

R.12763

T 968



UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
FACULTAD DE FARMACIA  
DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGIA FARMACEUTICA  
CATEDRA DE FARMACIA GALENICA

3

37

100 APR. 1998

*Stevakoff W*

**DESARROLLO Y EVALUACION DE  
DOS SISTEMAS DE LIBERACION CONTROLADA  
DE NALTREXONA**

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Josefa Alvarez'.

**Memoria presentada por Josefa Alvarez Fuentes  
para optar al grado de Doctor en Farmacia**

**Sevilla, Abril de 1998**



**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**  
**FACULTAD DE FARMACIA**  
**DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGIA FARMACEUTICA**  
**CATEDRA DE FARMACIA GALENICA**

MERCEDES FERNANDEZ AREVALO, Doctora en Farmacia, Profesora Titular de Tecnología Farmacéutica y Biofarmacia de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla y MARIA DE LOS ANGELES HOLGADO VILLAFUERTE, Doctora en Farmacia, Profesora Asociada de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla.

**CERTIFICAN:**

Que la memoria que se presenta para optar al grado de Doctor en Farmacia, realizada por la Licenciada en Farmacia D<sup>a</sup> Josefa Alvarez Fuentes, cuyo título es "*Desarrollo y evaluación de dos sistemas de liberación controlada de naltrexona*", ha sido realizada bajo la dirección de las que suscriben y reúne todos los requisitos necesarios para su juicio y calificación.

Para que conste, y a petición de la interesada, firmamos el presente en Sevilla, a tres de Abril de mil novecientos noventa y ocho.

***A JOSE MANUEL  
A MI FAMILIA***

***INDICE***

<b>1. INTRODUCCION</b> . . . . .	1
<b>1.1. FARMACOS OPIOIDES</b> . . . . .	3
<b>1.1.1. Aplicación terapéutica de los fármacos opioides</b> . . . . .	3
1.1.1.1. Antecedentes . . . . .	3
1.1.1.2. Receptores y péptidos opioides endógenos . . . . .	5
1.1.1.3. Clasificación de opioides . . . . .	7
1.1.1.4. Relación estructura-actividad de fármacos opioides . . . . .	8
<b>1.1.2. Tolerancia y farmacodependencia a opioides</b> . . . . .	10
1.1.2.1. Principios fundamentales de la farmacodependencia . . . . .	12
1.1.2.1.1. Dependencia psicológica . . . . .	13
1.1.2.1.2. Dependencia física o fisiológica . . . . .	13
1.1.2.1.3. Tolerancia . . . . .	14
1.1.2.2. Farmacodependencia a opioides . . . . .	15
1.1.2.2.1. Características clínicas . . . . .	15
1.1.2.2.2. Tratamiento de adictos a opioides . . . . .	18
<b>1.1.3. Aplicación terapéutica de los fármacos antagonistas opioides</b> . . . . .	20
1.1.3.1. Diagnóstico de la dependencia física a opioides . . . . .	20
1.1.3.2. Tratamiento de intoxicación aguda por sobredosis . . . . .	21
1.1.3.3. Tratamiento de adictos a opioides . . . . .	22
1.1.3.3.1. Fase de desintoxicación . . . . .	22
1.1.3.3.2. Tratamiento de apoyo a la deshabitación de adictos a opioides . . . . .	25
1.1.3.4. Naltrexona . . . . .	27
1.1.3.4.1. Generalidades . . . . .	27
1.1.3.4.2. Indicaciones de naltrexona . . . . .	29
1.1.3.4.3. Protocolo de instauración del tratamiento con naltrexona . . . . .	30
1.1.3.4.4. Inconvenientes del uso clínico de naltrexona . . . . .	33
<b>1.2. SISTEMAS DE LIBERACION CONTROLADA DE FARMACOS</b> . . . . .	35
1.2.1. Antecedentes . . . . .	35
1.2.2. Terminología empleada . . . . .	37
1.2.3. Ventajas e inconvenientes de los SLC . . . . .	38
1.2.4. Elección de fármacos a vehiculizar en un SLC . . . . .	40
1.2.5. Métodos de control de los niveles plasmáticos de fármacos . . . . .	44

1.2.5.1. Métodos biológicos . . . . .	44
1.2.5.2. Métodos químicos . . . . .	45
1.2.5.3. Métodos farmacotécnicos . . . . .	45
<b>1.3. SISTEMAS DE LIBERACION CONTROLADA DE NALTREXONA . . . . .</b>	<b>49</b>
1.3.1. <u>Complejos poliméricos de naltrexona</u> . . . . .	50
1.3.2. <u>Matrices inertes de clorhidrato de naltrexona</u> . . . . .	51
1.3.2.1. <b>Aplicación de la Teoría de la Percolación al                   estudio de sistemas matriciales inertes</b> . . . . .	<b>52</b>
<b>1.4. OBJETIVOS . . . . .</b>	<b>57</b>
<b>2. <u>MATERIAL Y METODOS</u></b>	
<b>2.1. MATERIALES . . . . .</b>	<b>61</b>
<b>2.2. METODOS . . . . .</b>	<b>64</b>
2.2.1. <u>Caracterización del clorhidrato de naltrexona</u> . . . . .	64
2.2.1.1. <b>Técnicas de cuantificación del clorhidrato de                   naltrexona</b> . . . . .	<b>64</b>
2.2.1.1.1. <i>Espectrofotometría UV</i> . . . . .	64
2.2.1.1.2. <i>Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)</i> . . . . .	65
2.2.1.1.3. <i>Conductivimetría</i> . . . . .	67
2.2.1.2. <b>Caracterización térmica del clorhidrato de                   naltrexona</b> . . . . .	<b>68</b>
2.2.1.2.1. <i>Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)</i> . . . . .	68
2.2.1.2.2. <i>Microscopía de Platina Caliente (HSM)</i> . . . . .	68
2.2.1.3. <b>Caracterización del clorhidrato de naltrexona                   en estado sólido</b> . . . . .	<b>69</b>
2.2.1.3.1. <i>Difracción de Rayos-X (XRD)</i> . . . . .	69
2.2.1.3.2. <i>Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)</i> . . . . .	69
2.2.1.4. <b>Estudio de solubilidad del clorhidrato de naltrexona</b> . . . . .	<b>70</b>
2.2.1.4.1. <i>Determinación de la solubilidad acuosa</i> . . . . .	71
2.2.1.4.2. <i>Influencia del pH sobre la solubilidad acuosa</i> . . . . .	71
2.2.1.4.3. <i>Influencia de la fuerza iónica sobre la solubilidad</i> . . . . .	72
2.2.2. <u>Complejos poliméricos naltrexona-Eudragit L</u> . . . . .	72
2.2.2.1. <b>Elaboración de los complejos poliméricos</b> . . . . .	<b>72</b>
2.2.2.2. <b>Caracterización de los complejos poliméricos</b> . . . . .	<b>73</b>
2.2.2.2.1. <i>Caracterización térmica</i> . . . . .	73

2.2.2.2.2. <i>Caracterización por Microscopía Electrónica de Barrido</i> . . . . .	74
2.2.2.2.3. <i>Caracterización química por técnicas espectroscópicas</i> . . . . .	74
2.2.2.2.4. <i>Determinación del rendimiento del proceso de complejación</i> . . . . .	74
2.2.2.2.5. <i>Caracterización biofarmacéutica</i> . . . . .	74
<b>2.2.3. <u>Matrices inertes de clorhidrato de naltrexona</u></b> . . . . .	77
2.2.3.1. <b>Elaboración de los sistemas matriciales inertes</b> . . .	77
2.2.3.2. <b>Caracterización de los sistemas matriciales inertes</b> . . . . .	77
2.2.3.2.1. <i>Caracterización galénica</i> . . . . .	77
2.2.3.2.2. <i>Caracterización por Microscopía Electrónica de Barrido</i> . . . . .	78
2.2.3.2.3. <i>Caracterización biofarmacéutica</i> . . . . .	78
<b>2.2.4. <u>Estudio in vivo del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L</u></b> . . . . .	79
2.2.4.1. <b>Animales</b> . . . . .	79
2.2.4.2. <b>Modelo experimental de dolor</b> . . . . .	80
2.2.4.3. <b>Procedimiento experimental</b> . . . . .	80
2.2.4.3.1. <i>Ensayos preliminares con clorhidrato de morfina</i> . . . . .	80
2.2.4.3.2. <i>Evaluación de la actividad antagonista del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L</i> . . . . .	82
2.2.4.3.3. <i>Estudio de la inhibición de la actividad analgésica inducida por morfina tras la administración en dosis única del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L</i> . . . . .	83
2.2.4.3.4. <i>Estudio de la inhibición de la actividad analgésica inducida por morfina tras la administración del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L en dosis repetidas</i> . . . . .	84

### **3. RESULTADOS Y DISCUSION**

<b>3.1. CARACTERIZACION DEL CLORHIDRATO DE NALTREXONA</b> . . . . .	87
<b>3.1.1. <u>Técnicas de cuantificación</u></b> . . . . .	87
3.1.1.1. <b>Espectrofotometría UV</b> . . . . .	87
3.1.1.2. <b>Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)</b> . . . . .	89
3.1.1.3. <b>Conductivimetría</b> . . . . .	92

<b>3.1.2. Caracterización térmica</b> . . . . .	95
<b>3.1.2.1. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)</b> . . . . .	95
3.1.2.1.1. <i>DSC del clorhidrato de naltrexona</i> . . . . .	95
3.1.2.1.2. <i>Estudio de higroscopicidad del clorhidrato de naltrexona</i> . . . . .	96
3.1.2.1.3. <i>Estudio de compatibilidad</i> . . . . .	103
<b>3.1.2.2. Microscopía de platina caliente (HSM)</b> . . . . .	108
<b>3.1.3. Caracterización del clorhidrato de naltrexona en estado sólido</b> . . . . .	109
<b>3.1.4. Estudio de solubilidad del clorhidrato de naltrexona</b> . . . . .	110
<b>3.1.4.1. Cálculo experimental de la solubilidad acuosa del clorhidrato de naltrexona</b> . . . . .	110
<b>3.1.4.2. Influencia del pH sobre la solubilidad acuosa del clorhidrato de naltrexona</b> . . . . .	110
<b>3.1.4.3. Influencia de la fuerza iónica sobre la solubilidad acuosa del clorhidrato de naltrexona</b> . . . . .	111
<b>3.2. CARACTERIZACION DEL COMPLEJO POLIMERICO NALTREXONA-EUDRAGIT L</b> . . . . .	116
<b>3.2.1. Caracterización térmica del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L</b> . . . . .	116
<b>3.2.2. Caracterización del complejo naltrexona-Eudragit L en estado sólido: Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)</b> . . . . .	118
<b>3.2.3. Caracterización química del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L por técnicas espectroscópicas</b> . . . . .	119
<b>3.2.4. Determinación del rendimiento del proceso de complejación</b> . . . . .	125
<b>3.2.5. Caracterización biofarmacéutica de los complejos poliméricoa naltrexona-Eudragit L</b> . . . . .	130
<b>3.3. CARACTERIZACION DE LAS MATRICES INERTES DE CLORHIDRATO DE NALTREXONA</b> . . . . .	139
<b>3.3.1. Caracterización galénica</b> . . . . .	140
<b>3.3.2. Caracterización biofarmacéutica de las matrices inertes</b> . . . . .	147
<b>3.4. ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS DOS SLC DESARROLLADOS PARA EL CLORHIDRATO DE NALTREXONA</b> . . . . .	153



<b>3.5. ESTUDIO IN VIVO DEL COMPLEJO POLIMERICO NALTREXONA-EUDRAGIT L MEDIANTE MODELO EXPERIMENTAL EN RATON . . . . .</b>	<b>156</b>
<b>3.5.1. <u>Ensayos preliminares con clorhidrato de morfina</u> . . .</b>	<b>156</b>
<b>3.5.1.1. Determinación del intervalo de tiempo al que se           obtiene un efecto analgésico máximo tras la           administración de clorhidrato de morfina . . . . .</b>	<b>156</b>
<b>3.5.1.2. Determinación de la dosis de clorhidrato de morfina           que produce un adecuado nivel de analgesia . . .</b>	<b>158</b>
<b>3.5.1.3. Selección de la vía de administración que proporciona           un efecto analgésico más reproducible . . . . .</b>	<b>161</b>
<b>3.5.2. <u>Evaluación de la actividad antagonista del complejo de           liberación controlada naltrexona-Eudragit L . . . . .</u></b>	<b>162</b>
<b>3.5.3. <u>Estudio de la inhibición de la actividad analgésica           inducida por morfina tras la administración en dosis           única del complejo naltrexona-Eudragit L a distintos           tiempos . . . . .</u></b>	<b>165</b>
<b>3.5.4. <u>Estudio de la inhibición de la actividad analgésica           inducida por morfina tras la administración del           complejo naltrexona-Eudragit L en dosis repetidas .</u></b>	<b>170</b>
<b>4. <u>CONCLUSIONES</u> . . . . .</b>	<b>177</b>
<b>5. <u>BIBLIOGRAFIA</u> . . . . .</b>	<b>183</b>

## ***INTRODUCCIÓN***

## 1.1. FARMACOS OPIOIDES

### 1.1.1. Aplicación terapéutica de los fármacos opioides

#### 1.1.1.1. Antecedentes

Los opioides han desarrollado un papel de indudable importancia en la historia de la Terapéutica. Un importante avance en la lucha contra el dolor, lucha en la que el hombre ha puesto siempre el máximo empeño, fue el aislamiento de la morfina, primer analgésico opioide empleado en la terapéutica del dolor debido a su gran capacidad para combatir el dolor de moderado a intenso (Clark y cols., 1993). En 1982, la OMS estableció una escalera de tres peldaños en la que se relaciona el tipo de dolor y el tratamiento más adecuado para aliviarlo (figura 1). Así el facultativo posee una herramienta útil para establecer un protocolo de actuación.

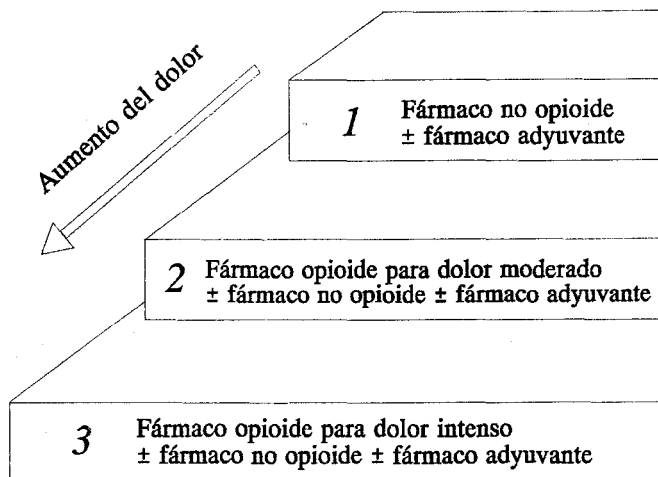


Figura 1.- Escalera terapéutica para el alivio del dolor

A partir de ese momento se desarrollaron una serie de fármacos analgésicos, tanto naturales como sintéticos, con actividad farmacológica tipo morfina, denominadas sustancias opioides (Clark y cols., 1993) por poseer afinidad selectiva por los receptores opioides y, en consecuencia, capaces de inducir analgesia de intensidad elevada (Alvarez-Fuentes y cols.,

1996a).

Éste no es el único efecto de los fármacos opioides. Además, son sustancias psicoactivas capaces de modificar la consciencia o la percepción de la realidad en un sentido o con una tonalidad determinada (Cami y Ayesta, 1997). Son precisamente estos efectos los responsables del abuso y la consiguiente adicción a este tipo de sustancias. Por ello, con objeto de reducir estos efectos e incluso anularlos, si fuera posible, se sintetizaron una serie de compuestos que, aún siendo poderosos analgésicos, quedarán libres del potencial para inducir la adicción (Reisine y Pasternak, 1996).

Estos primeros intentos no tuvieron éxito, ya que los nuevos compuestos tampoco se presentaban totalmente libres de efectos eufóricos y resultaron, incluso, ser objeto de aplicaciones no terapéuticas (Clark y cols., 1993). Uno de estos derivados es la heroína o diacetilmorfina, cuyo uso aumentó considerablemente hacia el final de los años 60. La heroína se hidroliza rápidamente en el organismo convirtiéndose en morfina. Si la heroína se administra vía subcutánea, ni tan siquiera los consumidores más experimentados pueden distinguirla de la morfina, pero si se emplea la vía intravenosa, el individuo logra los efectos ansiados en un período de tiempo más corto (Clark y cols., 1993; O'Brien, 1996), al tratarse de una molécula más liposoluble capaz de atravesar más rápidamente la barrera hematoencefálica.

Se ha calculado que menos del 10 % de la producción mundial de opio anual se emplea con fines estrictamente terapéuticos (Litter, 1988).

En cuanto a la terminología empleada en este campo, es necesario indicar que, en principio, se empleó el término *opiáceo* para designar todos aquellos compuestos derivados del opio, tanto naturales como semisintéticos; más tarde, cuando comenzó el desarrollo de sustancias totalmente sintéticas, se acuñó el término *opioides* para referirse, de forma genérica, a todos los compuestos, naturales y sintéticos, con acciones similares a la morfina (Reisine y Pasternak, 1996).

### 1.1.1.2. Receptores y péptidos opioides endógenos

El descubrimiento por PERT y SNYDER de determinados receptores en el tejido cerebral susceptibles de ser ocupados estereoselectivamente por los opioides, hizo pensar en la existencia de sustancias endógenas afines a estos receptores (Hernández y cols., 1985). Éstas fueron descubiertas por HUGHES y cols. (Fuentes y cols., 1994): se trata de una serie de péptidos opioides endógenos que son movilizados por el S.N.C. cuando se presenta cualquier situación dolorosa, actuando de forma estereoselectiva sobre los mismos receptores opioides que la morfina. Es por ello por lo que han llegado a ser considerados verdaderos analgésicos endógenos.

Los hechos que sirvieron de base a la teoría receptorial de los fármacos opioides fueron (Muñoz, 1993):

- \* La semejanza estructural de todas las sustancias de actividad analgésica.
- \* La posibilidad de obtener sustancias sintéticas que, como la etorfina, ejercen importantes acciones a dosis muy bajas, sirvió de base para pensar que este tipo de compuestos podrían actuar en lugares específicos.
- \* La existencia de dos isómeros ópticos para la mayoría de los fármacos opioides, de los cuales sólo la forma levo resulta tener actividad analgésica, apoya la teoría de un lugar específico estereoisómero.
- \* Si se realizan ligeras modificaciones en la molécula del agonista opioide, se puede conseguir una molécula antagonista.

Se reconocen tres categorías principales de receptores opioides en el S.N.C.:  $\mu$ ,  $\delta$  y  $\kappa$  (Folkers y Michael, 1994; Reisine y Pasternak, 1996; Flórez, 1997). La activación o inactivación de estos receptores estereoespecíficos se relaciona con diversas actividades farmacológicas según

qué opioide interaccione con qué tipo de receptor (Reisine y Pasternak, 1996). Así, la analgesia inducida por opioides se asocia, principalmente, a la activación de los receptores  $\mu$ , interviniendo en menor grado la activación de los receptores  $\kappa$ . Consecuencias también de la activación del receptor  $\mu$  son la depresión respiratoria, miosis, reducción de la motilidad intestinal y euforia. Por otro lado, los agonistas  $\kappa$  específicos, como los benzomorfanos relacionados con las pentazocinas, producen efectos psicotomiméticos disfóricos perturbadores. Se trata de fármacos que se fijan en el encéfalo al denominado sitio  $\sigma$ , posible mediador de los efectos psicotomiméticos no sensibles a naloxona de estos opioides (Reisine y Pasternak, 1996).

Además de agonistas para estos receptores, también hay sustancias antagonistas, como son los fármacos con afinidad hacia todos los receptores opioides pero que no muestran actividad intrínseca alguna en su interacción. Por ello, si se administran solos, carecen totalmente de acción agonista. No obstante, existe un orden de afinidad en cuanto a receptores ( $\mu > \delta > \kappa > \text{sitio } \sigma$ ) y también respecto al órgano donde se ubique ese receptor (Flórez, 1997). En virtud de esta propiedad, los antagonistas puros son capaces de revertir rápidamente los efectos de los agonistas opioides (Clark y cols., 1993).

Las propiedades farmacológicas de los opioides endógenos son similares a las de los exógenos. Datos recientes sugieren que estos opioides endógenos intervienen en los mecanismos básicos de la analgesia inducida por opioides exógenos, así como de su dependencia física y de su tolerancia (Clark y cols., 1993). Asimismo, la existencia de estas sustancias puede explicar la analgesia producida por técnicas como la acupuntura o la estimulación eléctrica de algunas áreas cerebrales (Clark y cols., 1993; Flórez, 1997).

En condiciones fisiológicas los péptidos opioides endógenos potencian e inhiben a la vez la percepción del dolor. Respecto a la acción de los antagonistas en este sentido, éstos teóricamente interfieren con el mismo

grado ambos procesos, por lo que no debe producirse un cambio neto apreciable (Reisine y Pasternak, 1996). No obstante, cuando los opioides endógenos son activados por el dolor, el estrés o el ejercicio, los efectos de los antagonistas sí se hacen detectables (Clark y cols., 1993; Flórez, 1997). Así, se ha comprobado, por ejemplo, que en los individuos que tienen umbrales altos del dolor, los antagonistas opioides disminuyen la tolerancia al dolor, antagonizan los "efectos" analgésicos de los placebos y la analgesia producida por la acupuntura (Reisine y Pasternak, 1996).

Por otro lado, se piensa que los antagonistas opioides a dosis altas y en ausencia de la acción de un agonista pueden causar alteraciones fisiológicas (usualmente sólo efectos sutiles y limitados) por acción a nivel de péptidos opioides endógenos (Reisine y Pasternak, 1996). No obstante, es importante considerar que no está suficientemente demostrado que estos efectos se deban, efectivamente, a una modificación en los niveles de los opioides endógenos (Clark y cols., 1993). Aún no ha sido establecida la utilidad potencial de los antagonistas en el tratamiento de accidentes cerebrovasculares, traumatismos de médula espinal o encéfalo y de otros trastornos que pueden implicar la movilización de los péptidos opioides endógenos (Reisine y Pasternak, 1996).

Hasta el momento se han identificado tres familias de péptidos opioides endógenos: encefalinas, endorfinas y dinorfinas. Se sabe que las diversas sustancias agrupadas en estas familias presentan un amplio espectro de afinidades para los distintos tipos de receptores opioides ( $\mu$ ,  $\delta$  y  $\kappa$ ); no obstante, esta propiedad se difumina si se eleva la concentración de los péptidos endógenos (Clark y cols., 1993; Reisine y Pasternak, 1996).

### **1.1.1.3. Clasificación de opioides**

Con objeto de reducir la posibilidad de que se desarrollen farmacodependencias, la investigación en el campo de los fármacos analgésicos opioides se ha centrado en diversas modificaciones de la estructura morfinica.

Estas modificaciones han originado diferentes familias de opioides, entre las que se encuentran (Reisine y Pasternak, 1996; Santeularia y cols., 1996; Flórez, 1997):

- A. Agonistas puros. Se trata de morfina y de todos aquellos opioides que imitan mejor las acciones de ésta, tanto agudas como crónicas, induciendo un cuadro de dependencia similar: metadona, heroína, etilmorfina, oximorfona, oxicodona, etorfina y meperidina.
- B. Agonistas/antagonistas mixtos. Se comportan como agonistas a nivel de un receptor distinto al específico para la morfina. Frente al receptor morfínico  $\mu$  actúan como antagonistas competitivos y, en consecuencia, el cuadro de dependencia es distinto al de los morfínicos, presentando un síndrome de abstinencia de instauración más lenta y de síntomas menos intensos (Cami y Ayesta, 1997). Se incluyen en este grupo fármacos como nalorfina, nalbufina, pentazocina y ketociclazocina.
- C. Agonistas parciales. Son fármacos que actúan sobre el receptor opioide específico de la morfina pero con menor actividad intrínseca; por lo tanto, en presencia de morfina, pueden comportarse como antagonistas: buprenorfina y profadol.
- D. Antagonistas puros. Derivados estructurales que interaccionan a nivel de los receptores opioides con actividad intrínseca nula en todos ellos: naloxona y naltrexona.

#### **1.1.1.4. Relación estructura-actividad de fármacos opioides**

Un opioide determinado puede interaccionar con receptores distintos actuando en cada uno de ellos como un agonista puro, un agonista parcial o un antagonista (Clark y cols., 1993).

Respecto a la actividad analgésica narcótica, a partir del estudio de la morfina (agonista puro preferencialmente de los receptores opioides tipo



$\mu$ ) y de otros compuestos opioides, se descubrió que son necesarias ciertas condiciones estructurales comunes para que exista actividad (Clark y cols., 1993) (figura 2).

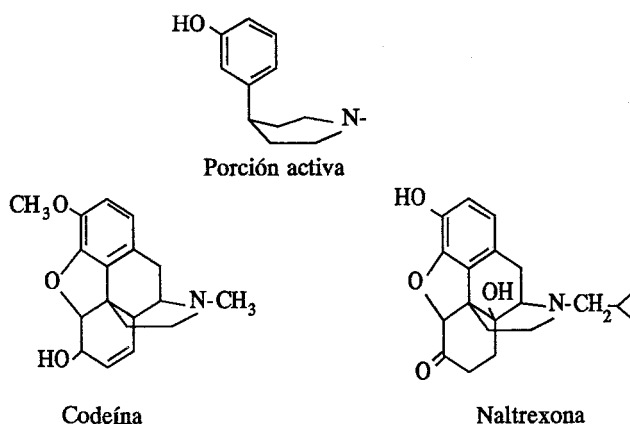


Figura 2.- Estructura activa para fármacos opioides

En cualquier caso, una modificación estructural altera la afinidad por los receptores opioides pudiendo hacer que la molécula resultante pierda su actividad analgésica o incluso actúe como un antagonista opioide (Reisine y Pasternak, 1996). Se trata, concretamente, del anillo piperidínico y del átomo de oxígeno del grupo fenólico (figura 2). Por esta razón, la codeína, al tener metilado el grupo hidroxilo, presenta una potencia analgésica mucho menor. Por otro lado, el cambio estructural que convierte a un agonista opioide en un antagonista, parece depender de la sustitución del metilo del nitrógeno piperidínico (Clark y cols., 1993). Se ha comprobado que esto ocurre cuando el sustituyente es una cadena no ramificada de tres carbonos (-alilo, -propilo o -isopropilo). Sin embargo, si se trata de ciertos sustituyentes como -etilo o -butilo, éstos carecen de actividad agonista significativa sin poseer, tampoco, actividad antagonista. Se confirma que a medida que aumenta la longitud de la cadena se restablece la actividad agonista (Clark y cols., 1993). Como consecuencia de los estudios de la

relación estructura-actividad sobre una gran variedad de narcóticos, se ha planteado la siguiente hipótesis sobre la unión opioide-receptor: el receptor presentaría el aspecto de una bolsa en forma de T (figura 3) a la que se adaptaría la molécula del fármaco narcótico. Así, el nitrógeno catiónico se puede unir a un lugar aniónico del receptor y el átomo de oxígeno del grupo fenólico se uniría, probablemente por enlace tipo puente de hidrógeno, al grupo amino del receptor. De esta forma, el resto de la molécula entraría en contacto con zonas hidrófobas de la superficie del receptor, fijándose a éste mediante fuerzas de van der Waals (Clark y cols., 1993).

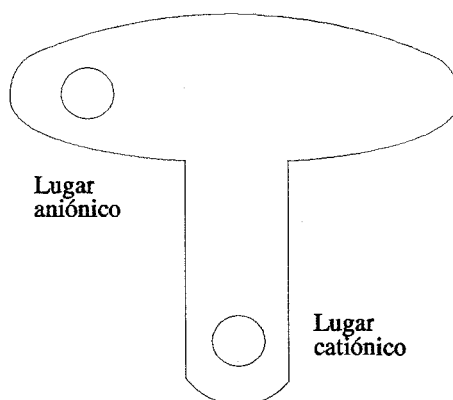


Figura 3.- Esquema de un receptor opioide

En general, entre las propiedades de los opioides que pueden verse alteradas por una modificación estructural, se encuentran su afinidad por los distintos receptores opioides, la actividad intrínseca que presenten ante ellos, su liposolubilidad o la resistencia a la degradación metabólica (Reisine y Pasternak, 1996).

### **1.1.2. Tolerancia y farmacodependencia a opioides**

Los primeros efectos de la administración de un opioide son placenteros, con una gran sensación de euforia y bienestar; es ésta la

característica que origina en el individuo consumidor de opioides el desarrollo de una fuerte dependencia psicológica que le obliga a buscar con anhelo la siguiente dosis, intentando disfrutar de nuevo de sus beneficios. De esta forma se instaura un ciclo cuyo resultado final es el uso repetido e indiscriminado del opioide. Debido a que con el tiempo se desarrolla tolerancia a estos efectos, por adaptación de las células del S.N.C. a la acción del opioide (O'Brien, 1996), el individuo precisará aumentar la dosis para conseguir un efecto de igual intensidad. Éste es el origen de la tolerancia y la dependencia física responsable de la aparición del síndrome de abstinencia cuando se interrumpe el consumo de la droga (Clark y cols., 1993; Cami y Ayesta, 1997).

Para la OMS "droga" es "toda aquella sustancia que introducida en el organismo humano vivo puede modificar una o varias de sus funciones y es susceptible de crear dependencia y que puede crear a la vez tolerancia" (Escribano, 1993).

La farmacodependencia se caracteriza por presentar una serie de reacciones relacionadas con el comportamiento entre las que se encuentra la compulsión a seguir tomando el fármaco de forma continua y periódica para experimentar, así, sus efectos psicológicos y, en ocasiones, evitar el malestar orgánico producido por su privación (Cami y Ayesta, 1997).

Conviene destacar que la mayoría de los opioides, con la excepción de los antagonistas puros cuya actividad sobre el receptor es nula, llegan a inducir farmacodependencia; no obstante, si se trata de un agonista puro, la dependencia se instaura más rápidamente y de forma más intensa que si es debida a la acción de un agonista/antagonista (Cami y Ayesta, 1997).

Por otro lado, no todas las acciones propias de los agonistas opioides se ven afectadas por el mismo grado de tolerancia. De hecho, existen consumidores que han desarrollado una tolerancia importante a la acción depresora respiratoria y, sin embargo, siguen presentando cierto grado de miosis y se quejan de estreñimiento. La tolerancia a este tipo de agentes se

caracteriza por una duración menor y una disminución en la intensidad de las acciones analgésicas, euforigénicas, sedantes y depresoras del S.N.C. así como por un aumento pronunciado de la dosis letal media (O'Brien, 1996).

Todas estas circunstancias han provocado el hecho de que los opioides, además de constituir un arsenal indispensable en Terapéutica, se conviertan en un grave problema tanto social como económico (Vasko, 1993).

### **1.1.2.1. Principios fundamentales de la farmacodependencia**

Como se indicó anteriormente, la farmacodependencia, o dependencia a fármacos, es un estado psíquico y, a veces, físico, causado por la interacción entre un organismo vivo y un fármaco (Cami y Ayesta, 1997). Se puede definir farmacodependencia como un síndrome en el que se da mayor prioridad al consumo de la droga que a otras conductas que alguna vez tuvieron más valor, como pueden ser el trabajo, las amistades o incluso la propia familia (O'Brien, 1996).

En la base de toda farmacodependencia se encuentran, por tanto, dos constantes (O'Brien, 1996; Cami y Ayesta, 1997):

- I. La existencia de un producto psicótico que provoca una alteración del humor o una modificación de la percepción de la realidad, al actuar sobre el cerebro.
- II. La instauración de un condicionamiento de tipo operante en el que el fármaco actúa de elemento reforzador; la ingestión del fármaco psicoactivo se ve reforzada por el efecto de éste sobre el individuo.

Sin olvidar la anterior premisa, no se puede despreciar, por supuesto, el papel que desempeña el refuerzo social (situación en que la droga origina una posición social especial, el ingreso en un grupo de individuos determinados o la aprobación de amigos). En ocasiones, determinados refuerzos sociales motivan y mantiene la conducta inicial de consumo de

droga hasta que el propio fármaco pasa a ser el elemento reforzador debido a la inducción de sus efectos primarios placenteros (refuerzo positivo), a que el mismo consumo de la droga acabe con determinadas situaciones desagradables (refuerzo negativo), o incluso a que el individuo adquiriera tolerancia a algunos efectos adversos iniciales de la droga (náuseas y vómitos en el caso de la heroína) (O'Brien, 1996).

Además, en cualquier farmacodependencia existen tres procesos que participan en grado variable (Cami y Ayesta, 1997) y que son:

#### 1.1.2.1.1. *Dependencia psicológica*

Definida por la intensidad y el grado con que se instaura y perpetúa el condicionamiento operante. Ésta depende tanto de factores del sujeto (personalidad, ambiente, educación o motivación) como de determinadas características del fármaco (propiedades intrínsecas, forma y vía de administración o efectos inducidos).

#### 1.1.2.1.2. *Dependencia física o fisiológica*

Es el estado que adquiere el organismo tras el contacto repetido con un fármaco, debido a lo cual aparecen una serie de síntomas en el momento en que el fármaco deja de actuar sobre el sujeto. Este conjunto de síntomas se denomina *Síndrome de abstinencia*: se trata de signos y síntomas opuestos a los que caracterizan a la acción aguda del fármaco, y su aparición es la que define la existencia de la dependencia física.

Se considera la dependencia física, pues, como un fenómeno de hipersensibilidad que se inicia, a modo de factor compensador, en las estructuras nerviosas, centrales y periféricas cuando el fármaco actúa sobre éstas, y se manifiesta cuando el fármaco reduce su actividad (O'Brien, 1996). La intensidad de los síntomas instaurados en la dependencia física depende de la frecuencia de administración del fármaco, su dosis y pureza, la vía de administración, la potencia de su acción farmacológica, la rapidez

con la que el fármaco actúa sobre los órganos diana, el tiempo total de su acción y la rapidez con la que el fármaco deja de actuar, el consumo de otras drogas, la antigüedad de la dependencia, el intervalo de tiempo transcurrido entre la última administración y la atención sanitaria o la existencia de una patología orgánica asociada (Muñoz, 1993; Cami y Ayesta, 1997).

Cuando la administración de la droga alivia el malestar que caracteriza el síndrome de abstinencia, la conducta de consumo del fármaco recibe un refuerzo adicional (O'Brien, 1996); en aquellos casos en que, además, induce euforia de forma simultánea al alivio del malestar, surge un refuerzo de particular poder.

#### 1.1.2.1.3. *Tolerancia*

Fenómeno por el que se disminuye la intensidad de la respuesta a un fármaco, aún repitiendo la misma dosis, y que hace preciso, por tanto, aumentar la cantidad administrada para conseguir un efecto de igual intensidad al inicial. Es una manifestación biológica enmarcada en los procesos generales de adaptación celular frente a estímulos de naturaleza diversa.

Mientras que la dependencia psicológica es la base sustancial de la particular forma de conducta que implica la farmacodependencia, la dependencia física y la tolerancia no son indispensables en el desarrollo de la farmacodependencia (Cami y Ayesta, 1997).

Desde hace algún tiempo, el conocimiento sobre las farmacodependencias sugiere la cuestión, largamente debatida, sobre la existencia de personalidades concretas propensas a desarrollar farmacodependencia. La idea de correlación personalidad - dependencia se refuerza al constatar que los fármacos adictógenos son, en buena parte, productos exógenos que imitan la actividad de sistemas cerebrales endógenos. Cabría preguntarse si la tendencia a usar y abusar de un

determinado grupo de fármacos no podría ser consecuencia de la tendencia a equilibrar el déficit inicial en la actividad del sistema endógeno correlativo a ese fármaco (Cami y Ayesta, 1997).

### 1.1.2.2. Farmacodependencia a opioides

#### 1.1.2.2.1. Características clínicas

Según ha quedado indicado anteriormente, la mayoría de los opioides llegan a producir farmacodependencia con características diferentes según sea la naturaleza del agente, agonista puro o agonista/antagonista. Aún dentro del primer grupo, el comienzo y la duración del síndrome de abstinencia que se origina al suprimir el opioide dependen del perfil farmacocinético del producto en cuestión. Así, el síndrome de abstinencia motivado por la supresión brusca de un opioide de acción prolongada se instaura más tarde con síntomas menos intensos que el asociado a uno de semivida biológica de eliminación breve (Clark y cols., 1993; Cami y Ayesta, 1997).

El síndrome de abstinencia a opioides cursa con un componente subjetivo caracterizado por ansiedad, angustia e irritabilidad y con un componente objetivo caracterizado por una serie de signos y síntomas desagradables (vómitos, diarreas, hipertermia, temblores o escalofríos) de instauración progresiva (Muñoz, 1993).

En todos los casos aparece la triada de *tolerancia*, *dependencia psicológica* y *dependencia física*. La posibilidad de que se desarrolle tolerancia y dependencia física cruzada sólo existe entre los agentes opioides que actúan a nivel del mismo tipo de receptor; si se trata de distintos receptores opioides se habla de tolerancia o dependencia cruzada parcial (O'Brien, 1996). Por ello, si durante el período de supresión de un opioide se llega a administrar cualquier otro que actúe sobre el mismo receptor, se acabará inmediatamente con la mayor parte de los síntomas de abstinencia (Vasko, 1993). Por otro lado, la dependencia inducida por un agonista  $\delta$

específico puede ser suprimida totalmente por un agente menos específico frente a ese receptor, como la morfina; sin embargo, la dependencia debida a morfina sólo se suprime parcialmente por un agonista  $\delta$  específico (O'Brien, 1996).

Los agonistas/antagonistas se consideran como un caso especial, ya que al tratarse de antagonistas  $\mu$  inducen síndrome de abstinencia si son administrados a personas dependientes de agonistas opioides puros (Cami y Ayesta, 1997).

En relación a la capacidad de los distintos opioides para inducir abuso, es importante tener en cuenta las siguientes consideraciones (Reisine y Pasternak, 1996):

- A. La capacidad del opioide para originar la dependencia física caracterizada por una abstinencia susceptible de causar suficiente malestar como para contraer el hábito de búsqueda de la droga.
- B. Su capacidad para suprimir los síntomas de abstinencia causados por la supresión de otro agente opioide.
- C. El grado con que el opioide induce efectos subjetivos de refuerzo (euforia) similares a los producidos por morfina u otros agonistas  $\mu$ .
- D. La intensidad de los cuadros de toxicidad que se puedan producir al aumentar la dosis por encima de los límites terapéuticos usuales.
- E. Las características físicas que permitan la posibilidad de abuso del opioide por vía parenteral.

El consumo ilícito de los distintos opioides, con la consiguiente dependencia, se instaura de múltiples maneras y por diversos motivos. Actualmente, y tras un considerable aumento en su consumo hacia finales de la década de los 60, predomina la dependencia a heroína iniciada con fines lúdicos, experimentales o de curiosidad (O'Brien, 1996). En ocasiones,



el individuo comienza por la administración vía inhalatoria nasal, pero pronto pasa a emplear la vía intravenosa (Cami y Ayesta, 1997). Su gran potencial de abuso hizo que en Estados Unidos se abandonara su uso clínico sólo 8 años después de su introducción en Terapéutica (Clark y cols., 1993), sobre todo si se tiene en cuenta que la heroína no presenta ninguna ventaja terapéutica sobre los otros opioides disponibles (Reisine y Pasternak, 1996).

En un plazo de 4 a 6 horas después de la última dosis parenteral de heroína, los consumidores físicamente dependientes se percatan de los primeros signos de amenaza patológica. A las 8 ó 12 horas se pueden observar las primeras manifestaciones indicadoras del síndrome de abstinencia (lagrimeo, rinorrea, bostezos y sudoración). Alrededor de 14 horas después de la última dosis, el adicto puede entrar en un sueño agitado del cual se despierta más inquieto y desdichado que antes. Si no se dispone de una nueva dosis, a partir de las 36 ó 48 horas los signos progresan y alcanzan su máxima intensidad. En esta última etapa aparecen, entre otros síntomas, midriasis, anorexia, piloerección cutánea, irritabilidad, insomnio y aumento en la frecuencia cardíaca y la presión arterial (Clark y cols., 1993; Vasko, 1993; O'Brien, 1996). Si durante este período de supresión se administra cualquier agonista opioide se acabará inmediatamente con la mayoría de los síntomas de abstinencia (Vasko, 1993).

Sin un tratamiento adecuado, la mayor parte de estos síntomas desaparecen en 7 ó 10 días, pero se desconoce el tiempo necesario para que se restablezca totalmente el equilibrio fisiológico; de hecho, tras la superación del síndrome de abstinencia parece persistir cierta incapacidad para tolerar el estrés, una mala imagen de sí mismos y una excesiva preocupación por el bienestar propio. La descripción de estos estados alterados hace razonable pensar en su contribución a la tendencia a las recaídas de los consumidores compulsivos de opioides (O'Brien, 1996).

Por otro lado, la intensidad de los síntomas de supresión parece aumentar con la dosis de heroína ingerida, aunque también es lógico pensar

que, como en el caso de morfina, existe un techo a partir del cual la manifestación de la dependencia es máxima aunque se incremente la dosis de narcótico (Vasko, 1993). En el sentido opuesto, se considera que 24 mg de heroína al día, consumidos durante pocas semanas, es la cantidad mínima necesaria para producir dependencia física. De hecho, existen heroinómanos que tras la supresión de la droga no presentan signos ni síntomas importantes de abstinencia. Esta situación se explica debido al costo cada vez más elevado de la heroína, que les ha obligado a mantener su adicción con menos de 24 mg al día. Esta adicción, caracterizada por presentar tan sólo dependencia psicológica, se ha denominado *pseudoheroinismo* (Vasko, 1993).

#### 1.1.2.2.2. *Tratamiento de adictos a opioides*

El tratamiento terapéutico de personas adictas a opioides exige, como primer paso, la desintoxicación total del individuo. Los programas de desintoxicación que actualmente se utilizan deben considerar, para garantizar el éxito terapéutico, la persistencia de la dependencia psicológica del adicto hacia la droga tras la fase de desintoxicación. Esta situación es responsable, en gran parte, de las frecuentes recaídas que supone el fracaso del programa instaurado. Por ello, el planteamiento terapéutico final debe buscar el evitar estas recaídas impulsivas que hacen que los toxicómanos, previamente desintoxicados, reincidan en el hábito de la adicción. Es en este último punto, entre otros, donde desarrollan su función los antagonistas opioides.

Cuando existe una situación de drogodependencia a opioides, se admite que tras la fase de desintoxicación física persiste la dependencia psicológica del adicto hacia la droga. En general, se reconoce que a partir de este momento la tarea más ardua es aquella que tiene como fin el ayudar al paciente a evitar la recaída tras un período de supresión (O'Brien, 1996). Se sabe que las recaídas impulsivas de los toxicómanos previamente desintoxicados y en condiciones de abstinencia desencadenan el que se restablezcan los antiguos patrones de conducta, por lo que el individuo se

precipita hacia un uso cada vez más compulsivo de la droga (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987).

En la comunidad sanitaria existe un acuerdo sobre la necesidad de establecer un tratamiento para paliar las consecuencias adversas del consumo de drogas y para aquellos toxicómanos que buscan ayuda voluntariamente (O'Brien, 1996). Durante muchos años los esfuerzos terapéuticos se encaminaron hacia la búsqueda de un tratamiento que evitara las frecuentes recaídas en adictos a opioides que, tras una fase de desintoxicación, desean sinceramente mantenerse "limpios de droga" (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987).

En 1949, WIKLER sugirió la posibilidad de acabar con el deseo por los opioides si la euforia que éstos inducen fuese bloqueada de algún modo (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987). En este sentido, se hace necesario considerar la condición de los antagonistas opioides como fármacos que, a pesar de su alta afinidad hacia los receptores opioides, no desencadenan actividad intrínseca alguna tras su interacción (Cami y Ayesta, 1997).

La historia de los antagonistas opioides comienza en 1915 con la síntesis de N-alilnorcodeína. El primero en aplicarse en clínica fue ciclazocina, antagonista opioide puro de larga duración que dejó pronto de utilizarse debido a que provocaba fenómenos disfóricos con marcada depresión (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987).

En la actualidad, los antagonistas opioides puros más empleados en clínica son naloxona (sintetizada por LOWENSTEIN y FISHMANY en 1960) y naltrexona (sintetizada por BLUMBERG y DAYTON en 1965) (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987). Cada uno de ellos tiene una indicación terapéutica concreta que viene definida, en gran medida, por su comportamiento fisicoquímico y farmacocinético (Flórez, 1997). En función de estas propiedades, y por sus propios mecanismos de acción, son útiles para el diagnóstico de la dependencia física a opioides y para los tratamientos de sobredosis y de apoyo en la deshabituación de adictos a opioides (Vasko,

1993; O'Brien, 1996; Reisine y Pasternak, 1996).

### **1.1.3. Aplicación terapéutica de los fármacos antagonistas opioides**

#### **1.1.3.1. Diagnóstico de la dependencia física a opioides**

La administración de un antagonista a individuos dependientes de opioides desencadena un síndrome de abstinencia agudo al desplazar al agonista opioide de su unión con el receptor, actuando de forma análoga a la supresión total del opioide (Flórez, 1997). La máxima intensidad en los signos y síntomas de supresión se alcanza a los 30 ó 45 minutos tras la administración del antagonista opioide (O'Brien, 1996). La gravedad y duración del síndrome de abstinencia se relaciona con la dosis de antagonista y con el grado y tipo de dependencia (Reisine y Pasternak, 1996).

Aunque se trate de un antagonismo competitivo (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987), no siempre es posible anular el síndrome de abstinencia mediante nuevas dosis del agonista opioide utilizado con anterioridad; es necesario, además, que se elimine parte del antagonista o que la dosis de agonista sea lo suficientemente grande como para desplazar al antagonista del receptor. En este caso, el paciente sufrirá una importante sobredosificación que se reflejará en una gravísima depresión respiratoria (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987; O'Brien, 1996).

Se ha observado que los síntomas de abstinencia son menos intensos, o al menos mejor tolerados, en aquellos individuos dependientes a opioides de acción prolongada. Si se administra un antagonista opioide a un individuo adicto a cualquier otro tipo de sustancias, el síndrome de abstinencia no llega a desarrollarse. En este hecho se basa el diagnóstico diferencial de dependencia a opioides, siendo en este caso la naloxona el antagonista opioide puro de elección (Vasko, 1993).

La administración de naloxona, tanto de forma aguda como crónica y en un intervalo muy amplio de dosis, no produce efectos fisiológicos mayores (Clark y cols., 1993; Reisine y Pasternak, 1996). Se trata de un fármaco mucho más eficaz por vía parenteral que oral (Reisine y Pasternak, 1996; Flórez, 1997) ya que, aunque es absorbida fácilmente en el tracto gastrointestinal, es metabolizada casi totalmente por el hígado antes de alcanzar la circulación sistémica. Presenta un tiempo de latencia, tras administración intravenosa, de pocos minutos (Clark y cols., 1993). La duración de su acción es breve, sea cual fuese la vía de administración empleada (Flórez, 1997), variable entre 1 y 4 horas (Reisine y Pasternak, 1996). Su semivida biológica de eliminación es, aproximadamente, de 1 hora (Reisine y Pasternak, 1996).

El diagnóstico diferencial de dependencia a opioides se fundamenta en que la administración de dosis reducidas de naloxona a individuos dependientes precipita, a los pocos minutos, un síndrome muy similar al que se observa tras la supresión brusca del agonista opioide pero con una duración de tan sólo 2 a 3 horas (Reisine y Pasternak, 1996).

La pauta a seguir en el desarrollo de esta rápida prueba diagnóstica consiste en la administración intravenosa de 0.16 mg de naloxona; si los signos y síntomas se mantienen después de 20 ó 30 minutos, se administra una nueva dosis de 0.24 mg. Si en el plazo de 15 minutos aparecen piloerección en el tórax, midriasis y sudoración profusa, se diagnostica dependencia a opioides. Si aún después de la segunda dosis estos signos no aparecen, se considera que el individuo no sufre un grado importante de dependencia física o no es dependiente a opioides (Vasko, 1993).

### **1.1.3.2. Tratamiento de intoxicación aguda por sobredosis**

La intoxicación aguda con opioides puede deberse a una sobredosis accidental en adictos e, incluso, a intentos suicidas. Ocasionalmente se puede producir una intoxicación de tipo retardado debido a la administración parenteral extravasal de un opioide en áreas enfriadas de la piel o en

pacientes con presión arterial baja y estado de shock. Cuando ésto ocurre, el fármaco no es absorbido rápidamente, por lo que, con frecuencia, se recurre a una nueva dosis; si la circulación normal se restaura, puede absorberse una cantidad excesiva de opioide de forma súbita, provocando el cuadro de intoxicación (Reisine y Pasternak, 1996).

En cualesquiera de los casos posibles de intoxicación aguda de opioides, el síntoma más grave, en ocasiones mortal, es la depresión respiratoria. Para revertir este problema, actualmente se emplea naloxona vía intravenosa a dosis reducidas (0.4 - 2 mg) que se repetirán si después de 2 ó 3 minutos no se observa ningún efecto.

La naloxona es capaz de revertir inmediatamente los efectos de los agonistas opioides, ya que atraviesa con mucha facilidad la barrera hematoencefálica (Reisine y Pasternak, 1996; Flórez, 1997). Estas características hacen que la naloxona sea el fármaco de elección para combatir una intoxicación aguda de opioides por sobredosis al revertir rápidamente la depresión respiratoria (Clark y cols., 1993; Reisine y Pasternak, 1996). La naloxona se ha empleado con buenos resultados para contrarrestar la depresión respiratoria neonatal secundaria a la administración de opioides a la madre.

El uso de una dosis excesiva de naloxona para tratar una intoxicación aguda de opioide puede precipitar el desarrollo de un síndrome de abstinencia difícil de suprimir durante el período de acción del antagonista.

Por otro lado, se conoce la capacidad de naloxona para bloquear los efectos psicotomiméticos y disfóricos de los agonistas-antagonistas opioides, como la pentazocina (Reisine y Pasternak, 1996).

### **1.1.3.3. Tratamiento de adictos a opioides**

#### **1.1.3.3.1. Fase de desintoxicación**

Cualquier pauta terapéutica dirigida a la desintoxicación de un

toxicómano implicará la previa supresión del fármaco objeto de abuso, pudiendo conseguirse este fin de distinta manera. La norma general es que, de una forma u otra, se lleve a cabo la supresión paulatina del fármaco objeto de abuso.

### I. Terapia sustitutiva

En este caso, la supresión del fármaco adictógeno implica que éste se reemplace por un opioide de acción más prolongada que, como tal, desarrollará un síndrome de abstinencia de instauración más lenta y sintomatología más leve o, al menos, mejor tolerada. El ejemplo típico es la metadona, sintetizada por primera vez en 1943 (Litter, 1988; Vasko, 1993; O'Brien, 1996; Reisine y Pasternak, 1996).

En el caso de que para la deshabituación del adicto se opte por esta alternativa terapéutica, la dosis inicial de metadona, siempre administrada por vía oral, debe ser suficiente para suprimir la mayor parte de los síntomas de abstinencia (Vasko, 1993; O'Brien, 1996). Normalmente, 1 mg de metadona oral equivale, aproximadamente, a dosis parenterales de 2 mg de heroína o 4 mg de morfina. La dosis de estabilización de metadona rara vez excede de 15 a 20 mg, y se repite cuando los síntomas de supresión reaparecen. Sólo se incrementa la dosis en el caso de que los síntomas de abstinencia no se supriman totalmente; normalmente no se requieren más de 80 mg de metadona durante las primeras 24 horas. Con la dosis fijada se estabiliza al adicto durante un tiempo y, posteriormente, con una pauta de dosificación determinada (normalmente la mitad de la dosis cada tres días), se va reduciendo la administración de metadona para intentar llegar a su supresión total al cabo de 8 ó 10 días (Litter, 1988). Al ser éste un opioide de mayor semivida biológica de eliminación, los niveles plasmáticos del mismo descienden más lentamente, por lo que los signos de privación no aparecen tan bruscamente y son mejor tolerados (O'Brien, 1996; Reisine y Pasternak, 1996; Cami y Ayesta, 1997).

Aún así, se han descrito casos en los que el paciente experimenta

importantes síntomas de supresión (O'Brien, 1996). El éxito de esta terapia es, no obstante, muy reducido, por lo que con el tiempo se desarrollaron otras modalidades terapéuticas.

## II. Terapia de mantenimiento con metadona

Los programas de mantenimiento con metadona (Vasko, 1993; O'Brien, 1996) se basan en la teoría propuesta por DOLE en la que se argumenta que los adictos a opioides presentan un trastorno metabólico desencadenante de una alteración, a nivel del S.N.C., de la regulación molecular endógena, posiblemente responsable en parte de los efectos eufóricos y de la sensación denominada "hambre de opioides". DOLE complementa su hipótesis argumentando que la administración continua de opioides equilibra esta situación (Martínez, 1995; O'Brien, 1996).

En estos programas se parte también de la dosis oral de metadona que consiga estabilizar al paciente para, más tarde, proceder al incremento gradual de la misma hasta alcanzar la denominada dosis de mantenimiento (50-100 mg). La instauración de esta última dosis permite que no aparezcan signos de abstinencia y, además, gracias al fenómeno de tolerancia cruzada, se consiguen bloquear los efectos euforizantes de una posible nueva inyección intravenosa de heroína, incluso a dosis elevadas, en caso de que el paciente recaiga (Vasko, 1993; O'Brien, 1996).

Con esta alternativa, la búsqueda ansiosa de la droga queda aliviada y se evitan las consecuencias de la conducta compulsiva del toxicómano. Así, el paciente accede a los programas de rehabilitación e inicia el camino que le permitirá reinsertarse a la sociedad (Vasko, 1993).

No obstante, el tratamiento de mantenimiento con metadona no está exento de inconvenientes, como el ser una terapia molesta para el adicto por requerir la visita diaria a la clínica. Por este motivo, en principio, cuando el paciente llevaba un tiempo en el programa, se le permitía llevar a casa cantidades mayores de metadona, sobre todo para el fin de semana y, así,



poder reducir el número de visitas. Sin embargo, este sistema no resultó ser una buena solución al observarse un aumento alarmante de las intoxicaciones por metadona en adictos y también en familiares (intoxicaciones accidentales), así como el desarrollo de un mercado paralelo de venta ilícita y distribución de metadona (Vasko, 1993; O'Brien, 1996).

### III. Desintoxicación con agonistas adrenérgicos

En este caso, tras suspender la administración de metadona a los individuos opioide-dependientes incluidos en los programas de mantenimiento, se les administra clonidina, fármaco agonista adrenérgico de acción central. Las primeras dosis de clonidina deben ser capaces de suprimir o suavizar la mayoría de los componentes del síndrome de abstinencia a opioides; a continuación, una pauta a base de dosis decrecientes facilitará la total desintoxicación del individuo para su posterior inclusión en los programas de deshabitación (Muñoz, 1993; O'Brien, 1996; Cami y Ayesta, 1997).

En cualquier caso, sea cual fuere la terapia que se use para conseguir la desintoxicación del adicto, existe un grave riesgo de recaídas, intoxicaciones agudas y en el caso de los programas de mantenimiento con metadona, incluso desarrollo de adicción al nuevo agonista opioide, llegándose en algunos casos a sustituirse una dependencia por otra (Litter, 1988; Vasko, 1993; O'Brien, 1996; Cami y Ayesta, 1997).

#### 1.1.3.3.2. *Tratamiento de apoyo a la deshabitación de adictos a opioides*

La recuperación total del heroinómano es un problema social de primera magnitud que requiere una acción multiprofesional. Se trata, en general, de un camino lleno de dificultades y, desgraciadamente, de fracasos (Cami y Ayesta, 1997). Resulta, pues, interesante, considerar la elevada frecuencia de recaídas de los pacientes dependientes a opioides y los factores que las propician. Cuando el adicto, después de una mera desintoxicación,

regresa a su medio habitual, experimenta *signos condicionados de abstinencia*, relacionados con la dependencia psicológica que aún persiste, iniciando, una vez más, la conducta adecuada para buscar la droga (Vasko, 1993).

Un segundo factor condicionante para las recaídas es el fenómeno de *abstinencia secundaria o prolongada*, también denominado *síndrome de abstinencia diferido*. Con frecuencia, durante meses después de la fase de desintoxicación se mantienen sutiles anormalidades fisiológicas debido a desviaciones de las constantes orgánicas normales, tales como temperatura, presión arterial, respiración, glucemia e incluso trastornos del sueño (Vasko, 1993; Cami y Ayesta, 1997).

Debido al peligro de las recidivas y, según todo lo expuesto anteriormente, una vez que un individuo diagnosticado de dependencia a opioides supera satisfactoriamente la fase de desintoxicación, se debe proceder a la etapa denominada de deshabitación. Llegado este punto, se viene practicando la administración crónica de antagonistas opioides puros, después de haber suprimido completamente el fármaco que provocó la adicción, como medida farmacológica de apoyo para conseguir la rehabilitación total (Vasko, 1993).

El antagonista adecuado debe reunir, al menos, las características mencionadas a continuación (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987).

- a) Ser un antagonista puro sin efectos agonistas capaz de antagonizar los efectos euforizantes y placenteros de las dosis habituales de heroína.
- b) Tener una duración de acción larga para garantizar una amplia protección antagonista.
- c) Ser activo vía oral.
- d) Presentar mínimas reacciones adversas desagradables que pudieran

hacer abandonar el tratamiento.

- e) Producir una acción reversible.
- f) Presentar bajo potencial de abuso.

En los últimos años se han probado distintas pautas terapéuticas para acortar el período de desintoxicación y, por lo tanto, la transición al programa de mantenimiento con el antagonista opioide (Loimer y cols., 1991; Stine y Kosten, 1992; Gerra y cols., 1995; Bartter y Goberman, 1996).

Se ha demostrado que la combinación de clonidina con el antagonista opioide, tras suspender el mantenimiento con metadona, permite reducir la fase de desintoxicación a 3 ó 5 días en régimen ambulatorio, facilitando además la transición a un posterior programa de deshabitación con antagonista opioide (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987; Loimer y cols., 1991; Stine y Kosten, 1992; O'Connor y cols., 1995; O'Brien, 1996).

#### 1.1.3.4. Naltrexona

##### 1.1.3.4.1. Generalidades

La naltrexona, activa vía oral, es el antagonista opioide de elección para los tratamientos prolongados de adictos, cuyo fin es el de neutralizar los efectos euforizantes de una dosis de *recáida* de morfina o heroína (Vasko, 1993; Cami y Ayesta, 1997). En España se viene utilizando naltrexona en la práctica clínica desde 1986 con una gran efectividad; más de la mitad de los pacientes tratados mantienen la abstinencia a opioides transcurridos seis meses (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987).

Desprovista también de actividad agonista, se considera a la naltrexona como un antagonista más potente que la naloxona. Su eficacia, cuando se administra vía oral, es mucho mayor, ya que a este nivel su absorción es rápida y completa (Bullingham y cols., 1983). Las

concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan al cabo de 1 ó 2 horas y luego descienden con una semivida biológica de eliminación de unas 3 horas (Reisine y Pasternak, 1996). Es biotransformado en el hígado a 6 $\beta$ -naltrexol, metabolito activo con una semivida biológica de eliminación de 12 horas (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987). Presenta un bajo porcentaje de unión a proteínas plasmáticas y se elimina principalmente vía renal. Su aclaramiento renal es de 66.7 mL/min, mientras que para su metabolito activo es de 318 mL/min (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987). La duración de su acción antagonista puede ser de hasta 24 horas tras dosis orales moderadas (Clark y cols., 1993; Reisine y Pasternak, 1996): 15 mg de naltrexona antagonizan los efectos de una dosis de morfina durante 24 horas (Flórez, 1997). En este sentido, es de vital importancia la contribución del metabolito activo de la naltrexona, el 6 $\beta$ -naltrexol, al presentar también actividad antagonista, algo más débil pero de acción más prolongada (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987; Reisine y Pasternak, 1996). Los estudios de biodisponibilidad llevados a cabo por MEYER y cols. demostraron que tras la administración oral de diferentes dosis bajo la forma de comprimidos (50, 100 y 200 mg) y de solución oral (100 mg), existía una buena correlación entre las dosis administradas y los perfiles de concentraciones plasmáticas obtenidos (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987).

Cuando, superado el período de desintoxicación, un sujeto se encuentra bajo tratamiento con naltrexona, sus receptores opioides se encuentran ocupados por el agente antagonista (Shufman y cols., 1994); de este modo, si el paciente recae y toma una nueva dosis de opioide, el antagonista frena los efectos euforizantes suprimiendo importantes factores reforzadores de la conducta de búsqueda propia del dependiente a opioides (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987; O'Brien, 1996; Flórez, 1997).

Aún así, para garantizar la total rehabilitación del dependiente, es aconsejable que éste se someta a tratamiento psicoterápico y ocupacional (Litter, 1988).

### 1.1.3.4.2. Indicaciones de naltrexona

Se distinguen cuatro grupos de enfermos en los que la naltrexona está especialmente indicada (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987):

- a) Heroinómanos motivados tras una desintoxicación previa.
- b) Adictos abstinentes tras estancias en hospitales, comunidades terapéuticas o prisión, para prevención de recaídas.
- c) Profesionales sanitarios adictos a opioides.
- d) Pacientes que desean interrumpir el programa de mantenimiento con metadona. Éstos tienen un porcentaje bajo de éxito, entre otras causas porque requieren 10 días de descanso de metadona antes de iniciar el tratamiento con naltrexona, y durante este tiempo se producen numerosas recaídas y abandonos. En este sentido, resulta interesante el empleo de clonidina para acortar los programas de desintoxicación y facilitar el inicio de los de deshabitación.

En cualesquiera de los anteriores casos se considera de suma importancia el apoyo familiar y el grado de adaptación social del individuo antes de que se desarrollara la dependencia.

En el caso de los reclusos, el seguir el tratamiento en régimen de tercer grado o bajo libertad condicional supone una motivación extra, entre otras cosas porque les permite iniciar algún tipo de actividad laboral.

No obstante, y sin olvidar lo anteriormente expuesto, la elección de naltrexona parece ser prometedora en grupos determinados de adictos, con condiciones y características muy concretas (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987):

- a) Sujetos con breve historia de consumo de opioides, sobre todo si aún no presentan dependencia, para evitar su cronificación.

- b) Individuos con importantes períodos de abstinencia, después de recaídas recientes.
- c) En adictos incluidos en listas de espera para otras modalidades terapéuticas.

La experiencia clínica parece indicar que la selección de los pacientes para ser incluidos en un programa de deshabituación con naltrexona debe hacerse durante el tiempo inmediatamente posterior a la fase de supresión del opioide (Reisine y Pasternak, 1996).

Independientemente del empleo de la naltrexona como coadyuvante del tratamiento de deshabituación de drogodependientes a opiáceos, se están investigando otras posibles aplicaciones. Entre ellas, caben destacar su utilidad en el campo del tratamiento farmacológico del alcoholismo (aprobado ya por la *Food and Drug Administration*) (Swift y cols., 1994; Mason, 1996; O'Brien y cols., 1996; Doty y cols., 1997), así como los estudios que se están llevando a cabo sobre su posible utilidad en el tratamiento de determinados trastornos menstruales, como amenorrea relacionada con pérdidas de peso (Genazzani y cols., 1995) o anovulación (Roozenburg y cols., 1997), y ciertos síntomas clínicos del autismo (Bouvard y cols., 1995).

#### 1.1.3.4.3. *Protocolo de instauración del tratamiento con naltrexona*

El tratamiento de apoyo con naltrexona para la deshabituación de toxicómanos consta de tres fases: inducción, estabilización y mantenimiento (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987; Muñoz, 1993).

##### I. Fase de inducción

Esta fase comprende desde el fin de la cura de desintoxicación hasta que, mediante el incremento diario de la dosis, se alcanza la dosis de naltrexona de mantenimiento en una o dos semanas, que suele situarse en torno a los 350 mg por semana (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987). Por

supuesto, la fase de inducción no debe iniciarse si no se tiene la completa certeza de que el individuo no presenta dependencia física. Normalmente, para iniciar la administración de naltrexona es necesario que transcurran algunos días después de la última dosis de heroína. Si el toxicómano ha estado sometido a un tratamiento de desintoxicación con metadona, son necesarios 10 días para iniciar el tratamiento con el antagonista. Dado que, como se ha expuesto con anterioridad, esta circunstancia es la responsable de numerosas recaídas y abandonos, en los últimos años se recomienda la desintoxicación a base de clonidina en lugar de usar un agonista opioide como la metadona para favorecer la supresión ambulatoria e, incluso, superponer la fase de desintoxicación con clonidina y la de inducción con naltrexona (O'Brien, 1996).

Mediante la realización de la prueba de diagnóstico diferencial de dependencia a opioides con naloxona existe la posibilidad de comprobar si se ha concluido la desintoxicación o si, por el contrario, aún persisten los signos de privación (Vasko, 1993). No obstante, puede suceder que no aparezcan síntomas de abstinencia tras la prueba de naloxona pero, sin embargo, sí se provoquen con la administración de naltrexona; esto puede ser debido a la mayor biodisponibilidad oral de este último fármaco (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987).

Existen una serie de recomendaciones básicas para comenzar la fase de inducción (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987):

- \* La deshabitación resulta más eficaz si la desintoxicación se efectúa con agonistas  $\alpha$ -adrenérgicos o mediante tratamiento sintomático. Se desaconseja, en la medida de lo posible, el uso de agonistas opioides.
- \* Para comenzar la inducción debe existir una abstinencia de opioides de, al menos, 5 días en el caso de adictos a la heroína, o de 10 días en el caso de adictos a metadona o propoxifeno.
- \* Debe realizarse una prueba con un antagonista de acción corta,

naloxona, repitiendo la prueba 24 ó 48 horas después si persisten los síntomas de abstinencia a opioides. La administración de naltrexona no se considerará viable hasta que la prueba con naloxona sea negativa.

- \* La primera dosis de naltrexona no debe ser nunca superior a 50 mg a fin de no precipitar accidentalmente un síndrome de abstinencia.

## II. Fase de estabilización

La dosis habitual de naltrexona es de 350 mg semanales, pudiendo seguir distintas pautas de administración a lo largo de la semana: 50 mg diarios; 100 mg lunes, 100 mg miércoles y 150 mg viernes; o también 150 mg lunes y 200 mg jueves. Cualesquiera de estas posibilidades proporciona un bloqueo efectivo, por lo que la elección de una u otra pauta depende de factores como la experiencia de los profesionales y las necesidades del paciente.

En esta fase se pretende estabilizar al paciente en un período de 2 a 6 semanas durante el que se hace especial énfasis en el llamado apoyo psicosocial. Tanto en esta etapa como en la anterior, es cuando se produce el mayor número de abandonos. Durante este período, la mayoría de los pacientes refieren una significativa reducción del *anhelo de heroína* relacionada, al parecer, con el bloqueo de los receptores opioides responsable de la no disponibilidad farmacológica de la droga.

Durante los primeros meses de esta fase los controles de orina deben ser frecuentes, ya que existe la posibilidad de que el paciente abandone el consumo de opioides pero inicie el de otras sustancias. De igual forma, deben realizarse exploraciones físicas regulares del paciente, al menos una vez al mes, solicitando exámenes periódicos de la función hepática. En el caso de que la administración regular de naltrexona eleve las cifras de transaminasas hasta tres veces su valor basal, deberá suspenderse el tratamiento con el antagonista.



### III. Fase de mantenimiento

Debe quedar claro que la naltrexona sólo supone una ayuda para el paciente al evitar, por bloqueo de los receptores opioides, la recaídas compulsivas motivadas por la sintomatología de abstinencia prolongada o por la influencia de determinados estímulos condicionantes (amistades, música, lugares o ambientes). De esta forma, la permanente ausencia de los efectos reforzadores que origina normalmente el consumo de heroína produce una extinción progresiva de la dependencia y, por tanto, de la toxicomanía. De hecho, se ha comprobado que un elevado número de pacientes intentan comprobar si el citado bloqueo es efectivo (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987).

El mantenimiento con naltrexona constituye una valiosa ayuda para los profesionales sanitarios; la naltrexona es responsable de la estabilización farmacológica que contribuye a la modificación del estilo de vida del paciente. No obstante, no se puede olvidar que un tratamiento de mantenimiento sólo con naltrexona, sin que exista alguna modalidad de apoyo psicosocial, estará sujeto a una alta frecuencia de abandonos así como a numerosas recaídas después de concluir el programa. Debe tenerse en cuenta que para estos casos de reincidencias se ha observado un nivel de tolerancia mucho más bajo (O'Brien, 1996). Se trata de formas de tolerancia residual: los sujetos con dependencia previa a opioides manifiestan una dependencia física más rápida frente a la reexposición. Parece ser, incluso, que la administración prolongada de antagonistas aumenta la densidad de los receptores opioides en el cerebro produciéndose, en caso de recaída, una exageración temporaria a la respuesta de una dosis ulterior de agonistas opioides (O'Brien, 1996; Reisine y Pasternak, 1996).

#### 1.1.3.4.4. *Inconvenientes del uso clínico de naltrexona*

Se ha comprobado que la naltrexona posee acciones sobre el sistema endocrino, estimulando la secreción de las hormonas folículo estimulante (FSH), luteinizante (LH) y adrenocorticotrópica (ACTH), así como de

cortisol y probablemente también de catecolaminas (Reisine y Pasternak, 1996). Entre sus efectos secundarios destaca también la reducción del apetito en períodos breves de administración del fármaco y, por consiguiente, en ocasiones, la aparición de adelgazamiento (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987; Reisine y Pasternak, 1996).

No es de extrañar que la administración de naltrexona pudiera ejercer estos efectos secundarios a través de la modificación de los niveles de los opioides endógenos involucrados en una amplia gama de funciones biológicas (analgesia, regulación de la temperatura, presión arterial, sensaciones de hambre y sed, función sexual y respiratoria y secreción de algunas hormonas (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987; Reisine y Pasternak, 1996)). No obstante, esta hipótesis no está aún demostrada. Recientemente se ha propuesto otro mecanismo probable responsable de estos efectos secundarios: la posibilidad de que la propia naltrexona, o bien alguno de sus metabolitos, presente actividad sobre otros sistemas de neurotransmisión (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987).

Pueden aparecer, como efectos secundarios desagradables, la astenia, molestias gastrointestinales (diarreas, náuseas, vómitos) y alteraciones nerviosas (ansiedad, insomnio, agitación y cefaleas) y del estado de ánimo. En 1981, HOLLISTER llevó a cabo una investigación sobre diez sujetos no adictos; al final de la misma, tres de ellos la habían abandonado por sus efectos indeseables (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987). Este resultado hace pensar que entre los toxicómanos tratados con naltrexona puede existir un cierto porcentaje de abandono del tratamiento debido a los efectos secundarios (O'Brien, 1996).

## 1.2. SISTEMAS DE LIBERACION CONTROLADA DE FARMACOS

### 1.2.1. Antecedentes

A partir de la década de los 50, la investigación de sistemas que controlen de forma racional la liberación de fármacos ha sido, y sigue siendo, núcleo permanente de atención dentro de la Industria Farmacéutica. El objetivo primordial en el diseño de estos sistemas es el desarrollo de formas de dosificación que permitan alcanzar concentraciones plasmáticas sostenidas y constantes durante el tiempo deseado, proporcionando así una respuesta terapéutica uniforme y minimizando la aparición de efectos secundarios (Holgado y cols., 1990a; Arnaud y cols., 1992). Así, y en función de sus características de cesión, los sistemas de liberación controlada (SLC) ofrecen nuevas perspectivas en el campo farmacéutico en cuanto a un uso más racional del medicamento, constituyendo así una de las alternativas para la optimización de la terapia medicamentosa (Därr, 1981). La cesión controlada del fármaco permite la consecución de la mínima concentración plasmática efectiva en el menor tiempo posible, manteniéndola además por un período prolongado (Ansel, 1985; Lordi, 1986; Sánchez y Marín, 1987). Se hace, pues, factible un control más racional en la liberación del principio activo.

El diseño del SLC ideal persigue la ubicación espacial y distribución temporal del fármaco (Holgado y cols., 1990a; Longer y Robinson, 1990). La ubicación espacial es la orientación del fármaco hacia un órgano o tejido específico, mientras que al alcanzar niveles terapéuticos efectivos en un tiempo muy breve y mantenerlos hasta la total recuperación del paciente, se consigue la distribución temporal (Longer y Robinson, 1990).

Los primeros sistemas galénicos desarrollados para el control de liberación de fármacos, surgidos en los años 50 (Shangraw, 1988), han ido evolucionando hacia dispositivos cada vez más complejos y sofisticados que no sólo persiguen el control temporal de la liberación sino, además, una

liberación espacial en puntos muy concretos del organismo. Estos nuevos sistemas, conocidos como transportadores direccionables de fármacos o *vectores*, aumentan la eficacia terapéutica del principio activo, consiguiendo también una reducción de los efectos adversos (Holgado y *cols.*, 1990b).

La mayor parte de los estudios efectuados sobre este tema se han dirigido hacia el desarrollo de sistemas de administración por vía oral, por ser ésta la mejor aceptada (Ritschel, 1989; Khan, 1995); no obstante, se están investigando en la actualidad otras rutas alternativas, como transdérmica, ocular, nasal y parenteral, que están recibiendo una atención cada vez mayor. El gran auge que están adquiriendo estos dispositivos se debe a los múltiples beneficios que aportan: niveles sanguíneos de fármaco constantes y sostenidos (reduciéndose sus fluctuaciones y, por consiguiente, la aparición de efectos tóxicos y de concentraciones plasmáticas subterapéuticas), disminución en la frecuencia de su administración, aumento en la eficiencia del tratamiento al optimizar el programa terapéutico propuesto y, en definitiva, mejorar la calidad de vida de pacientes sometidos a tratamientos farmacológicos prolongados (Welling, 1983; Ritschel, 1989; Arnaud y *cols.*, 1992; Khan, 1995). Por otro lado, desde el punto de vista comercial, el desarrollo de estas nuevas formas galénicas puede ser utilizado como estrategia para relanzar fármacos ya conocidos y de notable prestigio terapéutico bajo otras nuevas formas de presentación (Arnaud y *cols.*, 1992).

Actualmente, son muchos los proyectos que proponen nuevos modelos y distintas técnicas que permiten llevar a cabo una liberación más o menos controlada (Holgado y *cols.*, 1990a). En este sentido, con el presente trabajo se continúa una línea de investigación sobre SLC iniciada hace ya algunos años por nuestro equipo, parte de cuya investigación se ha centrado en: la estandarización de una técnica de complejación de polímeros acrílicos con fármacos catiónicos (morfina, dextrometorfano, fenilefrina, fenilpropanolamina, carteolol, pseudoefedrina, difenhidramina), la caracterización de sistemas matriciales inertes y la aplicación de la Teoría de la Percolación al estudio de sus cinéticas de liberación (Rabasco y *cols.*,

1991, 1992; Alvarez-Fuentes, 1992; Alvarez-Fuentes y cols., 1994, 1996b, 1997a; Boza y cols., 1995; Caraballo y cols., 1992, 1993a, 1993b; Caraballo, 1994; Caraballo y cols., 1994, 1996a, 1996b, 1997a, 1997b; Fernández-Arévalo y cols., 1992, 1993; Fernández-Arévalo y cols., 1994, 1995; Fernández-Hervás y cols., 1995; Holgado y cols., 1992; Holgado, 1993; Holgado y cols., 1995a, 1995b, 1997; Millán y cols., 1995, 1998; Vela y cols., 1994).

### **1.2.2. Terminología empleada**

Dada la amplia diversidad de términos empleados en este campo de la investigación farmacéutica, algunos de ellos algo confusos, la FDA (Food and Drug Administration, U.S.A.) consideró el empleo de la siguiente clasificación para unificar y aclarar conceptos (Sánchez y Marín, 1987; Holgado y cols., 1990a, 1990b):

- A. Formas de liberación retardada o "formas retard", que liberan el principio activo algún tiempo después de su administración (Voigt y Bornschein, 1982). No se consideran formas de liberación controlada porque no consiguen una prolongación del efecto terapéutico, sino un retardo en su inicio.
  
- B. Formas de liberación controlada, que se caracterizan por la cesión controlada del fármaco proporcionando niveles hemáticos más uniformes y prolongados. Son los verdaderos SLC, y como tales deben cumplir una serie de condiciones ideales que se resumen a continuación (Voigt y Bornschein, 1982):
  - \* Alcanzar con rapidez un óptimo nivel sanguíneo efectivo.
  
  - \* Garantizar niveles plasmáticos constantes.
  
  - \* Mantener el efecto farmacológico uniforme durante el tiempo

deseado.

- \* Impedir que la concentración del fármaco alcance niveles tóxicos, reduciendo así los efectos secundarios indeseables.

El término de liberación controlada agrupa, a su vez, distintos sistemas de administración (Sánchez y Marín, 1987):

- B<sub>1</sub>. Formas de liberación continua o sostenida. Son las ideales desde el punto de vista terapéutico, al conseguir mantener niveles constantes de fármaco en sangre o en el tejido al que va destinado, gracias a un mecanismo de cesión por el que se consiguen niveles plasmáticos similares a la perfusión intravenosa.
- B<sub>2</sub>. Formas de liberación prolongada. Inicialmente proporcionan una cantidad de fármaco igual a una dosis simple habitual para luego ceder, gradualmente, el resto, en un período de tiempo que normalmente es de menor duración que el total deseado.
- B<sub>3</sub>. Formas de liberación repetida. Se trata de aquellas que liberan el principio activo en fracciones más o menos iguales y regulares o no de tiempo (Därr, 1981).

### **1.2.3. Ventajas e inconvenientes de los SLC**

Las ventajas más destacables que ofrecen estos sistemas son las siguientes (Holgado y cols., 1990a):

- \* Niveles sanguíneos constantes y sostenidos y, por lo tanto, un descenso en las fluctuaciones de los niveles plasmáticos del principio activo (Lordi, 1986; Longe y Robinson, 1990); de este modo, se

obtiene una respuesta farmacológica continua y uniforme.

- \* El agente activo liberado se mantiene más tiempo dentro de los límites terapéuticos y, ya que rara vez esta tasa se rebasa, los efectos tóxicos se reducen, llegando incluso a eliminarse totalmente (Ansel, 1985).
- \* Gracias a las ventajas anteriores, presentan mayor garantía farmacológica frente a las formas tradicionales de dosificación, en las que fácilmente pueden superarse las concentraciones tóxicas mínimas por acumulación (Longer y Robinson, 1990), si el régimen posológico no se ha establecido adecuadamente.
- \* El programa terapéutico se cumple con mayor éxito (Lordi, 1986; Longer y Robinson, 1990), ya que estos sistemas no tienen que administrarse con tanta frecuencia (Ansel, 1985), existiendo así menos oportunidades para omitir inadvertidamente alguna dosis e incumplir la pauta de dosificación; además, pueden evitarse las tomas nocturnas.
- \* Finalmente (Longer y Robinson, 1990), para fármacos que causen irritación gastrointestinal tras su administración oral, se consiguen reducir estos efectos.

Por otro lado, no podemos olvidar que, por lo general, el desarrollo de una formulación y la puesta a punto del proceso tecnológico de elaboración son más sofisticados y complejos para un SLC que para un sistema tradicional; por ello, su producción se ve notablemente encarecida (Lordi, 1986). Pero también existen otros inconvenientes originados por la administración de fármacos mediante SLC (Holgado y cols., 1990a):

- \* Como consecuencia de una defectuosa formulación, existe la posibilidad de que aparezca el efecto conocido como "dose-dumping" (Verdejo, 1986). Este término describe el aporte masivo y rápido, en

ocasiones en breves instantes, del fármaco al torrente sanguíneo, implicando una sobredosificación que puede derivar en graves secuelas.

- \* Una terapia con SLC no permite una repentina supresión del tratamiento o cambio de principio activo (Lordi, 1986), necesarios si se desarrollan efectos adversos significativos. Por lo tanto, un ajuste en las pautas posológicas con estos sistemas es más complicado que en el caso de una terapia convencional.
- \* El médico disfruta de menor flexibilidad a la hora de ajustar el régimen de dosificación (Lordi, 1986), ya que éste viene fijado por la forma diseñada.

A pesar de las desventajas anteriormente enunciadas, el empleo de los SLC queda plenamente justificado considerando las notables e importantes ventajas que ofrecen.

#### **1.2.4. Elección de fármacos a vehiculizar en un SLC**

Un gran número de sustancias terapéuticas (Holgado y cols., 1990a), tales como analgésicos, antihipertensivos, anticancerosos, hipoglucemiantes, diuréticos, antianginosos y fármacos activos frente al glaucoma, mareo, malaria, alergias, caries dental, etc., están viendo facilitada su administración gracias a estos sistemas de dosificación.

Antes de proceder al diseño de estos sistemas se debe prestar gran atención a las características tanto fisicoquímicas como farmacocinéticas del principio activo vehiculizado en ellos, ya que son factores que limitan su selección (Welling, 1983; Davis, 1987; Herráez y cols., 1990b). Dentro de las características farmacocinéticas debe estudiarse si sus efectos farmacológicos se correlacionan con los niveles sanguíneos y conocer su margen terapéutico, incluyendo la concentración plasmática mínima efectiva



y la máxima no tóxica (Lordi, 1986).

Si la elección del fármaco no es la adecuada, todo intento en el diseño de estos SLC será un rotundo fracaso y todos los esfuerzos empleados en su aplicación resultarán vanos. Por otra parte, no debe olvidarse que los factores fisiológicos ejercen una influencia capital sobre la biodisponibilidad tanto de las formas de dosificación convencionales como de las formas de liberación controlada (Arnaud, 1992). El término "biodisponibilidad óptima" referido a estos últimos sistemas adquiere una especial connotación, ya que debe recordarse que el objetivo primordial pretendido por estos dispositivos es garantizar la seguridad y la constancia en el aporte de fármaco durante un tiempo determinado. A este respecto, HERRAEZ y cols. (1990a) señalan, como principales factores fisiológicos a tener en cuenta, tiempo de tránsito gastrointestinal (especialmente el de vaciado gástrico), pH gastrointestinal, presencia de alimentos en el tracto digestivo, naturaleza de la microflora del colon y determinados estados patológicos.

Entre las principales propiedades fisicoquímicas, se deben destacar las siguientes:

### I. Solubilidad en agua y $pK_a$

Para formular SLC, no son deseables valores extremos de solubilidad (Park y cols., 1985; Lordi, 1986). En aquellos fármacos que presenten alta solubilidad es difícil controlar su velocidad de disolución y, por tanto, establecer sus perfiles de liberación óptimos. De igual modo, si presentan baja solubilidad, su velocidad de disolución se ve retrasada, proporcionando, por sí mismos, niveles sanguíneos "sostenidos" (Longer y Robinson, 1990). Según estas consideraciones, se ha fijado el límite de mínima solubilidad requerido en 0.1 mg/mL (Park y cols., 1985).

### II. Tamaño molecular

Es este un factor importante en aquellos SLC en los que la cinética

de liberación del principio activo viene regida por difusión a través de una membrana o de una matriz polimérica. La estructura polimérica condiciona la permeabilidad del polímero al paso de moléculas y determina la capacidad de difusión de las mismas. El tamaño de la molécula que difunde repercute negativamente en esta difusividad (Holgado y cols., 1996).

Respecto al comportamiento farmacocinético, se deben considerar las siguientes circunstancias:

### I. Absorción

Es probablemente uno de los factores más importantes a tener en cuenta para diseñar un SLC (Longer y Robinson, 1990). Para llegar a alcanzar una absorción óptima hay que conseguir que la liberación del principio activo a partir de la forma galénica de administración sea la correcta, ya que este paso supone un factor limitante para una adecuada absorción. La velocidad de liberación del principio activo desde el SLC debe ser menor que la velocidad de disolución y absorción. Los fármacos idóneos para estos sistemas deben presentar una velocidad de absorción alta, uniforme y amplia a lo largo de todo el tracto gastrointestinal, no existiendo zonas de absorción específica ni influencias debidas a las variaciones del pH dentro del mismo (Ansel, 1985; Park y cols., 1985; Lordi, 1986; Sánchez y Marín, 1987; Longer y Robinson, 1990).

### II. Distribución

Este proceso tiene también gran interés al proyectar la elaboración de un SLC, ya que influye directamente en la cinética de eliminación total del principio activo desde el organismo. Los fármacos con un alto volumen de distribución aparente ( $V_d$  aparente) presentan una eliminación reducida, por lo que no son sustancias idóneas para ser administradas bajo formas de liberación controlada.

### III. Eliminación

Se considera la eliminación como la suma de todos los procesos que hacen desaparecer un fármaco de la sangre, pudiendo ser excretado de forma inalterada o previa biotransformación. La eliminación de un fármaco se relaciona inversamente con su semivida biológica,  $t_{1/2}$  (Aiache y cols., 1990; Longer y Robinson, 1990).

Considerando parámetros farmacocinéticos, se estiman adecuados fármacos cuya  $t_{1/2}$  de eliminación esté comprendida en el intervalo entre 2 y 8 horas (Davis, 1987; Longer y Robinson, 1990); con el uso de estos sistemas se reduce el número de dosis diarias que éstos necesitan.

Dentro de este apartado, y concretamente en el proceso de metabolismo, hay que considerar dos aspectos fundamentales (Park y cols., 1985; Longer y Robinson, 1990):

a) Si el fármaco en cuestión posee capacidad para inducir o inhibir la actividad enzimática pueden producirse oscilaciones de sus propios niveles plasmáticos o incluso de los de otros fármacos de administración crónica.

b) Si el fármaco sufre metabolismo de primer paso, con frecuencia aparecen fluctuaciones en la respuesta farmacológica. En ocasiones, como fruto del metabolismo aparecen metabolitos activos (Davis, 1987), es conveniente entonces conocer las propiedades farmacocinéticas de estos y establecer una relación entre sus niveles plasmáticos y el efecto farmacológico.

Dentro del estudio de las características farmacocinéticas adecuadas para el desarrollo de SLC, no pueden ser olvidados conceptos importantes como índice terapéutico o dosificación.

El índice terapéutico (Bochner y cols., 1986) se define como la relación entre la dosis letal y la dosis eficaz en el 50 % de los animales de una especie. Representa la relación entre la concentración plasmática tóxica mínima y la concentración plasmática terapéutica máxima de un fármaco.

Para sustancias muy potentes, en las cuales hay que controlar estrictamente sus concentraciones plasmáticas, este índice toma valores muy bajos; por el contrario, cuanto más alto sea, menos riesgos implica su utilización.

Es por ello por lo que la formulación de SLC requiere fármacos con altos valores de índice terapéutico, no siendo buenos candidatos aquellos principios activos que presenten valores bajos (Park y cols., 1985; Sánchez y Marín, 1987; Longer y Robinson, 1990).

A su vez, dado que un SLC intenta reducir el número de tomas diarias de un fármaco, generalmente la cantidad de principio activo vehiculizada es mayor que la de una forma farmacéutica convencional (Longer y Robinson, 1990). Por tanto, para este tipo de sistemas deben escogerse fármacos cuyas dosificaciones habituales no sean muy elevadas.

Se estima que este valor no debe exceder los 0.5 g (Ansel, 1985; Park y cols., 1985; Davis, 1987; Sánchez y Marín, 1987; Longer y Robinson, 1990), ya que un diseño erróneo del sistema daría lugar a una elevación brusca de los niveles plasmáticos del fármaco, pudiendo derivar en graves consecuencias.

### **1.2.5. Métodos de control de los niveles plasmáticos de fármacos**

Para obtener una evolución en el tiempo controlada de los niveles plasmáticos de un fármaco, se han venido utilizando una gran variedad de técnicas, que pueden ser englobadas en tres grandes grupos: métodos biológicos, químicos y farmacotécnicos.

#### **1.2.5.1. Métodos biológicos**

Éstos están encaminados a modificar el entorno fisicoquímico y/o biológico del medicamento mediante el empleo de sustancias auxiliares que

permitan prolongar la actividad del fármaco. Las dos opciones más habituales son: a) inactivar el sistema enzimático implicado en la biotransformación del fármaco, impidiendo así su metabolización; y b) aumentar la semivida biológica del mismo, disminuyendo la eliminación renal o favoreciendo la reabsorción tubular (Aiache y cols., 1990).

### 1.2.5.2. Métodos químicos

Mediante su aplicación, se pretende efectuar una modificación química del principio activo con objeto de conferirle propiedades fisicoquímicas ligeramente diferentes (solubilidad, coeficiente de reparto, distribución, etc.) que pueden modificar su comportamiento farmacocinético (Cuéllar, 1987).

El resultado puede ser un profármaco, que al llegar a los fluidos biológicos regenere el principio activo original por hidrólisis química o enzimática, o simplemente análogos del fármaco original como ésteres, sales, éteres o compuestos de adición (Johansen y Bundgaard, 1983; Lordi, 1986; Longer y Robinson, 1990).

### 1.2.5.3. Métodos farmacotécnicos

Éstos están basados en la utilización de operaciones tecnofarmacéuticas con el fin de conseguir modificaciones en las formas galénicas, de tal forma que sean ellas mismas las únicas responsables de la liberación del principio activo (Aiache y cols., 1990). No son métodos, pues, en los que se modifiquen ni el organismo ni las características de disposición del fármaco.

La finalidad de estos procesos tecnofarmacéuticos (Aiache y cols., 1990) va encaminada en dos sentidos: a) reducir la solubilidad del fármaco en la forma de dosificación, y b) disminuir la velocidad de liberación del mismo a partir de la forma galénica.

En este campo se han descrito numerosos procesos que pretenden

aportar nuevas ideas en el ámbito de los SLC (Cuéllar, 1987). Entre ellos destacan:

- I. *Recubrimiento físico* de las partículas del principio activo (Cuéllar, 1987; Holgado y cols., 1990b).
- II. *Sistemas poliméricos* a base de polímeros biocompatibles. Se trata de un grupo muy extenso que incluye:
  - II.1. SLC a través de membrana, constituidos por un núcleo central o reservorio de principio activo rodeado por una membrana polimérica que controlan la liberación del fármaco (Ansel, 1985; Longe y Robinson, 1990).
  - II.2. Sistemas osmóticos, que liberan el fármaco mediante un impulso generado por presión osmótica (Barbera, 1987; Cuéllar, 1987).
  - II.3. Sistemas matriciales, basados en dispersiones moleculares o de partículas uniformes de un principio activo en un soporte inerte (Lordi, 1986; Gillard, 1987; Sánchez y Marín, 1987). Existen tres tipos básicos que pueden, a su vez, combinarse entre sí:
    - Matrices inertes, constituidas por polímeros que, tras un proceso de compresión, dan lugar a un esqueleto poroso no digerible e insoluble en los jugos gástricos.
    - Matrices hidrófilas, elaboradas con agentes gelificantes que se hidratan progresivamente al entrar en contacto con los fluidos, permitiendo así la liberación del principio activo.
    - Matrices lipófilas, en las que el fármaco se encuentra suspendido en un material hidrófobo.
  - II.4. Sistemas bioadhesivos, cuyos polímeros constituyentes

presentan propiedades de fijación o adhesión a un sustrato biológico (Vila-Jato y cols., 1988).

III. *Moduladores del tiempo de tránsito gastrointestinal: sistemas hidrocoloidales.* El más interesante es el sistema H.B.S. (Hydrodynamically Balanced System) o flotador intragástrico (Phuapradit y Bolton, 1991), constituido por una primera capa de principio activo de liberación inmediata y otra segunda que, al absorber jugo gástrico, da lugar a un coloide impermeable de densidad inferior a la unidad capaz de flotar en el fluido gástrico hasta que se completa la liberación del principio activo, contrarrestando así los efectos derivados de la motilidad gástrica (Holgado y cols., 1990a; Khan, 1995).

IV. *SLC por métodos físicos.* Se trata de un grupo de sistemas en el que se incluyen:

IV.1. Sistemas de infusión intravenosa continua, que consiguen una velocidad constante de liberación (Cuéllar, 1987).

IV.2. Bombas de infusión continua, tanto portátiles (Cuéllar, 1987), como de implantación (Sefton, 1984; Alvarez- Fuentes y cols., 1996c).

V. *Transportadores direccionables de fármacos: vectores.* Se trata de sistemas que vehiculizan los fármacos directamente hacia los puntos donde deben ejercer su acción (Cuéllar, 1987; Puisieux y cols., 1989; Weiner y cols., 1989; Longer y Robinson, 1990). Este grupo abarca una serie de sistemas como son: liposomas, nanopartículas, transportadores magnéticos, cadenas de ADN, anticuerpos monoclonales, transportadores pinocitósicos, eritrocitos resellados.

VI. *Resinas de intercambio iónico:* constituidas por polímeros insolubles en agua, con enlaces cruzados, que poseen grupos formadores de

sales en posiciones que se repiten periódicamente a lo largo de la cadena polimérica (Ansel, 1985; Buri, 1985; Longer y Robinson, 1990).

De todos las posibilidades que la industria farmacéutica ha desarrollado para la elaboración de SLC, los Métodos Farmacotécnicos son los que presentan mayores ventajas, ya que al modificar sólo la forma galénica, sin alterar las características de disposición del principio activo, consiguen que aquélla sea la única responsable del control de los niveles plasmáticos del fármaco. Precizando aún más, son los sistemas matriciales, como sistemas poliméricos de muy directa aplicación para la administración de fármacos bajo SLC, los más desarrollados dentro de la industria farmacéutica actual.

El desarrollo de un dispositivo terapéutico de naturaleza polimérica exige un profundo conocimiento de sus propiedades fisicoquímicas, mecánicas y de biocompatibilidad (Holgado y cols., 1996). La definición del término biocompatibilidad propuesta por BAUSER dice: la biocompatibilidad de un polímero se caracteriza por la ausencia de efectos sobre el sistema biológico. En este sentido, DOELKER (1987) propone que el polímero elegido, biodegradable o no, no debe ser tóxico, mutagénico, teratogénico, trombogénico, inmunógeno y productor de reacciones inflamatorias.

El control de la liberación del fármaco a partir de estos sistemas recae, como se ha comentado anteriormente, en gran medida en el polímero escogido para su formulación (Heller, 1987); se sabe que la liberación de fármacos desde redes matriciales viene gobernada por la permeabilidad al paso de moléculas (determinante de la capacidad de difusión de las mismas), tortuosidad y porosidad de los polímeros formadores, así como por la concentración y solubilidad de los fármacos que puedan vehiculizar (Holgado y cols., 1996).



### 1.3. SISTEMAS DE LIBERACION CONTROLADA DE NALTREXONA

Con la puesta a punto de un SLC de clorhidrato de naltrexona se pretende mantener constantes las concentraciones plasmáticas terapéuticas del fármaco durante un tiempo prolongado, mejorando de este modo la respuesta terapéutica. Así, cabe esperar que el bloqueo antagonista conseguido con un SLC de clorhidrato de naltrexona permita un intervalo de dosificación mayor que el de una formulación tradicional administrada a dosis más altas y en intervalos de dosificación más o menos prolongados, sin comprometer, por ello, el éxito del programa terapéutico planteado. Esto es así en base a que con un SLC adecuadamente desarrollado se evitaría la aparición de picos y valles de concentraciones plasmáticas que provocarían, en el caso de los picos, la aparición de efectos secundarios desagradables suficientemente importantes como para que el paciente se plantee la posibilidad de suspender el tratamiento. Paralelamente, la supresión de valles de concentraciones plasmáticas evitaría que, durante un periodo de tiempo más o menos corto, el nivel de bloqueo de los receptores opioides sea insuficiente.

Hasta la actualidad, la mayor parte de los estudios efectuados para poner a punto un SLC de naltrexona se habían dirigido hacia el desarrollo de sistemas poliméricos transdérmicos y diversos dispositivos que permitan la implantación subcutánea (Schwope y cols., 1976; Sullivan y Kalkwarf, 1976; Thies, 1976; Chiang y cols., 1984; Longer y Robinson, 1990; Bennett y cols., 1991; Yamaguchi y Anderson, 1992). Normalmente el empleo de estas rutas de administración alternativas son tecnológicamente más complicadas y, por tanto, más caras que una forma de administración oral. Además anulan el componente psicológico de ésta al no tener que seguir el paciente una pauta de dosificación determinada.

Por este motivo resultó interesante iniciar un proyecto que tuviera como objetivo la puesta a punto de un SLC oral de clorhidrato de naltrexona al ser ésta, por todo lo que ya se ha comentado, la vía de administración

más idónea (Ritschel, 1989; Khan, 1995). Pero desarrollar adecuadamente un proceso tecnológico no es suficiente; para poner a punto una forma de dosificación controlada es obligatorio demostrar la capacidad de la misma para controlar la liberación del principio activo que vehiculiza. Esto hace que sea imprescindible incluir en el proyecto un amplio programa de pruebas de liberación "*in vitro*" además de realizar, en animales, algún tipo de ensayo "*in vivo*" (Das y Gupta, 1988).

Llegado este punto, a la hora de desarrollar ese SLC oral de clorhidrato de naltrexona no se deben olvidar los requisitos fisicoquímicos y farmacocinéticos anteriormente comentados. Pero, además, en este caso, existe un interesante reto: por razones obvias, la formulación en un SLC oral eficiente de fármacos libremente hidrosolubles como el clorhidrato de naltrexona (solubilidad acuosa comprendida entre 90 y 100 mg/ml), resulta más problemática que para aquellos fármacos de carácter más lipófilo (Khan, 1995).

En base a la experiencia de nuestro grupo de investigación en el campo de la liberación controlada, fueron dos los S.L.C orales de clorhidrato de naltrexona desarrollados y evaluados: complejos poliméricos y matrices inertes.

### **1.3.1. Complejos poliméricos de naltrexona**

Desde 1990 nuestro equipo de trabajo ha venido desarrollando una técnica por la cual, en base a una reacción química entre una resina acrílica, el Eudragit® L30D, y la sal de un fármaco de carácter básico, se consigue un producto que controla por sí mismo la liberación del fármaco que vehiculiza (Alvarez-Fuentes, 1992; Alvarez-Fuentes y cols., 1994, 1995, 1996a, 1997a; Caraballo y cols., 1992; Fernández-Arévalo y cols., 1992, 1994, 1995; Holgado y cols., 1995a, 1997; Piñero y cols., 1997).

Numerosos han sido los fármacos sobre los que se ha aplicado esta técnica. Cuando se evaluaron las posibilidades de la inclusión del clorhidrato de naltrexona en la estructura polimérica del Eudragit® L30D en función de las conclusiones resultantes (Caraballo y cols., 1997c), y a tenor de los resultados obtenidos "in vivo" para el complejo polimérico de morfina desarrollado con anterioridad (Alvarez-Fuentes y cols., 1996b), parecía presumible que el proyecto para diseñar un complejo polimérico de liberación controlada de clorhidrato de naltrexona para administración oral concluyera con éxito.

### **1.3.2. Matrices inertes de clorhidrato de naltrexona**

Durante los últimos años el trabajo de nuestro equipo de investigación en el desarrollo y estudio de los sistemas matriciales inertes ha sido amplio y fructífero (Rabasco y cols., 1991, 1992; Caraballo y cols., 1993a, 1993b; Caraballo, 1994; Caraballo y cols., 1994, 1996a, 1996b, 1997a, 1997b; Fernández-Arévalo y cols., 1993; Fernández-Hervás y cols., 1995; Holgado y cols., 1992; Holgado, 1993; Holgado y cols., 1995b; Millán y cols., 1995, 1998; Vela y cols., 1994).

Como se ha comentado anteriormente, las matrices inertes están constituidas por sustancias insolubles que tras ser comprimidas forman un esqueleto poroso incluyendo al principio activo en cuestión. Su mecanismo de cesión del fármaco presenta tres fases consecutivas: en primer lugar, el líquido circundante debe penetrar en los poros de la matriz; a continuación el fármaco sufre un proceso de disolución en ese líquido circundante; y finalmente, el fármaco disuelto difunde hacia el exterior de esa forma farmacéutica (Bolós y cols., 1987). Con objeto de optimizar el desarrollo de las formulaciones más idóneas para las matrices inertes y su posterior estudio, se ha empleado en la presente Tesis Doctoral los conceptos de la Teoría de Percolación (Leuenberger y cols., 1987, 1989a; Bonny y Leuenberger, 1991, 1993; Rabasco y cols., 1992; Caraballo y cols., 1993a,

1993b; Caraballo, 1994; Caraballo y cols., 1994, 1996; Fernández-Hervás y cols., 1995; Millán y cols., 1995) cuyas principios básicos se esbozan a continuación.

### 1.3.2.1. Aplicación de la Teoría de la Percolación al estudio de Sistemas Matriciales

La Teoría de la Percolación estudia, basándose en técnicas estadísticas, sistemas desordenados o caóticos que, sin seguir los requisitos mínimos de ordenación exigidos por la Física clásica, son los más abundantes en la naturaleza. Para la Teoría de la Percolación, estos sistemas caóticos pueden describirse mediante la existencia de una red de puntos que pueden estar ocupados o vacíos. La ocupación de cada uno de los lugares de la red es totalmente aleatoria e independiente de la de los lugares que lo rodean, definiéndose  $p_s$  como la probabilidad, en tanto por uno, de que un determinado lugar de la red esté ocupado (Stauffer y Aharony, 1992a).

A partir de este concepto se define un *cluster* como un conjunto de lugares ocupados vecinos, considerando como tales aquéllos que comparten un lado de la celda que los representa en la red (Stauffer y Aharony, 1992a). La figura 4 representa un ejemplo de red, cuyos lugares (cada uno de los cuadrados que la componen) pueden estar o no ocupados (se simbolizan con una *x* los sitios ocupados, figura 4a). En la figura 4b aparecen sombreados los *clusters* existentes.

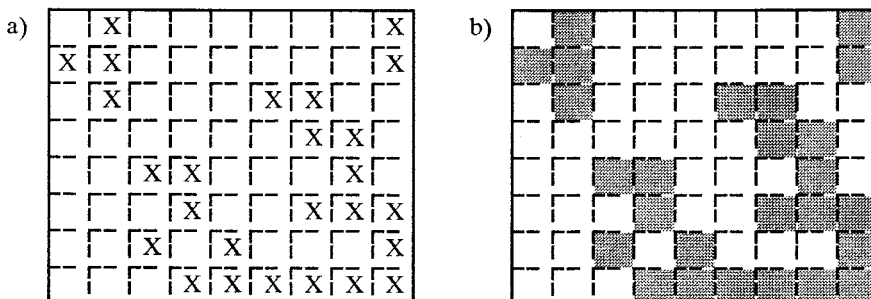


Figura 4.- Representación de una red cuadrada (se señalan con una *x* las posiciones ocupadas (a) y los clusters a los que dan lugar (b))

Uno de los conceptos más importantes que aporta la Teoría de la Percolación es el de *umbral de percolación*: cuando partiendo de valores de  $p_s$  próximos a cero se va aumentando dicho parámetro, llegará un momento en el cual exista un *cluster* que se extienda desde la parte inferior a la superior y desde la izquierda a la derecha de la red. A este *cluster* se le denomina *cluster infinito* o *cluster percolante*, y la probabilidad a la cual tiene lugar su aparición se le denomina probabilidad crítica ( $p_c$ ) o umbral de percolación (Domb, 1983; Stauffer y Aharony, 1992a).

Fue el equipo de investigación del Profesor LEUENBERGER, de la Universidad de Basilea (Suiza), el primero en introducir las ideas de la Teoría de la Percolación en el campo farmacéutico, a través de algunos trabajos (Leuenberger y cols., 1987, 1989a) en los que propone esta teoría como una nueva herramienta para mejorar el diseño de formas farmacéuticas sólidas.

Por el momento, los objetivos principales de su estudio han sido el proceso de formación de un comprimido (Holman y Leuenberger, 1988; Blattner y cols., 1990; Leuenberger y Leu, 1992), los sistemas matriciales de liberación controlada (Bonny y Leuenberger, 1991, 1993), el proceso de granulación húmeda (Leuenberger y cols., 1989b), o el mecanismo de disgregación de los comprimidos (Leuenberger y cols., 1987).

El diseño de sistemas matriciales de liberación controlada es uno de los campos que más se han beneficiado de las aportaciones de la Teoría de la Percolación a la Farmacia (Burns cols., 1990). En este sentido, nuestro equipo de investigación está trabajando en este tema desde 1991, empleando estos nuevos conceptos para conseguir una caracterización más completa tanto desde el punto de vista tecnofarmacéutico como biofarmacéutico de los sistemas matriciales de liberación controlada, de forma que se facilite un diseño más racional de los mismos (Rabasco y cols., 1992; Caraballo y cols., 1993a, 1993b; Caraballo, 1994; Caraballo y cols., 1994; Vela y cols. 1994; Fernández-Hervás y cols., 1995; Caraballo y cols., 1996a, 1996b,

1997a, 1997b). En este tipo de sistemas las partículas no se encuentran ordenadas formando una red, sin embargo se ha demostrado que es factible aplicar la Teoría de la Percolación usando las fracciones volumétricas de cada componente en lugar de la probabilidad antes citada (Zallen, 1983). De este modo, los umbrales de percolación pueden expresarse como una fracción volumétrica crítica o como una porosidad crítica ( $\epsilon_c$ ).

En un dispositivo matricial inerte de liberación controlada pueden distinguirse, en base a la Teoría de la Percolación, cuatro situaciones fundamentales que dependen de la relación fármaco/excipientes del sistema matricial (Bonny y Leuenberger, 1991; Leuenberger y cols., 1992) y que se caracterizan por unos perfiles de liberación de fármaco, a superficie constante, muy concretos.

En todo caso  $p$  representa la probabilidad de encontrar una partícula de fármaco en un punto cualquiera de la matriz.

- A.  $p < p_{c1}$ : La concentración del fármaco es inferior a la correspondiente a su umbral de percolación ( $p_{c1}$ ). En este caso, el fármaco forma *clusters* finitos, mientras que el excipiente insoluble forma un *cluster* infinito. En consecuencia, sólo se liberará la fracción de fármaco que se encuentre en los *clusters* conectados con el exterior, quedando parte del fármaco sin liberar (la fracción de fármaco encapsulada por el excipiente insoluble).
- B.  $p = p_{c1}$ : En el umbral de percolación del fármaco, la Teoría de la Percolación (Stauffer y Aharony, 1992b), predice una zona de difusión anómala.
- C.  $p_{c1} < p < p_{c2}$  (umbral de percolación del excipiente): En este caso se obtiene un sistema en el que fármaco y excipiente forman sendos *clusters* infinitos. En principio, en estos sistemas, la liberación del fármaco debe seguir una cinética difusional (Hastedt y Wright, 1990), siendo la cantidad de fármaco liberada proporcional a  $t^{1/2}$ ,

según predice la ecuación de HIGUCHI (1963).

- D.  $p_{c2} < p$ : En este último caso, el excipiente no percuela el sistema, mientras que el fármaco sí lo hace. En estos sistemas no existe, por tanto, la barrera que supone un *cluster* infinito de excipiente insoluble, por lo que se obtiene una cinética de liberación de orden cero, equivalente a la que se obtendría si el comprimido estuviese constituido por fármaco puro (Bonny y Leuenberger, 1991). Además, a medida que avanza el proceso de liberación se produce la desintegración del sistema, lo que podría conducir a una rápida liberación de la carga de fármaco remanente.

No obstante, todo lo expuesto anteriormente está referido a unos ensayos de disolución a superficie constante (una sola cara expuesta al medio de disolución). Quedaría por demostrar hasta qué punto estos comportamientos siguen presentándose si se llevan a cabo ensayos de disolución aparente, es decir con el sistema matricial libremente expuesto al medio de disolución. De este modo, si llegara a establecerse alguna correlación se mejoraría el diseño de sistemas matriciales de liberación controlada, pudiendo predecir el mecanismo de liberación del fármaco en función de la carga del mismo en el sistema matricial.

Normalmente, el perfil de liberación de los fármacos desde matrices inertes se ajusta a una cinética de Higuchi, caracterizada por una cesión de la cantidad de fármaco proporcional a la raíz cuadrada del tiempo a lo largo del proceso de liberación. Se ha demostrado que esto es así mientras la porosidad del comprimido se mantenga prácticamente constante durante todo el proceso de liberación, normalmente a bajos % p/p de fármaco (Bolós y cols., 1987).

Sin embargo, existe la posibilidad de que se produzca una saturación de fármaco en el interior de los poros de la matriz. Esto daría lugar a la aparición de una etapa en la cual la liberación del fármaco no estaría controlada por un mecanismo de difusión, sino por la velocidad de

disolución del mismo en el líquido del interior de los poros. De este modo, la velocidad de liberación se mantendría constante durante este período siguiendo una cinética de orden cero (Gurny y cols., 1982; Potter y cols., 1992).

En este sentido resulta interesante la teoría de DAVIS sobre lo que sería el perfil de liberación idóneo para un fármaco antagonista: "la liberación de un fármaco desde su forma de administración por un proceso de orden cero, es decir a una velocidad constante, permitiría el establecimiento de un estado estacionario del fármaco en sangre, proporcionando el perfil concentración plasmática del fármaco vs tiempo ideal para un fármaco de acción antagonista" (Davis, 1987).



#### 1.4. OBJETIVOS

Los objetivos propuestos en la presente Tesis Doctoral están orientados hacia la obtención de un nuevo medicamento de naltrexona, que pueda ser incluido en el arsenal terapéutico del tratamiento de deshabituación de pacientes adictos a opioides. Para ello, se pretende obtener un SLC de naltrexona que permita prolongar la duración de la respuesta antagonista permitiendo, así, aumentar el intervalo de dosificación sin poner en peligro el éxito del programa terapéutico.

Para conseguirlo, planteamos el siguiente **OBJETIVO BASICO: obtención de un SLC de naltrexona cómodo de administrar, eficaz como coadyuvante en el tratamiento de deshabituación y que mejore la calidad de vida del paciente.**

Este objetivo básico implica, a su vez, conseguir ejecutar los siguientes **OBJETIVOS CONCRETOS:**

1. Caracterizar, desde el punto de vista fisicoquímico, tanto el clorhidrato de naltrexona como el resto de los componentes de la formulación, orientando este objetivo a excluir posibles incompatibilidades y conocer comportamientos básicos del fármaco y de los sistemas a desarrollar.
2. Elaborar y evaluar desde el punto de vista galénico dos sistemas alternativos de liberación controlada de naltrexona:
  - 2.1. Complejos poliméricos, utilizando tecnología propia desarrollada y patentada por la Universidad de Sevilla.
  - 2.2. Comprimidos matriciales inertes, aplicando los conceptos implicados en la Teoría de la Percolación, tanto para su diseño como para su estudio biofarmacéutico.
3. Seleccionar el SLC de naltrexona con el que, en base a

consideraciones de tipo tecnológico, comportamiento biofarmacéutico, versatilidad de formulaciones, etc., continuar los estudios preclínicos en animales de experimentación.

4. Caracterización "*in vivo*" del SLC de naltrexona seleccionado, en comparación con el clorhidrato de naltrexona convencional, tanto en tratamientos con dosis única como repetidas, con objeto de evaluar la duración de la actividad antagonista.

## ***MATERIAL Y METODOS***

## 2.1. MATERIALES

Los productos utilizados para la realización del presente trabajo son: clorhidrato de naltrexona (*Zambón S.A., Barcelona*), Eudragit® L30D y Eudragit® RS-PM (*Hülls-Española, Barcelona*), hidróxido sódico (*Acofarma, Barcelona*), ácido clorhídrico y cloruro sódico (*Panreac, Barcelona*), metanol para HPLC y fosfato amónico dibásico (*Merck, Darmstadt*), clorhidrato de morfina (*Alcaliber, S.A., Madrid*) y carboximetilcelulosa sódica (*Analema, Vizcaya*).

### 2.1.1. Clorhidrato de naltrexona

La naltrexona, 17-ciclopropilmetil-4,5 $\alpha$ -epoxy-3,14-dihidroximorfinan-6-ona (figura 5), es un antagonista puro de los receptores opioides de estructura  $C_{20}H_{23}NO_4$  y peso molecular 341.4 (Windholz, 1983; Swinyard, 1990; Reynolds, 1996). Fue sintetizada por primera vez en 1965 por BLUMBERG Y DAYTON (Bedate-Villar y Roig-Traver, 1987).

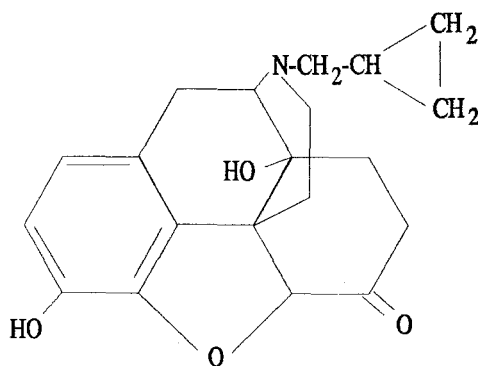


Figura 5.- Fórmula de naltrexona

El clorhidrato de naltrexona es un opioide sintético de actividad antagonista derivado de la tebaína. Se presenta como un polvo blanco cristalino con un punto de fusión de, aproximadamente, 217 °C. Su solubilidad acuosa, comprendida entre 90 y 100 mg/mL (Swinyard, 1990),

supera el límite impuesto para su formulación bajo un SLC según quedó indicado en el apartado de Introducción. Considerado como un fármaco muy soluble en agua es, por tanto, más problemático para conseguir controlar su disolución desde una formulación de liberación controlada. Sus soluciones acuosas saturadas presentan un valor de pH comprendido entre 5.2 y 5.5 unidades. Es una sustancia moderadamente soluble en metanol, poco soluble en otros alcoholes y acetona, e insoluble en disolventes clorados y en hidrocarburos. Presenta un peso molecular de 413.9 como molécula dihidratada y de 377,9 como anhidra (Swinyard, 1990; Reynolds, 1996).

### 2.1.2. Eudragit® L30D

El Eudragit® L30D (figura 6) es un copolímero aniónico de ácido metacrílico y acrilato de etilo en proporción 1:1. Comercialmente se presenta como una dispersión acuosa al 30 % p/v. Se presenta como un líquido lechoso de olor ligeramente ácido, con viscosidad inferior a 100 cp a 20 °C y densidad de 1.07 g/mL. La suspensión acuosa comercial presenta un pH que oscila entre 2 y 3 unidades.

Se caracteriza por ser un polímero resistente a pH ácido y soluble a pH superior a 5.5 unidades. Esto justifica su empleo como material de recubrimiento en formulaciones gastrorresistentes (Documentación técnica Röhm Pharma).

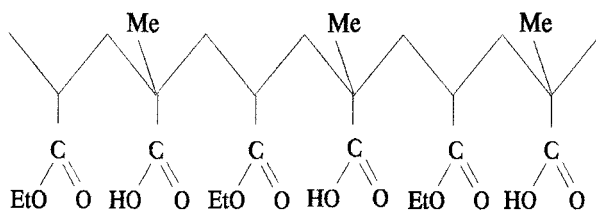
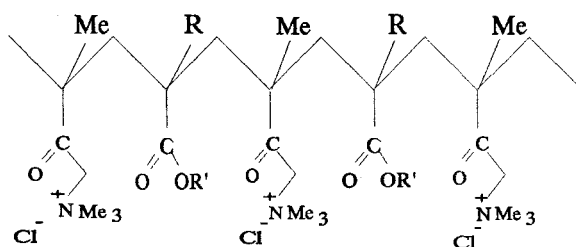


Figura 6.- Fórmula del Eudragit® L30D

### 2.1.3. Eudragit® RS-PM

El otro polímero empleado es el Eudragit® RS-PM (figura 7), copolímero a base de acrilatos y metacrilatos con un bajo contenido en grupos amonio cuaternario en forma de sal. Comercialmente se presenta como un polvo blanco con ligero olor aromático. Sus características de hinchamiento y permeabilidad en medios acuosos son independientes de las condiciones de pH gastrointestinales (Documentación técnica Röhm Pharma).



R: H, Me  
R': Me, Et

Figura 7.- Fórmula del Eudragit® RS-PM

## 2.2. METODOS

### 2.2.1. Caracterización del clorhidrato de naltrexona

Previo al desarrollo y estudio de los dos SLC de naltrexona, se procedió a la caracterización del fármaco considerando aquellos aspectos más interesante para el desarrollo y caracterización de ambas formulaciones.

#### 2.2.1.1. Técnicas de cuantificación del clorhidrato de naltrexona

En este apartado se pretenden estudiar aquellos métodos analíticos que permitan la determinación cuantitativa del fármaco en cada uno de los ensayos que se llevarán a cabo para la realización de la presente memoria.

##### 2.2.1.1.1. *Espectrofotometría UV*

Al presentar una metodología simple y sencilla, se ha recurrido a la espectrofotometría UV (*Hitachi, mod. U-2000*) como técnica analítica rápida y directa. El método espectrofotométrico puesto a punto se empleó en aquellos casos en que no existían problemas de interferencia con otras sustancias, por ejemplo en el estudio de la solubilidad acuosa del fármaco.

Conocido el máximo de absorbancia para el clorhidrato de naltrexona, 283 nm, se procedió a establecer la *linealidad* del método cromatográfico realizando una recta de calibrado. En esta ocasión se partió de una solución madre del principio activo con 600 mg de producto en 1000 mL de agua destilada, obteniendo a partir de ella disoluciones acuosas con las siguientes concentraciones: 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 y 3.125  $\mu\text{g/mL}$ . La medida de cada una de las disoluciones se efectuó por triplicado.

La *precisión* de la técnica analítica se estudió realizando medidas de una solución acuosa de clorhidrato de naltrexona de 200  $\mu\text{g/mL}$ , primero, a lo largo de una misma jornada de trabajo (precisión intra-día), y luego, durante cuatro jornadas diferentes (precisión inter-día).

Respecto al estudio de la *exactitud* del método, se cuantificaron por triplicado distintas disoluciones de fármaco de concentraciones comprendidas en el intervalo en que se evaluó la linealidad del método, 6.25 y 400  $\mu\text{g/mL}$ .

#### 2.2.1.1.2. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

En esta sección se pretende conseguir la puesta a punto de una técnica analítica, alternativa a la espectrofotometría UV, que evite la interferencia con el Eudragit® L en determinados ensayos.

Con este fin, se eligió el método de análisis por cromatografía de alta resolución (HPLC). El cromatógrafo utilizado se compone de:

- \* Bomba de flujo constante (*Kontron, mod. 420*).
- \* Inyector de válvula rotatoria dotado con un bucle que introduce 20  $\mu\text{L}$  por inyección (*Rheodyne, mod. 7125*).
- \* Detector espectrofotométrico (*Kontron, mod. 432*) de longitud de onda variable, dotado de una microcélula de 8  $\mu\text{L}$  de capacidad.
- \* Registrador-integrador (*Konik, mod. Data Jet 4600*).

Respecto al sistema cromatográfico, éste se compone de los siguientes elementos:

- \* Columna (*Merck, mod. Aluspher 60 RP-select B*) de 125 mm de longitud y 4 mm de diámetro, de acero inoxidable, rellena con partículas de silicagel enlazadas con partículas de octadecilsilano de 5  $\mu\text{m}$  de diámetro.
- \* Precolumna (*Merck, mod. LiChrospher 100 RP-18*) de las mismas características que la columna, pero de 4 mm de longitud y 4 mm de diámetro.



Para la cuantificación del clorhidrato de naltrexona se seleccionó la longitud de onda donde se produce el máximo de absorbancia, 283 nm, y se ensayaron diferentes proporciones metanol/agua en el eluyente: 40:60, 50:50, 70:30 y 75:25 para encontrar el tiempo de retención más adecuado. Uno de los parámetros empleados para la selección de la fase móvil fue el *factor de capacidad* (Ec. 1).

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (\text{Ec.1})$$

siendo:  $t_R$ , el tiempo de retención para el clorhidrato de naltrexona,

$t_0$ , el tiempo de retención para el frente del eluyente.

A continuación, se determinó la *linealidad* del método cromatográfico realizando una recta de calibrado en la que se utilizó el área de los picos para conocer las concentraciones del fármaco. Se partió de una solución madre del principio activo con 1000 mg de producto en 1000 mL del eluyente utilizado. Esta solución madre se diluyó hasta obtener las siguientes concentraciones: 800, 400, 200, 100, 50, 25, 12.5 y 6.25  $\mu\text{g/mL}$ . El análisis fue efectuado en condiciones isocráticas a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C) y efectuando la medida de cada solución por triplicado.

Para determinar la *precisión* de la técnica analítica, se realizó un estudio estadístico inyectando muestras de una solución de clorhidrato de naltrexona en el eluyente empleado con una concentración de 400  $\mu\text{g/mL}$ . Por un lado, se inyectaron 20 muestras de la citada solución a lo largo de una misma jornada de trabajo (precisión intra-día) y, por otro, otras 20 muestras fueron inyectadas repartidas entre cinco jornadas consecutivas (precisión inter-día).

Finalmente, se analizaron por triplicado una serie de soluciones de clorhidrato de naltrexona, de valores de concentración comprendidos entre 6.25 y 1000  $\mu\text{g/mL}$ , para así comprobar la *exactitud* o aproximación del

método de valoración desarrollado a las concentraciones reales. De este modo determinamos no sólo el intervalo de concentraciones en que la respuesta del detector es lineal, sino también aquél en que la determinación experimental del clorhidrato de naltrexona es exacta.

#### 2.2.1.1.3. Conductivimetría

En los últimos años el análisis conductivimétrico ha sido utilizado por nuestro grupo de investigación para determinar la cantidad de KCl (sustancia iónica altamente soluble empleada como fármaco modelo) liberada desde sistemas matriciales inertes (Caraballo y cols., 1993a, 1993b; Millán y cols., 1995). De esta forma se disponía de un método de cuantificación rápido y sencillo, que además permitía obtener datos experimentales a gran velocidad sin necesidad de manipular las muestras e introducir errores.

El sistema consiste en el acoplamiento de un conductivímetro (*Crison micro CM-2201*) a un ordenador personal, lo que hace posible conseguir datos de conductividad y, por tanto, de concentración cada segundo.

Para validar el método conductivimétrico se hace necesaria la comparación con los resultados obtenidos con una sustancia iónica modelo, el KCl.

Para el estudio de *linealidad*, a partir de una solución madre (1000  $\mu\text{g/mL}$ ) se prepararon por dilución las siguientes disoluciones: 600, 300, 150 y 50  $\mu\text{g/mL}$  para el KCl, y 600, 300, 150, 75 y 50  $\mu\text{g/mL}$  para el clorhidrato de naltrexona.

En ambos casos, la *precisión* del método se estudió analizando 20 veces en una misma jornada de trabajo una solución de una concentración de 150  $\mu\text{g/mL}$  (precisión intra-día). A continuación la precisión inter-día se valoró a partir de la cuantificación por quintuplicado de esta misma solución en cuatro jornadas diferentes.

Finalmente la *exactitud* del método conductivimétrico fue evaluada, en ambos casos, en un intervalo de concentraciones comprendido entre 50 y 1000  $\mu\text{g/mL}$ .

### **2.2.1.2. Caracterización térmica del clorhidrato de naltrexona**

#### *2.2.1.2.1. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)*

Mediante esta técnica se obtienen termogramas que ponen de manifiesto la existencia de procesos físicos endotérmicos, tales como la fusión o la desolvatación, y procesos exotérmicos, principalmente debidos a fenómenos de degradación (Skoog y West, 1987).

El equipo utilizado para este estudio, *Mettler, FP85, FP80 HT y FP89 HT*, está compuesto por un horno, una unidad de control de temperatura y el software correspondiente. Las muestras en estudio, con un peso entre 5 y 10 mg, encapsuladas en portamuestras de aluminio de 40  $\mu\text{L}$  de capacidad y perforados, se someten a un barrido con una velocidad de calentamiento de 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , en un intervalo de temperaturas comprendido entre 30 y 320  $^{\circ}\text{C}$ . Para cada muestra se han realizado, al menos, tres experiencias.

El empleo de esta técnica permitió caracterizar, desde el punto de vista térmico, el clorhidrato de naltrexona y los polímeros Eudragit® L30D y Eudragit® RS-PM, así como estudiar el comportamiento térmico de las mezclas físicas del fármaco con ambos componentes con el fin de comprobar la inexistencia de problemas de incompatibilidad fisicoquímica. Las mezclas físicas se prepararon en proporción 1:1, al ser ésta la más apropiada por aumentar la posibilidad de que se detecte una posible interacción física o química (Ford y Timmins 1989d; Holgado y cols., 1995c).

#### *2.2.1.2.2. Microscopía de Platina Caliente (HSM)*

Este procedimiento permite visualizar aquellos posibles cambios que

una sustancia experimenta con el aumento progresivo de la temperatura, como por ejemplo, procesos de fusión y descomposición. Se empleó para ello una platina caliente *Mettler FP 82HT* acoplada a un microscopio óptico *Olympus BH-2* (objetivo 10x) con un dispositivo de registro. La velocidad de calentamiento del sistema fotográfico (unidad de control *Mettler FP 80HT*) en el intervalo de temperaturas comprendido entre 30 y 320 °C fue de 10 °C/min, descendiendo ésta a 2 °C/min al aproximarse al punto de fusión del fármaco (calculado por DSC).

### **2.2.1.3. Caracterización del clorhidrato de naltrexona en estado sólido**

#### *2.2.1.3.1. Difracción de Rayos-X (XRD)*

Los difractogramas de rayos X correspondientes a las distintas muestras en polvo se obtuvieron mediante un equipo de XRD (*Siemens model D-501*) provisto de un detector de centelleo y usando un monocromador de grafito y cuatro rendijas fijas. Se empleó una radiación de  $\text{CuK}\alpha$  (1.54050 Å), a un voltaje de aceleración de 26 mA y 36 kV. Los diagramas de XRD se realizaron en un intervalo de 2 - 70 °, una anchura de paso de 0.05 ° ( $2\theta$ ) y 1 s de tiempo de contaje. La adquisición de datos se realizó con el programa DACO-MP de *Siemens* y su tratamiento (determinación del pico, representaciones gráficas, etc.) mediante el programa de software para el análisis de polvo de XRD (*DIFFRACT-AT de Siemens*). Las muestras se prepararon en montaje desorientado al azar utilizando un portamuestras rectangular de aluminio.

Esta técnica de caracterización en estado sólido se empleará posteriormente en el estudio de higroscopicidad del clorhidrato de naltrexona.

#### *2.2.1.3.2. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)*

En este apartado se pretenden determinar las características de

tamaño y forma de las partículas del clorhidrato de naltrexona comercial. Para ello se empleó la Microscopía Electrónica de Barrido (*Philips XL-30*) aplicando a una muestra del fármaco, sin tamizar, una fina película de carbón en cámara Edwards. Con el mismo procedimiento se analizaron las partículas de Eudragit® L30D (obtenido por secado en estufa) y Eudragit® RS-PM, tamizándolos, en ambas ocasiones, para seleccionar el intervalo de tamaño de partícula comprendido entre 100 - 150  $\mu\text{m}$ .

Mediante esta técnica se determinaron los parámetros de forma del clorhidrato de naltrexona considerando 100 partículas del mismo. Así, se calculó la razón de los diámetros máximos respecto a los ejes  $x$  e  $y$ , también denominada razón de aspecto ( $a$ ), y el factor de forma ( $S$ ). Partículas esféricas o cúbicas presentan valores de  $a$  próximos a 1 y un valor máximo de  $S$  de 1. Por otro lado, partículas elongadas vienen definidas por valores de  $S < 1$ ; cuanto más elongada sea la partícula más pequeño será el valor de  $S$  (Staniforth, 1995; Holgado y cols., 1996b).

Respecto al tamaño de las partículas de clorhidrato de naltrexona, se evalúan otros tres parámetros obtenidos por microscopía: el diámetro esférico equivalente ( $ECD$ ), definido como el diámetro de la esfera que posee el mismo área que la partícula en cuestión; y los diámetros máximo y mínimo ( $D_{max}$ ,  $D_{min}$ ) (Holgado y cols., 1996b; Gómez-Amoza, 1997).

Los resultados obtenidos se expresan como la media y su respectivo intervalo de confianza ( $p < 0.01$ ).

#### **2.2.1.4. Estudio de solubilidad del clorhidrato de naltrexona**

Los fármacos que se administran vía oral en estado sólido, buscando un efecto sistémico, han de disolverse en los fluidos gastrointestinales antes de ser absorbidos. Es por ello oportuno determinar la solubilidad acuosa del clorhidrato de naltrexona, además de en agua destilada, en el intervalo de pH característico del tracto gastrointestinal y en medios acuosos con diversos valores de fuerza iónica.

#### 2.2.1.4.1. Determinación de la solubilidad acuosa

Según la ecuación de Noyes-Whitney (Ec. 2), la velocidad de disolución de un sólido en un medio de disolución dado depende, entre otros factores, de la solubilidad del mismo en ese medio.

$$\frac{dC}{dt} = \frac{D \cdot A}{h} (C_s - C_t) \quad (\text{Ec2})$$

- siendo, A: superficie de fármaco en contacto con el medio de disolución  
D: coeficiente de difusión del soluto en el medio  
h: espesor de la capa de difusión  
C<sub>s</sub>: concentración de saturación  
C<sub>t</sub>: concentración del fármaco en el medio de disolución en un tiempo t

Por este motivo, el primer paso para determinar las características de disolución del clorhidrato de naltrexona fue el cálculo de su solubilidad acuosa. Para ello se adicionó fármaco en exceso a un total de tres matraces erlenmeyer con un volumen de agua idéntico y conocido. Tras conseguir la saturación del medio, el sistema se mantiene en agitación (*Selecta Rotatorm*) durante 7 días a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C). Transcurrido este tiempo y tras centrifugación, filtramos adecuadamente (*Millipore 0.45 μm*) el sobrenadante de cada una de las soluciones, determinando el contenido en fármaco de los distintos filtrados por espectrofotometría UV.

#### 2.2.1.4.2. Influencia del pH sobre la solubilidad acuosa

Una vez conocida la solubilidad acuosa experimental del clorhidrato de naltrexona, se determinó su solubilidad en agua a diferentes valores de pH con el fin de determinar la influencia del pH del medio sobre la solubilidad y, por tanto, la velocidad de disolución del clorhidrato de naltrexona en ese medio. Así, partiendo de una solución tampón de fosfatos disódico y monopotásico (*Panreac, Barcelona*) de pH = 7, se emplea una solución de NaOH 0.1 N, y otra de ClH 0.1 N para obtener los siguientes valores de pH: 1.96, 3.27, 4.22, 5.87, 7.01 y 8.24. Posteriormente, se adicionó fármaco en exceso a cada una de las soluciones indicadas y se sigue

el mismo procedimiento indicado en el apartado anterior.

#### 2.2.1.4.3. *Influencia de la fuerza iónica sobre la solubilidad acuosa*

Para estudiar la influencia que la fuerza iónica ejerce sobre la solubilidad del clorhidrato de naltrexona, se emplearon soluciones acuosas de NaCl de concentraciones crecientes de 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 M, siguiendo el procedimiento indicado anteriormente.

### **2.2.2. Complejos poliméricos naltrexona-Eudragit L**

#### **2.2.2.1. Elaboración de los complejos poliméricos**

La técnica de formación de complejos entre un polímero acrílico, Eudragit® L, y la sal de un fármaco de carácter básico, se basa en la reacción química que tiene lugar, en medio acuoso, entre la resina acrílica parcialmente neutralizada y el fármaco en cuestión.

Esta técnica de complejación se encuentra patentada por la Universidad de Sevilla (Título: *Sistemas de Liberación Controlada de morfina y otros fármacos solubles en agua por complejación con sustancias poliméricas*, nº 9401748), estando la tecnología implicada en el proceso bajo licencia de explotación.

El fármaco utilizado debe cumplir los siguientes requisitos: debe tratarse de un compuesto aminado soluble en agua en su forma salina, de peso molecular mayor de 200 y  $pK_a$  comprendido entre 4 y 12 unidades.

Para elaborar los complejos poliméricos de naltrexona se parte de una suspensión acuosa del polímero Eudragit® L al 6 % p/v (preparada a partir de la suspensión comercial que se presenta al 30 % p/v), que se neutraliza parcialmente con una solución de NaOH 1N en función del índice de acidez del polímero (315 mg de KOH/g de resina) y del grado de neutralización necesario. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente y bajo fuerte agitación, condiciones que se mantienen hasta 15 minutos después de añadir

la totalidad de la solución de hidróxido sódico.

En trabajos previos se determinó la influencia del grado de neutralización de la resina sobre el rendimiento del proceso de complejación (Alvarez-Fuentes, 1992, Alvarez-Fuentes y cols. 1994; Fernández-Arévalo y cols., 1994; Holgado y cols., 1995a, 1997a). Considerando los resultados obtenidos en estos trabajos y las características estructurales del clorhidrato de naltrexona, se decidió investigar un intervalo reducido de porcentajes de neutralización: 38, 39, 40 y 41 %.

Tras la neutralización parcial de la resina acrílica, el sistema se mantiene en reposo durante 24 horas. Posteriormente, a cada lote se adiciona la solución acuosa de clorhidrato de naltrexona, a concentración cercana a su saturación, a temperatura ambiente y bajo fuerte agitación, manteniéndose ésta posteriormente durante 30 minutos. Transcurridas 24 horas de reposo, se recoge por filtración un precipitado blanquecino que se deseca en estufa a una temperatura entre 35 y 40 °C, se tritura y se lava con agua destilada. Finalmente, tras desecar de nuevo en estufa, se vuelve a triturar y se separa por tamización (*Retsch, tipo Vibro*) la fracción comprendida entre 75 y 300  $\mu\text{m}$ .

## **2.2.2.2. Caracterización de los complejos poliméricos**

### *2.2.2.2.1. Caracterización térmica*

La caracterización térmica por DSC del producto naltrexona-Eudragit L se realizó mediante un estudio comparativo entre los termogramas del citado producto y los de las mezclas físicas 1:1 de los productos originales. De esta manera, se pueden poner de manifiesto las posibles interacciones establecidas entre ambos productos tras el proceso de complejación, discerniendo entre la posibilidad de obtener una simple mezcla física o no.

El procedimiento empleado ha sido ya descrito en el apartado 2.2.1.2.1.



#### 2.2.2.2.2. *Caracterización por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)*

Se empleó la microscopía electrónica de barrido según el procedimiento descrito en el apartado 2.2.1.3. Para este estudio, el producto naltrexona-Eudragit L se tamizó para aislar la fracción de tamaño de partículas comprendido entre 100 - 150  $\mu\text{m}$ .

#### 2.2.2.2.3. *Caracterización química por técnicas espectroscópicas*

La interacción que se origina en el producto naltrexona-Eudragit L se estudió mediante técnicas espectroscópicas de Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

Para este estudio, se llevó a cabo el análisis de las sustancias aisladas (Eudragit® L, clorhidrato de naltrexona y naltrexona base) así como del producto naltrexona-Eudragit L.

Los espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -RMN se han registrado empleando un aparato Bruker 200-AC y DMSO- $d_6$  como disolvente.

#### 2.2.2.2.4. *Determinación del rendimiento del proceso de complejación*

La riqueza en fármaco del producto naltrexona-Eudragit L se determinó usando la técnica de HPLC indicada previamente en Material y Métodos. Este estudio se realizó para todos los lotes elaborados a distintos porcentajes de neutralización del Eudragit® L.

El rendimiento del proceso de complejación se evaluó considerando dos factores: cantidad de complejo obtenida y contenido en fármaco.

#### 2.2.2.2.5. *Caracterización biofarmacéutica*

Al utilizar para la obtención del producto naltrexona-Eudragit L una

resina polimérica de solubilidad pH dependiente, el estudio de liberación del fármaco se realizó a gradiente de pH, con el fin de simular las condiciones fisiológicas del tracto gastrointestinal (Holgado, 1993).

Los ensayos de disolución *in vitro* del producto naltrexona-Eudragit L (100 mg introducidos en cápsula de gelatina dura) se han realizado por triplicado durante 8 horas a  $37 \pm 0.5$  °C y 50 r.p.m. Durante la primera hora, el pH del medio receptor se mantuvo a 1.2 unidades. A la hora se adicionó un volumen determinado de solución de NaOH 4 N hasta alcanzar un pH de 1.9 unidades. Esta operación se repitió a partir de la segunda hora con soluciones de NaOH 1 y 0.5 N para conseguir los valores de pH indicados en la tabla 1.

	pH = 1.2	pH = 1.9	pH = 5.8	pH = 6.8	pH = 7.4
0 - 1 h	■				
1 - 2 h		■			
2 - 3 h			■		
3 - 4 h				■	
4 - 8 h					■

Tabla 1.- Evolución del pH para los ensayos de liberación

Para el estudio de disolución *in vitro* se empleó el aparato 1 de disolución de comprimidos y cápsulas descrito en U.S.P. 23 (Turu Grau, mod. D-6).

Como medio de disolución inicial se emplearon 500 mL de fluido gástrico artificial sin enzimas elaborado según fórmula propuesta por U.S.P. 23: cloruro sódico (2 g), ácido clorhídrico (2.45 g) y agua purificada c.s.p. 1000 mL.

Los perfiles de liberación obtenidos en gradiente de pH se estudiaron realizando un ajuste de los datos a diversos modelos cinéticos. En este sentido se investigaron cuatro modelos:

\* Modelo de orden cero, en donde la cantidad de fármaco liberado es función lineal del tiempo. Es independiente, por tanto, de la concentración de principio activo presente en la forma de administración.

\* Modelo de orden uno, cinética en la cuál se va liberando fármaco proporcionalmente a la concentración existente en cada momento en la forma de dosificación.

\* Modelo de Higuchi, según el cual la relación entre cantidad de principio activo disuelto y la raíz cuadrada del tiempo es una función lineal.

\* Modelo de Korsmeyer, basado en la aplicación de una ecuación exponencial para analizar los datos de liberación de fármacos solubles en agua desde sistemas poliméricos (Korsmeyer y cols., 1983; Peppas, 1985; Danckwerts y cols., 1997).

El ajuste de los datos experimentales a las funciones descritas se recogen, modo de resumen, en la siguiente tabla:

Modelo	Función	Ecuación
Orden cero	Lineal	$Q = K_0 t + a$
Orden uno	Exponencial	$Q' = a e^{-k_1 t}$
Higuchi	Lineal	$Q = K_H \sqrt{t} + a$
Korsmeyer	Exponencial	$Q/Q_{100} = K_K t^n$

siendo: Q, la cantidad de fármaco liberada por la forma de dosificación en un tiempo t,  
 Q', la cantidad de fármaco remanente en la forma farmacéutica en un tiempo t,  
 Q/Q<sub>100</sub>, fracción de fármaco liberada en el tiempo t.

Tabla 2.- Funciones consideradas para el análisis de regresión de los perfiles de liberación

### **2.2.3. Matrices inertes de clorhidrato de naltrexona**

#### **2.2.3.1. Elaboración de los sistemas matriciales inertes**

Los comprimidos matriciales inertes se elaboraron empleando mezclas binarias de distinta carga de clorhidrato de naltrexona con Eudragit® RS-PM como único excipiente. Para ello, se ha utilizado el polvo entero del fármaco y la fracción granulométrica de Eudragit® RS-PM comprendida entre 100-150  $\mu\text{m}$  seleccionada mediante tamizadora eléctrica (*Retsch, mod. Vibro*) y tamices adecuados (*C.I.S.A.*).

Los comprimidos matriciales de clorhidrato de naltrexona, con un peso medio de 500 mg, se han elaborado por compresión directa mediante una máquina de comprimir excéntrica (*Bonals, mod. AE-50*), con punzones planos de 12 mm de diámetro y a la fuerza de compresión máxima admitida por las distintas formulaciones.

#### **2.2.3.2. Caracterización de los sistemas matriciales inertes**

##### *2.2.3.2.1. Caracterización galénica*

El peso de los comprimidos se determinó utilizando 10 unidades de cada lote en balanza de precisión (*Mettler, type AE-50*).

La altura de los mismos se ha determinado mediante el empleo de un micrómetro (*Export - Pel*), de sensibilidad 0.05 mm, sobre 10 comprimidos de cada lote.

El diámetro de los comprimidos se determinó a partir de 10 unidades de cada lote con el mismo micrómetro que el usado para el ensayo anterior. Finalmente la resistencia a la rotura, ha sido estudiada empleando un durómetro (*Schleuniger, mod. 2E/205*), sobre un total de 3 comprimidos por lote.

Mediante análisis de varianza (una vía) de los resultados de cada

ensayo se evalúa la influencia de la carga de fármaco sobre cada uno de los parámetros en estudio. Se considera significativo un valor de  $p < 0.05$ . En caso de que exista significación estadística se emplea el test de Student-Newman-Keuls como *post hoc*.

#### 2.2.3.2.2. Caracterización por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Para este estudio se han empleado dos tipos de detectores diferentes: un detector de electrones secundarios (SE), que proporciona una imagen tridimensional de la superficie del comprimido, y un detector de electrones retrodispersados (BSE), que aún ofreciendo una imagen bidimensional presenta la ventaja de proporcionar una mayor información sobre la naturaleza de las sustancias analizadas, ya que estos electrones poseen una mayor capacidad de penetración.

Con ayuda de las microfotografías obtenidas se estudió el aspecto del corte transversal y de la superficie de los comprimidos matriciales así como la distribución de los distintos componentes constituyentes de las matrices y el aspecto del sistema después de haber efectuado el correspondiente estudio de liberación.

#### 2.2.3.2.3. Caracterización biofarmacéutica

Los ensayos de disolución *in vitro* se llevaron a cabo por triplicado durante 8 horas a  $37 \pm 0.5$  °C y 50 r.p.m., empleando una técnica de gradiente de pH con el fin de simular las condiciones fisiológicas del tracto gastrointestinal. Como medio de disolución inicial se emplearon 500 mL de fluido gástrico artificial sin enzimas elaborado según fórmula propuesta por U.S.P. 23.

El ajuste a distintos modelos cinéticos de los perfiles de liberación de los comprimidos matriciales ensayados fue similar al realizado para los complejos poliméricos de naltrexona.

## **2.2.4. Estudio *in vivo* del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L mediante modelo experimental en ratón**

### **2.2.4.1. Animales**

Se utilizaron ratones albinos machos, cepa OF1 (Servicio Centralizado de Animalario de la Universidad de Cádiz), con un peso comprendido entre 25 - 30 g.

Los animales se distribuyeron al azar en cajas de polipropileno con dimensiones de 25 x 50 x 15 cm, con un lecho compuesto por viruta de madera Ultrasorb® (*Panlab, Barcelona*). Se utilizaron lotes de 10 animales para cada experiencia. Las cajas que contenían cada uno de los lotes de distinguieron con una tarjeta y los animales se identificaron utilizando tinta indeleble para marcar sus colas.

Los animales permanecieron sometidos a una temperatura constante de  $21 \pm 1$  °C y un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los distintos lotes de animales fueron colocados en el laboratorio 24 horas antes de dar comienzo la experiencia en condiciones análogas a las que se encontrarían durante la misma. El aire del laboratorio se renovó a una velocidad de 15 cambios/hora, controlando la humedad relativa en un  $55 \pm 10$  %.

Los animales se alimentaron con piensos AO4 (*Panlab, Barcelona*). Su composición porcentual (p/p) era la siguiente: proteínas ( $>17.0$  %), lípidos ( $>3.0$  %), glúcidos (58.7 %), celulosa (4.3 %) y minerales (5 %). Su nivel de humedad no superó el 12.0 %. El valor energético de un kilogramo de pienso era de 2900 calorías.

El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Ética para la Experimentación Animal (CEEA) de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cádiz (n° de licencia 079604). Todos los experimentos se llevaron a cabo siguiendo las normas éticas de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IAPS, 1980).

### 2.2.4.2. Modelo experimental de dolor

Normalmente para el estudio preclínico de sustancias opioides y relacionadas se emplean diversos modelos experimentales de dolor, como son el test de la placa caliente, el test de la fenilquinona, la pérdida de reflejos o la depresión respiratoria inducidas por oximorfona, el método de Straub y el test de retirada de cola o *tail flick*. En nuestra investigación, se utilizó el conocido como *Test de la placa caliente o hot plate* (Woolfe y McDonald, 1944), empleado con asiduidad para el estudio de antagonistas opioides frente a morfina como fármaco analgésico patrón (Heilman y cols., 1976; Carrara y cols., 1990; Rosland y Hole, 1990; Fuentes y cols., 1994). En este test se evalúa el tiempo que tarda el animal en responder a un estímulo doloroso.

Para llevar a cabo el test se colocó al animal sobre una placa caliente (*Socrel, modelo DS 37Digital*) mantenida termostáticamente a  $55.0 \pm 0.2$  °C durante todo el ensayo (Narita y cols., 1993) y se observó el tiempo que tardaba el animal en presentar la primera respuesta, normalmente el lameteo de las patas anteriores. Este intervalo de tiempo se conoce como *latencia al dolor*.

La duración del test para cada animal fue de 45 segundos, existiera o no respuesta del animal, evitando así posible daño tisular. Este es el tiempo de corte o *cut off*, y se relaciona con el *máximo efecto analgésico*.

### 2.2.4.3. Procedimiento experimental

#### 2.2.4.3.1. Ensayos preliminares con clorhidrato de morfina

El objetivo de estos ensayos es determinar, por un lado, la vía de administración óptima del analgésico y, por otro, el intervalo de tiempo entre la administración de clorhidrato de morfina y el inicio del test en que se producía un efecto analgésico máximo.

Las vías de administración ensayadas con este fin fueron la intraperitoneal y la subcutánea, empleando, inicialmente, dosis de 3 y 7 mg/Kg de clorhidrato de morfina, respectivamente (Barnes y Eltherington, 1973). Para cada una de estas vías se llevaron a cabo experiencias a distintos tiempos: 10 y 15 minutos para la administración intraperitoneal y 10 y 20 minutos para la subcutánea. En cada caso la prueba se repitió a un intervalo de tiempo equidistante, inferior o superior, hasta que se obtuvo un valor máximo de latencia incluido entre dos valores más bajos.

A continuación, fijado el tiempo a que debe administrarse el clorhidrato de morfina para cada una de las vías y considerando el efecto de las dosis ensayadas previamente, se buscó la dosis de fármaco capaz de producir un máximo efecto analgésico por ciento (M.E.P.) de entre el 80 - 90 %. El máximo efecto analgésico por ciento, M.E.P. (%), se expresa en función de la siguiente fórmula (Ec. 3) (Ardid y cols., 1992; Gong y cols., 1992):

$$M.E.P. = \frac{lat_{MF} - lat_{SSF}}{cut\ off - lat_{SSF}} * 100 \quad (Ec3)$$

siendo:  $lat_{MF}$ , el valor medio del tiempo que tarda en aparecer la primera respuesta en los animales tratados con el analgésico;

$lat_{SSF}$ , el valor medio del tiempo que tarda en manifestarse la primera respuesta en los animales tratados con solución salina fisiológica.

Los resultados obtenidos en esta fase experimental se expresan como la media  $\pm$  EE de las latencias al dolor (en segundos) de los animales de cada lote.

El último paso fue seleccionar la vía de administración de clorhidrato de morfina que proporcionaba los resultados más estables y reproducibles considerando el tiempo y la dosis previamente establecidos. Esta selección se hizo en base a un estudio de reproducibilidad consistente en la realización de tres pruebas repetidas en el mismo día (intra-día) y en tres días diferentes



(inter-día).

Para el análisis estadístico se usaron los valores absolutos de latencia empleando una *t* de Student. Se consideró como significativo un valor de  $p < 0.01$ .

#### 2.2.4.3.2. Evaluación de la actividad antagonista del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L

En esta experiencia, el diseño del protocolo permite descartar cualquier posible actividad del agente polimérico que vehiculiza la naltrexona en el sistema evaluado. La actividad antagonista se estudia cuando el complejo polimérico de naltrexona es administrado a una dosis de 16 mg/Kg de principio activo, equivalente a 45.7 mg/Kg de complejo (Blumberg y Dayton, 1974), vía oral 2 horas y 4 horas antes del inicio del test, con ayuda de una sonda flexible bajo la forma de una suspensión acuosa en carboximetilcelulosa sódica (1 % p/v). Los lotes de animales evaluados en las siguientes experiencias quedan definidos según se refleja en la tabla 3.

Lote	Tratamiento oral	Tratamiento subcutáneo
SSF/SSF	Solución salina fisiológica	Solución salina fisiológica
Eud/SSF	Eudragit® L	Solución salina fisiológica
SLCN/SSF	Naltrexona-Eudragit L	Solución salina fisiológica
SLCN/MF	Naltrexona-Eudragit L	Clorhidrato de morfina
Eud/MF	Eudragit® L	Clorhidrato de morfina

Tabla 3. Descripción de los lotes de animales empleados para el estudio de la actividad antagonista del producto naltrexona-Eudragit L

La actividad antagonista puede ser también estudiada en base al concepto de máximo efecto antagonista por ciento calculado a partir de la expresión de M.E.P. (%), redefinido según la siguiente fórmula (Ec. 4):

$$M E. P. = \frac{lat_{Eud/MF} - lat_{ANT/MF}}{lat_{Eud/MF} - lat_{SSF/SSF}} * 100 \quad (Ec4)$$

siendo:  $lat_{Eud/MF}$ , el valor medio del tiempo que tarda en aparecer la primera respuesta en los animales tratados sólo con el analgésico;

$lat_{ANT/MF}$ , el valor medio del tiempo que tarda en aparecer la primera respuesta en los animales tratados con analgésico y previamente con el antagonista.

$lat_{SSF/SSF}$ , el valor medio del tiempo que tarda en aparecer la primera respuesta en los animales tratados con solución salina fisiológica.

Este parámetro da idea del porcentaje de efecto analgésico que el tratamiento con el producto antagonista es capaz de inhibir.

#### 2.2.4.3.3. Estudio de la inhibición de la actividad analgésica inducida por morfina tras la administración en dosis única del complejo naltrexona-Eudragit L a distintos tiempos

La actividad antagonista de nuestro complejo polimérico se evalúa en función de la *inhibición porcentual de la actividad analgésica* inducida por la morfina, comparando ésta con el efecto antagonista ejercida por el clorhidrato de naltrexona convencional, administrado por sondaje gástrico a la misma dosis.

Las experiencias llevadas a cabo en este bloque permitirán, en comparación con una dosis igual de naltrexona de liberación convencional, estudiar la evolución en el tiempo de la inhibición porcentual de la analgesia inducida por morfina cuando el producto naltrexona-Eudragit L se administró 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16 horas antes de la realización del test de analgesia.

Los resultados obtenidos en esta fase experimental se expresan como la media  $\pm$  EE de las latencias al dolor (en segundos) de los animales de cada lote y en términos de *efecto analgésico (%)*; el valor de latencia de cada lote estudiado presentará un porcentaje determinado frente al valor de latencia obtenido para el lote tratado sólo con clorhidrato de morfina, referido como el 100 %. Para el análisis estadístico se emplearon los valores

absolutos de latencia empleando el test de Student-Newman-Keuls tras establecer un efecto significativo mediante análisis de varianza (una vía) para la evaluación de la actividad antagonista. Se consideró como significativo un valor de  $p < 0.05$ .

*2.2.4.3.4. Estudio de la inhibición de la actividad analgésica inducida por morfina tras la administración del complejo naltrexona-Eudragit L en dosis repetidas*

En este apartado la actividad de los complejos poliméricos naltrexona-Eudragit L se estudia de forma análoga a las experiencias anteriores pero tras haber efectuado sucesivas administraciones del producto en días alternos. De esta forma se evalúa la acumulación de la actividad antagonista de ambos productos, naltrexona convencional y complejo polimérico naltrexona-Eudragit L, después de 1, 4 y 8 administraciones.

En este apartado se pretende establecer cuál de los dos productos antagonistas ve aumentado su actividad, en mayor medida, debido al establecimiento de administraciones repetidas. Para las experiencias de este bloque se reduce la dosis de antagonista hasta 10 mg/Kg, norma habitual para los tratamiento crónicos (Bianchi y Panerai, 1993).

Los datos obtenidos se tratan de idéntica forma a la indicada en el apartado anterior.

## ***RESULTADOS Y DISCUSIÓN***

### 3.1. CARACTERIZACION DEL CLORHIDRATO DE NALTREXONA

#### 3.1.1. Técnicas de cuantificación

##### 3.1.1.1. Espectrofotometría UV

La validación del método espectrofotométrico se realiza siguiendo la metodología indicada en el apartado 2.2.1.1.1. de Material y Métodos.

En primer lugar, al estudiar la linealidad del método espectrofotométrico desarrollado para la cuantificación del clorhidrato de naltrexona, se considera la problemática de este tipo de detectores cuando los valores de absorbancia son superiores a 1. Así, se define la recta de calibrado en el intervalo de concentraciones comprendido entre 3.125 y 400  $\mu\text{g/mL}$ , determinada a una longitud de onda de 283 nm.

La linealidad de la respuesta del detector UV queda definida por el coeficiente de correlación que caracteriza la recta de calibrado obtenida para el intervalo de concentraciones citado anteriormente ( $n = 24$ ,  $F_{1,22} = 4789.61$ ,  $p < 0.0001$ ,  $r = 0.99988$ ).

$$\text{Absorbancia} = (3.17 \pm 0.05) \cdot 10^{-3} \cdot \text{Concentración} - (1.30 \pm 0.07) \cdot 10^{-2}$$

No obstante, no basta con que un método de cuantificación ofrezca una adecuada linealidad; es necesario, en todo caso, la completa validación del método realizando el estudio de precisión y exactitud del mismo.

La precisión de cualquier técnica analítica se investiga en base a los coeficientes de variación (CV) obtenidos para los ensayos de precisión intra e inter-día (Zhong y Williams, 1993; Caraballo y cols., 1994b).

Los resultados recogidos en la tabla 4 muestran que las precisiones intra e inter-día para una solución de 200  $\mu\text{g/mL}$  quedan definidas por CV inferiores al 1 %.

	Absorbancia media	Error estándar (EE)	Desviación estándar (DE)	CV (%)
Intra-día	0.6161	7.72E-4	3.54E-3	0.57
Inter-día	0.6152	5.57E-4	2.49E-3	0.41

Tabla 4.- Precisión intra e inter-día de la técnica espectrofotométrica

El estudio de exactitud del método espectrofotométrico propuesto, se evalúa según el porcentaje de recuperación obtenido al cuantificar experimentalmente el clorhidrato de naltrexona en el intervalo de concentraciones comprendido entre 3.125 y 400  $\mu\text{g/mL}$ . Se puede estimar que un método analítico posee una adecuada exactitud si el CV obtenido para los porcentajes de recuperación es inferior al 10 % (Pao y Hu, 1994). Otros autores consideran adecuada la exactitud de un método analítico si los valores de recuperación están dentro del intervalo 90 - 110 % (Zhong y Williams, 1993; Caraballo y cols., 1994b). El valor medio de recuperación en el intervalo de concentraciones estudiado fue del 103.57 % (EE=2.19, DE=6.19, CV=5.98). No obstante, el método sólo puede considerarse adecuado para el intervalo de concentración 12.5 - 400  $\mu\text{g/mL}$  (tabla 5).

Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbancia media ( $\pm$ EE)	Desviación estándar (DE)	CV (%)	Recuperación (% $\pm$ EE)
400	1.2550 $\pm$ 0.0096	0.0167	1.33	100.36 $\pm$ 0.77
200	0.6175 $\pm$ 0.0009	0.0017	0.28	99.23 $\pm$ 0.14
100	0.3035 $\pm$ 0.0003	0.0006	0.19	98.42 $\pm$ 0.09
50	0.1500 $\pm$ 0.0008	0.0150	1.02	98.84 $\pm$ 0.56
25	0.0770 $\pm$ 0.0009	0.0015	1.99	104.67 $\pm$ 1.12
12.5	0.0350 $\pm$ 0.0006	0.0010	2.86	103.12 $\pm$ 1.47
6.25	0.0190 $\pm$ 0.0015	0.0030	13.92	117.50 $\pm$ 4.81
3.125	0.0050 $\pm$ 0.0015	0.0030	52.91	106.73 $\pm$ 15.75

Tabla 5.- Valores de recuperación ( $n=3$ ) para el cálculo experimental por espectrofotometría UV del clorhidrato de naltrexona

Según estos resultados, el método espectrofotométrico empleado es exacto y preciso en el intervalo de concentraciones de 12.5 a 400  $\mu\text{g/mL}$ , para el que se obtiene una nueva recta de calibrado descrita en la tabla 6.

Coeficiente de correlación: 0.99987				n: 18	
Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados	Varianza	F	P
Regresión	1	3.3728	3.3728	3080.11	< 0.0001
Residuales	16	1.75E-2	1.09E-3		
Coef. regresión: 3.20E-3		Error estándar: 0.06E-3			
Término constante: -0.020		Error estándar: 0.011		Prob. < 0.01	

Tabla 6.- Principales parámetros estadísticos de la recta de calibrado para el método espectrofotométrico de clorhidrato de naltrexona (12.5 - 400  $\mu\text{g/mL}$ )

### 3.1.1.2. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

Se sigue el método descrito en el apartado 2.2.1.1.2. correspondiente a Material y Métodos.

La polaridad de la fase móvil se considera el principio de la separación de solutos por técnicas cromatográficas de reparto como la que nos ocupa. En la fase móvil empleada deberán establecerse interacciones con los solutos que inicialmente igualarán, y luego superarán, las interacciones responsables de la retención soluto-fase estacionaria, provocando la elución del soluto que se desea identificar. Por ello, inicialmente, para seleccionar el eluyente se ensayan diferentes proporciones metanol/agua: 40:60, 50:50, 70:30 y 75:25, v/v. Así, se comprueba que, trabajando en fase inversa (fase estacionaria apolar), un aumento de la cantidad de metanol en las fases móviles ensayadas provoca una disminución en los tiempos de retención del clorhidrato de naltrexona, fármaco altamente polar (García y Castillo, 1988).

Como se indicó en el apartado de Material y Métodos, un criterio para la selección de la fase móvil es el *factor de capacidad* ( $k'$ , *vid.* Ec. 1).

Para el clorhidrato de naltrexona se observa que a medida que se incrementa el porcentaje de metanol en el eluyente,  $k'$  adquiere los valores de 6.77, 6.07, 2.71 y 1.52, respectivamente para cada una de las fases ensayadas.

En todos los casos se fija el pH de la fase móvil en 8.5 unidades. En estudios previos se comprobó que para separar y cuantificar fármacos amínicos en forma de clorhidratos era conveniente emplear eluyentes con valores básicos de pH, hecho que determina el uso de columnas de alúmina (Caraballo y cols., 1995).

Finalmente, considerando los tiempos de retención obtenidos y la forma de los picos, el eluyente cromatográfico seleccionado fue la mezcla de metanol y agua purificada (70:30, v/v), empleando fosfato diamónico (0.1 % p/v) como sustancia tampón. Al utilizar este eluyente y fijar el flujo en 1 mL/min, la presión oscila entre 159 y 162 bares. En estas condiciones se cuantifica el clorhidrato de naltrexona a 283 nm con un tiempo de retención de  $2.178 \pm 0.004$  min ( $p < 0.01$ ).

El *factor de asimetría* ( $f$ ), definido como la relación entre las semianchuras del pico tomadas al 5 % de la altura del mismo desde la línea base, representa la idealidad de la distribución y liberación del fármaco desde la columna. Valores de  $f$  muy por superiores a 1.2 indican una asimetría apreciable que incrementará las posibilidades de solapamiento con otros picos. Siguiendo el método desarrollado,  $f$  alcanza un valor de 1.4. Según este resultado, no serían predecibles problemas de solapamiento de picos cuando se emplee esta técnica para cuantificar el fármaco en muestras biológicas.

Respecto a la validación del método cromatográfico, el grado de linealidad en la respuesta del detector UV fue investigado para el intervalo de concentraciones de fármaco comprendido entre 6.25 y 1000  $\mu\text{g/mL}$ , para el cuál se obtuvo la siguiente recta de calibrado ( $n = 27$ ,  $F_{1,25} = 43636.1$ ,  $p < 0.0001$ ,  $r = 0.99971$ ):



$$\text{Area} = (810.08 \pm 3.88) \cdot \text{Concentración} + (410.70 \pm 175.98)$$

Según estos resultados se puede considerar que la linealidad de la respuesta del detector UV es correcta.

La precisión de la técnica analítica por HPLC se investigó, según se indicó en el apartado de Material y Métodos, empleando una solución de clorhidrato de naltrexona con una concentración de 400  $\mu\text{g/mL}$ . Como se aprecia en la tabla 7 se obtienen, para ambos ensayos, valores de CV inferiores al 1 %.

	Area media	Error estándar (EE)	Desviación estándar (DE)	CV (%)
Intra-día	0.324020	2.43E-4	1.11E-3	0.34
Inter-día	0.323419	4.17E-4	1.86E-3	0.58

Tabla 7.- Precisión intra e inter-día del método cromatográfico

A continuación, se evalúa la exactitud del método cromatográfico en el intervalo de concentraciones 6.25 - 1000  $\mu\text{g/mL}$  (tabla 8).

Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Area media ( $\pm$ EE)	Desviación estándar (DE)	CV (%)	Recuperación (% $\pm$ EE)
1000	0.810218 $\pm$ 0.0102	0.0177	2.19	99.92 $\pm$ 1.25
800	0.647790 $\pm$ 0.0097	0.0168	2.60	99.86 $\pm$ 1.48
400	0.324876 $\pm$ 0.0002	0.0004	0.13	100.18 $\pm$ 0.07
200	0.166065 $\pm$ 0.0002	0.0004	0.21	102.27 $\pm$ 0.13
100	0.081376 $\pm$ 0.0007	0.0012	1.55	100.06 $\pm$ 0.89
50	0.040395 $\pm$ 0.0001	0.0002	0.43	98.97 $\pm$ 0.25
25	0.019571 $\pm$ 7.8E-5	0.0001	0.69	95.21 $\pm$ 0.38
12.5	0.009894 $\pm$ 9.7E-5	0.0002	1.69	94.92 $\pm$ 0.94
6.25	0.004669 $\pm$ 1.2E-4	0.0002	4.57	86.71 $\pm$ 2.41

Tabla 8.- Valores de recuperación ( $n=3$ ) para el cálculo experimental por HPLC del clorhidrato de naltrexona

Según se observa en la tabla 8, los valores de recuperación experimentales obtenidos están comprendidos entre el 86.71 y 102.27 %, con un valor medio de 97.56 % (EE=0.93, DE=4.82, CV=4.94). Aunque este valor medio de recuperación se halla dentro del intervalo según el cual un método analítico es considerado exacto, 90 - 110% (Zhong y Williams, 1993; Caraballo y cols., 1994b), el método cromatográfico desarrollado se considera preciso y exacto sólo en el intervalo de concentraciones comprendido entre 12.5 y 1000 µg/mL, ya que no se ha encontrado un adecuado nivel de exactitud para la concentración de 6.25 µg/mL (recuperación < 90 %).

Los resultados de la validación del método cromatográfico permiten redefinir el intervalo de concentración de la recta de calibrado. En la tabla 9 se muestran los parámetros estadísticos de la recta de calibrado obtenida.

Fuente de variación		G.L.	Suma de Cuadrados	Varianza	F	P
Coef. correlación: 0.99969						
n: 24						
Regresión	1	19997.4E8	19997.4E8	35342.3	< 0.0001	
Residuales	23	12448.0E5	56581.9E3			
Coef. regresión: 809.83		Error estándar: 4.31				
Término constante: 592.36		Error estándar: 2073.36			p < 0.0001	

Tabla 9.- Principales parámetros estadísticos de la recta de calibrado para el método cromatográfico (12.5 - 1000 µg/mL)

### 3.1.1.3. Conductivimetría

Como ya quedó indicado en el apartado 2.2.1.1.3. de Material y Métodos, nuestro equipo de investigación ha puesto a punto esta técnica para realizar ensayos de disolución *in vitro*, al permitir adquirir datos de conductividad, incluso, cada 30 segundos.

Hasta ahora, esta técnica se ha utilizado para la cuantificación de KCl como sustancia iónica modelo. Resulta interesante validar el método conductivimétrico para la cuantificación de una sustancia con menor capacidad de aumentar la conductividad de una solución, como es el clorhidrato de naltrexona.

De forma análoga a los otros métodos analíticos evaluados, se estudió, en primer lugar, la linealidad de la respuesta del detector conductivimétrico en el intervalo de concentraciones comprendido entre 50 y 1000  $\mu\text{g/mL}$ .

El análisis de regresión llevado a cabo indica que existe una correcta linealidad en el intervalo de concentraciones estudiado, para el cuál se obtiene la siguiente recta de calibrado ( $n=24$ ,  $F_{1,22} = 85211.0$ ,  $p < 0.0001$ ,  $r = 0.99996$ ).

$$\text{Conductividad} = (0.1853 \pm 0.0006) \cdot \text{Concentración} + (3.38 \pm 0.31)$$

A modo de comparación, se muestra la recta de calibrado obtenida empleando este mismo método analítico para la cuantificación del KCl, como sustancia conductora modelo, en el intervalo de concentraciones 7 - 1000  $\mu\text{g/mL}$  ( $n = 24$ ,  $F_{1,22} = 18967.0$ ,  $p < 0.0001$ ,  $r = 0.99989$ ) (Melgoza y cols., 1997).

$$\text{Conductividad} = (1.585 \pm 0.011) \cdot \text{Concentración} + (3.89 \pm 9.87)$$

Por otro lado, en la tabla 10 se muestran los CV (%) obtenidos para los estudios de precisión intra e inter-día de ambas sustancias empleando soluciones de concentración de 150  $\mu\text{g/mL}$ .

Los valores obtenidos, siempre inferiores al 3 %, indican que el método conductivimétrico permite cuantificar el clorhidrato de naltrexona con una precisión adecuada.

		Conductividad media	Error estándar (EE)	Desviación estándar (DE)	CV (%)
Intra-día	Clorh. naltrexona	29.44	0.09	0.39	1.33
	KCl	231.89	0.11	0.51	0.22
Inter-día	Clorh. naltrexona	28.93	0.16	0.72	2.50
	KCl	230.86	0.17	0.75	0.33

Tabla 10.- Precisión intra e inter-día de la técnica conductivimétrica

En la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos para el estudio de exactitud del clorhidrato de naltrexona.

Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Conductividad media ( $\pm$ EE)	Desviación estándar (DE)	CV (%)	Recuperación (% $\pm$ EE)
1000	186.19 $\pm$ 0.48	0.96	0.51	99.04 $\pm$ 0.25
600	114.06 $\pm$ 0.16	0.33	0.29	100.64 $\pm$ 0.15
300	58.71 $\pm$ 0.19	0.38	0.64	102.38 $\pm$ 0.34
150	29.34 $\pm$ 0.13	0.27	0.92	99.79 $\pm$ 0.48
75	15.16 $\pm$ 0.04	0.07	0.48	98.23 $\pm$ 0.26
50	10.23 $\pm$ 0.08	0.16	1.56	94.55 $\pm$ 0.85

Tabla 11.- Valores de recuperación ( $n=4$ ) para el cálculo experimental por conductivimetría del clorhidrato de naltrexona

En el estudio de exactitud realizado para el KCl se obtuvieron valores de recuperación entre 95.5 y 102.5 %, con un porcentaje de recuperación media del 100.24 (EE=1.21, DE=2.08, CV=1.98) (Melgoza y cols., 1997).

Los valores de recuperación obtenidos indican que la exactitud del método conductivimétrico para el clorhidrato de naltrexona, en el intervalo

de concentraciones comprendido entre 50 y 1000  $\mu\text{g/mL}$ , queda definida por valores de recuperación entre el 90 y 110 % (*vid.* tabla 11), con un porcentaje de recuperación medio del 99.11 (EE=0.53, DE=2.60, CV=2.62).

Según estos resultados, el método conductivimétrico evaluado permite la cuantificación exacta y precisa del clorhidrato de naltrexona en el mismo intervalo de concentraciones que para una sustancia iónica empleada como modelo, 50 y 1000  $\mu\text{g/mL}$ .

### **3.1.2. Caracterización térmica**

#### **3.1.2.1. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)**

##### **3.1.2.1.1. DSC del clorhidrato de naltrexona**

Con el empleo de esta técnica calorimétrica se caracteriza el clorhidrato de naltrexona desde el punto de vista térmico, comenzando con la identificación de las distintas endotermas y/o exotermas del termograma que caracteriza al principio activo en estudio.

En este sentido, en el termograma del clorhidrato de naltrexona (figura 8) se registra una primera endoterma de deshidratación caracterizada por una temperatura de inicio de 69.0 °C, una temperatura de pico de 102.5°C y un  $\Delta\text{H}$  medio de -278.5 J/g, calor necesario para que se produzca la pérdida, en una única fase, de las dos moléculas de agua de cristalización que contiene el fármaco.

La Calorimetría Diferencial de Barrido permite la identificación de solvatos formados por la incorporación de moléculas de disolvente en la estructura cristalina durante el proceso de síntesis química (Wells, 1987; Ford y Timmins, 1989b). La desolvatación es un proceso endotérmico que puede transcurrir en una o más fases, pero siempre el solvente incorporado

en la estructura cristalina se libera a temperaturas concretas, mientras que el agua de adsorción se pierde a intervalos más amplios de temperatura (Ford y Timmins, 1989a, 1989b).

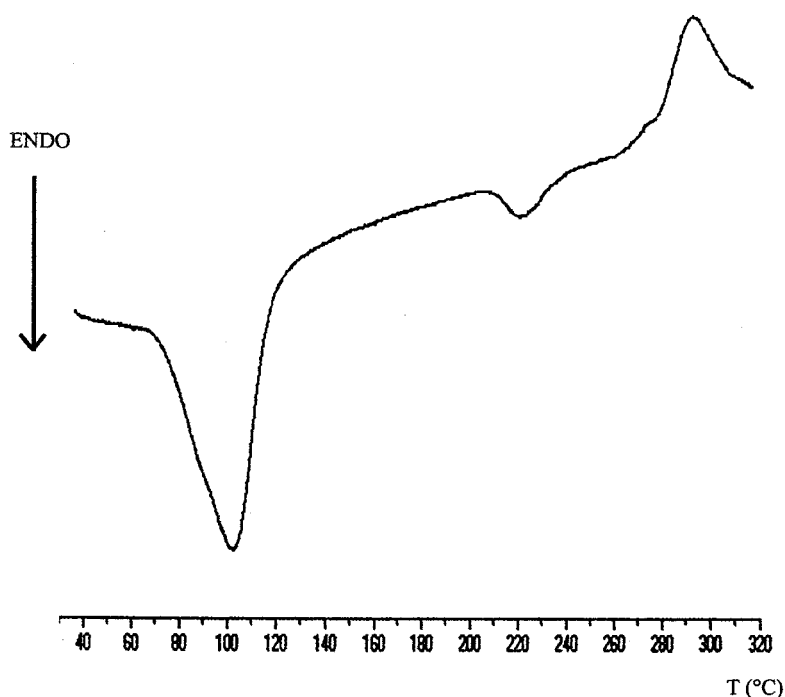


Figura 8.- Termograma del clorhidrato de naltrexona

Por otro lado, la figura 8 muestra que el termograma del clorhidrato de naltrexona queda también definido por otras dos transiciones de muy distinta naturaleza. Se trata, en primer lugar, de la endoterma de fusión del fármaco, caracterizada por una temperatura de inicio de 205.9 °C, una temperatura de pico de 217.5 °C y un  $\Delta H$  de -16.5 J/g, aproximadamente. Finalmente, aparece la exoterma correspondiente a la degradación del clorhidrato de naltrexona, con una temperatura de descomposición de 268.4 °C y una temperatura de pico de 286.7 °C.

### 3.1.2.1.2. Estudio de higroscopicidad del clorhidrato de naltrexona

Una vez finalizado el estudio térmico del fármaco es necesario recordar su carácter higroscópico, circunstancia que motivó el inicio del

estudio de higroscopicidad del fármaco. Para ello, se investigó el incremento de peso de una muestra expuesta a temperatura y humedad ambientales y su posible repercusión sobre su comportamiento térmico.

Ya se ha comentado que el clorhidrato de naltrexona es una molécula dihidratada y se ha explicado la capacidad de la Calorimetría Diferencial de Barrido como técnica que permite la diferenciación entre hidratos y sustancias que adsorban agua debido a su naturaleza higroscópica.

En este sentido, se ha estudiado cómo una muestra de clorhidrato de naltrexona, expuesta libremente durante 30 días en condiciones de temperatura y humedad ambientales, puede ir incorporando agua dado su carácter marcadamente higroscópico.

Según se observa en la figura 9, la incorporación de agua ambiental parece ser un proceso lento que puede reflejarse con la aparición de nuevas oscilaciones, pequeñas y a veces no bien definidas, en el termograma del fármaco. Estas leves transiciones pueden ser, a su vez, responsables del desdoblamiento de la endoterma característica de la pérdida del agua de cristalización. No obstante, esta adsorción de agua no sólo afecta al registro de la endoterma de desolvatación, sino que también influye sobre la detección del proceso de fusión del fármaco: la endoterma correspondiente al mismo se va haciendo cada vez más tenue, llegando incluso a no registrarse transcurridos 15 días de estudio.

Siguiendo la metodología descrita en el apartado 2.2.1.3.1. de Material y Métodos, se estudian por difracción de rayos X la muestra inicial de fármaco y la muestra sometida durante 30 días a las condiciones ambientales. Los difractogramas de ambos productos muestran claramente un elevado número de picos de difracción en el espectro, indicativo de la elevada cristalinidad de ambas sustancias. Sin embargo, la no coincidencia de gran parte de los picos de difracción de ambos espectros pone de manifiesto que el proceso de adsorción de agua implica un cambio en la estructura cristalina de la molécula (figura 10). Este resultado puede

relacionarse con los cambios observados en la detección de la endoterma de fusión (*vid.* fig. 9).

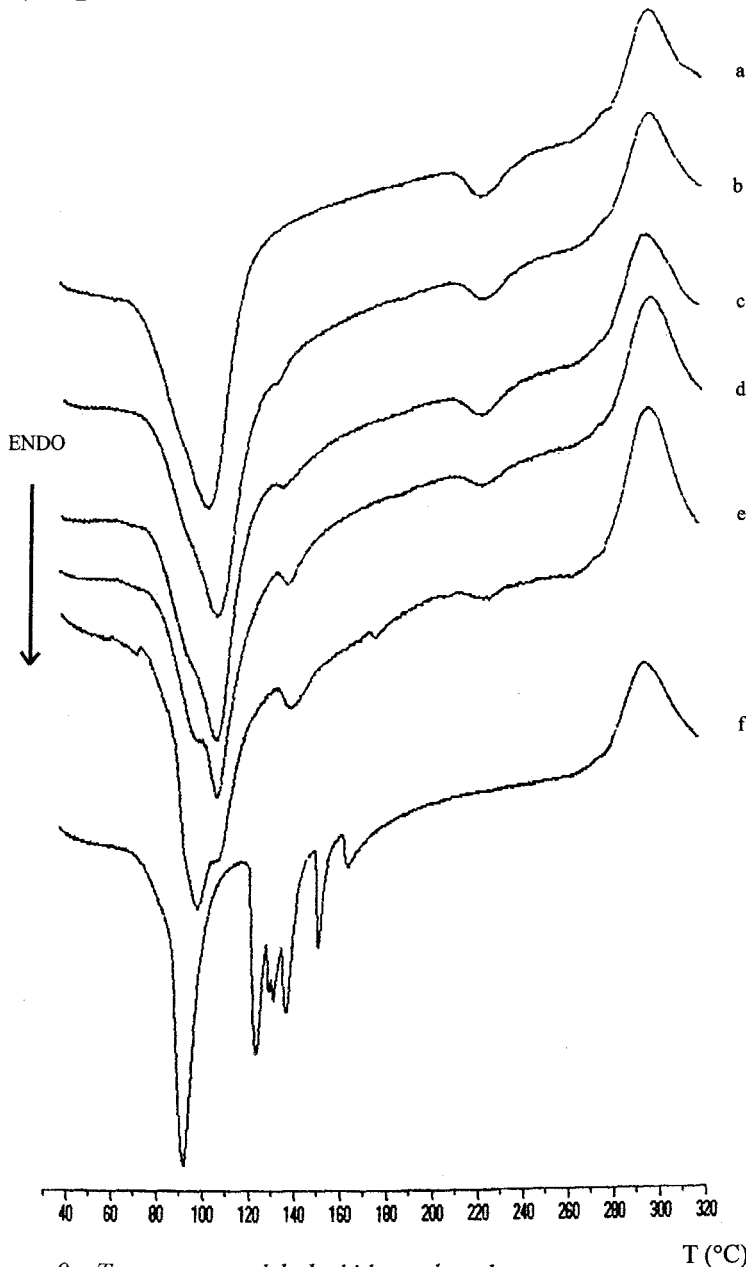


Figura 9.- Termogramas del clorhidrato de naltrexona expuesto a temperatura y humedad ambientales:

- |                       |                       |
|-----------------------|-----------------------|
| a) Muestra inicial    | d) Después de 4 días  |
| b) Después de 7 horas | e) Después de 15 días |
| c) Después de 1 día   | f) Después de 30 días |



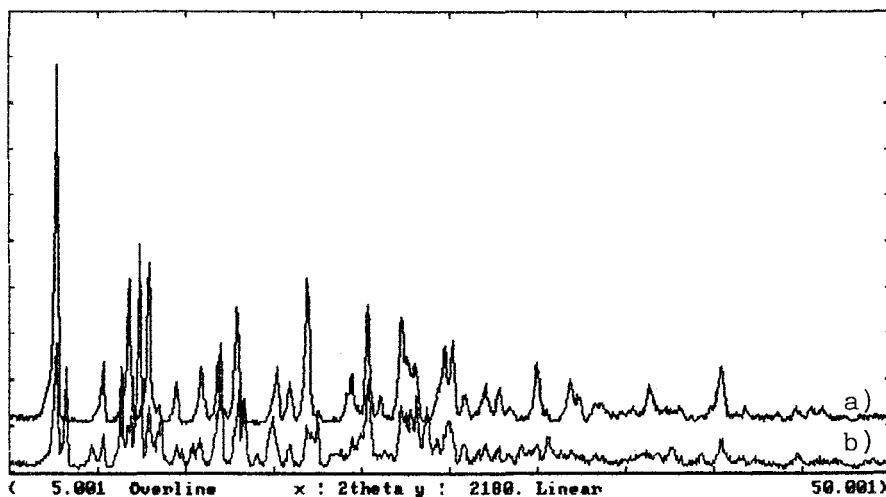


Figura 10.- Difractogramas correspondientes al clorhidrato de naltrexona a) expuesto a condiciones ambientales de humedad y temperatura y b) comercial

Respecto al peso de la muestra de fármaco, éste llega a incrementarse hasta en casi un 8 % al cabo de los 30 días de exposición a las condiciones ambientales de humedad y temperatura. Como muestra la figura 11, este aumento de peso presenta una relación lineal respecto al tiempo.

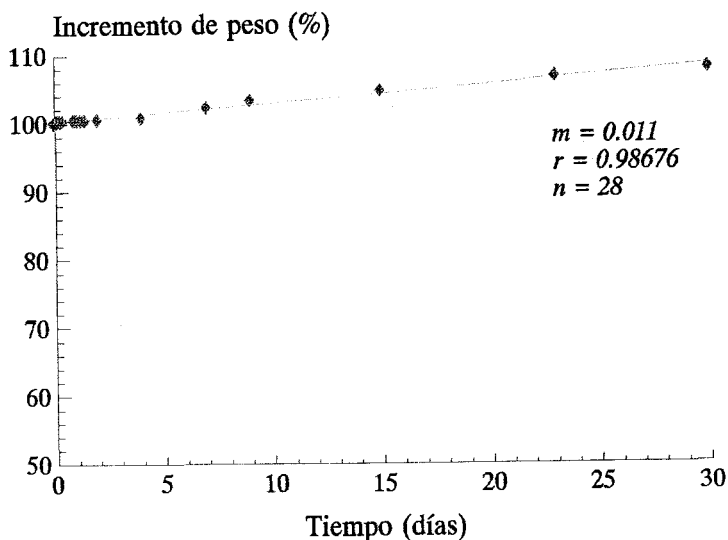


Figura 11.- Incremento de peso del clorhidrato de naltrexona expuesta a temperatura y humedad ambientales

Para continuar el estudio, después de exponer la muestra de fármaco a las condiciones de temperatura y humedad ambientales, el producto se somete a dos tratamientos de deshidratación distintos: estufa a 40 °C y desecador de Silica Gel. Al finalizar ambas experiencias se realiza el estudio espectral de ambas muestras mediante difracción de rayos X con el fin de comparar ambos espectros con aquél obtenido para el clorhidrato de naltrexona comercial (figura 12).

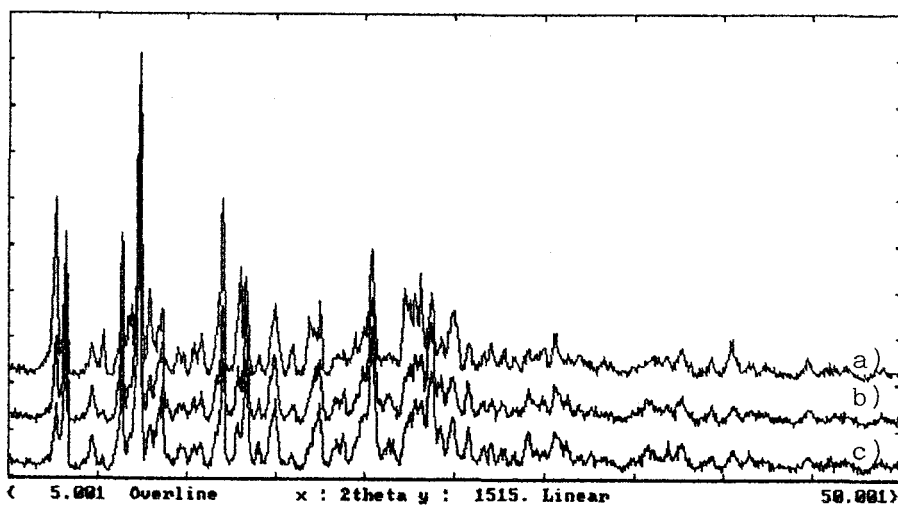


Figura 12.- Difractogramas correspondientes al clorhidrato de naltrexona a) comercial, b) sometido a 40 °C en estufa y c) mantenido en desecador de Silica Gel

Los difractogramas correspondientes a las muestras mantenidas en estufa y desecador resultaron idénticos al del clorhidrato de naltrexona comercial; no obstante, ambos indican la existencia de una estructura cristalina diferente a la de la muestra sometida durante 30 días a condiciones ambientales.

Como muestran las figuras 13 (estufa a 40 °C) y 14 (Silica Gel), al cabo de un tiempo dejan de registrarse las transiciones relacionadas con el agua de adsorción, al mismo tiempo que vuelve a registrarse la correspondiente endoterma de fusión y se ensancha la endoterma de desolvatación. A continuación, la endoterma de desolvatación debida a la

pérdida del agua de cristalización del fármaco empieza a verse afectada, registrándose, cada vez, de forma más leve.

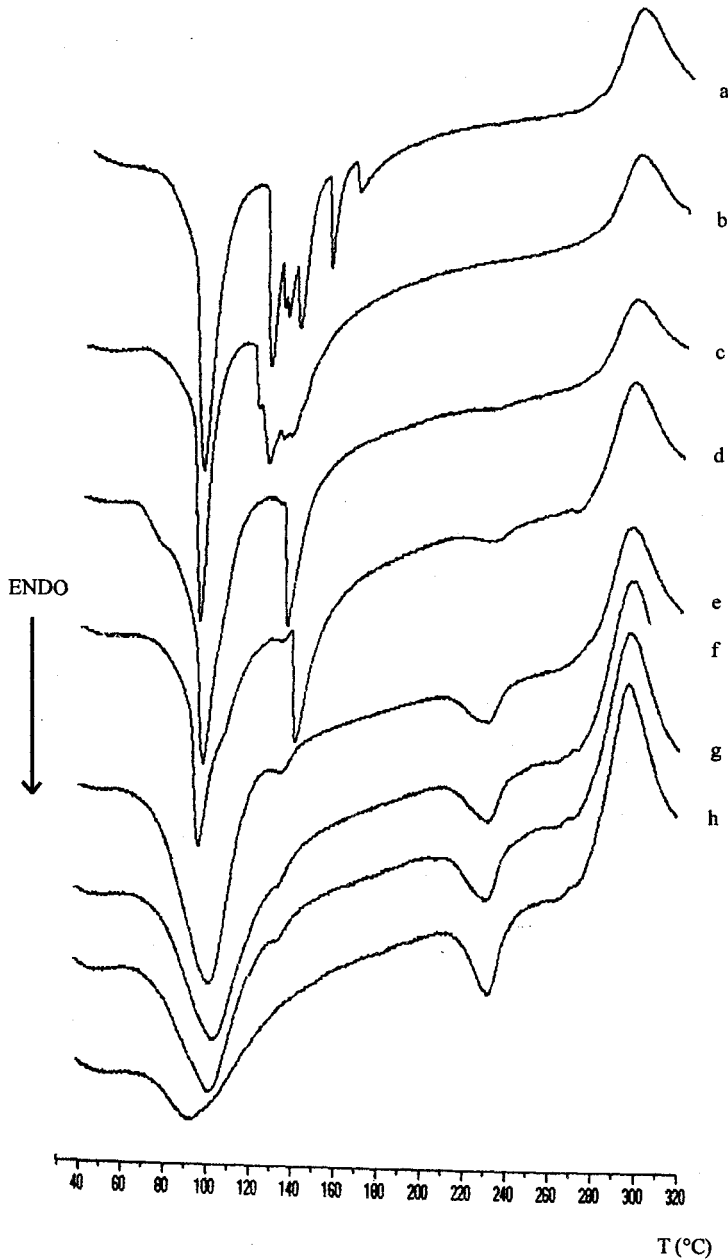


Figura 13.- Termogramas del clorhidrato de naltrexona hidratado expuesto a 40 °C:

- |                          |                       |
|--------------------------|-----------------------|
| a) Muestra inicial       | e) Después de 2 horas |
| b) Después de 5 minutos  | f) Después de 3 horas |
| c) Después de 20 minutos | g) Después de 4 horas |
| d) Después de 1 hora     | h) Después de 6 horas |

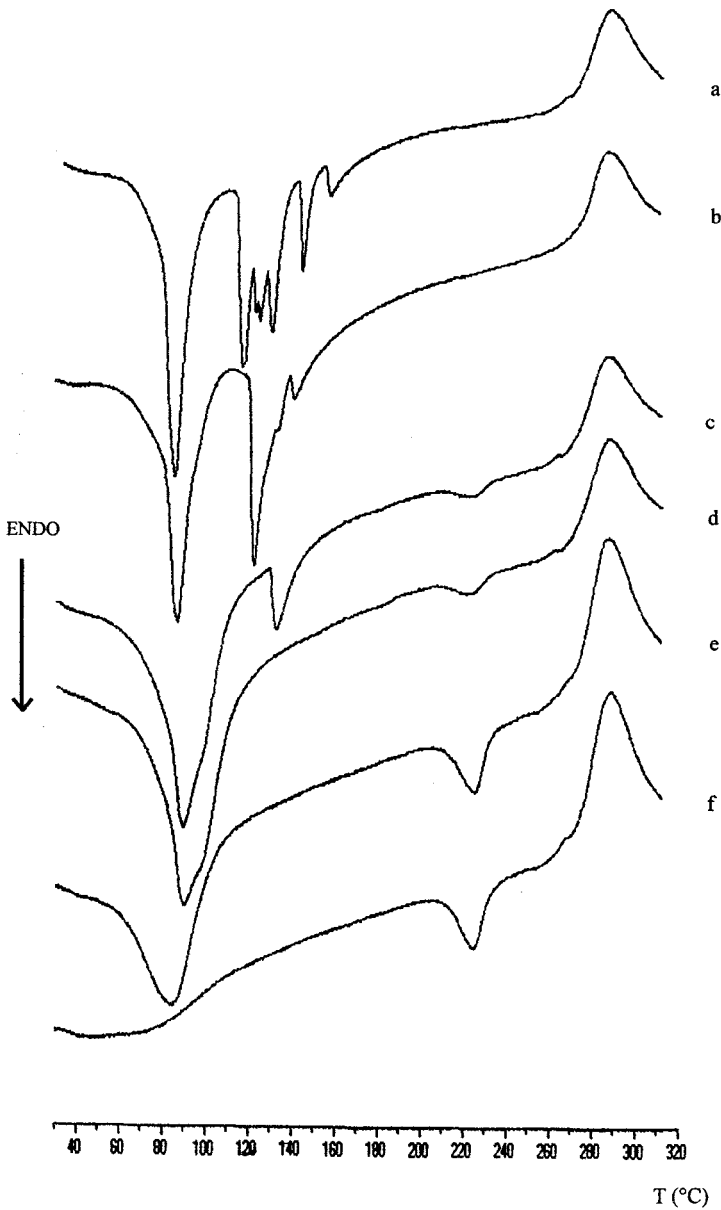


Figura 14.- Termogramas del clorhidrato de naltrexona hidratado mantenido en desecador de Silica Gel:

- |                          |                       |
|--------------------------|-----------------------|
| a) Muestra inicial       | d) Después de 1 horas |
| b) Después de 10 minutos | e) Después de 2 horas |
| c) Después de 30 minutos | f) Después de 4 horas |

Según ilustra la figura 15, las pendientes calculadas determinan que tanto la pérdida de peso en estufa como en desecador son procesos más rápidos e intensos que el aumento de peso en condiciones de temperatura y humedad ambientales.

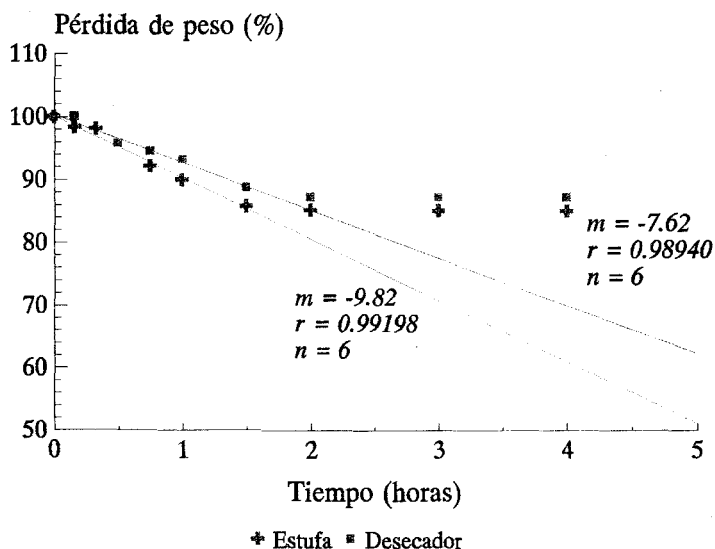


Figura 15.- Pérdida de peso del clorhidrato de naltrexona en estufa y desecador tras estar expuesta a condiciones ambientales

Respecto a la pérdida de peso, el proceso global de las 5 horas es muy semejante tanto en estufa como en desecador. Además, en ambos casos se pierde aproximadamente un 15 % de peso de forma rápida, en aproximadamente 90 minutos, siendo esta pérdida lineal con el tiempo (figura 15).

### 3.1.2.1.3. Estudio de compatibilidad

Considerando que el objetivo global de la presente Tesis Doctoral es el desarrollo y evaluación biofarmacéutica de dos SLC de clorhidrato de naltrexona, resulta imprescindible abordar un estudio de compatibilidad del fármaco con el resto de los componentes de cada una de las formulaciones (Monkhouse y Maderich, 1989; Hartauer y Guillory, 1991; Venkataram y cols., 1995).

Para ello, se comienza con la caracterización térmica de los polímeros que se van a emplear en las formulaciones para, posteriormente, poder comparar con las mezclas físicas entre éstos y el fármaco y determinar la existencia o inexistencia de posibles incompatibilidades.

Iniciamos este apartado con el estudio de los termogramas de los polímeros acrílicos Eudragit® L30D, empleado como soporte de los complejos, y Eudragit® RS-PM, como soporte matricial; ambos se recogen en la figura 16.

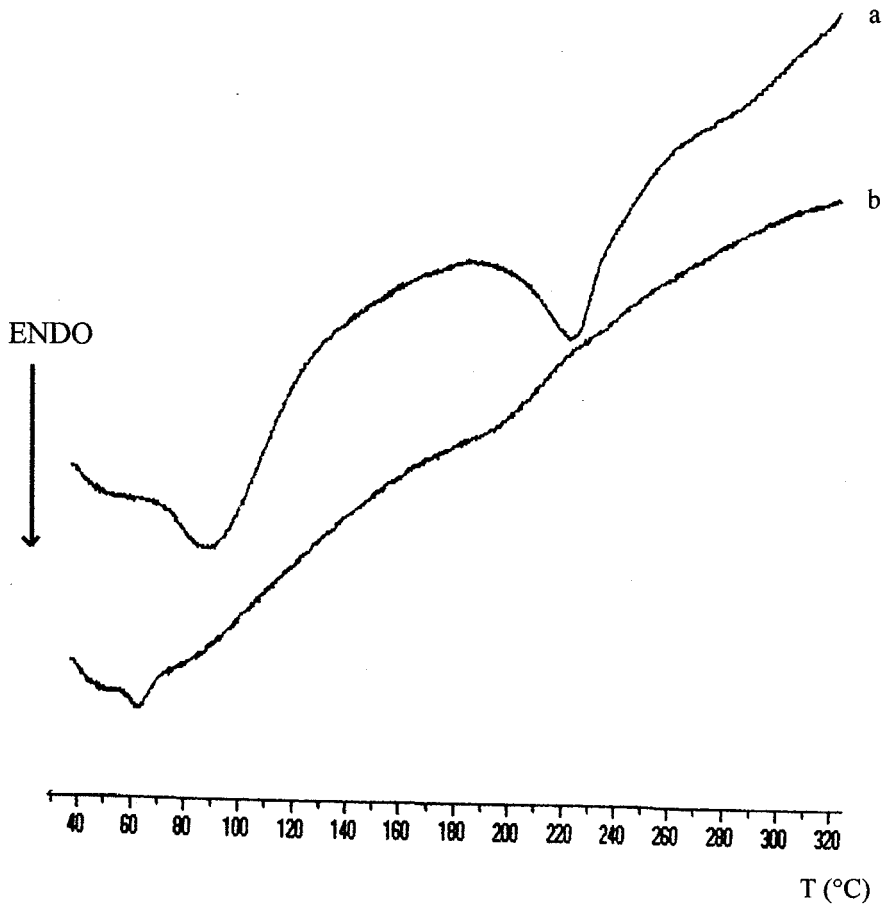


Figura 16.- Termogramas correspondientes a los polímeros a) Eudragit® L30D y b) Eudragit® RS-PM

Como puede apreciarse, en ambos termogramas se registró una endoterma amplia, a bajas temperaturas, que parece corresponder a la temperatura de transición vítrea ( $t_v$ ), característica de polímeros amorfos y polímeros cristalinos con regiones amorfas (Ford y Timmins, 1989a). Si bien la transición vítrea suele registrarse como un cambio en la línea base del termograma, en esta ocasión recuerda más bien a un pico endotérmico (Jenquin y cols., 1992). Esta transición está relacionada con cambios en las propiedades termodinámicas secundarias de los polímeros, atribuidas a transformaciones en las estructuras secundarias y terciarias del mismo (Okhamafe y York, 1989; Gedde, 1990). Por encima de esta temperatura, los polímeros amorfos tienden a reblandecerse debido a un aumento en la movilidad de sus cadenas (Ford y Timmins, 1989a, 1989c; Jenquin y cols., 1990), volviéndose más flexibles.

Cuando se establece alguna interacción entre cualquier sustancia y este tipo de polímeros, se pueden producir situaciones diferentes. Se habla de un efecto plastificante si al introducir una sustancia entre las cadenas poliméricas se reduce la  $t_v$  del mismo, con lo que el polímero pasa de un estado de baja movilidad a otro de alta movilidad, modificando la difusividad a su través. Así, un descenso en la  $t_v$  hace que aumente la capacidad de difusión de un fármaco a través del polímero (Jenquin y cols., 1990). Por el contrario, aparece un efecto antiplastificante si lo que se produce con la incorporación de una sustancia es un incremento en la  $t_v$  del polímero en cuestión.

Cuando una sustancia queda incluida en la estructura polimérica debe considerarse el efecto que producirá su mera presencia física y el hecho de que llegue a producirse interacción con las cadenas del polímero. Una interacción entre ambos componentes provoca una caída en la movilidad de las cadenas de la resina y, por tanto, un aumento en la  $t_v$ ; sin embargo, la simple inclusión entre las cadenas poliméricas, sin ningún tipo de interacción, hace que las moléculas de la sustancia adicionada aumenten el volumen libre existente entre cadenas, incrementándose así la movilidad de

éstas y descendiendo el valor de  $t_v$ . Así, cuando se adicione una sustancia a un polímero, el efecto final vendrá dado por el efecto predominante (Okhamafe y York, 1984-85, 1989; *Holgado y cols.*, 1996a).

Para finalizar el estudio de los termogramas de ambos polímeros, debe señalarse que las consideradas transiciones vítreas se registraron aproximadamente a 73.1 y 56.2 °C para el Eudragit® L30D y Eudragit® RS-PM, respectivamente. No se han encontrado publicaciones que hagan referencia a la  $t_v$  del Eudragit® L30D; sí existen referencias para otros polímeros de la misma familia: a título de ejemplo puede citarse a JENQUIN *y cols.* (1990) que señala una  $t_v$  de 52.1 °C para el Eudragit® RS-PM.

Por otro lado, tanto en el termograma del Eudragit® L30D como en el del Eudragit® RS-PM (figuras 16a y 16b, respectivamente) se aprecia que la línea base presenta una trayectoria ligeramente ascendente. Esto es característico en este tipo de productos y se debe a que por encima de la  $t_v$  se produce un enfriamiento de la muestra que motiva la aparición de una deriva en la línea base del termograma (Ford y Timmins, 1989a).

Respecto a las temperaturas de fusión, sólo puede apreciarse la endoterma de fusión del Eudragit® L30D, con una temperatura de inicio de 186.9 °C, una temperatura de pico de 216.8 °C y un  $\Delta H$  de -78.5 J/g (figura 16a). En el caso del Eudragit® RS-PM, la endoterma de fusión no se observa porque nuestro estudio finaliza a los 320 °C y este polímero funde a 318 °C con una temperatura de pico de 364 °C (Holgado, 1993).

Finalmente, se utiliza la Calorimetría Diferencial de Barrido como técnica que permite diferenciar entre la simple mezcla física de dos sustancias y el producto formado por una posible interacción entre ellas (Ford y Timmins, 1989c, 1989d; *Holgado y cols.*, 1995c), pudiendo detectarse si existe algún tipo de incompatibilidad entre el fármaco y los excipientes (figura 17). Se admite que el termograma correspondiente a una mezcla física, si no ha existido ningún tipo de interacción, debe corresponder, aproximadamente, a la suma de los termogramas de los



componentes aislados y, además, la entalpía de fusión de cada componente en la mezcla física es aproximadamente la media de la de los mismos por separado (Hartauer y Guillory, 1991). Si aparecen nuevos picos, desaparece alguno característico (Botha y Lötter, 1990) o se produce un desplazamiento notable de los mismos (Botha y Lötter, 1989), se deduce que se ha podido producir algún tipo de interacción entre las sustancias iniciales.

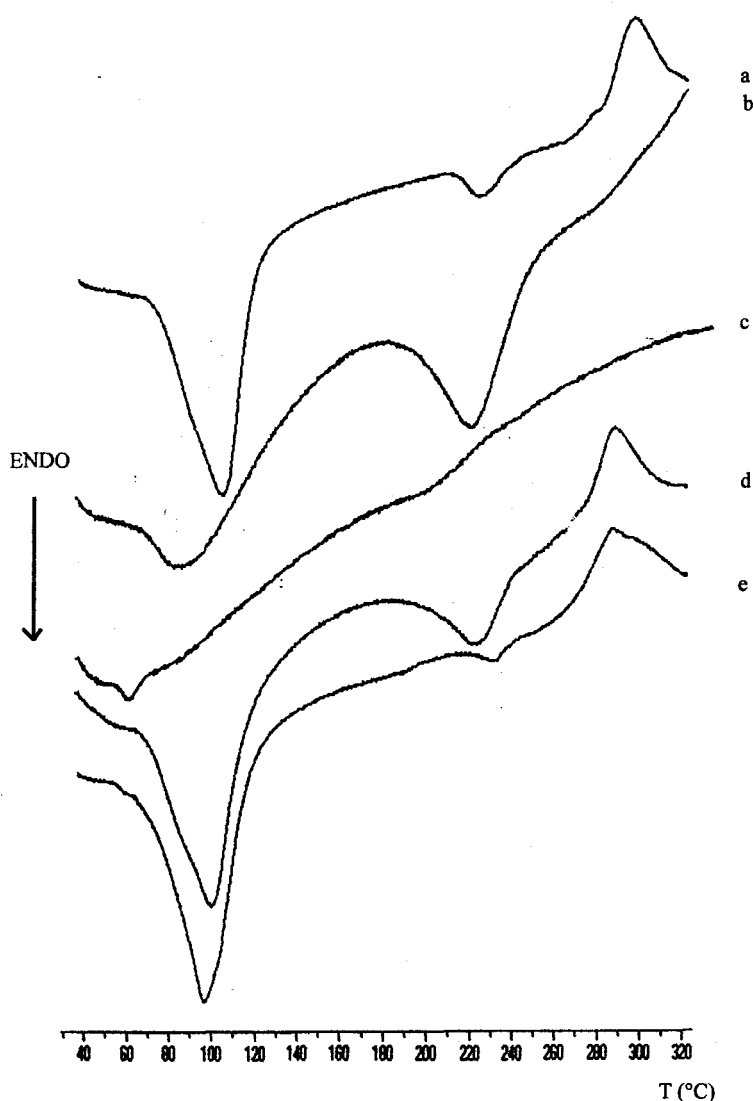


Figura 17.- Termogramas de las mezclas físicas estudiadas:

- |                              |  |
|------------------------------|--|
| a) Clorhidrato de naltrexona | d) Clorhidrato de naltrexona-Eudragit® L30D  |
| b) Eudragit® L30D            | e) Clorhidrato de naltrexona-Eudragit® RS-PM |
| c) Eudragit® RS-PM           |  |

Considerando todo lo expuesto, según muestra la figura 17, los termogramas de las mezclas físicas del fármaco con Eudragit® L30D y Eudragit® RS-PM (figuras 17d y 17e, respectivamente), muestran que no existe interacción entre el clorhidrato de naltrexona y los polímeros.

### 3.1.2.2. Microscopía de platina caliente (HSM)

Con esta técnica puede apreciarse, detalladamente, las modificaciones que sufre una sustancia termosensible con los cambios de temperatura. Así, en la figura 18a se observa el estado inicial de las partículas del clorhidrato de naltrexona. A 210 °C (figura 18b), el fármaco se encuentra en pleno proceso de fusión y pasa a estar totalmente fundido a los 230 °C (figura 18c), alcanzando su total descomposición entre los 280 y 300 °C (figura 18d).

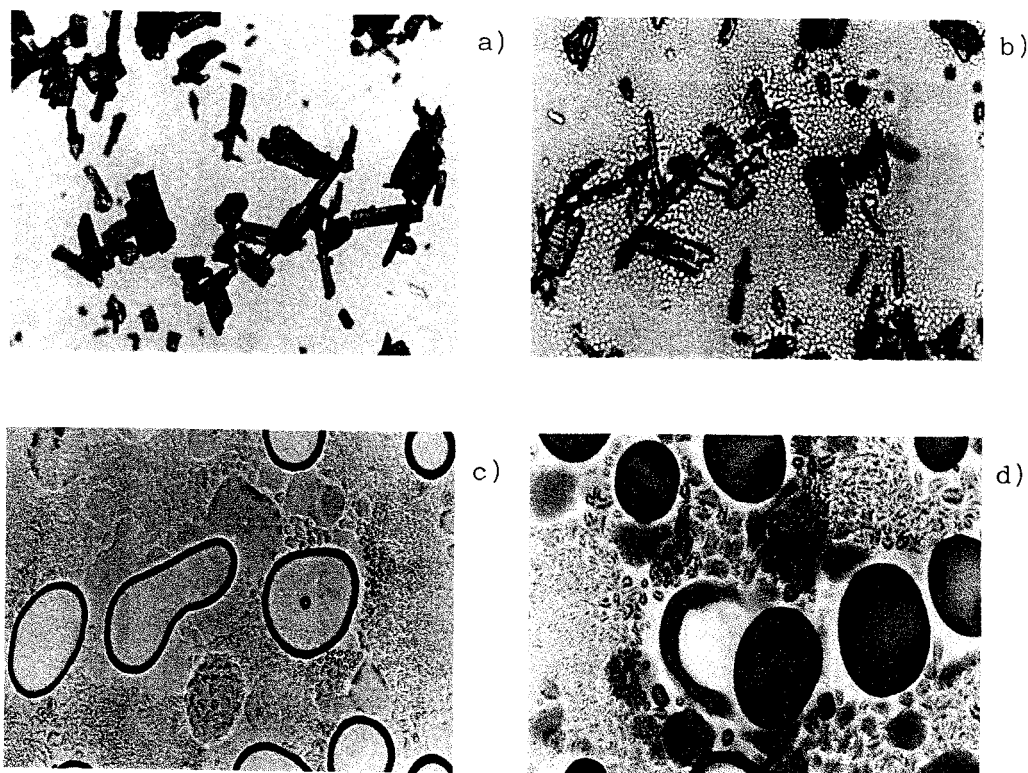


Figura 18.- Fotografías del clorhidrato de naltrexona expuesto a distintas temperaturas: a) 30 °C, b) 210 °C, c) 230 °C y d) 300 °C

### 3.1.3. Caracterización del clorhidrato de naltrexona en estado sólido: Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Este apartado se centra en el estudio de la forma y tamaño de las partículas del clorhidrato de naltrexona comercial. En la figura 19 se expone la microfotografía obtenida para el clorhidrato de naltrexona, según la metodología indicada en el apartado 2.2.1.3.2. de Material y Métodos.

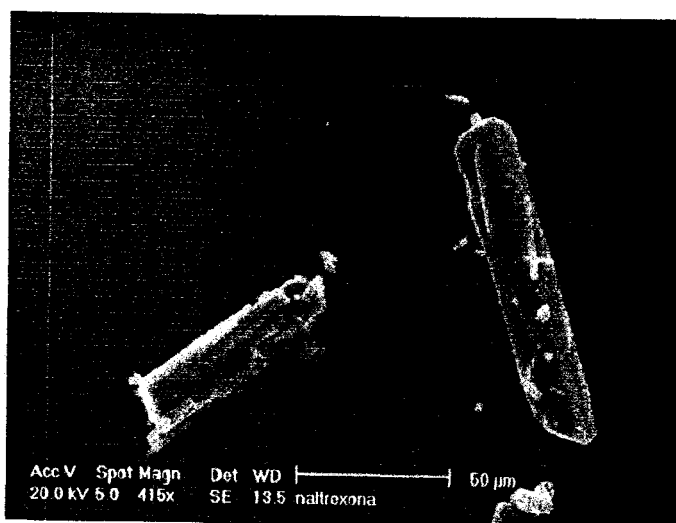


Figura 19.- Microfotografía del clorhidrato de naltrexona

Como puede apreciarse, las partículas presentan una forma acicular y una superficie lisa. Respecto a sus parámetros de forma, la razón de aspecto,  $a$ , alcanza un valor de  $1.57 \pm 0.36 \mu\text{m}$  indicando que se trata de una partícula elongada en el eje "x", y el factor de forma,  $s$ , toma un valor de  $0.57 \pm 0.06 \mu\text{m}$ , valores característicos, asimismo, de partículas elongadas.

Respecto al tamaño de las partículas de clorhidrato de naltrexona el diámetro esférico equivalente,  $ECD$ , tiene un valor de  $41.47 \pm 4.48 \mu\text{m}$ . Por otro lado, el diámetro máximo,  $D_{max}$ , presenta un valor de  $82.41 \pm 11.52 \mu\text{m}$ , mientras el diámetro mínimo,  $D_{min}$ , es sólo de  $40.78 \pm 6.94 \mu\text{m}$ ,

resultados lógicos para partículas notablemente elongadas.

### **3.1.4. Estudio de solubilidad del clorhidrato de naltrexona**

En este apartado se lleva a cabo el cálculo experimental de la solubilidad acuosa del clorhidrato de naltrexona a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C), así como el estudio de la variabilidad de este parámetro en función del pH y fuerza iónica del medio, siguiendo la metodología indicada en el apartado 2.2.1.4. de Material y Métodos.

En todos los ensayos se aprecian valores de solubilidad muy por encima del límite mínimo requerido para fármacos vehiculizados en sistemas de liberación controlada, 0.1 mg/mL (Park y cols., 1984).

#### **3.1.4.1. Cálculo experimental de la solubilidad acuosa del clorhidrato de naltrexona**

El valor de solubilidad acuosa calculado para el clorhidrato de naltrexona, a  $22 \pm 2$  °C, fue de 85.43 mg/mL con un intervalo de confianza de  $\pm 4.73$  ( $p < 0.01$ ). Este dato es claramente similar al referido en la Documentación Técnica del Laboratorio proveedor (89 mg/mL a 20 °C). En otras fuentes bibliográficas (Swinyard, 1990) se recogen datos de solubilidad de la forma anhidra ligeramente superiores a 100 mg/mL. Esta diferencia se debe a que la solubilidad de los compuestos hidratados es menor que la de sus correspondientes formas anhidras (Gould y cols., 1989).

#### **3.1.4.2. Influencia del pH sobre la solubilidad acuosa del clorhidrato de naltrexona**

Los valores de solubilidad acuosa del clorhidrato de naltrexona obtenidos experimentalmente para cada uno de los valores de pH estudiados se muestran en la tabla 12.

pH	1.96	3.27	4.22	5.87	7.01	8.24
Solubilidad (mg/mL)	84.39	75.35	83.19	87.74	89.91	87.16

Tabla 12.- Valores de solubilidad obtenidos en función del pH

En todos los casos, los valores obtenidos son muy superiores al límite mínimo de solubilidad requerido para la inclusión de fármacos en un SLC (0.1 mg/mL) (Park y cols., 1985).

Sin embargo, no se observa el descenso de la solubilidad con el pH característico de fármacos básicos en forma de sal. Este hecho se explica por la capacidad del fármaco de disociarse y formar su propia especie tampón. Al trabajar con poca cantidad de tampón fosfatos, con objeto de reducir al mínimo la influencia de la fuerza iónica, y debido a la elevada solubilidad acuosa del clorhidrato de naltrexona (85.43 mg/mL), se requiere una gran cantidad de fármaco para cada uno de los ensayos a distintos valores de pH. Esta circunstancia provoca que el efecto *tampón del fármaco* sea más notorio, con lo que en realidad se está trabajando en un intervalo de pH muy reducido dentro del cuál la solubilidad acuosa del fármaco no se ve afectada.

### 3.1.4.3. Influencia de la fuerza iónica sobre la solubilidad acuosa del clorhidrato de naltrexona

Como se indicó en el apartado correspondiente de Material y Métodos, se emplearon soluciones acuosas de NaCl de concentraciones crecientes de 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 M.

Los valores de solubilidad obtenidos se muestran en la tabla 13.

F.I. [NaCl(M)]	0.1	0.15	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	1.0
Solubilidad (mg/mL)	62.25	51.64	42.87	37.24	30.34	20.76	16.49	13.80

Tabla 13.- Valores de solubilidad obtenidos en función de la fuerza iónica

En base a los resultados obtenidos, se observa que la fuerza iónica influye considerablemente sobre el parámetro en estudio, apreciándose una relación inversa entre ambas variables debido al efecto del ión común o efecto *salting-out* (Wadke y cols., 1981). Este efecto es de importancia notable en aquellos fármacos que aparecen comercialmente formulados como clorhidratos, debido a la abundancia del ión cloruro en los jugos gástricos (Miyazaki y cols., 1981).

Tradicionalmente, para cuantificar este fenómeno se ha utilizado la Ecuación de Setschenow (Miyazaki y cols., 1981; El Egakey y Speiser, 1982; Park y cols., 1984; Florence y Attwood, 1988).

$$\log \frac{S_o}{S} = K \cdot C_a \quad (\text{Ec5})$$

donde:  $S_o$ , es la solubilidad acuosa de la sal,  
 $S$ , el valor de solubilidad hallado para cada valor de fuerza iónica,  
 $K$ , es la constante de Setschenow o de *salting out*,  
 $C_a$ , es la concentración molar de NaCl en el medio.

El valor de la constante de Setschenow ( $K$ ) determinará la sensibilidad del fármaco al efecto del ión común. En este sentido, MIYAZAKI y cols. (1981) encontraron que existía una correlación inversa entre la solubilidad acuosa de los fármacos y sus respectivas constantes *salting-out*, pudiendo llegar éstas a valores de 20 unidades. Así, a fármacos de alta solubilidad acuosa les corresponde un valor reducido para la constante *salting-out*.

Por otro lado, BOGARDUS (1982) indicó que la aplicación de la Ecuación de Setschenow para cuantificar el efecto que ejerce el ión cloruro sobre la solubilidad acuosa de fármacos en forma de clorhidrato, sólo es válida cuando se refiere a medios de fuerza iónica reducida; así, existe una concentración de sal a partir de la cual la ecuación de Setschenow pierde linealidad. BOGARDUS comprobó que este valor de concentración salina es menor cuanto menor es la solubilidad acuosa del fármaco en cuestión. De

este modo, cuando se representa  $\log S_o/S$  vs concentración molar de NaCl, se observa una curvatura en la progresión de los datos de solubilidad por encima de esa concentración salina crítica.

Aplicando este procedimiento al estudio de la influencia iónica sobre la solubilidad del clorhidrato de naltrexona se han obtenidos resultados similares (figura 20).

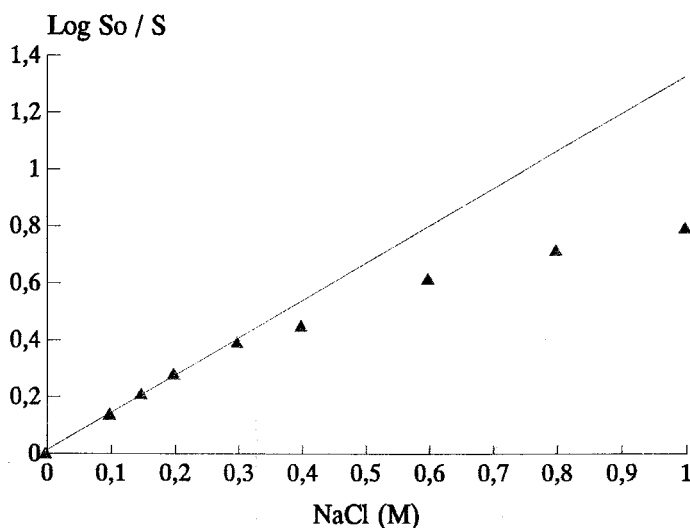


Figura 20.- Influencia de la fuerza iónica sobre la solubilidad del clorhidrato de naltrexona

Para obviar este problema, BOGARDUS propone que se considere la constante de Setschenow como el límite de la pendiente de la representación  $\log S_o/S$  vs concentración molar de NaCl, estimando valores de concentración salina reducidos (*vid.* figura 20, trazo lineal).

Otros autores, para estudiar el fenómeno *salting-out*, han empleado la denominada ecuación transformada de Setschenow (Holgado y cols., 1993):

$$\log S = \log S_o - K \cdot C_a \quad (\text{Ec6})$$

La ecuación transformada de Setschenow sugiere la existencia de una relación lineal entre la fuerza iónica del medio y el logaritmo de la solubilidad de una sustancia en ese medio. Esta expresión permite calcular la constante de *salting-out* y la solubilidad acuosa teórica del fármaco, mediante un sencillo ajuste de los datos de solubilidad experimental para cada fuerza iónica.

En la práctica, pues, se puede emplear la ecuación transformada de Setschenow para determinar la constante de *salting-out* (K) del clorhidrato de naltrexona, pero siguiendo las limitaciones de BOGARDUS, utilizando sólo los valores iniciales de fuerza iónica reflejados en la tabla 13. Así, al representar gráficamente el log S vs concentración molar de NaCl se obtiene una recta de pendiente [-K] y ordenada en el origen [log S<sub>0</sub>] (solubilidad en ausencia de la sal).

De este modo, a partir de datos de solubilidad obtenidos en aquellos medios de reducida fuerza iónica, se puede calcular de forma aproximada la constante *salting-out* del clorhidrato de naltrexona (figura 21).

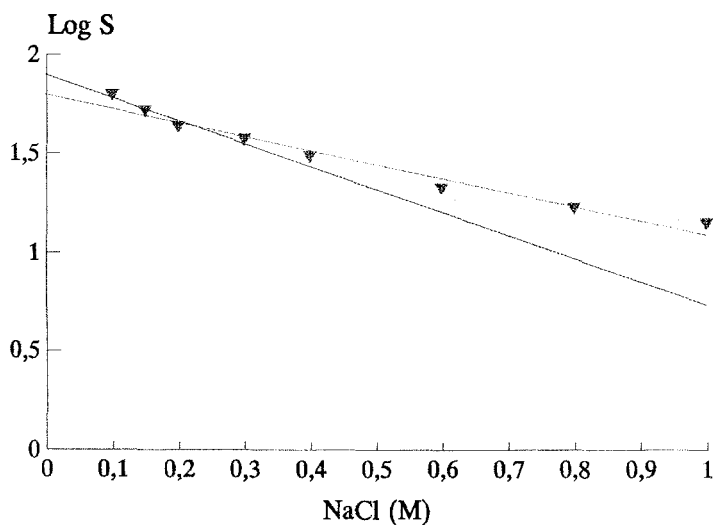


Figura 21.- Representación del Log S para el clorhidrato de naltrexona vs la fuerza iónica del medio



El resultado de este tratamiento para el clorhidrato de naltrexona proporciona un valor de  $[-K]$  de  $1.24 \pm 0.49$  (trazo continuo) y una solubilidad acuosa teórica de  $80.17 \pm 3.71$  mg/mL (intervalos de confianza para  $p < 0.01$ ), valor no demasiado alejado del dato experimental, calculado en  $85.43 \pm 4.73$  mg/mL ( $p < 0.01$ ).

En caso de que se emplee todo el intervalo de valores de fuerza iónica ensayados, el valor de  $[-K]$  es de  $0.73 \pm 0.18$  (trazo discontinuo) y se obtiene un valor teórico de solubilidad acuosa de tan sólo  $65.46 \pm 3.73$  mg/mL (intervalos de confianza para  $p < 0.01$ ).

Por otro lado, BOGARDUS, en relación a la constante de *salting-out*, propuso su cálculo en función de la solubilidad acuosa del fármaco en cuestión (expresada como concentración molar).

$$K = 0.217 / S_0 \quad (Ec7)$$

Si se emplea esta expresión para calcular el valor de  $K$  del clorhidrato de naltrexona, se obtiene un valor de 1.08, más próximo al cálculo experimental de la constante cuando se consideran valores reducidos de fuerza iónica (1.24).

### **3.2. CARACTERIZACION DEL COMPLEJO POLIMERICO NALTREXONA-EUDRAGIT L**

Como se indicó anteriormente, uno de los sistemas alternativos de liberación controlada que se pretende investigar en la presente Tesis Doctoral es el producto resultante de la reacción de complejación entre el fármaco y una estructura polimérica, concretamente el Eudragit® L. Por ello, una vez estudiados los principales parámetros fisicoquímicos del clorhidrato de naltrexona, se procede a la caracterización del producto obtenido tras la reacción de complejación entre el Eudragit® L y el clorhidrato de naltrexona, según la técnica de complejación desarrollada por nosotros, patentada y en explotación (apartado 2.2.2.1. de Material y Métodos), para poder garantizar que dicho producto es, en efecto, un complejo.

#### **3.2.1. Caracterización térmica del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L**

Como se comentó en el apartado 3.1.2.1.3., la Calorimetría Diferencial de Barrido es una técnica capaz de diferenciar entre una simple mezcla física de dos sustancias y un producto resultante de una interacción entre ellas (Ford y Timmins, 1989a; Holgado y cols., 1995c).

Así pues, se comienza el estudio fisicoquímico del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L comparando su termograma con aquél correspondiente a la mezcla física de las sustancias originales (figura 22).

Como se observa en la figura 22d, en el termograma del complejo no aparece la endoterma de deshidratación característica del clorhidrato de naltrexona, persistiendo, no obstante, el valle relacionado con la  $t_g$  del polímero que, además, se registra al valor de temperatura del Eudragit® L aislado, aproximadamente 71.2 °C.

Respecto a las endotermas de fusión, se debe recordar que tanto el clorhidrato de naltrexona (fig. 22b) como el Eudragit®L (fig. 22a)

experimentan este tipo de transición a aproximadamente 217 °C.

Como se aprecia en la figura 22d, en el termograma del complejo la endoterma de fusión es única y se desplaza, de forma importante, hasta registrarse a una temperatura de 160.8 °C, con una temperatura de pico de 182.6 °C y un  $\Delta H$  de -18 J/g.

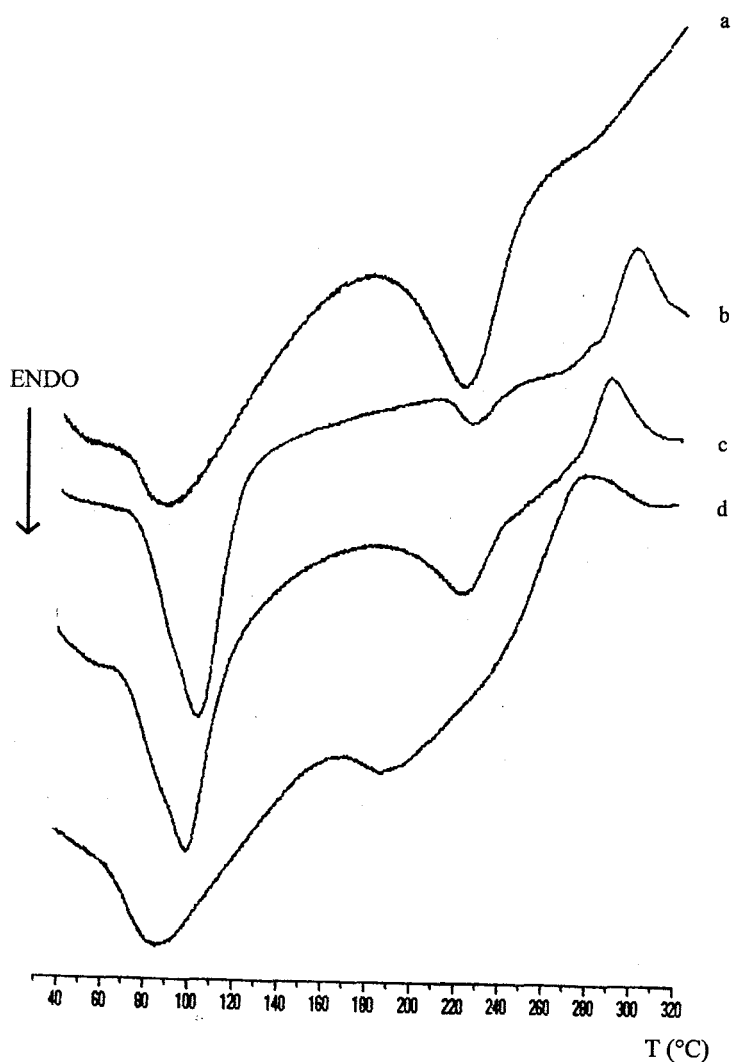


Figura 22.- Termogramas correspondientes a:

- a) Eudragit® L30D
- b) Clorhidrato de naltrexona
- c) Mezcla física Clorhidrato de naltrexona:Eudragit® L30D
- d) Complejo polimérico naltrexona-Eudragit L

Estos resultados indican la existencia de algún tipo de interacción entre el clorhidrato de naltrexona y el Eudragit® L tras la reacción de complejación llevada a cabo. No obstante, el DSC no aporta información sobre el tipo de interacción producida; otras técnicas, según se explica a continuación, permitieron completar la caracterización del complejo de naltrexona.

### **3.2.2. Caracterización del complejo naltrexona-Eudragit L en estado sólido: Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)**

En este apartado se comparan las imágenes obtenidas para el polímero y para el complejo, recogidas en la figura 23.

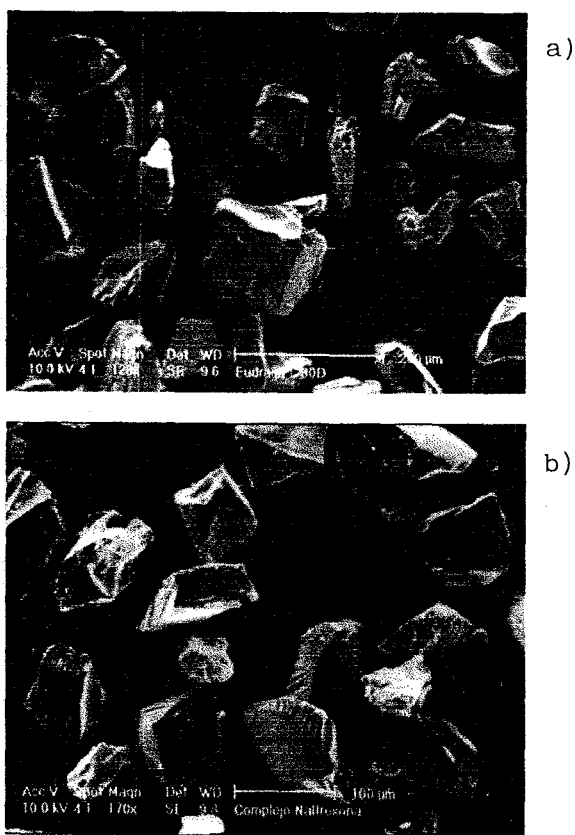


Figura 23.- Microfotografías correspondientes a:  
a) Eudragit® L      b) Complejo naltrexona-Eudragit L.

A simple vista se observa que ambos productos tienen una forma similar, no existiendo en ningún momento, según se aprecia en la microfotografía obtenida para el producto naltrexona-Eudragit L, partículas aisladas de clorhidrato de naltrexona, de forma acicular, adheridas a su superficie (figura 23b).

En lo que respecta al aspecto externo, el complejo naltrexona-Eudragit L es muy parecido al producto polimérico original al conservar la superficie laminada típica del mismo.

### **3.2.3. Caracterización química del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L por técnicas espectroscópicas**

Con objeto de confirmar la existencia de interacción entre el fármaco y el polímero, y analizar, en la medida de lo posible, cómo se produce la misma, se ha llevado a cabo un estudio espectroscópico por  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN.

En la figura 24 se encuentran recogidos los espectros  $^1\text{H}$ -RMN obtenidos para naltrexona base (figura 24a), clorhidrato de naltrexona (figura 24b), el producto resultante de la reacción de complejación (figura 24c) y Eudragit® L (figura 24d).

Si el producto final procedente de la reacción de complejación fuese una simple mezcla física, el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN sería la superposición de los correspondientes a las sustancias iniciales: clorhidrato de naltrexona y Eudragit® L (figuras 24b y 24d respectivamente).

En la figura 24c puede observarse que tal situación no se produce, ya que desaparece el singulete a 9 ppm correspondiente al grupo  $^1\text{NH}$  del clorhidrato de naltrexona. La desaparición de esta señal a campo bajo sugiere que el fármaco no se encuentra en el producto naltrexona-Eudragit L en forma salina, con el grupo amino protonado.

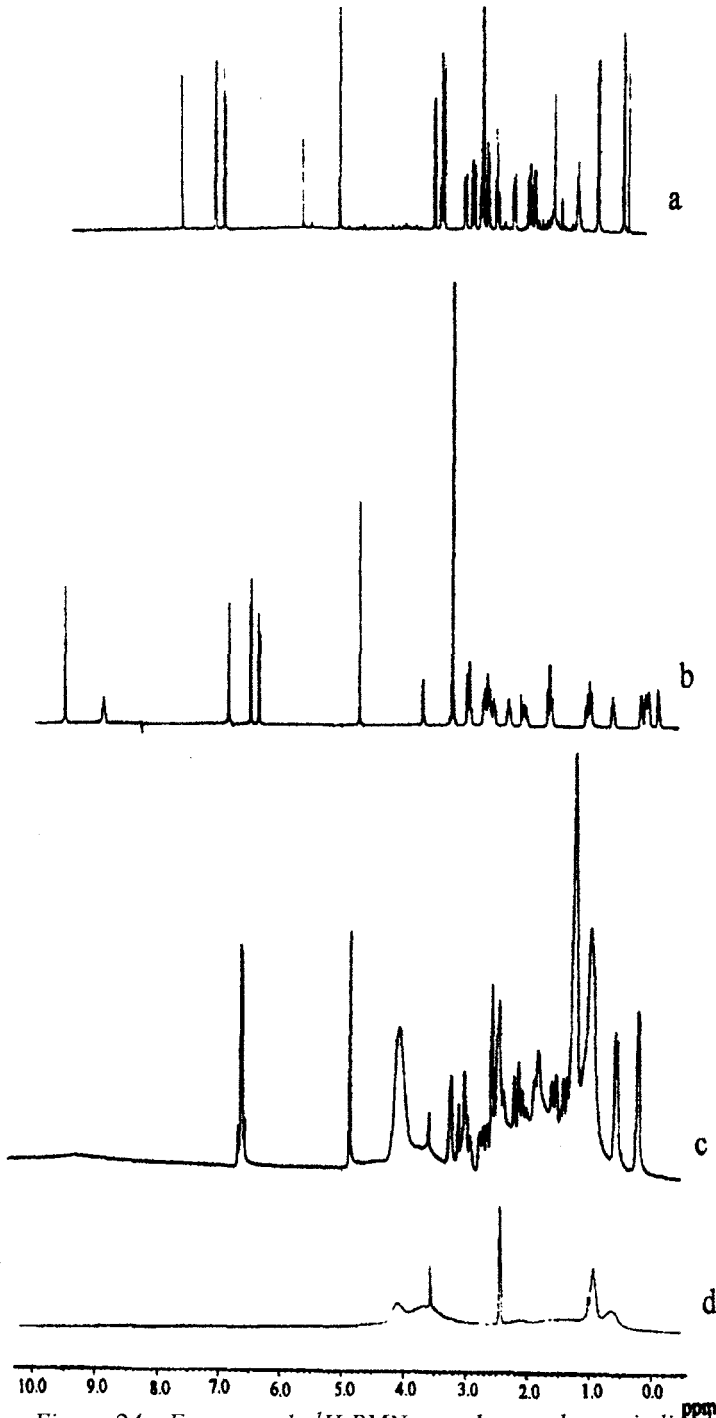


Figura 24.- Espectros de  $^1\text{H-RMN}$  para los productos indicados:

- a) Naltrexona base
- b) Clorhidrato de naltrexona
- c) Complejo polimérico naltrexona-Eudragit L
- d) Eudragit<sup>®</sup> L

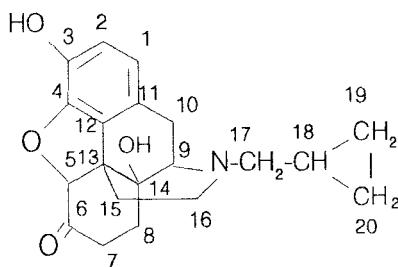
Según se desprende de los datos espectroscópicos obtenidos, se confirma que el polímero Eudragit® L incorpora en su estructura una alta proporción de fármaco, dando lugar al producto definido como complejo polimérico naltrexona-Eudragit L. No obstante, los datos obtenidos hasta ahora no permiten dilucidar con claridad cómo se produce la unión entre ambas sustancias.

Dada la naturaleza polimérica del complejo, es razonable suponer que un análisis por  $^{13}\text{C}$ -RMN podría conducir a resultados concretos en lo referente a la unión fisicoquímica entre el fármaco y el Eudragit® L.

Los espectros de  $^{13}\text{C}$  totalmente desacoplados permiten, en la mayoría de los casos, asignar fácilmente todas las señales individuales para cada uno de los carbonos. Por otra parte, es bien conocido que los desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta_i$ ) son muy sensibles a pequeños cambios estructurales y conformacionales de una determinada molécula.

Por lo anteriormente expuesto, esta técnica puede ser de gran utilidad en el estudio de la naturaleza del complejo naltrexona-Eudragit L, si se comparan los desplazamientos químicos de carbono encontrados en el producto con los de naltrexona como base y como clorhidrato.

En la tabla 14 se recogen los desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$  encontrados experimentalmente para la porción de naltrexona presente en el complejo, comparándolos con aquéllos obtenidos en las mismas condiciones para la naltrexona base y el clorhidrato de naltrexona. Analizando los datos de la tabla 14, se observa que "el comportamiento espectroscópico" de los carbonos de la fracción de naltrexona incluida en el polímero es mucho más parecido al observado en la naltrexona base ( $\Delta\delta_i = 0 - 1.7$  ppm) que en el clorhidrato, existiendo diferencias más notables entre los datos espectroscópicos extraídos del espectro de este último y de los de la fracción de naltrexona contenida en el complejo ( $\Delta\delta_i = 0 - 3.5$  ppm). Esto indica que el antagonista opioide se encuentra en el producto polimérico estudiado en forma de base libre y no en forma salina del tipo  $^-\text{NH} \text{ } ^+\text{O}_2\text{C-R}$ .



	Clorhidrato de naltrexona	$\Delta\delta_i$ $\leftrightarrow$	Naltrexona- Eudragit® L	$\Delta\delta_i$ $\leftrightarrow$	Naltrexona base
C <sub>1</sub>	119.9	0.8	119.1	0.8	119.9
C <sub>2</sub>	118.2	0.9	117.3	0.8	118.1
C <sub>3</sub>	140.2	0.7	139.5	0.1	139.4
C <sub>4</sub>	143.6	0.1	143.5	0.1	143.4
C <sub>5</sub>	88.7	0.7	89.4	1.0	90.4
C <sub>6</sub>	208.0	0.0	208.8	1.7	210.5
C <sub>7</sub>	35.2	0.7	35.9	0.2	36.1
C <sub>8</sub>	30.7	0.5	31.2	0.1	31.3
C <sub>9</sub>	60.9	0.5	61.4	0.6	62.0
C <sub>10</sub>	23.0	0.8	22.2	0.3	22.5
C <sub>11</sub>	120.6	2.7	123.3	0.2	123.5
C <sub>12</sub>	127.9	1.5	129.4	0.7	128.7
C <sub>13</sub>	48.7	1.5	50.2	0.7	50.9
C <sub>14</sub>	69.9	0.1	69.8	0.4	70.2
C <sub>15</sub>	27.2	2.9	30.1	0.5	30.6
C <sub>16</sub>	46.1	2.6	43.5	0.0	43.5
C <sub>17</sub>	56.8	1.6	58.4	0.7	59.1
C <sub>18</sub>	5.6	3.5	9.1	0.2	9.3
C <sub>19</sub>	5.3 <sup>a</sup>	1.4	3.9 <sup>a</sup>	0.0	3.9 <sup>a</sup>
C <sub>20</sub>	2.8 <sup>a</sup>	0.8	3.6 <sup>a</sup>	0.1	3.7 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Son señales que pueden estar cambiadas

Tabla 14.- Desplazamientos químicos de <sup>13</sup>C ( $\delta_i$ ) de los productos indicados y la diferencia entre ellos ( $\Delta\delta_i$ )



Considerando la secuencia de procesos llevados a cabo para elaborar el complejo naltrexona-Eudragit L, cuando se añadió la disolución de clorhidrato de naltrexona sobre la disolución acuosa de Eudragit L parcialmente neutralizado, probablemente el ácido clorhídrico de la naltrexona fue neutralizado por los grupos  $R\text{-CO}_2\text{Na}$  del polímero, liberándose naltrexona base en el medio de reacción y asociándose posteriormente con los grupos polares del polímero.

La unión fisicoquímica entre naltrexona y Eudragit® L podría deberse, en definitiva, a una asociación intermolecular por enlaces tipo puentes de hidrógeno (figura 25), en los que intervienen los grupos carboxílicos del polímero Eudragit® L y diversos grupos funcionales de la molécula de naltrexona, desde los oxígenos de los grupos carbonil-, etoxi- o hidroxil- y el nitrógeno del grupo amino.

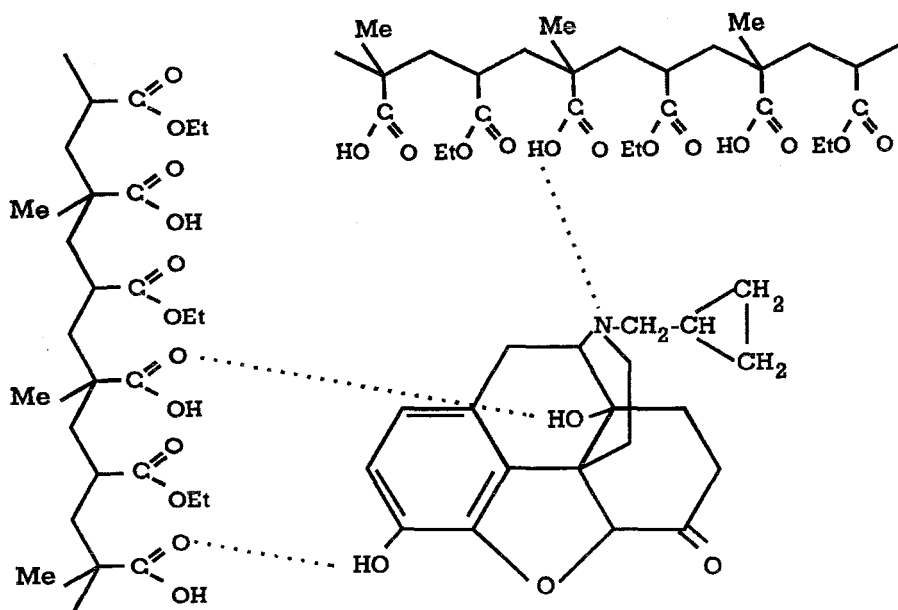


Figura 25.- Interacciones por enlace tipo puente de hidrógeno más probables entre naltrexona y Eudragit® L

Por todo ello, una vez definida la interacción producida entre el fármaco y Eudragit® L, a partir de este momento queda demostrada la naturaleza del *complejo polimérico de naltrexona*.

Nuestro grupo de investigación ha encontrado, en anteriores trabajos, este tipo de interacción en complejos poliméricos morfina-Eudragit L, caracterizados y evaluados tanto *in vitro* como *in vivo* (Alvarez-Fuentes, 1992; Alvarez-Fuentes y cols., 1994, 1996b, 1997a).

En anteriores trabajos, BETEN (1992) señaló la presencia preferente de enlaces tipo puentes de hidrógeno entre los grupos carboxílicos del Eudragit® S y algunos de los átomos de nitrógeno del dipiridamol. A su vez, LIN (1993, 1994, 1996) indicó que una interacción por enlaces tipo puentes de hidrógeno podía ser el factor mayoritariamente responsable de la complejación de warfarina, indometacina y piroxicam con el polímero acrílico Eudragit® E. Idéntica interacción encontró SUZUKI (1996) entre los grupos dimetilamino del Eudragit® E-100 y el HN<sup>+</sup> -piperidínico del clorhidrato de benidipina.

Por otro lado, JENQUIN (1990) consideró la existencia de interacciones electrostáticas y no electrostáticas (enlaces tipo puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals) entre fármacos de carga opuesta a determinados polímeros tipo Eudragit®. En este sentido, en el estudio de nuestro producto de complejación con naltrexona no se aprecia la interacción electrostática que, según LEE (1991), se presenta entre propranolol y Eudragit® L. No obstante, esta interacción electrostática sí fue encontrada en complejos poliméricos con clorhidrato de carteolol (Fernández-Arévalo y cols., 1992, 1994; Holgado 1993; Holgado y cols., 1995a).

Todo ello parece indicar que fármacos que son aminas terciarias, como morfina y naltrexona, interaccionan con los grupos polares del Eudragit® L con enlaces tipo puentes de hidrógeno, mientras que aminas secundarias como el carteolol interaccionan, preferentemente, en base a la formación de una unión salina. La diferencia en el tipo de interacción puede

ser atribuida a la alta estabilidad del grupo amínico terciario en comparación con las aminas secundarias y primarias. Esta estabilidad es la que previene, en el caso de las aminas terciarias, la aparición de una interacción salina.

Siguiendo este mismo razonamiento, y en base a los primeros resultados obtenidos empleando aminas primarias como fenilpropanolamina (Piñero, 1997), podemos esperar que la interacción entre éstas y el Eudragit® L se produzca, preferencialmente, por unión salina.

### **3.2.4. Determinación del rendimiento del proceso de complejación**

Con objeto de determinar el rendimiento de la técnica de complejación propuesta, en el presente apartado se investiga la influencia del grado de neutralización del polímero Eudragit® L sobre el peso del complejo resultante y su contenido en fármaco. Los datos obtenidos se muestran en la tabla 15.

El análisis de varianza (una vía) realizado muestra que existen diferencias estadísticamente significativas entre los lotes elaborados con los diferentes porcentajes de neutralización de la resina acrílica ( $F_{3, 12}=8.43$ ,  $p = 0.0028$ ).

	Grado de neutralización			
	38 %	39 %	40 %	41 %
Peso complejo (g)	2.875	2.964	3.027	2.557
Riqueza (%)	33.55 ± 0.11	34.78 ± 0.13	33.38 ± 0.19	34.37 ± 0.20

Tabla 15.- Riqueza en fármaco (media ± EE, n=4) y peso de los diferentes complejos de naltrexona elaborados a distintos porcentajes de neutralización del polímero

Los resultados indican que el contenido de clorhidrato de naltrexona llega a alcanzar un valor máximo de aproximadamente 35 % p/p cuando el polímero acrílico se neutraliza en un 39 %. A partir del 40 % de neutralización, aunque se mantiene la riqueza del producto, empieza a descender el peso que se obtiene del mismo. Este grado de neutralización, correspondiente al peso máximo obtenido para los complejos elaborados, lo denominamos *punto óptimo de neutralización (P.O.N.)*.

Resultados similares se obtuvieron con anterioridad para complejos elaborados con clorhidrato de morfina, para los que se obtuvo un valor de P.O.N. del 40 % (Alvarez-Fuentes, 1992). Este hecho se ha observado también para el resto de complejos poliméricos de fármacos amínicos estudiados (pseudoefedrina, fenilpropanolamina, carteolol, difenhidramina, dextrometorfano y morfina) (Alvarez-Fuentes, 1992; Alvarez-Fuentes y cols., 1994, 1995, 1997b; Caraballo y cols., 1992, 1994; Fernández-Arévalo y cols., 1992, 1994, 1995; Holgado, 1993; Holgado y cols., 1995a; Piñero, 1997; Piñero y cols., 1997).

Con objeto de estudiar esta circunstancia, en la figura 26 representamos, conjuntamente, los resultados obtenidos. Se aprecia que el grado de neutralización de la resina ejerce una gran influencia sobre la eficacia de la reacción de complejación en cuanto al peso de complejo obtenido en cada caso, existiendo un punto máximo (P.O.N.) a partir del cual un aumento en el porcentaje de neutralización implica una importante reducción en el peso de complejo.

En principio, cuando las investigaciones se centraron en morfina y carteolol, la existencia de un P.O.N. fue atribuida a la aparición de un impedimento estérico responsable de que existiera un máximo a partir del cual la entrada del fármaco en la estructura polimérica se veía obstaculizada.

Cuando se supera el valor de P.O.N., la ausencia de interacción entre los grupos reactivos polares del polímero con nuevas moléculas de fármaco posibilita la persistencia de grupos carboxilatos neutralizados en la

cadena polimérica. Estos grupos polares serán los responsables de una parcial solubilización del complejo que provocaría el descenso en los valores de peso obtenidos.

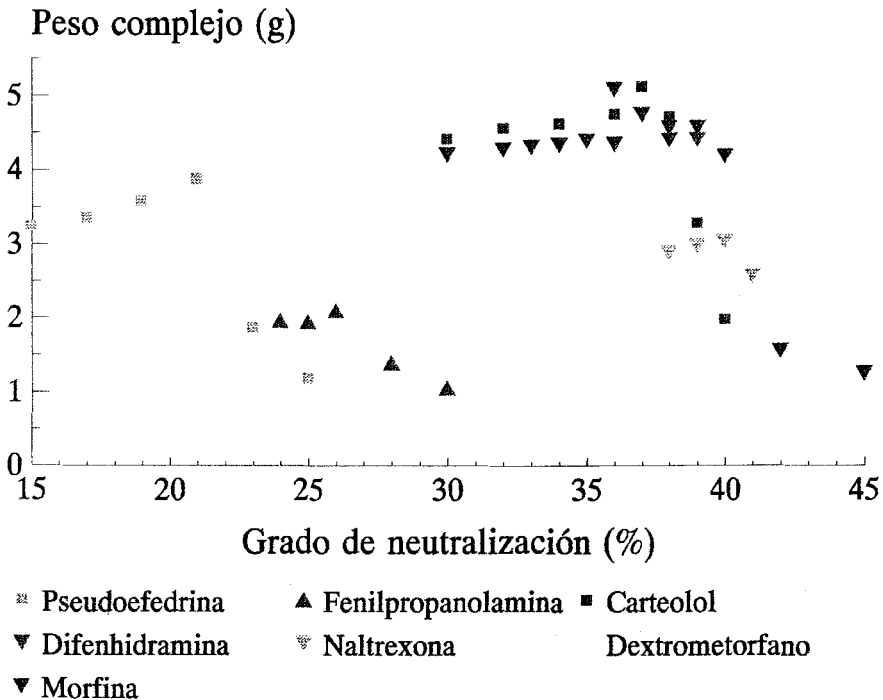


Figura 26.- Relación entre el grado de neutralización de la resina y el peso de complejo obtenido

Profundizando en este estudio, se determina ahora la posible relación entre el peso molecular de los fármacos investigados con sus correspondientes valores de P.O.N. (figura 27), apreciándose que estos valores de punto óptimo aumentan con el peso molecular del fármaco.

Esta situación indica que el impedimento estérico no es el verdadero responsable de la existencia del P.O.N., ya que fármacos de alto peso molecular deberían inducir antes la aparición de un impedimento estérico y, por tanto, obtener valores de P.O.N. más reducidos.

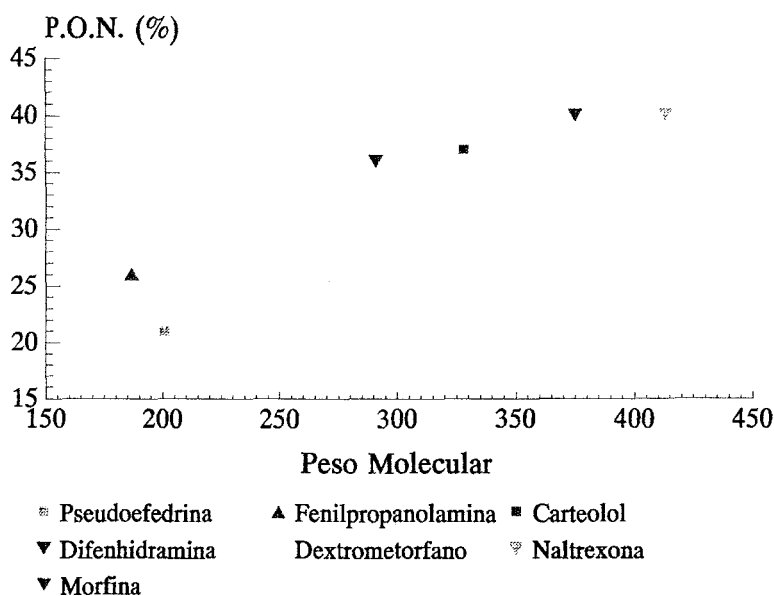


Figura 27.- Relación entre el peso molecular de los fármacos complejados y el valor de P.O.N.

La *Teoría de la Percolación* puede proporcionar una hipótesis que explique esta situación. En esta teoría, dado un sistema definido por posiciones ocupadas o vacías de distribución aleatoria e independiente, se define un *cluster* como un conjunto de lugares ocupados vecinos, considerando como tales aquéllos que comparten un lado de la celda que los representa en el sistema. Se define el *umbral de percolación* como el intervalo de concentraciones en volumen de fármaco en el cuál el cluster del mismo percuela el sistema, atravesándolo en toda su extensión.

Analizando los resultados antes referidos desde el punto de vista de la *Teoría de la Percolación*, se plantea una nueva hipótesis según la cual el P.O.N. podría relacionarse con el *umbral de percolación* del fármaco en el complejo. Por un lado, el grado en el que el polímero acrílico se neutraliza para llevar a cabo la complejación puede ser considerado como una concentración de puntos activos o reactivos en el sistema y puede asimilarse a una concentración en volumen. Así, en base a la *Teoría de la Percolación*, el P.O.N. puede considerarse como un punto crítico ligado al *umbral de percolación* del fármaco en el sistema y con un comportamiento similar al

mismo. Se admite que en un sistema desordenado el componente con mayor tamaño percuela el sistema ocupando un mayor volumen, por lo que su *umbral de percolación* es mayor (Caraballo y cols., 1996a). Este hecho puede atribuirse a la poca efectividad con que se distribuyen estos componentes de cara a la formación de un *cluster infinito* que abarque todo el sistema (Millán y cols., 1998). Esto explicaría que, para la formación de los complejos poliméricos, aquellos fármacos de mayor peso molecular necesiten alcanzar una mayor concentración en el producto final para alcanzar el punto crítico; es decir, el P.O.N. requerido por estos fármacos sea más elevado.

Por otro lado, si se toma la riqueza en fármaco del complejo como parámetro indicativo de la eficacia de la reacción de complejación, se observa que ésta aumenta en relación con el peso molecular del principio activo (figura 28).

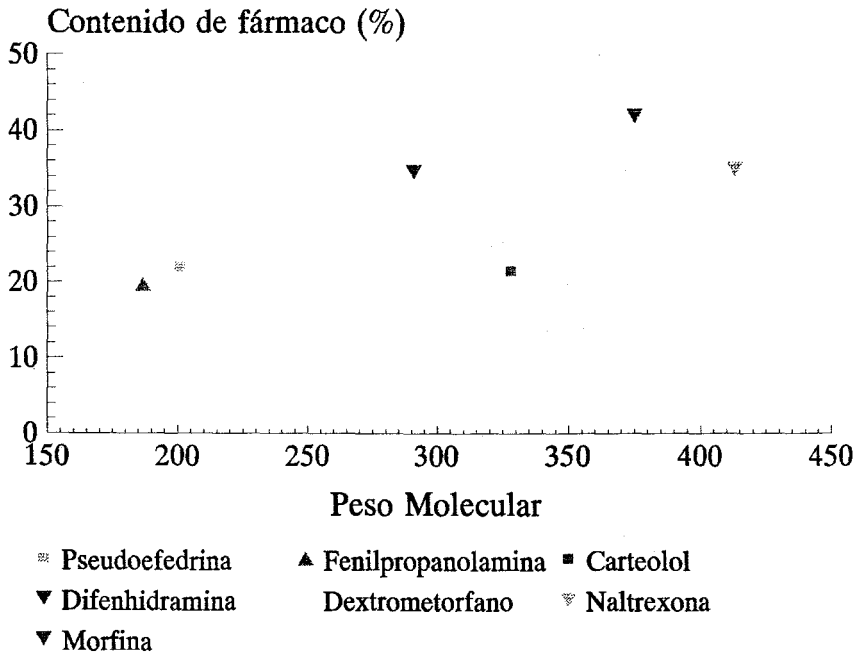


Figura 28.- Relación entre el contenido en fármaco de los complejos y el peso molecular de los mismos

Esta tendencia, posiblemente también relacionada con el tipo de amina, es tema de investigaciones actuales dentro del campo de nuestra técnica de complejación.

### **3.2.5. Caracterización biofarmacéutica de los complejos poliméricos naltrexona-Eudragit L**

Una vez caracterizado el complejo polimérico de naltrexona desde el punto de vista fisicoquímico, resulta imprescindible estudiar el control que este producto pueda ejercer sobre la cesión del fármaco desde su estructura polimérica, a la que se encuentra unido por una interacción, preferentemente, tipo puente de hidrógeno.

Mediante este ensayo puede conocerse también la cinética de liberación del principio activo desde el complejo polimérico.

El estudio de disolución del fármaco *in vitro* se realizó empleando la técnica de gradiente de pH indicada en el apartado de Material y Métodos, con objeto de conocer el comportamiento de liberación del complejo sometido a condiciones similares a las fisiológicas.

Para cada lote de complejo en estudio, se ha realizado el ensayo de liberación por triplicado, disponiendo 100 mg del producto en cápsulas de gelatina duras. Se ha seleccionado esta forma de dosificación oral por ser de fácil elaboración y tratarse de una forma farmacéutica en la cuál se evita que determinados procesos tecnológicos tengan influencia alguna sobre el proceso de liberación del fármaco.

Los perfiles de liberación resultantes aparecen recogidos en la figura 29. A modo comparativo se incluye el perfil de disolución del clorhidrato de naltrexona obtenido en idénticas condiciones.



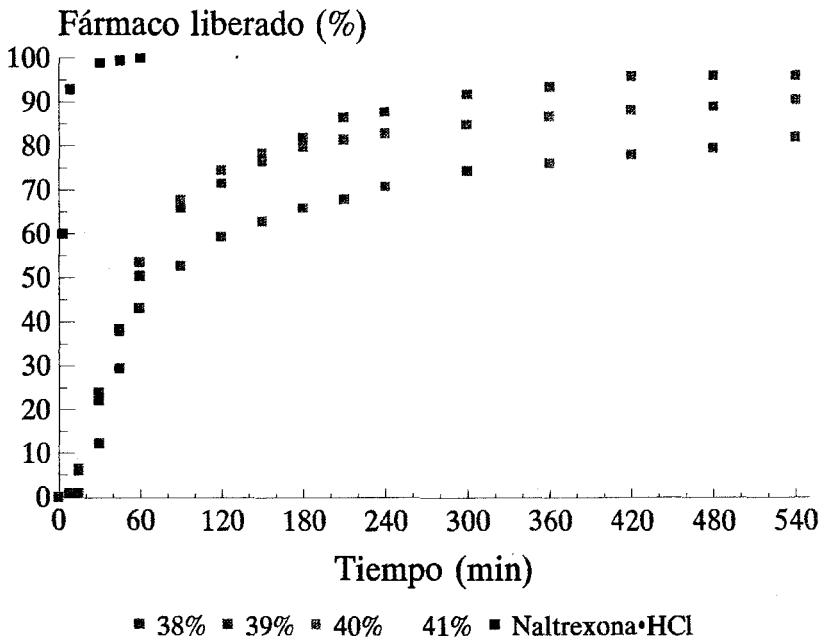


Figura 29.- Perfiles de liberación a gradiente de pH de los complejos naltrexona-Eudragit L elaborados a distintos porcentajes de neutralización

El estudio de los perfiles de disolución en base a un parámetro amodelístico, como es el tiempo medio de disolución o tiempo necesario para que se produzca la disolución del 50 % de la carga de fármaco ( $t_{50}$ ), ofrece información válida sobre la eficacia del control de la liberación de naltrexona desde el complejo polimérico.

Al analizar los perfiles de liberación incluidos en la figura 29, se obtienen valores de  $t_{50}$  de, aproximadamente, 5 minutos para el clorhidrato de naltrexona, y entre 55 y 80 minutos para los complejos poliméricos ensayados. Se comprueba así que todos los complejos poliméricos estudiados consiguen controlar, en mayor o menor medida, el proceso de cesión del fármaco en las condiciones de gradiente de pH comentadas. Como se aprecia en la figura 29, durante la fase inicial del proceso de liberación correspondiente a las dos primeras horas de ensayo, se produce la liberación de entre el 60 y 75 % de la carga de fármaco.

Cuando se estudia el rendimiento del proceso de liberación en

relación al grado de neutralización del polímero acrílico, se observa que encuentra su máximo valor para el complejo elaborado al 39 % de neutralización (96.58 %), variando el porcentaje final de fármaco liberado entre el 80 y 100 % para el conjunto de los porcentajes de neutralización ensayados. No obstante, el análisis de varianza (una vía) realizado sobre los datos de los distintos perfiles de liberación no muestra que existan diferencias estadísticamente significativas entre ellos ( $F_{3,12} < 3.49, p > 0.05$ ).

La consecución de un alto rendimiento de la cesión de principio activo en la última fase del proceso, correspondiente al intervalo de tiempo en el que el medio de disolución presenta valores de pH entre 5.8 y 7.4 unidades, es una característica importante a destacar de todos los perfiles de liberación obtenidos por los complejos de naltrexona desarrollados.

El hecho de que en todos los casos se alcancen porcentajes máximos de liberación del principio activo, hace pensar que la solubilización que empieza a sufrir el soporte polimérico por encima de 5.5 unidades de pH participe, de una forma u otra, en el proceso de liberación, dejando de ser un impedimento para la cesión del fármaco.

Con objeto de obtener la máxima información sobre el comportamiento de disolución de estos complejos, resulta interesante estudiar el mecanismo de liberación del fármaco de manera comparativa con el de otros complejos poliméricos desarrollados con diversos principios activos.

En principio, el estudio de los perfiles de liberación obtenidos para los complejos poliméricos de naltrexona, se ha realizado en base a la regresión de los datos en función de los modelos cinéticos tradicionales (orden cero, orden uno e Higuchi).

Los coeficientes de correlación obtenidos para estas regresiones se relacionan en la tabla 16.

	38 %	39 %	40 %	41 %
Orden Cero	r = 0.5842 p = 0.001	r = 0.6962 p < 0.001	r = 0.5807 p = 0.001	r = 0.0.6301 p < 0.001
Orden Uno	r = 0.7923 p < 0.001	r = 0.9873 p < 0.001	r = 0.9183 p < 0.001	r = 0.8907 p < 0.001
Higuchi	r = 0.7958 p < 0.001	r = 0.8859 p < 0.001	r = 0.8001 p < 0.001	r = 0.8368 p < 0.001

Tabla 16.- Coeficientes de correlación y niveles de probabilidad obtenidos para el ajuste de los datos de liberación a las cinéticas indicadas

Dado que en ningún caso se ha encontrado un ajuste claro a cualesquiera de las cinéticas estudiadas, los datos de liberación se analizaron en base al ajuste no lineal de los mismos a la siguiente expresión exponencial, correspondiente a la ecuación de Korsmeyer (Ec. 8) indicada en Material y Métodos:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \quad (\text{Ec8})$$

$M_t$ , cantidad de fármaco liberada en el tiempo  $t$ ;  
 $M_\infty$ , cantidad de fármaco incluida en el sistema;  
 $K$ , constante cinética característica del sistema ( $t^{-n}$ );  
 $n$ , exponente que define el mecanismo de liberación.

Esta ecuación, usada para analizar los datos de liberación de fármacos solubles en agua desde sistemas poliméricos (Korsmeyer y cols., 1983; Peppas, 1985; Nujoma y Kim, 1996; Danckwerts y cols., 1997), predice la existencia de una relación entre la fracción de fármaco liberada y el tiempo.

A partir del valor que alcance el exponente  $n$ , se define el mecanismo de liberación según se detalla en la tabla 17.

Exponente $n$	Mecanismo de liberación
$\sim 0.5$	Caso I o Difusión Fickiana
$0.5 < n < 1.0$	Difusión anómala o no Fickiana
$\sim 1.0$	Caso II (Orden Cero)

Tabla 17.- Mecanismo de liberación en función del valor del exponente  $n$

Normalmente, el ajuste de los perfiles se hace para intervalos de porcentajes de fármaco liberado entre 10 y 80 %.

En la tabla 18 se muestran los parámetros estadísticos de la ecuación exponencial en estudio, definidos por el ajuste de los datos de porcentajes de liberación incluidos en los intervalos expresados, correspondientes a los diferentes complejos de naltrexona.

Intervalo de fármaco liberado	38 %	39 %	40 %	41 %
10 - 80 %	$k = 0.0624$	$k = 0.0565$	$k = 0.0682$	$k = 0.0604$
	$n = 0.4455$	$n = 0.5167$	$n = 0.4800$	$n = 0.4790$
	$r = 0.9833$	$r = 0.9924$	$r = 0.9897$	$r = 0.9894$
10 - 70 %	$k = 0.0477$	$k = 0.0251$	$k = 0.0259$	$k = 0.0294$
	$n = 0.5050$	$n = 0.7122$	$n = 0.7134$	$n = 0.6476$
	$r = 0.9848$	$r = 0.9934$	$r = 0.9939$	$r = 0.9905$
10 - 60 %	$k = 0.0125$	$k = 0.0128$	$k = 0.0138$	$k = 0.0106$
	$n = 0.8223$	$n = 0.8830$	$n = 0.8721$	$n = 0.9028$
	$r = 0.9858$	$r = 0.9969$	$r = 0.9966$	$r = 0.9914$
10 - 50 %	$k = 0.0060$	$k = 0.0047$	$k = 0.0045$	$k = 0.0017$
	$n = 1.0058$	$n = 1.1434$	$n = 1.1661$	$n = 1.3772$
	$r = 0.9849$	$r = 0.9992$	$r = 0.9991$	$r = 0.9996$

Tabla 18.- Parámetros de liberación de naltrexona de los complejos poliméricos estudiados a gradiente de pH ( $p < 0.01$ )

Según el ajuste realizado, la liberación del fármaco hasta el 50 y 60 % se ajusta a una cinética de orden cero. Posteriormente, si se realiza el ajuste de los datos correspondientes a la liberación del 80 % de fármaco, el perfil de liberación se ajusta a una cinética de Higuchi. Esta tendencia aparece para todos los lotes de complejos de naltrexona elaborados, circunstancia lógica según el análisis de la varianza realizado anteriormente que no encontraba diferencias significativas entre los perfiles.

A continuación, se llevó a cabo un estudio comparativo de los perfiles de liberación obtenidos para complejos de naltrexona, morfina y carteolol elaborados al 39, 40 y 30 % de neutralización, respectivamente, por ser estos los porcentajes que permiten un mayor rendimiento en el proceso de liberación del fármaco (figura 30).

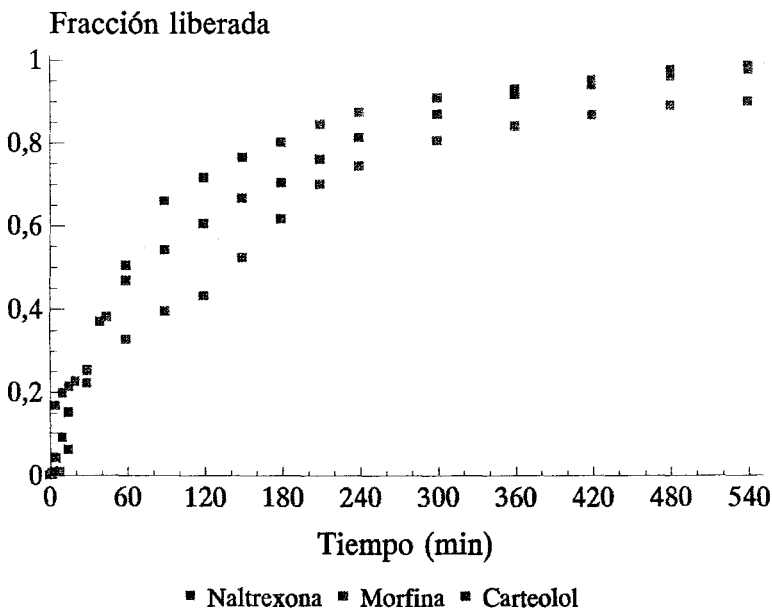


Figura 30.- Perfiles de liberación a gradiente de pH para los complejos de los fármacos indicados

En principio, si se acepta la hipótesis establecida sobre la participación del vehículo polimérico en la cesión del fármaco, es decir, si el mecanismo de liberación está relacionado con la solubilidad pH-

dependiente del Eudragit® L, deberían obtenerse comportamientos parecidos para los complejos poliméricos de diferentes fármacos elaborados con Eudragit® L.

En la tabla 19 se recoge el resultado del ajuste de los perfiles de liberación de los complejos indicados siguiendo la misma metodología.

Intervalo de fármaco liberado	Morfina	Naltrexona	Carteolol
10 - 80 %	k=0.0553	k=0.0565	k=0.0717
	n=0.4888	n=0.5167	n=0.4151
	r=0.9958	r=0.9924	r=0.9677
10 - 70 %	k=0.0548	k=0.0251	k=0.0989
	n=0.4912	n=0.7122	n=0.3374
	r=0.9956	r=0.9934	r=0.9443
10 - 60 %	k=0.0364	k=0.0128	k=0.1056
	n=0.5941	n=0.8830	n=0.3128
	r=0.9953	r=0.9969	r=0.9335
10 - 50 %	k=0.0150	k=0.0047	k=0.1209
	n=0.8375	n=1.1434	n=0.2706
	r=0.9998	r=0.9992	r=0.9207

Tabla 19.-Parámetros estadísticos de liberación de los complejos poliméricos indicados ( $p < 0.01$ )

Según se observa en la tabla 19, los mejores coeficientes de correlación se consiguen para el ajuste de los perfiles de liberación de naltrexona y morfina ( $r > 0.99$ ,  $p < 0.01$ ), obteniéndose un ajuste casi perfecto a la cinética de Higuchi para el 80 y 70 % de liberación de naltrexona y morfina, respectivamente. De la misma forma, se mantiene la tendencia a un ajuste a orden cero en la liberación de hasta el 50 % de fármaco.

En el caso del complejo polimérico de carteolol, aún con menores

coeficientes de correlación ( $r < 0.99$ ), se aprecia un mecanismo de liberación similar a Higuchi para el 80 % del contenido en fármaco, aunque no se manifiestan esos periodos de liberación iniciales con un ajuste a orden cero.

Si relacionamos estos resultados con el tipo de interacción fármaco-polímero encontrada en cada caso, podemos distinguir dos situaciones diferentes. En los tres casos, dentro de las dos primeras horas de ensayo se libera el 50 % de fármaco. Durante este periodo de tiempo, el pH del medio se mantiene a valores ácidos.

Dada la naturaleza del Eudragit® L, insoluble a pH ácido, durante este tiempo el polímero no debe influir sobre los perfiles de liberación.

Sin embargo, hemos comentado que la liberación de hasta un 50 % de fármaco de los complejos de naltrexona y morfina presentan una tendencia a un ajuste a orden cero, y que esta situación no se aprecia en el complejo de carteolol. Este hecho puede estar relacionado con la diferente interacción fármaco-Eudragit L establecida en cada caso, dado que mientras que para los complejos de naltrexona y morfina se ha demostrado una interacción con el polímero preferentemente por enlaces tipo puentes de hidrógeno, en el caso del carteolol la unión con el Eudragit® L se efectuó, principalmente, mediante interacciones electrostáticas (Holgado y cols., 1995a). Es posible que, en un medio con una alta concentración de protones, el enlace tipo puente de hidrógeno formado entre el Eudragit® L y los fármacos amínicos terciarios sea más lábil que la interacción electrostática producida entre la resina y las aminas secundarias. De hecho se encuentra un valor de  $t_{50}$  de hasta 120 minutos para el complejo de carteolol, y sólo de 60 minutos para los complejos de morfina y naltrexona.

Por otro lado, en los tres principios activos se observa una tendencia a un mecanismo difusional cuando se ha liberado hasta el 70 y 80 % de fármaco. Para llegar a este punto, el complejo se ha visto sometido a condiciones de pH en las que el soporte polimérico es soluble ( $\text{pH} > 5.5$ ). Esta situación parece apoyar la hipótesis establecida inicialmente sobre la

cuando éste se encuentra en las condiciones de pH citadas deja de ser una barrera para la libre cesión del fármaco, dada su solubilidad pH-dependiente.

Los resultados de liberación obtenidos nos han llevado a plantear nuevas investigaciones que tengan por objeto la evaluación biofarmacéutica del complejo naltrexona-Eudragit® L tras ser procesado en forma de comprimido, e incluso tras su formulación como matriz inerte.

A modo de resumen, y centrándonos en el fármaco que nos ocupa, se puede concluir que la técnica de complejación utilizada ha permitido obtener un complejo polimérico de naltrexona con Eudragit® L. Dicho complejo se origina mediante enlaces tipo puentes de hidrógeno, preferencialmente. El proceso de liberación de la naltrexona a partir de estos complejos garantiza una liberación del 50 % en las dos primeras horas del ensayo presentando, este proceso, una cinética de orden cero. Además, el rendimiento final de liberación es del 100 %, siguiendo el proceso global un mecanismo difusional de Higuchi.



### 3.3. CARACTERIZACION DE LAS MATRICES INERTES DE CLORHIDRATO DE NALTREXONA

En este apartado se aborda el desarrollo y la evaluación del segundo de los sistemas de liberación controlada de naltrexona propuesto: sistemas matriciales inertes.

Como se comentó en el apartado de Introducción de la presente Tesis Doctoral, los conceptos de la Teoría de la Percolación pueden emplearse en el campo de los sistemas matriciales de liberación controlada para abordar tanto la obtención de formulaciones adecuadas como para conseguir una caracterización más completa desde los puntos de vista tecnofarmacéutico y biofarmacéutico. La feliz conclusión de este objetivo permitirá llevar a cabo un diseño más racional del medicamento. De esta forma se optimiza el desarrollo de las formulaciones idóneas para las matrices inertes y su posterior estudio, evitando la elaboración y caracterización de lotes innecesarios.

Para protocolizar la elaboración y evaluación de los sistemas matriciales inertes de clorhidrato de naltrexona, se han considerado cada una de las conclusiones obtenidas por nuestro grupo de investigación en la aplicación de la Teoría de la Percolación al campo farmacéutico.

Respecto al tamaño de partícula del excipiente polimérico que se emplea como soporte matricial, se concluyó que la inclusión de los mayores tamaños de partícula implicaba una aceleración del proceso de liberación, ya que, con estas fracciones, los *clusters* resultantes percuelan menos eficazmente el sistema, al ser menos extensos (Caraballo, 1994). En virtud de este resultado y para la elaboración de las matrices de clorhidrato de naltrexona, se selecciona la fracción granulométrica de excipiente más pequeña que permita la elaboración de comprimidos con características tecnológicas aceptables, 100 - 150  $\mu\text{m}$ .

En cuanto al componente activo de la matriz, clorhidrato de

naltrexona, se han considerado los resultados obtenidos en trabajos anteriores con cloruro potásico, empleado como ejemplo de sustancia libremente soluble (Caraballo, 1994). Una vez fijada la fracción granulométrica para el excipiente, comprendida entre 100 - 150  $\mu\text{m}$ , se estima la existencia del umbral de percolación del fármaco en las matrices elaboradas al 40 % p/p de cloruro potásico. Sistemas matriciales elaborados con porcentajes de sustancia activa próximos al 40 % p/p, porcentaje al que se presume la existencia de un cluster infinito de fármaco, proporcionarán la liberación completa pero controlada del principio activo. Extrapolando este resultado y teniendo en cuenta el tamaño de partícula y la densidad del clorhidrato de naltrexona, se prevé que matrices con un contenido en fármaco cercano al 31 % p/p consigan, de forma eficaz, controlar la liberación del clorhidrato de naltrexona.

Como se comentó en el apartado de Material y Métodos, los comprimidos matriciales se elaboraron a la máxima fuerza de compresión que la formulación permitía; con ello se pretende que la cohesión entre partículas sea tal que la integridad de los comprimidos se mantenga hasta el final del estudio de liberación. De este modo la influencia de este parámetro sobre el proceso de liberación es prácticamente nula y similar para todos los comprimidos.

### **3.3.1. Caracterización galénica**

En este apartado se estudian las características galénicas de los comprimidos matriciales inertes de clorhidrato de naltrexona elaborados. La única diferencia entre los distintos lotes se debe a la carga de fármaco en la formulación: 35, 20, 12 y 7 % p/p, ya que, como indicamos anteriormente, los tamaños medios de los componentes quedaron prefijados.

El primer parámetro en estudio es el aspecto externo de los comprimidos. Para todos los lotes elaborados se obtienen comprimidos de

color blanco y de superficie lisa y brillante.

Respecto al peso de los comprimidos, la tabla 20 muestra los resultados de los principales parámetros estadísticos obtenidos para cada uno de los lotes elaborados.

Las variaciones encontradas entre los comprimidos de un mismo lote están dentro de los límites permitidos por la Farmacopea Europea, 5 %, considerando el peso medio de los comprimidos elaborados (García y Santos, 1997).

El análisis de varianza (una vía) realizado no muestra que existan diferencias significativas entre el peso de los distintos lotes de comprimidos matriciales ( $F_{(3,36)}=2.5825$ ,  $p > 0.05$ ).

Lotes	Media (mg)	Desv. estándar (DE)	CV (%)	Error estándar (EE)
35 %	487.66	9.09	1.9	4.06
20 %	487.56	3.85	0.8	1.72
12 %	482.47	7.27	1.5	4.20
7 %	477.67	6.82	1.4	2.78

Tabla 20.- Valores medios (mg), desviaciones estándares, coeficientes de variación y errores estándares obtenidos para el peso de los comprimidos de los diferentes lotes

La altura media para los comprimidos de cada lote y sus correspondientes desviaciones estándares, coeficientes de variación y errores estándares se recogen en la tabla 21.

El análisis de varianza (una vía) llevado a cabo no detecta la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las medidas de altura de los comprimidos pertenecientes a los lotes estudiados ( $F_{(5,36)}=1.2041$ ,  $p < 0.05$ ).

Lotes	Media (mm)	Desv. estándar (DE)	CV (%)	Error estándar (EE)
35 %	4.08	0.21	5.2	0.09
20 %	4.27	0.03	0.8	0.01
12 %	4.21	0.08	1.9	0.05
7 %	4.22	0.22	5.3	0.10

Tabla 21.- Valores medios (mm), desviaciones estándares, coeficientes de variación y errores estándares obtenidos para la altura de los comprimidos de los diferentes lotes

Por otro lado, cuando se evalúa el diámetro de los comprimidos se espera que este parámetro no sufra importantes variaciones, por estar delimitado por las dimensiones de la cámara de compresión empleada. En cualquier caso, el diámetro de un comprimido debe ser tal que su relación con la altura permita obtener comprimidos fáciles de manejar e ingerir. El diámetro de los comprimidos suele oscilar entre 5 y 17 mm (García y Santos, 1997).

No obstante, durante el proceso de expulsión, los comprimidos sufren una ligera expansión responsable de pequeñas modificaciones en las dimensiones esperadas. Este proceso de expansión explica las variaciones encontradas y recogidas en la tabla 22, habiéndose empleado cámaras de compresión de 12 mm de diámetro.

Lotes	Media (mm)	Desv. estándar (DE)	CV (%)	Error estándar (EE)
35 %	12.12	0.01	0.1	0.01
20 %	12.20	0.10	0.8	0.05
12 %	12.26	0.09	0.7	0.05
7 %	12.17	0.06	0.5	0.02

Tabla 22.- Valores medios (mm), desviaciones estándares, coeficientes de variación y errores estándares obtenidos para el diámetro de los comprimidos de los diferentes lotes

Como es de esperar, el análisis de varianza (una vía) llevado a cabo no muestra que existan diferencias estadísticamente significativas para este factor entre los lotes de comprimidos elaborados ( $F_{(3,36)}=2.7907$ ,  $p > 0.05$ ).

Para completar la caracterización de los sistemas matriciales elaborados se estudia la resistencia a la rotura y la posible influencia de la carga de fármaco sobre este parámetro.

Los datos de resistencia a la rotura de las distintas formulaciones ensayadas aparecen recogidos en la tabla 23.

Lotes	Media (Kp)	Desv. estándar (DE)	CV (%)	Error estándar (EE)
35 %	11.80	0.35	2.93	0.25
20 %	7.60	0.56	7.40	0.40
12 %	8.60	0.14	1.64	0.10
7 %	11.80	0.14	1.20	0.10

Tabla 23.- Valores medios (Kp), desviaciones estándares, coeficientes de variación y errores estándares obtenidos para la resistencia a la rotura de los comprimidos de los lotes indicados ( $n=3$ )

El análisis de varianza (una vía) efectuado sobre los valores de la resistencia a la rotura demuestra que existen diferencias estadísticamente significativas entre los lotes de comprimidos elaborados ( $F_{(3,8)}=67.9683$ ,  $p < 0.05$ ). El *post hoc* realizado (test de Student-Newman-Keuls) estableció que las diferencias encontradas entre grupos se deben a los lotes elaborados a los porcentajes intermedios de fármaco, 20 y 12 %.

Si bien esta diferencia estadísticamente significativa podría resultar engañosa al realizarse el estudio sólo con cuatro lotes de comprimidos, parece vislumbrarse un cambio de comportamiento en torno al que se presume es el umbral de percolación del fármaco, donde se alcanzan los valores más bajos de resistencia a la rotura.

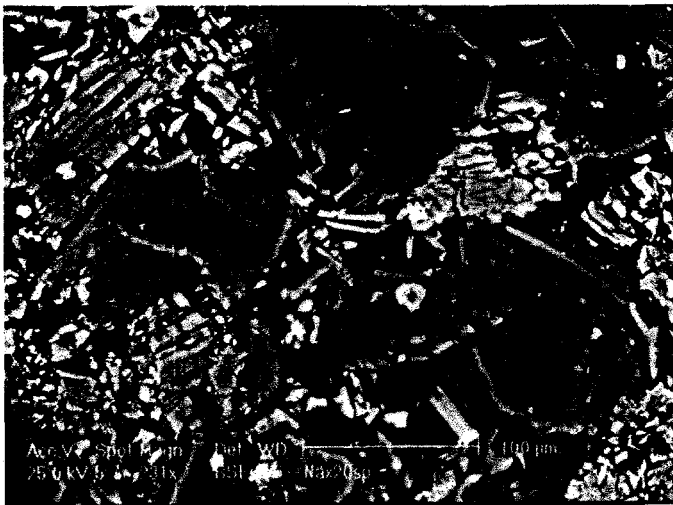
En estudios anteriores, cuando se analizó la influencia del umbral de percolación del KCl sobre la resistencia a la rotura, se apreció un descenso rápido de este parámetro a partir de los comprimidos elaborados con porcentajes de fármaco próximos a su umbral de percolación (Millán y cols., 1995). Esta circunstancia se relaciona con la formación del primer *cluster* infinito de KCl (sustancia plástica) y su posterior extensión y a un cambio en el mecanismo dominante de unión entre las partículas, que viene dado por las diferentes propiedades de compresión de los constituyentes del comprimido (Sheikh-Salem y Fell, 1981).

En el umbral de percolación del fármaco existe un *cluster* infinito de excipiente (Eudragit® RS-PM, sustancia rígida) de gran extensión y un primer *cluster* infinito de fármaco (KCl, sustancia plástica). Cuando el *cluster* de fármaco se va haciendo cada vez más extenso, empiezan a primar las uniones entre las partículas plásticas, disminuyendo así la importancia del *cluster* de partículas rígidas de Eudragit® RS-PM. Esta situación produce una disminución de los valores de la resistencia a la rotura de los comprimidos al empezar a primar las características del KCl frente al Eudragit® RS-PM (Millán y cols., 1995).

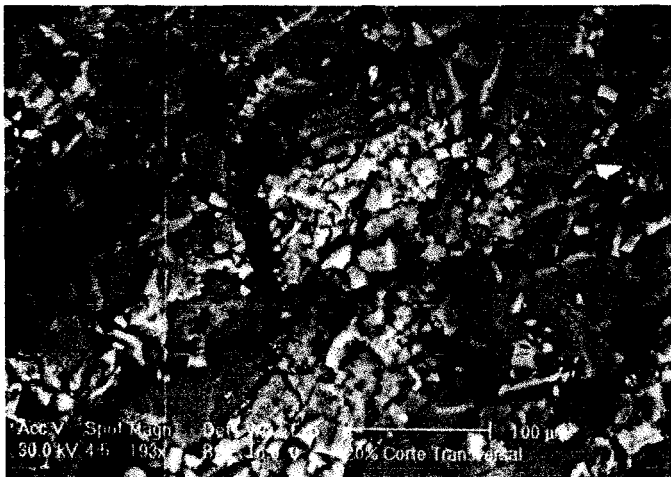
Hasta el momento, en virtud de los resultados obtenidos en ambos estudios, parece que este cambio de comportamiento describe un máximo o un mínimo según que la naturaleza del fármaco sea plástica o fragmentable. Estos datos están siendo sometidos a estudios paralelos dentro del ámbito de la Teoría de la Percolación.

Continuando con el estudio galénico de las matrices, en la figura 31, se muestran las microfotografías de un comprimido elaborado al 20 % p/p en clorhidrato de naltrexona, realizadas con un detector de electrones retrodispersados (BSE). En las microfotografías se observa la disposición real de las partículas de clorhidrato de naltrexona (más claras) frente a las de Eudragit® RS-PM (más oscuras), tanto en la superficie (figura 31a) como en un corte transversal del comprimido (figura 31b).

Según muestra la figura 31 las partículas de clorhidrato de naltrexona se fragmentan durante el proceso de compresión. Por otro lado, estas partículas no llegan a rellenar todos los huecos dejados por las partículas rígidas de Eudragit® RS-PM, como se ha comprobado que hace el KCl (Caraballo y cols., 1996b).



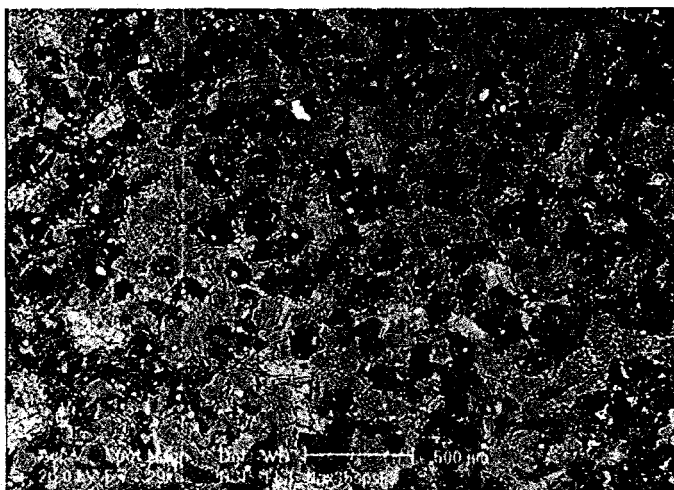
a)



b)

Figura 31.- Microfotografías de la superficie (a) y corte transversal (b) de un comprimido de clorhidrato de naltrexona elaborado al 20 % p/p

Por otro lado, en la figura 32a se muestra la superficie de un comprimido elaborado al 35 % p/p, en el que se aprecia claramente la existencia de *cluster* infinito de fármaco; en la figura 32b se recoge la correspondiente al lote al 7 % p/p de principio activo, que muestra claramente cómo el fármaco se dispone en *cluster* finitos perfectamente aislados.



a)



b)

*Figura 32.- Microfotografías de comprimidos de clorhidrato de naltrexona elaborados al 35 % (a) y 7 % p/p (b)*



### 3.3.2. Caracterización biofarmacéutica de las matrices inertes

Una vez caracterizados, desde el punto de vista tecnológico, los distintos lotes de comprimidos elaborados, se procede a evaluar el proceso de liberación del fármaco desde los sistemas matriciales.

Dado que se preveía que el umbral de percolación del clorhidrato de naltrexona se situara en torno al 31 %, en primer lugar se estudiaron los perfiles de liberación de las matrices elaboradas al 20 y 35 % p/p de principio activo, recogidos en la figura 33.

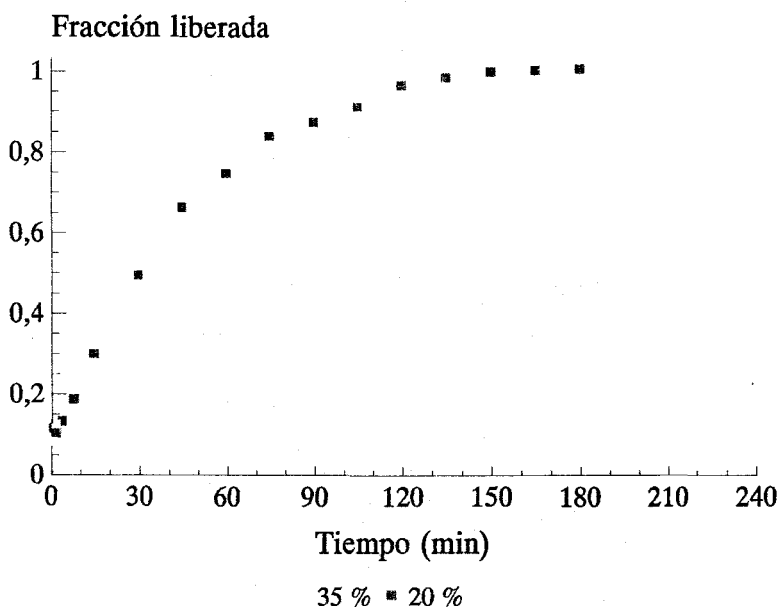


Figura 33.- Perfiles de liberación de los comprimidos matriciales indicados en función del porcentaje p/p de clorhidrato de naltrexona

Según se muestra en la gráfica se obtienen perfiles de liberación muy distintos para los dos lotes ensayados. Para el sistema elaborado al 35 % p/p de fármaco (presumiblemente por encima del umbral de percolación) se produce la total liberación del mismo, transcurrida tan sólo la primera hora de ensayo, hecho que se relaciona con la existencia de un *cluster* infinito muy extenso de fármaco que atraviesa todo el sistema matricial, sin que se

haya alcanzado, sin embargo, el umbral de percolación del polímero que ha de actuar como soporte de la estructura del comprimido.

Por otro lado, el perfil descrito por el lote al 20 % p/p permite la liberación completa del fármaco en tan sólo 3 horas. Dado que en éste, presumiblemente aún no se debería alcanzar un *cluster* infinito del principio activo, no parece lógico que se obtenga un control tan poco eficaz en la liberación del fármaco.

Por ello, se estudian también los perfiles de liberación de otros dos lotes de comprimidos con menor proporción de fármaco del 20 % p/p; los elaborados al 12 y 7 % p/p de clorhidrato de naltrexona (figura 34).

El sistema matricial al 7 % p/p de fármaco origina un perfil de disolución muy diferente a los anteriores, observándose un control eficaz en la liberación durante el tiempo que dura el ensayo, sin que se produzca, sin embargo, la liberación de la totalidad de la dosis de fármaco al medio de liberación: tras 8 horas de ensayo se libera poco más del 80 % de la dosis.

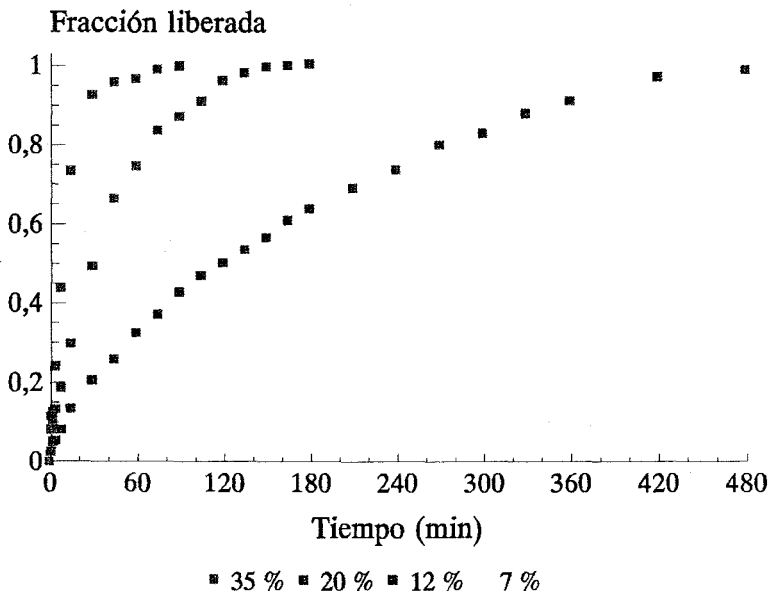


Figura 34.- Perfiles de liberación de los comprimidos matriciales indicados en función del porcentaje p/p de clorhidrato de naltrexona

Esta situación indica que el clorhidrato de naltrexona no llega a percolar la matriz, encontrándose en forma de *clusters* finitos rodeados de Eudragit® RS-PM insoluble en el medio de liberación.

Finalmente, se consigue un adecuado control en la liberación del principio activo y, a la vez, un máximo rendimiento en el proceso, cuando el sistema matricial contiene un 12 % p/p de fármaco, indicando que a este porcentaje ambos componentes, clorhidrato de naltrexona y Eudragit® RS-PM, percuelan el sistema matricial.

Por lo tanto, en base al estudio realizado, se puede concluir que el umbral de percolación del fármaco está en el intervalo comprendido entre el 20 - 12 % p/p de principio activo, datos que concuerdan con los resultados del estudio de la resistencia a la rotura (apartado 3.3.1. de Resultados y Discusión).

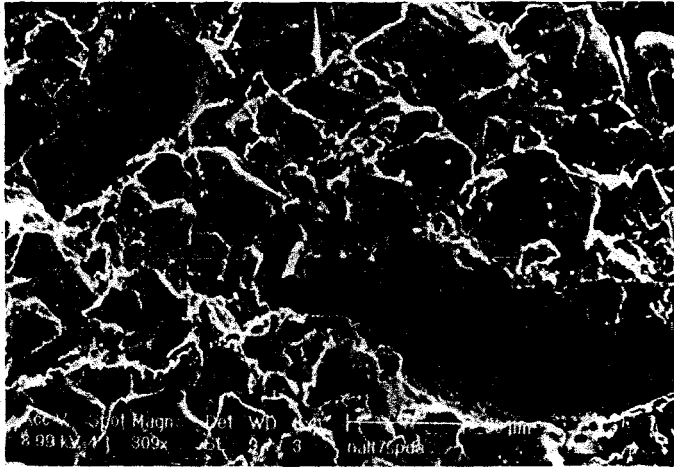
Llegado este punto, conviene recordar que al clorhidrato de naltrexona se le preveía, en base a estudios anteriores de la Teoría de la Percolación, un umbral de percolación teórico en torno al 31 % p/p, bastante más elevado del encontrado.

Esta situación puede explicarse considerando la forma acicular de las partículas del fármaco, y está siendo objeto de estudios actuales, dentro del ámbito de la Teoría de la Percolación, en donde se incorporan principios activos con partículas de formas y tamaños diferentes.

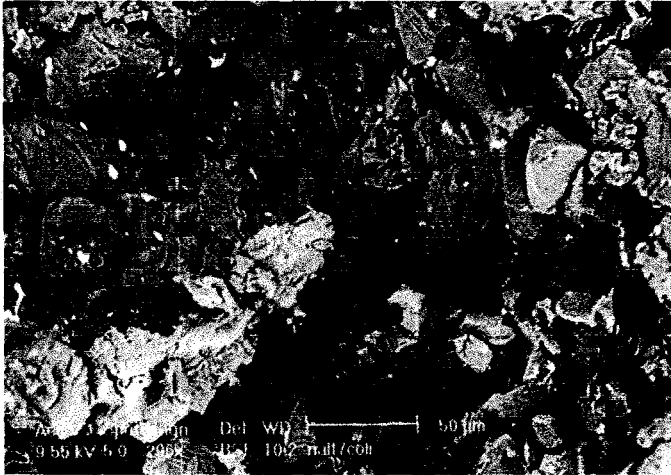
A título de ejemplo, en la presente Tesis Doctoral se recogen las microfotografías, obtenidas por técnicas de microscopía electrónica de barrido, para la superficie y el corte transversal de uno de los comprimidos elaborados al 7 % p/p de fármaco recuperado tras el ensayo de disolución (figura 35).

En ambas microfotografías se observan los poros que ha dejado el clorhidrato de naltrexona en la estructura matricial tras su disolución y

posterior liberación.



a)



b)

*Figura 35.- Microfotografías correspondientes a la superficie (a) y corte transversal (b) de un comprimido de clorhidrato de naltrexona al 7 % p/p tras el ensayo de liberación*

Respecto al ensayo de uniformidad de contenido de las matrices evaluadas, finalizado cada uno de los ensayos de disolución se procedió a la recuperación de las matrices para su posterior trituración. El polvo obtenido se mantiene en agitación durante aproximadamente 5 minutos en un volumen conocido de agua destilada. Al cabo de este tiempo se filtra y se valora el filtrado para cuantificar la cantidad de fármaco que no se había liberado (Jenquin y cols., 1992).

En todos los casos la cantidad remanente de principio activo, así calculada, estuvo acorde con el ensayo de liberación realizado y confirmó, con un error estándar máximo del 2 %, la dosis teórica de cada lote.

Se continúa el estudio del proceso de liberación del clorhidrato de naltrexona analizando el modelo cinético que mejor lo describa. Para ello, se sigue el procedimiento empleado con anterioridad para los complejos poliméricos, según los resultados obtenidos para el ajuste no lineal a la expresión descrita por KORSMEYER (1983).

En la tabla 24 se muestran los parámetros de liberación que se han obtenido para los distintos sistemas matriciales estudiados.

Dado que en todos los casos, excepto los comprimidos elaborados al 7 % de fármaco, se llega a liberar la totalidad de la carga de principio activo, pareció oportuno realizar el ajuste para la liberación de hasta el 90 % del contenido de la matriz. En el caso de las matrices que contienen 35 % p/p de fármaco, la liberación del mismo es tan rápida que no puede realizarse el ajuste para porcentajes inferiores al 90 %.

Anteriormente, se comentó que el valor del exponente  $n$  predice el tipo de relación entre la fracción de fármaco liberada y el tiempo y, por tanto, determina el mecanismo más probable para la liberación del fármaco.

En la tabla 24 se muestra que, en todos los casos, se obtienen valores de  $n$  entre 0.4569 y 0.6711 ( $r=0.9855 - 0.9986$ ). Estos resultados indican

que las matrices de clorhidrato de naltrexona-Eudragit® RS-PM elaboradas tienden a liberar el principio activo con un perfil similar al que describe el modelo de Higuchi por difusión fickiana.

No obstante, el hecho de que se obtengan valores de  $n$  ligeramente superiores a 0.5 sugiere que otros procesos, además de la difusión, intervienen en la liberación del principio activo (Munjeri, 1996; Miñarro y cols., 1997).

Intervalo de fármaco liberado	7 %	12 %	20 %	35 %
10 - 90 %		k = 0.0268 n = 0.6040 r = 0.9986	k = 0.0881 n = 0.5041 r = 0.9951	k = 0.1802 n = 0.4569 r = 0.9855
10 - 80 %	k = 0.0364 n = 0.5347 r = 0.9960	k = 0.0229 n = 0.6382 r = 0.9984	k = 0.0617 n = 0.6092 r = 0.9971	
10 - 70 %	k = 0.0279 n = 0.5906 r = 0.9951	k = 0.0217 n = 0.6503 r = 0.9982	k = 0.0584 n = 0.6273 r = 0.9961	
10 - 60 %	k = 0.0329 n = 0.5503 r = 0.9956	k = 0.0207 n = 0.6612 r = 0.9977	k = 0.0547 n = 0.6501 r = 0.9941	
10 - 50 %	k = 0.0386 n = 0.5112 r = 0.9969	k = 0.0199 n = 0.6711 r = 0.9956	k = 0.0611 n = 0.6051 r = 0.9895	

Tabla 24.- Parámetros de liberación de naltrexona para los comprimidos matriciales indicados ( $p < 0.01$ )

### 3.4. ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS DOS SLC DESARROLLADOS PARA EL CLORHIDRATO DE NALTREXONA

Con objeto de determinar cuál de los dos sistemas alternativos de liberación controlada de clorhidrato de naltrexona debe seleccionarse para continuar con los estudios preclínicos, en este apartado se hace un resumen de los aspectos más relevantes relativos a los complejos y matrices inertes.

En relación a los complejos, desde el punto de vista biofarmacéutico, los distintos lotes ensayados no presentan diferencias estadísticamente significativas. Es por ello, por lo que se selecciona de entre todos los porcentajes de neutralización aquel que presentó el máximo en el proceso de complejación, es decir, el correspondiente al 39 %, equivalente a un contenido del 35 % p/p de clorhidrato de naltrexona. Este complejo garantiza una liberación controlada de en torno al 50 % de la carga de fármaco en las dos primeras horas del ensayo de liberación, siguiendo una cinética de orden cero. A su vez, la cesión de la totalidad del fármaco vehiculizado en este sistema está, también, garantizada en un periodo mínimo de 8 horas, siguiendo el proceso global una cinética difusional.

Centrándonos en las matrices, se elaboraron cuatro lotes de matrices inertes según criterios de la Teoría de la Percolación. El correspondiente al 7 % p/p (equivalente a 35 mg de fármaco, al igual que 100 mg de complejo al 35 % p/p) tuvo que ser rechazado al no alcanzarse el umbral de percolación del fármaco y, por lo tanto, no permitir la total liberación del principio activo.

Si consideramos la matriz al 35 % p/p (equivalente porcentualmente al complejo seleccionado) también se descarta por ser, en este caso, el Eudragit® RS-PM el componente que no percuela el sistema, impidiendo así la aparición de un soporte efectivo que controle eficazmente el proceso de liberación del fármaco.

Por lo tanto, se seleccionan las matrices elaboradas entre un 12 y 20

% p/p en clorhidrato de naltrexona que son los que permiten una liberación total y controlada del principio activo. En base a estas consideraciones, los perfiles de liberación que se van a comparar son los recogidos en la figura 36.

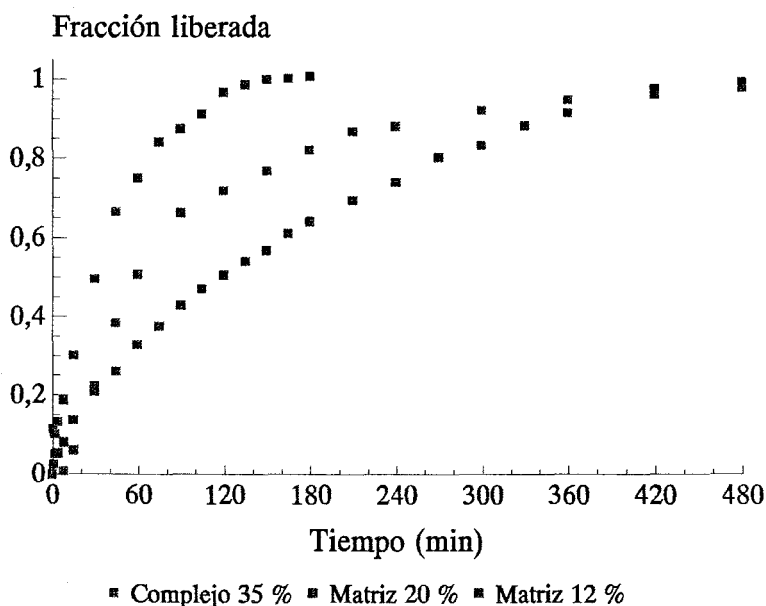


Figura 36.- Perfiles de disolución para el complejo de naltrexona y las matrices inertes elaboradas al 20 y 12 % p/p en clorhidrato de naltrexona

Analizando estas curvas, podemos vislumbrar que el umbral de percolación del fármaco, va a estar más próximo al 12 % p/p que al 20 %.

Es decir, tanto el perfil correspondiente al complejo como a la matriz del 12 % p/p permiten que la cesión del fármaco sea total y controlada. Sin embargo, aunque ambos sistemas son válidos, en el caso de las matrices, las posibles modificaciones de la formulación, vienen condicionadas por las composiciones porcentuales que delimitan sus propios umbrales de percolación. Además se trata de una forma de dosificación preestablecida: sistema matricial inerte.

Por el contrario, los complejos capaces de controlar por sí mismos



la velocidad de disolución del fármaco, son productos intermedios susceptibles de ser procesados hacia formas de dosificación orales diferentes: suspensiones, cápsulas, comprimidos, etc. Esta circunstancia permite ampliar enormemente las posibilidades de modular perfiles de liberación en base a consideraciones tecnofarmacéuticas; se trata, por lo tanto, de formulaciones mucho más versátiles desde el punto de vista de su comportamiento biofarmacéutico.

En conclusión, se selecciona el complejo polimérico al 39 % de neutralización (equivalente al 35 % p/p en clorhidrato de naltrexona) para su evaluación preclínica.

### 3.5. ESTUDIO *IN VIVO* DEL COMPLEJO POLIMÉRICO NALTREXONA-EUDRAGIT L MEDIANTE MODELO EXPERIMENTAL EN RATÓN

#### 3.5.1. Ensayos preliminares con clorhidrato de morfina

##### 3.5.1.1. Determinación del intervalo de tiempo al que se obtiene un efecto analgésico máximo tras la administración de clorhidrato de morfina

Como se comentó el correspondiente apartado de Material y Métodos, en esta sección se estudia la influencia biofarmacéutica ejercida por dos posibles vías de administración para el clorhidrato de morfina: intraperitoneal y subcutánea.

Así, en primer lugar, se evalúa el efecto analgésico proporcionado por una dosis intraperitoneal de 3 mg/Kg de clorhidrato de morfina administrada 10 y 15 minutos antes del inicio del test. En base a los resultados obtenidos, se repite la prueba a los 5 minutos para conseguir un valor máximo incluido entre dos valores más bajos (figura 37).

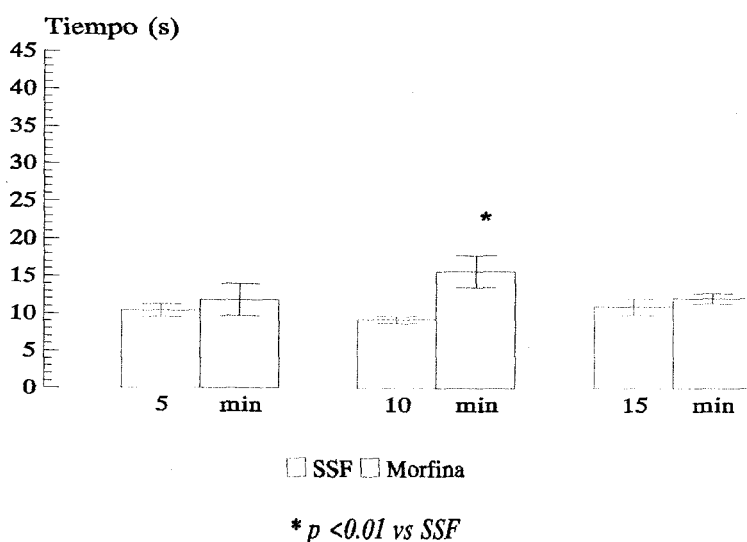


Figura 37.- Valores de latencia al dolor (media  $\pm$  EE) tras la administración *i.p.* de clorhidrato de morfina a los tiempos indicados

A partir de los datos reflejados en la figura 37 se comprueba que una dosis de 3 mg/Kg de clorhidrato de morfina, administrada vía intraperitoneal, induce un efecto analgésico significativo cuando ésta se administra 10 minutos antes del inicio del test (15.64 segundos (morfina) vs 9.16 segundos (salino),  $p < 0.01$ ).

Respecto a la administración subcutánea del analgésico, se ensaya una dosis de 7 mg/Kg de clorhidrato de morfina a los 10 y 20 minutos antes del inicio del test de analgesia. Del mismo modo que en la administración intraperitoneal, en función de los datos obtenidos se repitió una prueba a los 30 minutos para conseguir un valor máximo incluido entre dos valores más bajos (figura 38).

En este caso, se observan niveles adecuados de analgesia cuando la dosis de 7 mg/Kg de clorhidrato de morfina es administrada 20 y 30 minutos antes del inicio del test (22.89 y 23.62 segundos vs 9.64 y 12.10 segundos respectivamente,  $p < 0.01$ ).

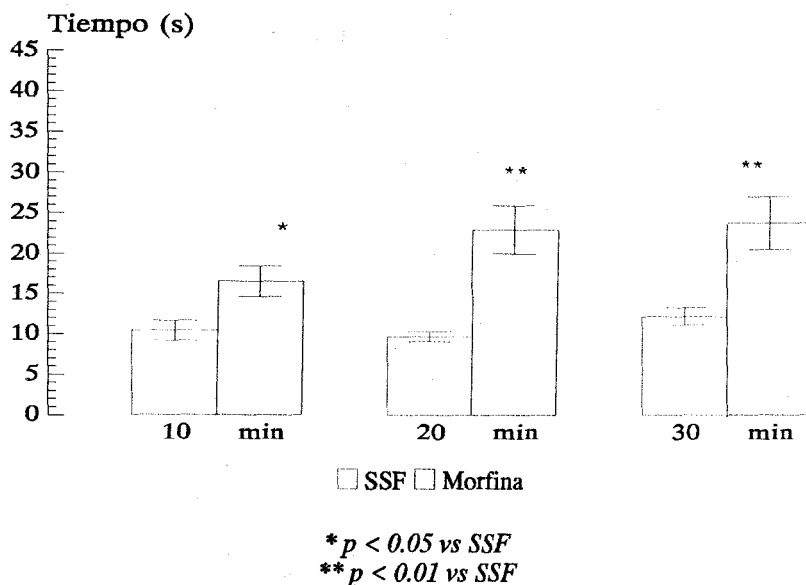


Figura 38.- Valores de latencia al dolor (media  $\pm$  EE) tras la administración s.c. de clorhidrato de morfina a los tiempos indicados

Según estos resultados y para simplificar posteriores experiencias, la administración subcutánea del analgésico se lleva a cabo al mínimo intervalo de tiempo al que se obtiene un efecto analgésico significativo, es decir, 20 minutos antes del inicio del test.

### **3.5.1.2. Determinación de la dosis de clorhidrato de morfina que produce un adecuado nivel de analgesia**

A continuación, fijado el tiempo a que debía administrarse el analgésico por ambas vías, 10 y 20 minutos para las administraciones i.p. y s.c. respectivamente, se procedió a realizar las respectivas curvas dosis-efecto.

Para ello, se evaluaron, en ambos casos, tres nuevas dosis de clorhidrato de morfina: 3.5, 7 y 14 mg/kg, comprobando cuál de las tres dosis proporciona un máximo efecto analgésico por ciento (M.E.P.) comprendido entre el 80 y 90 %.

Los resultados de latencia (media  $\pm$  EE) obtenidos para la administración intraperitoneal, así como los valores de M.E.P. alcanzados, se muestran en la figura 39.

Se comprobó que la dosis intraperitoneal más alta estudiada, 14 mg/Kg de clorhidrato de morfina, administrada 10 minutos antes del inicio del test (según se estableció anteriormente), indujo un M.E.P. significativo pero insuficiente del 52.3 % (figura 39).

Estando esta dosis muy alejada de la dosis inductora de un M.E.P. del 80 - 90 %, pareció oportuno repetir una prueba empleando una dosis mayor. A fin de no incrementar en exceso la dosis de analgésico, en vez de usar una dosis de 28 mg/Kg, que correspondería a una progresión lineal, se empleó la dosis de 19.80 mg/Kg, media logarítmica entre 14 y 28.

Dado que con esta nueva dosis no se consigue aumentar significativamente el efecto analgésico (M.E.P. del 56 %), se decidió

continuar el estudio con la dosis intraperitoneal de analgésico de 14 mg/Kg.

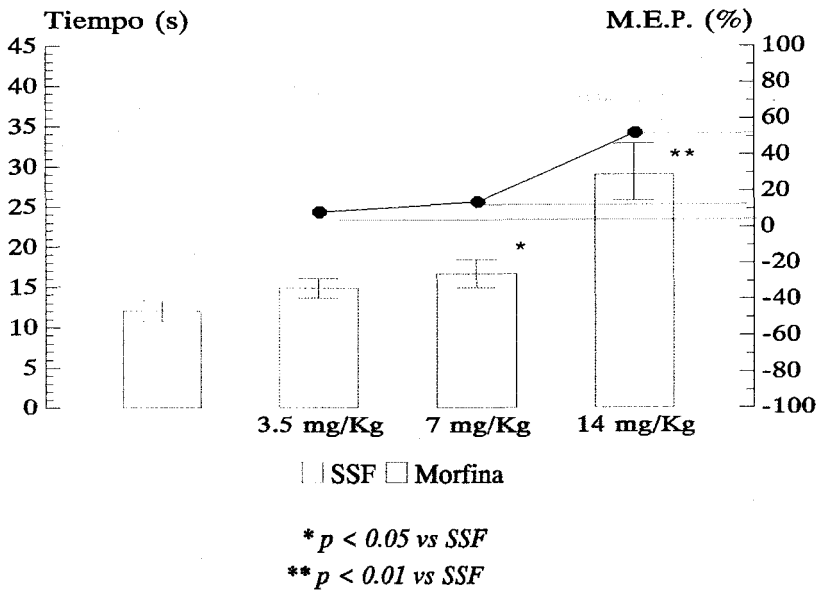


Figura 39.- Curva dosis-efecto para la administración i.p. del clorhidrato de morfina

Respecto a la administración subcutánea (figura 40), para la cual previamente se fijó la administración de analgésico 20 minutos antes del inicio del test, la experiencia se diseñó con las mismas dosis de clorhidrato de morfina previamente estudiadas en la administración i.p. del analgésico, 3.5, 7 y 14 mg/Kg.

Los resultados mostrados en la figura 40 indican que la dosis de 3.5 mg/Kg de clorhidrato de morfina es capaz de inducir un efecto analgésico significativo pero con un muy reducido valor de M.E.P. (33.82 %).

Por otro lado, la administración subcutánea de una dosis de 14 mg/Kg de clorhidrato de morfina resulta excesiva, por lo que pareció oportuno recurrir a la dosis de 7 mg/Kg de clorhidrato de morfina (M.E.P. del 83.22 %) para realizar los ensayos de reproducibilidad de la vía subcutánea.

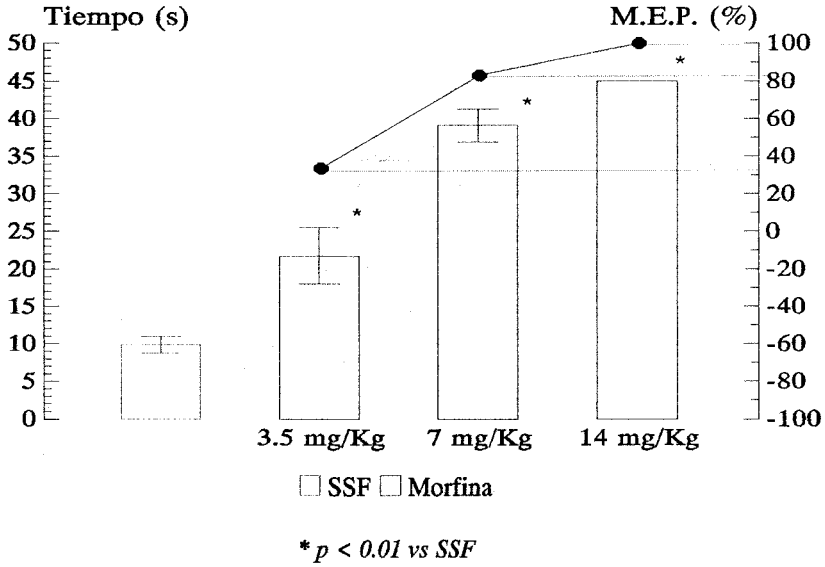


Figura 40.- Curva dosis-efecto para la administración s.c de clorhidrato de morfina

### 3.5.1.3. Selección de la vía de administración que proporciona el efecto analgésico más reproducible

Como se indicó en el apartado de Material y Métodos, para estudiar la reproducibilidad del efecto analgésico en función de la vía de administración, se realizan tres experiencias en las mismas condiciones a lo largo de un mismo día y en tres días diferentes.

En primer lugar, según los resultados antes obtenidos, se evalúa la reproducibilidad de la administración de una dosis intraperitoneal de 14 mg/Kg de clorhidrato de morfina 10 minutos antes del inicio del test de analgesia.

Seguidamente se procede a repetir la misma secuencia de experiencias empleando una dosis subcutánea de 7 mg/Kg de clorhidrato de morfina 20 minutos antes del inicio del test de analgesia.

Tanto para la administración i.p. como s.c., se comprueba que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos para las experiencias englobadas dentro de los ensayos de reproducibilidad intra e inter-día de una misma vía de administración ( $F_{(1, 58)}=0.3924$ ,  $p=0.5335$  y  $F_{(1, 58)}=0.6821$ ,  $p=0.4122$ , para la administración i.p. y s.c., respectivamente).

Otro factor a tener en cuenta es la frecuencia con la que se alcanza el nivel de significación requerido en el presente estudio ( $p < 0.01$ ). Cuando se ensaya la administración s.c. de 7 mg/Kg de clorhidrato de morfina, se alcanza ese nivel de significación en el 83.33 % de las ocasiones. Por otro lado, si el analgésico se administra vía i.p. a una dosis de 14 mg/Kg el efecto inducido es sólo significativo en el 66.67 % de las ocasiones.

En base a esto, se eligió la vía subcutánea como la óptima para administrar el analgésico en experiencias posteriores.

No obstante, para asegurar lo más posible que se trabaje con una dosis analgésica estadísticamente significativa e inductora de un M.E.P. comprendido entre el 80 y 90 %, se calcula la dosis submaximal de clorhidrato de morfina capaz de proporcionar un M.E.P. del 85% a través de la regresión lineal entre las dosis y los correspondientes valores de M.E.P. obtenidos en el apartado anterior (figura 40).

La dosis s.c. de clorhidrato de morfina así calculada resulta ser de 10 mg/Kg, dosis ya utilizada en diversos estudios sobre analgesia en ratones, publicada en trabajos donde se estudia la acción antagonista de diversas sustancias, empleando también el test de la placa caliente o *hot plate* en el ratón (Marek y cols., 1991; Hull y cols., 1994).

Por lo tanto, y como conclusión de los resultados expuestos en el apartado global 3.5.1., dedicado al estudio de los ensayos preliminares con clorhidrato de morfina, se selecciona la siguiente pauta de administración: 10 mg/Kg de clorhidrato de morfina vía s.c. 20 minutos antes del inicio del

test de analgesia.

### **3.5.2. Evaluación de la actividad antagonista del complejo de liberación controlada naltrexona-Eudragit L**

En función de los resultados expuestos en el estudio de los complejos poliméricos de naltrexona (apartado 3.2.4. de Resultados y Discusión), se selecciona de entre todos los complejos estudiados el elaborado al 39 % de neutralización, por presentar éste el máximo rendimiento en cuanto a peso de producto obtenido y contenido de fármaco (35 % p/p) y, sin que se hayan encontrado, sin embargo, diferencias estadísticamente significativas entre los perfiles de liberación (apartado 3.2.5. de Resultados y Discusión).

A su vez, como se comentó en el apartado 2.2.4.3.2. de Material y Métodos, la actividad antagonista del complejo de naltrexona se evalúa, en un principio, cuando el producto de liberación controlada naltrexona-Eudragit L se administra 2 y 4 horas previas al inicio del test a una dosis de 16 mg de principio activo (45.7 mg de complejo naltrexona-Eudragit® L). Un cronograma de las experiencias se detalla a continuación en la figura 41.

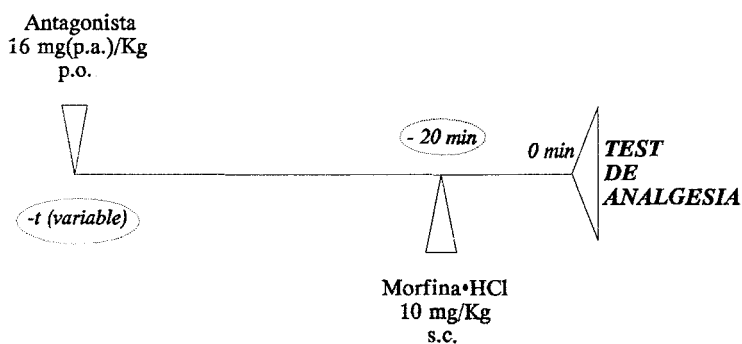


Figura 41.- Esquema de tiempo para evaluar la inhibición de la actividad analgésica



En estas experiencias, el protocolo se diseña de forma que permita descartar cualquier posible actividad del agente polimérico que vehiculiza la naltrexona en el sistema de liberación controlada evaluado. Como se observa en la figura 42, en ambos casos se mantiene el efecto analgésico del clorhidrato de morfina para el grupo Eud/MF en el que se administra el polímero Eudragit® L 2 horas ( $F_{(4, 45)}=7.4854, p=0.0001$  vs SSF/SSF) y 4 horas antes del inicio del test ( $F_{(4, 45)}= 12.5480, p < 0.0001, vs SSF/SSF$ ).

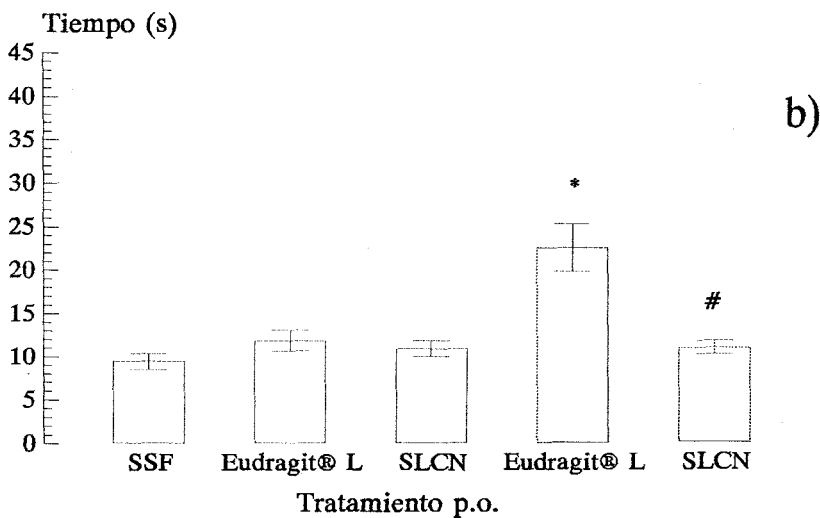
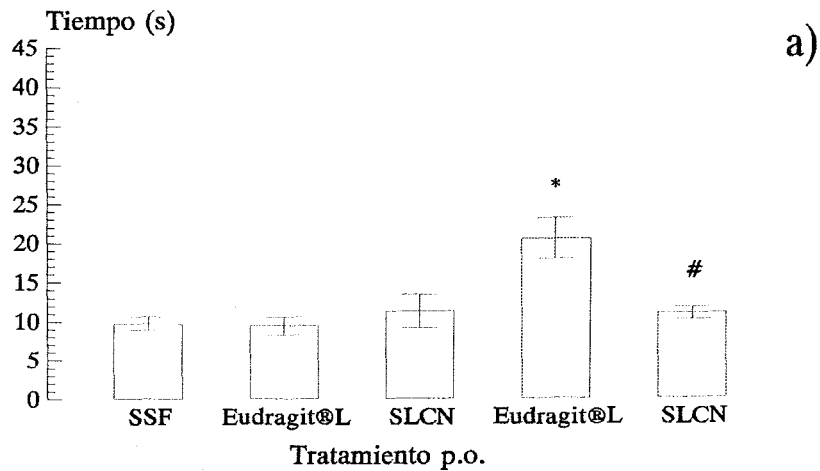
De este modo se descarta cualquier actividad o interferencia por parte del vehículo polimérico (figuras 42a y 42b). Se confirma así el hecho constatado ya en otro estudio realizado con el test de retirada de la cola o *tail-flick* en ratas, en donde también se descartó la existencia de actividad alguna debida al vehículo polimérico Eudragit® L (Alvarez-Fuentes y cols., 1996b).

Por otro lado, la acción analgésica de 10 mg/Kg de clorhidrato de morfina subcutánea es totalmente antagonizada por el pretratamiento con el complejo polimérico de naltrexona, administrado tanto 2 horas como 4 horas antes del inicio del test ( $p < 0.01$  vs Eud/MF).

Llegado este momento se pretende evaluar la actividad antagonista del complejo polimérico naltrexona-Eudragit L empleando el concepto de máximo efecto antagonista por ciento (M.E.P. (%)), establecido en el correspondiente apartado de Material y Métodos, y definido como el porcentaje de efecto analgésico que puede verse inhibido por el pretratamiento oral con el producto antagonista. De este modo, se establece que un valor de M.E.P. comprendido entre el 80 y 90 % es indicativo de la existencia de una actividad antagonista eficaz y completa.

La aplicación de la expresión comentada en el apartado de Material y Métodos indica que el pretratamiento con el SLC de naltrexona administrado 2 horas y 4 horas antes del test de analgesia, inhibe la actividad analgésica inducida por 10 mg/Kg subcutánea de clorhidrato de morfina en un 89.08 % y un 88.96 %, respectivamente.

Tratamiento subcutáneo: □ SSF □ Morfina



\*  $p < 0.01$  vs SSF/SSF

#  $p < 0.01$  vs Eud/MF

Figura 42.- Valores de latencia al dolor (media  $\pm$  EE) del estudio de la actividad antagonista del complejo de naltrexona administrado a) 2 h y b) 4 h antes del inicio del test

Por lo tanto, se concluye en este apartado que la administración oral de una dosis del complejo polimérico de naltrexona equivalente a 16 mg/kg de fármaco, administrado 2 horas y 4 horas previo al inicio del test de analgesia es capaz de antagonizar de manera completa y significativa el efecto analgésico de 10 mg/Kg de clorhidrato de morfina administrado vía subcutánea 20 minutos antes del ensayo.

### **3.5.3. Estudio de la inhibición de la actividad analgésica inducida por morfina tras la administración en dosis única del complejo naltrexona-Eudragit L a distintos tiempos**

Como se indicó en el apartado 2.2.4.3.3. de Material y Métodos, en esta sección se realizan una serie de experiencias con el fin de analizar comparativamente las capacidades del clorhidrato de naltrexona convencional y del complejo de liberación controlada de naltrexona, identificado como naltrexona-Eudragit L, para reducir la latencia al dolor inducida por 10 mg/Kg de clorhidrato de morfina, administrado subcutáneamente 20 minutos previos al ensayo, cuando se realiza el test de analgesia a las 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16 horas después de la administración oral del producto antagonista. Dado que en apartados anteriores se ha demostrado que 10 mg/Kg de clorhidrato de morfina s.c. induce un efecto significativo frente al grupo control, y que el vehículo polimérico Eudragit® L por sí solo no interfiere en este efecto, el número de lotes de animales evaluados en este bloque queda resumido en la tabla 25, simplificando así de forma notable sucesivas experiencias.

Lote	Tratamiento oral	Tratamiento subcutáneo
SSF/MF	Solución salina fisiológica	Morfina HCl
SLCN/MF	Naltrexona-Eudragit L	Morfina HCl
Naltr/MF	Naltrexona HCl convencional	Morfina HCl

*Tabla 25.- Descripción de los lotes empleados para el estudio de la actividad antagonista del complejo naltrexona-Eudragit L*

De forma resumida en la tabla 26 se muestran los principales parámetros estadísticos obtenidos tras el tratamiento de los datos obtenidos en este bloque de experiencias.

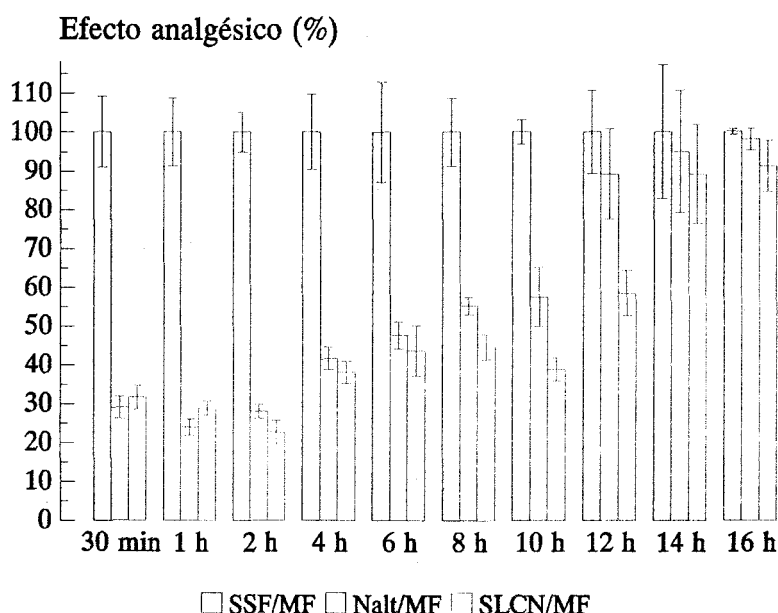
	Anova		Post hoc		
	$F_{(2,27)}$	$p$	Naltr/MF vs SSF/MF	SLCN/MF vs SSF/MF	SLCN/MF vs Naltr/MF
30 min	48.9852	< 0.01	$p < 0.05$	$p < 0.05$	-
1 h	64.1276	< 0.01	$p < 0.05$	$p < 0.05$	-
2 h	148.4395	< 0.01	$p < 0.05$	$p < 0.05$	-
4 h	32.6131	< 0.01	$p < 0.05$	$p < 0.05$	-
6 h	15.2160	< 0.01	$p < 0.05$	$p < 0.05$	-
8 h	28.7302	< 0.01	$p < 0.05$	$p < 0.05$	-
10 h	29.5542	< 0.01	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$
12 h	3.4051	0.0480	-	$p < 0.05$	$p < 0.05$
14 h	0.4725	0.6285	-	-	-
16 h	0.1242	0.8837	-	-	-

Tabla 26.- Principales parámetros estadísticos obtenidos para cada uno los tiempos ensayados

En la figura 43, se ilustran los resultados de lotes ensayados expresados como *efecto analgésico (%)*, considerando la latencia al dolor obtenida para el lote SSF/MF como el 100 %. Como se observa en la figura, se obtiene un efecto antagonista con significación estadística ( $F_{(2,27)}=48.9852$ ,  $p < 0.01$ ) transcurridos sólo 30 minutos después de la administración de ambos tratamientos, naltrexona convencional y complejo de naltrexona, presentando una reducción significativa en la latencia al dolor respecto al valor correspondiente al lote de control tratado únicamente con el analgésico, SSF/MF ( $p < 0.05$ ).

Transcurridos los primeros 30 minutos, el antagonismo de la actividad analgésica de la morfina se mantiene con el mismo nivel de significación en los grupos en que los dos productos antagonistas en estudio,

naltrexona convencional y complejo polimérico de naltrexona, se administran 1, 2, 4, 6, 8 y 10 horas antes de la realización del test de analgesia (*vid.* tabla 26). No obstante, para este último test se encuentran que existen diferencias estadísticamente significativas entre la acción antagonista del complejo de naltrexona estudiado y el clorhidrato de naltrexona convencional ( $p < 0.05$ ).



*Figura 43.- Efecto analgésico (%) de los lotes ensayados (valor de referencia (100 %): latencia obtenida con el lote SSF/MF)*

Cuando el test se lleva a cabo 12 horas después de la administración de los distintos tratamientos, siguen encontrándose diferencias significativas entre los grupos estudiados ( $F_{2,27} = 4.4602$ ,  $p < 0.05$ ). Sin embargo, el *post hoc* realizado (test de Student-Newman-Keuls) estableció que las diferencias encontradas entre grupos se deben sólo en esta ocasión al lote tratado con el complejo polimérico naltrexona-Eudragit L ( $p < 0.05$ ), indicando que el efecto antagonista inducido por el SLC de naltrexona en estudio se mantiene, en este ensayo, hasta 12 después de su administración.

Finalmente, como se ilustra en la tabla 26, transcurridas 14 horas

después del tratamiento oral, no se encuentran diferencias significativas entre cada uno de los grupos tratados con ambos productos antagonistas y el lote considerado como control ( $F_{2,27}=0.4725$ ,  $p=0.6285$ ). En ningún caso de obtiene una reducción significativa en los valores de latencia al dolor.

Por otro lado, las experiencias llevadas a cabo en este bloque permitieron estudiar la progresión temporal del parámetro definido como inhibición porcentual de la analgesia inducida por 10 mg/Kg de morfina subcutánea mediante el empleo del complejo naltrexona-Eudragit L, en comparación con una dosis igual de naltrexona de liberación convencional (16 mg/Kg).

La actividad antagonista, definida como *inhibición porcentual de la actividad analgésica*, I.A.A. (%), se calcula a partir de la siguiente fórmula (Ec. 9):

$$I. A. A. = \frac{lat_{SSF/MF} - lat_{ANT/MF}}{lat_{SSF/MF}} * 100 \quad (Ec9)$$

siendo:  $lat_{SSF/MF}$ , el valor medio del tiempo que tarda en aparecer la primera respuesta en los animales tratados sólo con el analgésico;

$lat_{ANT/MF}$ , el valor medio del tiempo que tarda en aparecer la primera respuesta en los animales tratados con analgésico y previamente con el antagonista.

Aplicando esta ecuación a los valores de latencia correspondientes, los resultados obtenidos se reflejan en la figura 44. Posteriormente, se calculó la función matemática a la que mejor se ajustan los datos del perfil I.A.A.(%) vs tiempo, para ambos tratamientos antagonistas.

De este modo se compara el efecto de ambos tratamientos antagonistas en función de las áreas bajo la curva. Así se obtuvo un incremento del 23.47 % en el área bajo la curva cuando se empleó el producto antagonista naltrexona-Eudragit L.

Si se define  $t_{50}$  como el tiempo en que cada tratamiento antagonista inhibe la actividad analgésica en un 50 %, el complejo polimérico

después del tratamiento oral, no se encuentran diferencias significativas entre cada uno de los grupos tratados con ambos productos antagonistas y el lote considerado como control ( $F_{2,27}=0.4725$ ,  $p=0.6285$ ). En ningún caso de obtiene una reducción significativa en los valores de latencia al dolor.

Por otro lado, las experiencias llevadas a cabo en este bloque permitieron estudiar la progresión temporal del parámetro definido como inhibición porcentual de la analgesia inducida por 10 mg/Kg de morfina subcutánea mediante el empleo del complejo naltrexona-Eudragit L, en comparación con una dosis igual de naltrexona de liberación convencional (16 mg/Kg).

La actividad antagonista, definida como *inhibición porcentual de la actividad analgésica*, I.A.A. (%), se calcula a partir de la siguiente fórmula (Ec. 9):

$$I. A. A. = \frac{lat_{SSF/MF} - lat_{ANT/MF}}{lat_{SSF/MF}} * 100 \quad (Ec9)$$

siendo:  $lat_{SSF/MF}$ , el valor medio del tiempo que tarda en aparecer la primera respuesta en los animales tratados sólo con el analgésico;

$lat_{ANT/MF}$ , el valor medio del tiempo que tarda en aparecer la primera respuesta en los animales tratados con analgésico y previamente con el antagonista.

Aplicando esta ecuación a los valores de latencia correspondientes, los resultados obtenidos se reflejan en la figura 44. Posteriormente, se calculó la función matemática a la que mejor se ajustan los datos del perfil I.A.A.(%) vs tiempo, para ambos tratamientos antagonistas.

De este modo se compara el efecto de ambos tratamientos antagonistas en función de las áreas bajo la curva. Así se obtuvo un incremento del 23.47 % en el área bajo la curva cuando se empleó el producto antagonista naltrexona-Eudragit L.

Si se define  $t_{50}$  como el tiempo en que cada tratamiento antagonista inhibe la actividad analgésica en un 50 %, el complejo polimérico

naltrexona-Eudragit L permite aumentar este parámetro en un 51.80 % en comparación con el clorhidrato de naltrexona convencional.

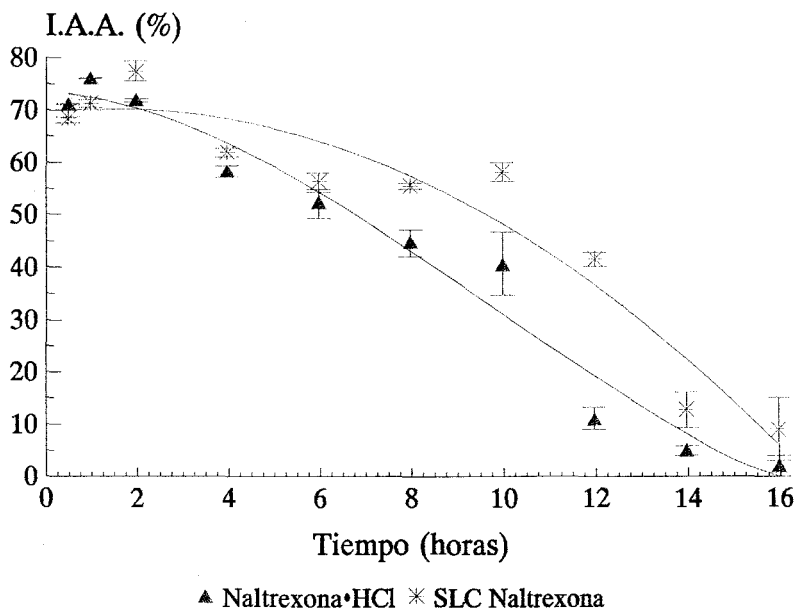


Figura 44.- Perfil I.A.A. vs tiempo para los dos productos antagonistas estudiados

Queda demostrada así la capacidad del SLC de naltrexona empleado para mantener la actividad antagonista del fármaco de forma más efectiva y duradera que el clorhidrato de naltrexona convencional.

### **3.5.4. Estudio de la inhibición de la actividad analgésica inducida por morfina tras la administración del complejo naltrexona-Eudragit L en dosis repetidas**

En este apartado se estudia la actividad del complejo naltrexona-Eudragit L de forma análoga a las de las experiencias anteriores pero tras haber efectuado sucesivas administraciones del producto en días alternos. De esta forma se evalúa la actividad antagonista de ambos productos, naltrexona convencional y el complejo polimérico naltrexona-Eudragit L, después de una administración única, y tras 4 y 8 administraciones en días alternos (8



y 16 días de duración del tratamiento, respectivamente), realizando el test de analgesia después de 2, 8 y 14 horas tras la última administración.

La descripción de los lotes evaluados en este bloque queda resumida según los términos reflejados en la tabla 27. En este grupo de experiencias se incluye el lote SSF/SSF por tratarse de un tratamiento crónico.

Lote	Tratamiento oral	Tratamiento subcutáneo
SSF/SSF	Solución salina fisiológica	Solución salina fisiológica
SSF/MF	Solución salina fisiológica	Clorhidrato de morfina
SLCN/MF	Naltrexona-Eudragit L	Clorhidrato de morfina
Naltr/MF	Clorhidrato de naltrexona	Clorhidrato de morfina

Tabla 27.- Descripción de los lotes empleados para el estudio sobre el establecimiento del estado estacionario

En este apartado se pretende establecer cual de los dos productos antagonistas ve aumentado, en mayor medida, su actividad, al establecerse un tratamiento crónico. Para ello, según los resultados obtenidos con el tratamiento agudo, se eligió un tiempo al que el test de analgesia fuera efectivo (2 horas), otro en que la actividad antagonista estuviera claramente decreciendo (8 horas) y, finalmente, un tiempo al que tras la administración aguda no existió actividad alguna (14 horas).

Por último, para las experiencias de este bloque se reduce la dosis de antagonista hasta 10 mg/Kg, norma habitual para los tratamiento crónicos (Bianchi y Panerai, 1993).

En la figura 45 se representan los resultados de latencia al dolor para los lotes ensayados en términos de *efecto analgésico (%)* relativos al lote SSF/MF. Según se aprecia en la figura 45, el *efecto acumulativo* obtenido para el complejo polimérico de naltrexona es mayor al presentado por el clorhidrato convencional.

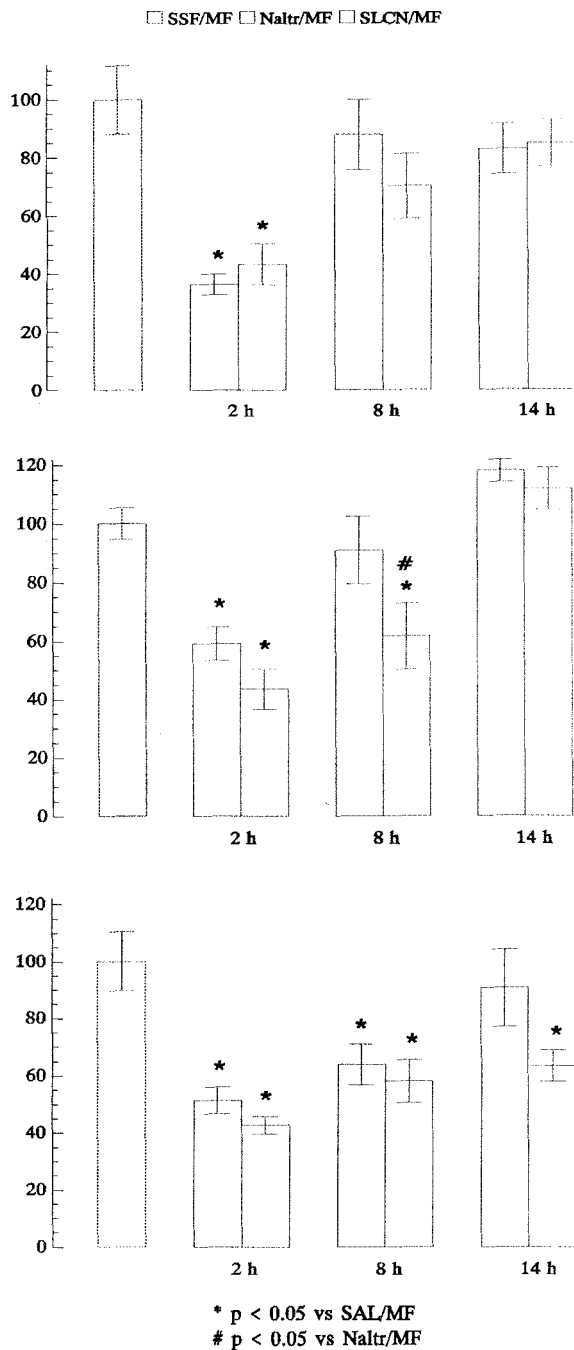


Figura 45.- Evolución de la actividad antagonista de clorhidrato de naltrexona y el complejo de naltrexona tras a) una dosis única, b) 4 dosis y c) 8 dosis repetidas en días alternos

Los resultados del tratamiento estadístico llevado a cabo se muestran en la tabla 28.

N <sup>o</sup> Adm.	Anova			Post hoc		
	Test	F <sub>(3, 36)</sub>	p	Naltr/MF vs SSF/MF	SLCN/MF vs SSF/MF	SLCN/MF vs Naltr/Mf
1	2 h	16.2530	<0.01	p < 0.05	p < 0.05	-
	8 h	6.9120	<0.01	-	-	-
	14 h	8.2681	<0.01	-	-	-
4	2 h	13.5576	<0.01	p < 0.05	p < 0.05	-
	8 h	8.0575	<0.01	-	p < 0.05	p < 0.05
	14 h	28.3427	<0.01	-	-	-
8	2 h	10.8376	<0.01	p < 0.05	p < 0.05	-
	8 h	5,0175	<0.01	p < 0.05	p < 0.05	-
	14 h	3.6947	<0.05	-	p < 0.05	-

Tabla 28.- Principales parámetros estadísticos obtenidos para cada uno número de administraciones y tiempos ensayados

Los resultados indican que tras una administración única de 10 mg/Kg en naltrexona, a las 2 horas después de su administración ambos productos antagonizan la actividad analgésica inducida por la morfina, no existiendo actividad antagonista a las 8 horas (figura 45a). Después de 4 administraciones en días alternos, la actividad antagonista se mantiene un mínimo de 8 horas con el complejo de liberación controlada, no ocurriendo así con la naltrexona convencional (figura 45b). Por último, después de 8 administraciones, el SLC ensayado mantiene el efecto hasta un mínimo de 14 horas (figura 45c).

Además, es interesante señalar que para conseguir, mediante un proceso acumulativo obtenido con dosis repetidas, un antagonismo efectivo durante un mínimo de 8 horas, se requieren sólo 4 administraciones en días alternos del complejo (8 días), frente a 8 administraciones (16 días) del

producto convencional.

Estos resultados están en concordancia con los obtenidos tras el estudio de administración aguda de ambos productos antagonistas: cuando se estudió el perfil inhibición porcentual de la actividad analgésica inducida por morfina vs tiempo, se obtuvo un incremento del 23.74 % en el área bajo la curva cuando se empleó el complejo polimérico naltrexona-Eudragit L. Además, el tiempo en que el complejo consiguió inhibir la actividad analgésica en un 50 % fue un 51.80 % mayor que para el clorhidrato de naltrexona convencional.

Se demuestra así la mayor eficacia del SLC investigado para producir y prolongar la actividad antagonista de la naltrexona, en comparación con el clorhidrato de naltrexona convencional, en las condiciones experimentales ensayadas.

***CONCLUSIONES***

## CONCLUSIONES

*Las conclusiones se exponen agrupadas por apartados en función del tipo de estudio abordado.*

*En relación a los ESTUDIOS PREVIOS a la inclusión del clorhidrato de naltrexona en los sistemas de liberación controlada diseñados para la presente Tesis Doctoral, se concluye lo siguiente:*

1. Considerando los parámetros fisicoquímicos analizados, puede inferirse que el clorhidrato de naltrexona satisface todos los requisitos necesarios para poder ser vehiculizado en sistemas de liberación controlada.
2. Los estudios térmicos efectuados ponen de manifiesto la inexistencia de incompatibilidades entre el fármaco y todos los excipientes empleados para la posterior elaboración de los sistemas de dosificación ensayados.

Así mismo, se evidencia que durante el proceso de complejación que se realiza se produce una interacción química entre la naltrexona y el Eudragit® L. Los datos espectroscópicos obtenidos señalan que dicha interacción es, preferencialmente, tipo puentes de hidrógeno.

*Considerando los SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA elaborados y caracterizados desde el punto de vista biofarmacéutico, las conclusiones obtenidas son:*

3. La técnica de complejación utilizada para el clorhidrato de naltrexona proporciona un elevado rendimiento tanto en peso de complejo polimérico obtenido como en contenido en principio activo.

Estudiando el comportamiento biofarmacéutico de este sistema, se garantiza una liberación del 60 % de naltrexona durante las dos primeras horas del ensayo de liberación, mediante una cinética de

orden cero. A su vez, la cesión de la totalidad del fármaco vehiculizado está también garantizada en un período mínimo de 8 horas, mediante una cinética difusional.

4. Los comprimidos matriciales inertes de clorhidrato de naltrexona se han elaborado siguiendo los postulados de la Teoría de la Percolación, lo que ha permitido abordar su diseño de forma racionalizada, reduciéndose a tan sólo 4 el número total de lotes a producir.

Del estudio galénico de estas matrices, se concluye que tanto el soporte matricial (Eudragit® RS-PM) como el fármaco (clorhidrato de naltrexona) percuelan el sistema en un intervalo de concentraciones comprendido entre el 12 y el 20 % p/p en principio activo.

Con este intervalo de concentraciones, se garantiza una liberación controlada de la totalidad de la dosis de fármaco según cinética de Higuchi.

*Realizando un ESTUDIO COMPARATIVO entre los dos sistemas alternativos de liberación controlada elaborados, concluimos que:*

5. En base a consideraciones tecnológicas de elaboración, comportamientos biofarmacéuticos y versatilidad en cuanto a posteriores formulaciones y obtención de perfiles de liberación, se seleccionan los complejos poliméricos de naltrexona para continuar con los estudios preclínicos.

*Del análisis de los resultados obtenidos con los ESTUDIOS "IN VIVO" del comportamiento de los complejos de naltrexona, se concluye que:*

6. Los estudios preclínicos con animales de experimentación efectuados con dosis única evidencian que la actividad antagonista conseguida

con el complejo polimérico de naltrexona es similar a la obtenida con el fármaco comercial desde los primeros 30 minutos después de su administración y hasta un período de 8 horas. Transcurrido este tiempo, los comportamientos son diferentes: el sistema de liberación controlada administrado ejerce una mayor actividad antagonista que la naltrexona convencional capaz de mantenerse hasta un mínimo de 12 horas después de su administración oral.

7. Cuando el ensayo se realiza con dosis repetidas en un intervalo de dosificación de 48 horas, los resultados que se obtienen permiten concluir que el efecto acumulativo del antagonismo de la naltrexona se consigue a mayor velocidad cuando se emplean los complejos poliméricos, permitiendo reducir el número de administraciones.

*Por último, y a modo de recapitulación de todo lo expuesto en la presente Tesis Doctoral, podemos concluir señalando que se ha desarrollado y evaluado un sistema de liberación controlada de naltrexona, de entre dos posible, del que se demuestra mayor eficacia para producir y prolongar el efecto antagonista de la naltrexona, en comparación con el producto convencional.*



## ***BIBLIOGRAFIA***

J.M. AIACHE, J.G. BESNER, P. BURI, P.P. LEBLANC, M. LESNE: "*Traité de biopharmacie et pharmacocinétique*", 10<sup>a</sup> ed. Éditions Vigot, París, 1990, pp. 190 - 191

J. ALVAREZ-FUENTES: "*Estandarización de una técnica de elaboración de complejos de morfina para su liberación controlada*". Tesis de Licenciatura, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, 1992.

J. ALVAREZ-FUENTES, M. FERNANDEZ-AREVALO, M.A. HOLGADO, I. CARABALLO, J.M. LLERA, A.M. RABASCO: "*Morphine polymeric coprecipitates for controlled release: Elaboration and characterization*". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **20** (15), 2409 - 2424 (1994).

J. ALVAREZ-FUENTES, M.A. HOLGADO, M. FERNANDEZ-AREVALO: "*Aplicación de los Sistemas de Liberación controlada en el tratamiento de adictos a opiáceos*". Libro de Resúmenes del I Congreso Nacional sobre Adicciones, Sevilla, Noviembre de 1995, pp. 16 - 17

J. ALVAREZ-FUENTES, M.A. HOLGADO, M. FERNANDEZ-AREVALO, A.M. RABASCO: "*Morfina: presente y futuro en la terapia del dolor*". *Cienc. Pharm.*, **6** (2), 69 - 76 (1996a).

J. ALVAREZ-FUENTES, M. FERNANDEZ-AREVALO, M.A. HOLGADO, I. CARABALLO, A.M. RABASCO, J.A. MICO, O. ROJAS, A. ORTEGA-ALVARO: "*Preclinical study of a controlled release oral morphine system in rats*". *Int. J. Pharm.*, **139**, 237 - 241 (1996b).

J. ALVAREZ-FUENTES, M.A. HOLGADO, I. CARABALLO, R.T. PIÑERO, M. FERNANDEZ-AREVALO: "*Bombas de liberación controlada para la administración de medicamentos (I)*". *Industria Farmacéutica*, **11**, (3), 89 - 92 (1996c).

J. ALVAREZ-FUENTES, M.A. HOLGADO, I. CARABALLO, M. FERNANDEZ-AREVALO, A.M. RABASCO: "*Influence of the pH value of the dissolution medium on the release profiles of a morphine polymeric complex*". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **23** (6), 1 - 7 (1997a).

J. ALVAREZ-FUENTES, I. CARABALLO, A. BOZA, J.M. LLERA, M.A. HOLGADO, M. FERNANDEZ-AREVALO: "*Study of a complexation process between naltrexone and Eudragit® L as an oral controlled release system*". *Int. J. Pharm.*, **148**, 219 - 230 (1997b).

H.C. ANSEL: "Introduction to pharmaceutical dosage forms", 4th ed. Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1985, p. 167

D. ARDID, H. MARTY, J. FIALIP, A.M. PRIVAT, A. ESCHALIER, I.V. LAVARENNE: "Comparative effect of different uptake inhibitor antidepressants in two pain tests in mice". *Fundam. Clinical Pharmacol.*, **6**, 75 - 82 (1992).

P. ARNAUD, C. BARTHELEMY, S. BEAUFORT, M.S. BOUTIN, J. CAPORAL, J. COMPAGNON, A.M. GUYOT, F. MALFROID, F. PHILIPPON: "Les essais de dissolution des formes solides pour voie orale. Mise au point biopharmaceutique et relations avec la biodisponibilité. Rapport d'une commission SFSTP". *S.T.P. Pharma Pratiques*, **2** (6), 500 - 506 (1992).

J.A. BARBERA: "Liberación de medicamentos por gradiente osmótico". *Ind. Farm.*, **2** (6), 83 - 86 (1987).

C.D. BARNES, L.G. ELTHERINGTON: "Drug dosage on laboratory animals". University of California Press, 1973, pp. 80, 165 - 166.

T. BARTTER, L.L. GOBERMAN: "Rapid opiate detoxification". *Am. J. Drug Alcohol Abuse*, **22** (4), 489 - 495 (1996).

J. BEDATE-VILLAR, A. ROIG-TRAVER: "Utilidad de la naltrexona en el tratamiento de los adictos a opiáceos". *Rev. Esp. Drogodep.*, **12** (1), 83 - 97 (1987).

D.B. BENNETT, X. LI, N.W. ADAMS, S.W. KIM, J. FEIJEN: "Biodegradable polymeric prodrugs of naltrexone". *J. Control. Release*, **16** (6 - 7), 43 - 52 (1991).

D.B. BETEN, M. GELBCKE, B. DIALLO, A.J. MOES: "Interaction between dipyridamole and Eudragit® S". *Int. J. Pharm.*, **88** (8), 31 - 37 (1992).

M. BIANCHI, A.E. PANERAI: "Naloxone-induced analgesia: involvement of kappa-opiate receptors". *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **46** (1), 145 - 148 (1993).

D. BLATTNER, M. KOLB, H. LEUENBERGER: "Percolation theory and compactibility of binary powder systems". *Pharm. Res.*, **7**, 113 - 117 (1990).

H. BLUMBERG, H.B. DAYTON: "*Naloxone, naltrexone and related noroxymorphones*" en "*Narcotic antagonists. Advances in biomedical psychopharmacology*", vol. 8, (Ed.: M.C. Braude, L.S. Harris, L. May, J.P. Smith, J.E. Villarreal), Raven Press, New York, 1974, pp. 33 - 43

F. BOCHNER, G. CARRUTHERS, J. KAMPMANN, J. STEINER: "*Manual de Farmacología Clínica*", 2ª ed. Salvat Editores, Barcelona, 1986, pp. 95 - 121

J.B. BOGARDUS: "*Common ion equilibria of hydrochloride salts and the Setschenow equation*". J. Pharm. Sci., **71**, 588 - 590 (1982).

J.D. BONNY, H. LEUENBERGER: "*Matrix type controlled release systems: I. Effect of percolation on drug dissolution kinetics*". Pharm. Acta Helv., **66**, 160 - 164 (1991).

J.D. BONNY, H. LEUENBERGER: "*Matrix type controlled release systems. II. Percolation effects in non-swellable matrices*". Pharm. Acta Helv., **68**, 25 - 33 (1993).

S.A. BOTHA, A.P. LÖTTER: "*Compatibility study between oxprenolol hydrochloride and tablet excipients using differential scanning calorimetry*". Drug Dev. Ind. Pharm., **15** (11), 1843 - 1853 (1989).

S.A. BOTHA, A.P. LÖTTER: "*Compatibility study between atenolol and tablet excipients using differential scanning calorimetry*". Drug Dev. Ind. Pharm., **16** (12), 1945 - 1954 (1990).

M.P. BOUVARD, M. LEBOYER, J.M. AUNAY, C. RECASENS, M.H. PLUMET, D. WALLER-PEROTTE, F. TABUTEAU, D. BONDOUX, M. DUGAS: "*Low-dose naltrexone effects on plasma chemistries and clinical symptoms in autism: a double-blind, placebo-controlled study*". Psychiatry Res., **58** (3), 191 - 201 (1995).

A. BOZA, I. CARABALLO, M.J. FERNANDEZ-HERVAS, J. ALVAREZ-FUENTES, A.M. RABASCO: "*Tabletas de matrices inertes para la liberación controlada del Lobenzarit disódico*". VI Congreso de la Sociedad Cubana de Ciencias Farmacéuticas, Ciudad de la Habana, 28 de Noviembre al 1 de Diciembre de 1995

S. BUDAVARI (ED.): "*The Merck Index*", 11th ed. Merck & Co., Rahway,

1989, pp. 1006 - 1007

R.E.S. BULLINGHAM, H.J. MCQUAY, R.A. MOORE: "*Clinical pharmacokinetics of narcotic agonist-antagonist drugs*". *Clinical Pharmacokinetics*, **8**, 332 - 343 (1983).

R. BURNS, K. PETERSON, L. SANDERS: "*A one year controlled release implant for the Luteinizing Hormone releasing hormone superagonist RS-49947. I. Implant characterization and analysis of in vitro results*". *J. Control. Release*, **14**, 221 - 232 (1990).

J. CAMI, F.J. AYESTA: "*Farmacodependencias*" en "*Farmacología humana*" (Ed.: J. Flórez, J.A. Armijo, A. Mediavilla), 3ª ed., Ed. Masson, Barcelona, 1997, pp. 565 - 591

I. CARABALLO, J. ALVAREZ-FUENTES, M.A. HOLGADO, M.F. AREVALO, A.M. RABASCO: "*Studies on the formation and kinetic release of morphine polymeric complexes*". Abstracts Book. I European Congress of Pharmaceutical Sciences, Amsterdam, 7 - 9 Octubre de 1992, p. 71

I. CARABALLO, M. FERNANDEZ-AREVALO, M.A. HOLGADO, A.M. RABASCO: "*Application of percolation theory over the study of biopharmaceutical characteristics in inert matrices*". *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, **18** (1 sup.), 130 (1993a).

I. CARABALLO, M. FERNANDEZ-AREVALO, M.A. HOLGADO, A.M. RABASCO: "*Percolation theory: application to the study of the release behaviour from inert matrix systems*". *Int. J. Pharm.*, **96**, 175 - 181 (1993b).

I. CARABALLO: "*Teoría de la Percolación: Aplicación al diseño y caracterización de sistemas de liberación controlada de medicamentos*". Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, 1994

I. CARABALLO, M. FERNANDEZ-AREVALO, M.A. HOLGADO, A.M. RABASCO, H. LEUENBERGER: "*Study of the release mechanism of carteolol inert matrix tablets on the basis of percolation theory*". *Int. J. Pharm.*, **109**, 229 - 236 (1994a).

I. CARABALLO, M. FERNANDEZ-AREVALO, M.A. HOLGADO, M.T. VELA, A.M. RABASCO: "*A rapid HPLC method for the quantification of*

tyrothricin, menthol and benzocaine in pharmaceutical formulations". J. Pharm. Sci., **83** (8), 1147 - 1149 (1994b).

I. CARABALLO, M. FERNANDEZ-AREVALO, M.A. HOLGADO, J. ALVAREZ-FUENTES, A.M. RABASCO: "Simultaneous HPLC determination of some drugs commonly used in cold medications: Dextromethorphan, Diphenhydramine, Phenylephrine, Phenylpropanolamine and Pseudoephedrine". Drug Dev. Ind. Pharm., **21**(5), 605 - 613 (1995).

I. CARABALLO, M. MILLAN, A.M. RABASCO: "Relationship between drug percolation threshold and particle size in matrix tablets". Pharm. Res., **13** (3), 387 - 390 (1996a).

I. CARABALLO, M. MILLAN, A.M. RABASCO, H. LEUENBERGER: "Zero-order release periods in inert matrices. Influence of the distance to the percolation threshold". Phar. Acta Helv., **71**, 335 - 339 (1996b).

I. CARABALLO, M.A. HOLGADO, M. FERNANDEZ-AREVALO, H. LEUENBERGER, A.M. RABASCO: "Application of percolation theory to characterize the release behaviour of carteolol matrix systems". Drug Dev. Ind. Pharm., **23** (1), 1 - 8 (1997a).

I. CARABALLO, M. FERNANDEZ-AREVALO, M. MILLAN, J. ALVAREZ-FUENTES, A.M. RABASCO: "Influence of the disintegrant on the drug percolation threshold in tablets". Drug Dev. Ind. Pharm., **23** (7), 665 - 669 (1997b).

I. CARABALLO, J. ALVAREZ-FUENTES, M.A. HOLGADO, M. FERNANDEZ-AREVALO, A.M. RABASCO: "Characterization of morphine-Eudragit L polymeric complexes". Abstract Book 7th Meeting on Recent Developments in Pharmaceutical Analysis, Elba (Italia), 16 - 20 Septiembre de 1997c, p. 13

M. CARRARA, S. ZAMPIRON, F. CAPOLONGO, L. CIMA, P. GIUSTI: "Influence of glycine on morphine-induced antinociception in mice". Eur. J. Pharmacol., **179** (3), 301 - 305 (1990).

C.N. CHIANG, L.E. HOLLISTER, A. KISHIMOTO, G. BARNETT: "Kinetics of a naltrexone sustained release preparation". Clin. Pharmacol. Ther., **36** (11), 704 - 708 (1984).

W.G. CLARK, C.R. CRAIG, A.R. JOHNSON (ED.): "*Analgésicos opioides*" en "*Farmacología Médica*", 13<sup>a</sup> ed., Editorial Mosby, Baltimore, 1993, pp. 318 - 335

S. CUELLAR: "*Las nuevas formas farmacéuticas*". *Ind. Farm.*, **2** (4), 55 - 60 (1987).

M.P. DANCKWERTS, J.G. VAN DER WATT: "*Simultaneous in vitro release of levodopa and carbidopa from biocompatible core-in-cup implants*". *Drug Dev. Industrial Pharm.*, **23** (3), 267 - 271 (1997).

A. DÄRR: "*Tecnología Farmacéutica*". Ed. Acribia, Zaragoza, 1981, p. 323.

S.K. DAS, B.K. GUPTA: "*Simulation of physiological pH-time profile in vitro dissolution study: relationship between dissolution rate and bioavailability of controlled release dosage form*". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **14** (4), 537 - 544 (1988).

S.S. DAVIS: "*The design and evaluation of controlled release dosage forms for oral delivery*". *S.T.P. Pharma*, **3** (5), 412 - 417 (1987).

Documentación técnica de Röhm Pharma. Darmstadt, Alemania.

E. DOELKER: "*Proposition de classification des polymères biocompatibles pour les formes médicamenteuses à libération contrôlée*". *S.T.P. Pharma*, **3** (3), 207 - 215 (1987).

C. DOMB: "*The percolation phase transition*" en "*Percolation structures and processes*" (Ed.: G. Deutscher, R. Zallen, J. Adler). The American Institute of Physics, New York, 1983, pp. 17 - 46

P. DOTY, J.M. KIRK, M.J. CRAMBLETT, H. DE WIT: "*Behavioral responses to ethanol in light and moderate social drinkers following naltrexone pretreatment*". *Drug Alcohol Depend.*, **47** (2), 109 - 116 (1997).

M.A. EL EGAKEY, P. SPEISER: "*Drug loading studies on ultrafine solid carriers by sorption procedures*". *Pharm. Acta Helv.*, **57**, 236 - 240 (1982).

M. ESCRIBANO: "*Aspectos farmacológicos y legislativos de las sustancias restrictivas*". *Rev. Consejo General de Farmacéuticos*, (175) 44 - 52 (1993).

M. FERNANDEZ-AREVALO, M.A. HOLGADO, J.M. GINES, A.M. RABASCO:

"Effects of different fillers and wetting liquids on the dissolution behavior of carteolol hydrochloride controlled release inert matrix tablets". *Int. J. Pharm.*, **95**, 117 - 125 (1993).

M. FERNANDEZ-AREVALO, J. ALVAREZ-FUENTES, I. CARABALLO, M.A. HOLGADO, J.M. GINES, A.M. RABASCO: "Elaboración y caracterización de complejos poliméricos para la obtención de sistemas de liberación controlada de morfina y carteolol". Libro de Resúmenes. Primera Reunión Científica de la Asociación de Docentes de Farmacia Galénica, Madrid, 25 de Septiembre de 1992, pp. 191 - 192

M. FERNANDEZ-AREVALO, M.A. HOLGADO, J. ALVAREZ-FUENTES, I. CARABALLO, M.T. VELA, A.M. RABASCO: "Water-insoluble complexes of morphine and carteolol-Eudragit<sup>R</sup> L. A comparative study of the complexation process". Proceedings of the 13th Pharmaceutical Technology Conference, Strasbourg 1994, vol. 3, pp. 158 - 181

M. FERNANDEZ-AREVALO, J. ALVAREZ-FUENTES, M.A. HOLGADO, R.T. PIÑERO, I. CARABALLO: "Estudio de fármacos anticatarrales incluidos en un preparado antigripal de liberación controlada". Libro de Resúmenes. II Congreso de la Asociación de Docentes de Farmacia Galénica, 23 - 25 Febrero 1995, pp. 135 - 137

M.J. FERNANDEZ-HERVAS, M.T. VELA, M.A. HOLGADO, J. DEL CERRO, A.M. RABASCO: "Determination of percolation thresholds in matrix type controlled release systems; application of a resistance analysis technique". *Int. J. Pharm.*, **113**, 39 - 45 (1995).

A.T. FLORENCE, D. ATTWOOD: "Physicochemical Principles of Pharmacy", 2nd ed. The McMillan Press Ltd., London, 1988, pp. 140 - 141

J. FLOREZ: "Fármacos analgésicos opioides" en "Farmacología humana" (Ed.: J. Flórez, J.A. Armijo, A. Mediavilla), 3<sup>a</sup> ed., Ed. Masson, S.A., Barcelona, 1997b, pp. 435 - 452

G. FOLKERS, M. MICHAEL: "Pharmacodynamics of opioids: recent developments". *Pharm. Acta Helv.*, **69**, 61 - 68 (1994).

J.L. FORD, P. TIMMINS: "Information derived from thermal analytical" en "Pharmaceutical thermal analysis. Techniques and applications", Ed. Ellis Horwood, Chichester, 1989a, pp. 25 - 68



J.L. FORD, P. TIMMINS: "Thermal analysis in the characterization of pharmaceutical solids" en "Pharmaceutical thermal analysis. Techniques and applications", Ed. Ellis Horwood, Chichester, 1989b, pp. 136 - 149

J.L. FORD, P. TIMMINS: "The use of thermal analysis in polymeric drug delivery systems" en "Pharmaceutical thermal analysis. Techniques and applications", Ed. Ellis Horwood, Chichester, 1989c, pp. 180 - 200

J.L. FORD, P. TIMMINS: "Application of thermal analysis to compatibility studies for solid dosage forms" en "Pharmaceutical thermal analysis. Techniques and applications", Ed. Ellis Horwood, Chichester, 1989d, pp. 238 - 247

J.A. FUENTES, M. RUIZ-GAYO, M.J. OTERO, G. VELA, I. RECHE: "Nuevas aproximaciones farmacológicas para la producción de analgesia". *Ind. Farm.*, **9** (5), 51 - 57 (1994).

M.J. GARCIA, D. SANTOS: "Formas sólidas orales" en "Tecnología Farmacéutica" Vol. II (Ed.: J.L. Vila-Jato), Editorial Síntesis, S.A., Madrid, 1997, 55 - 155

A. GARCIA DE MARINA, B. DEL CASTILLO: "Cromatografía Líquida de alta resolución". Ed. Limusa, S.A. de C.V., México, 1988

U.W. GEDDE: "Thermal analysis of polymers". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **16** (17), 2465 - 2486 (1990).

A.D. GENAZZANI, F. PETRAGLIA, M. GASTALDI, C. VOLPOGNI, O. GAMBA, A.R. GENAZZANI: "Naltrexone treatment restores menstrual cycles in patients with weight loss-related amenorrhea". *Fertil. Steril.*, **64** (5), 951 - 956 (1995).

G. GERRA, A. MARCATO, R. CACCAVARI, B. FONTASENI, R. DELSIGNORE, G. FERTONANI, P. AVANZINI, P. RUSTICHELLI, M. PASSERI: "Clonidine and opiate receptor antagonists in the treatment of heroin addiction". *J. Subst. Abuse Treat.*, **12** (1), 35 - 41 (1995).

J. GILLARD, H. VRANCKX, J.P. VANDIEST: "La libération du sulfate de quinidine à partir de matrices inertes, hydrophiles et lipophiles". *S.T.P. Pharma*, **3** (6), 492 - 500 (1987).

J.L. GOMEZ-AMOZA: "Sólidos pulverulentos" en "Tecnología

*Farmacéutica*" Vol. I (Ed.: J.L. Vila-Jato), Editorial Síntesis, S.A., Madrid, 1997, 75 - 142

P.L. GOULD, J.R. HOWARD, G.A. OLDERSHAW: "The effect of hydrate formation on the solubility of theophylline in binary aqueous cosolvent systems". *Int. J. Pharm.*, **51**, 195 - 202 (1989).

R. GURNY, E. DOELKER, N.A. PEPPAS: "Modelling of sustained release of water-soluble drugs from porous hydrophobic polymers". *Biomaterials*, **3**, 27 - 32 (1982).

K.J. HARTAUER, J.K. GUILLORY: "A comparison of diffuse reflectance FT-IR spectroscopy and D.S.C. in the characterization of a drug-excipient interaction". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **17** (4), 617 - 630 (1991).

J.E. HASTEDT, J.L. WRIGHT: "Diffusion in porous materials above the Percolation threshold". *Pharm. Res.*, **7** (9), 893 - 901 (1990).

R.D. HEILMAN, M.I. GRAY, R.P. CHEN, E.F. HANN, J. FISHMAN: "Evaluation of the hot plate technique to study narcotic antagonist". *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **13** (4), 635 - 647 (1976).

J. HELLER: "Fundamentals of polymer science" en "Controlled drug delivery. Fundamentals and applications" (Ed.: J.R. Robinson, V.H.L. Lee), 2nd ed., Marcel J. Dekker, Inc., New York, 1987, pp. 140 - 142

J. HERNANDEZ, R. GALVEZ, M.A. FERNANDEZ-FEIJOO Y COLS.: "Estudio de estabilidad de una solución de clorhidrato de morfina en glucosa al 5%, sin conservadores para uso epidural". *Rev. Asoc. Esp. Farm. Hosp.*, **9** (4), 177 - 180 (1985).

M. HERRAEZ, T.M. GARRIGUES, J.M. PLA-DELFINA: "Formas farmacéuticas orales de cesión sostenida: Aspectos biofarmacéuticos. (I). Factores que afectan a la biodisponibilidad". *Ind. Farm.*, **5** (3), 49 - 55 (1990a).

M. HERRAEZ, T.M. GARRIGUES, J.M. PLA-DELFINA: "Formas farmacéuticas orales de cesión sostenida: Aspectos biofarmacéuticos. (II). Requisitos para formulación sostenida". *Ind. Farm.*, **5** (4), 45 - 50 (1990b).

T. HIGUCHI: "Mechanism of sustained-action medication-theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices". *J. Pharm. Sci.*,

52, 1145 - 1149 (1963).

M.A. HOLGADO, M. FERNANDEZ-AREVALO, A.M. RABASCO: "*Sistemas de Liberación controlada. I. Conceptos, criterios de elección de fármacos y métodos de obtención biológicos y químicos*". Ind. Farm., **5** (1), 109 - 115 (1990).

M.A. HOLGADO, M. FERNANDEZ-AREVALO, A.M. RABASCO: "*Sistemas de Liberación Controlada. II. Métodos de obtención farmacotécnicos*". Ind. Farm., **5** (2), 67 - 78 (1990).

M.A. HOLGADO, M. FERNANDEZ-AREVALO, J.M. GINES, A.M. RABASCO: "*Elaboration and technological characterization of inert matrix tablets of carteolol hydrochloride*". Drug Dev. Ind. Pharm., **18**, (8), 911 - 918 (1992).

M.A. HOLGADO: "*Diseño y elaboración de dos sistemas orales de liberación controlada de clorhidrato de carteolol. Evaluación biofarmacéutica*". Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, 1993.

M.A. HOLGADO, M. FERNANDEZ-AREVALO, J. ALVAREZ-FUENTES, I. CARABALLO, J.M. LLERA, A.M. RABASCO: "*Physical characterization of carteolol-Eudragit® binding interaction*". Int. J. Pharm., **114**, 13 - 21 (1995a).

M.A. HOLGADO, I. CARABALLO, J. ALVAREZ-FUENTES, M. FERNANDEZ-AREVALO, J.M. LLERA, A.M. RABASCO: "*Influence of diluents and manufacturing method in vitro dissolution of carteolol hydrochloride matrix tablets*". Int. J. Pharm., **118**, 151 - 160 (1995b).

M.A. HOLGADO, M. FERNANDEZ-AREVALO, J.M. GINES, I. CARABALLO, A.M. RABASCO: "*Compatibility study between carteolol hydrochloride and tablet excipients using differential scanning calorimetry and hot stage microscopy*". Pharmazie, **50**, 195 - 198 (1995c).

M.A. HOLGADO, J. ALVAREZ-FUENTES, R.T. PIÑERO, M. FERNANDEZ-AREVALO, A.M. RABASCO: "*Aplicaciones de los polímeros en el campo farmacéutico: sistemas de liberación controlada*". Ind. Farm., **11** (2), 87 - 91 (1996a).

M.A. HOLGADO, M.J. FERNANDEZ-HERVAS, J. ALVAREZ-FUENTES, M.T. VELA, A.M. RABASCO, A. FINI: "*Characterization of modified paracetamol by means of SEM and fractal analysis*". Int. J. Pharm., **142**, 143 - 151 (1996b).

L.E. HOLMAN, H. LEUENBERGER: "*The relationship between solid fraction and mechanical properties of compacts-the percolation theory model approach*". Int. J. Pharm., **46**, 35 - 44 (1988).

K.M. HULL, D.E. TOLLAND, T.J. MAHER: "*L-tyrosine potentiation of opioid-induced analgesia utilizing the hot plate test*". J. Pharmacol. Exp. Ther., **293** (3), 1190 - 1195 (1994).

IAPS: "*Ethical standards for investigations of experimental pain in animals*". Pain, **9**, 141 - 142 (1980).

M.R. JENQUIN, S.M. LIEBOWITZ, R.E. SARABIA, J.M. MCGINITY: "*Physical and chemical factors influencing the release of drugs from acrylic resin films*". J. Pharm. Sci., **79** (9), 811 - 815 (1990).

M.R. JENQUIN, R.E. SARABIA, S.M. LIEBOWITZ, J.M. MCGINITY: "*Relationship of film properties to drug release from monolithic films containing adjuvants*". J. Pharm. Sci., **81** (10), 983 - 989 (1992).

M. JOHANSEN, H. BUNDGAARD: "*Prodrugs as drug delivery systems. XXV: Hydrolysis of oxazolidines. A potential new prodrug type*". J. Pharm. Sci., **72** (11), 1294 - 1298 (1983).

M.Z.I. KHAN: "*Recent trends and progress in sustained or controlled oral delivery of some water soluble drugs: morphine salts, diltiazem and captopril*". Drug Dev. Ind. Pharm., **21** (9), 1037 - 1070 (1995).

R.W. KORSMEYER, R. GURNY, E. DOELKER, P. BURI, N.A. PEPPAS: "*Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers*". Int. J. Pharm., **15**, 25 - 35 (1983).

H. LEE, J. HAJDU, P. MCGOFF: "*Propranolol: Methacrylic acid copolymer binding interaction*". J. Pharm. Sci., **80** (2), 178 - 180 (1991).

H. LEUENBERGER, B.D. ROHERA, C. HAAS: "*Percolation theory: a novel approach to solid dosage form design*". Int. J. Pharm., **38**, 109 - 115 (1987).

- H. LEUENBERGER, H. HOLMAN, M. USTERI, S. WINZAP: "*Percolation Theory, Fractal Geometry and Dosage Form Design*". Pharm. Acta Helv., **64**, 34 - 39 (1989a).
- H. LEUENBERGER, M. USTERI, G. IMANIDIS, S. WINZAP: "*Monitoring the granulation process: granulate growth, fractal dimensionality and percolation threshold*". Boll. Chim. Farm., **128**, 54 - 61 (1989b).
- H. LEUENBERGER, R. LEU: "*Formation of a tablet: a site and bond percolation phenomenon*". J. Pharm. Sci., **81**, 976 - 981 (1992).
- H. LEUENBERGER, R. LEU, J.D. BONNY: "*Application of percolation theory and fractal geometry to tablet compaction*". Drug Dev. Ind. Pharm., **18** (6 - 7), 723 - 766 (1992).
- S.Y. LIN, R.I. PERNG: "*Solid-state interaction studies of drugs/polymers. Part 1. Indometacin/Eudragit® E, RL or S resins*". STP. Pharma Sci., **3** (6), 465 - 471 (1993).
- S.Y. LIN, C.L. CHENG, R.I. PERNG: "*Solid state interaction studies of drug-polymers (II): warfarin-Eudragit® E, RL or S resins*". Eur. J. Pharm. Sci., **1** (6), 313 - 322 (1994).
- S.Y. LIN, R.I. PERNG, C.L. CHENG: "*Solid state interaction studies between drugs and polymers: piroxicam-Eudragit® E, RL or S resins*". Eur. J. Pharm. Biopharm., **42** (1), 62 - 66 (1996).
- M. LITTER: "*Hipnoanalgésicos naturales y sintéticos*" en "*Farmacología Experimental y Clínica*", 7ª edic., Ed. "El Ateneo", Buenos Aires, 1988, pp. 359 - 372
- R. LOIMER, K. LENZ, R. SCHIMD, O. PRESSLICH: "*Technique for greatly shortening the transition from metadone to naltrexone maintenance of patients addicted to opiates*". Am. J. Psychiatry, **148** (7), 933 - 935 (1991).
- M.A. LONGER, J.R. ROBINSON: "*Sustained-release drug delivery system*" en "*Remington's Pharmaceutical Sciences*" (Compilador General: A.R. Gennaro), 18 edit., Mack Publishing Company, Pennsylvania, 1990, pp. 1676 - 1693
- N.G. LORDI: "*Sustained release dosage forms*" en "*The theory and practice*

of industrial pharmacy" (Ed.: L. Lachman, H.A. Lieberman, J.L. Kanig), 3rd ed., Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1986, pp. 430 - 456

B.J. MASON: "Dosing issues in the pharmacotherapy of alcoholism". Alcohol Clin. Exp. Res., **20** (7 suppl), 10 - 16 (1996).

P. MAREK, G.G. PAGE, S. BEN-ELIYAHU, J.C. LIEBESKIND: "*N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) receptor antagonist MK-801 blocks non-opioid stress-induced analgesia. I. Comparison of opiate receptor-deficient and opiate receptor-rich strains of mice*". Brain Res., **551** (1-2), 293 - 296 (1991).

C. MARTINEZ: "Programas de mantenimiento con agonistas opiáceos: actualización". Farmacéuticos, **194**, 58 - 61 (1995).

L.M<sup>a</sup>. MELGOZA, M. MILLAN, J. ALVAREZ-FUENTES, I. CARABALLO, A.M. RABASCO: "Validation study of the conductometrical analysis of morphine hydrochloride. Application to the drug release studies from controlled release systems". Abstract book. 7<sup>th</sup> Meeting on Recent Developments in Pharmaceutical Analysis, Elba, 16 - 20 Septiembre de 1997, p. 49

M. MILLAN, I. CARABALLO, M.C. SORIANO, L. LOPEZ, J. ALVAREZ-FUENTES, A.M. RABASCO: "Estudio de la relación entre la resistencia a la fractura y el umbral de percolación en matrices de liberación controlada". Libro de Resúmenes. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos, Santiago de Compostela, 25 - 27 Septiembre de 1995, p. 11

M. MILLAN, I. CARABALLO, A.M. RABASCO: "The role of the drug/excipient particle size ratio in the percolation model for tablets". Pharm. Res., **15** (2), 220 - 224 (1998).

M. MIÑARRO, J.A. PACHECO, E. GARCÍA-MONTOYA, J.M. SUÑÉ-NEGRE, J.R. TICÓ: "Aspectos tecnológicos de las formas farmacéuticas de liberación modificada de administración oral: sistemas matriciales, flotantes y bioadhesivos". Ciencia Farmacéutica, **7** (3), 113 - 121 (1997).

S. MIYAZAKI, M. OSHIBA, T. NADAI: "Precaution on use of hydrochloride salts in pharmaceutical formulation". J. Pharm. Sci., **70**, 594 - 596 (1981).

D.C. MONKHOUSE, A. MADERICH: "Whither compatibility testing?". Drug

Dev. Ind. Pharm., **15** (13), 2115 - 2130 (1989).

R. MUÑOZ: "Situación actual de los tratamientos con antagonistas opiáceos". Rev. Consejo General de Farmacéuticos, (175) 16 - 21 (1993).

O. MUNJERI: "An investigation into the colon-specific drug delivery properties of amidate pectin-based hydrogel beads". Tesis Doctoral, Universidad de Manchester, 1996.

M. NARITA, Y. TAKAHASHI, K. TAKAMORI, M. FUNADA, T. SUZUKI, W. MISAWA, H. NAGASE: "Effects of kappa-agonist on the antinociception and locomotor enhancing action induced by morphine in mice". Jpn. J. Pharmacol., **62** (1), 15 - 24 (1993).

Y.N. NUJOMA, C. KIM: "A designer's polymer as an oral drug carrier (tablet) with pseudo-zero-order release kinetics". J. Pharm. Sci., **85** (10), 1091 - 1095 (1996).

C.P. O'BRIEN: "Adicción y abuso de sustancias tóxicas" en "Las bases farmacológicas de la terapéutica", Vol. I (Ed.: A. Goodman, J.G. Hardman, L.E. Limbird, P.B. Molinoff, R.W. Ruddon), 9ª ed., Ed. McGraw-Hill-Interamericana, México, 1996, pp. 595 - 617

C.P. O'BRIEN, L.A. VOLPICELLI, J.R. VOLPICELLI: "Naltrexone in the treatment of alcoholism: a clinical review". Alcohol, **13** (1), 35 - 39 (1996).

P.G. O'CONNOR, M.E. WAUGH, K.M. CARROLL, B.J. ROUNSAVILLE, I.A. DIAGKOGIANNIS, R.S. SCHOTTENFELD: "Primary care-based ambulatory opioid detoxification: the results of a clinical trial". J. Gen. Intern. Med., **10** (5), 255 - 260 (1995).

A.O. OKHAMAFE, P. YORK: "The glass transition in some pigmented polymer systems used for tablet coating". J. Macromol. Sci.-Phys., **B23** (4 - 6), 373 - 382 (1984 - 85).

A.O. OKHAMAFE, P. YORK: "Thermal characterization of drug/polymer and excipient/polymer interactions in some film coating formulation". J. Pharm. Pharmacol., **41** (1), 1 - 6 (1989).

L. PAO, O.Y.P. HU: "HPLC assay for basic amine drug in plasma using a silica gel column and an aqueous mobile phase. Application in a pilot bioavailability study of clorpheniramine controlled-release dosage form".

Drug Dev. Ind. Pharm., **20** (17), 2695 - 2706 (1994).

K. PARK, R.W. WOOD, J.R. ROBINSON: "Oral controlled release systems" en "Medical applications of controlled release" (Ed.: R.S. Langer, D.L. Wise). CRC Press, Boca Raton, 1984, vol. I, pp. 159 - 201

N.A. PEPPAS: "Analysis of fickian and non-fickian drug release from polymers". Pharm. Acta Helv., **60** (4), 110 - 111 (1985).

W. PHUAPRADIT, S. BOLTON: "The influence of tablet density on the human oral absorption of sustained release acetaminophen matrix tablets". Drug Dev. Ind. Pharm., **17** (8), 1097 - 1107 (1991).

R.T. PIÑERO: "Elaboración y caracterización de complejos poliméricos antigripales de cesión controlada". Tesis de Licenciatura, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, 1997

R.T. PIÑERO, J. ALVAREZ-FUENTES, M.A. HOLGADO, A.M. RABASCO, M. FERNANDEZ-AREVALO: "Complejos poliméricos de Eudragit® L. Aplicación para el desarrollo de una formulación anticatarral de liberación controlada". Libro de Actas del III Congreso de la Asociación Española de Docentes de Farmacia Galénica y II Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos, Puerto de la Cruz (Tenerife), 2 - 5 Febrero de 1997, pp. 45 - 46

A. POTTER, S.G. PROUDFOOT, M. BANKS, M.E. AULTON: "Factors affecting dissolution-controlled drug release from a compacted dry powder mix". Proceedings of the 6th International Congress on Pharmaceutical Technology, Paris, 2 - 4 Junio 1992, vol. 4, pp. 90 - 99

F. PUISIEUX, L. ROBLLOT-TREUPEL: "Vectorisation et vecteurs de médicaments". S.T.P. Pharma, **5** (2), 107 - 113 (1989).

A.M. RABASCO, M.A. HOLGADO, M. FERNANDEZ-AREVALO, J.M. GINES: "Inert matrix tablets as a controlled release dosage form for carteolol hydrochloride". Eur. J. Pharm. Biopharm., **37** (3), 147 - 153 (1991).

A.M. RABASCO, M.T. VELA, M.J. FERNANDEZ-HERVAS, M. GARCIA-ALVAREZ, M. FERNANDEZ-AREVALO: "Application of percolation theory to the design of controlled release matrices of water-soluble drugs". Abstracts Book of I European Congress of Pharmaceutical Sciences,



Amsterdam, 7 - 9 Octubre 1992, p. 71.

T. REISINE, G. PASTERNAK: "*Analgésicos opioides y sus antagonistas*" en "*Las bases farmacológicas de la terapéutica*", Vol. I (Ed.: A. Goodman, J.G. Hardman, L.E. Limbird, P.B. Molinoff, R.W. Ruddon), 9ª ed., Ed. McGraw-Hill-Interamericana, México, 1996, pp. 557 - 593

J.E.F. REYNOLDS (ED.): "*Supplementary drugs and other substances*" en "*Martindale: The Extra Pharmacopeia*", 31th edit. The Royal Pharmaceutical Society, London, 1996, pp. 1667 - 1768

W.A. RITSCHER: "*Biopharmaceutic and pharmacokinetic aspects in the design of controlled release peroral drug delivery systems*". Drug Dev. Ind. Pharm., **15** (6 & 7), 1073 - 1103 (1989).

B.J. ROOZENBURG, H.J. VAN DESSEL, J.L. EVERS, R.S. BOTS: "*Successful induction of ovulation in normogonadotrophic clomiphene resistant anovulatory women by combined naltrexone and clomiphene citrate treatment*". Hum. Reprod., **12** (8), 1720 - 1722 (1997).

J.H. ROSLAND, K. HOLE: "*1,4-Benzodiazepines antagonize opiate-induced antinociception in mice*". Anesth. Analg., **71** (3), 242 - 248 (1990).

J. SANCHEZ, M.T. MARIN: "*Presentación de dos formulaciones de morfina de acción prolongada, de aplicación en las unidades del dolor*". Rev. Asoc. Esp. Farm. Hosp., **11** (2), 111 - 118 (1987).

M.T. SANTEULARIA, L. ALIAGA, E. CATALA: "*Analgesia y opioides*" en "*Dolor y utilización clínica de los analgésicos*" (Ed.: L. Aliaga, J.E. Baños, C. de Barutell, J. Molet, A. Rodríguez de la Serna). Ed. MCR, S.A., Barcelona, 1996, pp. 81 - 95

A.D. SCHWOPE, D.L. WISE, J.F. HOWES: "*Development of polylactic/glycolic acid delivery systems for use in treatment of narcotic addiction*" en "*Narcotic antagonists: the search for long-acting preparations*", NIDA Research Monographs Series, n° 4. (Ed.: R.E. Willette), Washington, U.S. Gov. Printing Office, 1976, pp. 13 - 18

M.V. SEFTON: "*Implantable pumps*" en "*Medical applications of controlled release*", vol. I (Ed.: R.S. Langer, D.L. Wise). CRC Press, Boca Raton, Florida, 1984, pp. 129 - 158

C. THIES: "Development of injectable microcapsules for use in treatment of narcotic addiction" en "Narcotic antagonists: the search for long-acting preparations", NIDA Research Monographs Series, n° 4. (Ed.: R.E. Willette), Washington, U.S. Gov. Printing Office, 1976, pp. 19 - 20

"The United States Pharmacopeia", 23rd rev., p. 2053.

R.F. SHANGRAW: "Design and formulation of sustained release theophylline dosage forms". Drug Dev. Ind. Pharm., **14** (2 & 3), 319 - 335 (1988).

M. SHEIKH-SALEM, J.T. FELL: "Compaction characteristics of mixtures of materials with dissimilar compaction mechanisms". Int. J. Pharm. Tech. and Prod. Mfr., **2**(1), 19 - 22 (1981).

E.N. SHUFMAN, S. PORAT, E. WITZTUM, D. GANDACU, R. BAR-HAMBURGER, Y. GINATH: "The efficacy of naltrexone in preventing reabuse of heroin after detoxification". Biol. Psychiatry, **35** (12), 935 - 945 (1994).

D.A. SKOOG, D.M. WEST: "Métodos térmicos" en "Análisis instrumental", 2ª ed., Ed. Panamericana, México, 1987, pp. 684 - 695

J.N. STANIFORTH: "Particle size analysis" en "Pharmaceutics: The science of dosage form design" (Ed.: M.E. Aulton), Churchill Livingstone, Inc., New York, 1995, pp 564 - 580

D. STAUFFER, A. AHARONY: "Introduction to Percolation Theory", 2nd ed., Burgess Science Press, London, 1992a, pp 1 - 14

D. STAUFFER, A. AHARONY: "Introduction to Percolation Theory", 2nd ed., Burgess Science Press, London, 1992b, pp 115 - 135

S.M. STINE, T.R. KOSTEN: "Use of drug combinations in treatment of opioid withdrawal". J. Clin. Psychopharmacol., **12** (3), 203 - 209 (1992).

M.F. SULLIVAN, D.R. KALKWARF: "Sustained release of naltrexone from glyceride implants" en "Narcotic antagonists: the search for long-acting preparations", NIDA Research Monographs Series, n° 4. (Editor: R.E. Willette), Washington, U.S. Gov. Printing Office, 1976, pp. 27 - 32

H. SUZUKI, N. MIYAMOTO, T. MASADA, E. HAYAKAWA, K. ITO: "Solid dispersions of benidipine hydrochloride. Part 2. Investigation of the interactions among drug, polymer and solvent in preparations". Chem.

Pharm. Bull., **44**, 372 - 377 (1996).

R.M. SWIFT, W. WHELIHAN, O. KUZNETSOV, G. BUONGIORNO, H. HSUING: *Naltrexone-induced alterations in human ethanol intoxication*". Am. J. Psychiatry., **151** (10), 1463 - 1467 (1994).

E.A. SWINYARD: "*Analgesics and antipyretics*" en "*Remington's Pharmaceutical Sciences*" (Compilador General: A.R. Gennaro), 18th edit. Mack Publishing Company, Pennsylvania, 1990, pp. 1097 - 1122

M.R. VASKO: "*Abuso y dependencia de fármacos*" en "*Farmacología Médica*" (Ed.: W.G. Clark, C.R. Craig, A.R. Johnson), 13ª ed., Editorial Mosby, Baltimore, 1993, pp. 336 - 353

M.T. VELA, M.J. FERNANDEZ-HERVAS, M. FERNANDEZ-AREVALO, M.J. ARIAS, A.M. RABASCO: "*Evaluation of the initial phase release process from inert matrix systems based on percolation theory*". Proceedings of 13th Pharmaceutical Technology Conference, Strasbourg, 12 - 14 April, 1994, vol. Ia, pp. 802 - 817

S. VENKATARAM, M. KHOHLOKWANE, S.H. WALLIS: "*Differential Scanning Calorimetry as a quick scanning for solid state stability studies*". Drug Dev. Ind. Pharm., **21** (7), 847 - 855 (1995).

J.L. VILA-JATO, B. SEIJO, M.J. ALONSO: "*Interés de los sistemas bioadhesivos*". Rev. Asoc. Esp. Farm. Hosp., **12** (3), 217 - 227 (1988).

D.A. WADKE, H. JACOBSON: "*Preformulation testing*" en "*Pharmaceutical dosage forms: tablets*", vol. 1, (Ed.: H.A. Lieberman, L. Lachman), Marcel Dekker Inc., New York, 1981, pp. 1 - 59

N. WEINER, F. MARTIN, M. RAIZ: "*Liposomes as a drug delivery system*". Drug Dev. Ind. Pharm., **15** (10), 1523 - 1554 (1989).

P.G. WELLING: "*Oral controlled drug administration*". Drug Dev. Ind. Pharm., **9** (7), 1185 - 1225 (1983).

J.I. WELLS: "*Pharmaceutical preformulation: The Physicochemical Properties of Drug Substances*". Ed. Ellis Horwood, Chichester, 1987, pp. 88

H.G. WOOLFE, A.D. MACDONALD: "The evaluation of the analgesic action

of pethidine hydrochloride" J. Pharmacol. Exper. Therap., **80**, 300 - 308 (1944).

K.J. WIDDER, A.E. SENYELI, B. SEARS: "*Experimental methods in cancer therapeutics*". J. Pharm. Sci., **71** (4), 379 - 387 (1982).

K. YAMAGUCHI, J.M. ANDERSON: "*Biocompatibility studies of naltrexone sustained release formulations*". J. Control. Release, **19** (3), 299 - 314 (1992).

R. ZALLEN: "*Percolation: a model for all seasons*" en "*Percolation structures and processes*" (Ed.: G. Deutscher, R. Zallen, J. Adler). Adam Hilger, Bristol; The Israel Physical Society, Jerusalem; The American Institute of Physics, New York, 1983

U. ZIMMERMANN: "*Targeted drugs*". Labo-Pharma Probl. Tech., **31** (328), 69 - 73 (1983).

W. ZHONG, M. WILLIAMS: "*Quantitative determination of cis-3,4-dichloro-N-methyl-N-(2-(1-pyrrolidinyl)-cyclohexyl)-benzamide and three of its metabolites- in plasma by HPLC*". J. Pharm. Sci., **82** (10), 1049 - 1053 (1993).

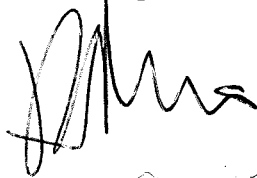
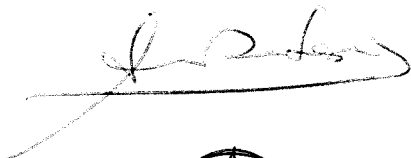
= José Álvarez Fuentes  
Desarrollo y Evaluación de dos sistemas  
de liberación de la actividad de un sistema  
Subsecuente con

lance

12

Fuente

98



José Luis Pachón

