

Hablemos de...

La pegilación de fármacos

JOSÉ RAMÓN AZANZA PEREA

Servicio de Farmacología Clínica. Clínica Universitaria.
Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción

La investigación en la farmacología acostumbra a seguir dos grandes líneas que, en principio, suelen ser complementarias. Una de ellas consiste en el desarrollo de nuevas moléculas que tienen el objetivo de mejorar las características de los fármacos disponibles; la otra se basa en la investigación de cambios en la forma de administración o modificaciones de alguna molécula original mediante los cuales se pretende mejorar la eficacia y/o la tolerancia y/o la comodidad. Este tipo de investigación se centra especialmente en fármacos antiguos que no tienen sustitución sencilla y que presentan problemas en alguno de los aspectos de su farmacología. Las formas farmacéuticas de liberación sostenida, los profármacos, la asociación con formas lipídicas, etc., son algunos de los ejemplos más habituales. La pegilación puede enmarcarse dentro de esta línea de investigación

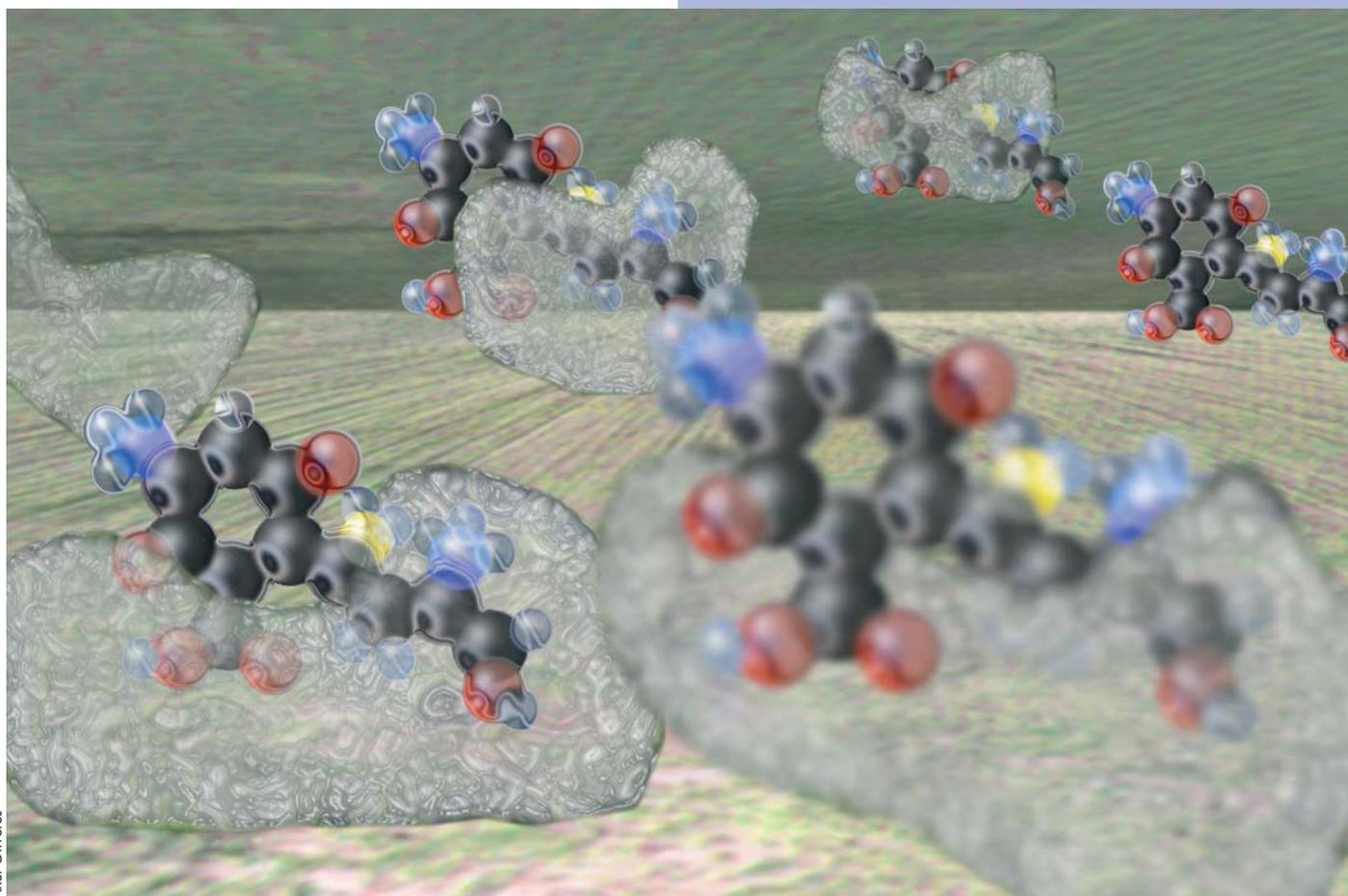
Puntos clave

La pegilación o unión de un polietilenglicol (PEG) a un fármaco genera un derivado muy estable, que recibe el nombre genérico de pegilado y que se caracteriza por presentar una gran velocidad de absorción y de eliminación que condiciona la persistencia de concentraciones plasmáticas durante un período de tiempo prolongado.

Los cambios farmacocinéticos se relacionan directamente con el tamaño del PEG, por lo que cuanto mayor sea el peso molecular mayor será el retraso de la absorción y de la eliminación del pegilado.

Existen dos derivados pegilados del interferón alfa. El derivado del 2b con un PEG de 12 kDa que presenta una semivida de eliminación de 40 h. La pegilación del interferón alfa 2a con un PEG de 40 kDa produce un derivado con una semivida de 70 h.

La información disponible de estudios de eficacia y tolerancia comparando cada uno de los pegilados, administrados en dosis única semanal, con la forma no pegilada de interferón han mostrado diferencias importantes en la eficacia en monoterapia.



Pegilación. Estructura y tipos

La unión de un polietilenglicol (PEG) a un fármaco de naturaleza proteica genera un derivado que recibe el nombre genérico de pegilado. Tal y como su nombre indica, un polietilenglicol es un derivado del etilenglicol que se caracteriza por presentar un número específico de etilenglicoles en su molécula. La estructura básica de cualquier polietilenglicol es, por consiguiente, $H(OCH_2CH_2)_nOH$.

Atendiendo a esta estructura puede afirmarse que existen tantos PEG distintos como número de repeticiones de la estructura básica sea posible. Por consiguiente, debe insistirse en que el término de polietilenglicol es genérico. El peso molecular (tamaño) de la estructura básica, etilenglicol, es de 44,05 Da (daltons) por lo que para conocer el número aproximado de subunidades que contiene cada PEG deberá dividirse su peso molecular total entre el peso molecular de la subunidad.

La pegilación puede ser lineal con una única cadena de PEG que, tal como se ha señalado, puede presentar un tamaño muy variable; y también puede ser ramificada. En este tipo, dos o más PEG se unen a la molécula original, en el mismo nivel de su estructura o en sitios distintos. Además, hay que considerar que es posible unir varios PEG lineales o ramificados a un mismo fármaco, en distintos lugares de su estructura.

Considerando las características mencionadas, la pegilación presenta múltiples posibilidades atendiendo al peso molecular y a la estructura espacial lineal o ramificada de los PEG utilizados.

La unión de un polietilenglicol (PEG) a un fármaco genera un derivado que recibe el nombre genérico de pegilado.

Existe un número indefinido de pegilados para un mismo fármaco, puesto que es posible añadirle PEG con diferente número de elementos básicos en su estructura central $H(OCH_2CH_2)_nOH$, e incluso puede tratarse de PEG lineal o ramificado.

Derivados pegilados. Características

Los derivados pegilados presentan algunas peculiaridades en su comportamiento químico que van a condicionar grandes diferencias con referencia al fármaco no pegilado. Entre ellas, resultan destacables las siguientes: menor susceptibilidad a la degradación enzimática¹, mayor estabilidad física y térmica², aumento de la solubilidad³, reducción del aclaramiento plasmático con el correspondiente aumento de la semivida de eliminación⁴⁻⁶, reducción de la inmunogenicidad^{7,8} y de la antigenicidad^{8,9} y mejoría del perfil de toxicidad¹⁰.

Estos efectos se producen por la modificación de diversas propiedades fisicoquímicas que incluyen cambios conformacionales, interferencias estéricas, cambios en las propiedades de fijación electrostática, incremento de la lipofilia, etc. Estas modificaciones suponen cambios en el comportamiento de la molécula pegilada, y especialmente de su proceso farmacocinético.

Dos de las cuestiones de mayor interés son la gran estabilidad del enlace del PEG-molécula y el aumento del tamaño de la molécula una vez pegilada. La primera cuestión justifica que la pegilación resulta una modificación casi irreversible. Una vez pegilado, el fármaco se comporta como un nuevo derivado y así el derivado pegilado se absorbe, distribuye, elimina y produce los efectos farmacológicos que son inherentes a su estructura y que no tienen por qué coincidir en su totalidad con los de la molécula no pegilada.

La segunda cuestión, relacionada con el aumento del tamaño y con los otros cambios mencionados, va a conducir a las modificaciones farmacocinéticas que presentan los derivados pegilados, a todos los niveles de este proceso. La absorción tras la administración por vía subcutánea o intramuscular se ve notablemente enlentecida en relación con el tamaño elevado de la molécula. Este enlentecimiento conlleva que la absorción del fármaco se prolongue en el tiempo que incluso puede llegar a solaparse con la eliminación. La lentitud en la absorción produce concentraciones plasmáticas máximas reducidas, lo que minimiza el riesgo de efectos adversos relacionados con esta concentración.

La distribución de los derivados pegilados es distinta a la de la molécula no pegilada, aunque sobre los cambios influye de forma decisiva el tamaño del PEG utilizado. Los derivados pegilados de pequeño tamaño circulan libremente en el plasma y además presentan una difusión libre al espacio extracelular.

La pegilación reduce la actividad farmacológica *in vitro*, pero las propiedades farmacocinéticas de la forma pegilada, y especialmente el tiempo de permanencia prolongado, facilitan que se aumente la actividad *in vivo*.

La unión del fármaco, generalmente de naturaleza proteica, con uno o varios PEG se realiza mediante enlace covalente muy estable. Por consiguiente, una vez administrado no se produce la liberación, es el pegilado el que ejerce el efecto farmacológico.

Utilidad de los derivados pegilados

lar¹¹. Los derivados pegilados de gran tamaño difunden con mayor lentitud a través de los capilares, por ello pueden ser captados por las células del sistema retículo endotelial y, tras ello, transportados a los distintos órganos.

La pegilación influye de forma especialmente importante en la eliminación ya que la macroestructura pegilada va a tener problemas en la excreción renal por filtración glomerular, lo que produce un retraso importante en la eliminación del pegilado. En esta situación tiende a producirse un aumento compensatorio de otras vías

de eliminación como la captación hepática y, posiblemente, la excreción biliar y el metabolismo. La pegilación tiende a retrasar la eliminación desde el organismo, lo que se concreta en un aumento de su semivida de eliminación hasta el punto de poder aumentar de forma muy importante el intervalo de administración.

De una manera global puede señalarse que el efecto de la pegilación sobre la farmacocinética es tan llamativo que, tras la administración de una dosis única, las curvas de concentraciones plasmáticas de los pegilados son parecidas a las alcanzadas durante la administración intravenosa continua, siendo esta tendencia mayor cuanto mayor es el tamaño del pegilado utilizado.

A las ventajas farmacocinéticas se contraponen una pérdida de actividad *in vitro* que se presenta como una manifestación de la reducción de la afinidad y/o de la actividad intrínseca por las dificultades de la estructura pegilada para fijarse a los receptores. Esta peculiaridad, que resulta evidente en cualquiera de los modelos *in vitro*, no se presenta *in vivo* probablemente porque las características farmacocinéticas y especialmente el prolongado tiempo de permanencia compensan la deficiencia observada *in vitro*. En relación con esta cuestión, la actividad *in vitro* de los derivados pegilados no es un buen factor predictivo de su eficacia *in vivo*⁴⁻⁶.

El tipo de pegilación resulta determinante a la hora de justificar las nuevas características del derivado pegilado, ya que siendo válidos los aspectos comentados hasta el momento, en la práctica se producen diferencias muy importantes entre los posibles pegilados. Cuanto mayor es el tamaño del PEG menor es la velocidad de absorción, la distribución y la eliminación del pegilado del organismo. Este hecho incide sobre las concentraciones plasmáticas que resultan muy elevadas y sostenidas en el tiempo. Por otro lado, cuanto mayor es el número de sitios de una molécula que se pegilan mayor puede ser la posibilidad de que existan interferencias con su actividad farmacológica. Lograr el equilibrio adecuado entre la lentitud de la eliminación y la reducción de la actividad intrínseca resulta primordial para que puedan alcanzarse beneficios terapéuticos.

La pegilación produce una reducción de la velocidad de absorción y de la de eliminación. En su conjunto, estos cambios provocan una curva de concentraciones plasmáticas parecida a la conseguida por la administración en perfusión intravenosa continua.

La intensidad de los cambios farmacocinéticos se relaciona directamente con el tamaño del PEG utilizado. Así, la pegilación del interferón alfa 2b con un PEG de 12 kDa genera un derivado con una semivida de eliminación de 40 h, mientras que la pegilación del interferón alfa 2a con un PEG de 40 kDa produce un derivado pegilado que presenta una semivida de 70 h.

Por el momento se desconoce si estas diferencias tienen un significado práctico porque no se han realizado estudios clínicos. La información disponible de estudios de eficacia y tolerancia, que comparan cada uno de los pegilados administrados en dosis única semanal con la forma no pegilada, ha mostrado diferencias importantes en la eficacia.

La importancia de esta línea de investigación en la farmacología es evidente ya que entre los fármacos implicados figuran: los factores de estimulantes del crecimiento de macrófagos y granulocitos^{6,12}, la interleucina 2³, la interleucina 6¹³, y el interferón gamma¹⁴. En algunos casos se están utilizando en la terapéutica: PEG-adenosindeaminasa⁸, PEG-asparaginasa⁵ y PEG-liposomas de doxorubicina.

En nuestro país y dentro del área de la hepatología, se ha comercializado por el momento un derivado pegilado del interferón alfa 2b y próximamente se comercializará otro derivado en este caso del interferón alfa 2a. La indicación terapéutica en ambos es el tratamiento de la hepatitis C en una administración semanal. La similitud en la indicación y en el intervalo de administración es evidente aunque se trate de pegilados muy distintos.

Es interesante recordar que el interferón alfa en sus dos versiones, y tras su administración intramuscular o subcutánea, se absorbe de forma muy rápida, se distribuye ampliamente, y se elimina igualmente con gran rapidez. Aunque atendiendo a este comportamiento la administración más adecuada fuera la diaria, la búsqueda de una comodidad que facilitase el cumplimiento llevó a administrarlo tres veces por semana. Esta sistemática conlleva oscilaciones rápidas e importantes de las concentraciones plasmáticas que se han asociado con un tiempo de eficacia reducido que puede permitir la replicación del virus, y con ello que la eficacia real sea subóptima en la mayoría de los pacientes¹⁵.

El interferón alfa 2a ha sido pegilado con una estructura ramificada a través de varios puntos, alcanzando un peso molecular de 40 kDa¹⁶. La denominación comercial prevista es de Pegasys. Este interferón pegilado ha demostrado en estudios realizados en voluntarios sanos y en pacientes¹⁷ que administrado en dosis única de 180 µg por vía s.c. o 90 µg por vía i.v. alcanza la concentración plasmática máxima ($C_{máx}$) a las 80 h. Su aclaramiento resulta 100 veces inferior al del interferón no pegilado y la semivida de eliminación aproximadamente 8 veces supe-

Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos. Comparación vías de administración

	PEG 40kDa IFN- α 2a	PEG 40kDa IFN- α 2a	IFN- α 2a
Número de sujetos	10	10	34
Dosis (μ g)	90 i.v.	180 s.c.	-
$t_{m\acute{a}x}$ (h)	-	78 \pm 27	10 \pm 3
$C_{m\acute{a}x}$ (ng/ml)	-	14 \pm 2,5	13 \pm 3,7
$t_{1/2}$ (h)	68 \pm 31	77 \pm 45	9 \pm 6
Cl (ml/h)	60 \pm 25	82 \pm 38	11.836
TMA (h)	-	59 \pm 24	2,6 \pm 1,8
Abs. (%)	-	61	80

TMA: tiempo medio de absorción; Abs.: porcentaje de fármaco absorbido.

Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos. Comparación de dosis

Dosis (μ g)	PEG 40kDa IFN- α 2a		IFN- α 2a	
	135	270	3 mUI*	18 mUI
N.º de sujetos	24	14	34	5
$t_{m\acute{a}x}$ (h)	76 \pm 28	73 \pm 28	10 \pm 3	11 \pm 13
$C_{m\acute{a}x}$ (ng/ml o U/ml)	7,9 \pm 6,1	10 \pm 5	13,4 \pm 3,7	57,7 \pm 12,3
$t_{1/2}$ (h)	104 \pm 65	69 \pm 49	9 \pm 6	8 \pm 13
ABC (ng*h/ml o U*h/ml)	809 \pm 423	1.063 \pm 706	152 \pm 67	883 \pm 154
V/F (l)	16,4 \pm 8	20 \pm 12,5	137 \pm 59	182 \pm 52

*UI: 5 μ g.

Tabla 3. Parámetros farmacocinéticos. Comparación de dosis

Dosis (μ g)	PEG 12kDa IFN- α 2b		IFN- α 2b	
	1 μ g/kg	1,5 μ g/kg	2 μ g/kg	3 MUI
N.º de sujetos	6	6	6	16
$t_{m\acute{a}x}$ (h)	31 (45)	44 (22)	15 (35)	8 (27)
$C_{m\acute{a}x}$ (pg/ml)	554 (38)	785 (47)	1.710 (39)	14,4 (30)*
$t_{1/2}$ (h)	33,4 (33)	28,2 (27)	31,6 (17)	4,3 (24)
ABC (pg*h/ml)	41.400 (25)	63.300 (43)	105.000 (26)	134 (31)**

*UI/ml.
**UI*h/ml.

rior (tabla 1). Estos datos señalan la necesidad de administrar este derivado en un intervalo de dosis semanal. Resultados similares se han obtenido en otro estudio realizado a 92 voluntarios sanos¹⁸, siguiendo una técnica doble ciego (tabla 2). La $t_{m\acute{a}x}$ fue de 70 h, el aclaramiento se redujo de forma notable y la semivida de eliminación aumentó entre 8 y 11 veces. Otros estudios realizados sobre pacientes mostraron resultados farmacocinéticos similares¹⁹⁻²¹. En el caso del interferón alfa 2b, el PEG utilizado tiene un peso molecular de 12 kDa y una estructura lineal (Pe-

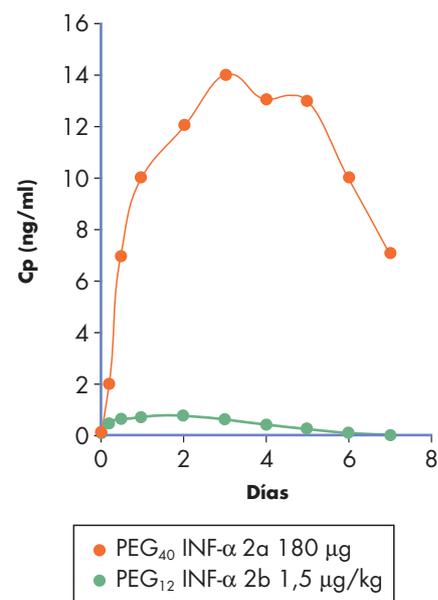


Figura 1. Simulación de las curvas de concentraciones plasmáticas de los interferones pegilados. Dosis única vía subcutánea^{17,22}.

ginton), diferencias evidentes con el otro pegilado. Aparentemente, el comportamiento farmacocinético de este pegilado se repite en la misma dirección pero no en la misma intensidad, tal y como muestran las curvas de concentraciones plasmáticas que pueden construirse a partir de los estudios publicados que, por otra parte, no han comparado directamente a los derivados (fig. 1). La absorción se retrasa con una $t_{m\acute{a}x}$ de 48-72 h. El volumen de distribución y el aclaramiento se reducen, el segundo de forma importante. Este hecho condiciona que la semivida de eliminación aumente hasta situarse en 30-40 h (tabla 3)^{22,23}.

Se han realizado algunos ensayos clínicos durante el desarrollo de estos derivados pegilados²³⁻²⁵, y en todos ellos el pegilado correspondiente administrado en dosis única semanal ha mostrado

mayor eficacia, con diferencias estadísticamente significativas, con un perfil de efectos adversos similar o en ocasiones incluso mejor al derivado no pegilado correspondiente. Por desgracia no se han publicado, con toda seguridad porque no se ha realizado ningún resultado sobre la comparación entre los dos pegilados. Por ello, no se puede precisar por el momento si las evidentes diferencias farmacocinéticas, mayor semivida de eliminación del pegilado de mayor peso molecular (PEG interferón alfa 2a), suponen ventajas de interés práctico.

Bibliografía



● Importante ● Muy importante

■ Metaanálisis
■ Ensayo clínico controlado
■ Epidemiología

- Cao SG, Zhao QY, Ding ZT, Ma L, Yu T, Wang JH, et al. Chemical modification of enzyme molecules to improve their characteristics. *Ann N Y Acad Sci* 1990;613:460-7.
- Suzuki T, Kanbara N, Tomono T, Hayashi N, Shinohara I. Physicochemical and biological properties of poly(ethylene glycol)-coupled immunoglobulin G. *Biochim Biophys Acta* 1984;788(2):248-55.
- Katre NV, Knauf MJ, Laird WJ. Chemical modification of recombinant interleukin 2 by polyethylene glycol increases its potency in the murine Meth A sarcoma model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84(6):1487-91.
- Knauf MJ, Bell DP, Hirtzer P, Luo ZP, Young JD, Katre NV. Relationship of effective molecular size to systemic clearance in rats of recombinant interleukin-2 chemically modified with water-soluble polymers. *J Biol Chem* 1988;263(29):15064-70.
- Ho DH, Brown NS, Yen A, Holmes R, Keating M, Abuchowski A, et al. Clinical pharmacology of polyethylene glycol-L-asparaginase. *Drug Metab Dispos* 1986;14(3):349-52.
- Satake-Ishikawa R, Ishikawa M, Okada Y, Kakitani M, Kawagishi M, Matsuki S, et al. Chemical modification of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor by polyethylene glycol increases its biological activity in vivo. *Cell Struct Funct* 1992;17(3):157-60.
- Abuchowski A, Kazo GM, Verhoest CR Jr, Van Es T, Kafkewitz D, Nucci ML, et al. Cancer therapy with chemically modified enzymes. I. Antitumor properties of polyethyleneglycol-asparaginase conjugates. *Cancer Biochem Biophys* 1984;7(2):175-86.
- Davis S, Abuchowski A, Park YK, Davis FF. Alteration of the circulating life and antigenic properties of bovine adenosine deaminase in mice by attachment of polyethylene glycol. *Clin Exp Immunol* 1981;46(3):649-52.
- Tsuji J, Hirose K, Kasahara E, Naitoh M, Yamamoto I. Studies on antigenicity of the polyethylene glycol (PEG)-modified uricase. *Int J Immunopharmacol* 1985;7(5):725-30.
- Yokoyama M, Miyauchi M, Yamada N, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K, et al. Characterization and anticancer activity of the micelle-forming polymeric anticancer drug adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. *Cancer Res* 1990;50(6):1693-700.
- Yamaoka T, Tabata Y, Ikada Y. Distribution and tissue uptake of poly(ethylene glycol) with different molecular weights after intravenous administration to mice. *J Pharm Sci* 1994;83(4):601-6.
- Malik F, Delgado C, Knusli C, Irvine AE, Fisher D, Francis GE. Polyethylene glycol (PEG)-modified granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) with conserved biological activity. *Exp Hematol* 1992;20(8):1028-35.
- Inoue H, Kadoya T, Kabaya K, Tachibana K, Nishi N, Sato M, et al. A highly enhanced thrombopoietic activity by monomethoxy polyethylene glycol-modified recombinant human interleukin-6. *J Lab Clin Med* 1994;124(4):529-36.
- Kita Y, Rohde MF, Arakawa T, Fagin KD, Fish EN, Banerjee K. Characterization of a polyethylene glycol conjugate of recombinant human interferon-gamma. *Drug Des Deliv* 1990;6(3):157-67.
- Lam NP, Neumann AU, Gretch DW, Whiley TE, Perelson AS, Layden TJ. Dose-dependent acute clearance of Hepatitis C genotype 1 with interferon alpha. *Hepatology* 1997;26:226-31.
- Monkarsh SP, Ma Y, Aglione A, Bailon P, Ciolek D, DeBarbieri B, et al. Positional isomers of monopegylated interferon α -2a: isolation, characterization and biological activity. *Analytical Biochem* 1997;247:434-40.
- Algranati NE, Sy S, Modi M. A branched methoxy 40 kDa polyethylene glycol (PEG) moiety optimizes the pharmacokinetics (PK) of peginterferon α -2a (PEG-INF) and may explain its enhanced efficacy in chronic hepatitis C [abstract 120]. Dallas: American association for the study of liver diseases (AASLD), 1999.
- Xu ZX, Hoffman J, Patel I, Jonbert P. Single-dose safety/tolerability and pharmacokinetics/pharmacodynamics (PK/PD) following administration of ascending subcutaneous doses of pegylated-interferon (PEG-INF) and interferon α -2a (INF α -2a) to healthy subjects. *Hepatology* 1998;28(Part. 2):702A.
- Heathcote EJ, Pockros PJ, Fried MW, Hill CH, Bain MA, DePamphilis J. The pharmacokinetics of pegylated-40K interferon alpha-2a in chronic hepatitis C patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 1999;116:(Abst G319)30.
- Martin P, Mitra S, Farrington K, Martin NE, Modi WM. Pegylated (40kDa) interferon alpha-2a (PEGASYS) is unaffected by renal impairment. Dallas: American association for the study of liver diseases (AASLD), 2000.
- Martin NE, Modi MW, Reddy KR. Characterization of Pegylated (40kDa) interferon alpha-2a (PEGASYS) in the elderly. Dallas: American association for the study of liver diseases (AASLD), 2000.
- Glue P, Fang JWS, Sabo R, Rouzier-Panis R, Raffanel C, Gupta SK, et al. PEG-interferon α -2b: pharmacokinetics, pharmacodynamics and preliminary efficacy data. *Hepatology* 1999;30(4):189A.
- Glue P, Fang JWS, Rouzier-Panis R, Raffanel C, Sabo R, Gupta SK, et al. Pegylated interferon α -2b: Pharmacokinetics, pharmacodynamics safety, and preliminary efficacy data. *Clin Pharmacol Therap* 2000;68:556-67.
- Reddy KR, Wright TL, Pockros PJ, Shiffman M, Everson G, Reindollar R, et al. Efficacy and safety of pegylated (40-kDa) interferon alpha-2a compared with interferon alpha-2a in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001;33:433-8.
- Heathcote EJ, Shiffman ML, Cooksley WGE, Dusheiko GM, Lee SS, Balart L, et al. Peginterferon alpha-2a in patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. *N Engl J Med* 2000;343:1673-80.