Excmo. Sr. Director,
Excmos. Srs. Académicos,
Sras. y Srs:

JUSTIFICACIÓN

Al ser designado, por turno rotativo entre las Secciones de esta Real Academia, para inaugurar el curso correspondiente al año 1.993, tuve ciertas dudas en cuanto a elección de tema para el discurso y el carácter que a este se le podía dar. Tanto en el seno de la Academia como en el auditorio hay una gran heterogeneidad en formación y tendencias, lo que impone ciertas limitaciones a un discurso muy especializado. Por otra parte, me interesaba resaltar el carácter multidisciplinar e interdisciplinar de las Ciencias Farmacéuticas. Esta es la razón que me ha movido a la elección y planteamiento del contenido del discurso.

INTRODUCCIÓN

Si consideramos que el medicamento constituye el núcleo y esencia de la Farmacia, parece lógico y congruente que a su estudio dediquemos nuestro máximo esfuerzo. Admitir esta premisa no implica que todo el quehacer farmacéutico se centre en el medicamento como objetivo único. La Farmacia, como profesión, tiene carácter eminentemente sanitario y las nuevas directrices de la actividad asistencial se orientan cada vez más a la prevención que al tratamiento de las enfermedades, lo que supone un cambio de perspectiva en la profesión farmacéutica. La farmacoterapia actual y futura se caracteriza por la afanosa búsqueda de tratamientos cada vez más selectivos y específicos que exigen un creciente esfuerzo en investigación y desarrollo. Es por ello que, en nuestra opinión, el estudio del medicamento sigue teniendo primacia en la actividad farmacéutica, aunque no con carácter de exclusividad.

Comienzo mi exposición con estas consideraciones tan generales con la única finalidad de que no se interprete que restrinjo al campo del medicamento la actividad del Farmacéutico, porque, a partir de ahora, voy

a limitarme al estudio del medicamento en su génesis, desarrollo, administración y seguimiento en el organismo. Pero, bien entendido, que ello no supone desdeñar las demás actividades sanitarias, que también son de la incumbencia del profesional farmacéutico aunque, quizá, en otro ámbito de especialización.

En otra ocasión, y con análogo contexto,escribíamos hace algunos años: "El medicamento, núcleo y esencia de la Farmacia,no se puede concebir como un ente estático o un parentesis entre dos nadas. Se genera en la naturaleza o en el laboratorio de síntesis, se contrasta su calidad y riqueza... se dilucida su lugar y posibles mecanismos de acción, se evalúa su potencia, sus efectos secundarios y adversos, etc. Pero, con todo ello, sólo hemos hecho las primeras singladuras en el azaroso periplo del Medicamento.

Este ente ya tipificado, y que creemos empezar a conocer, está destinado a actuar sobre un biosistema para curar, paliar, prevenir o diagnosticar un proceso patológico. En consecuencia, es preciso adecuarlo a la vía de administración o, lo que es lo mismo, conferir a la sustancia activa una forma farmacéutica cuyas propiedades deben estar en armonia con el objetivo que se desea alcanzar"(1).

Con una visión quizá excesivamente simplificadora, pero válida como primera aproximación, podemos considerar en la investigación y desarrollo de nuevos medicamentos tres fases de complejidad y duración variables:

a) **Pre-experimental, que comprende: Motivación,definición de objetivos, información, elaboración del anteproyecto, viabilidad, fijación de criterios, adecuación de medios y programación del trabajo.**

b) Experimental, que comprende todas las etapas del desarrollo y comienza por la obtención de la molécula objeto de estudio, tipificación química, física y fisico-química, metodología analítica "in vitro" y en fluídos biológicos, farmacología y toxicología, farmacocinética y metabolismo en animal de experimentación, desarrollo galénico y

biodisponibilidad y finalmente, si procede, experimentación humana.Si ha lugar a ello, comercialización previa resolución de los problemas de ingeniería de proceso para optimización de rendimientos y calidades, tanto en materias primas como en elaboración y acondicionamiento de la forma farmacéutica adoptada.

c) Seguimiento del producto, que comprende información complementaria, farmacovigilancia y nuevas aplicaciones.

Ya en la fase pre-experimental se perfila el carácter multidisciplinar de la investigación y desarrollo farmacéuticos.El responsable de la dirección del proyecto debe recabar información y contrastar opiniones con representantes de los grupos implicados en el desarrollo experimental. Una planificación defectuosa por omisión de alguna de las etapas puede suponer una demora en la ejecución del programa, cuando no una interrupción temporal a la espera de datos o resultados de los que se debía disponer previamente. Pero el trabajo paciente y arduo comienza en lo que hemos denominado fase experimental, que se inicia con la obtención y ensayos previos de los posibles fármacos, selección del o de los candidatos al desarrollo definitivo, y concluye con los ensayos clínicos de los realmente útiles. Thesing(1.984)(2) estima que el ciclo completo de investigación y desarrollo de un nuevo medicamento comprende más de ochocientas etapas en las que intervienen, entre otros profesionales, farmacéuticos, médicos, biólogos, veterinarios, químicos, bioestadísticos, físicos, ingenieros, etc, con formación específicamente orientada a los campos de actividad implicados. La investigación de nuevos medicamentos es, en consecuencia, un trabajo multidisciplinar e interdisciplinar, largo en su ejecución, oneroso en su desarrollo y complejo en su programación.

La investigación farmacéutica es, además de multidisciplinar, altamente diversificada y especializada. Del esquema que en su día elaboramos(1), según el cual las actividades desarrolladas en la investigación farmacéutica se pueden representar en un diagrama triangular en cuyos vértices se situan áreas de conocimiento químico, tecnológico y biológico, se puede pasar al cuadro de interrelaciones de la fig. 1 (3), de

cuya simple observación se deduce el elevado número de científicos que participan en un proyecto.

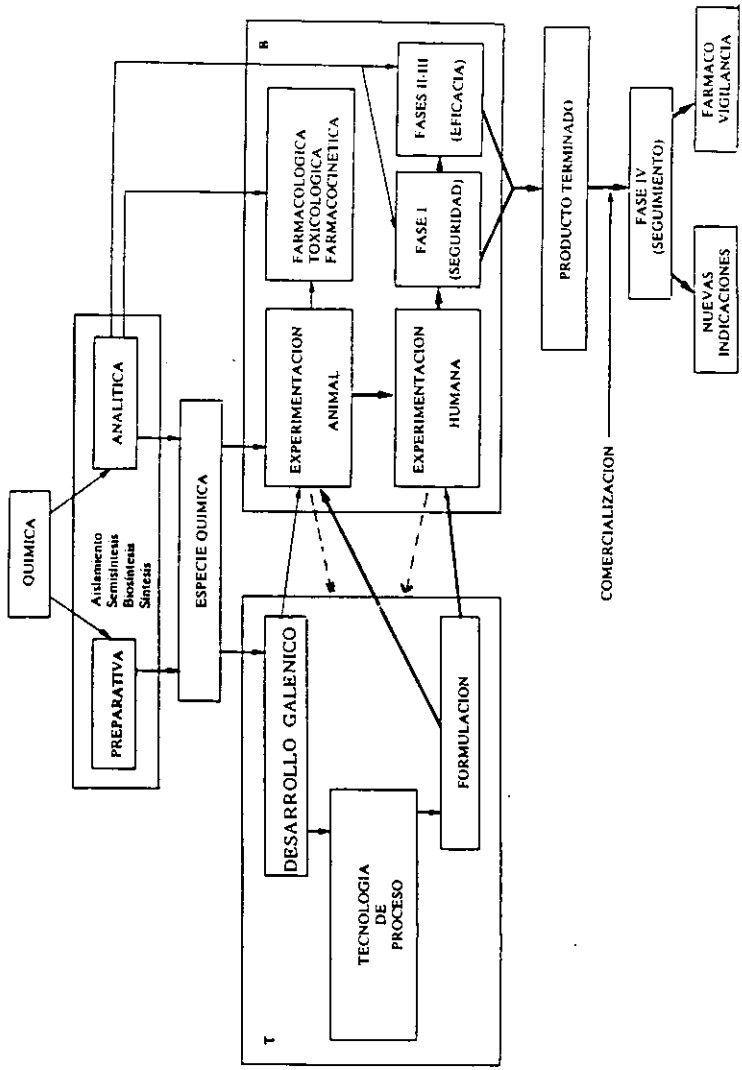


FIGURA 1.

Si queremos abordar los variados problemas atingentes al medicamento, con las limitaciones de nuestra capacidad para aprehender todos los aspectos de este complejo mundo, y los obligados límites de espacio y tiempo que impone un discurso de esta naturaleza, no puede sorprender que iniciemos la exposición con el gráfico de la fig. 2, que representa el **UNIVERSO DEL MEDICAMENTO**, en el que esperamos tengan cabida todas las facetas de la especie objeto de estudio (el medicamento), creando así un sistema que nos vamos a permitir la licencia de denominar **"FARMACOCENTRICO"**.

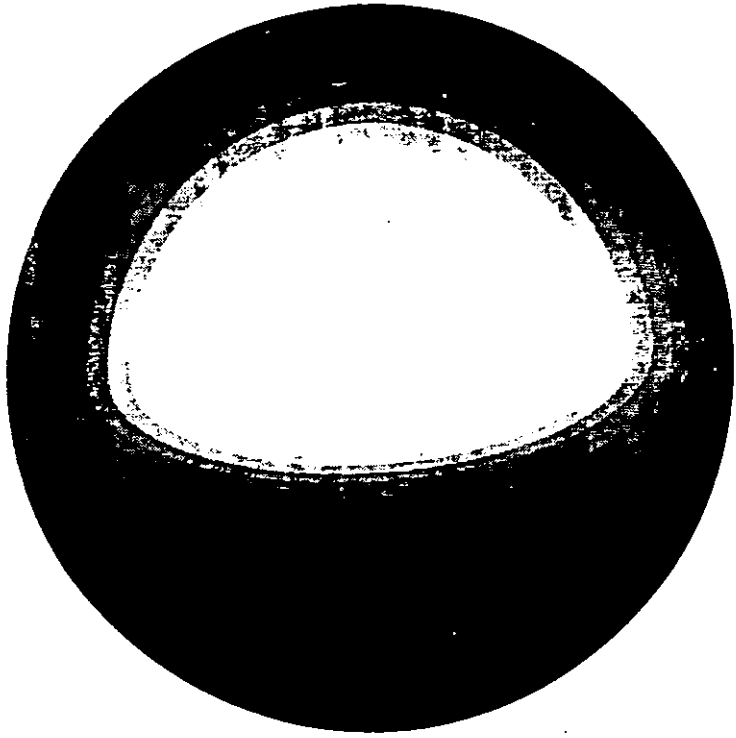


FIGURA 2

En una primera aproximación al estudio del sistema podemos considerar la existencia de dos hemisferios:

a) Génesis y desarrollo, y
b) Utilización y seguimiento.

En el primero, el farmacéutico tiene un acentuado protagonismo; en el segundo tiene una interesante intervención. No podemos olvidar que, el medicamento, en su génesis, transformación, administración y seguimiento se sitúa en una encrucijada en la que confluyen muchas ramas del saber humano. Su estudio global es, en consecuencia, paradigma del trabajo multidisciplinar.

El círculo resultante de la proyección de la esfera sobre un plano nos permite una clara división en sectores de los distintos campos de actividad que confluyen en el medicamento. La división del círculo en seis sectores (fig. 3) (4), no es más que una nueva aproximación al estudio global del "**universo del medicamento**". Y cada uno de los puntos enumerados en cada sector podría considerarse un microsistema del sistema global.

Sirvan como ejemplo de esta afirmación las gráficas de las figuras 4 y 5, tomadas de Spilker y Cuatrecasas(5). En la fig.4, los citados autores indican cuatro posibles vías de acceso a un nuevo fármaco. A una de ellas, -Nueva entidad química- se puede acceder, según el esquema de la fig 5, por siete vías o caminos más o menos diferenciados. Y, cada uno de estos, a su vez, puede ser el centro de un nuevo sistema. ¿Cuántos soles, planetas y satélites podremos situar en nuestro Universo del medicamento?

Cada uno de los seis sectores indicados en la fig. 3 se corresponde con distintas funciones o áreas de actividad, tal como se indica en el cuadro I.

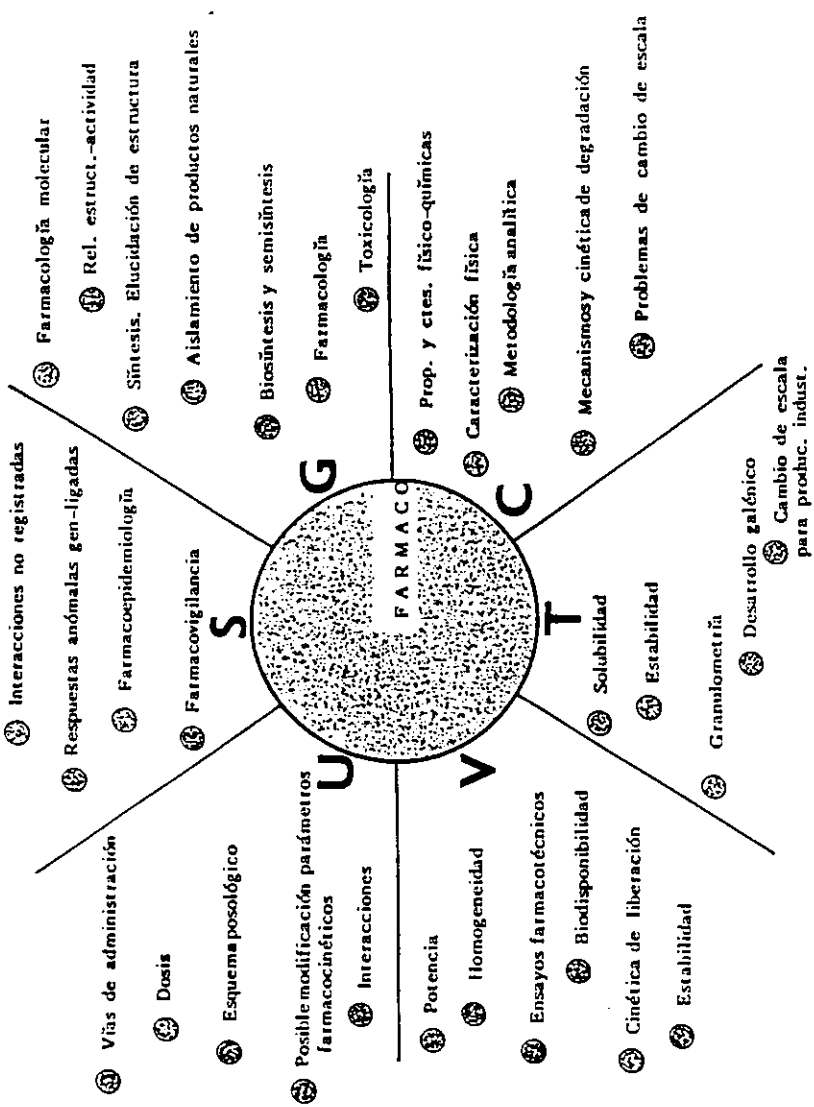

Interacciones no registradas
Respuestas anómalas gen-ligadas
Farmacoepidemiología
Farmacovigilancia
Farmacología molecular
Rel. estruct.-actividad
Síntesis. Elucidación de estructura
Aislamiento de productos naturales
Biosíntesis y semisíntesis
Farmacología
Toxicología
Prop. y ctes. físico-químicas
Caracterización física
Metodología analítica
Mecanismos y cinética de degradación
Problemas de cambio de escala
Desarrollo galénico
Cambio de escala para produc. indust.
Granulometría
Solubilidad
Estabilidad
Vías de administración
Dosis
Esquema posológico
Posible modificación parámetros farmacocinéticos
Interacciones
Potencia
Homogeneidad
Ensayos farmacotécnicos
Biodisponibilidad
Cinética de liberación
Estabilidad
S
U
V
T
C
G
FARMACO

FIGURA 3

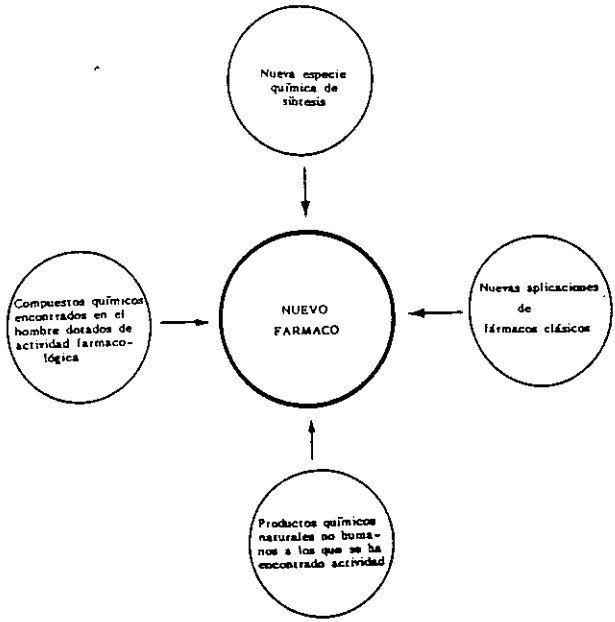


FIGURA 4.

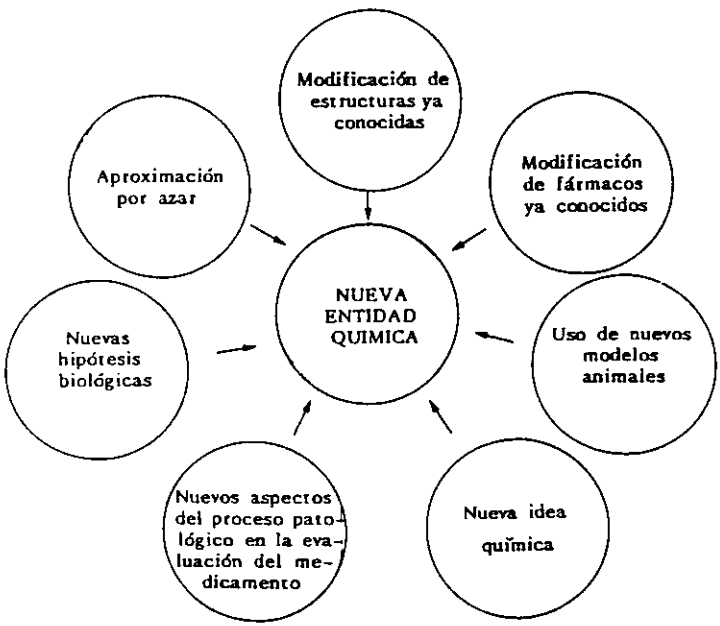


FIGURA 5

CUADRO I

SECTORES	FUNCIONES O AREAS DE ACTIVIDAD
Génesis	Aislamiento de productos naturales Relaciones estructura-actividad Diseño molecular Sintesis, semi-sintesis, biosintesis Elucidación de estructura Estudio farmacológico Estudio toxicológico Farmacocinética-Farmacodinamia-toxicocinetica Experimentación humana
Carácterización	Propiedades y constantes físico-químicas Carácterización física(polimorfismo) Metodología analitica Identificación de producto Identificación de impurezas Determinación cuantitativa: "in vitro" en fluidos biológicos Mecanismos y cinética de degradación
Transformación	Solubilidad Estabilidad Al estado sólido(o liquido) En disolución Selección de tamaño de partícula Desarrollo galénico Ensayos de biodisponibilidad Propuesta de formulación Resolución de problemas de cambio de escala Validación de métodos
Verificación	Potencia Homogeneidad Estabilidad Ensayos farmacotécnicos Cinética de liberación
Utilización	Búsqueda de dosis Vias de administración Posologia Farmacocinética clínica Posible modificación de parámetros farmacocinéticos Interacciones Efectos adversos
Seguimiento	Farmacovigilancia Farmacoepidemiologia Respuesta anómalas con condicionante genético Interacciones no registradas Nuevas indicaciones

En el cuadro I se ha omitido una fase que se podría incluir entre los sectores de Verificación y Utilización. Es la correspondiente a los trámites de Registro y comercialización.La exclusión obedece a la posible heterogeneidad en exigencias que pueda presentar una u otra Administración. En cualquier caso, el expediente debe contener toda la información precisa para que la administración pueda emitir el correspondiente dictamen de aceptación o rechazo, y ésta no puede tener otro origen que los datos suministrados por los equipos de investigación y desarrollo que han intervenido en el estudio.

EL ORIGEN DE UN NUEVO FÁRMACO

Comenzaremos el comentario relativo a Génesis con una afirmación paradójica. Aunque se admite con carácter general que solamente una de cada 10.000 moléculas estudiadas llega al mercado farmacéutico, las ideas para el descubrimiento de nuevos agentes terapéuticos se pueden encontrar en cualquier parte. Una observación casual, la sugerencia de un profano en la materia, o las observaciones empíricas que dan cuerpo a la medicina popular, captadas por un cientifico sagaz y con mentalidad abierta, pueden ser el origen de hallazgos importantes o avances sensacionales.

Así, el tratamiento de la influenza con amantidina en algunos enfermos de Parkinson, y la observación de sus efectos sobre los síntomas de la enfermedad, condujo a la utilización del agente antivirásico como antiparkinsoniano. La utilización por la escuela de Charcot de preparados de belladona, para neutralizar la hipersecreción salival en parkisonianos, fué el primer paso para la utilización de agentes anticolinérgicos en la enfermedad de Párkinson.

Bastante despues del descubrimiento de la penicilina, se encontró esta estructura en la labiada Hisopo. Pues bien, no deja de ser curioso e interesante leer en el salmo 51 de la Biblia "Púrgame con Hisopo y quedaré limpio".

En 1.775, en Stafford, llegó a manos de Withering una receta para la hidropesia que, al parecer, guardaba celosamente una anciana de Shropshire, llamada Mrs Hutton, que "curaba casos en los que habían fracasado los mejores médicos" (6). Aunque en la receta intervenían unos 20 constituyentes, Withering atribuyó, casi de inmediato, la actividad a uno sólo de los componentes: La Digitalis Purpurea. Se introduce asi en terapeútica el primer cardiotónico realmente eficaz.

La introducción de la vacuna antivariólica por E.Jenner, se debe tambien a la observación popular de la protección que experimentaban frente a la viruela las personas que habian contraido un proceso más benigno adquirido en el ordeño de las vacas.

La investigación orientada al **estudio de productos naturales**, extracción selectiva, aislamiento, elucidación de estructura y comprobación de posible actividad biológica, ofrece abundantes ejemplos de moléculas extraídas de vegetales superiores que han significado hallazgos terapéuticos de gran relavancia. Pero, probablemente, no es menos cierto que, en el último cuarto de siglo, han sido mayores los intentos frustrados, tras afanoso trabajo metódico y perseverante, que los éxitos alcanzados. Los éxitos se recogen en la literatura especializada, se difunde su conocimiento, y sus autores obtienen el premio del reconocimiento general de la comunidad científica. Los desafortunados pasan a engrosar las filas de los investigadores anónimos, a los que el azar ha negado la recompensa del acierto.

Pienso a veces que, al igual que en las acciones bélicas se glorifica al vencedor - y con frecuencia, también al vencido,-y al luchador anónimo se le honra en la llama permanente al soldado desconocido, quizá no fuera errado rendir análogo homenaje al investigador que ha quedado en la sombra del anonimato porque la fortuna le ha negado sus favores.

La **semi-síntesis**, que es, en esencia, una forma de optimización de productos naturales, tanto por rentabilidad de proceso como por la posibilidad de conferir a la molécula una mayor selectividad, estabilidad biológica, adecuación a otras vías de administración, o modificación de parámetros farmacocinéticos,ha dado resultados excelentes y es amplia-

mente explotada en el campo de la antibioterapia, de forma especial en las lactaminas, tanto en las derivadas del ácido 6-aminopenicilánico como en los derivados del 7-aminocefalosporánico.

Algunos compuestos que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, principalmente en el reino vegetal, pueden ser utilizados como precursores inmediatos en la síntesis parcial de moléculas dotadas de gran actividad biológica. Aunque, en sí, se trate de compuestos inactivos se transforman mediante manipulación química en agentes terapéuticos interesantes. Muchos esteroides, oxigenadas o no en el nucleo ciclopentano-perhidrofenantreno, y con variados sustituyentes en posición 17, pueden constituir un interesante punto de partida para la obtención de productos de amplia utilización en clínica.

La **biosíntesis** la diferenciamos de la semisíntesis y de los productos naturales porque, aunque el producto es generado por seres vivos, se puede lograr la estructura o configuración deseada mediante incorporación al medio de precursores específicos o por modificación del metabolismo del microorganismo sintetizador mediante procedimientos de ingeniería genética. Un elevado número de sustancias naturales de carácter polipeptídico se obtienen hoy, de preferencia, por estos procedimientos (insulina, eritropoyetina, hormona del crecimiento, etc.). A parte de la indudable utilidad de estas sustancias en el tratamiento de determinados pacientes, las técnicas de ingeniería genética pueden facilitar el conocimiento de complejos procesos biológicos fundamentales para ulteriores desarrollos.

La **síntesis total** es el procedimiento que ofrece mayores posibilidades a la creatividad del investigador. Ello no quiere decir que sea un camino fácil y seguro de acceso a una estructura "cabeza de serie", a partir de la cual se proyecten series exploratorias por aplicación de modelos teóricos, -estadísticos unos, termodinámicos otros, -que permitan una aproximación racional al objetivo buscado.

A diferencia de la aproximación por azar, en la aproximación racional es preciso conocer la naturaleza del proceso biológico responsable del cuadro clínico que se pretende combatir; el punto activo de la célula

en el que actúa el fármaco; la naturaleza y situación sobre la célula de los receptores específicos; equipos enzimáticos perturbados o cuyo funcionamiento hay que modificar, etc. Basándose en estos conocimientos teóricos se diseña el tipo de compuesto susceptible de producir los efectos deseados. La aproximación racional a nuevos "cabezas de serie" es la gran esperanza del futuro pero casi una utopía en el presente. En nuestra opinión quedan todavía muchas lagunas que cubrir en el campo de la patología molecular para realizar un planteamiento de esta naturaleza. Distinto es utilizar la aproximación racional para mejorar eficacia, respuesta y tolerancia de otros agentes ya conocidos, por modificación de estructura molecular. Pero no se obtiene un cabeza de serie; se tiene un análogo estructural.

La síntesis del BAL (dimercaptopropanol) responde auténticamente a una aproximación racional. Y no constituye en sí ninguna novedad, ya que su obtención data de la segunda década de nuestro siglo, durante la primera guerra mundial, como antídoto del gas de guerra lewisita (el nombre BAL corresponde a las siglas de British Anti-Lewisita). A pesar de que el objetivo estaba muy claramente definido, fué preciso sintetizar unos 100 compuestos análogos hasta que se encontró el que reunía la propiedades más satisfactorias.

Parece lógico pensar que en el organismo sólo se encontrarán receptores especificos para sustancias endógenas, y que algunos xenobióticos presentan afinidad y actividad intrínseca al fijarse a estos receptores. Decíamos antes que el diseño por aproximación racional requiere el conocimiento previo de la topografía del receptor o especificidad de los sistemas enzimáticos implicados. A veces, y paradójicamente, se llega a intuir primero, y demostrar despues la existencia de receptores en un principio insospechados. El descubrimiento de endorfinas y encefalinas permitió proponer un modelo de configuración topográfica de los receptores opiáceos, y poder explicar, e interpretar, fenómenos de tolerancia y antagonismo cuya existencia ya se conocia. Entre el primer modelo de receptor estático propuesto por Becket, Casy y Harper (7) y las actuales concepciones de los receptores opiáceos media la diferencia que corresponde a más de 30 años de adelantos científicos y al progreso experimentado por la farmacología molecular.

De forma análoga, cuando mediada la década de los cincuenta se introdujeron en terapeútica las benzodiacepinas no se sabía de la existencia de receptores específicos, ni era conocido que la estructura benzodiacepínica se encontraba en organismos vivos, fundamentalmente en productos vegetales utilizados en la alimentación de animales y humanos. El origen y/o biosíntesis de estos derivados benzodiacepínicos aún no se conoce, y todavía está pendiente de aclarar si los animales son capaces de sintetizarlos o son de origen exógeno. Mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas se ha podido detectar, y cuantificar, demetildiacepan en cerebro de distintas especies animales en diferente estadío evolutivo, tales como salmón, rana, rata, gato, perro, pollo, e incluso humanos(8).

Se llega a la estructura por aproximación por azar y hallazgos posteriores permiten explicar, e interpretar, sus variadas acciones, incluyendo las respuestas paradójicas.

Las vías de acceso a nuevas estruturas dotadas de actividad biológica son mucho más numerosas y variadas de lo aquí expuesto. Constituyen, como ya se ha indicado, un microcosmos dentro del Universo del Medicamento. Y este microcosmos tampoco tiene límites definidos. En él tendrán cabida holgada cuantas ideas o nuevas aportaciones vayan surgiendo.

LOS ENSAYOS FARMACO-TOXICOLOGICOS

SEGURIDAD Y EFICACIA

Los productos naturales aislados, o los obtenidos mediante síntesis o semisíntesis, pasan al laboratorio de farmacología donde, mediante una bateria de ensayos previamente programados, se hace una primera selección de las moléculas que muestran cierta actividad. En este primer "cribado" se rechaza un alto porcentaje de las moleculas ensayadas. El número de las potencialmente útiles se reduce aún más en los ensayos de toxicidad y, finalmente, con las pocas moléculas "supervivientes" se realiza un estudio más detallado conducente a establecer la relación dosis-efecto en distintas especies animales, dilucidar el lugar y posible mecanismo de acción, distribución y acceso a diferentes órganos o estructuras, metabolismo en distintas especies animales, forma y vías de excreción, etc. En esta fase final de experimentación animal se opera con un número muy reducido de moléculas, pero el trabajo a realizar es prolijo y meticuloso, y requiere un alto grado de especialización. La toxicidad aguda, subaguda y crónica, así como estudios de mutagénesis del candidato a nuevo medicamento y sus metabolitos, toxicología de la reproducción, y otros ensayos complementarios, dan paso a la fase siguiente.

Ningún nuevo medicamento será probado en humanos si, previamente,no ha sido sometido a los ensayos de laboratorio que permitan establecer, inequívocamente, sus propiedades farmacológicas y sus límites de toxicidad. En el momento actual no puede ser autorizado ningún medicamento que no satisfaga las condiciones de eficacia y seguridad que exigen las normas internacionales.

Es preciso definir qué se entiende por "**eficacia**" y qué por "**seguridad**". Recurramos a la recientemente publicada LEY DEL MEDICAMENTO (9), en la que vienen definidos ambos términos:
["Articulo 10.- Condiciones para la autorización de especialidades farmacéuticas

1. Se otorgará autorización sanitaria a una especialidad farmacéutica si satisface las siguientes condiciones:

a) Ser segura, es decir, cuando en condiciones normales de utilización no produce efectos tóxicos o indeseables, desproporcionados al beneficio que procura.
b) Ser eficaz en las indicaciones terapéuticas para las que se ofrece.
c) Alcanzar los requisitos mínimos de calidad y pureza que se establezcan.
d) Estar correctamente identificada y acompañada por la información precisa.

Artículo 12. Garantías de seguridad, no toxicidad o tolerancia.

1. Las especialidades farmacéuticas y sustancias medicinales que las compongan serán objeto de estudios toxicológicos que permitan garantizar su seguridad en condiciones normales de uso y que estén en relación con la duración prevista del tratamiento.
2. Estos estudios comprenderán ensayos de toxicidad aguda y crónica, ensayos de teratogenia, embriotoxicidad, fertilidad, ensayos de mutagénesis y, cuando sean necesarios, de carcinogénesis y, en general, aquellos otros que se consideren necesarios para la correcta evaluación de la seguridad y tolerancia de un medicamento en condiciones normales de uso y en función de la duración del tratamiento.
3. Los excipientes de los medicamentos, con las exclusiones y limitaciones que procedan, se regularán de acuerdo con lo previsto en esta Ley.

Artículo 13. Garántias de eficacia

1. Deberá disponerse de estudios en animales cuyos resultados demuestren las acciones farmacológicas producidas por la sustancia o sustancias medicinales de la especialidad farmacéutica y su destino en el organismo. En todo caso se respetarán las disposiciones comunitarias y nacionales sobre protección de animales utilizados para fines cientificos.
2. Dichos estudios deberán reproducir los efectos de distintas dosis de la sustancia e incluir, asimismo, uno o más grupos de control no tratados, o tratados con un producto de referencia.

3. Los estudios farmacológicos en animales no deberán limitarse exclusivamente a los efectos relacionados con las indicaciones de la sustancia medicinal, sino que incluirán necesariamente información sobre los efectos generales que deriven de su aplicación.
4. La eficacia de los medicamentos para cada una de sus indicaciones, deberá establecerse de un modo adecuado, mediante la previa realización de ensayos clínicos controlados por personas suficientemente cualificadas."]

Algunas administraciones son mucho más estrictas y exigentes que lo que puede deducirse de la vaguedad e imprecisión de los artículos que acabamos de transcribir. Fijan número de especies animales y duración del ensayo en función de la vía de administración y duración previsible del tratamiento, asi como observaciones a realizar y pruebas a efectuar durante y a la terminación del ensayo. En general, el número de especies, duración del ensayo y tipo de determinaciones viene condicionado por: Grupo farmacológico, estructura molecular y su relación con la de otros fármacos ya en uso cuya toxicidad y efectos adversos se conocen, vía, dosis y frecuencia de la administración, etc. Los estudios de toxicidad subaguda y crónica se pueden aprovechar para completar el perfil farmacológico y farmacocinético.

En 1.958 se introduce en Alemania la Talidomida, y se presenta como uno de los sedantes más seguros que jamás hayan existido.Estudios realizados en ratones y otros animales de laboratorio, así como en humanos,indicaban muy baja toxicidad. No obstante, casi desde el comienzo de su comercialización se empiezan a registrar los primeros casos de teratogenia en Alemania y en otros paises en los que también se había autorizado su comercialización.

En la clínica Pediátrica de la Universidad de Hamburgo no se había visto ningún caso de focomelia en la década 1.949-59, se registra 1 caso en 1.959, 30 en 1.960 y 154 en 1.961 (10). Otro autor(11), da las siguientes cifras, referentes a Alemania Federal:

12 casos en 1.959
83 casos en 1.960
302 casos en 1.961

Se comprueba que, al menos, el 50% de las madres de los bebés deformes habían tomado talidomida durante el embarazo, y, en noviembre de 1.961, se retira el producto del mercado y se informa a los posibles usuarios de los riesgos que se derivan de su utilización.

Esta observación, y otras análogas, aunque quizá menos dramáticas, hacen que los ensayos de seguridad empiecen a cobrar un cierto protagonismo en los expedientes de registro de nuevos medicamentos. Ya en 1.969, el suizo G. Zbinden (12) afirmaba que un programa completo de evaluación de la toxicidad de una nueva sustancia implica la utilización de más de mil animales, más de 1200 hemogramas, unas 7.000 autopsias, unas 5.000 pruebas de laboratorio y el examen histológico de más de 6.000 órganos.

19 años más tarde, el mismo prof. G. Zbinden, Director del Instituto de Toxicología de la Universidad de Zurich, e investigador de indudable liderazgo mundial en esta materia, escribía:"Los conceptos tradicionales ya estan rebasados... Puesto que la mayor parte de las investigaciones básicas atañen a mecanismos biológicos a niveles celular, subcelular o molecular, los métodos "in vitro" proporcionan, para la mayoria de los problemas, la aproximación más apropiada y frecuentemente la única practicable. Por esta razón,las técnicas de investigación usando cultivos celulares, organismos unicelulares, fluídos corporales y fracciones tisulares tienden a reemplazar la investigación sobre animal entero, y con toda seguridad esta tendencia continuará en el futuro"(13).

Este cambio de actitud, o modificación en el planteamiento de los estudios de eficacia y toxicidad,no supone un repentino golpe de timón que modifique la actitud de los investigadores. Es la resultante de la evolución de los conocimientos científicos y de una presión social, por parte de algunos sectores, que hacía "socialmente ingrato" el trabajo del investigador.

Por una parte, el considerable avance experimentado en los conocimientos de biología molecular, y el mejor conocimiento de la bioquímica celular permiten aproximaciones cada vez mas precisas y racionales al estudio de la interacción de xenobióticos con organismos

vivos. Por otra, ecologistas y antiviviseccionistas promovieron movimientos populares tendentes a la supresión de la experimentación animal en la investigación dé medicamentos.

En los años 80 se celebró en Suiza un referendum para la restricción o supresión de la investigación animal, con el objeto de evitar el sufrimiento y sacrificio de los animales de experimentación. Esta inquietud ha sido recogida por casi todas las administraciones que han promulgado leyes de protección para los animales, e imponen, en la mayoría de los casos, la utilización de anestésicos durante la manipulación, siempre que no interfiera con la respuesta biológica previsible, y limitan la realización de los ensayos a personas especialmente capacitadas para esta función, de tal forma que los resultados obtenidos sean fiables y válidos y el sufrimiento del animal mínimo.

La tendencia actual se orienta a la aplicación de la llamada regla de las tres erres (14) : Reemplazamiento, Reducción y Refinamiento. El Reemplazamiento consiste en la sustitución del animal por técnicas alternativas "in vitro", mediante el uso de cultivos celulares o simulación de modelos con ayuda de programas informáticos. La Reducción se orienta a la disminución al mínimo del número de animales utilizados en cada experiencia, siempre que esta reducción no suponga pérdida significativa de información, en cuyo caso se podría llegar a la situación de sacrificio inútil por dudosa validez de la información obtenida. El refinamiento supone el perfeccionamiento de las técnicas aplicadas para garantizar la supervivencia del animal y su posible utilización en otro ensayo.

El Dr. Alberto Giraldez, querido y admirado amigo, en el epílogo de su Discurso de Ingreso como Académico correspondiente de esta Real Corporación(15), dice :" La firme voluntad de reducir hasta los límites estrictamente necesarios la utilización de animales en la investigación biomédica y la puesta en práctica de cuantas soluciones puedan llevar a ello, como son : La adopción de técnicas alternativas "in vitro", el escrupuloso cálculo previo del mínimo número de animales suficientes para obtener resultados válidos en cada experiencia, así como el perfeccionamiento de técnicas a fin de obtener igual o más información con un

menor número de sujetos", " no son suficientes para satisfacer la deuda contraida por la especie humana hacia sus parientes próximos irracionales o, más exactamente, de racionalidad menos desarrollada; tal deuda debe ser completada con una especial actitud respecto a los numerosos animales que todavía sea imprescindible seguir utilizando y, fatalmente, sacrificando".

En el Simposium sobre " EXPERIMENTACION ANIMAL Y ALTERNATIVAS VALIDADAS: PROBLEMAS Y PERSPECTIVAS" (16), celebrado en Bruselas el 31 de mayo de 1.988 bajo los auspicios de la EFPIA (European Federation of Pharmaceutical Industries Associations), se admite con carácter general que la investigación animal continuará siendo un componente esencial de la futura investigación farmacéutica, ya que los métodos alternativos, al menos de momento, no sustituyen íntegramente la información que puede obtenerse con el animal entero.

Ecobichon (17), en su libro " THE BASIS OF TOXICITY TESTING", escribe en el prefacio de la citada obra:" El objeto fundamental de un estudio de toxicidad es obtener información biológica que sea reproducible, fiable, y que pueda ser extropolada a una toxicidad potencial en humanos". No obstante, como expone el autor en otro pasaje de su libro, la investigación no puede demostrar la ausencia de riesgo, sólo puede establecer límites de probabilidad del posible riesgo y, en consecuencia, el riesgo debe ser aceptado.

En un país, y una sociedad, que no escatima elogios hacia las aportaciones extranjeras, con una acusada cicatería para las aportaciones realizadas por nuestros investigadores, puede ser oportuno, y sin duda es justo, recordar que el premio a la investigación de la EFPIA correspondiente al año 1.990 se adjudicó al trabajo: "Uso de hepatocitos humanos en cultivo para investigar el riesgo potencial de hepatotoxicidad de medicamentos en el hombre", por el que han sido galardonados los Drs. José Vicente Castell y María José Gomez-Lechón (el primero químico y farmacéutico y la segunda Bióloga), de la Unidad de Hepatología Experimental y Centro de Investigación del Hospital La Fé de Valencia.

De uno de sus artículos(18) reproducimos el protocolo experimental para el estudio "in vitro" de la hepatotoxicidad de xenobióticos (fig. 6)*.

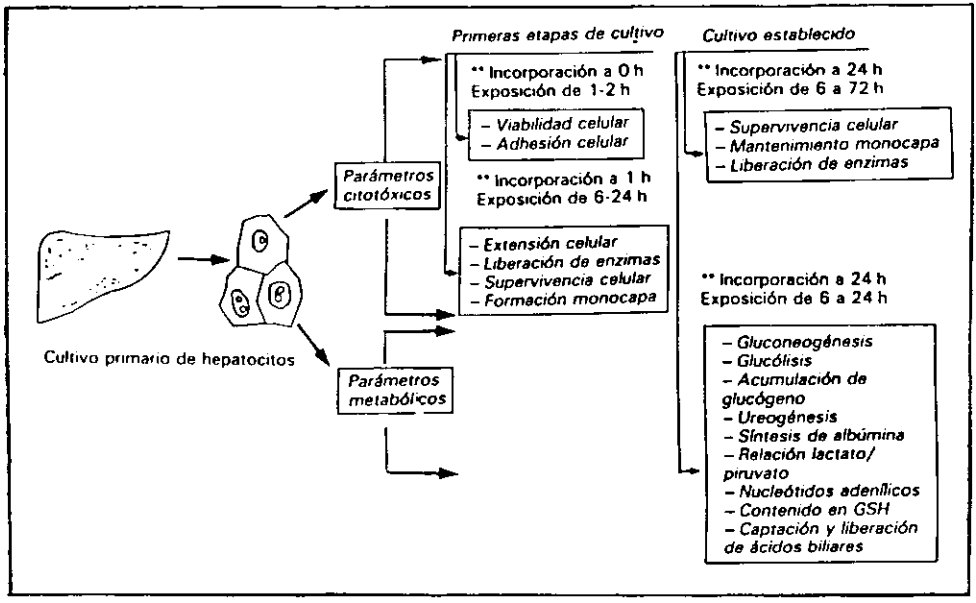
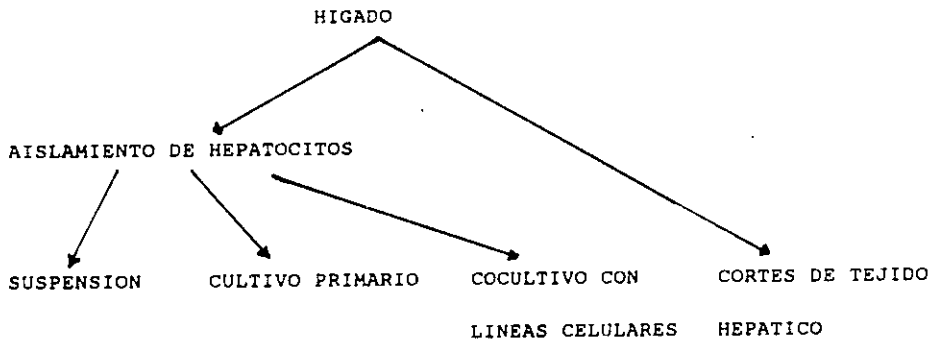


FIGURA 6.- Protocolo experimental para el estudio in vitro de la hepatotoxicidad de xenobióticos

*Ya terminado el texto que ahora presentamos, llega a nuestras manos el libro "**In vitro alternatives to animal pharmaco-toxicology**" del que son editores y coautores Castell y Gómez-Lechón y es, probablemente, la última publicación de la *Serie Científica* de FARAMINDUSTRIA.



EFECTOS CITOTOXICOS

Supervivencia del hepatocito

Pérdida de enzimas citoplasmáticos

Agrupación celular

Separación celular

Caracterización morfológica y ultraestructural

EFECTOS METABOLICOS

Metabolismo de carbohidratos

Ureogénesis

Síntesis proteica y secreción

Síntesis de triglicéridos y secreción

Captación de ácidos biliares

Fases I y II de la expresión enzimática y regulación

FIGURA 7.- protocolo de estudios de hepatotoxicidad in vitro

En esta misma línea, la Comisión de Comunidades Europeas ha creado y auspiciado el ELWW(European Laboratory Without Walls), de una de cuyas publicaciones(19) se transcribe, en la fig. 7, el protocolo para el estudio de la hepatotoxicidad "in vitro".

A pesar de todas estas precauciones, y estudios realizados en la fase preclinica del desarrollo de un nuevo medicamento, el riesgo existe y, cuando éste se manifiesta, surgen preguntas como:

¿Se ha hecho todo lo necesario?

¿Qué tipo de ensayado ha faltado, o ha fallado, en el estudio?

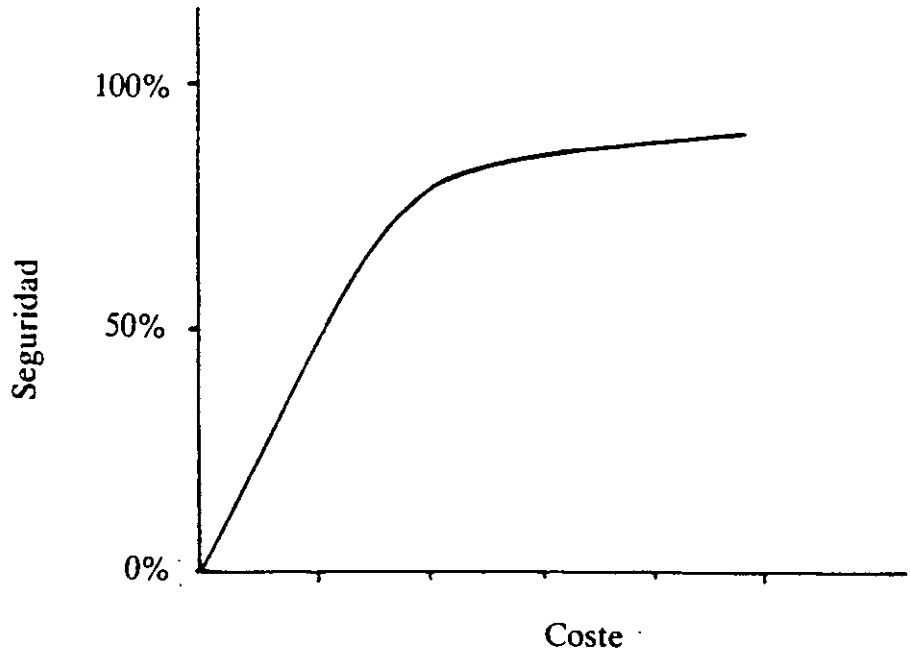


FIGURA 8.

Cada accidente, muchas veces dramático, proporciona una nueva enseñanza y marca una exigencia más. La relación seguridad/ensayos la representa Simón (20) por la relación seguridad/coste, como una función

exponencial, similar a una rama de hipérbola, cuya asíntota nunca alcanza la ordenada 100 (Fig.8). La dificultad, y la responsabilidad, radica en tomar la decisión de dar por concluidos los ensayos de seguridad, y comenzar la experimentación humana, o acumular más datos de experimentación animal.

Se puede afirmar sin la menor sombra de duda que cada nuevo producto que se introduce en terapeútica se conoce mucho mejor que los que le han precedido en el tiempo. Los criterios y métodos de identificación, carácterización y valoración experimentan espectaculares avances de forma ininterrumpida. Análogos avances se observan en el campo de la biología molecular, la farmacología y la toxicología. El número de investigadores que participan en el programa es cada vez mayor. El tiempo invertido en el desarrollo, que se podía estimar en 3 años en 1.960,pasa a ser de unos cinco años en 1.970, de siete a diez años en la década de los 80, y entre diez y catorce años en el momento actual (Fig. 9). Si han aumentado los medios materiales, el número de investigadores y el tiempo invertido en el trabajo, parece lógico que la información acumulada en este periodo, y por estos equipos, sea cada vez más completa.

Los datos obtenidos mediante la experimentación animal, o técnicas alternativas "in vitro", proporcionan una valiosísima información, imprescindible aunque no extrapolable, para la experimentación en la especie humana. Permiten prevenir riesgos y formular predicciones que posteriormente habrá que verificar.

Es necesario experimentar con distintas especies animales, entre ellas un no roedor, porque ni las vías metabólicas ni los parámetros farmacocinéticos son los mismos en una u otra especie. Así, mientras casi todas las especies animales acetilan aminas e hidracidas, el perro tiene muy baja capacidad de acetilación, con lo que es mayor la incidencia de polineuritis y otras manifestaciones toxícas. El conejo, con muy bajos niveles de glucuroniltransferasa, no puede formar los derivados glucurónidos, pero si los sulfatos. Las rutas metabólicas en procesos oxidativos son muy diferentes en distintas especies animales. Debido a tales variaciones se pueden observar profundas diferencias en toxicidad y duración de efectos de una misma sustancia en animales de distinta especie (21,22,23). La oxidación del hexobarbital a hidroxihexobarbital, transcurre a distintas velocidades, lo que se manifiesta en los correspondientes valores de

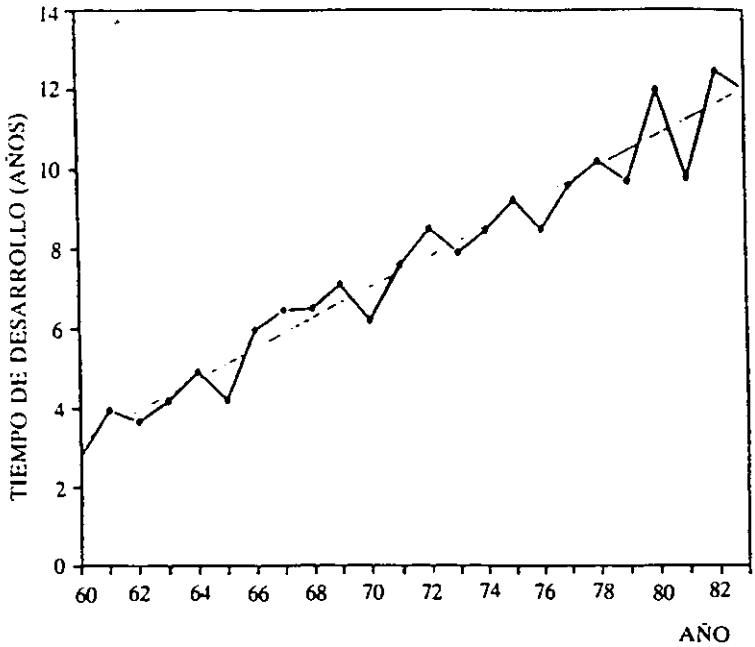


FIGURA 9.- Evolución del tiempo de desarrollo de un nuevo medicamento en el período comprendido entre 1960 y 1982 (10).

semivida (24):

Especie animal	Semivida(min.)
Ratón	19
Conejo	60
Rata	140
Perro	260
Hombre	360

Si en lugar del hexobarbital, consideramos la semivida de la fenilbutazona en distintas especies, encontramos, según la literatura, los siguientes valores:

Especie animal	Semivida(h)
Conejo	3
Cobaya	5
Rata	6
Perro	6
Mono	8
Hombre	72

Es cierto que algunos parámetros de disposición y farmacocinéticos pueden ser estimados, con bastante aproximación, mediante la aplicación de funciones alométricas siempre que se tengan suficientes puntos en la serie para hacer fiable la extrapolación. Aún así, las cifras obtenidas no tienen valor predictivo total, sino aproximativo. La extrapolación es más problemática cuando las rutas metabólicas,en las distintas especies, son muy dispares. Hay abundantes ejemplos en la literatura de cumplimiento satisfactorio de funciones alométricas, fundamentalmente en sustancias que no sufren un intenso metabolismo hepático, pero, en principio, hay que aceptar estos valores con algunas reservas hasta que se obtenga su confirmación experimental.

Farmacocinética, farmacodinamia y toxicocinética tienden a conjugarse armónicamente para suministrar una valiosa información en la investigación de nuevos medicamentos. Del 24 al 26 de abril de 1.991, se celebró en Arlington (VA, EEUU) una conferencia sobre :"Integration of Pharmacokinetics, pharmacodynamic and Toxicokinetic principles in Rational Drug Development"(25). La conferencia se celebró bajo los auspicios de la American Association of Pharmaceutical Scientists, la Food and Drug Administration y la American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics, señalando para esta reunión los siguientes objetivos:

- Definir y fijar las interrelaciones de la farmacocinética, farmacodinamia y toxicocinética en el deasarrollo de medicamentos.
- Establecer estrategias para la aplicación efectiva de los principios de la farmacocinética, farmacodinamia y toxicocinética en el desarrollo de medicamentos, incluyendo la primera fase de los ensayos clínicos.

- Preparar un informe sobre la utilización de la farmacocinética y farmacodinamia en el desarrollo racional de medicamentos, que sirvan de apoyo a futuras directrices reguladoras.

El informe, firmado por 20 autores y publicado simultáneamente en cinco revistas de amplia difusión, contiene las opiniones personales de los firmantes, y no representa el punto de vista de la administración ni de las asociaciones científicas que auspiciaron la reunión, pero contribuye a crear un estado de opinión sobre estos problemas, respaldado por la gran solvencia científica de los firmantes del informe, que concluyen manifestando su convencimiento de que la aplicación de los conocimientos farmacocinéticos y farmacodinámicos, tanto en la fase preclínica sobre distintas especies animales como en la experimentación humana, proporcionará las bases para el desarrollo racional de nuevos medicamentos, contribuirán a establecer los regímenes posológicos para cada paciente y optimizar la respuesta terapeútica.

LA EXPERIMENTACION HUMANA

La experimentación de nuevos medicamentos en hombre sano y enfermo, tan denostada por algunos sectores, es necesaria, está universalmente admitida, reglamentada por la autoridades santarias de los distintos países y regulada por normas de carácter deontológico elaboradas en convenciones internacionales. En todos los paises avanzados existe una reglamentación al respecto cuyo cumplimiento es ineludible por parte del promotor de un ensayo e investigadores que participan en el proyecto.

Está formal y absolutamente prohibido iniciar ningun tipo de experimentación humana con nuevos medicamentos sin la previa autorización de las autoridades sanitarias. En la solicitud de autorización se aportarán cuantos datos se conozcan del nuevo agente, estudios farmacológicos y toxicológicos realizados y resultados obtenidos, formulación con indicación cuali y cuantitativa de todos sus componentes, estabilidad, farmacocinética animal y metabolismo, y toda cuanta información se tenga para un mejor conocimiento del producto objeto de estudio. Se opera sobre voluntarios a los que se facilitará la información más completa del producto a ensayar, objetivos que se persiguen y posibles acciones secundarias y efectos adversos que se pueden presentar durante la realización del estudio. Aunque el voluntario dé su consentimiento a participar en el ensayo, se puede retirar del mismo en cualquier momento sin más requisito que la manifestación de este deseo al investigador responsable del proyecto. Se exige también la cobertura, mediante póliza de seguro, de cualquier riesgo durante, o inmediatamente después, de la realización del ensayo. Los Comités de Etica y Ensayos Clínicos existentes en todos los hospitales que realizan este tipo de investigación, velan por el estricto cumplimiento de la normativa legal.

No puede decirse que la realización de un ensayo clínico esté exenta de riesgos para el probando, por mínimo que sea este riesgo. Si así no fuera, no se tomarían todas las precauciones que acabamos de indicar, encaminadas a conferir la máxima seguridad al ensayo y respetar, en todo momento, la libertad y dignidad del voluntario.

El conjunto de normas y recomendaciones que deben cumplirse escrupulosamente en la realización de un ensayo clínico constituyen lo que se denominan Buenas Prácticas Clínicas (BPC), cuyo comentario pormenorizado omitimos, y que están recogidas en diversas publicaciones, a una de las cuales, "BUENA PRACTICA CLINICA -**Recomendaciones internacionales en investigación terapéutica**-", de la que es autor Carlos Vallvé (26), remitimos al lector interesado en este tipo de problemas.

La experimentación humana permite evaluar la utilidad terapéutica del producto ensayado en su forma farmacéutica y vía de administración. En la Fase I, realizada habitualmente sobre voluntarios sanos (en algunas ocasiones pacientes cuidadosamente seleccionados), se determinan datos básicos tales como velocidad de absorción, concentración en fluídos biológicos, biodisponibilidad, metabolismo, parámetros farmacocinéticos en humanos, etc. Permite también detectar algunos tipos de efectos adversos difícilmente objetivables en experimentación animal porque deben ser comunicados por el probando. Algunos autores llaman a esta Fase I fase de "farmacología clínica inicial", y otros "fase de seguridad", ya que es previa a la evaluación de la posible eficacia terapéutica del medicamento objeto de estudio.

Si los resultados obtenidos en Fase I justifican la prosecución del ensayo, se inicia la Fase II, que se realiza sobre un número reducido de pacientes, cuidadosamente seleccionados y controlados, a fin de evaluar la eficacia en el tratamiento (o prevención) de un proceso o manifestación patológica específica. Se pueden verificar niveles en fluídos biológicos a intervalos de tiempo preestablecidos, evaluar la posible influencia de esa patología específica sobre los parámetros farmacocinéticos obtenidos en hombre sano y, mediante incremento gradual de la dosis, buscar la dosis mínima eficaz y establecer las pautas posológicas más seguras y eficaces.

En la fase III, farmacología clínica expandida, se opera ya sobre un número de enfermos considerablemente más elevado, que, según la categoria terapéutica del producto y sus características específicas, puede alcanzar cifras de centenas o millares de probandos. El control de los enfermos es menos meticuloso que en la fase II, y se recaban datos de un

alto número de hospitales o instituciones que participan en ensayos multicéntricos coordinados.

Si los resultados obtenidos son satisfactorios, bien porque mejora la eficacia de los productos ya comercializados, porque presenta menor número de efectos adversos con eficacia análoga, o que por su absorción, biodisponibilidad o parámetros farmacocinéticos facilita su administración o cumplimiento terapéutico, o que presentando características semejantes a los ya existentes puede constituir una interesante alternativa terapéutica, se somete a la aprobación por las autoridades sanitarias para su ulterior comercialización.

La Fase IV, seguimiento del producto en el mercado se prolonga indefinidamente. Con más abundante casuística, se establece la posible relación de causalidad con las reacciones adversas que se detecten, se completa el conocimiento del fármaco con cuantas aportaciones se recojan en la literatura, se establece su forma de utilización para nuevas indicaciones, se registran interacciones medicamentosas hasta entonces no detectadas, tratando de dilucidar el mecanismo por el que se produce la interacción, etc. Quizá sea suficiente indicar, a este particular, que productos que ya tienen un siglo en el mercado, como es el ac. acetil salicílico, siguen atrayendo la atención de clínicos e investigadores a fin de lograr un conocimiento más perfecto de una molécula que habrán utilizado alguna vez en su vida varios miles de millones de personas. Pues bien, el ac. acetil salicílico está en fase IV, y en ella continuará mientras las administraciones sanitarias sigan autorizando su utilización.

CARACTERIZACION DEL PRODUCTO

En los ensayos biológicos iniciales, farmacología y toxicología, se sabe, naturalmente, con qué molecula se está trabajando, sobre todo si el producto se ha obtenido por síntesis o semisíntesis. Sin embargo, el esfuerzo de carácterización de la molécula, determinación de propiedades físicas y constantes fisico-químicas, puede posponerse hasta que los ensayos previos permiten abrigar ciertas esperanzas de éxito que inducen a proseguir el estudio.

Aunque bajo un epígrafe tan genérico, cual es carácterización del producto, caben los más variados tipos de determinaciones que contribuyen a su exacta definición, vamos a limitar nuestro comentario a algunos aspectos que podrían pasar inadvertidos a un experimentador poco avispado.

El problema de la quiralidad

Cerciorarnos que la estructura que manejamos es la que creemos, parece una precaución fundamental. Pero hay otro aspecto, relacionado con la estructura, al que se está concediendo cada vez mayor importancia y sobre el que ya existe una abundante literatura: La utilización de racémicos o enantiómeros.

Es frecuente la presencia de uno o más centros quirales en moléculas dotadas de actividad biológica. Es conocida la existencia de estereoespecificidad en la unión fármaco receptor y en la mayor parte de los procesos enzimáticos. Luego el comportamiento farmacocinético y farmacodinámico de uno u otro enantiómero pueden ser diferentes, y, de hecho, lo son con bastante frecuencia. Ello ha llevado a Lehmann (27) a introducir los términos "eutómero" y "distómero", el primero de los cuales designa al enantiómero más activo y el segundo al que ha demostrado menor actividad biológica. Puede darse la circunstancia que un enantiómero tenga distinta estereoselectividad para cada una de las acciones que puede producir un determinado fármaco, de tal manera que sea eutómero con respecto a un tipo de respuesta y distómero con respecto a otro.

En consecuencia, no puede sorprender el gran interés que está adquiriendo en la investigación y desarrollo de nuevos fármacos el estudio de los problemas relacionados con la quiralidad.

Así. la mefenitoina(3-metil-5-etil-5 fenil hidantoina), con reconocida actividad antiepiléptica, experimenta transformaciones metabólicas de dos tipos:

a) Hidroxilación aromática en 4 del fenilo en posición 5.
b) Demetilación en el N-3

El centro de asimetria de C-5 del nucleo de la hidantoina permite diferenciar dos enantiómeros: El S y el R.

El metabolismo de la mefenitoina en el hombre es altamente estereoespecífico, de tal forma que, en sujetos normales, el enantiómero S es casi completamente hidroxilado en posición para del anillo fenilo, y excretado rápidamente como glucurónido, mientras el enantiómero R se N-demetila y excreta, con mayor lentitud, como R 5-etil-5-fenil hidantoina(28).

Eichelbaum y Gross (29), en su artículo de revisión sobre implicaciones de la estereoespecificidad en farmacocinética clínica, consideran cuatro posibilidades vinculadas a la existencia de un carbono asimétrico en la molécula:

1.- Los posibles anatiómeros son equipotentes.

2.- Los enantiómeros tienen la misma acción cualitativa pero distinta potencia.

3.- Solamente uno de los enantiómeros es activo.

4.- Ambos son activos, pero sus respectivas acciones son cualitativamente diferentes.

Aunque hasta ahora sólo se ha estudiado con suficiente detalle la influencia de la estereoselectividad en la respuesta en un número limitado de estereoisómeros, los resultados de que se dispone permiten afirmar que un racémico no puede considerarse, en términos generales, como una entidad farmacológica definida.

Carácterización física del producto

La carácterización física, investigación de polimorfos, puede evitar, o permite prevenir, algunos problemas que pueden presentarse al modificar la técnica de cristalización en las últimas fases de la obtención de la sustancia pura. En alguna ocasión, al realizar el desarrollo galénico de una nueva molécula, hemos encontrado diferencias muy significativas en la cinética de disolución de una forma farmacéutica sólida. El punto de fusión, y la calorimetría diferencial de barrido, demostraban, sin lugar a dudas, que se estaba operando con distinta entidad física, aunque fuese la

misma especie química. Se habia modificado el medio de cristalización para mejorar rendimientos, y, en este caso concreto, se habia resentido la velocidad de disolución, con posible modificación de la biodisponibilidad(30). Recordemos que el morfo A del cloranfenicol presenta una biodisponibilidad en magnitud del orden del 15% de la que presenta el morfo B con idéntica formulación (31) (ver Figura 10).

Si el fármaco se presenta al estado sólido, y en la formulación mantiene tal estado, es de capital importancia conocer su estado amorfo o cristalino y, en este último caso, la posible existencia de polimorfismo por su decisiva infuencia en la absorción de formas sólidas por cualquier vía de administración.

En la carácterización de sólidos para uso farmacéutico habrá que considerar tres aspectos o niveles de actuación, en cada uno de los cuales se obtienen valores diferentes y complementarios para una correcta tipificación del producto. Estos son:

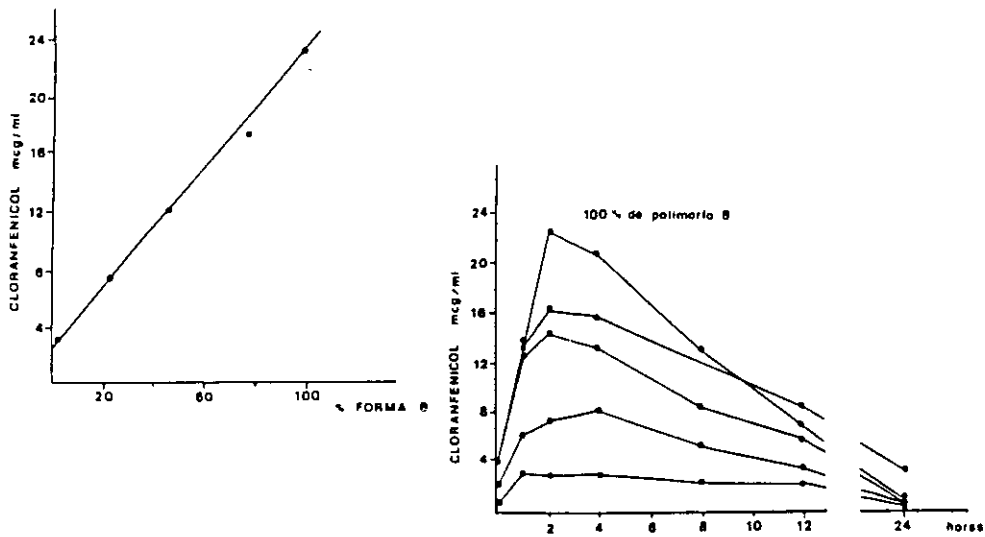


FIGURA 10.- Concentración máxima de cloranfenicol y trazados concentración-tiempo, después de la administración de 1,5 g de cloranfenicol con distintas proporciones de polimorfos A y B (100-75-50-25-0 %) (Ref. 31).

1) MOLECULA
Espectro: Ultravioleta
Infrarojo
Resonancia

2) PARTICULA
Morfología
Distribución de tamaños
Difracción de Rayos X
Análisis térmico: Termogravimetría
Calorimetría diferencial de barrido

3) MASA
Superficie específica
Porosidad
Distribución de tamaño de poros
Propiedades de flujo

Determinación cuantitativa

En el desarrollo de la metodología analítica para la determinación cuantitativa del producto en las distintas fases del proceso de transformación, tan importante como conocer la riqueza es identificar y cuantificar posibles impurezas; éstas, pueden ser debidas a contaminación con intermedios de síntesis, a otros análogos que se originan en pequeñas cantidades en el mismo proceso, y no han sido separados en curso de purificación, o a productos de degradación originados durante las manipulaciones. Si la investigación de impurezas puede permitir discriminar si se ha vulnerado una patente de procedimiento, estas mismas impurezas pueden ser las responsables directas de efectos adversos o acciones secundarias erróneamente imputadas al fármaco puro.

El número correspondiente a los meses de julio-agosto de 1.992 de la revista STP. PHARMA incluye dos artículos que recogen los informes de una Comisión de la **Societé française des sciences et techniques pharmaceutiques** (SFSTP) con metodología y ejemplos de

aplicación de una guía de validación analítica(32). En el primero de los citados informes se incluye un cuadro que recoge los criterios de validación para cada rúbrica (Cuadro II)

CUADRO II

RUBRICA	CRITERIO
Identificación	Especificidad
Ensayo(contenido o impurezas)	Especificidad Umbral de detección Umbral de cuantificación
Valoración (contenido o actividad)	Especificidad Linearidad Exactitud Fidelidad Sensibilidad

La metodología analítica ha experimentado extraordinarios avances en los últimos cuarenta años. La sensibilidad, precisión y selectividad de las técnicas actuales permiten alcanzar límites de detección y cuantificación antes insospechados, y la evolución de la tecnología permite prever avances espectaculares en el próximo decenio.

Las técnicas analíticas tienen distintos grados de exigencia según el tipo de determinación que se realice. Por la magnitud de la muestra, se exigirá distinta sensibilidad a la determinación de riqueza de materia prima que a la determinación del mismo producto, o sus metabolitos, en fluidos biológicos tras la administración a un animal de experimentación, o al hombre, de una dosis equiparable a la dosis terapéutica habitual.

Los ensayos de estabilidad

La puesta a punto, y correspondiente validación, de métodos analíticos permitirá establecer los mecanismos y cinéticas de degradación del producto puro, al estado de disolución y en la forma farmacéutica seleccionada, posible interacción con los excipientes, humedad de equilibrio - con distintas humedades relativas - del producto puro, en

presencia de los componentes de la formulación, y en la forma farmacéutica final. Ensayos de inestabilidad acelerada en condiciones isotérmicas o en gradiante de temperatura, seguimiento de potencia durante su conservación a temperatura ambiente y cuantos ensayos puedan contribuir al mejor conocimiento de la evolución que puede experimentar el producto durante su almacenamiento o permanencia en el mercado. Solo conociendo los mecanismos de degradación se podrá hacer una formulación que atenúe el proceso degradativo, y a través de las constantes de velocidad de reacción a distintas temperaturas estimar el periodo de validez en las condiciones de conservación que, en cada caso, se recomienden.

Recientemente se ha celebrado en Darmstadt (Alemania) una reunión internacional en la que estuvieron presentes 260 científicos de la industria, universidades y administraciones, que elaboraron la llamada "Declaración de Darmstadt", que se puede considerar como una primera etapa para la armonización internacional de exigencias de estabilidad. Los paises más directamente implicados son los que integran la CEE, USA y Japón, que representan el 83% del mercado mundial de productos farmacéuticos (33).

En el Symposium se abordaron cuatro aspectos decisivos de los ensayos de estabilidad:

-Etapas fundamentales en el desarrollo de un medicamento en una formulación estable.

-Directrices más recientes en ensayos de estabilidad establecidas por la CEE, FDA y Japón.

-Perspectivas futuras en ensayos de estabilidad.

-Armonización de directrices para asegurar que los ensayos de estabilidad se plantearán y ejecutarán de tal manera que la información que suministran pueda ser aceptada por la CEE, USA y Japón.

Se divide el mundo en cuatro zonas climáticas:

Zona	Condiciones de almacenamiento	
	Temp.(ª C)	HR (%)
I.- Templada	21	45
II.- Mediterranea subtropical	25	60
III.- Calurosa seca	30	35
IV.- Calurosa húmeda	30	70

Esta, como cualquier otra división que se pretenda establecer, será, al mismo tiempo, defendible y vulnerable. No se pretende encasillar las condiciones climáticas dentro de unos moldes rígidos, sino de definir cuatro situaciones tipo en cuanto a condiciones de conservación y almacenamiento de medicamentos.

Se establecieron, asimismo, las condiciones y tiempos mínimos para los ensayos de estabilidad.

Coeficientes de solubilidad y reparto

Los coeficientes de solubilidad en diferentes disolventes, solubilidad en agua en función de pH, valores de pK , y coeficientes de reparto fase acuosa/fase lipídica suministran información fundamental en estudios de formulación. Aunque la fase lipídica en la determinación del coeficiente de reparto puede ser, en principio, cualquiera, la más generalmente utilizada es el octanol, ya que proporciona los datos hasta ahora más fácilmente correlacionables con el comportamiento biológico de la molécula a efectos de transferencia a través de membranas naturales.

Los datos de solubilidad y estabilidad obtenidos en la fase de caracterización, son utilizados, y si fuese necesario completados en la fase inmediata, que en nuestro esquema hemos designado como TRANSFORMACION. Es, probablemente, en esta fase en la que juega un papel más relevante el farmacéutico, ya que en ella se incluye el desarrollo galénico, ensayos de biodisponibilidad y propuesta de formulación.

Los estudios a realizar, o parámetros a determinar, en el componente activo aislado dependen de la forma farmacéutica que se pretenda adoptar en la fase de transformación. En el cuadro III, que como todos los que se incluyen en el texto no pretende ser exhaustivo sino meramente orientativo, se indican los tipos de estudios a realizar con el principio activo e interés de su conocimiento segun la forma farmacéutica que se pretende adoptar. El número de cruces indica la importancia relativa que se asigna al estudio o parámetro de referencia, no su valor. Así, se asignan tres cruces a la velocidad de disolución en comprimidos, cápsulas rígidas o suspensiones pero, mientras en las dos primeras formas habitualmente

interesa rápida velocidad de disolución, en la tercera deben ser muy bajos el coeficiente de solubilidad y la velocidad de disolución. Asimismo, es de observar que polimorfismo y granulometria tienen importancia fundamental en formas sólidas de administración oral.

Cuando las circunstancias así lo requieran, se pueden corregir algunas propiedades desventajosas del principio activo, a efectos de formulación, mediante la incorporación de excipientes susceptibles de modificar la, o las, características que no se adecúen a la vía de administración proyectada. La palatabilidad y la modificación de otras propiedades organolépticas, son interesantes campos de actividad en los que el farmacéutico puede desarrollar su capacidad creadora.

CUADRO III

Estudios a realizar en I + D Galénico

PARAMETROS	COMPRIMIDOS	CAPSULAS RIGIDAS	SOLUCIONES ORALES	SOLUCIONES PARENTERALES	SUSPENSIONES	EMULSIONES
Caracteres organolépticos	+	–	+ +	–	+	+
Aspecto cristalino o forma de la partícula	+ +	+ +	–	–	+	–
Polimorfismo	+ + +	+ + +	–	–	+ + +	–
pH en solución	+	+	+	+ + +	+	–
PKa	+	+	+	+	+	–
Coeficiente de reparto	+	+	+	+	+	+ +
Granulometría	+ +	+ + +	–	–	+ + +	–
Solubilidad	+ +	+ +	+	+	+ + +	+
Velocidad de disolución	+ + +	+ + +	–	–	+ + +	–
Fluidez	+ +	+ +	–	–	–	–
Densidad real y aparente	+ +	+ + +	–	–	+	–
Compresibilidad	+ + +	+	–	–	–	–
Estabilidad al estado sólido	+ +	+ +	–	–	+	–
Estabilidad en solución	+	+	+ + +	+ + +	+	+ + +
Higroscopicidad	+ + +	+ + +	–	–	–	–
Grado de disociación	–	–	–	+	–	–
Viscosidad en solución	–	–	+	+	–	–

TRANSFORMACION

En la fase de transformación, se confiere al componente activo la forma que lo adecúa a la vía de administración. Aqui es donde el papel del farmacéutico, ejecutando y marcando directrices, adquiere la categoria de fundamental.

Sin duda alguna, la calidad de una formulación tiene su origen en lo certero que haya sido su desarrollo galénico, que, a fin de cuentas, no es más que la resultante de la conjunción armónica de cuatro variables:

- Forma y vía de administración
- Exigencias biofarmacéuticas
- Componentes de la formulación
- Proceso farmacotécnico

La expresión "Desarrollo Galénico", que comprende en sí la parte más genuinamente farmacéutica de todo el proceso de desarrollo, permanece para el profano en la penumbra de lo semidesconocido cuando no en las tinieblas de lo ignorado. La gloria, o el beneficio, esperan al creador de una nueva molécula dotada de actividad farmacológica. Participa de esta gloria, o beneficio, el prescriptor, que resuelve una situación clínica comprometida mediante la correcta utilización de un instrumento que la investigación farmacéutica pone a su disposición. Se beneficia, naturalmente, el enfermo que recibe la terapia más adecuada a su situación patológica. Pero ni gloria ni beneficio obtiene el grupo de trabajo que ha hecho posible que ese nuevo fármaco produzca la respuesta esperada y deseada en el enfermo. El artifice del puente que hay que establecer entre génesis y utilización seguirá en el anonimato, pero no por ello su trabajo será menos gratificante en el plano de la satisfacción personal.

Según datos de la Pharmaceutical Manufacturers Association, referidos al año 1.983, los estudios de formulación, desarrollo de proceso, control de calidad y biodisponibilidad, absorben el 21,9% del coste total de desarrollo (tabla I). Estas cifras tienen cierta entidad ya que los gastos totales de investigación y desarrollo farmacéutico alcanzan cifras que serían insospechadas hace solo 25 años. Thesing (2) estima que el coste

medio de cada nuevo medicamento desarrollado en Alemania en el periodo 1.966-1.975 era de 89 millones de marcos, para pasar en 1.981 a 155 millones. Segun Gross (34) el coste medio de investigación y desarrollo farmacéutico en USA, por cada fármaco que alcanza la etapa de comercialización, oscilaba entre 50 y 100 millones de dólares en 1.983, cifra muy análoga a la dada por Thesing. Pero, segun datos más recientes de la Pharmaceutical Manufacturers Association, la inversión total en investigación y desarrollo farmacéutico en 1.989 duplicó a la del año 1.983 (fig.11), proporción notablemente mayor que la del número de nuevas moléculas que alcanzaron la fase de comercialización en los años indicados. El aumento de la inversión en investigación y desarrollo farmacéutico no se corresponde con la evolución que experimenta el número de nuevas moléculas que alcanzan la fase de comercialización. La falta de paralelismo se pone de manifiesto al comparar los datos que se deducen de la fig. 10 con los que se consignan en la tabla II.

TABLA II

FUNCION	Porcentaje total	
Evaluación clínica: Fases I, II y III	20 %	
Ensayos farmacológicos	17,6	
Síntesis y Extracción	10,9	
Formulación y Estabilidad	9,9	
Toxicología y ensayos de seguridad	9,0	
Desarrollos y procedimientos y control de calidad	9,5	21,9
Evaluación clínica: Fase IV	4,0	
Trámites legales	4,4	
Estudios de Biodisponibilidad	2,5	
Otros	12,5	
TOTAL	100,0%	

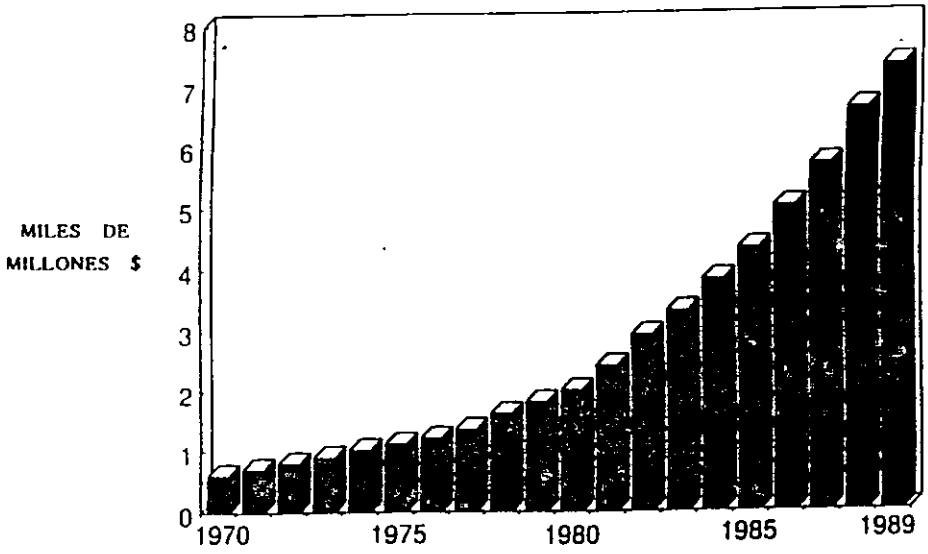


FIGURA 11.- Evolución de la inversión en I + D a lo largo del tiempo (U.S.A.)

TABLA V
PRINCIPIOS ACTIVOS DESCUBIERTOS EN EL MUNDO
EN EL PERIODO 1.961-1.985(35)

Periodo	Nª total p.activos	Estructura relativa(en porcentajes) USA	CEE	JAPON	OTROS
1.961-65	431	23	48	11	18
1.966-70	413	24	49	8	19
1.971-75	388	21	46	11	22
1.976-80	277	25	50	11	14
1.981-85	278	25	40	22	13

La forma y vía de administración constituyen el primer condicionante en el desarrollo galénico de una formulación; el tipo de respuesta (instantánea, inmediata, diferida, sostenida o programada), el segundo. Y

a estos condicionantes debemos atenernos al programar el trabajo. Aunque cada forma farmacéutica (ya sea para administración parenteral, oral, tópica, etc.) implica un proceso farmacotécnico específico, y orienta en la selección de excipientes, en todas ellas se hace necesario conocer algunas peculiaridades del componente activo. Estas son, entre otras:

Estabilidad al estado natural, aislado, en mezcla o disolución, en función de pH, temperatura y condiciones ambientales.
Solubilidad en agua y en distintos disolventes
pK si se trata, como es frecuente, de electrolitos débiles
Coeficiente de reparto
Compatibilidad con excipientes

Nada más lejos de nuestra intención que exponer el desarrollo galénico de todas las posibles formas farmacéuticas. Sería desviarnos de nuestro objetivo y conferir al texto una innecesaria proligidad y aridez. Sin embargo sí vamos a indicar de forma somera lo que podríamos denominar patrón general de un desarrollo galénico, que se puede encontrar compendiado en el esquema de la fig. 11, en el que se recogen las sucesivas etapas de un desarrollo, válido para cualquier forma farmacéutica, aunque cada una de ellas impone un distinto procedimiento de interposición o incorporación.

Previa la rigurosa carácterización de los componente (activos y excipientes), constituye una precaución elemental cerceriorarse de la homogeneidad de la mezcla o interposición, determinar potencia por unidad de masa o volumen, y verificar la ausencia de interacciones o degradación del componente activo. En el diseño experimental se puede operar con dos grupos de variables: de composición y de procedimiento. Se obtienen así un número de formulaciones diferentes (dependiente del diseño) que se someten a los correspondientes ensayos.

Los ensayos "in vitro" nos proporcionan una valiosísima información, necesaria, pero no suficiente, para la aceptación definitiva de formulación y proceso. Para esto último será preciso realizar ensayos "in vivo", establecer posibles correlaciones "in vitro" - "in vivo", y tomar los datos "in vitro" como referencia obligada en la preparación de lotes

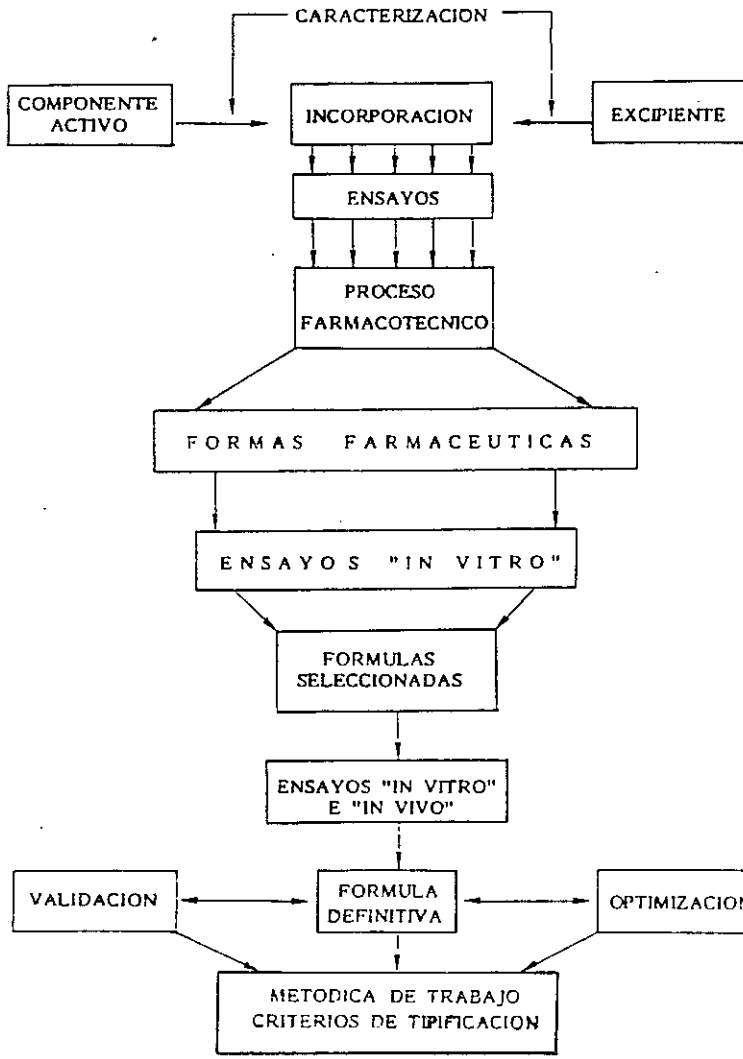


FIGURA 12

sucesivos. Ello nos llevará a establecer la fórmula definitiva (aunque siempre sujeta a crítica , revisión, y posible modificación), validar todos los procedimientos y técnicas seguidas, resolver los problemas de cambio de escala, optimizar rendimientos, establecer la metódica de trabajo y definir los criterios de tipificación del producto final.

Un desarrollo galénico, al igual que cualquier tipo de desarrollo, obedece a una motivación, que puede ser terapéutica, económica, de prestigio o imagen, etc. Tras la motivación vendrá la información, definición de objetivos y programación, con lo que nos encontramos con otro esquema de inter-relaciones como el que se recoge en la fig.13.

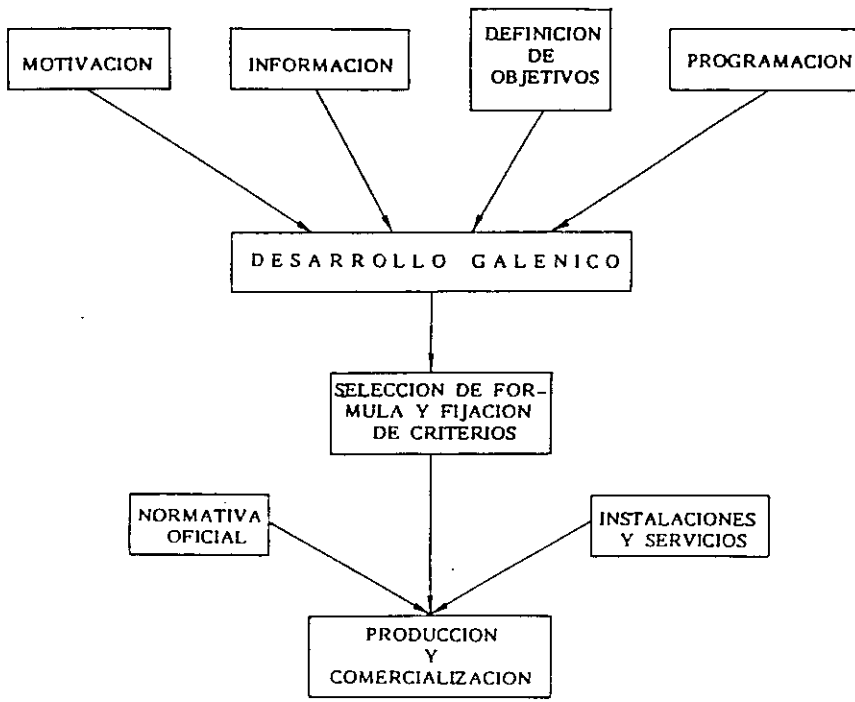


FIGURA 13.

En este último se ha incluido como paso previo a la producción la adecuación de instalaciones y servicios, y, previo a la comercializaciòn, el cumplimiento de la normativa legal y aceptación por parte de la administración sanitaria.

En el cuadro IV se indican, tambien a título orientativo, tipos de estudios a realizar en el desarrollo galénico de algunas formas farmacéuticas, sólidas o líquidas, de administración oral o parenteral. La forma y vía de administración impone determinadas condiciones en el producto

terminado, como puede ser la esterilidad y apirogeneidad en formas parenterales, o los límites de contaminantes biológicos, no patógenos, en formas de administración oral o tópica.

CUADRO IV

Estudios a realizar en I + D Galénico

TIPO DE ESTUDIO	COMPRIMIDOS	CAPSULAS RIGIDAS	SOLUCIONES ORALES	SOLUCIONES PARENTERALES	SUSPENSIONES	EMULSIONES
Estabilidad acelerada	+	+	+	+	+	+
Estabilidad a T° de esterilización térmica	I	I	I	+	I	I
Mezcla de sólidos	+	+	I	I	+	I
Manchas o colores extraños	+	+	+	+	+	+
Formación de precipitados	I	I	+	+	I	I
Densidad real y aparente	+	+	I	I	+	I
Viscosidad	I	I	+	+	+	+
Higroscopicidad	+	+	I	I	I	I
Granulación y secado	+	+	I	I	I	I
Porosidad	+	+	I	I	+	I
Compresibilidad	+	+	I	I	I	I
Fluidez	+	+	I	I	I	I
Mezclado de sólidos	+	+	I	I	+	I
Dispersabilidad	I	I	I	I	+	I
Coalescencia	I	I	I	I	I	+
Osmolaridad	I	I	I	+	I	I
Eficacia conservadores	I	I	+	+	+	+
pH	I	I	+	+	+	I

Exigencias biofarmacéuticas: Biodisponibilidad.

Al hablar de las exigencias biofarmacéuticas como uno de los condicionantes básicos del desarrollo galénico, pensábamos en los criterios de modulación de la absorción y en la evaluación de la biodisponibilidad, índice este último que adquiere carácter de fundamental en todo medicamento que se administra por via de absorción. La biodisponibilidad expresa la cantidad de componente activo que alcanza inalterado la circulación sistémica y la velocidad a que este hecho se produce. Ello permite diferenciar las dos medidas complementarias de la biodisponibilidad: Biodisponibilidad en magnitud, o en cantidad, y biodisponibilidad en velocidad. La primera expresada por el área bajo la curva nivel hemático tiempo, y la segunda, reflejo de la velocidad de absorción, que se puede expresar por la constante de velocidad o por los valores de Cmax o tmax.

La biodisponibilidad en magnitud se expresa como cociente entre áreas bajo la curva, entre tiempos cero e infinito, de la formulación problema y la de referencia. Si el valor de referencia es el resultante de la administración endovenosa de la misma dosis, el cociente, multiplicado por 100, expresa la biodisponbibilidad absoluta. Si el valor de referencia se obtiene por vía de absorción, el cociente, tambien multiplicado por 100, expresa la biodisponibilidad relativa. Si no se operase con dosis iguales, habría que multiplicar el valor obtenido por el cociente o relación de dosis.

Siempre que ello sea posible, se toma como referencia la administración endovenosa (biodisponibilidad absoluta). Si por razones de toxicidad, o de insolubilidad en un disolvente atóxico, no se puede recurrir a la vía endovenosa, la referencia más frecuente es el mismo producto al estado de disolución, si es posible, en agua. Se designa, a veces, absorbabilidad, o biodisponibilidad, intrínseca a la resultante de la administración oral en forma de disolución.

Si se opta por formas farmacéuticas sólidas, sea cual fuere la vía de administración, la absorción será tanto más rápida cuanto antes se libere el componente activo del soporte fisico-químico que constituye la forma farmacéutica. Por ello, el ensayo "in vitro" más significativo a

efectos de cinética de absorción es la cinética de liberación. Dado que la liberación se puede producir por disolución o por fusión del excipiente y posterior disolución del componente activo, todos los factores que influyen en la solubilidad y velocidad de disolución afectan a la velocidad de absorción. La superficie específica de un sólido pulverulento, la utilización de distintos morfos, o la sustitución de amorfo por cristalino, o viceversa, inciden muy directamente en absorción y biodisponibilidad.

Solamente mediante experimentación "in vivo" se puede hacer una evaluación de la biodisponibilidad. A través de ensayos normalizados de velocidad de disolución se pueden definir los parámetros del proceso. Si se llega a establecer una correlación satisfactoria entre parámetros de absorción y de disolución, entonces, y únicamente entonces, el estudio "in vitro" permite una estimación del comportamiento "in vivo". Es un contrasentido hablar de BIOdisponibilidad "in vitro", pero no lo es hacer una estimación de valores de los parámetros de biodisponibilidad si la correlación "in vitro"-"in vivo" ha sido previamente establecida y validada. Este hecho tiene importancia práctica porque evita la realización de un ensayo de biodisponibilidad para cada lote que se fabrique. Quizá por el carácter predictivo de la biodisponibilidad que, dentro de ciertos límites, puede tener el estudio de la velocidad de disolución, se está empezando a utilizar por algunos autores el término "**liodisponibilidad**" para referirse a la velocidad de disolución del componente activo en formas sólidas de administración oral.

Es por esto que, en las monografías de comprimidos que se consignan en la USP, se establece como exigencia fundamental que, en un tiempo dado, -variable para cada formulación-, debe disolverse un porcentaje preestablecido del componente activo contenido en la forma farmacéutica objeto de estudio. En cada caso se especifica el medio disolvente, en composición y volumen, y el tipo de aparato normalizado que se utiliza en el ensayo. En la tabla III se recogen, a título de ejemplo, las especificaciones de la USP XXI para los comprimidos de prednisona.

TABLA III
ENSAYO DE DISOLUCION DE COMPRIMIDOS
DE PREDNISONA (USP XXI)

Aparato.....	2
Velocidad.....	50 rpm
Tiempo.....	30 min.
Medio.....	Agua destilada
	-500 ml para < 10 mg
	-900 ml para > 10 mg
Tolerancia.....	No menos 80% en 30 minutos.

En 1.963, Campagna y col.(35), refieren el caso de una enferma sometida a tratamiento con prednisona cuyo proceso curativo se interrumpe cuando, respetando el mismo tratamiento, cambia de unos comprimidos a otros elaborados por distinta firma comercial. Ambos tipos de comprimidos, los terapéuticamente eficaces y los ineficaces satisfacian las exigencias de la USP XVI, a la sazón vigente en Estados Unidos. El título del artículo es expresivo y en cierto grado paradójico: "Comprimidos inactivos de prednisona, USP XVI". La Farmacopea Oficial, y una de las más estrictas, respaldaba la ineficacia terapéutica de una formulación.

En aquel entonces, y estamos hablando de hace solo 30 años, ni se exigían, ni estaban normalizados, los ensayos de disolución en comprimidos. No obstante, los autores de la nota hacen el estudio de la velocidad de disolución con un dispositivo que había sido sugerido dos años antes por G. Levy, y obtienen los resultados que se representan en la gráfica de la fig. 14. Es claro que los comprimidos activos satisfacen la exigencia actualmente establecida (Disolución de no menos del 80% del contenido en 30 min.), y los inactivos no.

Es sabido que, en administración oral, la velocidad de absorción depende del tipo de forma farmaceutica utilizada; se sabe, además, que la absorción más rápida se obtiene cuando la administración se realiza en forma de disolución. Facilmente se comprende la tentación que puede

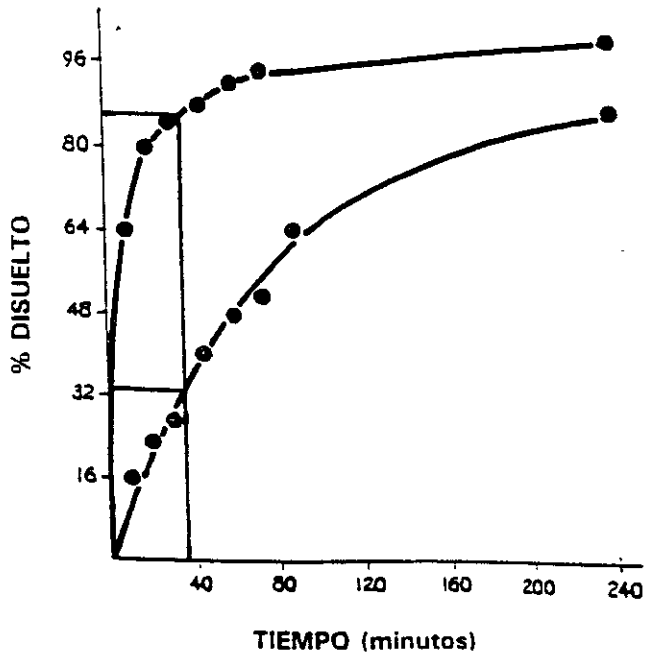


FIGURA 14.

experimentar un formulador de acondicionar un determinado componente activo en forma de disolución, y lograr, de esta manera, una absorción más rápida y, probablemente, más completa. Este experimentador debe cerciorarse que no se ha resentido la estabilidad y que no ha aumentado la toxicidad.

En 1.935 comunicaba Domagk el efecto antiestreptocócico del prontosil, y en el mismo año Trefuel y col. demostraban que, por la acción de una azoreductasa, el prontosil se excindía "in vivo" en sulfanilamida y triaminobenceno. El prontosil, activo "in vivo", pero inactivo "in vitro", es uno de los primeros profármacos que se introducen en terapéutica, aunque de forma casual porque cuando Domagk propone su utilización se desconocían su carácter de compuesto biorreversible y su mecanismo de acción. Con las sulfamidas comienza la era de la quimioterapia antibacteriana que tan espléndidos frutos daría en años posteriores.

En el año 1.937, una empresa norteamericana, que tenía su sede en Tennessee, comerçializa una forma líquida de sulfanilamida con el nombre de "Elixir de Sulfanilamida", con una concentración en componente activo del 10%. No tardaron en recogerse los primeros resultados fatales con una indudable relación de causalidad. Cuando el producto se retiró del mercado tenía sobre sí la imputación segura de 107 muertes, la mayoría niños, a las que probablemente se pueda añadir alguna más.

La sulfanilamida es poco soluble en agua y en mezclas hidroalcoholicas, pero es soluble en polioles**. En la formulación a que nos hemos referido en el párrafo anterior, el disolvente utilizado era el dietilenglicol (más exactamente, una mezcla dietilenglicol-agua que contenia un 72% de dietilenglicol), cuya toxicidad no fué investigada por los responsables de la formulación. Cuando se desencadenaron todos estos acontecimientos estaba en vigor en USA la legislación de 1.906, según la cual, el fabricante sólo podía ser sancionado por designación incorrecta del producto: El elixir es una preparación líquida para administración oral, cuyo vehículo está constituido por una mezcla de alcohol etílico y agua, y el dietilenglicol no es alcohol etílico.

En junio de 1.938 se aprueba por ambas cámaras una nueva Ley que confiere a la FDA (Food and Drug Administration) nuevas e importantes facultades entre las que cabe destacar que se exige al fabricante demostrar ante la FDA que el producto cuya comercialización se solicita presenta una aceptable seguridad. Curiosamente, en este nueva Ley no se exige ninguna prueba de eficacia; solo de seguridad.

FORMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA

El planteamiento de un desarrollo galénico ha evolucionado en los últimos años respondiendo a la necesidad de adaptar fármacos antiguos, o tradicionales, a las nuevas exigencias de la terapéutica. Entre las muchas

---

**La sulfanilamida presenta una solubilidad en agua del 5‰ a 18°; 7,5 a 25° y 15‰ a 37° C. Poco soluble en alcohol atílico y soluble en disolventes orgánicos, tales como metanol o acetona. Muy soluble en acetato de etilo y dietilenglicol (37).

razones que estimulan el ingenio del investigador galénico en la búsqueda de nuevas formas de administración, cabe citar, a título de ejemplo, cuatro que glosaremos muy brevemente:

a) Explotación de productos cuya patente ha caducado o está próxima a caducar.

b) Desarrollo de sistemas especiales de liberación programada.

c) Obtención de nuevas sustancias activas, generalmente de naturaleza polipeptídica, que exigen especial cuidado en preparación y manipulación.

d) Modulación de respuesta, o aumento de la biodisponibilidad, mediante utilización de profármacos.

Además del interés terapéutico de estas innovaciones, hecho que no ofrece la menor duda, hay un trasfondo económico que estimula la habilitación de recursos para profundizar en estudios de esta naturaleza. Tyle, Ritschel y Banakar, en el primer capítulo de la obra "Specialized Drug Delivery Systems" (38), hacen algunas consideraciones que nos parece interesante entresacar. Se refieren a un estudio realizado por el Departamento de Economia de la Universidad de Texas, auspiciado por la Pharmaceutical Manufacturers Association y publicado en 1.988, en el que se concluye que el coste de investigación y desarrollo de un nuevo medicamento ha alcanzado la cifra record de 125 millones de dólares, casi 2,5 veces el coste medio de 1.976, fecha en que se cifraba en, aproximadamente, 54 millones de $ USA el coste de cada nuevo medicamento desarrollado.

Se estima que es necesaria la explotación comercial del producto durante un periodo de 8-10 años para empezar a rentabilizar la inversión. Pero, si el tiempo invertido en I+D aumenta progresivamente, -de forma sensiblemente lineal como se deduce de la gráfica de la fig.9-, y el plazo de validez de patente no se modifica, difícilmente puede resarcirse el propietario de la patente de la inversión realizada. Basta pensar que de los 15 productos farmacéuticos más vendidos en los Estados Unidos en 1.988, en 7 ya ha caducado la patente, en 5 caducará entre 1.993 y 1.994, 2 en 1.995 y 1 en el año 2.000.

Esta situación puede obligar a la Industria Farmacéutica innovadora a la realización de ajustes económicos (inversión-explotación) que aseguren su supervivencia. Uno de los caminos puede ser reformular aquellos fármacos de eficacia y seguridad comprobada y evaluarlos en nuevos sistemas de liberación controlada, programada, o dirigida a organo diana, de forma que se exalte la eficacia o disminuya la toxicidad sistémica. Es lo que Tyle, Ritschel y Banakar designan como concepto de "vino viejo en envases nuevos". Si se opta por esta alternartiva, no cabe ninguna duda que se acorta el tiempo de desarrollo; que los datos fármaco-toxicológicos de que ya se disponía pueden ser válidos en un 80-90%; que el esfuerzo de carácterización de la molécula ya está realizado; que la inversión para el desarrollo de la nueva forma o sistema es considerablemente inferior, y que se ha transferido la carga de trabajo a los grupos de desarrollo galénico, experimentación animal y experimentación humana que han de verificar que se logra el objetivo deseado. Pero, además de ahorrar tiempo, dinero y esfuerzo, tiene la ventaja añadida de aumentar la vigencia de la patente en estas preparaciones específicas, proyectadas y elaboradas con criterios y procedimientos más avanzados.

En septiembre de 1.988 se celebró en Edimburgo la" **Third International Conference on Drug Absorption**". Prescott y Nimmo, en calidad de editores, recogen las comunicaciones allí presentadas en la obra "Novel Drug Delivery" (39), que ofrece una panorámica muy interesante de algunos de los sistemas de liberación de medicamentos actualmente en uso, y sus posibles aplicaciones terapéuticas, a cuya lectura remito a las personas interesadas.

En el Capítulo 1 hace Prescott unas consideraciones que nos parecen muy atinadas. Al referirse a los sistemas de liberación convencionales indica que muchos clínicos, y técnicos de la industria farmacéutica, aún no teniendo nada en contra de los nuevos sistemas de liberación, argumentan que los sistemas convencionales dan resultados plenamente satisfactorios por lo que no encuentran ninguna razón para cambiar. Es cierto que gran parte del éxito se debe a la calidad, seguridad y eficacia de los nuevos fármacos más que a su modo de liberación, pero no existe la menor duda que los modernos procedimientos permiten lograr menores fluctuaciones de la concentración en las inmediaciones del órgano efector, exaltar la biodispoonibilidad, mejorar el índice terapéutico, reducir los

efectos adversos y facilitar la aceptación y cumplimiento de la terapia por parte del enfermo.

Un elevado número de los nuevos sistemas de administración, diseñados para liberación sostenida o controlada, permiten la administración de una o dos dosis/día, con bajas fluctuaciones del valor de la concentración en fluidos biológicos. Pero algunos de estos sistemas tienen el inconveniente de presentar liberación pH-dependiente, lo que puede dar lugar a respuestas inesperadas si no se ha evaluado previamente este factor. En las gráficas de la fig. 16 (40), se recoge la representación topográfica de dos formulaciones de liberación sostenida de teofilina, una de ellas con cinética pH-dependiente y otra pH-independiente. De su simple obervación de deduce que cualquier factor susceptible de modificar el pH del fluído gastro-intestinal, ya sea por efecto de la dieta, por tratamiento farmacoterapéutico, o por causas patológicas, puede afectar a la cinética de liberación-absorción y, en consecuencia a los niveles que se alcancen en fluídos biológicos. Jonkman (41), en un estudio de la interacción de la dieta alimenticia con preparados de teofilina de liberación sostenida, incluye una tabla que transcribimos íntegra y literalmente en nuestra tabla V.

TABLA VII

Sumario del efecto de alimentos sobre varias formulaciones de teofilina(ref.41, pag.177)

Producto	**absorción**	
	velocidad	extensión
Solución	-	-
Preparados q.12 h		
"sabidal"	-	0
"Sio-bid Gyrocaps"	--	0
"Somophyllin CRT"	-	0
"Theobid Duracap"	0	0
"Theo-Dur"	--	0
"Theo-Dur Sprinkle"	---	---
"Theograd"	-	+++
"Theolair SR"	---	-
Preparados q.24 h		
"Dilatrane AP"	-	+
"Euphylong"	-	-
"Theo-24"	+++	+++
"Uniphyl"	-	++

Abreviaturas: 0= ningún efecto; -/+ ligero descenso/aumento (sin relevancia clínica);--/++ descenso/aumento moderado ;---/+++ descenso/aumento significativo(clínicamente relevante)

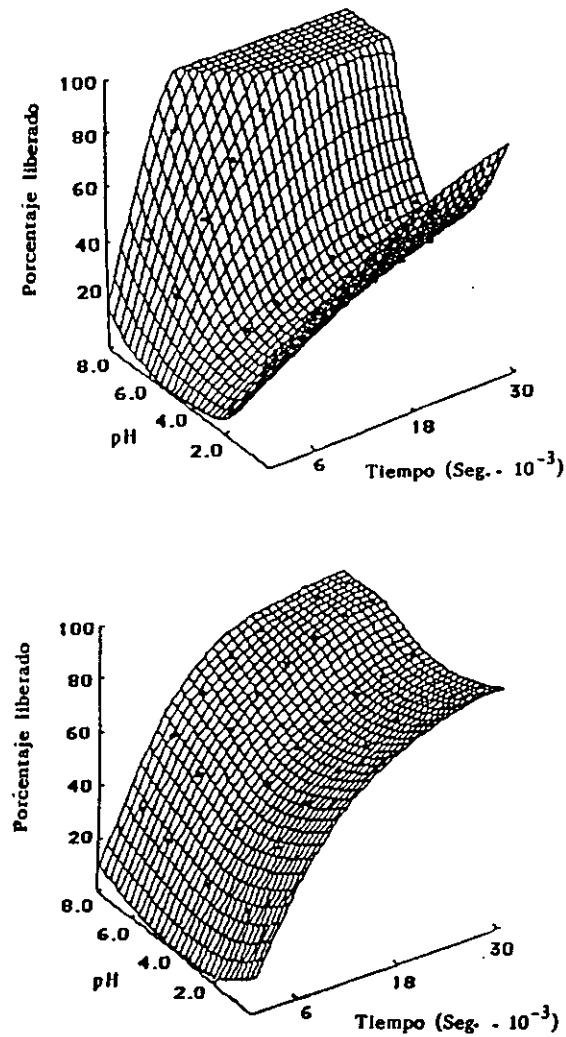


FIGURA 15.- Representación topográfica de la cinética de liberación de teofilina en dos formulaciones de liberación sostenida con distinto grado de pH-dependencia.

La variación que puede experimentar el pH de los fluidos digestivos, como consecuencia de la ingesta alimenticia, modifica la cinética de liberación cuando ésta es pH dependiente, pudiendo originar manifestaciones tóxicas (existen casos registrados en la literatura) o ineficacia terapéutica, dependiendo del signo de la interacción.

El impulso que han adquirido en los últimos años los nuevos sistemas de liberación controlada, programada ó dirigida (nanopartículas, microgránulos, microesferas, liposomas, portadores biológicos, etc.) ha repercutido en la expansión comercial de compañías que consagran su actividad industrial a este campo. Algunas de ellas juegan un importante papel en el desarrollo de formas de liberación controlada, tales como ALZA, CYGNUS, EURAND o PHARMATEC. La CEE patrocina proyectos multinacionales sobre tecnología de liberación de medicamentos, alguno de ellos acogido al programa BRITE/EURAM, por cuantía próxima al millón de Ecus. Estamos ante una revolución en los sistemas de liberación de medicamentos que, sin desvirtuar en absoluto lo que tradicionalmente es, y se considera, I+D Farmacéutico, orientado a la búsqueda de nuevas moléculas, refuerza el papel del desarrollo galénico en la farmacoterapia actual y futura.

Del 9 al 11 de diciembre de 1.992, se celebrará en Sydney (Australia) el simposium internacional " ADVANCES IN DELIVERY OF THERAPEUTIC AND DIAGNOSTIC AGENTS", que, sin duda, señalará una nueva frontera en esta prometedora línea de la investigación farmacéutica. Cuando este texto vea la luz ya se habrá celebrado la reunión y, de las discusiones que alli se planteen, y correspondiente debate, pueden surgir nuevas ideas en este interesentísimo campo de investigación que, indudablemente, aportarán mejoras sustanciales en el manejo de los medios de diagnóstico actuales o futuros.

Estamos en los umbrales de una nueva generación de productos, dotados de potente actividad terapéutica, que han roto los esquemas convencionales en los mecanismos liberación-absorción-transporte y obligan a soluciones originales ante problemas novedosos. Casi todas las sustancias hata ahora obtenidas por procedimientos de ingeniería genética son compuestos inestables, de semi-vida biológica corta, de carácter polar y, frecuentemente, macromolecular, cuya utilización en clínica requiere la previa resolución de los problemas de liberación-absorción en moléculas de estas carácteristicas. El hallazgo de procedimientos que permitan a estos agentes salvar las barreras naturales que dificultan su absorción, supondrá un considerable avance, y enorme beneficio, para la medicina y para el género humano.

Uno de los caminos que se siguien para el desarrollo de nuevos sistemas está basado en el principio conocido por la expresión, ya acuñada en la terminología inglesa, "**flatter is better**", que podríamos traducir por "cuanto más plano mejor", orientado a reducir, o evitar, acusadas fluctuaciones en la concentración de componente activo en las inmediaciones del órgano efector. Como hace notar Breimer (42), esta puede ser una situación deseable para algunos fármacos, pero de ninguna manera se le puede conferir el carácter de principio general. Parece haberse confirmado en años recientes que la liberación contínua de nitroglicerina de formas transdérmicas puede desarrollar tolerancia, lo que hace aconsejable establecer cierta intermitencia en la administración (por ejemplo, 16-18 horas de aplicación transdérmica/día, con periodos de 6-8 horas sin aporte de nitroglicerina). En otras ocasiones, razones de índole fisiológica o patofisiológica hacen aconsejable una liberación pulsatil, y no continua, como puede ser en la administración, -con fines terapéuticos-, de algunos productos de carácter endógeno, tales como insulina, cuya concentración en fluídos biológicos experimenta fluctuaciones diurnas.

Tradicionalmente, las sustancias de naturaleza peptídica debian administrarse por vía parenteral (s.c., i.m., i.v., ó i.p.). Ello se debía a que el efecto de primer paso intestinal o hepático suponía una barrera infranqueable para la absorción gastrointestinal. Sin duda alguna, la vía parenteral es segura y adecuada, aunque no la más fisiológica para administración de medicamentos. En tratamientos prolongados se puede resentir el estricto cumplimiento de la pauta terapéutica, con explotación parcial o reducida de los beneficios que se podían esperar del tratamiento instaurado. Surge así, como vía alternativa, la vía intranasal, que se ha transformado ya en una vía rutinaria para la administración de vasopresina, LHRH, occitocina, insulina, calcitonina, etc. La cavidad nasal, con un volumen de 15 ml y una superficie de 150 cm^2 presenta una mucosa atravesada por una tupida red vascular y linfática, que posibilita una absorción satisfactoria por esta vía alternativa. Así, Hirai y col. (43) evaluan la biodisponibilidad sistémica de la insulina intranasal en animales de laboratorio y encuentran que sólo se produce absorción si el pH de la solución es inferior a 3,5 y se utiliza un tensoactivo como promotor de la absorción. Las sales de ácidos biliares fueron los promotores más y mejor estudiados, y los resultados, desde el punto de vista cuantitativo dependían de un conjunto de variables cuyo análisis rebasa el objetivo que nos hemos señalado en esta visión general del problema.

Aunque la liberación-absorción oral de péptidos y proteínas siempre ha planteado dificultades especiales, debido a las adversas condiciones del medio gastrointestinal, el **Southwest Research Institute** (SwRI) parece haber diseñado dos modelos de sistemas destinados a proteger sustancias de naturaleza peptídica del medio ácido del estómago y de la actividad enzimática de los tramos superiores del tracto gastrointestinal (44).

La utilización en terapéutica de derivados biorreversibles que tienen el carácter de profármacos ha permitido la resolución de múltiples problemas biofarmacéuticos y farmacotécnicos que pueden presentarse en el desarrollo galénico de una formulación. Entre los múltiples objetivos que justifican la utilización de profármacos cabe citar(45):

a) Enmascarar características organolépticas desagradables.
b) Aumentar la estabilidad del componente activo en medio acuoso.
c) Facilitar vías de administración alternativas.
d) Modular la absorción sin afectar a la biodisponibilidad.
e) Exaltar la absorción.
f) Aumentar la biodisponibilidad por disminución del efecto de primer paso.
g) Lograr sinergia farmacodinámica.
h) Disminuir efectos adversos.

En algunas ocasiones se proyecta la formulación y desarrollo con profármacos con el fin de lograr, simultáneamente, varios de los objetivos enumerados en la relación anterior.

La validación de los métodos utilizados tanto para la carácterización de los componentes como para su determinación cuantitativa, asi como de los procedimientos y manipulaciones realizadas en fase de preparación, y resolución de los problemas inherentes a cambio de escala, llevan a la propuesta definitiva de la fórmula, fijación de criterios para su correcta tipificación y establecimiento de parámetros de referencia.

VERIFICACIÓN

Complemento imprescindible de la producción es la verificación de que se ha obtenido lo que se pretendía y se logrará la respuesta previsible. También en este sector juega el Farmacéutico un interesante papel pero, a nuestro modo de ver, no por la ejecución de los distintos

ensayos sino por el establecimiento de los criterios que deben presidir las decisiones. Una cinética de liberación en formas sólidas, un ensayo de estabilidad fijando periodos de caducidad química o biofarmacéutica, o una evaluación de la biodisponibilidad de una formulación, se pueden hacer de forma rutinaria, y algunos de ellos en aparatos totalmente automatizados. La interpretación de los resultados y el dictamen final son responsabilidad exclusiva del director del grupo que, normalmente, será un farmacéutico con amplia experiencia en este tipo de estudios y dictámenes.

Es preciso cerciorarse que la potencia, expresada como contenido de componente activo en cada unidad posológica, es la prevista, y que, dentro de las fluctuaciones estadísticamente admisibles, todas las unidades del lote tienen la misma potencia. Pero esto es insuficiente; el producto resultante debe satisfacer las exigencias farmacotécnicas de la forma farmacéutica adoptada y biofarmacéuticas del sistema de liberación proyectado. Estas exigencias ya habrán sido definidas de forma inequívoca en los estudios conducentes al desarrollo galénico de la formulación.

UTILIZACIÓN Y SEGUIMIENTO

Los dos últimos sectores del círculo engloban las actividades comprendidas en **utilización y seguimiento. Quizá pudieran refundirse en un solo sector. No lo hacemos así porque la utilización tiene carácter prospectivo -(aunque el futuro sea muy inmediato)- y el seguimiento tiene carácter retrospectivo, ya que se basa en observación**, y sistematización de observaciones, hasta llegar a constituir un cuerpo de doctrina.

Con sus diversas ramificaciones y subdivisiones, algunas de las cuales se enumeran a título orientativo en el Cuadro I, esta forma del ejercicio profesional cristaliza en la Farmacia Clínica, que, desde hace unos veinte años ha tomado carta de naturaleza entre las actividades fundamentales del farmacéutico. En algunos paises su estudio y ejercicio está fuertemente consolidado. En otros, en vias de introducción y, finalmente, algunos grupos se muestran un tanto reticentes al definir o asimilar esta función.

Según una reciente publicación de la "**European Society of Clinical Pharmacy**"(46), los objetivos de los programas de Farmacia Clínica son:

- Estimular y desarrollar el acercamiento de la práctica farmacéutica al paciente.
- Promover el establecimiento de relaciones constructivas entre el Farmacéutico y los demás profesionales sanitarios.
- Establecer un medio en el cual el Farmacéutico pueda aplicar sus conocimientos teóricos a situaciones clínicas.

La Farmacia clínica es, en esencia, una aproximación del medicamento al paciente a través del dispensador, que se transforma así en su:

Asesor, ofreciendo la garantía de la correcta utilización del medicamento prescrito.

Previsor de posibles interacciones.

Vigilante de reacciones adversas.

En la misma obra últimamente citada (46), se recogen a título de extracto del Documento Educacional de la Sociedad Europea de Farmacia Clínica, los siguientes ocho objetivos:

1.- Asegurar que cada enfermo recibe le terapéutica medicamentosa apropiada, de acuerdo con sus necesidades personales.

2.- Contribuir a determinar la relación riesgo/beneficio de los agentes terapéuticos para cada paciente individual o para una colectividad.

3.- Colaborar con todo el personal que trabaja en el campo de la salud pública.

4.-Educar a los enfermos y a los profesionales de la salud para lograr una utilización apropiada, eficaz y segura de los medicamentos.

5.- Procurar incidir en el coste de la medicación***.

6.- Contribuir y desarrollar programas de investigación que permitan mejorar la utilización terapeútica de los medicamentos.

7.- Actualizar y mejorar su preparación.

8.- Evaluar su propio rendimiento, e identificar y corregir cualquier deficiencia que detecte.

*** Al referimos a la incidencia en el coste de la medicación aludimos a la necesidad de conjugar eficacia y coste, aunque anteponiendo siempre aquella a este. Los limitados recursos que los diferentes Estados pueden dedicar al cuidado de la salud obligan a la introducción de criterios económicos. Ello ha animado a la prestigiosa editorial ADIS Press a iniciar la publicación de la revista PHARMAECONOMIC, e impulsado el estudio de la ya llamada farmacoeconomia.

Probablemente, en el momento actual, sea en el ámbito hospitalario en el que el farmacéutico se encuentra más próximo a las actividades propias y genuinas de la Farmacia Clínica. Pero también puede, y debe, desarrollar una actividad análoga en la Oficina de Farmacia, o Farmacia Comunitaria, aunque con un sesgo distinto que el del Farmacéutico de Hospital. Con análogos conocimientos, e idéntico sustrato, el propio ejercicio profesional va modelando su personalidad y adecuando su actividad al medio en que la desarrolla.

Sus conocimientos de Biofarmacia y Farmacocinética le permiten prever e interpretar posibles interacciones, ya sean farmacotécnicas o farmacocinéticas, al mismo tiempo que sus conocimientos de farmacología básica le permiten discernir sobre la posible existencia de interacciones farmacodinámicas. Por su preparación, en fin, reune las condiciones exigibles a un buen informador sobre el uso de los medicamentos.

Si prevalece la sensatez sobre los protagonismos personales mal entendidos, la Administración tiene la oportunidad de dotar a las Facultades de Farmacia de planes de estudio coherentes y armónicos con las distintas facetas de la actividad farmacéutica, ya sea en la vertiente estrictamente profesional, con su amplísimo número de opciones, como en la investigadora y docente. Tras varios años de formar parte de Comisiones para la elaboración de una propuesta de planes de estudio, no puedo ocultar que me invade un sentimiento de moderado escepticismo en cuanto a lo acertado de las resoluciones que se adopten, aunque ello no empaña la esperanza de que el buen hacer, y contrastada vocación de los docentes, subsane las deficiencias que pueda presentar el Plan de Estudios que se apruebe.

La posología y el establecimiento de pautas terapéuticas tiene su justa cabida en la Biofarmacia y Farmacocinética, cuya inclusión como materia troncal y obligatoria parece haber sido definitivamente sancionada. La misma suerte ha corrido la Farmacia Clínica, con lo que se suministran al futuro farmacéutico los elementos de juicio necesarios para una eficaz labor de farmacovigilancia que tan clara repercusión tiene en la detección y sistematización de reacciones adversas a los medicamentos (RAM).

En la monografía "**El Farmacéutico y la farmacovigilancia en el Hospital**", publicada por la Asociación Española de Farmacéuticos de Hospitales (47), se define la Reacción Adversa como "todo efecto no deseado y nocivo para el enfermo, que aparece tras la administración, con

fines diagnósticos, profilácticos o terapéuticos, de una forma de dosificación de un medicamento o una fórmula magistral, utilizada a dosis y en indicaciones correctas", y el Informe Técnico 425 de la OMS dice textualmente "Se entiende por vigilancia farmacológica (farmacovigilancia) la notificación, registro y evaluación sistemática de las reacciones adversas a los medicamentos, ya sean dispensados con o sin receta. La información sobre las reacciones adversas se puede obtener por notificación voluntaria"..."a centros previamente designados (vigilancia espontánea) o por aplicación de técnicas epidemiológicas que permitan obtener sistemáticamente datos de diversas fuentes (vigilancia intensiva)".

Es difícil conocer la incidencia real de las RAM, pero se admite con carácter general que pueden ser la causa inmediata del fallecimiento del 1% de los pacientes que las sufren, y explicar el 5-10% de los ingresos hospitalarios por urgencia no traumática. Quizá la dificultad en conocer la incidencia real de las reacciones adversas radique en la diversidad y disparidad de métodos utilizados para la detección y sistematización de observaciones, o de criterios seguidos para la imputación unívoca de la reacción al fármaco. El problema ha rebasado ampliamente el ámbito de lo individual, regional o nacional para convertirse en un problema de carácter universal. Por ello es preciso aunar esfuerzos y, en una acción combinada de todos los profesionales implicados en las ciencias de la salud, consolidar los canales de comunicación, enriquecer las bases de datos, favorecer la difusión de la casuística acumulada, y educar al usuario del medicamento para que sea consciente del riesgo que entraña la automedicación.

Ante la presencia de una reacción adversa, o manifestación yatrogénica, en un sector limitado de la población, habrá que pensar en la posibilidad de que esa manifestación, claramente detectada, tenga un condicionante genético, encuadrándose esta anomalía en el marco de la farmacogenética. En este caso, el efecto inesperado sólo lo sufre el sector de población carente o deficiente de un enzima concreto, o con cualquier anomalía funcional o estérica en un punto receptor o sus inmediaciones, etc. Recordemos que, ya en 1.971, La Du(48) escribía:"Diferencias en el metabolismo de medicamentos con determinante genético ampliamente extendidas, resultan enteramente inocuas para un individuo hasta que se le prescribe un medicamento particular.En esta situación, la ausencia o deficiencia de un enzima concreto, o anomalías en puntos receptores, pueden originar serios problemas."

Quizá sea conveniente una revisión de conceptos y definiciones para evitar la confusión que se puede derivar de aplicar la misma denominación a dos fenómenos diferentes, o designar un mismo fenómeno con dos denominaciones diferentes. Esta reflexión viene al hilo de la lectura de un artículo de **"introducción a la farmacoepidemiología"(49), a la que asigna los siguientes objetivos:**

"- Valorar cómo se emplea un fármaco (dosis, duración del tratamiento, terapia concomitante, etc.)
- Documentar los hábitos de prescripción de los médicos.
- Documentar la eficacia clínica.
- Estudiar la toxicidad crónica.
- Comunicar las reacciones adversas al sistema sanitario.
- Revisar las indicaciones.
- Observar las cartacterísticas demográficas de los pacientes: edad, sexo, estatus económico, etc.
- Análisis de costes.
- Recogida de datos para nuevos usos."

La lista de objetivos reseñada comprende todo lo que es el seguimiento del medicamento en el mercado, que coincide sensiblemente, salvo en el analisis de coste, con lo que es un ensayo clínico en fase IV. La diferencia con un fase IV radica en que no se opera con un protocolo previamente establecido y aprobado.

***

Aunque mi idea inicial era hacer una exposición cronológica que fuese reflejo de la génesis y desarrollo de un nuevo medicamento, la evolución natural de los estudios obligan a romper un esquema de semejante rigidez, porque con mucha frecuencia se simultanean, por distintos grupos, determinaciones o ensayos que podían ser secuenciales, y en otras ocasiones se conjuntan resultados y datos aparentemente heterogéneos, al menos en cuanto a metodología y equipos que los obtienen, para una interpretación más sólida y coherente del conjunto de observaciones experimentales.

Con este rápido recorrido por el Universo del Medicamento se ha pretendido poner de manifiesto el cómo y el por qué de la vinculación del Farmaceutico al Medicamento, ya que éste es la principal razón de ser de aquel, y, en la diversidad de facetas que ofrece su estrudio, radica la dificultad y el atractivo de este vasto pero subyugante mundo de las

Ciencias Farmacéuticas, a cuyo cultivo hemos dedicado nuestro esfuerzo gran parte de los aquí reunidos.

BIBLIOGRAFIA

(1) Cadórniga, R. Vigencia de la educación Farmacéutica. Posible proyección hacia el furuto. Discurso de ingreso en la Real Academia de Farmacia. (1.983).

(2) Thesing, J. Industrial Drug Research Today. MPS.Frankfurt. (1.984)

(3) Cadórniga, R. La obtención de un nuevo medicamento:Azar y perseverancia en la investigación farmacéutica. Discurso inaugural del curso académico 1.986-87. Universidad Complutense. Madrid.(1.986).

(4) Cadórniga, R. Conferencia pronunciada en la Academia de Ciencias Farmacéuticas de Chile. Santiago (1991).

(5) Spilker, B. y Cuatrecasas, P. Inside the Drug Industry.Prous Science Pub. Barcelona.(1.990).

(6) Aronson, J.K. Descripción de la digital y sus usos médicos 1.785-1.985. Trad. española de Petit Guinovart, D. Edica, Barcelona (1.988). pag. 252.

(7) Beckett,A.H., Casy, A.F. y Harper, N.J. J. Pharm. Pharmacol, 8, 874.(1.956).

(8) Undsel, E y Klotz, U. Pharmaceutical Research., 6, 1, 1 (1.989).

(9) Ley del Medicamento

(10) Lenz, W. Dtsch. Med. Wochenschr. ,86, 2.555.(1961).

(11) Taussig, H.B.. J.A.M.A., 180 - 1.106.(1.962)

(12) Zbinden, G. Science, 164 -643.(1.969).

(13) Zbinden, G. Swiss Pharma, 10 -16.(1.988).

(14) Alvarez, M. Ind. Farmaceut. Ene-Feb. , 95, (1.987).

(15) Giraldez, A.Discurso de Ingreso como Académico Correspondiente en la Real Academia de Farmacia. Madrid, (1.991)

(16) Symposium on "Animal Experimentation and Validated Alternatives: Problems and Perspectives". Buselas (1-988)

(17) Ecobichon, D.G. The basis of toxicity testing. CRC. Press. Boca Ratón (USA) (1992).

(18) Vicente Castell, J., Donato, T.,Larrauri, A.,Fabra, R., Trullenque, R. y Gomez-Lechón, M.J.Gastroenterologia y Hepatologia, 12, 483.(1.989).

(19) Comisión de Comunidades Europeas. European Laboratory Without Walls (ELWW). DG XII. Bruselas, (1990).

(20) Simón, P. "Towards Better Safety of Drug and Pharmaceutical Products.Ed. D.D.Breimer. Elsevier/North Holland, pag. 31 y ss.(1.980).

(21) Koppanyi, T..Clin. Pharmacol. Ther. 7, 250(1.966)

(22) Perlman, P.L. Drug Inform. Bull. 4, 7.(1970).

(23) Hucker, H.B. Ann. Rev. Pharmacol. 10, 99.(1.970).

(24) Willians, R.T. Some Factors Affecting Drug Toxicity. Excerpta medica. Ansterdan.(1.964)

(25) Peck, C.C. y 19 autores más. Conference Report: "Opportunities for integration of Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and toxicokinetics in Rational Drug Development. Pharmaceutical Research, 9. 6, 826.(1.992)

(26) Vallvé, C. Buena Práctica Clinica. Recomendaciones internacionales en investigación terapeútica.Ed. Farmaindustria. Serie Cientifica. Madrid.(1.990).

(27) Lehmann, F.P.A., Rodrigues de Miranda, J.F. y Ariens, E.J. Progress in Drug Research. 20, 101.(1.976).
(28) Meier, H.T., Dayer, P., Malé, P-J., Kronbach, T. y Meyer, U.A. Clin.Pharmacol. Ther. 38, 5, 485.(1.985).
(29) Eichelbaum, M, y Gross, A.S., en "New Trends in Pharmacokiinetics. Ed. por Rescigno, A y Thakur, A.K. Plenum Press. New York. USA. (1991)
(30) Observación personal
(31) Aguiar, A.J. y col. J. Pharm. Sci. 56,67, 847.-(1.967).
(32) Caporal-Gautier, J. y Novet, J.M. STP PARMA PTACT. 2, 4, 205 a 226 y 227 a 238.(1.992).
(33) Grimm, W, Thomae, K. Eur. J. Pharm. Biopharm., 38,(4), 154 (1992).
(34) Gross, F. "Decision Making in Drug Research". Raven Press. New York. (1983)
(35) Campagna, F.A., Currenton, G.,Mirigian, R.A. y Nelson, E. J. Pharm. Sci., 52, 605.(1.963).
(36) " La Industria Farmacéutica en cifras" Farmaindustria (1.990)
(37) Lebeau, P y Janot, M.M. Traité de Pharmacie Chimique. III, 1.662. Masson y Cie. Paris (1.955) 38.- Tyle, P. "Specialized Drug Delivery Systems" Marcel Dekker, Inc. New York. (USA) (1.990)
(39) Prescott, L.F. y Nimmo, W.S. "Novel Drug Delivery" John Wiley & Sons., Chichester (UK) (1989)
(40) Perachia, M.T., Colombo, P.,Castellani, P.L. Negro, S y Cadórniga, R.,Boll. Chim. Farm. 4, 144,(1.992)
(41) Jonkman, J.H.G., Clin. Pharmacokin. 16, 162, (1.989)
(42) Breimer, D.D., en (39), cap. 32, pag. 353
(43) Hirai, S., Yashiki, T. y Mima, H., International J. of Pharm. 9, 173, (1.981)
(44) Anónimo. "Encapsulation news". Southwest research Institute. Vol.1, num. 3, 3rd Quarter (1.992).
(45) Cadórniga, R., Anal. Real Academia de Farmacia. En prensa.
(46) Europen Society of Clinical Pharmacy., Pharmacie Clinique. Strategies et Comunications. Techniques et Documentation. Lavoisier. Paris (1.990)
(47) A.E.F.H., El Farmacéutico y la Farmacovigilancia en el Hospital. Barcelona (1.984)
(48) La Du, B.N.,Hosp. Pract., 6, 97, (1.971)
(49) Pastó Cardona, L. Farmacia Hospitalaria. 15, 4, 195 (1.991)