

## 6. Nanocristales

RAMÓN MARTÍNEZ PACHECO

*Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad  
de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela*

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad, se cifra en más del 40% la proporción de nuevos fármacos que se caracterizan por presentar una reducida hidrosolubilidad (1). Generalmente, se trata de fármacos clase II en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (2) para los que la disolución constituye la etapa limitante de su absorción.

La formulación de este tipo de fármacos plantea numerosos e importantes problemas derivados del hecho de que su biodisponibilidad oral es incompleta, variable y dependiente de factores como la ingestión concomitante de alimentos (3). Tampoco el desarrollo de formas parenterales está exenta de problemas, a consecuencia del volumen de vehículo necesario para incorporar sus dosis terapéuticas (4, 5).

Para obviar estos problemas se han propuesto diversas aproximaciones tecnológicas entre las que cabe destacar la obtención de sales del fármaco, la utilización de disolventes no acuosos o de cosolventes, la adición de agentes solubilizantes, la formación de complejos de inclusión o la incorporación del fármaco a emulsiones, microemulsiones, liposomas o dispersiones sólidas (6-16).

Aunque, para algunos fármacos, estas aproximaciones han resultado eficaces, cuentan con importantes limitaciones referidas a la necesidad de que el fármaco reúna ciertas características como contener en su molécula grupos ionizables, ser soluble en determinados disolventes o mezclas de disolventes, contar con un tamaño y una forma molecular adecuadas o administrarse a dosis redu-

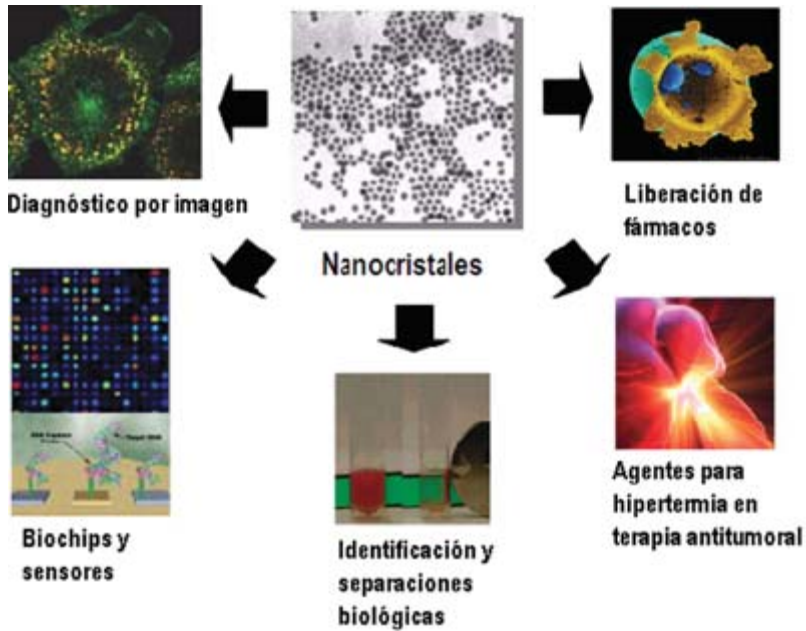


FIGURA 6.1. *Aplicaciones biomédicas de los nanocrisales.*

cidas. Además, en la incorporación a las formas de dosificación de disolventes no acuosos o de determinados aditivos, puede situarse el origen de la aparición de algunos efectos indeseables o de toxicidad (17).

En principio, una reducción del tamaño de partícula del fármaco, a través de cualquiera de los procedimientos disponibles, carece de la mayor parte de las limitaciones señaladas. Así, la micronización ha permitido incrementar la biodisponibilidad oral de un buen número de fármacos poco hidrosolubles, al reducir su tamaño medio de partícula hasta valores comprendidos entre 1 y 20 micras (18, 19). Sin embargo, para aquellos fármacos de hidrosolubilidad especialmente reducida, el incremento que produce la micronización sobre su velocidad de disolución, derivado del aumento de su superficie específica, no es suficiente para que su biodisponibilidad resulte completa.

En esta situación, se hace necesario desarrollar nuevas aproximaciones tecnológicas, en especial aquéllas que sean aplicables a cualquier fármaco, que permitan obviar los numerosos problemas descritos en párrafos anteriores.

Con esta finalidad, en la década de los noventa, se introdujeron los primeros procedimientos útiles para intensificar los efectos comentados de la reduc-

ción del tamaño de partícula; es decir, procedimientos que permiten la obtención de partículas cristalinas submicrométricas, conocidas como nanocristales, de tamaño comprendido entre 1 y 1000 nanómetros (y, más frecuentemente, entre 100 y 400 nm), habitualmente en forma de nanosuspensión.

Las importantes reducciones en el tamaño de partícula que provocan estos procesos de nanonización, se acompañan de incrementos muy acusados sobre su velocidad de disolución, que no sólo se explican por los espectaculares aumentos de la superficie específica que experimentan los fármacos, sino a través de otros mecanismos que se analizarán seguidamente; no obstante, conviene señalar que, al margen de su efecto sobre la disolución de fármacos, los nanocristales han encontrado otras importantes aplicaciones biomédicas, tal como se recoge en la Figura 6.1.

## MECANISMOS DE ACELERACIÓN DEL PROCESO DE DISOLUCIÓN EN NANOCRISTALES

Para llevar a cabo el análisis de estos mecanismos, resulta útil acudir a la ecuación de Nerst y Brunner (20), expresión de la teoría de la capa de difusión, que adopta la forma:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{D \cdot S}{h \cdot V} (C_s - C)$$

en la que  $dC/dt$  representa la velocidad de disolución del sólido,  $D$  el coeficiente de difusión del fármaco en el medio de disolución de volumen  $V$ ,  $S$  la superficie del sólido,  $C_s$  el coeficiente de solubilidad del sólido y  $C$  la concentración de sólido disuelto a tiempo  $t$ .

Así, la ecuación de Nerst-Brunner predice incrementos proporcionales en la velocidad de disolución como consecuencia de la ampliación, de hasta 50 veces, de la superficie del sólido, ( $S$ ) que supone la reducción del tamaño de sus partículas hasta valores nanométricos. También permite predecir incrementos adicionales en la velocidad de disolución del sólido derivados de una reducción del espesor de la capa de difusión ( $h$ ) que lleva aparejada la reducción de su tamaño de partícula y que pueden cuantificarse a través de la ecuación de Prandtl (21).

Además, toda reducción del tamaño de partícula de un sólido por debajo de 1-2 micras, da lugar a incrementos apreciables de su coeficiente de solubilidad ( $C_s$ ). La ecuación de Freundlich-Ostwald (22) establece la existencia de una relación de

tipo exponencial entre ambas variables, que puede suponer un aumento en el valor del coeficiente de solubilidad del sólido en el medio de disolución de hasta un 50%.

## PROCEDIMIENTOS DE OBTENCIÓN DE NANOCRISTALES

Dentro del ámbito, más amplio, de los procedimientos de ingeniería de partículas hoy disponibles, que se han esquematizado en la Figura 6.2, son tres los métodos a los que es posible acudir para la producción de nanocristales. Uno de ellos, la precipitación controlada, es un método de agregación (*bottom up* en terminología anglosajona) que parte de una dispersión molecular del sólido y se basa en el equilibrio entre fases. Los otros dos, pulverización húmeda en molinos de perlas y homogeneización a alta presión, son métodos de fragmentación (es decir, *top down*) basados en la división mecánica de las partículas del sólido. Antes de pasar a describir las principales características, ventajas y limitaciones de cada uno de los procedimientos indicados, conviene llamar la atención acerca de la rápida evolución que está experimentando este campo en los últimos años, por lo que, de forma permanente, se están desarrollando nuevas e interesantes aproximaciones, en especial aquéllas que implican el uso de fluidos supercríticos.

### Precipitación controlada

Aunque se trata de un procedimiento basado en un principio clásico, a partir de la década de los noventa, se desarrollaron y patentaron una serie de variantes que posibilitan la obtención de precipitados formados por partículas submicrométricas que, en ciertos casos, suponen la incorporación a los sistemas de agentes estabilizantes o la utilización de fluidos supercríticos y que han dado lugar a productos/técnicas protegidas como Hydrosol<sup>®</sup> de la actual Novartis (23) y Nanomorph<sup>®</sup> de Soliqs-Abbott (24, 25).

En términos generales, el procedimiento consiste en adicionar una disolución del fármaco en un disolvente orgánico sobre una fase acuosa miscible con la orgánica. Esta adición provoca una repentina sobresaturación, a la que sigue el proceso de nucleación.

Las principales variables sobre las que se puede actuar para modular las características de los precipitados son la temperatura, la intensidad de agitación y la concentración de fármaco disuelto en la fase orgánica. Así, una reducción de la temperatura normalmente da lugar a un menor coeficiente de solubilidad del sólido y facilita que se alcancen la supersaturación y la nucleación, posibilitan-

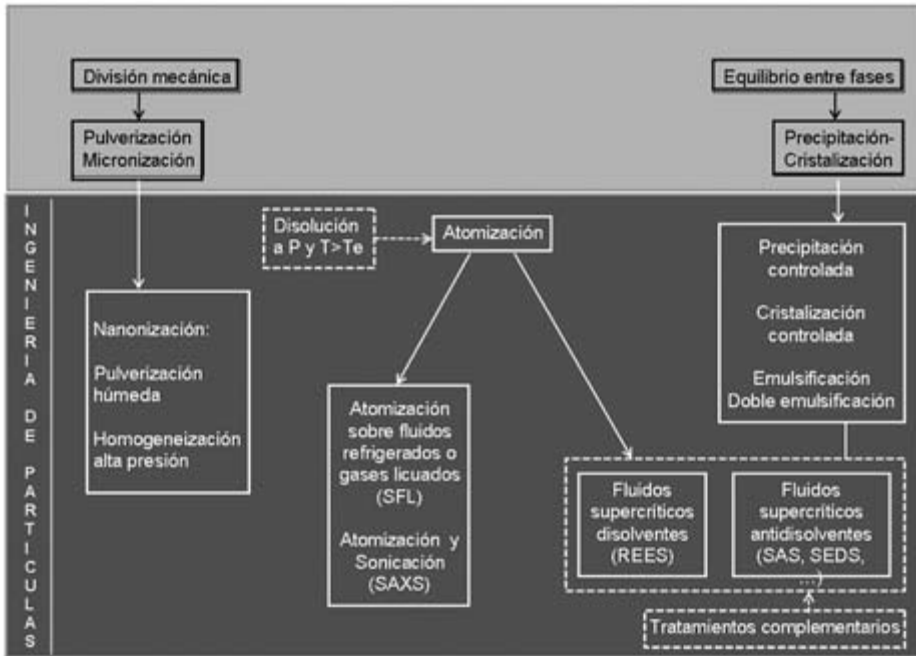


FIGURA 6.2. Procedimientos de ingeniería de partículas aplicados en I+D de medicamentos.

do la obtención de partículas de menor tamaño. De manera similar, una reducida concentración de sólido disminuye la probabilidad de que tenga lugar la agregación de las partículas formadas y permite una sobresaturación más uniforme, con efectos reductores sobre el tamaño de partícula del precipitado (26). Finalmente, todo incremento en la intensidad de agitación favorece, también, la formación de partículas de menor tamaño al mejorar la homogeneidad de la sobresaturación e incrementar el número de núcleos (27).

Aunque las técnicas de precipitación son muy simples, no requieren el uso de equipos sofisticados y no someten a los productos a tratamientos enérgicos que pueden comprometer su estabilidad, su uso actual está bastante restringido como consecuencia de ciertas limitaciones entre las que la más importante se refiere a la necesidad de evitar el crecimiento cristalino y -en el caso de que las partículas presenten cierta estructura amorfa que les confiere una mayor velocidad de disolución- la necesidad de mantener esta forma metaestable hasta el momento de su administración (28). Una limitación adicional es que el fármaco debe ser soluble en un disolvente orgánico miscible con el agua, disolvente orgánico que deberá eliminarse del producto acabado.

## **Pulverización húmeda. Molinos de perlas**

Este procedimiento, desarrollado y patentado inicialmente por Liversidge y col. en 1992 (29), fue comercializado posteriormente por Elan Drug Delivery bajo la denominación registrada Nanocrystal®.

Los equipos utilizados para la obtención de nanocristales, los molinos de perlas, tienen una estructura muy similar a los clásicos molinos de bolas. En los molinos de perlas, la cámara de pulverización contiene pequeñas partículas esféricas (perlas) de unos tres milímetros de diámetro, que constituyen el elemento activo en el proceso de pulverización. Las perlas pueden estar formadas por diferentes materiales, entre los cuales óxido de zirconio, vidrio y poliestireno fuertemente reticulado son los más frecuentemente utilizados. La reducción del tamaño de las partículas del sólido tiene lugar a través de un doble mecanismo: creación de fuerzas de cizalla de alta energía asociadas al giro del rotor y el impacto de las perlas sobre las partículas del sólido.

La cámara de pulverización se carga normalmente con el fármaco a pulverizar, un agente estabilizante y agua. No obstante, pueden incorporarse otras sustancias auxiliares como azúcares, tampones o sales, con objeto de facilitar el proceso o la aplicación de tratamientos sobre el producto nanonizado (30).

El agente estabilizante es un elemento clave en el proceso ya que debe favorecer la reducción del tamaño de partícula del sólido y dotar a éste de una adecuada estabilidad física. Para que resulte eficaz debe provocar la humectación de la superficie de los cristales del sólido y proporcionarles una barrera de tipo iónico o de tipo estérico. En ausencia de un agente estabilizante adecuado, la elevada energía superficial de las partículas nanométricas provocará su agregación (31). Aunque, hasta el momento, la selección del agente estabilizante es eminentemente empírica, algunos estudios recientes han puesto de manifiesto que la capacidad de estabilización depende de propiedades como la energía superficial o la presencia de ciertos grupos funcionales en su molécula. Como agentes estabilizantes se utilizan productos de empleo tan frecuente en formulación como povidonas, polisorbatos, plurónicos o derivados celulósicos (32).

El producto resultante de la aplicación de este proceso es una nanosuspensión de partículas cristalinas, de tamaño habitualmente comprendido entre 100 y 500 nm, recubiertas de una fina película de agente estabilizante y cuya forma depende mayoritariamente de la morfología de los cristales de la materia prima y de sus planos de fractura (30).

En los molinos de perlas, los riesgos de provocar transiciones polimórficas son pequeños, ya que el proceso se desarrolla a temperatura controlada y la presencia de la fase acuosa permite disipar eficazmente el calor generado (33).

La estabilidad física de las nanosuspensiones es elevada, en especial en el caso de fármacos de hidrosolubilidad más reducida, en los que la aparición del clásico efecto Ostwald de envejecimiento (*ripening*) es menos probable (34).

Un aspecto de indudable interés práctico es la posibilidad de eliminación de la fase acuosa de las nanosuspensiones por liofilización, atomización o cualquier otro procedimiento adecuado, para originar un producto seco que se incorpora con facilidad a formas de dosificación sólidas, convencionales o de liberación modificada lo que, adicionalmente, permite incrementar su estabilidad física, alejando el peligro de aglomeración o de crecimiento cristalino (30). Además, los productos liofilizados, previa esterilización y adecuada redispersión, pueden emplearse como formas parenterales.

Una de las escasas limitaciones de esta modalidad de producción de nanocristales se deriva de la larga duración del proceso, que puede extenderse de horas hasta días, y se refiere a la posibilidad de contaminación de los productos como consecuencia de la erosión de las perlas. Aunque se dispone de datos discrepantes al respecto, hoy parece claro que la importancia de esta contaminación está determinada por la naturaleza de los materiales de construcción de las perlas y por la dureza de los sólidos a procesar (35).

### **Homogeneización a alta presión. Homogeneizadores de pistón**

Aunque inicialmente se desarrollaron dos variantes de la homogeneización a alta presión para la obtención de nanocristales, una de ellas, la microfluidificación (36), ha sido prácticamente abandonada para este fin como consecuencia del elevado número de ciclos de homogeneización que es necesario aplicar para obtener el tamaño de partícula deseado y de la excesiva proporción de partículas micrométricas presentes en el producto final. Por ello, hoy la atención se centra en el empleo de homogeneizadores de pistón, técnica introducida y desarrollada por Muller (37) en los años centrales de la década de los noventa, registrada como DissoCube® por la firma SkyePharma, y aplicable para la obtención de nanocristales en medio acuoso. En los primeros años del presente siglo, se amplió su ámbito de aplicación a disolventes no acuosos y a mezclas de agua con disolventes miscibles, tecnología registrada como Nanopure® por la empresa alemana PharmaSol (38).

En los procesos de homogeneización en medio acuoso, una suspensión de fármaco micronizado en una disolución acuosa de un agente estabilizante, se hace pasar a presión -aplicada mediante un pistón- a través de la ranura, muy estrecha (de unas 25 micras), del homogeneizador. Ello produce una fuerte reducción de la presión estática, que cae incluso por debajo de la presión de vapor del agua a esa temperatura, y lleva a la formación y crecimiento de burbujas que «implotan» cuando la suspensión abandona la ranura del homogeneizador, por lo que es la cavitación el mecanismo predominante en la reducción del tamaño de las partículas en suspensión (39-41).

Las características del producto obtenido en los homogeneizadores de pistón pueden modularse ajustando la presión y la temperatura de trabajo y el número de ciclos de homogeneización al que se somete el producto.

Los efectos de la presión son claros: cuanto mayor sea ésta, mayor será la velocidad que alcanza la suspensión en la ranura del homogeneizador, mayor será la caída de presión estática en ella, mayor será el número de burbujas formadas y mayor será la energía disponible para reducir el tamaño de las partículas. En este sentido, cabe señalar que la presión aplicada para la homogeneización raramente supera los 1500 bar.

La evolución de los valores de presión de vapor del agua con la temperatura, convierte en obvios los efectos de esta variable. Por ello, en los homogeneizadores de pistón se disponen intercambiadores de calor que permiten una regulación estricta de la temperatura de trabajo lo que, adicionalmente, permite evitar la posible degradación de productos termolábiles.

En lo que se refiere al número de ciclos de homogeneización, hay que señalar que normalmente es necesario aplicar un considerable número de ciclos, incluso superior a 10 ó 20, para conseguir nanocristales del tamaño requerido. Este hecho tiene su origen en que, a consecuencia de la cortísima duración del paso del producto a través de la ranura del homogeneizador (milisegundos), no todas las partículas del producto se fragmentarán, por lo que resulta imprescindible la repetición del ciclo. También, la aplicación de un elevado número de ciclos de homogeneización puede justificarse por la progresiva homogeneidad en el tamaño de los nanocristales que se consigue a través de su reiteración (42).

Las características de las nanosuspensiones obtenidas en los homogeneizadores de pistón, en cuanto a tamaño y forma de los nanocristales, distribución del agente estabilizante y estabilidad física, son muy similares a las descritas para la técnica Nanocrystal® en párrafos anteriores. Sin embargo, los riesgos de contaminación de los productos por erosión, resultan claramente menores en los procesos de homogeneización (43). Finalmente, las elevadas presiones de tra-

bajo en estos equipos pueden inducir transiciones polimórficas y, con ellas, la presencia en los nanocristales de apreciables fracciones amorfas cuyo carácter metaestable puede reducir la estabilidad física de las nanosuspensiones (44).

En la técnica Nanopure<sup>®</sup>, el fármaco y el agente estabilizante se dispersan en un disolvente no acuoso (como polietilenglicoles de bajo peso molecular) o en una mezcla de agua (en proporciones reducidas) con un disolvente acuoso miscible (etanol, glicerina o propilenglicol) y la dispersión se hace pasar a través de un homogeneizador de pistón.

Aunque pueda resultar sorprendente, la eficacia en la reducción del tamaño de partícula del fármaco no se reduce al bajar la temperatura de trabajo hasta, incluso, valores de -20°C. Dada la reducida presión de vapor de algunos de los disolventes no acuosos indicados, parece claro que la cavitación clásica (descrita en párrafos anteriores) no es el principal mecanismo de formación de nanocristales. Este hecho abre importantes perspectivas para la aplicación de esta modalidad de homogeneización a productos termolábiles como la azodicarboxamida, que se degrada por homogeneización en medio acuoso (45).

### **Procedimientos combinados**

Como se indicó previamente, uno de los principales problemas que plantea el uso de los métodos de precipitación para la preparación de nanocristales es el relativo al crecimiento cristalino. Partiendo de este hecho, la compañía Baxter introdujo recientemente la tecnología Nanoedge<sup>®</sup> en la que se combinan una primera etapa de precipitación con otra posterior de alta aportación energética (como sonicación u homogeneización a alta presión) que permite estabilizar y, según reclama la correspondiente patente, recrystalizar las fracciones amorfas presentes en los nanocristales obtenidos por precipitación (46).

Quizá, las principales limitaciones de este procedimiento, que resulta especialmente útil para fármacos de elevada temperatura de fusión y de marcada lipofilia, sean las referidas a la necesidad de añadir una nueva etapa al proceso de obtención de nanocristales y a las dificultades que encierra la eliminación del o de los disolventes utilizados en la etapa de precipitación.

Recientemente, Moschwitzer y Muller (47) con el fin de reducir el número de ciclos de homogeneización y obtener nanocristales de tamaño especialmente reducido y homogéneo, han propuesto la aplicación de una etapa previa de atomización, que en opinión de los autores, permite en un solo ciclo de homogeneización a alta presión alcanzar los objetivos perseguidos.

## MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DE NANOCRISTALES

### Tamaño y distribución de tamaños de partícula

El tamaño habitualmente requerido para los nanocrisales determina que el procedimiento de elección para su medida sea la espectroscopía de correlación fotónica que, junto con el diámetro medio de partícula, suministra una aproximación a la distribución de tamaños a través del índice de polidispersión.

Sin embargo, es sabido que el límite superior de aplicación de esta técnica de análisis granulométrico se sitúa alrededor de 1 micra, por lo que resulta recomendable complementar sus resultados con datos procedentes de otras técnicas aplicables a partículas de mayor tamaño (p. ej. método Coulter), que permitan cuantificar la presencia, en los productos nanonizados, de partículas de tamaño micrométrico, en especial si el producto se destina a la administración endovenosa, por los problemas que puede causar por bloqueo de capilares sanguíneos (48).

### Forma de las partículas

La microscopía electrónica de transmisión posibilita el estudio de la forma de las partículas en nanosuspensión, en tanto que la modalidad de barrido permite su observación en estado seco. Además, esta última técnica facilita la detección de aglomerados de nanocrisales.

### Potencial electrocinético

El interés de este parámetro radica en que la tendencia a la aglomeración de los nanocrisales puede reducirse por repulsión eléctrica o estérica (49).

Jacobs y col. (50) han establecido valores mínimos de potencial electrocinético de -30 mV para nanosuspensiones de tarazepida estabilizadas electrostáticamente y de -20 mV si la estabilización es estérica.

### Cristalinidad

Aunque numerosos fármacos conservan su cristalinidad después de reducir el tamaño de sus partículas al intervalo nanométrico, en algunos casos en los nanocrisales se encuentra fármaco con estructura amorfa (51), aspecto fácilmente caracterizable con datos procedentes de difracción de rayos X y de calorimetría diferencial de barrido.

## **Propiedades superficiales**

Características de los nanocristales como su hidrofobicidad superficial o su interacción con proteínas, que pueden condicionar su actuación in vivo, pueden estudiarse a través de técnicas específicas como la cromatografía de interacción hidrofóbica (52).

## **Estabilidad**

Como ya se ha indicado, uno de los principales problemas de los nanocristales en suspensión es la tendencia que muestran a la aglomeración y al crecimiento cristalino a través del efecto Ostwald de envejecimiento, por lo que resulta imprescindible un estricto seguimiento de su tamaño, utilizando las técnicas ya descritas, hasta el momento de su administración (53). Para minimizar los efectos de estos mecanismos de inestabilidad física, resulta crucial la adecuada selección del agente estabilizante, tanto en cuanto a su naturaleza como en cuanto a la proporción incorporada, para crear una barrera eficaz de tipo electrostático (estabilizantes iónicos) o de tipo estérico (estabilizantes no iónicos) (54).

## **Aplicaciones farmacéuticas de los nanocristales**

Las propiedades de los nanocristales, tanto en forma de nanosuspensión como en estado seco, resultan muy interesantes para su incorporación a diversas formas de dosificación, no sólo por los importantes incrementos en la velocidad de disolución de fármacos poco hidrosolubles, anticipables por su reducido tamaño de partícula. En los siguientes párrafos, se describen algunas de las aplicaciones más relevantes de los nanocristales, derivadas de su incorporación a formas de dosificación de administración oral, parenteral, pulmonar y ocular.

### **Administración oral**

De la observación de las Tablas 6.1 y 6.2 se deduce que la administración oral de nanocristales (obtenidos en molinos de perlas o en homogeneizadores de alta presión), tanto en forma de nanosuspensión como incorporados a formas sólidas, ha permitido alcanzar importantes objetivos. Así, incrementos espectaculares en la biodisponibilidad de algunos fármacos con respecto a la obtenida con suspensiones convencionales o con formulaciones comerciales, notables aceleraciones en la velocidad de absorción y, en algunos casos, una mayor independencia de la biodisponibilidad oral respecto de la ingestión concomitante de alimentos.

Por otra parte, la notable superficie específica de los nanocristales es responsable de su marcada adhesividad (55, 56). Este comportamiento, que sin duda constituye un problema desde un punto de vista tecnológico, puede conducir a aumentos adicionales en la biodisponibilidad oral de algunos fármacos, derivados de la adhesión de los nanocristales a la pared intestinal y, consecuentemente, de la disolución del fármaco en su lugar de absorción (57). Esta capacidad adhesiva de los nanocristales a la pared intestinal resulta aún más importante en el caso de fármacos utilizados en el tratamiento de patologías que se acompañan de procesos diarreicos, como se ha demostrado para el antibiótico bu-parvacuona utilizado en el tratamiento de la criptosporidiosis (58).

Para algunos fármacos como ciclosporina A, los pobres resultados obtenidos tras su administración en forma de nanocristales, se han atribuido a una im-

TABLA 6.1. *Resultados obtenidos en la evaluación biofarmacéutica de formas de dosificación conteniendo nanocristales obtenidos por pulverización húmeda en molino de perlas.*

Fármaco	Tamaño medio (nm)	Estabilizante	Resultados
HO-221	453	Monolaurato de poliglicerina	Aumento del 50-80% en biodisponibilidad en perros respecto del producto micronizado o sin pulverizar
Danazol	169	Polivinilpirrolidona	Incremento de 20 veces en la biodisponibilidad en perros respecto de una suspensión comercial
Danazol	169	Polivinilpirrolidona	Reducción de 6 veces sobre los efectos de los alimentos en la biodisponibilidad respecto de un producto comercial
Naproxeno	270	Pluronic F68	Aumento en la velocidad de absorción respecto del producto micronizado. Reducción de irritación gástrica
Cilostazol	220	Hidroxipropilcelulosa y docusato sódico	Aumento de 5 veces en la biodisponibilidad respecto del producto micronizado o del producto tratado en molino de martillos
Carbendazim	280	—	Reducción a la mitad de la dosis terapéutica
Antiviral 301029	280	Poloxamer 407	Aumento de 4 veces en biodisponibilidad respecto de suspensión micronizada. Aumento en velocidad de absorción

NANOCRISTALES

Tabla 6.2. Resultados obtenidos en la evaluación biofarmacéutica de formas de dosificación orales conteniendo nanocristales obtenidos por homogeneización a alta presión.

Fármaco	Tamaño medio nanocristales (nm)	Estabilizante	Resultados	Ref.
Ibuprofeno	< 100	Tween 80 y Povidona K25	Importantes aumentos de velocidad de disolución respecto del producto micronizado	65
Nifedipina	300	Methocel E15	Aumento en velocidad de disolución respecto del producto no pulverizado. Evidencias de incremento en solubilidad	66
Ucb-35440-3	182	Methocel E15	Aumento de 4 veces en biodisponibilidad respecto de suspensión. Biodisponibilidad reducida por alimentos	67
Anfotericina B	528	Tween 80 y Pluronic F68	Demostración de actividad antiparasitaria frente a inactividad de forma micronizada	68

portante agregación de los nanocristales a nivel del tracto gastrointestinal (59), aspecto sobre el que, una vez más, el agente estabilizante puede jugar un papel decisivo.

A pesar de las importantes ventajas que pueden derivarse de la administración de numerosos fármacos en forma de nanocristales, hasta el momento sólo cuatro productos, cuyas características se han resumido en la Tabla 6.3, se han introducido en el mercado, todos ellos resultado de la aplicación de la tecnología Nanocrystal®.

Tabla 6.3. Especialidades farmacéuticas que incorporan el fármaco en forma de nanocristales.

Especialidad	Fármaco	Forma dosificación	Compañía
Rapamune®	Sirolimus	Comprimidos	Wyhet
Emend®	Aprepitant	Cápsulas	Merck
TriCord®	Fenofibrato	Comprimidos	Abbott
Megace® ES	Megestrol	Suspensión oral	PAR Pharmaceutical

## **Administración parenteral**

La administración parenteral, especialmente endovenosa, de las nanosuspensiones no plantea problemas importantes como consecuencia del reducido tamaño de los nanocristales y de la naturaleza y la proporción de los excipientes que les acompañan (buena parte de los estabilizantes más utilizados están aprobados para administración parenteral). Así, para el paclitaxel se han descrito incrementos importantes en su tolerancia cuando se administra como nanosuspensión frente a la obtenida con el producto comercializado Taxol, que incorpora Cremophor EL y etanol en su formulación (69).

En lo que se refiere al requisito de esterilidad, además de la elaboración aséptica, es posible acudir a la aplicación de procedimientos tan diversos como la filtración, la radiación gamma y, en ciertos casos, el calor (70).

Un aspecto de especial trascendencia es que los nanocristales administrados por vía endovenosa muestran cierta capacidad de direccionamiento -lógicamente antes de que tenga lugar su disolución en el torrente circulatorio- hacia órganos como hígado y bazo, donde son reconocidos y captados por células fagocíticas (71).

## **Administración pulmonar**

Las nanosuspensiones reúnen una serie de características muy favorables para la administración pulmonar de fármacos: El reducido tamaño de los nanocristales permite conseguir una distribución más homogénea del fármaco en el producto nebulizado, la referida adhesividad de los nanocristales mejora su fijación en las zonas de absorción y el valor incrementado del coeficiente de solubilidad del fármaco permite pronosticar una absorción pulmonar más rápida.

Jacobs y col (72) han demostrado, además, que la nebulización de nanosuspensiones de budesonida no produce alteraciones significativas en el tamaño de los nanocristales.

## **Administración ocular**

Una vez más, el incremento en el valor del coeficiente de solubilidad y de la adhesividad del fármaco que acompañan a una reducción de su tamaño de partícula a nivel nanométrico, resultan muy positivos para la administración oftálmica de nanosuspensiones, que permiten incrementar y prolongar la absorción

ocular. En uno de los escasos estudios publicados sobre este tema, Rosario y col (73) demostraron una notable tolerancia ocular de nanosuspensiones de ibuprofeno en conejos y la superioridad, en cuanto a eficacia y a duración de efectos, de esta formulación sobre algunos preparados oftálmicos comerciales.

### Perspectivas futuras

En páginas anteriores, se ha pretendido plasmar la importancia de las ventajas de índole tecnológica, biofarmacéutica y terapéutica asociadas a la administración de algunos fármacos en forma de nanocristales. Su fácil incorporación a diversas formas de dosificación y vías de administración, las espectaculares mejoras conseguidas en su biodisponibilidad y en su eficacia terapéutica, así como su apreciable capacidad de direccionamiento a determinados órganos desde el compartimento sanguíneo, son buenos ejemplos de ello.

También se ha pretendido poner de manifiesto la importancia de una adecuada elección del agente estabilizante para garantizar la estabilidad física de los nanocristales. En este sentido, recientemente se ha demostrado que la naturaleza del agente estabilizante puede condicionar su actuación *in vivo*. Así, Muller y col (74) mostraron que la interacción de los nanocristales con las proteínas plasmáticas depende del agente estabilizante o, más correctamente, de las propiedades superficiales de los nanocristales y acuñaron el concepto de *adsorción diferencial de proteínas*. En la modificación de las propiedades superficiales de los nanocristales, con productos que les dote de capacidad específica de direccionamiento en el organismo, siguiendo aproximaciones similares a las aplicadas en liposomas (14), se encuentra, sin duda, una de las principales líneas de desarrollo en el campo de los nanocristales tal como se ha puesto de manifiesto al utilizar nanocristales de óxido de hierro (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) que se recubren con ácido 2-3 dimercaptosuccinico (DMSA) el cual permite establecer una unión estable via quelato con el nanocrystal y una reticulación a través de puentes disulfuro, tal como se puede observar en la Figura 6.3. Por otra parte, a éste sistema es posible incorporarle un anticuerpo que oriente el sistema hacia células tumorales incrementándose, de forma muy importante, la imagen obtenida por RMN. La validez de este sistema ha sido comprobada *in vivo* utilizando como anticuerpo trastuzumab en tumores que tienen sobreexpresado HER2/neu (75).

La aplicación de las tecnologías de nanocristales a fármacos de origen biotecnológico, que plantean problemas específicos de estabilidad y de toxicidad (76), constituye otro reto importante de cara al futuro.

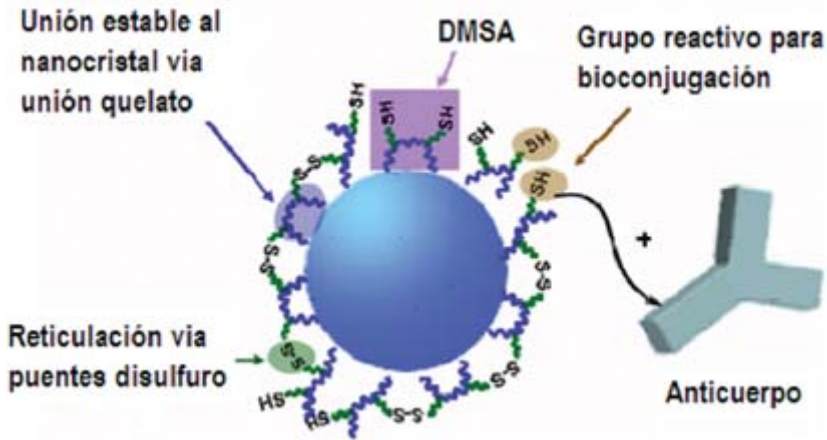


FIGURA 6.3. Representación esquemática del recubrimiento de nanocristales de óxido de hierro con ácido 2-3 dimercaptosuccínico.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) Lipinski, C. (2002) Poor aqueous solubility -an industry wide problema in drug discovery. *Am. Pharm. Rev.* 5: 82-85.
- (2) Yu, L.X., Amidon, G.L., Polli, J.E., Shao, H., Metha, M.V., Conner, D.P., Shah, V.P., Lesko, L.J., Chen, M.L., Lee, V.H. & Hussain, A.S. (2002) Biopharmaceutics Classification System: The Scientific Basis for Biowaiver Extensions. *Pharm. Res.* 19: 921-925.
- (3) Veber, D.F., Johnson, S.R., Cheng, H.-Y., Smith, B.R., Ward, K.W. & Kopple, K.D. (2002) Molecular properties that influence oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.* 45: 2615-2623.
- (4) Bittner, B. & Mountfield, R.F. (2002) Intravenous administration of poorly soluble new drug entities in early drug discovery. The potential impact of formulation on pharmacokinetic parameters. *Cur. Opin. Drug Discovery and Dev.* 59-71.
- (5) Akers, M.J. (2002) Excipient-drug interactions in parenteral formulations. *J. Pharm. Sci.* 91: 2283-2300.
- (6) Nakano, M. (2000) Places of emulsions in drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 45: 1-4.
- (7) Floyd, A.G. (1999) Top ten considerations in the development of parenteral emulsions. *Pharm. Sci. Tech.* 4: 134-143.
- (8) Mohammed, A.R., Weston, N. & Coombes, A.G.A. (2004) Liposome formulation of poorly water soluble drugs. Optimisation of drug loading and ESEM analysis of stability. *Int. J. Pharm.* 285: 23-34.

- (9) Pace, S., Pace, G.W., Parikh, I. & Mishra, A. (1999) Novel injectable formulations of insoluble drugs. *Pharm. Tech.* 23: 116-134.
- (10) Lawrence, M.J. & Rees, G.D. (2002) Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Ad. Drug Deliv.* 45: 89-121.
- (11) Stella, V.J. & Rajewski, R.A. (1997) Cyclodextrins: their future in drug formulation and delivery. *Pharm. Res.* 14: 556-567.
- (12) Loftsson, T. & Brewster, M.E. (1996) Pharmaceutical applications of cyclodextrins. *J. Pharm. Sci.* 85: 1017-1025.
- (13) Gregoriades, G. (1995) Engineering liposomes for drug delivery: progress and problems. *TIBTECH.* 13: 527-537.
- (14) Allen, T.M. (1997) Liposomes: opportunities in drug delivery. *Drugs.* 54: 8-14.
- (15) Leuner, C. & Dressman, J. (2000) Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50: 47-60.
- (16) Serajuddin, A.T.M. (1999) Solid dispersions of poorly water-soluble drug: early promises, subsequent problems and recent breakthroughs. *J. Pharm. Sci.* 88: 1058-1066.
- (17) Muller, R.H. & Peters, K. (1998) Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs I. Preparation by a size-reduction technique. *Int. J. Pharm.* 160: 229-237.
- (18) Rasenack, N. & Muller, B.W. (2003) Micro-size drug particles: common and novel micronization techniques. *Pharm. Dev. Technol.* 9: 1-13.
- (19) Fincher, J.H. (1968) Particle size of drugs and its relationship to absorption and activity. *J. Pharm. Sci.* 57: 1825-1835.
- (20) Dokoumetzidis, A. & Macheras, P. (2006) A century of dissolution research: From Noyes-Whitney to the Biopharmaceutics Classification System. *Int. J. Pharm.* 321: 1-11.
- (21) Mosharraf, M. & Nystrom, C. (1995) The effect of particle size and shape on the surface specific dissolution rate of micronized practically insoluble drugs. *Int. J. Pharm.* 122: 35-47.
- (22) Kesiosoglon, F., Panmai, S. & Wu, Y. (2007) Application of nanoparticles in oral delivery of immediate release formulations. *Curr. Nanosc.* 3: 183-190.
- (23) Gassmann, P., List, M., Schweitzer, A. & Sucker, H. (1994) Hydrosols-alternatives for parenteral application of poorly water soluble drugs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 40: 64-72.
- (24) Thies, J. & Muller, W. (1998) Size controlled production of biodegradable microparticles with supercritical gases. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 45: 67-74.
- (25) Rasenack, N. y Muller, W. (2002) Dissolution rate enhancement by in situ micronization of poorly water-soluble drugs. *Pharm. Res.* 19: 1894-1900.

- (26) Zhang, J., Shen, Zh., Zhong, J. y col. (2006) Preparation of amorphous cefuroxime axetil nanoparticles by controlled nanoprecipitation method without surfactants. *Int. J. Pharm.* 323: 153-160.
- (27) Doroumis, D. & Fahr, A. (2006) Nano- and micro-particulate formulations of poorly water-soluble drugs by using a novel optimized technique. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 63: 173-175.
- (28) Zhong, J., Shen, Zh., Yang, Y y col. (2005) Preparation and characterization of uniform nanosized cephadrine by combination of reactive precipitation and liquid anti-solvent precipitation under high gravity environment. *Int. J. Pharm.* 301: 286-293.
- (29) Liversidge, G.G., Cundy, K.C., Bishop, J.F. & Czekai, D.A. (1992) Surface modified drug nanoparticles. U.S. Patent 5,145,684.
- (30) Merisko-Liversidge, E., Liversidge, G.G. & Cooper, E.R. (2003) Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 18: 113-120.
- (31) Choi, J.-V., Yoo, J.Y., Kwak, H.-S., Nam, B.U. & Lee, J. (2005) Role of polymeric stabilizers for drug nanocrystal dispersions. *Curr. Appl. Phys.* 5: 472-474.
- (32) Kibbe, A.H. (2000) Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3<sup>rd</sup> Edition. AphA and PhP, Washington, DC.
- (33) Liversidge, G.G. & Cundy, K.C. (1995) Particle size reduction for improvement of oral bioavailability of nanocrystalline danazol in beagle dogs. *Int. J. Pharm.* 125: 91-97.
- (34) Bowman, B.J., Ofner, C.M. & Schott, H. (2005) Colloidal dispersions. En Genaro A.R. (Ed), Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21<sup>st</sup> ed., Lippincott-Williams, New York, 2005, pp. 293-318.
- (35) Buchmann, S., Fischli, W., Thiel, F.P. & Alex, R. (1996) Aqueous microsuspension, an alternative intravenous formulation for animal studies. 42-nd Annual Congress of the International Association for Pharmaceutical Technology (APV), Mainz p. 124.
- (36) Parickh, I. & Selvaraj, U. (1999) Composition and method of preparing micro-particles of water-insoluble substances, United States Patent 5,922,355, Research Triangle Pharmaceuticals (Durham, NC), USA.
- (37) Müller, R.H., Becker, R., Kruss, B. & Peters, K. (1999) Pharmaceutical nanosuspensions for medicament administration as systems with increased saturation solubility and rate of solution. United States Patent 5, 858, 410, USA.
- (38) Müller, R.H., Mäder, K. & Krause, K. (2000) Verfahren zur schonenden Herstellung von hochfeinen Micro-/Nanopartikeln, PCT Application PCT/EP00/06535, Germany.

- (39) Krause, K. & Müller, R.H. (2001) Production and Characterization of Highly Concentrated Nanosuspensions by High Pressure Homogenization. *Int. J. Pharm.* 214: 21-24.
- (40) Jacobs, C., Kayser, O. & Müller, R.H. (2000) Nanosuspensions as a New Approach for the Formulation for the Poorly Soluble Drug Tarazepide. *Int. J. Pharm.* 196: 161-164.
- (41) Liedtke, S., Wissing, S., Müller, R.H. y col. (2000) Influence of high pressure homogenization equipment on nanodispersions characteristics. *Int. J. Pharm.* 196: 183-185.
- (42) Gao, L., Zhang, D. & Chen, M. (2008) Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system. *J. Nanopart. Res.* 10: 845-862.
- (43) Krause, K.P., Kaiser, O., Mader, K. y col. (2000) Heavy metal contamination of nanosuspensions produced by high-pressure homogenization. *Int. J. Pharm.* 196: 169-172.
- (44) Muller, R.H. & Bohm, B.H.I. (1998) Nanosuspensions. En: Emulsions&Nanosuspensions For the Formulation of Poorly Soluble Drugs, Muller R.H., Bents S. y Bohm B.H.I. Eds. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, pp. 149-174.
- (45) Kharb, V., Meenakshu, B., Dureja, H. & Kaushik, D. (2006) Nanoparticle Technology for the Delivery of Poorly Water-Soluble Drugs. *Pharm. Tech.*, February 2006, pp 82-92.
- (46) Kipp, J.E., Wong, J.C.T., Doty, M.J & Rebbeck, C.L. (2003) Microprecipitation Method For Preparing Submicron Suspensions, United States Patent 6,607,784, Baxter International Inc. (Deerfield, IL), USA.
- (47) Möschwitzer, J. & Müller, R.H. (2006) New method for the effective production of ultrafine drug nanocrystals. *J. Nanosc. Nanotech.* 6: 3145-3153.
- (48) Washington, C. (1992) Particle size analysis in pharmaceuticals and other industries. Theory and practice. Ellis Horwood, New York, cps. 4 y 7.
- (49) Malmstan, M. (2002) Surfactants and polymers in drug delivery. M. Dekker, New York, pp. 276-278.
- (50) Jacobs, C., Kayser, O. & Muller, R.H. (2000) Nanosuspensions as a new approach for the formulation for the poorly soluble drug tarazepide. *Int. J. Pharm.* 196: 161-164.
- (51) Zhang, D.R., Tan, T.W., Gao, L. y col. (2007) Preparation of Azithromycin Nanosuspensions by High Pressure Homogenization and its Physicochemical Characteristics Studies. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 33: 569-575.

- (52) Wallis, K.H. & Muller, R.H. (1993) Determination of the surface hydrophobicity of colloidal dispersions by mini-hydrophobic interaction chromatography. *Pharm. Ind.* 55: 1124-1128.
- (53) Drews, T.O. & Tsapatsis, M. (2007) Model of the evolution of nanoparticles to crystals via an aggregative growth mechanism. *Micropor. Mesopor. Mat.* 101: 97-107.
- (54) Muller, R.H. & Jacobs, C. (2002) Buparvaquone mucoadhesive nanosuspension: preparation, optimization and long-term stability. *Int. J. Pharm.* 237: 151-161.
- (55) Duchene, D. & Ponchel, G. (1997) Bioadhesion of solid oral dosage forms, why and how? *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 44: 15-23.
- (56) Ponchel, G., Montisci, M.J., Dembri, A. y col. (1997) Mucoadhesion of colloidal particulate systems in the gastrointestinal tract. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 4: 25-31.
- (57) Liversidge, G.G. (1996) Drug nanoparticles for improved drug delivery. 23rd International Symposium of Controlled Release of Bioactive Materials, Kyoto.
- (58) Kayser, O. (2001) A new approach for targeting to *Cryptosporidium parvum* using mucoadhesive nanosuspensions: research and applications. *Int. J. Pharm.* 214: 83-85.
- (59) Muller, R.H., Rungea, S., Ravelli V. y col. (2006) Oral bioavailability of cyclosporine: solid lipid nanoparticles (SLN) versus drug nanocrystals. *Int. J. Pharm.* 317: 82-89.
- (60) Kondo, N., Iwao, T., y col. (1993) Improved oral absorption of a poorly water-soluble drug, HO-221, by wet-bead milling producing particles in submicron region. *Chem. Pharm. Bull.* 41: 737-740.
- (61) Liversidge, G.G. & Conzentino, P. (1995) Drug particle size reduction for decreasing gastric irritancy and enhancing absorption of naproxen in rats. *Int. J. Pharm.* 125: 309-313.
- (62) Jinno, J., Kamada, N., Miyake, M., Yamada, K., Mukai, T., Odomi, M., Toguchi, H., Liversidge, G.G., Higaki, K. & Kimura, T. (2006) Effect of particle size reduction on dissolution and oral absorption of a poorly water-soluble drug, cilostazol, in beagle. *J. Control. Release.* 111: 56-64.
- (63) Jia, L., Wong, H., Wang, Y., Garza, M. & Weitman, S.D. (2003) Carbendazim: Disposition, cellular permeability, metabolite identification, and pharmacokinetic comparison with its nanoparticle. *J. Pharm. Sci.* 92: 161-172.
- (64) Jia, L., Wong, H., Cerna, C. & Weitman, S.D. (2002) Effect of nanonization on absorption of 301029: ex vivo and in vivo pharmacokinetics correlations determined by liquid chromatography/mass spectrometry. *Pharm. Res.* 19: 1091-1096.

- (65) Hecq, J., Deleers, M., Fanara, D., Vranckx, H. & Amighi, K. (2005) Preparation and characterization of nanocrystals for solubility and dissolution rate enhancement of nifedipine. *Int. J. Pharm.* 299: 167-177.
- (66) Kocbek, P., Baumgartner, S. & Kristl, J. (2006) Preparation and evaluation of nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs. *Int. J. Pharm.* 312: 179- 186.
- (67) Hecq, J., Deleers, M., Fanara, D., Vranckx, H., Boulanger, P., Le Lamer, S. & Amighi, K. (2006) Preparation and in vitro/in vivo evaluation of nano-sized crystals for dissolution rate enhancement of ucb-35440-3, a highly dosed poorly water-soluble weak base. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 64: 360-368.
- (68) Kayser, O., Olbrich, C., Yardley, V. y col. (2003) Formulation of anphotericin B as nanosuspension for oral administration. *Int. J. Pharm.* 254: 73-75.
- (69) Böhm, B.H.L. & Müller, R.H. (1999) Lab-scale production unit design for nanosuspensions of sparingly soluble cytotoxic drugs. *Pharm. Sci. Tech. Today.* 2: 336-339.
- (70) Na, G.C., Stevens, H.J., Yuan, B. y col. (1999) Physical Stability of ethyl diatrizoate nanocrystalline suspension in steam sterilization. *Pharm. Res.* 569-574.
- (71) Goppert, T.M. & Muller, R.H. (2005) Adsorption kinetics of plasma proteins on solid lipid nanoparticles for drug targeting. *Int. J. Pharm.* 302: 172-186.
- (72) Jacobs, C. & Muller, R.H. (2002) Production and characterization of a budesonide nanosuspension for pulmonary administration. *Pharm. Res.* 19: 189-194.
- (73) Rosario, P., Caudio, B., Piera, F. y col. (2002) Eudragit RS100 nanosuspensions for the ophthalmic controlled delivery of ibuprofen. *Eur. J. Pharm.* 16: 53-61.
- (74) Müller, R.H. & Schmidt, S. (2002) PathFinder technology for the delivery of drugs to the brain. *New Drugs.* 2: 38-42.
- (75) Young-Wook, J., Jung-Tak, J. & Jinwoo, C. (2006) Nanocrystals and their biomedical applications: *Bull. Korean Chem. Soc.* 27: 961-971.
- (76) Muller, R.H. & Keck, C.M. (2004) Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs -a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles. *J. Biotech.* 113: 151-170.