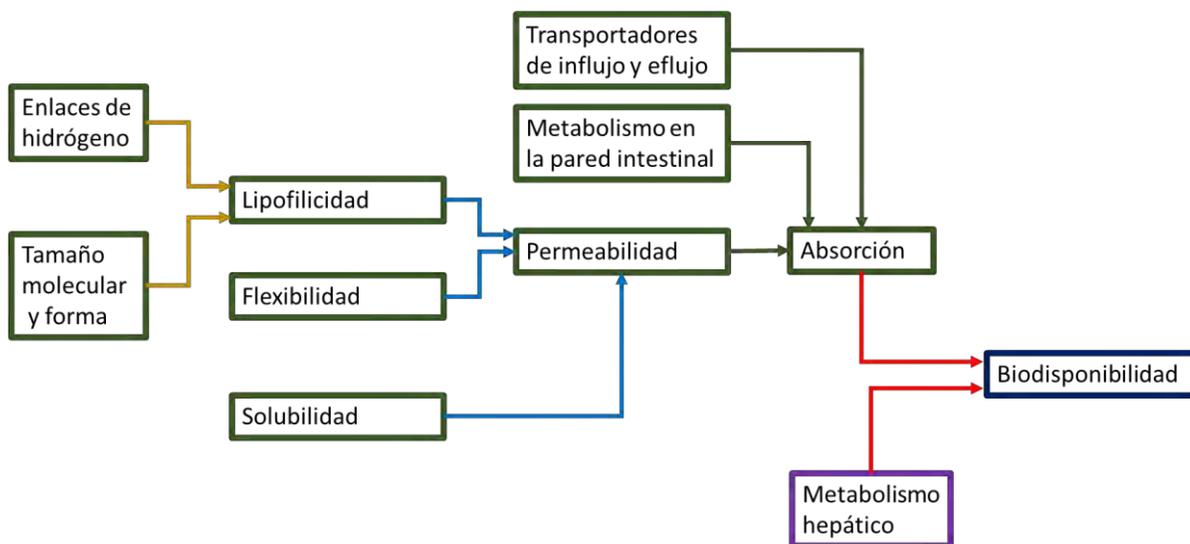


Figura 7. Parámetros fisicoquímicos involucrados en la biodisponibilidad de fármacos administrados por vía oral.⁴⁶

7.4. Propiedades fisicoquímicas que influyen en la permeabilidad

El principal mecanismo de transporte de fármacos en el intestino es la difusión pasiva, que se lleva a cabo en el lumen del tracto y epitelio gastrointestinales,

este proceso dinámico es descrito por la primera ley de Fick, es decir, es un proceso a favor de un gradiente de concentración, en el cual el fármaco cruzara la barrera intestinal hasta alcanzar la vena porta, es importante que el fármaco se encuentre disuelto. Este proceso de difusión se puede describir mediante la siguiente fórmula:

$$J \text{ membrana} = P \text{ membrana} \times \Delta C \times SA$$

Donde: *J membrana* es el flujo de la droga a través de una membrana intestinal; *SA* es el área de superficie de la luz intestinal; *P membrana* es la permeabilidad efectiva (es la velocidad a la que el fármaco disuelto cruza la pared intestinal alcanzando la circulación sanguínea en la vena porta); y ΔC es el incremento del gradiente de concentración a través de la luz intestinal. A continuación, se describen los factores que influyen en la difusión pasiva.⁴⁷⁻⁴⁹

7.4.1. Volumen molecular y tamaño

Al diseñar nuevas entidades químicas el peso molecular es el parámetro fisicoquímico más importante que debe considerarse si se desea que un compuesto se absorba por difusión pasiva y tenga buena permeabilidad intestinal, este parámetro ha sido probablemente el más estudiado y mejor descrito, históricamente fue descrito como: volumen molecular, área superficial, volumen, geometría, conformación, radio, radio de giro, diámetro de la sección transversal, tamaño hidrodinámico y radio hidrodinámico. Probablemente los términos que mejor describen a una molécula para cuestión de transporte por difusión pasiva son: radio o diámetro molecular, peso molecular, y radio de giro.^{50,51}

Se han hecho innumerables trabajos con respecto al peso y tamaño molecular (estos parámetros están íntimamente relacionados), Pantzar et al. y Knipp et al. demostraron hallazgos similares, concluyendo que la permeabilidad a través del intestino de rata depende directamente del tamaño: compuestos con

un diámetro molecular menor de 10 Å favorece la permeabilidad es a través de los poros acuosos de la membrana del borde en cepillo apical del enterocito; compuestos con un diámetro entre 10 y 30Å, son capaces de atravesar las uniones estrechas por transporte paracelular; compuestos mayores de 30 Å, son transportados por medio del mecanismo de transcitosis. Por otro lado, Camenisch et al. realizó estudios de permeabilidad en la línea celular Caco-2, concluyendo que: las moléculas con peso menor de 200 Da atraviesan fácilmente la mucosa intestinal por las vías paracelular y transcelular; moléculas con un peso molecular entre 200 y 500 Da difundían libremente; moléculas mayores a 500 Da disminuía su capacidad de difundir a través de la membrana. Ambos tipos de estudios se correlacionan ya que las moléculas de mayor peso molecular tienen mayor tamaño, es decir, las moléculas con peso mayor a 500 Da, tienen un tamaño molecular mayor de 30 Å, sin embargo, esta molecular pueden permear la membrana por el borde del cepillo a través de los mecanismos de endocitosis y transcitosis.⁵²⁻⁵⁴

7.4.2. Afinidad de enlaces de hidrógeno

En el diseño de nuevas entidades químicas con actividad farmacológica, la afinidad de la molécula para aceptar enlaces de hidrógeno es un descriptor que ayuda a predecir la permeabilidad molecular, a esta conclusión se llegó mediante varios estudios, algunos estudios muy simples que involucran el recuento de heteroátomos de azufre, oxígeno y nitrógeno (S, O y N), además del recuento de moléculas en términos del número de aceptadores de enlaces de hidrógeno y donantes de enlaces de hidrógeno. Estas metodologías dieron paso a la formulación de dos de los postulados de Lipinski: el número de donadores de enlace (puente) de hidrógeno debe ser igual o menos a 5 (suma de grupos OH y NH en la molécula; el número de aceptores de enlace (puente) de hidrógeno debe ser igual o menor a 10 (suma de O y N en la molécula). Sin embargo, hay estudios que sugieren que el conteo simple puede ser

problemático y arbitrario cuando se aplica a los grupos voluminosos y conformacionales como es el caso de los antibióticos, la flexibilidad puede proteger la resistencia del enlace de hidrógeno. Esta metodología considera que todos los tipos de enlaces H son energéticamente equivalentes y otra problemática que presenta esta metodología es que los efectos de la ionización son ignorados.⁵⁵⁻⁵⁷

7.4.3. Área polar superficial

En la última década, el desarrollo de las técnicas computacionales dio lugar al desarrollo de métodos novedosos, más prácticos y sofisticados, el más desarrollado fue la estimación del área polar de la superficie o área polar superficial (PSA). Estudios de permeabilidad (por difusión pasiva) en segmentos intestinales de rata (íleon) y en monocapas de las líneas celulares CACO-2 realizados en las décadas de los 90's mostraron excelente correlación entre el PSA de las moléculas y su permeabilidad por difusión pasiva obteniendo correlaciones (R^2) mayores a 0,92. Este mismo autor (Palm et al. y Kelder et al.) realizó un estudio más en el cual encontró una excelente correlación ($R^2 = 0.94$) entre el PSA de 20 fármacos y su fracción de absorción (Fab) en humanos.^{58,59}

7.4.4. Hidrofobicidad

Este parámetro describe el grado de afinidad que tiene una molécula por fases lipídicas y al mismo tiempo es una medida del grado de repulsión que muestra esta molécula por soluciones acuosas. La permeabilidad intestinal depende de este parámetro debido a que el intestino tiene una capa de mucosa rica en lípidos en donde el fármaco en solución debe tener la capacidad de atravesarla, en este proceso se rompen los enlaces de hidrogeno formados por la solución acuosa y el fármaco. La hidrofobicidad a menudo se expresa como sinónimo de lipofilidad (aunque estrictamente hablando estos términos

son diferentes) y para describir este parámetro se usa la siguiente fórmula de coeficiente de partición o log P (algunos autores utilizan log D):

$$\log P = \log\left(\frac{C_{oct}}{C_{agua}}\right)$$

Donde C_{oct} y C_{agua} son las concentraciones en equilibrio de la fracción del soluto no ionizado en un sistema bifásico de octanol y agua, lo anterior aplica a la fracción no ionizada de la molécula. Para el caso de moléculas ionizables, el pH de la solución acuosa no debe estar dentro de ± 2 unidades de su respectivo.^{60,61}

Con el desarrollo de métodos computacionales los parámetros de lipofilidad, $c \log P$ y $c \log D$ pueden ser calculados in silico, la relación entre la fracción de fármaco absorbido por vía oral y la lipofilidad se ha investigado concluyendo que los compuestos que tienen un $c \log P$ menor a 2 tienen una absorción oral deficiente, esto se estableció en los postulados de Lipinski en el cual el $c \log P$ debe ser menor a 5.⁶²

La teoría de la partición por pH o teoría de ionización establece que en los procesos de absorción por difusión pasiva la velocidad de absorción esta favorecida hacia la forma no ionizada de la molécula, de manera general se estableció que los fármacos ácidos se encontraran ionizados en un pH básico y que los fármacos básicos se disociaran en pH ácido, sin embargo, esta teoría no aplica a otros tipos de transporte y ha sido muy cuestionada por su poca utilidad para predecir el sitio de absorción del fármaco, usando técnicas voltimétricas se demostró que los compuestos en su forma ionizada pueden pasar a las fases orgánicas y también podrían cruzar las membranas, los mecanismos por los cuales un compuesto cargado puede atravesar la membrana son: transcelular, paracelular, mediado por proteínas acarreadoras.⁶³⁻⁶⁵

7.4.5. Permeabilidad y los postulados de Lipinski

En 1997, Christopher A. Lipinski publicó un artículo que agrupa una serie de características previamente descritas en esta sección, correspondiente a los factores fisicoquímicos que influyen en la permeabilidad de fármacos que se administran por vía oral y que atraviesan la membrana intestinal por difusión pasiva, estas características se conocen como la regla de cinco de Lipinski o los postulados de Lipinski que fueron descritos previamente en la sección 2.5.1. La hipótesis de Lipinski surgió de la observación de que la mayoría de los medicamentos son moléculas relativamente pequeñas y lipófilas (Lipinski, 1997 y 2001).⁶⁶

Estos postulados son una regla general para determinar si un compuesto químico con cierta actividad farmacológica o biológica podrá ser administrado por vía oral en los seres humanos y desde su publicación, la regla del cinco de Lipinski ha sido un filtro crítico para los programas de desarrollo de fármacos. Un algoritmo simple que ayuda a identificar candidatos de fármacos exitosos, los postulados ayudan a identificar moléculas que probablemente tienen una mala permeabilidad intestinal o una baja solubilidad acuosa y (cuando violan dos o más reglas), por lo tanto, estas moléculas tendrán una absorción oral deficiente. Esta contribución histórica al desarrollo de fármacos ha influido en la forma en que la industria farmacéutica se acerca al desarrollo de fármacos activos por vía oral.^{67,68}

La regla es importante para la optimización de fármaco para aumentar la actividad y la selectividad, conservando la capacidad de este para ser absorbido en la pared intestinal cuando se administra por vía oral, ya que a menudo la optimización molecular conduce a fármacos con mayor peso molecular, más anillos, enlaces más giratorios y una mayor lipofilia. La Tabla 1, es de un estudio realizado por Aanandhi MV et al., quien analizó una serie de 20 agentes antiepilépticos clásicos y no clásicos los cuales cumplieron con las reglas de Lipinski.⁶⁹

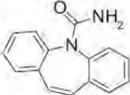
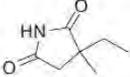
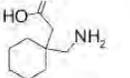
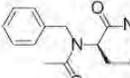
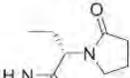
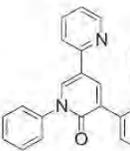
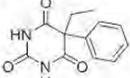
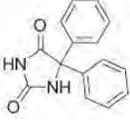
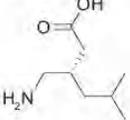
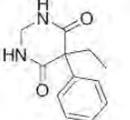
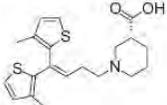
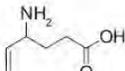
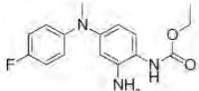
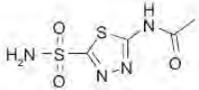
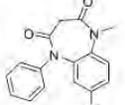
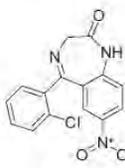
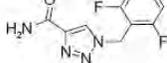
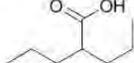
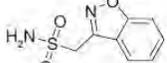
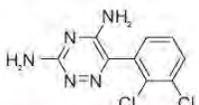
Compounds	Structures	Hydrogen bond donor (not more than 5)	Hydrogen bond acceptor (not more than 5)	Molecular weight (not more than 500 Dalton)	10 or fewer rotatable bonds	Log P (partition coefficient) not more than -0.4 to +5.6
Carbamazepine		1	3	236.09	1	4.16
Ethosuximide		1	2	141.16	1	0.55
Gabapentin		2	6	171.23	3	-1.27
Lacosamide		2	3	250.29	6	-0.02
Levetiracetam		1	2	170.209	3	-0.59
Perampamel		0	3	349.3847	3	4.11
Phenobarbitone		2	3	232.2353	2	1.41
Phenytoin		2	2	252.268	2	2.15
Pregabalin		3	3	159.2261	5	-1.35
Primidone		2	2	218.2518	2	1.12

Tabla 1. Las reglas de Lipinski aplicadas a la optimización de moléculas para tratamiento de la epilepsia.⁶⁹

Compounds	Structures	Hydrogen bond donor (not more than 5)	Hydrogen bond acceptor (not more than 5)	Molecular weight (not more than 500 Dalton)	10 or fewer rotatable bonds	Log P (partition coefficient) not more than -0.4 to +5.6
Tiagabine		1	2	375.548	6	2.60
Vigabatrin		3	3	129.157	4	-2.09
Retigabine		4	4	303.33	6	2.70
Acetazolamide		3	7	222.245	1	-0.26±0.30
Clobazepam		0	4	300.739	1	1.69±0.90
Clonazepam		1	6	315.71	2	2.34±0.56
Rufinamide		2	5	238.193	3	0.05±0.87
Valporic acid		1	2	144.211	5	2.8
Zonisamide		1	5	212.22	2	0.2
Lamotrigine		2	5	255.01	1	1.48

Continuación de la **Tabla 1**. Las reglas de Lipinski aplicadas a la optimización de moléculas para tratamiento de la epilepsia.⁶⁹

Un proceso crucial para la absorción intestinal es que los enlaces de hidrógeno los cuales aumentan la solubilidad acuosa, los cuales deben romperse para que un compuesto penetre en la membrana bicapa lipídica. De este modo, al aumentar el número de enlaces de hidrógeno, se reduce el reparto de la fase acuosa a la membrana bicapa lipídica para la permeación por difusión pasiva. Sin embargo, el aumento de logP mayor a 5, disminuye la solubilidad acuosa que reduce la absorción.⁷⁰

El peso molecular está relacionado con el tamaño de la molécula, a medida que aumenta el tamaño molecular, debe formarse una cavidad más grande en agua para solubilizar el compuesto, disminuyendo así la solubilidad. El aumento del tamaño también impide la difusión pasiva a través del paquete compacto cadenas laterales alifáticas de la membrana bicapa lipídica.⁷¹

Hay diversos estudios que proponen valores óptimos de los que aparecen en las reglas de Lipinski que favorecen la absorción oral de fármacos y son los siguientes:

- ✓ El peso molecular debe estar entre 300 y 400 Dalton.^{72,73}
- ✓ El log P debe estar entre 2 y 3.^{72,73}
- ✓ Reducción de la ionización.^{72,73}
- ✓ Reducción del total de enlaces aceptores y donadores menor a 9.^{72,73}
- ✓ Total de enlaces rotables menor a 12.^{72,73}

7.4.6. Solubilidad

En los últimos años se ha descrito que, durante la etapa de descubrimiento de fármacos, el número de candidatos de fármaco insoluble es casi del 70%, es decir que muestran una baja solubilidad en agua. La escasa solubilidad acuosa tiene como consecuencia pobres valores de disolución en fluidos gastrointestinales lo que se traduce en baja biodisponibilidad in vivo.⁷⁴

Así como la permeabilidad y la disolución (el grado de disolución del fármaco también es un proceso limitante en la absorción), la solubilidad es otro factor muy importante que determina la velocidad y el grado de absorción de fármacos a nivel gastrointestinal después de su administración por vía oral, el estudio y optimización de la solubilidad es fundamental en la etapa de descubrimiento y desarrollo. Se ha establecido que la biodisponibilidad oral de un fármaco depende de los siguientes parámetros: solubilidad acuosa, permeabilidad, velocidad de disolución, metabolismo de primer paso y susceptibilidad a los mecanismos de eflujo.⁷⁵

La solubilidad es la concentración de fármaco en una solución saturada a una temperatura y pH definido y generalmente se expresa como $\log S$, en donde S es la concentración del compuesto saturado en mol/L en equilibrio de la forma cristalina más estable, en condiciones definidas durante un período de tiempo (24 o 48 h). Para propósitos de descubrimiento y desarrollo de medicamentos se usan dos tipos de métodos de solubilidad: cinética y termodinámica, ambos se realizan a 37°C.⁷⁶

- ✓ Solubilidad termodinámica. Representa la concentración de equilibrio del fármaco en una solución saturada, en un solvente dado a una temperatura de 37°C. Otra definición es la concentración de un compuesto en solución saturada cuando hay un exceso de soluto sin disolver, y solución y soluto están en equilibrio.⁷⁷
- ✓ Solubilidad cinética. La determinación de solubilidad se realiza en un medio acuoso relevante, este parámetro se refiere al valor de solubilidad que es determinado dentro de un período de tiempo definido y es menor a 24 h. También se puede definir como la concentración de un compuesto en el momento en que un precipitado inducido aparece por primera vez en solución.⁷⁸

La solubilidad es afectada por una multitud de factores como: lipofilicidad (logP), molecular, la capacidad de enlaces de hidrógeno intra e intermolecular, el estado de carga (pKa), pH, temperatura, presión, composición del medio, red cristalina de fármaco y punto de fusión.

7.4.6.1. Factores que afectan la solubilidad

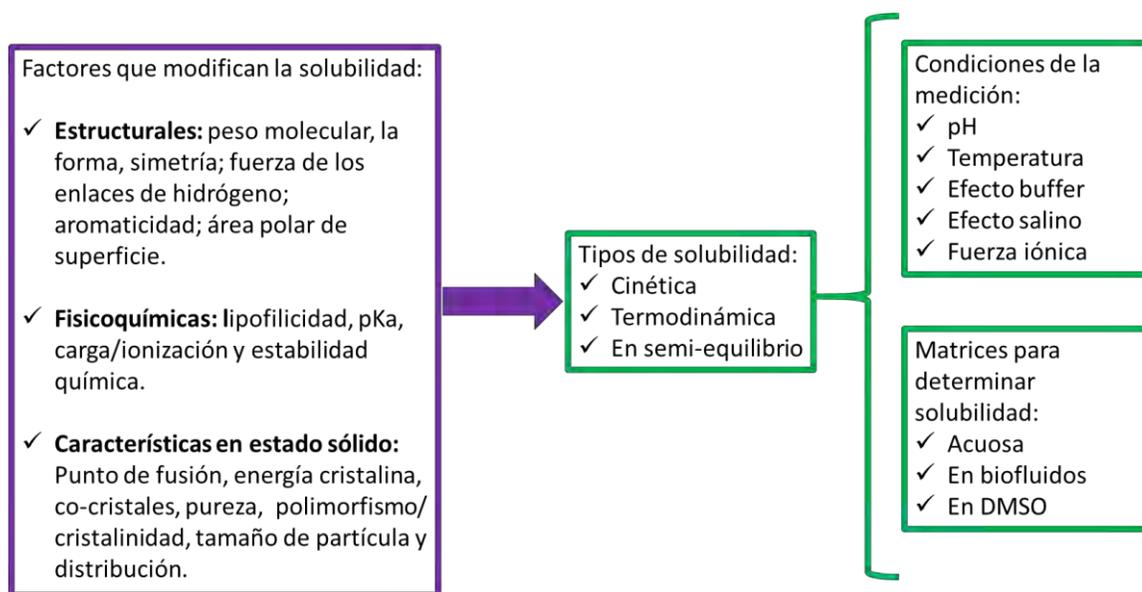


Figura 8. Tipos de solubilidad utilizados en HTS, factores de solubilidad que la modifican.

En la figura 8 se observan las matrices más utilizadas en la industria farmacéutica para determinar la solubilidad de moléculas candidatas a fármaco en la etapa de descubrimiento.⁷⁹ Además, se presentan varios factores que afectan o modifican la solubilidad de los fármacos, estos se clasifican en:

- ✓ Estructurales: peso molecular, la forma, simetría; fuerza de los enlaces de hidrógeno; aromaticidad; área polar de superficie.
- ✓ Fisicoquímicas: Lipofilicidad, pKa, carga/ionización y estabilidad química.

- ✓ Características en estado sólido: Punto de fusión, energía cristalina, co-cristales, polimorfismo/cristalinidad, pureza, tamaño de partícula y distribución.

El polimorfismo y la forma amorfa pueden afectar la estabilidad física y química de fármacos como: carbamazepina, indometacina y enalapril; al influir en la velocidad de solubilización y el mecanismo de descomposición. Aunque la estructura molecular de los polimorfos o de las formas amorfas es idéntica, las propiedades físicas son diferentes (temperatura de fusión, densidad molecular, higroscopicidad, forma del cristal, y entalpía de fusión), tales diferencias se atribuyen al empaquetamiento molecular.⁸⁰

Tabla 2. Solubilidad acuosa de 16 fármacos a pH a 7.4 medidos en las formas, cristalina, amorfa y una mezcla de ambos usando el método de frasco con agitación durante 24 horas.⁸¹

Drug name	Crystalline solubility (μM)	Amorphous solubility (μM)	Solubility ratio (amorphous/crystalline)
Disulfiram	2.2	3.2	1.5
Astemizole	3.5	4.3	1.2
Bicalutamide	4.6	6.1	1.3
Ketoconazole	5.2	5.6	1.1
Loperamide	6.6	444.3	67.5
Glyburide	9.5	56.8	6.0
Griseofulvin	15.3	18.0	1.2
Terfenadine	15.7	21.3	1.4
Nifedipine	41.9	882.4	21.1
Haloperidol	52.3	54.7	1.0
Testosterone	57.9	69.0	1.2
Flutamide	92.9	79.8	0.9
Bitolterol	103.0	77.2	0.7
Diazepam	130.0	132.3	1.0
Carbamazepine	428.6	456.2	1.1
Chlorzoxazone	1360.0	1626.2	1.2

Como se observa en la Tabla 2, dependiendo si se usa la forma amorfa o cristalina del fármaco en la formulación de un medicamento será el perfil de disolución obtenido, siendo por lo tanto un factor esencial que debe estudiarse en la etapa de descubrimiento. El proceso termodinámico de la de solubilidad se compone de tres pasos: primero, la molécula del fármaco debe disociarse de su forma sólida; segundo, la estructura uniforme del agua debe formar una cavidad lo suficientemente grande para incorporar la molécula del fármaco. Finalmente, la molécula de fármaco se inserta en el agua donde interactúa con las moléculas de agua circundantes.⁸²

Otra característica del estado sólido que modifica a la solubilidad es la energía del enrejado del cristal, ya que una estructura cristalina altamente ordenada se asocia con un punto de fusión más alto y por lo tanto una menor solubilidad acuosa. Un compuesto de alto punto de fusión (> 250 C) tendrá una solubilidad termodinámica deficiente, lo que requerirá un equipo de descubrimiento para desarrollar una relación estructura-actividad para reducir su energía de red cristalina que conduce a una mayor solubilidad acuosa. Esta característica se observa en fármacos con un número significativo de enlaces de hidrógeno grupos aceptores (HBA) / donantes (HBD) y conformación plana o poco inflexible.⁸³

En ocasiones durante la etapa de descubrimiento, cuando el fármaco tiene baja solubilidad como estrategia se opta el sintetizar la sal del fármaco, este proceso ha sido ampliamente documentado con fármacos que se comercian actualmente. Al sintetizar la sal de un fármaco sólido, este se compone de la molécula de fármaco cargada y típicamente un ácido o base débil con su contraión cargado de manera opuesta. Al formar la sal del fármaco cambia la atracción Coulombica entre el fármaco y su contraión alterando la energía potencial del estado sólido. Generalmente, la forma de la sal del fármaco altera la velocidad de disolución del fármaco modificando el pH de la capa de difusión en la superficie del sólido en disolución.⁸⁴

En general, debe haber una separación de alrededor de 2-3 unidades entre los valores pKa del contraión y el grupo funcional del fármaco. Se ha establecido que el uso de contraiones que son iones endógenos, como el Cl⁻, a menudo se asocia con el efecto ion común. Además, los contraiones disminuirán la solubilidad de una sal a base de HCl en los fluidos gástricos.⁸⁵

7.4.6.2. Determinación de la solubilidad

Algunas veces no se logra alcanzar el equilibrio en este tiempo debido a que el compuesto no se encuentra en su forma cristalina más estable. Por lo tanto, el valor de solubilidad cinética es normalmente más alto que la solubilidad termodinámica, sin embargo, a pesar de esta controversia la medición de la solubilidad cinética es el más utilizado para HTS y es empleado por varias compañías farmacéuticas para identificar compuestos poco solubles en la etapa de descubrimiento del fármaco. La principal ventaja es que esta técnica es más rápida ya que no se requiere alcanzar la condición de equilibrio y la principal desventaja es que no se considera el efecto de la red cristalina.⁸⁶

Tanto la solubilidad termodinámica como la cinética se miden en una solución amortiguadora a base de fosfato (rango de pH 6.5–7) ya que este medio se considera un sustituto del pH intestinal. A veces, fluido intestinal simulado en estado de ayuno (FASSIF) o fluido intestinal estado alimentado simulado (FESSIF) también se considera un medio acuoso para evaluar compuestos solubilidad. De acuerdo con varias revisiones los valores de solubilidad óptimos para lograr una buena absorción oral varía y depende directamente de la dosis que se pretende administrar. Se han descrito valores que van desde 0.1 mM a 1 mM.⁸⁷

7.4.6.3. Métodos para determinar solubilidad

Desde hace tres décadas la industria farmacéutica enfocó sus esfuerzos en desarrollar metodologías de alto rendimiento para la determinación de solubilidad, muchos de estos trabajos se presentan en la Tablas 3 y 4. El desarrollo de metodologías de HTS se enfocaron en la evaluación de la solubilidad cinética (no se alcanzaba el estado de equilibrio), brevemente: una solución stock de fármaco (generalmente 10 mM) en DMSO, era dispersada gradualmente en el disolvente acuoso de interés, cuando la precipitación del fármaco ocurría, esta era detectada ópticamente.⁸⁸

Posteriormente, para optimizar tiempo y recursos se desarrolló un método directo en el cual el precipitado se elimina por filtración o centrifugación y la concentración resultante se determina mediante lectores de placa UV o mediante HPLC.

Estos datos son útiles únicamente para caracterizar la concentración rápida del fármaco en los ensayos in vitro, y para de optimización del mismo en el paso de HIT a LEAD, sin embargo, si las propiedades de estado sólido no están caracterizadas, se pueden presentar las siguientes incertidumbres: la solubilidad del fármaco en estado cristalino y en estado no cristalino pueden alcanzar diferencias de dos órdenes de magnitud; segundo, la Regla de las etapas de Ostwald para precipitación, establece que este fenómeno es favorecido las especies metaestables en soluciones de agua-DMSO . Además, la presencia de DMSO en una concentración del 1–5%, lleva a la sobreestimación de los valores de solubilidad. A pesar de que los datos obtenidos mediante estas técnicas no se comparan estrictamente con los obtenidos por métodos de solubilidad cinética, no cabe duda, que para el proceso de descubrimiento de fármacos estas técnicas son adecuadas.^{89,90}

Las técnicas de solubilidad termodinámica de rendimiento medio o bajo que se aplican principalmente en la fase de descubrimiento tardío para la

caracterización de compuestos avanzados. La técnica que se considera como el estándar de oro es la conocida como “matraz de agitación a saturación o SSF”, a partir de esta técnica se han desarrollado modificaciones novedosas: ensayos miniaturizados o basados en placas y parcialmente automatizados, y por medición potenciométrica, estos se describen en las siguientes Tablas 3 y 4.

Tabla 3. Métodos cinéticos (no se alcanza equilibrio)	
Técnica	Características relevantes
Directa: microfiltración y centrifugación con cuantificación por UV.	Técnica de alto rendimiento, de alta velocidad, es necesario la presencia de un cromóforo (UV), es sensible a impurezas e interferencias. ⁹¹
Matraz	Técnica de alto rendimiento, se puede aplicar solamente a fármacos que contengan nitrógeno. ⁹²
Directa: microfiltración y centrifugación con cuantificación por detección con HPLC.	Técnica de rendimiento medio, se puede aplicar a una gran variedad de fármacos y muestras no puras. ⁹³
Indirectas por precipitación y detección por nefelometría.	Técnica de alto rendimiento, rápida y se aplica a varias muestras. ⁹⁴
Indirectas por precipitación y detección por turbidimetría.	Técnica de alto rendimiento, se aplica a varias muestras. Desventajas: baja sensibilidad, sobreestimación de valores, es poco reproducible para compuestos con baja solubilidad. ⁹⁴

Tabla 4. Métodos termodinámicos (en equilibrio)	
Técnica	Características relevantes
Matraz de agitación a saturación, técnica convencional.	Técnica de bajo rendimiento, su principal desventaja es el tiempo requerido. ⁹⁵
Matraz de agitación a saturación técnica miniaturizada.	Técnica de rendimiento medio, es adecuada para fármacos con baja solubilidad. ⁹⁶
Matraz de agitación a saturación, técnica miniaturizada. En placas multi- pozo con detección UV.	Técnica de rendimiento medio, su implementación es laboriosa. ⁹⁶
Matraz de agitación a saturación, técnica miniaturizada. Con remoción del solvente por evaporación o liofilización.	Técnica de rendimiento medio, adecuado para formulaciones no acuosas. Hay ahorro de compuesto. ⁹⁷
Matraz de agitación a saturación, técnica miniaturizada. Con incubación larga en presencia de cosolvente.	Técnica de rendimiento medio y alto, se alcanza un semi-equilibrio. Hay ahorro de compuesto. ⁹⁷
Micro disolución (μ DISS)	Técnica de rendimiento medio, el equilibrio se fundamenta por una curva de disolución y se obtiene un rango adecuado de disolución intrínseca del fármaco. ⁹⁸
Disolución facilitada	Técnica de bajo rendimiento, se aplica a fármacos ionizables y ligeramente solubles. ⁹⁹
Titulación de fase dual en placa (DTT)	Técnica de bajo rendimiento que solo puede aplicarse a compuestos ionizables y obtener la solubilidad intrínseca. ¹⁰⁰

Los métodos mencionados en las Tablas (3 y 4) anteriores fueron desarrollados por varias industrias farmacéuticas líderes mundiales en el desarrollo de medicamentos, dentro de estas industrias podemos citar las siguientes: Merck, Glaxo, Pfizer, Boehringer, Takeda, Bristol-Mayers Squibb, Aventis, Amgen, AstraZeneca, Orion, entre otras. Como se observa en las

tablas anteriores los métodos son variados, así como sus ventajas y desventajas y varios autores han analizado numerosos factores que afectan los datos de solubilidad del equilibrio. De aquí surge la necesidad de armonizar los protocolos de estudio de estabilidad con la finalidad de obtener resultados, comparables, precisos y de confiabilidad, el desarrollo de tecnología facilito la eliminación de disolventes, así mismo se deben destacar avances novedosos como la técnica de microbalanza de cristal de cuarzo o la técnica optofluídica de partícula única.⁹¹⁻¹⁰⁰

La medición de la solubilidad en el equilibrio es un aspecto crítico en la etapa de descubrimiento de fármacos, por lo tanto, la comunidad científica ha optado por acoplar técnicas analíticas de alto rendimiento como las siguientes: Ensayos de solubilidad en equilibrio combinado con la caracterización completa en estado sólido del soluto mediante microscopía de luz polarizada, o acoplada a espectroscopia Raman o difracción de rayos X en polvo (PXRD), con la finalidad de realizar una medición correcta de solubilidad. Además, se ha realizado la cuantificación por ultra HPLC y espectrometría de masas. Finalmente, la determinación de las propiedades fisicoquímicas del fármaco como: pKa, impurezas, logD calculado, etc., permitirán la elección adecuada de la técnica a usar. Además, se debe realizar ensayos de solubilidad en fluidos gástricos simulados.¹⁰¹

7.5. Metabolismos en el tracto gastrointestinal

El metabolismo en el tracto gastrointestinal ha sido ampliamente estudiado, tanto en modelos humanos, así como en ratas perros o primates incluso se han realizado comparaciones de la microflora (microbiota) y metabolismo entre las diferentes especies con la finalidad de encontrar alguna correlación. Sin embargo, para establecer correlación entre los modelos en especies animales y los modelos humanos, se necesitan más estudios para permitir una interpretación precisa y significativa de los resultados obtenidos. Dentro de las

principales diferencias, es que las ratas, los perros y primates, la microflora bacteriana existe en la mayoría del tracto gastrointestinal, mientras que, en los humanos, la microflora bacteriana se concentra en los intestinos delgado y grueso.¹⁰²

Los términos microbiota y microbioma a menudo se usan indistintamente en la literatura, pero se pueden diferenciar en función de sus definiciones más recientes. El término "microbiota" se refiere a la colección de microorganismos, mientras que el término "microbioma" se refiere a los genomas colectivos de estos microorganismos. El microbiota intestinal se compone de billones de microbios con más de 700-1000 especies bacterianas diferentes que residen en el intestino (Qin et al. 2010). Se estima que se cree que diez filum diferentes contribuyen al papel funcional del microbioma intestinal en el cual los Firmicutes y bacteroidetes son los filum más dominantes. El pH neutro o el ambiente débilmente básico que se encuentra en el intestino grueso es el área más densamente colonizada del tracto GI, con un estimado de 10^{12} bacterias / g. Se han identificado múltiples géneros bacterianos como: *Clostridium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus* y *Bifidobacterium*. (Gloux et al. 2011; O'Hara y Shanahan 2006; Jandhyala et al. 2015; Marchesi et al. 2015).¹⁰²⁻¹⁰⁴

Las enzimas del microbiota bacteriano llevan a cabo las siguientes reacciones sobre los fármacos: hidrólisis, des hidroxilación, des amidación, des carboxilación, acetilación, esterificación y reducción de dobles enlaces, nitro y grupos diazo. Una excelente revisión realizada por Jourova en 2016, muestra un resumen de los principales fármacos metabolizados por el microbiota humano (Tabla 5).¹⁰⁵

Tabla 5. Resumen de fármacos metabolizados por microbiota bacteriano.¹⁰⁵

Clinical use	Drug	Influence on drugs	Type of microbial metabolism	Bacterial species involved
Antibiotics	Prontosil	prodrug activation	Azo reduction	unknown
	Neoprontosil	prodrug activation	Azo reduction	unknown
	Metronidazole		Reduction	unknown
	Chloramphenicol	increase toxicity	Amine formation and hydrolysis	unknown
Anti-inflammatory drugs	Sulfasalazine	prodrug activation	Azo reduction	unknown
	Balsalazide	prodrug activation	Azo reduction	unknown
	Olsalazine	prodrug activation	Azo reduction	unknown
	Sulfapyridine	increased activity	Sulfoxide reduction	unknown
	Sulindac	increased activity	Sulfoxide reduction	unknown
	Nabumetone	probably lower bioavailability	Reduction	unknown
	Mesalazine		Acetylation	unknown
Analgesics	Acetaminophen	increased toxicity	O-sulfation; C-S cleavage of acetaminophen-3-cysteine	<i>Clostridium difficile</i>
	Phenacetin	decreased activity	Deacetylation	unknown
Cardiotonics	Digoxin	decreased cardiac activity	Reduction	<i>Eggerthella lenta</i>
Anti-psychotics	Risperidone	inducing symptoms of Parkinson's disease	Isoxazole scission or hydroxylation	unknown
	L-Dopa	decreased activity	Dehydroxylation	unknown
	Zonisamide	affect reduction	Reduction	unknown
Antiviral	Sorivudine	its microbial metabolite can cause lethal toxicity of 5-fluorouracil when co-administered with it.	Hydrolysis	<i>Bacteroides</i>
Antifungals	Flucytosine	increased activity or toxicity	Deamination	unknown
Hypolipidemics	Lovastatin	altered pharmacokinetics	Hydrolysis	unknown
Hypnotics	Nitrazepam	inducing teratogenicity	Nitro reduction	<i>Clostridium leptum</i>
Antiepileptics	Clonazepam		Nitro reduction	unknown
Cytostatics	Misonidazole		Nitro reduction	unknown
Antiulcerotics	Omeprazole	forming sulfide metabolites	Sulfoxide reduction	unknown
	Ranitidine	decreased intestinal absorption and systemic bioavailability	N-oxide reduction	unknown
	Nizatidine		N-oxide reduction	
Anthelmintics	Levamisole	increased activity	Thiazole ring opening	<i>Bacteroides and Clostridium spp.</i>
Prebiotics	Lactulose	stimulating the growth of beneficial bacteria	Hydrolysis	unknown

Como se observa en la Tabla 5 las enzimas del microbiota se han implicado en la activación y en la inactivación de fármacos. Además, el metabolismo directo de los fármacos por enzimas derivadas de microbios se ha demostrado para una variedad de fármacos diferentes, algunos ejemplos se detallan en la siguiente Tabla 6.¹⁰⁶

Tabla 6. Metabolismo de fármacos por enzimas bacterianas del microbiota. ^{107,108}		
Enzima	Sustrato	Mecanismo de reacción propuesto
Azoreductasa	Profármacos del 5ASA, Olsalazina. Nitrofurantoina, Nitrofurazona.	Reducción de los grupos Azo o enlaces de quinonas.
β -glucoronidasa	AINES (indometacina, diclofenaco). Iridotecan glucurónico.	Remueve la parte del ácido glucurónico de metabolitos formados en fase 2.
β -Liasa	Metabolitos conjugados con cisteína, activación de derivados de selenocisteína	Rompimiento de enlaces C-S en metabolitos conjugados con S-cisteína.
Carboxilesterasa	Aspirina y profármacos con el grupo ester.	Hidrolisis de esteres a ácidos carboxílicos. Hidrolisis de esteres, tioesteres, amidas o carbamatos a ácidos libres.
Nitroreductasa	Benzodiazepinas y metronidazol.	Reducción del grupo nitro.
N-acetiltransferasa	Ácido 5-aminosalicílico	Transferencia del grupo acetil al oxígeno o nitrógeno de arilaminas primarias e hidrazinas.
Sulfatasas	Metabolitos que contengan ester sulfato.	Hidrolisis de los esteres de sulfato por la formilglicina

Las reacciones de reducción y de hidrólisis dominan el microbiota intestinal. Y en particular la β -glucuronidasa ha sido ampliamente estudiada porque es responsable de la reabsorción enterohepática de fármacos debido a su capacidad para romper la conjugación de fármacos conjugados con ácido glucurónico. La circulación enterohepática generalmente conduce a un fenómeno de pico múltiple y una vida media terminal más larga. La actividad de la β -glucuronidasa en el tracto gastrointestinal humano genera 0.02 y 0.9 μmol de producto formado por hora por gramo del contenido para las regiones proximal y distal del intestino delgado, respectivamente.¹⁰⁹

7.6. Transporte activo

El transporte activo es fundamental para que aquellos medicamentos que son administrados por vía oral sean absorbidos en el tracto gastrointestinal, básicamente para moléculas que no se absorben por difusión pasiva. Como se observa en la siguiente Figura 9, este transporte es el resultado de dos mecanismos cuyos resultados son diametralmente opuestos.

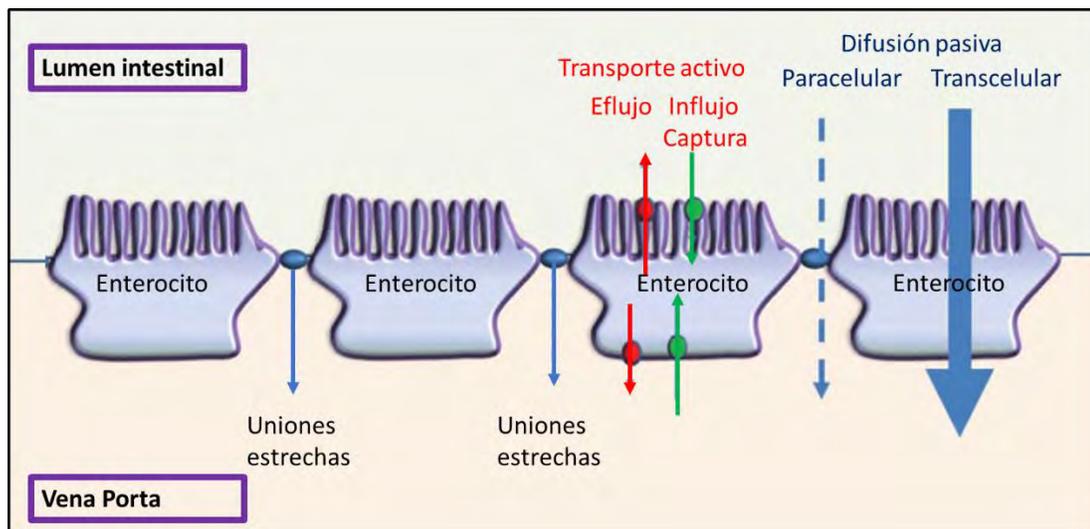


Figura 9. Transporte de fármacos en el tracto gastrointestinal.¹¹⁰

Por un lado, la captación del fármaco a los enterocitos es favorecido por los mecanismos de influjo o captura y por el otro, los mecanismos de eflujo que contribuyen a expulsar el fármaco de los enterocitos.¹¹⁰

El transporte activo de flujo o influjo es mediado por proteínas conocidas como transportadoras, los cuales se localizan unidos a la membrana que están ubicadas en el lado apical o basolateral del enterocito, estos transportadores se clasifican en transportadores de flujo (influjo) o transportadores de eflujo. Actualmente, dos familias son las que destacan por su gran número de proteínas transportadoras y se han descritos como superfamilias:

- ✓ Superfamilia de transportadores ABC, se encuentran ampliamente distribuidos en la superficie del enterocito, también se conoce como la Superfamilia de casetes de unión a ATP, son transportadores primarios que utilizan la hidrólisis de ATP para mediar la exportación activa de xenobióticos desde el citoplasma a la sangre de la vena porta.¹¹¹
- ✓ Superfamilias de acarreadores (portadores) de solutos (SLC). El mecanismo es por medio del uso de un gradiente de protones y Na^+ creado por los portadores primarios activos (Na^+ / K^+ -ATPasa, Na^+ / H^+ -ATPasa) para impulsar el transporte de sustratos endógenos y xenobióticos hacia el interior del enterocito y los llamados transportadores secundarios.¹¹¹

Adicionalmente se han estudiado un gran numero de transportadores de influjo o de eflujo en humanos, para diversos fármacos. Como se observa en la Figura 10, el transporte de eflujo cobro importancia des de que se observó que las células transportaban a los fármacos desde su interior hacia el exterior, siendo de los transportadores de eflujo más importantes, más investigado y mejor caracterizado de salida apical, la glicoproteína P o P-gp, la proteína de resistencia al cáncer de mama (BCRP) y las proteínas asociadas a la resistencia a múltiples fármacos.¹¹²

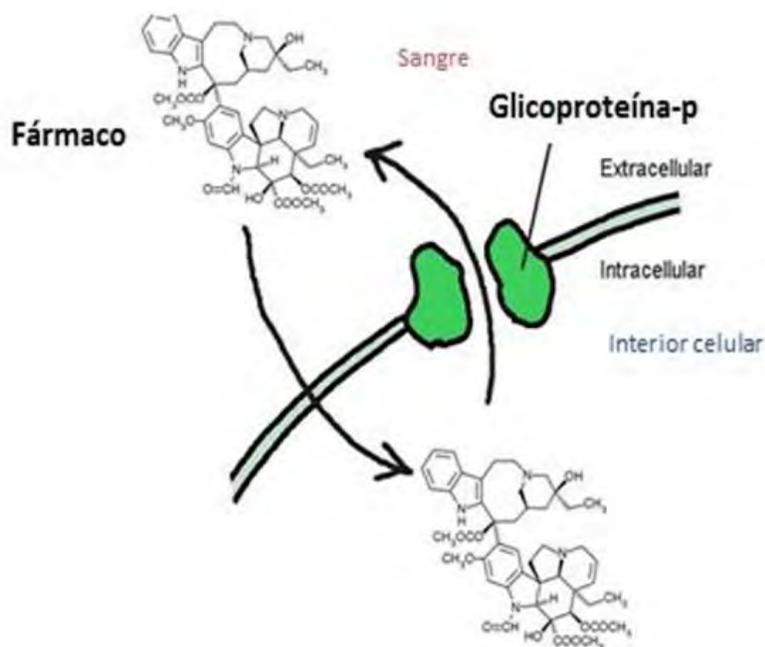


Figura 10. Representación esquemática del funcionamiento de la glicoproteína P, para el eflujo de fármacos.¹¹²

A continuación, se describen las características más importantes de las proteínas de eflujo con respecto a la biodisponibilidad:

- ✓ P-gp (ABCB1). Esta proteína es un producto del gen de resistencia a múltiples fármacos el MDR1, proteína P-gp ésta unida a la membrana desempeña un no deseado porque limita la absorción intestinal de varios fármacos lipófilos ya sean neutros o básicos, como: antraciclinas (doxorubicina, daunorubicina), alcaloides (reserpina, vincristina, vinblastina), péptidos, hormonas esteroideas (aldosterona, hidrocortisona) y anestésicos locales (dibucaína). Esta proteína también media la secreción activa de sustratos como la digoxina de la circulación sistémica en el lumen intestinal.¹¹³⁻¹¹⁵

Durante el desarrollo preclínico las especies utilizadas para el estudio de la P-gp son ratas, perros y monos. Se ha descrito que los ratones y

las ratas contienen dos genes parálogos (Mdr1a y Mdr1b) que codifican P-gp y que los perros, monos y humanos solo tienen 1 gen MDR1. Se han descubierto diferencias significativas entre especies, ya que perros y monos parecen tener una mayor expresión relativa de ARNm de MDR1 que los humanos.¹¹⁶

En humanos, la expresión de proteína relativa de P-gp aumenta progresivamente desde la región proximal a la distal del intestino delgado. Como consecuencia, la absorción y la biodisponibilidad oral de un sustrato de P-gp pueden depender del sitio de absorción y suministro en relación con este patrón de distribución regional, este factor se debe considerar al predecir la absorción de una NCE en humanos de especies preclínicas. Actualmente se ha concluido que la mejor correlación del metabolismo por MDR es entre el MDR1 humano y de mono con una $R^2 = 0.954$.¹¹⁷

- ✓ BCRP (ABCG2), esta es una proteína de membrana de 72 kDa que se compone de 655 aminoácidos y está dispuesta en seis segmentos transmembrana (TM) y tiene un ABC en el término amino. Se ha descrito la distribución relativa de ARNm intestinal de BCRP en varias especies preclínicas y en el intestino delgado humano, la expresión relativa de ARNm de BCRP en el intestino delgado de perros y monos es más alta comparado con el de los humanos.¹¹⁸

El BCRP limita la absorción oral de los fármacos y facilita su secreción activa en el tracto gastrointestinal, exhibiendo una amplia especificidad por sustratos que incluyen fármacos como: antineoplásicos (mitoxantrona, camptotecinas, inhibidores de la tirosina quinasa; antivirales (zidovudina, lamivudina), inhibidores de la HMG-CoA reductasa (estatinas); benzimidazoles y antibióticos (ciprofloxacina, rifampicina).¹¹⁹

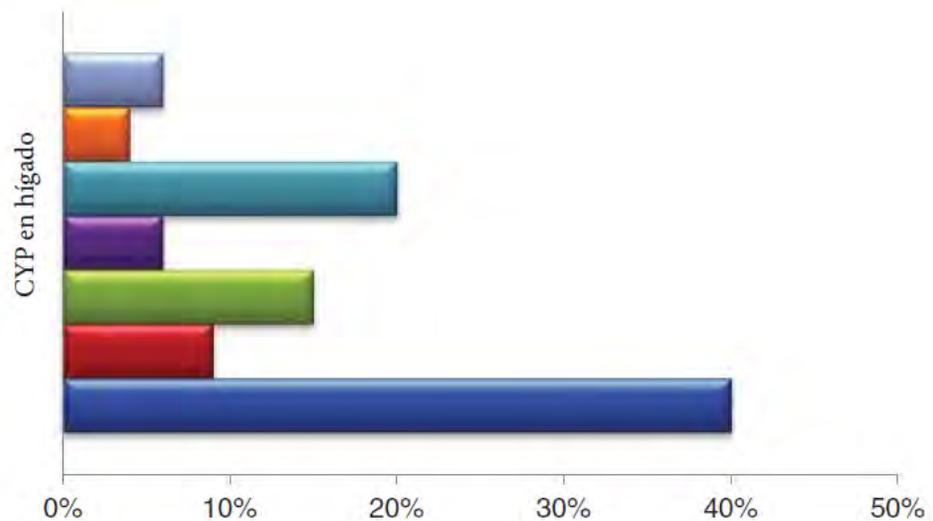
- ✓ MRP2 (ABCC2), esta proteína tiene una masa molecular aparente de 190–200 kDa y está compuesta de 1545 aminoácidos, se encuentran en la superficie apical del enterocito y limitan la absorción oral de fármacos como: rosuvastatina, bosentán, metotrexato, ciclosporina, carbamazepina, rifampicina, pravastatina, cisplatino, etopósido, doxorubicina, epirubicina, mitoxantrona, inhibidores de la proteasa del VIH, inmunosupresores y metabolitos de fase II. Estos sustratos generalmente se transportan contra su gradiente de concentración utilizando la hidrólisis de ATP como fuente de energía. Se investigó profundamente la expresión relativa concluyendo que la expresión de ARNm de MRP2 en el intestino delgado humano y el colon es menor en comparación con la mostrada en las especies preclínicas (rata, perro y mono).¹²⁰

Finalmente, la integración de estos hallazgos en modelos farmacocinéticos preclínicos permite una mejor comprensión de los factores que conducen a las diferencias de los resultados obtenidas en diferentes especies, así como, su correlación con biodisponibilidad oral obtenida en humanos para NCE que son sustratos para transportadores de flujo de salida.

7.7. Metabolismo hepático

El metabolismo hepático y la biodisponibilidad tiene una gran importancia ya que algunos fármacos se metabolizan ampliamente, otros se moderadamente y algunos prácticamente no sufren de metabolismo de primer paso. Las consecuencias terapéuticas fueron el principal punto de interés del estudio de este tipo de metabolismo ya que al metabolizarse los fármacos tiene una serie de consecuencias como son: menor cantidad de fármaco activo, formación de metabolitos activos (mayor metabolismo), metabolitos inactivos (perdida de actividad), metabolitos tóxicos (toxicidad), o activación de profármacos.^{121,122}

Estrictamente hablando la biodisponibilidad es afectada por la degradación del fármaco lo que tiene como consecuencia que una fracción o porcentaje de la dosis administrada de fármaco sea eliminada y como consecuencia haya una pérdida de la actividad farmacológica. Este tema ha sido muy estudiado. El avance ha sido dramático ya que, en 1991 los candidatos a fármacos que fracasaban en estudios clínicos por causas de farmacocinética o biodisponibilidad deficientes era de aproximadamente el 40% del total, mientras que, en el 2001 este porcentaje se redujo a menos del 10% y para el 2010 al 1%.¹²³



	Porcentaje de CYP en hígado
■ CYP2E1	6%
■ CYP2D6	4%
■ CYP2C	20%
■ CYP2B6	6%
■ CYP1A2	15%
■ Other	9%
■ CYP3A4	40%

Figura 11. Distribución relativa de las subfamilias de CYP en hígado humano.¹²⁴

Aproximadamente, el 70% de los fármacos comercializados en el mercado mundial sufren metabolismo hepático, de los cuales, alrededor del 73% sufre metabolismo de fase 1 por enzimas de CYP (la distribución de las subfamilias del CYP se observa en la Figura 11) y el 15% por la enzima UDP-glucuronosil transferasa (UGT). El investigar el metabolismo de en la etapa de descubrimiento del fármaco es paso fundamental en la industria farmacéutica dedicada al desarrollo de medicamentos.¹²⁵

7.8. Métodos para estudiar permeabilidad

7.8.1.1. Método por membranas artificiales PAMPA

Los ensayos PAMPA reciben su nombre del inglés “Parallel Artificial Membrane Permeability Assay”, son ensayos de permeabilidad en membranas artificiales paralelas y se desarrollaron con el propósito de contar con un método de alto rendimiento para la industria farmacéutica que pudiera generar resultados más rápidos y aproximados a los obtenidos mediante líneas celulares como la CaCo-2 o las MDCK, fueron introducidos al mercado en 1998 y desde entonces han ido ganando un interés por la comunidad científica dedicada al desarrollo de medicamentos.¹²⁶

Este método utiliza una capa de fosfolípidos sobre un filtro que actúa como soporte, de modo que se distinguen dos compartimentos acuosos, que permiten mimetizar la situación en la que se produce la difusión pasiva y transcelular de los fármacos en el descubrimiento temprano de fármacos. El método original de PAMPA fue propuesto por primera vez por Kansy et al., sin embargo, se detectaron varios problemas, como una mala correlación con la absorción humana y los datos de Caco-2, una alta retención de masa por la membrana, y baja estabilidad de la membrana. En los últimos años se han desarrollado nuevas membrana PAMPA (lípidos-aceite-lípidos), que genera resultados similares a los de la membrana biológica.¹²⁷

El ensayo se lleva a cabo en una placa de filtro PAMPA de 96 pocillos y mide la capacidad de los compuestos para difundirse desde un compartimiento donador a un compartimiento de aceptor separados por un filtro de membrana de PVDF pretratado con un disolvente orgánico que contiene lípidos. El protocolo experimental típico es el siguiente:¹²⁸

- A. Los pocillos del donante se llenan con 180 μ l de solución del sistema que contiene el compuesto.
- B. El filtro en la parte inferior de cada pozo aceptor se llena con 200 μ l de solución amortiguadora.
- C. La placa de sándwich se ensambla y se incuba durante 30 minutos a temperatura ambiente.
- D. Se desmonta el sándwich y se determina la cantidad de compuesto presente en los pocillos tanto del donante como del receptor.

A la fecha se han realiza diversos modelos del presentado por Kansy et al., algunos se presentan en la siguiente Tabla 7.

Tabla 7. Variantes del método PAMPA.¹²⁹⁻¹³²

Variante	Tipo de lípido (% disuelto en el solvente)	Tipo de filtro
Egg-PAMPA	10 % de lecitina de huevo, colesterol.	PVDF
DOPC-PAMPA	2 % de dioleoyfosfatidilcolina	PVDF
HDM-PAMPA	100 % n-hexadecano	Policarbonato 3 μ m.
BM-PAMPA	0.8 % de fosfatidilcolina, 0.8 % de fosfatidiletanolamina, 0.2 % de fosfatidilserina, 0.2 % de fosfatidilinositol, 1 % de colesterol.	PVDF
BBB-PAMPA	2 % de extracto de lípido de cerebro de porcino.	PVDF
DS-PAMPA	20 % de la mezcla: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, ácido fosfatídico y triglicéridos.	PVDF

7.8.1.2. Método por línea celular CaCo 2.

La industria farmacéutica a utilizado y desarrollado diversos modelos basados en células para simular las diversas barreras, las características de los modelos han sido ampliamente utilizada por su simplicidad, detección de alto rendimiento y capacidades predictivas, lo cual se tradujo en una excelente relación relación de costo-efectividad. Con respecto a los modelos animales, los modelos celulares son más rápidos, más baratos. Adicionalmente, se implican menos condiciones éticas que para el uso de animales.¹³³

La principal limitación de estos métodos usando líneas celulares es la variabilidad de los resultados según el medio de cultivo, la temperatura, los protocolos seleccionados, las cepas celulares, el número de pases e incluso el manipulador, esta variabilidad hacen que sea muy difícil comparar los datos publicados en diferentes artículos. No se aconseja utilizar cultivos celulares primarios (derivadas de tejidos animales) debido a su origen y características heterogéneas. Se prefiere utilizar líneas celulares inmortalizadas derivadas de tejidos sanos o tumorales obtenidos de humanos o animales debido a que crecen como monocapas polarizadas que alcanzan la confluencia en un tiempo relativamente corto.¹³⁴

Actualmente, se han desarrollado modelos celulares in vitro para evaluar la permeabilidad en las membranas: bucal, gástrica, intestinal, nasal, pulmonar, vaginal, ocular, renal y barrera hematoencefálica, los cuales se presentan en la Tabla , estos modelos estan basados en el crecimiento de monocapas celulares sobre soportes porosos permeables con las células principales de cada barrera, en ocasiones se adicionan diferentes tipos de células que imitan la composición heterogénea de las membranas (los cocultivos celulares permiten construir un modelo más realista in vitro y proporcionar resultados más predictivos).¹³⁵

Para estudiar la permeabilidad de los compuestos administrados por vía oral se desarrollaron varios modelos para simular la barrera intestinal in vitro, la más conocida es con células CaCo-2 (línea celular humana derivada de carcinoma colorrectal), estas células crecen en una monocapa con morfología similar a la de los enterocitos, expresan los transportadores de flujo de entrada y salida, así como, las uniones estrechas, logrando mejores resultados predictivos. Este método es el de mayor confiabilidad para determinar la permeabilidad de fármacos durante la etapa de descubrimiento. Se realiza in vitro utilizando líneas celulares CaCo-2 (de la American Type Culture Collection - Rockville, MD).¹³⁶

El protocolo básico para este modelo es el siguiente: las células se cultivan en medio Eagle Modificado por Dulbecco con alta concentración en glucosa (DMEM) a pH 7.4 con 20% de suero bovino fetal (FBS) y antibióticos como la penicilina-G/estreptomicina 1%. La expansión de la población celular se realiza siguiendo las técnicas descritas por Yamashita y colaboradores. Brevemente, las células Caco-2 se y serán sembradas a una densidad de 2×10^5 / mL medio en cajas T-25 (Falcón) e incubadas a 37 °C. ¹³⁷

Para obtener monocapas celulares confluentes, las células CaCo-2 provenientes de cultivos confluentes realizados en cajas T-25 se sembrarán en insertos de policarbonato (tipo Falcón), a densidades celulares entre 5×10^4 células/cm² y 60×10^4 células/cm². Cada tercer día se debe cambiar el medio de cultivo y a partir del cuarto día se debe registrar diariamente el valor de la resistencia eléctrica transepitelial (TEER).¹³⁷

El procedimiento para determinar la actividad transportadora es el siguiente: colocar insertos (0,4µm de tamaño de poro y 1,13 cm² de área superficial) sembrados con células CaCo-2 en cajas de 24 pozos, adicionar 0.5 mL de PBS en las cámaras apical y basolateral del inserto e incubar durante 20 minutos a 37°C en 5% de CO² y 90% de humedad relativa; transcurrida la

incubación, 0.5 mL de PBS de las cámaras apical y basolateral serán removidos y guardados por separado para ser utilizados como blancos iniciales; en la cámara apical del inserto inocular 0.5 mL de las soluciones del fármaco, mientras que en la cámara basolateral o receptora se colocaron 0.5 ml de PBS; posteriormente, las cajas conteniendo los insertos se colocan sobre un agitador a 20 rpm e incubar; finalmente, del lado basolateral de la cámara del inserto tomar 0.5 mL de muestra y reponer la cantidad tomada adicionando 0.5 mL de PBS en el lado basolateral. Los tiempos de muestreo serán diferentes para cada compuesto evaluado (30 a 90 minutos) y la cuantificación del fármaco es por HPLC.¹³⁷

Muchos trabajos de investigación describen el uso de otras líneas celulares, como: MDCK (Avdeef & Tam, 2010; Volpe, 2011); TC-7 (Gres et al., 1998) (clon de Caco-2 que sobreexpresa la glicoproteína P); HT29 (Dahiya et al., 1992; Lesuffleur et al., 1998; Scaldaferrri, Pizzoferrato, Gerardi, Lopetuso, & Gasbarrini, 2012). Además, para aumentar la capacidad predictiva, se desarrollaron los sistemas de co-cultivo como: Caco-2 / HT29; Caco-2 / Raji B; y Caco-2 / HT29-MTX / Raji B.¹³⁸⁻¹⁴⁰

7.9. Estudios de farmacocinética en animales

Por último, la realización de estudios de farmacocinética en animales es la forma más confiable de estudiar la absorción de fármacos administrados por vía oral, debido a que se utiliza el organismo integro con todas sus variantes fisiológicas. Las principales especies utilizadas para este propósito son: ratón, rata, conejo, hámster, cobayo, perro y primates no humanos.¹⁴¹

Típicamente un estudio de farmacocinética para determinar biodisponibilidad se deben obtener los perfiles farmacocinéticos del mismo fármaco por las vías oral e intravenosa. Lo anterior se realiza administrando una dosis de fármaco al animal y posteriormente se colectan muestras de sangre venosa a diferentes

tiempos (10, 20, 30, 60, 90, 180, 240, 360, 480, 720, 1080 y 1440 minutos) posteriores a la administración. Por último, los fármacos son cuantificados en plasma y se construyen los respectivos perfiles farmacocinéticos y se calculan las respectivas Áreas Bajo la Curva.¹⁴²

7.10. Estudios de predicción *In silico*

Durante las últimas tres décadas se han desarrollado y optimizado métodos computacionales (*in silico*), estos métodos *in silico* incluyen bases de datos, relaciones cuantitativas estructura-actividad, farmacóforos, modelos de homología y otros enfoques de modelado molecular como el aprendizaje automático. Los métodos *in silico* se usan principalmente junto con la generación de datos *in vitro* tanto para crear el modelo como para probarlo y en el área de la farmacocinética actualmente existen softwares comerciales que han tenido gran éxito por su capacidad de predecir con alto grado de correlación propiedades de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad de fármacos.¹⁴³

El término "*in silico*" es una palabra moderna que generalmente se usa para referirse a la experimentación realizada por computadora y está relacionada con los términos biológicos más comúnmente conocidos *in vivo* e *in vitro*. Más específicamente, define el uso de información para la creación de modelos computacionales o simulaciones que pueden usarse para hacer predicciones, y sugerir hipótesis, finalmente, proporcionar descubrimientos en el diseño de fármacos. A continuación, se citan una serie de softwares comerciales o gratuitos utilizados en el diseño de fármacos y sirven para predecir diversos factores que afectan la biodisponibilidad y que fueron revisados previamente en este trabajo monográfico.¹⁴⁴

7.10.1. Molinspiration

Molinspiration es una organización de investigación independiente que se centra en el desarrollo y la aplicación de técnicas modernas de informática, especialmente en conexión con Internet, ofrece una amplia gama de herramientas de software para la manipulación y procesamiento de moléculas, incluidas SMILES y SDfile, normalización de moléculas, generación de tautornets, fragmentación de moléculas, cálculo de varias propiedades moleculares necesarias en QSAR, modelado molecular y diseño de fármacos, representación molecular de alta calidad, herramientas de bases de datos moleculares que apoyan la búsqueda o similitud de la subestructura y la búsqueda de similitudes farmacofóricas.¹⁴⁵

Las herramientas de Molinspiration están escritas en Java y, por lo tanto, están disponibles prácticamente en cualquier plataforma informática. Molinspiration también es compatible con la comunidad química de Internet al ofrecer servicios para el cálculo de propiedades moleculares importantes como: logP, área de superficie Polar, número de donantes de enlaces de hidrógeno y aceptores) así como la predicción del puntaje de biodisponibilidad para algunos objetivos farmacológicos relevantes.

La Figura 12 muestra el cálculo los componentes de la regla de Lipinski por la herramienta de Molinspiration:¹⁴⁶

- ✓ miLogP - Un registro de coeficiente de partición P
- ✓ MW - Peso molecular
- ✓ nON: no más de 10 aceptores de enlace de hidrógeno
- ✓ nOHNH - No más de 5 donantes de bonos de hidrógeno
- ✓ También da un plan de:
- ✓ natom - número de átomos pesados
- ✓ TPSA - Área de superficie polar total
- ✓ nrotb - número de enlaces rotatable

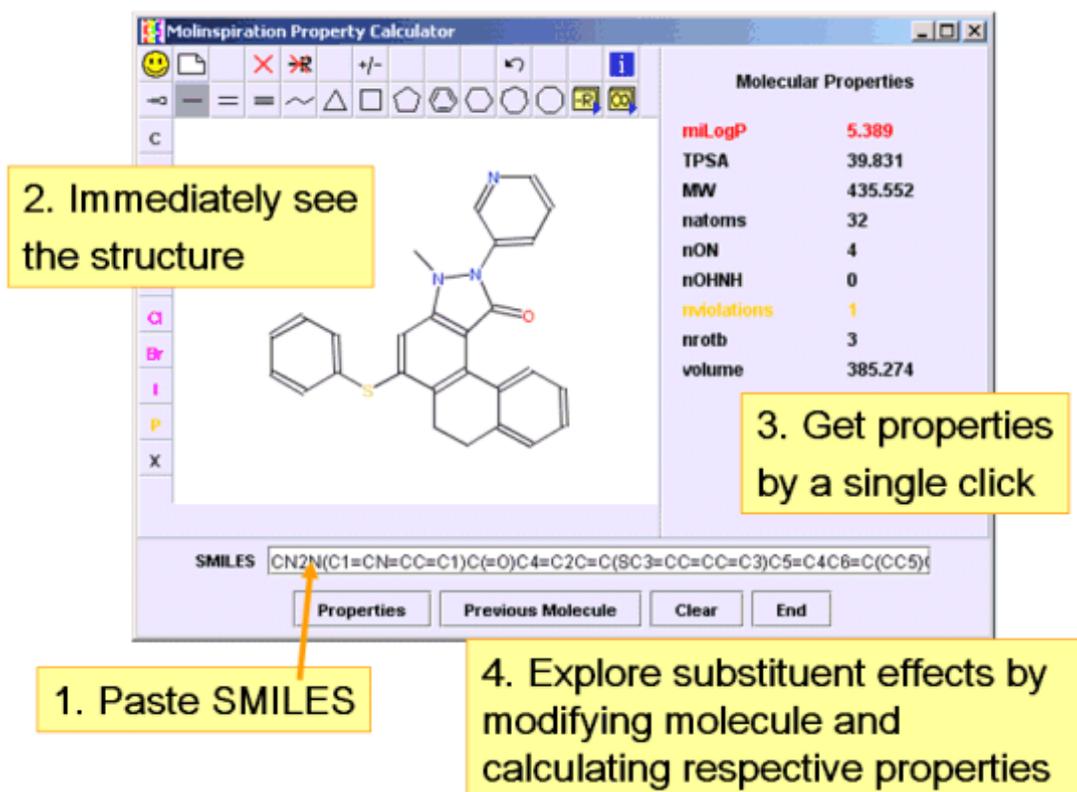


Figura 12. Cálculo las reglas de Lipinski con Molinspiration.¹⁴⁶

7.10.2. OSIRIS Property Explorer

OSIRIS Property Explorer es un software gratuito online que permite dibujar las estructuras químicas y calcular sobre varias propiedades relevantes para el fármaco. Como se observa en la Figura 13, los resultados de la predicción son valorados y codificados por colores. Las propiedades con alto riesgo de efectos no deseados como la mutagenicidad o una mala absorción intestinal se muestran en rojo, el color verde indica el resultado tiene un comportamiento parecido a fármaco. Osiris puede calcular la lipofilia expresada como clogP, solubilidad en agua expresada como logS, peso molecular, índices de semejanza de fármaco y puntajes de fármaco. Además, se pueden predecir las propiedades toxicológicas de los compuestos.¹⁴⁷

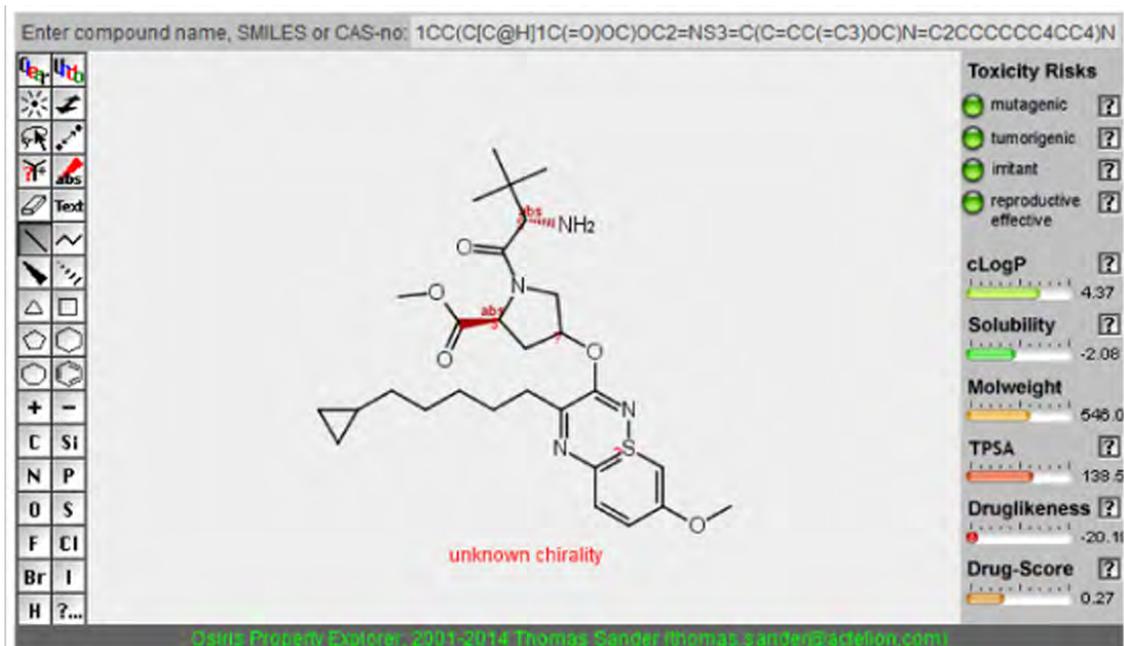


Figura 13. Predicción de propiedades farmacocinéticas, farmacológicas y toxicológicas por OSIRIS Property Explorer.¹⁴⁷

7.10.3. Applet de Java

Como se observa en la Figura 13, mediante el programa de OSIRIS Property Explorer es posible calcular TPSA, es así como se conoce al PSA topológico, también es posible realizar este calculo con el software Applet de Java. Este programa permite la entrada y edición sencillas de moléculas, el sistema está escrito en Java y puede usarse como un applet incorporado directamente en la página web, o como una aplicación independiente.

El programa acepta moléculas codificadas como SMILES y a partir de esos datos puede calcular el PSA topológico para ellas. El TPSA calculado por este programa y por el applet JME puede diferir ligeramente para algunas clases de moléculas, esto se debe a la diferente interpretación de la aromaticidad en el sistema JME y en el software Daylight.¹⁴⁸

La metodología para el cálculo del PSA se basa en la suma de contribuciones de superficie tabuladas de fragmentos polares, es decir, átomos que también afectan a su entorno, las contribuciones de los fragmentos se determinan mediante un ajuste de mínimos cuadrados como se muestra en la Figura 14.

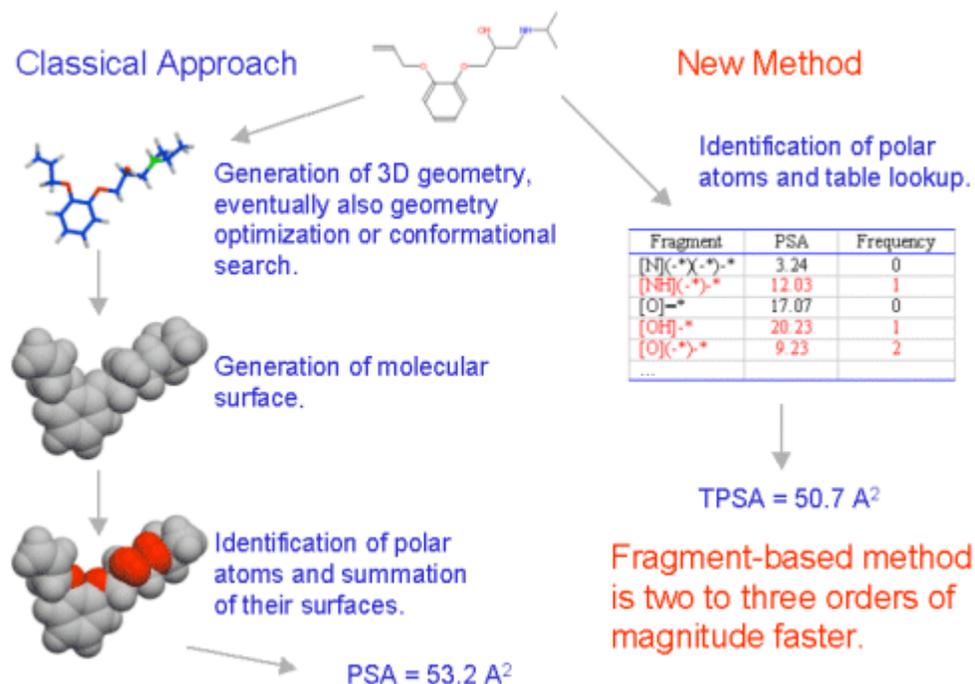


Figura 14. Metodología utilizada por Applet de Java para el cálculo de TPSA.¹⁴⁹

7.10.4. Métodos de predicción de la solubilidad

Con el desarrollo y uso masivo de las técnicas de alto rendimiento, en las últimas dos décadas se identificó la necesidad de predecir la solubilidad de las moléculas del fármaco en una escala HT, solo partiendo de la estructura, se han abordado diferentes enfoques para la predicción de solubilidad y se han publicado una gran variedad de artículos que se centran en diversos modelos de predicción. Una selección de los métodos más relevantes para la predicción de solubilidad se presenta en la Tabla 8.

Tabla 8. Métodos de predicción de solubilidad relevantes. ¹⁵⁰⁻¹⁵⁹

Nombre del método	Regresión / métodos de modelado
Métodos empíricos basados en datos	Ecuación general de solubilidad (GSE), solubilidad - relación de energía libre acuosa.
Enfoques estadísticos	Regresión lineal múltiple (MLR). Análisis de componentes principales (PCA). Algoritmos genéticos (GA). Método de reemplazo (RM). Algoritmos aleatorios de bosque (RF). Redes neuronales artificiales (ANN). Redes neuronales Bayesianas (BNN). Máquinas de vectores de soporte (SVM), Regresión parcial de mínimos cuadrados (PLS). proceso gaussiano (GP). Análisis de pares moleculares pareados (MMPA).
Modelos de solvatación implícitos	Modelos polarizables continuos (PCM) (Poisson – Boltzmann (PB) y modelo Born (GB) generalizado). Conductor semejante al modelo continuo polarizable (CPCM). COSMO-RS. Modelos de componentes específicos. Modelos de tensión superficial atómica.
Modelos de solvatación explícitos	Cálculos de energía libre (simulación de Monte Carlo (MC) y dinámica molecular (MD)). Método de perturbación de energía libre (FEP). Desagregación entalpía-entropía. Métodos de mecánica cuántica / mecánica cuántica (QM / MM).
Modelos híbridos	Funciones de correlación de pares (PCF). Modelos de sitios de interacción de referencia (1D-RISM, 3D-RISM). Funciones de energía libre de hidratación (HFE). Réplica híbrida de intercambio de dinámica molecular (REMD). Métodos de la teoría de celdas (GCT).

Esta área de investigación a sido muy problemática y a la fecha no se han obtenido los resultados deseados. En un inicio se desarrollaron métodos de

Estructura Cuantitativa-Relación de Propiedad o QSPR, en un principio se tenía como base la regresión lineal múltiple (MLR), mientras que en la actualidad los métodos de aprendizaje automático son los más empleados. Entre los métodos más simples y empíricos desarrollados se encuentra la Ecuación General de Solubilidad (GSE), que requiere solo el punto de fusión y los valores logP como parámetros de entrada, aún tiene una amplia aplicación en la industria farmacéutica su principal desventaja es que requiere la síntesis de la molécula para obtener el punto de fusión. Adicionalmente, se han desarrollado métodos no empíricos en los cuales son necesarios descriptores moleculares teóricos como parámetros de entrada, sin embargo, actualmente en la predicción *in silico* de la solubilidad de las moléculas el resultado obtenido es inexacto.¹⁶⁰

7.10.5. Modelado farmacocinético con base fisiológica (PBPK)

En la última década, el modelado de simulación PBPK (Modelos con base fisiológica para predecir parámetros farmacocinéticos humanos), en combinación con los modelos de Absorción y Tránsito Compartmental Avanzado (ACAT) ahora es posible simular los eventos farmacocinéticos de todo el cuerpo y predecir las propiedades farmacocinéticas más importantes en el ser humano, incluidas las estimaciones de la absorción oral.¹⁶¹

Los parámetros del modelo se separan en parámetros fisiológicos para las especies estudiadas y parámetros específicos del fármaco, que pueden medirse o estimarse computacionalmente.

En la Tabla 9, se presentan algunos programas comerciales que tienen la capacidad de predecir la absorción oral, estos programas son sin duda el futuro del área de diseño de fármacos para uso por vía oral en humanos.

Tabla 9. Bases de datos y softwares comerciales para predecir la absorción oral de fármacos.¹⁶²

<i>Software</i>	<i>Vendor</i>	<i>Contact</i>
AbSolv	Pharma Algorithms	www.ap-algorithms.com
	Sirius Analytical Instruments	www.sirius-analytical.com
ADME Boxes	Pharma Algorithms	www.ap-algorithms.com
	Sirius Analytical Instruments	www.sirius-analytical.com
ADME Index	Lighthouse Data Solutions	www.lighthousedatasolutions.com
Admensa	Inpharmatica	www.inpharmatica.com
ADME Works	Fujitsu/FQSPoland	www.fqspl.com.pl
BioPrint	CEREP	www.cerep.fr
Cerius2	Accelrys	www.accelrys.com
Cloe PK	Cyprotex	www.cyprotex.com
GastroPlus	SimulationsPlus	www.simulations-plus.com
KnowItAll	BioRad	www.biorad.com
		www.knowitall.com
OraSpotter	ZyxBio	www.zyxbio.com
Pipeline Pilot	SciTegic	www.scitegic.com
PK-Sim	Bayer Technology Services	www.pksim.com
Simcyp	Simcyp Ltd.	www.simcyp.com
SLIPPER 2001	Raevsky	raevsky@ipac.ac.ru
	MolPro	www.ibmh.msk.su/molpro/
TruPK	Strand Genomics	www.strandgenomics.com
VolSurf	Cruciani	gabri@chemiome.chm.unipg.it
	Molecular Discovery	www.moldiscovery.com
	Tripos	www.tripos.com
WB-PK	Sunset Molecular Discovery	www.sunsetmolecular.com

8. CONCLUSIÓN

En conclusión, durante el proceso de fármacos el estudio de la biodisponibilidad es una temática indispensable para fármacos que deseen administrarse principalmente por vía oral. La tecnología y el desarrollo de herramientas que facilitan el estudio de alto rendimiento de fármacos esta en auge y es de importancia su conocimiento, manejo y dominio por la comunidad científica dedicada al desarrollo de medicamentos.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. DiMasi JA, Grabowski HG, Hansen RW. *Innovation in the pharmaceutical industry: New estimates of R&D costs*. Journal of Health Economics. 2016; 47:20–33.
2. U.S. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). *About the Center for Drug Evaluation and Research*. Consultado el 3 de junio de 2018. Disponible en: <https://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/default.htm>
3. Advancing Health through Innovation: New Drug Approvals and Other Drug Therapy Advances. Reporte FDA 2017.
4. U.S. Food and Drug Administration. *The Drug Development Process*. Consultado el 3 de junio de 2018. Disponible en: <https://www.fda.gov/forpatients/approvals/drugs/>
5. Flórez J. *Farmacología Humana*. 6th ed. Elsevier. Pág. 52-53. 2013.
6. Academia Europea de Pacientes. *Biodisponibilidad y bioequivalencia*. Consultado el 10 de junio de 2018. Disponible en: <https://www.eupati.eu/es/desarrollo-farmacologico/biodisponibilidad-y-bioequivalencia/>
7. Laurence L. Brunton, Bruce A. Chabner, Björn C. Knollmann. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica, 12th ed. Mc GraW Hill. Pág. 18-34. 2012.
8. Rang HP. Dale MM. *Rang y Dale Farmacología*. 7th ed. Elsevier. Pág. 99-113. 2012.
9. Jennifer Le. Manual MSD versión para profesionales. *Biodisponibilidad de los fármacos*. Consultado el 10 de junio de 2018. Disponible en: https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/farmacologia/C3%ADa-cl%C3%ADnica/farmacocin%C3%A9tica/biodisponibilidad-de-los-f%C3%A1rmacos#v1108996_es
10. Stine Harloff-Helleberg, Line Hagner Nielsen, Hanne Mørck Nielsen. *Animal models for evaluation of oral delivery of biopharmaceuticals*. Journal of Controlled Release. 2017. Unedited manuscript that has been accepted for publication.
11. H. Musther et al. *Animal versus human oral drug bioavailability: Do they correlate?* European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014; 57:280–291
12. Romero-Castro A, Gutiérrez-Sánchez M, Correa-Basurto J, Rosales Hernández MC, Padilla Martínez II, Mendieta-Wejebe JE. *Pharmacokinetics in Wistar Rats of 5-[(4-Carboxybutanoyl)Amino]-2-Hydroxybenzoic Acid: A Novel Synthetic Derivative of 5-Aminosalicylic Acid (5-ASA) with Possible Anti-Inflammatory Activity*. PLoS One. 2016;11(7).
13. Waring MJ, Arrowsmith J, Leach, AR, Leeson PD, Mandrell S, Owen RM, Pairaudeau G, Pennie WD, Pickett SD, Wang J. *An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies*. Nat. Rev. Drug Discov. 2015;14(7):475–486.

14. Ward KW. *Optimizing pharmacokinetic properties and attaining candidate selection. In Reducing Drug Attrition.* Topics in Medicinal Chemistry. 2012; pp. 73–95.
15. Gupta R. *Clinical Success versus Attrition of Investigational Pharmaceuticals: A Vignette.* Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 2017;34(6):527-549.
16. Kalepu S, Nekkanti V. *Insoluble drug delivery strategies: Review of recent advances and business prospects.* Acta Pharm. 2015;5:442–453.
17. H. Lennernäs et al. *Oral biopharmaceutics tools – Time for a new initiative – An introduction to the IMI project OrBiTo.* European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014;57:292–299
18. Secretaría de Salud, Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 11 ed. México; 2014.
19. USP-NF. Solubility Measurements. Consultado el 27 de junio de 2018. Disponible en: <https://www.uspnf.com/notices/solubility-measurements>
20. A.Y. Abuhelwa et al. *Food, gastrointestinal pH, and models of oral drug absorption.* European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2017;112:234-248.
21. Veber DF, Johnson SR, Cheng H-Y, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. *Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates.* J Med Chem. 2002;45:2615–23.
22. Lipinski C, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. *Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings.* Adv Drug Deliv Rev. 1997;23:3–25.
23. Lipinski C, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. *Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings.* Adv Drug Deliv Rev. 2001;46:3–26.
24. Kumar BRP, Soni M, Bhikhalal UB, Kakkot IR, Jagadeesh M, Bommu P, et al. *Analysis of physicochemical properties for drugs from nature.* Med Chem Res. 2009;19:984–92.
25. Amidon GL, Lennernas H, Shah VP, and Crison JR, “A theoretical basis for a biopharmaceutics drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability,” Pharm. Res., 1995, 12, 413–420.
26. Y. Kawabata et al. *Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications.* International Journal of Pharmaceutics. 2011;420:1-10.
27. Prakash Khadka, Jieun Ro, Hyeongmin Kim, Iksoo Kim, Jeong Tae Kim, Hyunil Kim, Jae Min Cho, Gyiae Yun, Jaehwi Lee. *Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability.* asian journal of pharmaceutical sciences. 2014;9:304-3016.

28. C.A.S. Bergström et al. *Is the full potential of the biopharmaceutics classification system reached?* European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014;57: 224-231.
29. E. Sevin et al. *Accelerated Caco-2 cell permeability model for drug Discovery.* Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 2013;68:334-339.
30. G. Vizserálek et al. *PAMPA study of the temperature effect on permeability.* European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014;53:45-49.
31. Galvao J, Davis B, Tilley M, Normando E, Duchon MR, Cordeiro MF. *Unexpected low-dose toxicity of the universal solvent DMSO.* FASEB J. 2014;28(3):1317-30.
32. Jain AK, Jain S. *Advances in oral delivery of anti-cancer prodrugs.* Expert Opin Drug Deliv. 2016;13(12):1759-1775.
33. Sharma M, Sharma R, Jain DK. *Nanotechnology Based Approaches for Enhancing Oral Bioavailability of Poorly Water Soluble Antihypertensive Drugs.* Scientifica (Cairo). 2016;2016:1-11.
34. Di L, Kerns EH. Profiling drug-like properties in discovery research. Curr Opin Chem Biol 2003;7(3):402_8.
35. Thomas VH, Bhattachar S, Hitchingham L, Zocharski P, Naath M, Surendran N, et al. The road map to oral bioavailability: an industrial perspective. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2006;2(4):591_608.
36. Williams HD, Trevaskis NL, Charman SA, et al. Strategies to address low drug solubility in discovery and development. Pharmacol Rev 2013;65:315e499.
37. Krishnaiah YSR. Pharmaceutical technologies for enhancing oral bioavailability of poorly soluble drugs. J Bioequiv Bioavailab 2010;2:28e36.
38. Kawabata Y, Wada K, Nakatani M, et al. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: basic approaches and practical applications. Int J Pharm 2011;420:1e10.
39. Hu J, Johnston KP, Williams RO. Nanoparticle engineering processes for enhancing the dissolution rates of poorly water soluble drugs. Drug Dev Ind Pharm 2004;30:233e245.
40. Costa P, Sousa Lobo JM. Modeling and comparison of dissolution profiles. Eur J Pharm Sci 2001;13:123e133.
41. Zhang Y, Zhi Z, Li X, Gao J, Song Y. Carboxylated mesoporous carbon microparticles as new approach to improve the oral bioavailability of poorly water-soluble carvedilol. Int J Pharm. 2013 Sep 15;454(1):403-11. doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.07.009. Epub 2013 Jul 12.
42. Ertl, P., Rohde, B., Selzer, P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. *J. Med. Chem.* 2000, 43, 3714-3717.

43. Bhattachar S, Hitchingham L, Zocharski P, Naath M, Surendran N, Stoner C, et al. The road map to oral bioavailability: an industrial perspective. *Expert Opinion* [Internet]. 2006;2(2):591–608. Disponible: <https://pdfs.semanticscholar.org/54f6/7ee648fbc96acf6e658f4b59d156cbfd01dd.pdf>
44. Pharmainformatic. Oral Bioavailability. https://www.pharmainformatic.com/html/oral_bioavailability_f.html
45. Amidon G, HL L, Shah V, Crison J. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of In Vitro Drug Product Dissolution and In Vivo Bioavailability. *Pharmaceutical Research* [Internet]. 1995Apr;12(3):413–20. Available from: https://www.researchgate.net/publication/15580676_A_Theoretical_Basis_for_a_Biopharmaceutic_Drug_Classification_The_Correlation_of_In_Vitro_Drug_Product_Dissolution_and_In_Vivo_Bioavailability
46. Rohan Ghadi, Neha Dand, BCS class IV drugs: Highly notorious candidates for formulation development, *Journal of Controlled Release* (2017), doi:10.1016/j.jconrel.2017.01.014
47. Kollipara S, Gandhi RK. Pharmacokinetic aspects and in vitro–in vivo correlation potential for lipid-based formulations. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2014Sep;4(4):333–49.
48. Dahan A, Miller JM. The Solubility–Permeability Interplay and Its Implications in Formulation Design and Development for Poorly Soluble Drugs. *The AAPS Journal*. 2012;14(2):244-251. doi:10.1208/s12248-012-9337-6.
49. Tsume Y, Mudie DM, Langguth P, Amidon GE, Amidon GL. The Biopharmaceutics Classification System: Subclasses for in vivo predictive dissolution (IPD) methodology and IVIVC. *Eur J Pharm Sci*. 2014Jun;16(57):152–63.
50. Aanandhi MV, Bhattacharjee D, Ray A, George PS. New avenue in the treatment of temporal lobe epilepsy by classical anti-epileptics: A hypothetical establishment of executioner Caspase 3 inactivation by molecular modeling. *J Adv Pharm Technol Res*. 2015 Apr-Jun;6(2):65-74. doi:10.4103/2231-4040.154540