

FARMACOCINÉTICA DE LOS MEDICAMENTOS OBTENIDOS POR BIOTECNOLOGÍA

Alfonso Domínguez-Gil Hurlé. Servicio de Farmacia, Hospital Universitario de Salamanca

INTRODUCCIÓN

Los medicamentos obtenidos por biotecnología constituyen una clase terapéutica emergente en la clínica que presenta unas características diferenciales no sólo por su origen, sino también por su estructura química y algunas propiedades farmacológicas.

Los medicamentos biotecnológicos incluyen proteínas obtenidas por ingeniería genética, anticuerpos monoclonales producidos mediante la tecnología del hibridoma, vectores para el transporte de material genético, fragmentos de anticuerpos, oligonucleótidos antisentido, vacunas, etc. Estos productos presentan algunas características que los diferencia de los medicamentos tradicionales. Su estructura química, por ejemplo, es más compleja, ya que se trata, con frecuencia, de proteínas que contienen un número elevado de aminoácidos (filgastrin 174, somatropina 191, alteplasa 527, etc.) con una determinada secuencia, con especificidad en el número y localización de los puentes disulfuro e incorporación de una o varias moléculas de carbohidratos que son necesarias para la actividad biológica. La cadena proteica puede presentar, además, hélices en distinto número, tamaño y configuración. Asimismo, algunas proteínas activas requieren la asociación de varias subunidades proteicas para formar un

gran agregado activo, estructura cuaternaria, como ocurre, por ejemplo con el interferon- β formado por dos proteínas idénticas de 165 kDa unidas por uniones no covalentes (1).

Toda sustancia con actividad farmacológica queda definida no solamente por su configuración estructural sino también por sus propiedades físico-químicas y biológicas, entre las que se incluye el perfil farmacocinético que cuantifica, mediante diversos parámetros, los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción (2).

La farmacocinética se ha consolidado durante los últimos años como una disciplina de gran interés sanitario. Su aplicación se dirige, principalmente, hacia el desarrollo de nuevos medicamentos y a la optimización de los tratamientos farmacológicos (3). Otras aplicaciones menos conocidas son la detección diagnóstica de respuestas anómalas, el análisis retrospectivo de errores terapéuticos o tratamientos inadecuados y las actividades educativas encaminadas a asegurar el uso seguro y eficaz de los medicamentos. Dentro de la investigación farmacológica, la farmacocinética puede dirigirse también a la resolución de aspectos clínicos concretos como la detección de interacciones, problemas de biodisponibilidad o a la definición de parámetros útiles para el diseño de regímenes de dosificación individualizados. La farmacocinética es hoy de gran utilidad para todos aquellos profesionales implicados en el desarrollo, evaluación y uso de los medicamentos. Para la profesión farmacéutica tiene un especial interés, aunque para su dominio se requiere, además, una sólida formación en terapéutica farmacológica y en el seguimiento clínico de los pacientes.

La actividad intrínseca que presenta un fármaco es condición necesaria, pero no suficiente para asegurar la eficacia terapéutica. El fármaco precisa, necesariamente, alcanzar su lugar de acción, no siempre bien definido, en ocasiones difícilmente accesible o cuya accesibilidad se modifica con la gravedad de la enfermedad. Para ello se puede requerir, por ejemplo, una biodisponibilidad elevada, una amplia distribución tisular o un lento aclaramiento plasmático. Unas propiedades farmacocinéticas desfavorables pueden llegar a condicionar el potencial terapéutico de un nuevo fármaco y aconsejar la interrupción de los ensayos clínicos programados en su desarrollo. La Figura 1 muestra esquemáticamente la contribución de la farmacocinética y la farmacodinamia a la respuesta en un tratamiento farmacológico (4).

Los resultados obtenidos en los estudios farmacocinéticos, junto a los precedentes de los ensayos de eficacia y seguridad, configuran el perfil farmacoló-

Farmacocinética de los medicamentos obtenidos por biotecnología

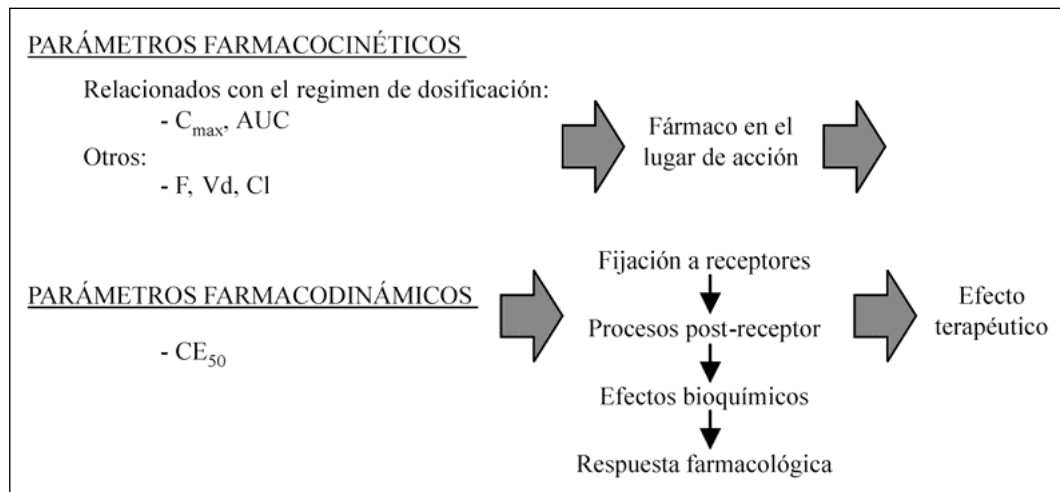


Figura 1: Relación de la farmacocinética y farmacodinamia con la respuesta terapéutica

gico de un nuevo medicamento, permitiendo establecer los principios básicos para su correcta utilización en la práctica clínica.

La investigación de nuevos fármacos se orienta, con frecuencia, a mejorar algunas características farmacocinéticas, especialmente la absorción gastrointestinal, la distribución tisular y la velocidad de eliminación. Ello se consigue mediante cambios en la estructura química o en la formulación farmacéutica que puede modificar la cinética de liberación, el acceso a los tejidos e incluso los procesos de metabolismo y excreción (5). Estos cambios permiten mejorar la efectividad de los tratamientos bien por cambios en el perfil de la respuesta o facilitando la administración y mejorando el cumplimiento de la prescripción.

La estructura química que presentan la mayoría de los productos biotecnológicos condicionan algunas propiedades, que pueden dificultar su utilización terapéutica y que se reflejan en su perfil farmacocinético. Entre ellas destacan la baja biodisponibilidad por vía oral, ciertas exigencias en la distribución tisular y celular y un aclaramiento plasmático elevado

BIODISPONIBILIDAD ORAL, PULMONAR Y NASAL

Los péptidos y proteínas presentan una baja biodisponibilidad por vía oral, generalmente inferior al 1%, por lo que en principio no son candidatos idóneos para utilizar esta vía de administración. Ello es debido a su inestabilidad en el

medio fuertemente ácido del estómago, al efecto producido por las peptidasas intestinales, y especialmente a su escasa permeabilidad como consecuencia del tamaño molecular, la carga eléctrica y la elevada polaridad. La mayoría de las proteínas recombinantes se incluyen dentro de la clase III del sistema de clasificación biofarmacéutica, solamente algunas pertenecen a la clase IV y es excepcional que algunas biomoléculas se incluyan en la clase I. Es decir, los productos obtenidos por biotecnología suelen presentar una solubilidad en agua alta o moderada y una permeabilidad intrínseca baja o muy baja (6). Actualmente se están desarrollando diferentes estrategias para mejorar la biodisponibilidad oral de péptidos y proteínas.

La vía pulmonar constituye una alternativa a la vía oral para la administración de péptidos y proteínas destinadas tanto a conseguir una acción local en el sistema respiratorio como para producir efectos sistémicos. El uso de biomoléculas se inició hace más de 70 años cuando se comprobó la absorción parcial de la insulina administrada en forma de aerosol.

Para ejercer un efecto localizado, el fármaco debe alcanzar de forma eficiente la superficie a través del flujo aéreo, penetrando o incluso atravesando la barrera mucosa para alcanzar su lugar de acción. La tecnología de aerosoles ha alcanzado en los últimos años un desarrollo que permite el control de las variables que pueden reducir el rendimiento del proceso.

Los agentes mucolíticos (dornasa- α) y las antiproteasas (inhibidores leucoproteasa, proteínasa- α_1 , etc) son más efectivos cuando se dispersan en las secreciones del flujo aéreo en aquellas zonas en las que se produce una mayor obstrucción. Los antioxidantes y los factores de crecimiento precisan, sin embargo, alcanzar las células epiteliales, mientras que la terapia de transferencia génica precisa no sólo alcanzar el epitelio pulmonar sino también alcanzar las glándulas submucosas o las células progenitoras de epitelio

La mucosa pulmonar constituye una barrera importante para el paso de aquellos fármacos que están destinados a alcanzar el epitelio, acentuada en presencia de procesos inflamatorios o infecciosos.

Diversos factores dependientes del fármaco, como carga de las partículas, solubilidad y tamaño, así como las propiedades biofísicas del mucus, afectan a la capacidad para atravesar esta barrera (7). Así, se ha demostrado la existencia de una relación inversa entre el peso molecular del fármaco y la difusión a través del mucus, que es especialmente manifiesta a partir de 30 kDa. La difusión a través del mucus se ve dificultada por la fijación a al-

Farmacocinética de los medicamentos obtenidos por biotecnología

gunos componentes, como la mucina, ADN, etc. y al efecto de diversos enzimas. Entre los factores que aumentan la capacidad de difusión figuran la superficie efectiva de tensoactivo y el incremento en el tiempo de retención de las partículas.

La vía inhalatoria presenta algunas características ideales para la consecución de efectos sistémicos; así, destaca especialmente la superficie de absorción, aproximadamente de 100 m^2 con pequeño espesor, de 100-200 nm.

Las moléculas pequeñas se absorben por difusión pasiva o transporte mediado por receptores. En el caso de macromoléculas, los péptidos pequeños, con un peso molecular inferior a 40kDa pueden absorberse por transporte paracelular, mientras que para valores superiores participa la transcitosis, mediada, en algunos casos, por receptores de membrana. El proceso puede ser relativamente rápido, con valores de C_{max} de 10-30 minutos para pequeños péptidos solubles, hasta varias horas cuando se trata de grandes proteínas.

La vía nasal ha recibido en los últimos años considerable atención debido a algunas características diferenciales respecto al tracto gastrointestinal y otras mucosas, como la escasa actividad proteolítica, la reducida cobertura mucosa, el pH, que se mantiene próximo a la neutralidad y la ausencia de alimentos o productos de la digestión que pueden reducir la biodisponibilidad.

La vía nasal puede ser también utilizada para la administración de péptidos y proteínas destinadas a ejercer efectos sistémicos. Para moléculas pequeñas, constituidas por 10 aminoácidos, la biodisponibilidad es elevada, alcanzando, en algunos casos el 100%. Sin embargo, para moléculas mayores de 25 aminoácidos se produce un descenso muy acusado de la biodisponibilidad hasta el 1%, o incluso valores inferiores.

Las posibilidades de la vía nasal para la administración de biomoléculas pueden verse aumentadas con la incorporación de agentes viscosizantes, que aumentan su tiempo de contacto con la mucosa, y moléculas bioadhesivas, que incrementan la permeabilidad.

La vía nasal ha sido utilizada por sus ventajas para la administración de hormonas peptídicas (desmopresina, occitocina, calcitonina, etc.), aunque debe asegurarse el cumplimiento por los pacientes. En un avanzado estado de desarrollo se encuentran formulaciones para administración endonasal de glucagón, insulina, hormona de crecimiento, hormona liberadora de hormona de crecimiento, somatostatina, etc. La formulación de insulina ha tenido mayores dificultades debido a su tendencia a la agregación de hexámeros en disolución

acuosa y a su naturaleza hidrofílica. Por ello, para su introducción en clínica ha precisado de la incorporación de promotores de absorción.

La vía nasal parece ofrecer buenas expectativas para la administración de vacunas. Los antígenos administrados por vía intranasal pueden absorberse a través de los nódulos linfáticos cervicales, pasar directamente a la circulación sistémica debido a la alta densidad en la vascularización de la mucosa o ser captados por el tejido linfoide nasal (NALT), rico en células M con capacidad para el transporte vesicular transcelular de partículas y macromoléculas.

ADMINISTRACIÓN PARENTERAL

Debido a las limitaciones de la vía oral, los péptidos y proteínas se administran habitualmente por vía parenteral, preferentemente endovenosa. La mayoría de estas moléculas presenta un rápido aclaramiento, lo que conduce a valores bajos en la semi-vida de eliminación.

Los problemas que surgen con la administración parenteral de macromoléculas que presentan un rápido aclaramiento ha estimulado el desarrollo de diferentes actuaciones dirigidas, en principio, a modificar el perfil farmacocinético y, en consecuencia, facilitar su administración. Ello se ha conseguido mediante cambios estructurales, por conjugación con diversos polímeros, por hiperglicosilación de las proteínas y con el desarrollo de formulaciones parenterales de liberación controlada (8-10).

La conjugación de péptidos y proteínas con diversos polímeros constituye actualmente un área de gran interés especialmente en la terapéutica oncológica a la que se han incorporado proteínas antitumorales, enzimas, citoquinas, etc. La conjugación con polímeros produce cambios significativos en el perfil farmacocinético de las macromoléculas, permitiendo superar algunas de las limitaciones que presentaban para su utilización clínica. El principal cambio es un incremento en la semi-vida de eliminación con un aumento de la captación celular por endocitosis. Una vez en sangre se produce la liberación del conjugado a los compartimentos endosómicos y lisosómicos de la célula con descenso del pH (5,5-6,0). Una vez alcanzado el lisosoma se produce la degradación metabólica por acción de las hidrolasas intracelulares.

La pegilación de proteínas con una o varias cadenas de polietilenglicoles (PEG) es, posiblemente, el mecanismo de conjugación más desarrollado. Los

Farmacocinética de los medicamentos obtenidos por biotecnología

PEG son polímeros lineales o ramificados constituidos por unidades de óxido de etileno (-CH₂-O-CH₂-) que presentan dos grupos hidroxilo terminales, los cuales pueden ser activados químicamente (11). La reacción de pegilación más frecuente implica al grupo -amino de la lisina o grupos amino terminales de las proteínas. Las biomoléculas conjugadas presentan propiedades físico-químicas diferentes de las proteínas originales, como cambios conformacionales, impedimento estérico, capacidad de unión electrostática, valores de pK locales de la lisina, hidrofobicidad punto isoelectrico, etc. Estos cambios pueden quedar reflejados, en principio, por cambios en la actividad detectada mediante ensayos *in vitro* y en la eficacia, establecida utilizando ensayos *in vivo*. La fijación a receptores se reduce progresivamente al aumentar la masa molecular del polímero, lo que produce un descenso de la actividad cuando se utilizan ensayos *in vitro* con tiempos de incubación cortos. Sin embargo, la eficacia de la proteína se incrementa como consecuencia de los siguientes mecanismos:

- a) Retraso en el aclaramiento renal de la proteína que produce un incremento en la semi-vida de eliminación y en el valor del área bajo la curva de niveles séricos. Este último parámetro refleja el "periodo de exposición" y se relaciona, en ocasiones, con la eficacia en modelos pK-pD.
- b) Mayor estabilidad frente a los enzimas responsables de la degradación de péptidos y proteínas, frecuentemente como consecuencia del impedimento estérico.
- c) Menores efectos adversos debido a que el PEG reduce significativamente la inmunogenicidad y antigenicidad de las proteínas.

La pegilación produce importantes cambios en el perfil pK-pD de los péptidos y proteínas utilizados en clínica. Actualmente se dispone de varias proteínas pegiladas, aunque son numerosas las que se encuentran en diferentes fases de desarrollo. La PEG-ADA (adenosin desaminasa) está aprobada para el tratamiento de la deficiencia de ADA en pacientes con inmunodeficiencia combinada grave. Se trata de un conjugado de ADA con múltiples cadenas de PEG de un peso molecular de 5kDa. La consecuencia más inmediata es un cambio en la semi-vida de eliminación del enzima de unos pocos minutos a aproximadamente 24 horas.

La pegilación de interferones también produce cambios significativos en el perfil farmacocinético-farmacodinámico, que pueden suponer un progreso en el

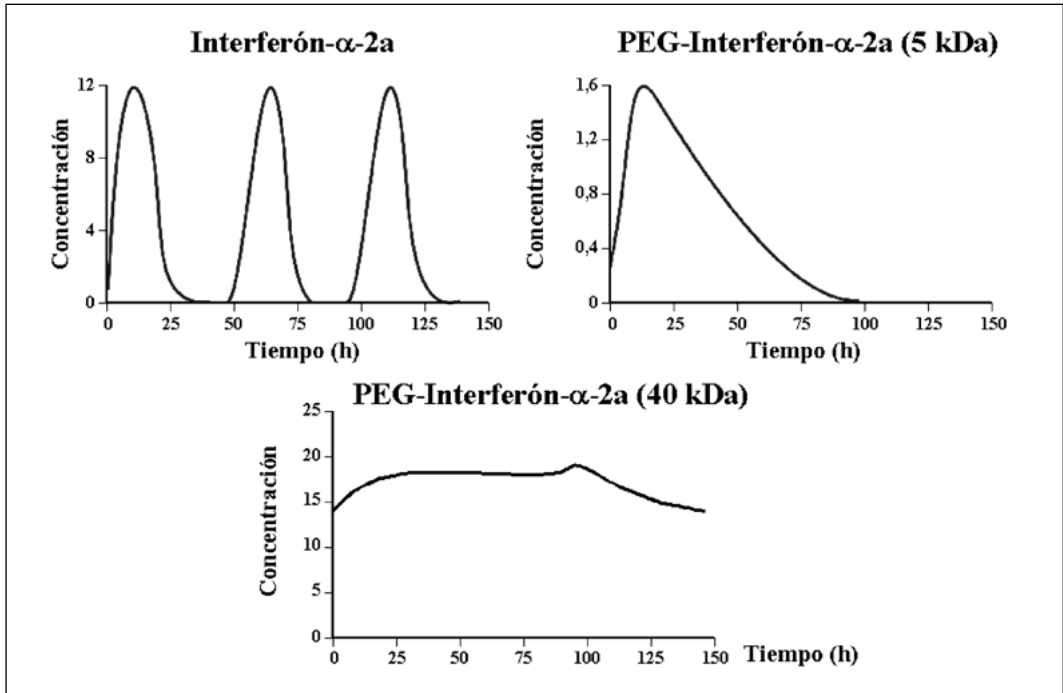


Figura 2:

Farmacocinética de interferón y dos derivados pegilados.

tratamiento de la hepatitis C y otras indicaciones. La Figura 2 muestra el efecto provocado en las concentraciones séricas del interferón α -2a como consecuencia de su conjugación con el PEG. El efecto depende del tamaño del polímero y se ha considerado que dos cadenas ramificadas de 20 kDa proporcionaban un perfil farmacológico idóneo para el desarrollo clínico (12).

Durante los pasados 20 años han sido estudiados numerosos conjugados de proteínas con PEG (citotóxicos, antioxidantes, enzimas, trombolíticos, citoquinas y factores de crecimiento hematopoyético, etc.), aunque solo algunos se encuentran en fase de desarrollo clínico. La conjugación con PEG ha sido aplicada también a oligonucleótidos y lípidos para aumentar su solubilidad, estabilizar las moléculas, incrementar la permeabilidad o disminuir el aclaramiento (13).

Los glicoconjugados son aquellos compuestos resultantes de la unión covalente de una fracción glucídica con otro compuesto, que puede ser protídico o lipídico. La eritropoyetina recombinante es una glicoproteína utilizada desde hace más de 10 años en el tratamiento de la anemia renal. Su excreción renal

Farmacocinética de los medicamentos obtenidos por biotecnología

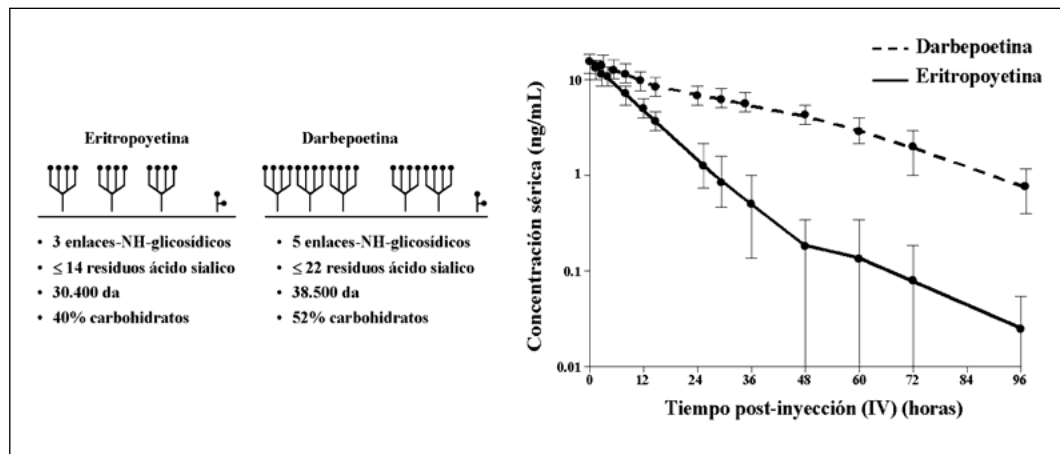


Figura 3: Estructura y farmacocinética de eritropoyetina y Darbeopetina.

es mínima, pero es ampliamente metabolizada en el hígado vía receptores de la galactosa. Los residuos de ácido sialico eliminados en el proceso de biotransformación aseguran la estabilidad de la hormona y su actividad biológica. El metabolito desprovisto de ácido sialico es rápidamente eliminado, siendo la semi-vida de eliminación de la eritropoyetina de 4-8 horas.

Diversos estudios experimentales han demostrado que hay una relación directa entre el contenido de ácido sialico y la semi-vida de eliminación de las glicoproteínas lo que ha sido un estímulo para la búsqueda de nuevas moléculas.

Darbeopetina es un análogo hiperglicosilado de eritropoyetina que presenta distintas propiedades físico-químicas y biológicas. La Figura 3 recoge la estructura de ambas moléculas estimulantes de la eritropoyesis así como la evolución de los niveles séricos obtenidos tras su administración por vía intravenosa. La principal consecuencia del cambio producido en el perfil farmacocinético será de modificación del intervalo posológico, que pasará de 3 a 4 días con la eritropoyetina a 7-14 días con darbeopetina (14).

En los últimos años se han desarrollado numerosas matrices poliméricas biodegradables y biocompatibles que se han incorporado a microcápsulas, microesferas, nanoesferas e implantes para conseguir una liberación prolongada de pequeñas moléculas. Actualmente algunos de estos polímeros se utilizan en el diseño de formulaciones parenterales de medicamentos obtenidos por biotecnología (15). Entre ellos destacan los poli (α -hidroxiácidos) como el ac.po-

liláctico y el ac.polihidroxibutírico y co-polímeros, especialmente el ac.láctico-ac.glicólico. Estos productos no son inmunogénicos y permiten, por sus propiedades fisico-químicas, controlar la velocidad de liberación de péptidos y proteínas.

DISTRIBUCIÓN TISULAR Y CELULAR

La incorporación de los fármacos a órganos y tejidos corporales es un proceso cinético complejo con una gran repercusión en la respuesta terapéutica. La velocidad de distribución puede estar limitada por la perfusión sanguínea o por la permeabilidad, lo que condiciona el acceso y permanencia en su lugar de acción. La fracción de la dosis de un fármaco que alcanza finalmente los tejidos, o incluso los espacios intracelulares, depende de numerosos factores, muchos de ellos dependientes de sus propiedades físico-químicas. Por ello, las pequeñas moléculas con un óptimo coeficiente de reparto acceden con facilidad a los compartimentos periféricos y presentan valores elevados del volumen aparente de distribución, a diferencia de los péptidos y proteínas que presentan valores relativamente pequeños. El elevado peso molecular que presentan algunas biomoléculas constituye un factor limitante de la distribución tisular. Sin embargo, en algunos casos es posible alcanzar el lugar de acción en concentración suficiente para producir una respuesta terapéutica adecuada.

La especificidad en la localización del lugar de acción de muchos fármacos obtenidos por biotecnología obliga a mayores exigencias en su perfil de distribución. El desarrollo de los factores de crecimiento y genes recombinantes para promover la angiogenesis en el infarto de miocardio es un buen ejemplo de la importancia de esta característica farmacocinética (16). La administración endovenosa del factor de crecimiento de fibroblastos (FCF) no produce respuesta angiogénica en modelos experimentales de isquemia miocárdica. Por ello ha sido necesario recurrir a la administración directa en el miocárdio, en el saco pericárdico o en el espacio perivascular para alcanzar la respuesta terapéutica deseada. La eficacia de estas alternativas fue confirmada y evaluada por medida del flujo y función miocárdica, aunque se hace preciso aún aplicar nuevas técnicas, como la tomografía de emisión de positrones o la resonancia magnética, para establecer, de forma más precisa, la extensión de la respuesta angiogénica.

Farmacocinética de los medicamentos obtenidos por biotecnología

Una situación más problemática se plantea cuando se precisa el acceso intracelular de genes y oligonucleótidos antisentido cuya diana está localizada en el compartimento citosol/núcleo (17). Se han propuestos diferentes mecanismos para explicar la internalización de estas moléculas, como la endocitosis en fase fluida y la endocitosis mediada por receptores, ya que no hay evidencia de paso por difusión pasiva, ni siquiera recurriendo a biomoléculas neutras. En el momento actual la escasa capacidad de internalización y la inadecuada compartimentalización intracelular constituyen un problema básico en el progreso de la terapéutica antisentido. Recientemente se han desarrollado diferentes métodos físicos (microinyección, permeabilización, electroporización, etc.), que mejoran la captación celular de los oligonucleótidos en relación a los métodos convencionales de conjugación o aquéllos que recurren a transportadores (liposomas, lipoplexes, polimeros, etc.) También puede recurrirse a la administración de estos medicamentos en el tejido diana, como el fomivirsen, administrado por inyección intravítrea directa en el tratamiento de la retinitis por citomegalovirus.

La selectividad en la distribución permite mejorar la relación beneficio-riesgo de numerosos medicamentos, lo que puede incrementar su potencial terapéutico. Esta última consideración ha vuelto a poner de actualidad el concepto de "bala mágica", idealización introducida por Paul Erlich hace casi un siglo y que gracias a la biotecnología puede convertirse en una realidad (18).

Los sistemas de transporte coloidal, como liposomas, nanopartículas, microesferas, etc., han sido utilizados para prolongar el tiempo de circulación de numerosas moléculas, protegerlas de la degradación y dirigir las a tejidos diana. Estos sistemas tienen dificultades para acceder a los tejidos sanos, debido, entre otros factores a su tamaño, especialmente si supera 20 nm, considerado el tamaño crítico para la mayoría de los tejidos.

El desarrollo de los anticuerpos monoclonales representa una de las técnicas más poderosas para dirigir fármacos, tóxicos, isótopos y enzimas a su lugar de acción. El gemtuzumab es un anticuerpo recombinante humanizado dirigido frente al antígeno CD33 y unido a la calicheamicina, un potente antibiótico tumoral. Se trata del primer fármaco vectorizado introducido en quimioterapia y ha sido aprobado por la FDA a finales del año 2000 en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda en casos de recidivas. Gemtuzumab se une al antígeno CD33, expresado en el 80-90% de los pacientes con leucemia mieloide aguda, penetrando en la célula y liberando el agente citotóxico que provoca la muerte celular.

El potencial terapéutico de estos agentes se ha incrementado desde la introducción de la tecnología del hibridoma en los años 70 y actualmente se dispone de fármacos inhibidores de la reactividad aloninmune y autoinmune, anti-tumorales, antiplaquetarios antivirales etc. En España se han introducido recientemente transtuzumab, infliximab y rituzimab, aunque otros muchos se encuentran en diferentes fases de desarrollo, alcanzando casi un 25% de todos los productos obtenidos por biotecnología (19).

A pesar de las ventajas potenciales que presentan al fijarse selectivamente a las células diana, su incorporación a la terapéutica presentó mayores dificultades de las inicialmente previstas. Entre ellas figuran la capacidad limitada de penetración tisular que depende, entre otros factores, de las dimensiones del anticuerpo. Los anticuerpos convencionales son proteínas de elevado peso molecular que presentan una baja capacidad de acceso a tejidos, especialmente aquéllos que tienen escasa vascularización. En terapéutica oncológica con anticuerpos monoclonales, la relación de concentraciones entre el tumor y la circulación sistémica se incrementa lentamente durante varios días debido a la eliminación del anticuerpo y, en menor grado, a la captación tumoral (20).

CONCLUSIÓN

La efectividad clínica de los medicamentos obtenidos por biotecnología está condicionada por su perfil farmacocinético. Algunas relaciones pK-pD confirman que los parámetros farmacocinéticos son buenos predictores de la respuesta terapéutica.

Por su estructura química, estas biomoléculas presentan algunas limitaciones para su utilización clínica, especialmente una biodisponibilidad oral baja y un rápido aclaramiento plasmático. Por ello se han realizado importantes esfuerzos para mejorar sus características farmacocinéticas, entre las que debe destacarse la importante contribución de la tecnología farmacéutica mediante el diseño de diferentes formulaciones que mejoran sensiblemente el perfil farmacocinético. El profesor Robert S. Langer, del Massachusetts Institute of Technology, uno de los investigadores de mayor prestigio en el diseño de formas de liberación de medicamentos, señalaba recientemente: *I'm very excited by the fact that the first protein delivery systems are coming on the market and that a lot of a protein delivery systems are moving into the clinic...*

Farmacocinética de los medicamentos obtenidos por biotecnología

De forma progresiva, se van incorporando nuevas biomoléculas al arsenal terapéutico indicadas especialmente en el diagnóstico y tratamiento de patologías graves. Una progresión similar experimenta la formulación farmacéutica que ha culminado recientemente con la presentación de un microchip aplicado a la liberación controlada de medicamentos, incluidos péptidos y proteínas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Steinberg FM, Raso J: Biotech Pharmaceuticals and Biotherapy: An overview. *J Pharm Pharmaceut Sci* 1 (2): 48-59, 1998.
2. Smith DA, Jones BC: Design of drugs involving the concepts and theories of drugs metabolism and pharmacokinetics. *Medicinal Research Reviews* 16 (3): 243-266, 1996.
3. Panchagnula R, Sunil Thomas N: Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. *Inter. J Pharmaceutics* 21: 131-150, 2000.
4. Toon S: The relevance of pharmacokinetics in the development of biotechnology products. *Eur J of Drug Metabolism an pharmacokinetics* 21: 93-103, 1993.
5. Steven M Dinh: Ed. Intelligent materials of controlled release ACS Symposium Series 728. American Chemical Society. Washington DC, 1999.
6. Norris DA, Puri Narneet, Sinko PJ: The effect of physical barriers and properties on the oral absorption of particulates. *Adv Drug Delivery Review* 34: 135-154, 1998.
7. Suárez S, Hickey JA: Drug properties affecting aerosol behavior. *Respiratory Care* 45: 652-666, 2000.
8. Burke PA, Putney SD: Improving protein therapeutics with sustained-release formulations. *Nat Biotchnol* 16 (2): 153-157, 1998.
9. Bartus RT, Tracy MA, Emerich DF: Sustained delivery of proteins for novel therapeutic products. *Science* 281: 1161-1162, 1998.
10. Langer R: Drug delivery and targeting. *Nature* 392: 5-10, 1998.
11. Milton, H: Ed. Poly (ethylenglycol) Chemistry and Biological Applications. American Chemical Society. Washington DC, 1997.
12. Charles S, Harris J Milton: Improving hepatitis C. *Therapy Modern drug discovery* 5: 59-67, 2000.
13. Mehvar R: Modulation of the pharmacokintics and pharmacodynamics of protein by polyethylene glycol conjugation. *J Pharm Pharmaceutic Sci* 3 (1): 125-136, 2000.
14. Macdongall IC: Novel erythropoiesis stimulating factor. *Seminars in Nephrology* 20: 375-381, 2000.
15. Reddy Rajender K: Controlled-release, Pegylation, Liposomal formulations: new mechanisms in the delivery of injectable drugs. *Annals of Pharmacotherapy* 34: 915-923, 2000.

16. Kornowski R, Fuchs S, Martín L: Delivery strategies to achieve therapeutic myocardial angiogenesis. *Circulation* 101: 454-458, 2000.
17. Prankerd RJ, Benson Haerther AE: Optimisation of Drug Delivery 12. Delivery of gene therapy. *Australian J of Hos Pharm* 29: 149-154, 1999.
18. Francis, GE: Ed. *Drug Targeting Strategies, Principles and applications*. Humana Press Totowa. New Jersey, 2000.
19. Alpaugh K, Von Mehern M: Monoclonal antibodies in cancer treatment. A Review of Recent Progress *Biodrugs* 12: 209-236, 1999.
20. Reilly RM, Sandhu J: Problems of delivery of monoclonal antibodies. *Pharmaceutical and pharmacokinetics solutions*. *Clin Pharmacokinetics* 28 (2): 126-142, 1995.