Diseño y Evaluación de Nuevos Sistemas Bio/Mucoadhesivos para Administración de Drogas por Vías Alternativas.

Juan Manuel LLabot

DIRECTOR DE TESIS

Prof. Dr. Daniel Allemandi

COMISIÓN EVALUADORA

Prof. Dra. Silvia López de Blanc

Prof. Dra. Miriam Strumia

Prof. Dr. Carlos P. De Pauli

Prof. Dr. Ismael D. Bianco

A DOLORES

A MIS PADRES

El desarrollo de esta tesis demandó tiempo, esfuerzo, y dedicación. Quiero agradecer a las siguientes personas que de una u otra manera contribuyeron a que pueda completar este trabajo, y hacerlo más ameno:

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Daniel Allemandi, por tomarme bajo su dirección, por la confianza depositada en mí, lo que permitió que juntos desarrollemos este proyecto.

Al Dr. Ruben Manzo por sus consejos, que fueron parte fundamental en mi formación.

A Santiago y Alvaro, una combinación perfecta entre amigos y compañeros de trabajo.

A mis compañeros de trabajo, por su apoyo, compañía y tolerancia: Marina, María Eugenia, Fabiana, Ana Paula, Andrea, Daniela, Carola, José, Silvia, Silvina, Verónica RR., Verónica S., Verónica R., Celeste, Norma, Laura y Gustavo.

A los Dres. Carlos De Pauli, Miriam Strumia y Silvia López de Blanc miembros de la comisión asesora/evaluadora, muchas gracias por todos los aportes, asesoramiento y críticas constructivas.

A todo el personal Docente y No Docente del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas.

Al Dr. Fabián Femopase y su grupo de investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, por la ayuda brindada.

A la Agencia Córdoba Ciencia, CONICET y SECyT-UNC por brindarme ayuda económico durante este proceso.

A Dolores, mi amor, mi vida, mi contención. Por brindarme su apoyo incondicional.

A mis padres y mi hermano porque siempre estuvieron para brindarme su apoyo.

1. INTRODUCCIÓN **1**
1.1 Farmacotecnia y Tecnología Farmacéutica 1
1.1.1 Tipos de Sistemas de Liberación 5
1.2 Vías de Administración Alternativas 7
1.2.1 Mucosas 8
1.3 Definición de Bioadhesión 9
1.3.1 Mecanismos Involucrados en el Fenómeno de Bioadhesión 10
1.3.1.1 Interacciones mucoadhesivas 10
1.3.1.2 Interacciones Responsables de la Mucoadhesión. 11
1.3.2 Teorías Sobre el Fenómeno de Bioadhesión 14
1.3.2.1 Teoría electrónica: 14
1.3.2.2 Teoría de adsorción: 14
1.3.2.3 Teoría de mojado (wetting): 15
1.3.2.4 Teoría de difusión: 15
1.3.3 Características Generales de los Materiales que Presentan Propiedades Adhesivas. 16
1.3.3.1 Requisitos generales para la selección de materiales. 16
1.3.4 Clasificación de los polímeros con propiedades adhesivas 18

2. OBJETIVOS **20**
2.1 Objetivos Generales 20
2.2 Objetivos Específicos 20
2.3 Antecedentes sobre sistemas bioadhesivos 20

3. RACIONALIDAD EN EL DISEÑO DE SISTEMAS BIOADHESIVOS **24**
3.1 Consideraciones Generales 24
3.2 Vía de Administración. 24
3.3 Cavidad Bucal 26
3.3.1 Anatomía de la Cavidad Bucal 26
3.3.2 Aspectos Biofarmacéuticos de la Cavidad Bucal 30
3.3.3 Mucus 31
3.4 Patologías Bucales 33
3.5 Estrategia de Trabajo 37
3.5.1 Fase de Diseño y Evaluación "in-vitro" de la Formulación (Fase Farmacéutica): 38
3.5.1.1 Preformulación y formulación: aspectos físico-mecánicos de los materiales sólidos. 38
3.5.1.2 Obtención de comprimidos y films mucoadhesivos por la técnica más conveniente. 38
3.5.1.3 Evaluación de propiedades biofarmacéuticas de los sistemas obtenidos: 39
3.5.2 Fase de Evaluación "in-vivo" de las Formulaciones Obtenidas: (Fase Biofarmacéutica) 39

4. MATERIALES Y MÉTODOS **41**
4.1 Materiales 41
4.1.1 Carbomer (ácido poli-acrílico) 41
4.1.2 Carboximetilcelulosa sódica (CMC-Na) 43
4.1.3 Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) 45
4.1.4 Polietilenglicol (HOCH2(CH2OCH2)mCH2OH 46
4.1.5 Glicerina 47
4.1.6 Palmitato de ascorbilo (ASC16) 47
4.1.7 Nistatina 48
4.1.8 Lactosa 49
4.1.9 Sacarina sódica 49
4.1.10 Estearato de magnesio 50
4.1.11 Fosfato de calcio dibásico dihidratado 50
4.1.12 Talco 51
4.1.13 Dióxido de silicio coloidal (Aerosil® y Cab-o-Sil®) 51
4.2 Métodos 52
4.2.1 Titulación de Carbomer 934-P 52

4.2.2 Mediciones de pH 52
4.2.3 Mediciones reológicas 52
4.2.4 Mediciones de bioadhesión 53
4.2.5 Difracción de Rx 54
4.2.6 Mediciones de sorción de líquidos 54
4.2.7 Estudio de liberación de Fármaco 55
4.2.8 Medición de frentes radiales de hinchamiento 55
4.2.9 Cromatografía Líquida de alta performance (HPLC) 56
4.2.9.1 Desarrollo y Validación de la técnica de determinación de Nistatina en saliva por HPLC. 56
4.2.9.2 Preparación de la solución stock. 56
4.2.9.3 Preparación de los estándares de calibración 57
4.2.9.4 Parámetros de validación 57
4.2.10 Microfotografías 60
4.2.10.1 Microscopía electrónica 60
4.2.10.2 Microscopio electrónico de transmisión (MET o TEM): 60
4.2.10.3 Cryo-Fractura 61
4.2.10.4 Microscopio electrónico de barrido (MEB o SEM): 64
4.2.11 Reología de polvos. Compresibilidad y flujo 64
4.2.11.2 Determinación de índices relacionados (índice de carr o compresibilidad y hausner). 66
4.2.11.3 Determinación de dureza 66
4.2.11.4 Determinación de friabilidad 66
4.2.11.7 Determinación de uniformidad de contenido 67

5: SISTEMAS DESARROLLADOS ***68***

5.1 Selección de Materiales 68
5.2 Ensayo Comparativo de Diversas Mezclas Mecánicas de Polímeros con Propiedades Adhesivas. 71
5.2.1 Selección la Matriz Adecuada Sobre la Base de Propiedades de Bioadhesión y Captura de Agua 71
5.3 Evaluación Farmacéutica del Sistema 74
5.3.1 Influencia del Fármaco en el Sistema 74
5.3.1.1 Evaluación Radial de los Frentes de Solvente 74
5.3.1.2 Captura de Agua y Bioadhesión 80
5.3.1.3 Disolución del Fármaco 80
5.4 Evaluación Biofarmacéutica 85
5.4.1 Prueba Clínica de Comprimidos Adhesivos 85
5.4.1.1 Materiales y Métodos: 85
5.4.1.2 Resultados: 86
5.4.1.2.1 Bioadhesión: 86
5.4.1.2.2 Efectos adversos: 86
5.4.1.3 Conclusiones: 86

6. RE-DISEÑO DEL COMPRIMIDO ***88***

6.1 Obtención de Materiales 88
6.2 Comprimidos con CBNa. 89
6.3 Selección de la Composición de Polímeros 90
6.4 Caracterización de los Sistemas 91
6.4.1 Bioadhesión "in-vitro" y Captura de Agua. 91
6.4.2 Evaluación Radial de los Frentes de Solvente 95
6.4.3 Disolución del fármaco 100
6.5 Evaluación Biofarmacéutica 107

7. FORMULACIÓN DEL COMPRIMIDO ***111***

7.1 Métodos de Elaboración de Comprimidos 114
7.1.1 Compresión Directa (CD) 115
7.1.1.1 Flujo de Sólidos (reología de polvos) 115
7.1.1.2 Optimización de los materiales 117

7.1.1.3 Determinación de las propiedades reológicas 118
7.1.1.4 Diseño de la Formulación para CD 120
7.1.2 Granulación 122
7.1.2.1 Granulación Húmeda (GH) 124
7.1.2.2 Granulación Seca (GS). 124
7.1.2.2.1 Optimización del Tiempo de Mezclado 125
7.1.2.3.2 Pre-compactación de la Mezcla Sólida 126
7.2 Evaluación Farmacotecnica del Sistema en Forma de Comprimidos 127
7.2.1 Apariencia General 128
7.2.2 Uniformidad de contenido 128
7.2.3 Friabilidad 129
7.2.4 Dureza 129
7.2.5 Desintegración 129
7.2.6 Evaluación de Otras Propiedades 130
7.2.6.1 Perfil de liberación: 130
7.6.2.2 Bioadhesión 130

8. DETERMINACIÓN DE LOS PERFILES DE LIBERACIÓN "IN-VIVO" Y EFECTIVIDAD CLÍNICA DE COMPRIMIDOS MUCOADHESIVOS ***132***

8.1 Clasificación de los ensayos clínicos 132
8.1.1 Estudios clínicos Fase I 133
8.1.2 Estudios clínicos Fase II 133
8.1.3 Estudios clínicos Fase III 133
8.1.4 Estudios Fase IV 134
8.2 Realización del Estudio 134
8.2.1 Indicaciones para la Realización del Estudio 135
8.2.2 Examen clínico odontológico 136
8.2.3 Determinación de los Perfiles "in-vivo" 138
8.3 Evaluación de la Efectividad Clínica de los Comprimidos 140

9. FILMS ***144***

9.1 Selección de Materiales 146
9.2 Obtención de films 146
9.3 Conformación del sistema 148
9.4 Caracterización de los sistemas 149
9.5 Geles 149
9.5.1 Incorporación de Nistatina 150
9.5.2 Viscosidad del sistema 152
9.5.3 Evaluación morfológica del sistema 157
9.6 Films 159
9.6.1 Mucoadhesión "in-vitro" 159
9.6.2 Evaluación del Estado de Nistatina en el Film. 161
9.6.3 Caracterización Morfológica del Film 165
9.6.4 Liberación de Nistatina 166

10. CONCLUSIONES ***170***

10.1 Acerca de los sistemas obtenidos 170
10.2 Acerca de la experiencia adquirida 172
10.3 Acerca de las perspectivas del presente trabajo 173

Anexo I ***176***

A.1 Ensayo Clínico para la Evaluación del Perfil de Liberación de Nistatina (Biodisponibilidad) desde Comprimidos Mucoadhesivos de Aplicación en la Cavidad Bucal 176
A.1.1 Introducción: 176
A.1.2 Información General: 176
A.1.3 Propiedades Físico-Químicas de Nistatina 177

A.1.4 Problema (Razones para su Ejecución) *177*
A.1.5 Objetivos *178*
A.1.6 Formulación a Estudiar *178*
A.1.7 Antecedentes *178*
A.1.7.1 Resultados in-vitro de la Formulación a Ensayar *178*
A.1.8 Diseño del Estudio *179*
A.1.9 Tratamiento *180*
A.1.10 Obtención y Manipulación de la Muestra *180*
A.1.11 Método Analítico *181*
A.1.12 Tratamiento de Datos *182*
A.2 Declaración del Investigador a Cumplir, Principios Éticos Vigentes y Guías de Buenas Prácticas Clínicas 182
A.2.1 Aspectos Éticos *182*
A.2.2 Declaración de Helsilnki *182*
A.2.2.1 Principios Básicos *182*
A.2.2.2 Investigación Médica Combinada con Atención Profesional (Investigación Clínica) *184*
A.3 Consentimiento Informado para Pacientes que Participan en: *185*
HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE *186*
Indicaciones para la realización del estudio *187*
A.4 Modo de Reclutamiento de Pacientes *191*
A.5 Criterio de Selección de los Voluntarios *191*

Anexo II ***193***

Ficha de sensaciones *194*
Odontograma: *195*
Fotografías *196*
Perfil: 197

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Farmacotecnia y Tecnología Farmacéutica

La investigación Farmacéutica se ha centrado por años en la búsqueda de nuevas moléculas que den respuesta terapéutica a enfermedades cuyo tratamiento no se conoce, como así también ocupándose de fármacos ya conocidos que por medio de modificaciones estructurales intenta lograr acciones terapéuticas más selectivas, duraderas o con menos efectos adversos para el organismo.

Sin embargo, existen problemas relacionados con la baja efectividad terapéutica de distintos fármacos, debido principalmente, a problemas del sistema portador o forma farmacéutica en las cuales son vehiculizados; como así también problemas relacionados a la vía de administración, más que por el fármaco en sí.

Es así que la investigación en el área de la tecnología farmacéutica, de forma simultánea con la investigación de nuevas moléculas de fármacos, ha puesto su atención para solucionar problemas inherentes a *la liberación del fármaco, dosis administrada y sitio de acción.*

A través del desarrollo galénico se llevan a cabo trabajos dirigidos a la búsqueda de novedosas formas de administración, las que también suponen un claro beneficio para el paciente.

De esta manera surge el concepto de Formas Farmacéuticas o Sistemas de Liberación Modificada (SLM) los cuales aportarían ventajas en cuanto a la actividad terapéutica ofreciendo:

- **Prolongar la acción medicamentosa mediante la liberación sostenida del fármaco**
- **Liberar el fármaco en un sitio específico para protegerlo o mejorar su absorción**
- **Mejorar la pauta posológica buscando una vía de administración más cómoda y la reducción del número de tomas/día, en el intento de conseguir una dosis única**

- **Disminuir o eliminar el riesgo de efectos no deseados (secundarios y tóxicos) de los medicamentos**

Estos SLM comprenden todos aquellos sistemas de suministro de fármacos que producen su liberación lenta por un período prolongado de tiempo. Según FNA en su 7ma edición estos sistemas se pueden categorizar como[1]:

De acción sostenida: Son aquellos preparados que entregan inicialmente el medicamento en cantidad necesaria para alcanzar la respuesta farmacológica deseada en forma rápida, y luego, en cantidad adecuada para que la velocidad de absorción sea igual a la de eliminación durante un período prolongado, que puede llegar a ser de 10 a 12 horas.

De acción prolongada: Corresponde a aquellas formulaciones en que el medicamento se entrega inicialmente en la cantidad suficiente para la acción o en un exceso no perjudicial para el organismo. El medicamento se libera luego, en forma lenta a una velocidad no siempre igual a la de eliminación.

De acción retardada: El fármaco no se libera inmediatamente después de la administración, teniendo un tiempo de latencia hasta que la droga es liberada.

De acción repetida: Estas formulaciones proporcionan inicialmente una dosis simple de principio activo, y a un tiempo posterior, otra dosis similar.

En la figura 1.1 se muestran los perfiles de liberación de estos SLM.

Estos sistemas, que pueden ser diseñados para las distintas vías de administración, requieren para su desarrollo del conocimiento detallado de las propiedades fisicoquímicas del fármaco y del producto que se formula. Su diseño utiliza además el conocimiento detallado de los eventos biofarmacéuticos, farmacocinéticos y farmacodinámicos que desencadena su administración.

[1] Farmacopea Nacional Argentina 7ma Edición pg.227. 2003

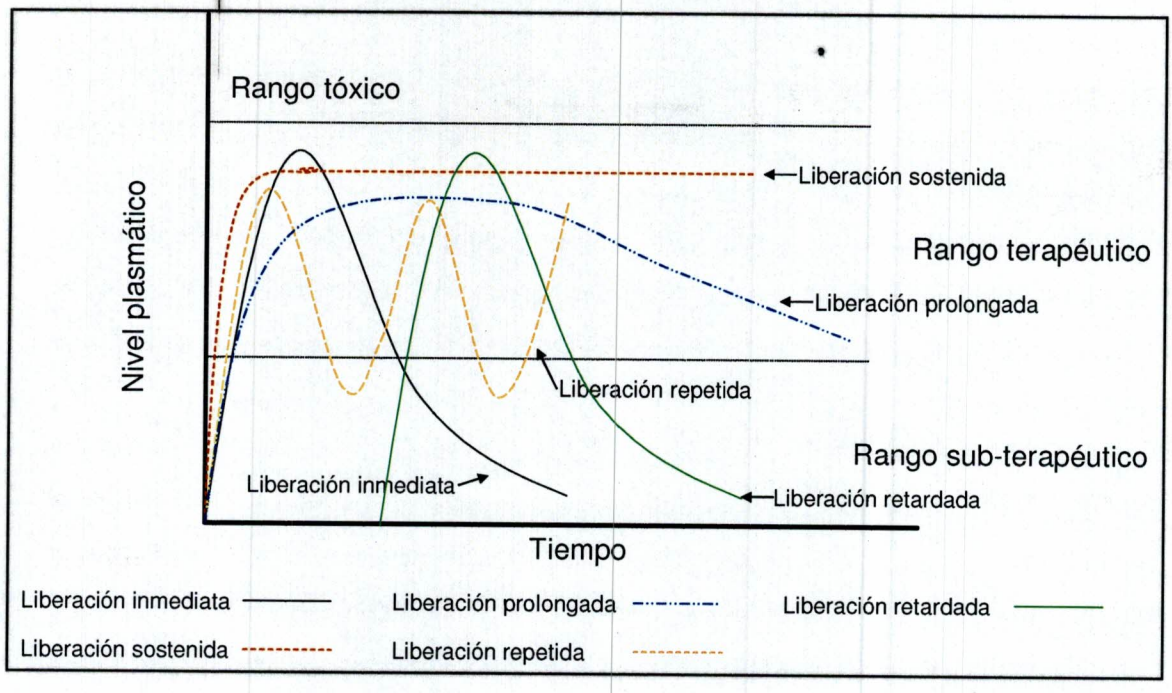


Figura 1.1: Perfiles de liberación de los distintos SLM.

Existen diferentes aspectos de los fármacos que influyen significativamente en el diseño de sistemas terapéuticos y determinan la selección de los materiales para el desarrollo de los mismos. Tales aspectos pueden ser de índole biológica, fisicoquímica u otras particulares que dependen de la variación inter-individuo[2].

Entre los factores biológicos podemos citar: la vida media de los fármacos, absorción, metabolismo, margen de seguridad y efecto terapéutico.

En cuanto a los factores fisicoquímicos se debe considerar: solubilidad acuosa, grupos ionizables, pKa, propiedades hidrofílicas y lipofílicas, características del sólido y estabilidad.

Por otra parte, existen algunas consideraciones relacionadas a la factibilidad del diseño racional de un SLM que originan la secuencia natural de desarrollo del producto:

Preformulación: durante esta etapa se estudian las propiedades físicas y químicas específicas del fármaco y posibles aditivos para la formulación, teniendo en cuenta la vía de administración que se propone, la forma farmacéutica a utilizar, la dosis, intervalo de dosificación y duración del tratamiento. También deben tenerse en cuenta los aspectos de

[2] Modified release drug delivery systems in: The Pharmaceutical Codex. Incorporating the British Pharmaceutical Codex, 11va edición, Londres, pg. 208-218. 1994

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

estabilidad exigidos tanto para el principio activo puro como en mezclas con los potenciales excipientes.

Se evalúa la capacidad y efectividad de carga del sistema, en general un nuevo SLM debería tener la misma dosis de fármaco que el sistema convencional, o menor en aquellas situaciones donde se verifique que el portador mejora la biodisponibilidad del principio activo. Se estudia la interacción portador-sistemas biológicos, los excipientes no deben interaccionar con el entorno biológico, *pero si de una posible interacción se mejora o modifica la liberación del fármaco, éstos tendrán un rol importante para lograr el efecto deseado.*

Formulación: conociendo las propiedades físicas y químicas relevantes que determinan la eficacia y seguridad del sistema seleccionado, se pasa a la siguiente etapa donde se evalúan y definen: las potenciales fórmulas cuali-cuantitativas y la estabilidad física y química del sistema desarrollado y de la droga durante el almacenamiento. Los estudios biofarmacéuticos tienen un rol importante, ya que proporcionan los datos necesarios para diseñar un medicamento tan eficaz como sea posible. Mediante los estudios *in vivo* se obtiene información sobre: (*a*) la aparición de efectos secundarios vinculados a la *seguridad* del medicamento y (*b*) su comportamiento en diferentes individuos, con el objeto de determinar las variaciones interindividuales, calificando la situación en términos de *confiabilidad.*

Salto de escala*:* es necesario que el desarrollo de los productos farmacéuticos considere la elaboración a escala industrial, manteniendo las características definidas durante las etapas previas o modificando aquéllas, que como consecuencia de un mayor volumen de manejo, atentan contra la calidad del producto. En esta etapa se deben definir las técnicas de elaboración y control del producto en el diseño.

Aseguramiento de la calidad*:* en todo momento se debe tener en cuenta la obtención de un producto de máxima calidad, cumpliendo con los estándares fijados por la autoridad sanitaria, pero no sólo dirigido al producto final, sino que en cada una de las operaciones que componen el proceso se debe garantizar la calidad del producto cumpliendo con las normas de buenas prácticas de elaboración.

1.1.1 Tipos de Sistemas de Liberación

Los sistemas de liberación modificada de fármacos son diseñados principalmente para la administración oral o transcutánea de fármacos para alcanzar efectos a nivel sistémico. En los últimos años se han desarrollado sistemas con potencial utilidad tanto a nivel sistémico como local para administración nasal[3,4], bucal[5,6], oftálmica[7], rectal y vaginal[8]. Estos pueden presentarse bajo diferentes formas: como semisólido o dispersión (geles, hidrogeles, suspensiones, emulsiones, pomadas y ungüentos) y bajo la forma de sólido (particulado, multiparticulado o compactado). En las primeras, se aprovechan en general las propiedades en dispersión que aportan polímeros, tensioactivos, etc., como agentes viscosantes, solubilizantes, acomplejantes, etc., para modificar la liberación del fármaco formulado.

Bajo la forma sólida se dispone de una variedad de sistemas, entre ellos, los que operan mediante mecanismos de disolución-difusión del fármaco son los más desarrollados como consecuencia de su relativa facilidad de producción y menor costo en comparación con otros[9].

Los sistemas de liberación modificada de fármacos se pueden clasificar de acuerdo con el mecanismo mediante el cual se modula la liberación (tabla 1.1):

---

[3] L., Illum. Bioadhesive formulations for nasal peptide delivery. En: E., Mathiowitz, D.E., Chickering III, y C-M., Lehr. Bioadhesive drug delivery systems. Capítulo 19, Marcel Dekker Inc., New York, pg. 507-540. 1999

[4] L., Illum. Nasal drug delivery-possibilities, problems and solutions. J. Control. Release. 87, pg. 187-198. 2003

[5] Y., Machida and T., Nagai. Bioadhesive preparation as topical dosage forms. En: E., Mathiowitz, D.E., Chickering III and C-M., Lehr. Bioadhesive drug delivery systems. Capítulo 23, Marcel Dekker Inc., New York, pg. 641-658. 1999

[6] J-H., Guo and K., Cremer. Development of bioadhesive buccal patches. En: E., Mathiowitz, D.E., Chickering III, and C-M., Lehr. Bioadhesive drug delivery systems. Capítulo 20, Marcel Dekker Inc., New York, pg. 541-562. 1999

[7] K., Edsman, J.K., Carlforsy Harju. Rheological evaluation and ocular contact time of some carbomer gels for ophthalmic use. Int. J. Pharm. 137, pg. 233-241. 1996

[8] J.L., Richardson and T.I., Armstrong. Vaginal delivery of calcitonin by hyaluronic acid formulations. En: E., Mathiowitz, D.E. Chickering III, and C-M., Lehr. Bioadhesive drug delivery systems. Capítulo 21, Marcel Dekker Inc., New York, pg. 563-600. 1999

[9] G.M., Jantzen, and J.R., Robinson. Sustained and controlled release drug delivery systems. En: G.S., Banker, and C.T., Rhodes. Modern Pharmaceutics, 3rd ed. Capítulo 15. Marcel Dekker Inc., New York, pg. 575-609. 1996

SLM	Mecanismo	Características
Controlados por disolución	Liberación limitada por la velocidad de disolución del fármaco.	Se logra una cinética de liberación de orden cero. Alternativas que simulan una liberación controlada: sistemas con coberturas, pulsátiles, multicapas, etc. El sistema se disuelve completamente en el sitio de aplicación. Facilidad y bajo costo de producción
Sistemas de reservorio	Difusión controlada a través de una membrana inerte	Núcleo de fármaco rodeado por una membrana de polímero que controla la velocidad de liberación. Es posible lograr cinética de liberación de orden cero. Velocidad de liberación variable con el tipo de polímero. Puede ser físicamente removido desde los sitios de implantes. Dificulta la liberación de fármacos de altos PM. Alto costo de producción. Potencialmente tóxico si falla el sistema.
Sistemas matriciales	Difusión de fármacos a través de la matriz	Dispersión homogénea de fármaco en una mezcla de polímeros bajo la forma sólida. Apto para liberar fármacos de altos PM. Facilidad de producción. No se obtienen cinética de liberación de orden cero. Se debe remover la matriz remanente en caso de implantes.
Bioerosionables	Liberación modulada por erosión de la matriz	Dispersión homogénea de fármacos en una matriz erosionable. Tiene todas las ventajas de los sistemas de disolución. Dificultad del control cinético debido a la multiplicidad de los procesos involucrados. Se debe considerar la potencial toxicidad del polímero degradado
Intercambio iónico	Liberación de fármacos modulada por el intercambio con iones del medio.	La droga interacciona electrostáticamente con un polielectrolito entrecruzado insoluble en agua (resina). Apto para sustancias susceptibles al ataque enzimático. Se logran cinéticas de orden cero. Es dependiente de la presencia de iones en el medio de liberación.

Tabla 1.1: Clasificación de los distintos tipos de sistemas de liberación de fármacos.

1.2 Vías de Administración Alternativas

En la actualidad, alrededor del 70 % de los fármacos son vehiculizados en medicamentos (sistema portador de fármacos) que ingresan al organismo por vía oral, debido principalmente a la facilidad de administración.

Sin embargo, esta vía presenta una serie de problemas que pueden hacer que un número importante de drogas presente una terapia ineficiente y errática en muchos casos (ácido acetil salicílico, fluoruracilo, lidocaína, aldosterona, morfina, oxicodona, propranolol, clorpromazina, diltiazen, etc.). Algunas variables fisiológicas normales como el metabolismo gastro-intestinal y hepático (efecto de primer paso) pueden influir de forma determinante en la absorción de un fármaco. Además cuando un medicamento ingresa al organismo por vía oral, libera el fármaco, el cual toma contacto con el pH gástrico agresivo, sistemas enzimáticos, mucus, flora intestinal, bilis, etc. que pueden influir drásticamente en la estabilidad del fármaco[10,11].

A los fines de mejorar la biodisponibilidad de este tipo de drogas puede recurrirse a la estrategia de administrarlas por vías alternativas que no comprometan la estabilidad del fármaco (efecto de primer paso hepático, pH gástrico, etc.) (figura 1.2).

La administración intravenosa de fármacos requiere personal calificado e incluso en algunos casos la hospitalización del paciente. Por vía intramuscular o subcutánea, la dosis administrada puede sufrir su metabolización en el sitio de aplicación, a lo que se suma el riesgo de contraer infecciones. Es por esto que en la búsqueda de vías alternativas para la administración de fármacos aparecen las mucosas como blancos o *targets* de interés.

[10] G.S., Banker, C.T., Rhodes Eds., Modern Pharmaceutics, Marcel Dekker Inc. New York pg. 21, pg163. 1996

[11] A., Goodman Gilman, J.G., Haidman, P.B., Molinoff, F.W., Rudolon. Goodman & Gilman, Las bases Farmacológicas de la Terapéutica 9º Ed McGraw-Hill, Interamericana Ed., S.A. de C. V. México D. F. pg. 21. 1996

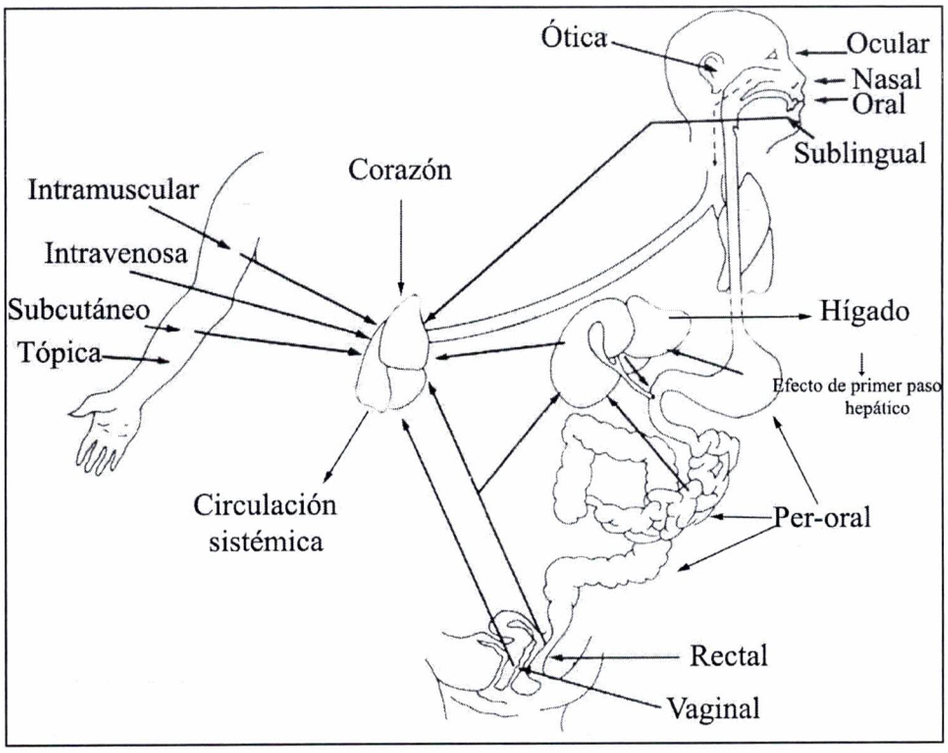


Figura 1.2: Vías de administración de fármacos.

1.2.1 Mucosas

La cavidad nasal ha sido largamente investigada como un posible sitio para la administración sistémica de drogas y esta ruta ya ha alcanzado, en algunos casos, un status comercial con diversas drogas como LH-RH (hormona luteinizante-factor liberador de hormonas) y calcitonina. Sin embargo, la potencial irritación y el daño irreversible sobre la acción ciliar de la cavidad nasal como consecuencia de la aplicación crónica de formas de administración nasal, así como también la gran variabilidad intra e inter sujeto en secreción de moco, pueden afectar significativamente la absorción de drogas en este sitio[12]. Las mucosas rectal, vaginal y ocular ofrecen ciertas ventajas con respecto a la mucosa nasal, pero la pobre aceptación por parte del paciente asociada a estos sitios, hace que estas mucosas queden reservadas para aplicaciones locales más que para administración sistémica de drogas.

[12] A.H., Shojaei. Bucal mucosa as a route for systemic drug delivery: a review. J. Pharm. Pharmaceut. Sci. 1 (1) pg. 15-30. 1998

Es así que la mucosa bucal (área superficial de alrededor de 200 cm^2) aparece como una vía altamente aceptada por los pacientes. Esta mucosa posee un gran aporte sanguíneo (drenando directamente a la vena yugular), presenta actividad enzimática reducida comparada con la mucosa intestinal o rectal, es robusta y tiene un tiempo corto de recuperación luego del daño o stress. Además en la absorción transmucosal oral de fármacos se produce un by-pass de los efectos del primer paso hepático y evita la eliminación pre-sistémica en el tracto gastro-intestinal. Estos factores hacen a esta mucosa muy atractiva y un sitio apropiado para la administración sistémica de drogas[13]. Sin embargo, la continua secreción de saliva (0,5 a 2 litros/día) y deglución de la misma traen aparejado la constante dilución del fármaco administrado y la remoción del mismo, ya sea disuelto o en suspensión y por último la deglución involuntaria de la formulación[14].

Es por esto que para lograr una terapia exitosa (local o sistémica) se deben diseñar sistemas portadores de fármacos que logren sortear este tipo de inconvenientes. Una formulación diseñada para administración bucal debe contener agentes mucoadhesivos para mantener un contacto íntimo y prolongado de la formulación con el sitio de aplicación, en los que se requiera, agentes promotores de la penetración (enhancers), entre otros (inhibidores enzimáticos, modificadores del pH, saborizantes, etc.)[15].

1.3 Definición de Bioadhesión

El término bioadhesión describe la capacidad de ciertas macromoléculas, sintéticas o naturales, de adherirse a los tejidos del organismo[16]. Esta definición es probablemente suficiente para identificar el fenómeno de la simple adhesión. En efecto, todo material puede adherirse a un tejido biológico, sobre todo a las mucosas, gracias a la naturaleza viscosa de la capa que la recubre sin que en ello intervengan uniones específicas propias del polímero y del tejido. Por tanto no habrá bioadhesión real sin que se establezca una

[13]J.A.J., Hoogstraate, P.W., Wertz. Drug delivery via the buccal mucosa. PSTT 1 (7). pg. 309-316. 1998
[14]R.B., Fuentes, M.C., Vidal García, J. Orgeira Padín. Papel de los bioadhesivos en el tratamiento tópico de las enfermedades orales. Revista de la SMEG 486 (50). pg. 486-490. 2003
[15]S., Rossi, G., Sandri, C. M., Caramella. Buccal drug delivery: a challenge already won?. Drug. Discov. Today:Technologies. 2 (1). pg. 59-65. 2005
[16]D.E., Chickering III, W. Mathiowitz. Definitions, mechanisms and theories of bioadhesion. En: E., Mathiowitz, D.E., Chickering III, y C-M., Lehr, Bioadhesive drug delivery systems. Capítulo 1, Marcel Dekker Inc., New York, pp. 1. 1999.

interrelación entre algunas agrupaciones químicas concretas de los polímeros y los tejidos biológicos o interpenetración de cadenas.

Es por esto que el término Bioadhesión, en su definición más estricta, y la que atañe a este trabajo de tesis, hace referencia a la formación de uniones interfaciales entre dos superficies biológicas o entre una superficie biológica y una sintética[17].

En el caso de los sistemas bioadhesivos de administración de fármacos (SBAF), el término bioadhesión es comúnmente utilizado para describir las interacciones adhesivas entre los materiales que constituyen el sistema, ya sean de origen natural o sintético, y los tejidos biológicos llamados *blandos*. Estos tejidos están representados por las mucosas y es por esto que en muchos casos el término bioadhesión será considerado como sinónimo de mucoadhesión.

1.3.1 Mecanismos Involucrados en el Fenómeno de Bioadhesión

1.3.1.1 Interacciones mucoadhesivas

Para que el fenómeno de la bioadhesión se lleve a cabo, las moléculas de ambas superficies intervinientes deben formar uniones o interacciones químicas a través de la interfaz. Estas uniones se pueden formar por interacciones de diverso tipo según sea la naturaleza del compuesto, ya que la mucosa está formada mayormente por mucina. La explicación e interpretación del fenómeno de bioadhesión ha sido y es un tema extensamente estudiado, la bibliografía sobre este tópico es muy extensa[18,19,20,21].

Sin embargo todos los textos consultados postulan que el fenómeno de la bioadhesión se lleva a cabo gracias a diferentes interacciones que se van desarrollando en el momento mismo en que el polímero bioadhesivo toma contacto con la mucosa.

---

[17] N., Salamat-Miller, M., Chittchang, T.P., Johnston. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. Adv. Drug. Deliver. Rev. 57, pg. 1666-1691. 2005

[18] E., Mathiowitz, D.E., Chickering III, y C-M., Lehr. Bioadhesive drug delivery systems, Capítulo 1, Marcel Dekker Inc., New York. 1999

[19] D. Duchêne, G. Ponchel. Bioadhesion of solid oral dosage forms, why and how. European Journal of Pharm. and Biopharm. 44 15-23. 1997.

[20] I.C., Rodríguez, A., Cerezo, I.I., Salem. Bioadhesive delivery systems. Ars Pharmaceutica, 41:v1. pg. 115-128, 2000

[21] J., Haas, C-M., Lehr. Developments in the area of bioadhesive drug delivery systems. Expert Opin. Biol. Ther. 2(3). pg. 287-298. 2002

1.3.1.2 Interacciones Responsables de la Mucoadhesión.

Interacciones físicas o mecánicas. Se producen a través del contacto íntimo entre el polímero bioadhesivo (A) y la superficie irregular del mucus (B), según el esquema de la figura 1.3. En la interfaz de contacto se origina una interpenetración de las moléculas del polímero en el gel del mucus y viceversa, dando lugar a uniones semi-permanentes, no específicas, que si bien no pueden ser consideradas de importancia en bioadhesión, suponen una primera fase que promueve la posterior interacción química propiamente bioadhesiva. La fluidez y flexibilidad molecular del polímero, la viscosidad del bioadhesivo y la rugosidad del substrato, son factores determinantes para configurar adecuadamente esta interfaz bioadhesiva. Por otro lado este fenómeno, es tiempo dependiente, ya que requiere la difusión de las moléculas del polímero y la formación de entramados entre las cadenas (figura 1.3).

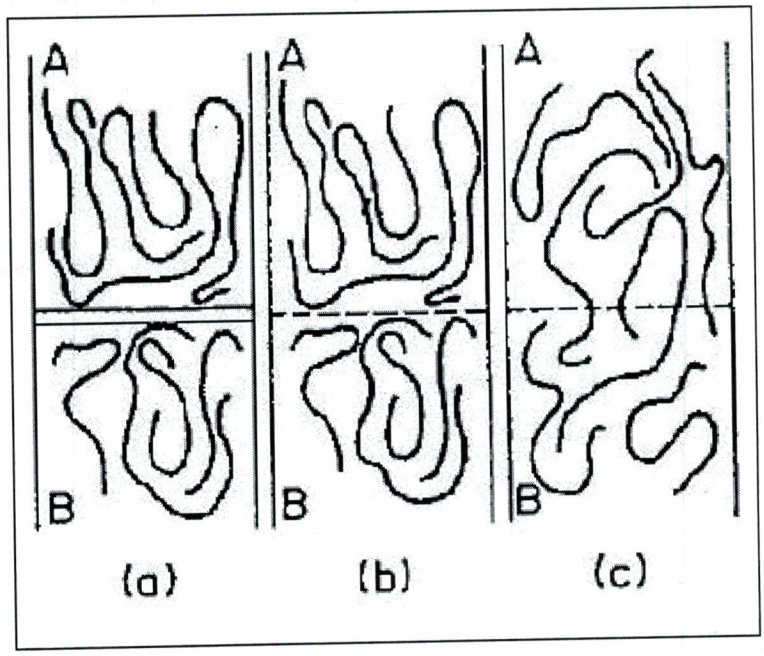


Figura 1.3: Modelo representativo de la interpenetración molecular del polímero bioadhesivo A, con las glicoproteínas del mucus B. (a) (b) y (c) representan sucesivos estadios de acercamiento, contacto superficial e interpenetración polímero mucoadhesivo/glicoproteínas del mucus.

Interacciones o enlaces químicos. El establecimiento de enlaces químicos primarios, tipo covalente o iónico, entre las dos entidades reaccionantes originan enlaces muy estables de

interés en campos como odontología y ortopedia. Bajo el punto de vista de la bioadhesividad los enlaces químicos secundarios (enlaces interfaciales), de menor energía, poseen características más idóneas para la bioadhesión por su transitoriedad.
La interacción entre dos de estas moléculas es el resultado de fuerzas de atracción y repulsión. La cuantía de estos dos fenómenos determina si interaccionan o no. Para que pueda ocurrir mucoadhesión, la interacción atractiva debe ser mayor que la repulsión no específica. Las interacciones atractivas provienen de las fuerzas de Van der Waals, atracción electrostática, enlaces de hidrógeno e interacción hidrófoba. Las interacciones repulsivas ocurren por la repulsión electrostática y estérica.
A su vez se puede hacer la siguiente clasificación:

Interacciones electrostáticas: estas pueden ser de igual carga o de distinta carga.
Las interacciones electrostáticas atractivas entre polielectrolitos de cargas contrarias en medio acuoso, conducen a la formación de complejos insolubles. La interacción de las moléculas de mucina con los polianiones depende del pH del medio. Por el contrario, dos polielectrolitos de igual carga se repelen. Las moléculas de mucina se cargan negativamente a pH 7 debido a los grupos ácido del siálico y los sulfatos[22]. A pH 7, la mayoría de los polielectrolitos aniónicos, como por ejemplo el ácido poliacrílico, se ionizan por lo que la interacción con la mucina a pH 7 es fuertemente repulsiva.

Dentro de este tipo de interacciones podemos encontrar:

Las fuerzas de Van der Waals: están siempre presentes entre las moléculas, incluso cuando éstas son totalmente neutras. Están involucradas en un número importante de fenómenos como adhesión, tensión superficial, adsorción, agregación de las partículas en solución acuosa, etc. Puesto que la energía de interacción es inversamente proporcional a la sexta potencia de la distancia entre las moléculas, la interacción disminuye rápidamente con la distancia.
A su vez estas fuerzas pueden ser divididas en:
Fuerzas de dispersión de London: Estas fuerzas implican la atracción entre dipolos inducidos temporalmente. Esta polarización puede ser inducida por una molécula polar o

[22] I.C., Rodríguez, A., Cerezo, I.I., Salem. Bioadhesive delivery systems. Ars Pharmaceutica, 41:v1. pg. 115-128, 2000

por la repulsión de una nube de electrones cargados negativamente en moléculas no-polares

Interacciones dipolo-dipolo: son interacciones que se desencadenan entre dos moléculas con dipolos permanentes, estas fuerzas trabajan de forma similar a la insteracciones iónicas, pero más débiles debido a que solo esta involucrada una carga parcial.

Enlaces de tipo puente hidrógeno: La formación de múltiples enlaces de hidrógeno entre dos macromoléculas hidrosolubles aumenta la fuerza de interacción intermolecular de forma que podría conducir, en algunos casos, a la precipitación desde su estado de solución. Los grupos carboxilos de los polímeros en forma no ionizada son responsables de la formación de puentes de hidrógeno, por ello, de acuerdo con su pKa, el pH del medio determinará la posibilidad del establecimiento de este tipo de interacciones. La presencia de un número determinado de grupos carboxilos no disociados es necesaria para la formación de complejos estables mediante puentes de hidrógeno.

Además en el fenómeno de bioadhesión podemos encontrar:

Interacciones hidrofóbicas*:* son interacciones de tipo "indirectas" que ocurren cuando existen grupos no-polares en soluciones acuosas. Las moléculas de agua adyacentes a estos grupos no-polares forman estructuras unidas por interacciones de tipo puente hidrógeno, esto provoca una disminución en la entropía del sistema, lo que lleva a que aumente la tendencia de esos grupos a asociarse con otros grupos del mismo tipo para disminuir este efecto.

Uniones disulfuro: las uniones disulfuro, también llamadas puente disulfuro, es una unión covalente fuerte entre dos grupos sulfridrilos. La oxidación del grupo tiol trae aparejado la aparición de la unión disulfuro. Estas son las interacciones que plegan y dan forma a las proteinas.

Fuerzas de hidratación: son fuerzas de corto alcance, y son interacciones repulsivas que se originan por la formación de uniones de moléculas de agua a la superficie, estas interacciones suelen darse entre fosfolípidos y superficies sólidas bajo ciertas condiciones

Repulsión estérica: En ausencia de interacciones atractivas fuertes (atracciones iónicas, puentes de hidrógeno, interacciones hidrófobas o combinaciones de estas) las moléculas de polímero tienden a repelerse por interacciones estéricas.

En suma, el proceso de mucoadhesión involucra a tres zonas: a) la superficie del sistema mucoadhesivo, b) la superficie de la mucosa biológica y c) la capa interfacial entre las dos superficies, la cual está integrada originariamente por mucus (al menos al inicio). Un íntimo contacto entre el mucus y la sustancia bioadhesiva inicia el proceso que es seguido por interdifusión (entrelazamiento) e interpenetración de ambas fases (mucus y sustancia adhesiva) formando varios enlaces que comprenden interacciones electrostáticas e hidrofóbicas, puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals.

1.3.2 Teorías Sobre el Fenómeno de Bioadhesión

El estudio de la adhesión en general no es una ciencia nueva. Las mismas teorías que se postulan en los mecanismos de adhesión de los pegamentos, adhesivos, pinturas, etc. pueden y deben ser aplicadas para los sistemas bioadhesivos. En la actualidad existen numerosas teorías que explican este fenómeno, algunas postulan que las interacciones son mayormente mecánicas y otras consideran que las interacciones son mayoritariamente químicas.

1.3.2.1 Teoría electrónica:

Esta teoría sugiere que ocurre una transferencia de electrones[23,24] cuando se ponen en contacto el material bioadhesivo y su sustrato biológico, debido principalmente a las diferencias en sus estructuras electrónicas, esto causa la formación de una doble capa de cargas eléctricas en la interfaz bioadhesivo-sustrato biológico. La adhesión se produce debido a las fuerzas atractivas que se crean a través de esta doble capa eléctrica.

1.3.2.2 Teoría de adsorción:

La teoría de adsorción establece que las uniones bioadhesivas que se forman entre un polímero y la mucosa o tejido son consecuencia de la formación de interacciones de Van der Waals, puente hidrógeno y fuerzas relacionadas. Se sabe que estas fuerzas de por si, individualmente son débiles, sin embargo la sumatoria de cada una de estas interacciones se convierte en una fuerza adhesiva considerable.

---

[23] J.D. Smart. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. Advanced Drug Delivery Reviews 57, 11 , 3 pg 1556-1568. 2005.

[24] R.P., Ahuja, and J. Ali, Mucoadhesive drug delivery systems, Drug Dev. Ind. Pharm. 23, pg. 489–515. 1997

1.3.2.3 Teoría de mojado (wetting):

Esta teoría se aplica sobre todo a sistemas líquidos y considera las energías superficiales e interfaciales. Implica la capacidad de un líquido de expandirse espontáneamente sobre una superficie como requisito previo para el desarrollo de la adherencia. La afinidad de un líquido por una superficie se puede obtener utilizando técnicas tales como la medición del ángulo del contacto entre el líquido y la superficie, siguiendo la regla general que cuanto más bajo es el ángulo de contacto, mayor es la afinidad del líquido al sólido. El coeficiente de expansión (S_{AB}) se puede calcular de las energías superficiales del sólido y de los líquidos usando la ecuación 1.1:

$$S_{AB} = \gamma_B - \gamma_A - \gamma_{AB} \qquad \text{ec. 1.1}$$

Donde γ_A es la tensión superficial (energía) del líquido, γ_B es la energía superficial del sólido B y γ_{AB} es la energía interfacial entre el sólido y el líquido. Si S_{AB} es positivo el líquido se expande espontáneamente sobre el sólido[25].

Durante este proceso el polímero, debido a su interacción con el líquido, va adoptando nuevos estados (sólido o semisólido) y dependiendo de este estado va a ser diferente la difusión del líquido hacia el interior del sistema y por ende la formación de las uniones bioadhesivas.

1.3.2.4 Teoría de difusión:

El concepto de interpenetración y "enredo" de las cadenas del polímero y la mucina produce una fuerza adhesiva semi-permanente. La penetración de las cadenas poliméricas dentro de la capa de mucus y viceversa depende del gradiente de concentración y del coeficiente de difusión como así también del largo de la cadena polimérica y de la movilidad de las mismas.

De este modo, el fenómeno de bioadhesión comprende procesos como (figura 1.4):

- Contacto íntimo entre la formulación (ya sea geles, films, comprimidos, etc.) y la mucosa. Este contacto íntimo es necesario, para lograr una adecuada humectación del polímero (utilizando la humedad natural de la mucosa), lo que trae aparejado la aparición de un segundo fenómeno, que es el "hinchamiento" de los polímeros interactuantes. Con esto último, se logra una relajación de las cadenas

[25] J.D., Smart. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. Advanced Drug Delivery Reviews 57, 11, 3, pg 1556-1568. 2005.

poliméricas, las cuales se "interpenetran" con las cadenas poliméricas de la mucosa (mucina).

- Formación de uniones interfaciales entre las cadenas de ambos polímeros (entre los polímeros de los SBAF y la mucina), estas uniones son de tipo secundario como son las fuerzas electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, puentes hidrógenos, interacciones hidrofóbicas.

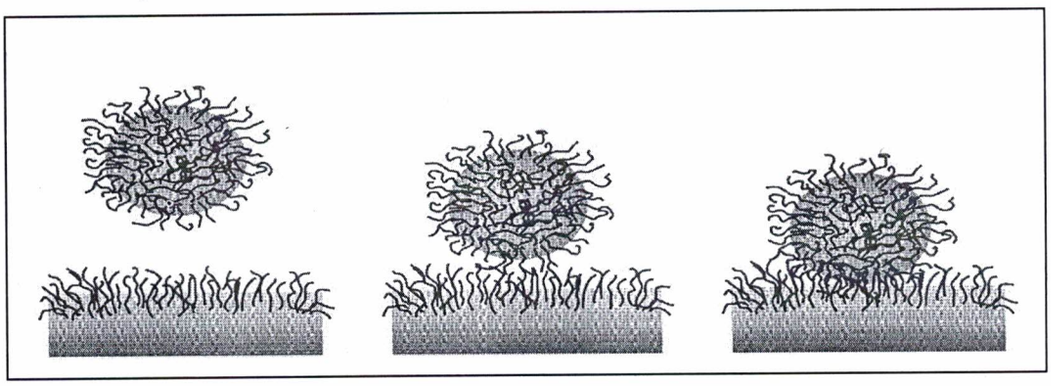


Figura 1.4: Esquema de la formación de uniones bioadhesivas entre una formulación polimérica y la mucina presente en la mucosa.

1.3.3 Características Generales de los Materiales que Presentan Propiedades Adhesivas.

La adecuada selección de los materiales es uno de los pasos más importantes para el diseño racional de sistemas terapéuticos.

Es así, que los materiales a utilizar en el diseño de SBAFs, deben poseer ciertas características particulares, las cuales van a posibilitar la formación de la uniones adhesivas entre las mucosas y el sistema.

1.3.3.1 Requisitos generales para la selección de materiales.

Peso molecular: en general, se ha demostrado, que la fuerza bioadhesiva de los materiales (en su gran mayoría estos materiales son de tipo poliméricos) aumenta cuando sus pesos moleculares se encuentran por encima de los 100.000 Da. Es claro que cada polímero se comporta de manera distinta en cuanto a esta característica. Es conocido que existe un rango de tamaño (peso molecular) a partir del cual la adhesión comienza a disminuir, principalmente por el efecto estérico que provoca una molécula demasiado

grande. Tiwari et al. ha demostrado que para polioxietileno, la fuerza de adhesión es máxima en un rango de peso molecular entre 200,000 y 7,000,000[26].

Flexibilidad: el fenómeno de bioadhesión comienza con la difusión de las cadenas poliméricas en la región interfacial (figura 1.3). Por lo tanto es de suma importancia que estas cadenas poliméricas tengan un grado substancial de flexibilidad para lograr la interacción deseada con los componentes de la mucina.

Capacidad de formar puentes hidrógeno: como se expusiera anteriormente, la formación de estos enlaces es de gran importancia para la formación de las uniones adhesivas. Por ende, la presencia de grupos capaces de lograr la formación de estas interacciones (–COOH, –NH, etc.) es fundamental en las cadenas poliméricas.

Densidad de entrecruzamiento: el tamaño promedio de poro, el peso molecular promedio del polímero y la densidad de entrecruzamiento son tres parámetros importantes que interrelacionan los parámetros estructurales de la red polimérica. Si la densidad de entrecruzamiento es demasiado alta, la difusión de agua a través del polímero va a ser lenta, lo que podría causar un hinchamiento insuficiente del polímero y así disminuir notablemente la interpenetración de las cadenas poliméricas de la matriz con las de la mucina[27].

Carga: Se puede hacer una aproximación exagerada y postular que aquellos polímeros no-iónicos van a poseer menores propiedades adhesivas que los polímeros iónicos. Ya que es conocido que polímeros aniónicos (ácidos poliacrílicos) y catiónicos (Quitosano) poseen excelentes propiedades bioadhesivas (teoría electrónica).

Concentración: este es un factor determinante para los fenómenos de bioadhesión. Una aproximación simple podría ser que a mayor cantidad de cadenas poliméricas del adhesivo, mayor va a ser la cantidad de entrelazamientos con las cadenas poliméricas de la mucina. Cuando la concentración del polímero adhesivo es baja, el número de interpenetraciones por unidad de volumen en la interfaz polímero-mucina es muy bajo, por lo cual la fuerza de adhesión también es baja.

---

[26] D. Tiwari, D. Goldman, R. Sause and P.L. Madan, Evaluation of polyoxyethylene homopolymers for buccal bioadhesive drug delivery device formulations, AAPS PharmSci 1 pg. E13. 1999

[27] J.-M. Gu, J.R. Robinson and S.-H.S. Leung, Binding of acrylic polymers to mucin/epithelial surfaces: structure–property relationships, Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst. 5 pg. 21–67 1998.

Hidratación: la hidratación del polímero es requerida para que el mismo se expanda y aumente la movilidad de sus cadenas para provocar la interpenetración polimérica con el mucus. Sin embargo existe un punto crítico de hidratación en donde el hinchamiento y la bioadhesión son óptimos. Superado este punto el hinchamiento es demasiado y la bioadhesión disminuye.

Factores ambientales: que el fenómeno de bioadhesión se lleve a cabo, no solo depende del polímero que forma parte del sistema, sino que también depende de los factores ambientales adyacentes al polímero. El pH del medio que rodea al polímero puede alterar su estado de ionización y por ende sus propiedades de adhesión. Otro punto importante a considerar es la ***renovación del epitelio***, sitios con alto *turn-over* celular provocan que el tiempo de residencia en el sitio de aplicación sea limitado (tracto gastro-intestinal). Aquellas mucosas que sufren estrés permanente como ingesta de alimentos (materiales sólidos y líquidos, movimientos masticatorios, etc.) causan una disminución importante del tiempo de adhesión.

1.3.4 Clasificación de los polímeros con propiedades adhesivas

En general, los polímeros adhesivos pueden ser clasificados como: naturales o sintéticos; solubles o insolubles en agua; polímeros cargados o neutros. En la tabla 1.3 se muestran ejemplos de esta clasificación.

Criterio	Categorías	Ejemplos
FUENTE	Naturales /semi-sintéticos	Agarosa, Quitosano, Gelatina, Ácido hialurónico, goma guar, xantano, pectina, etc.
	Sintéticos	**Derivados de celulosa**: CMC, CMC-Na, HPMC, HEC, etc. **Polímeros con base de Poli(ácido-acrílicos):** CB, poliacrilatos, PEG, etc. **Otros:** polioxietileno, PVP, PVA, etc.
SOLUBILIDAD ACUOSA	Solubles en agua	CB, HEC, CMC-Na, etc
	Insolubles en agua	Quitosano, EC, PC, etc.
CARGA	Catiónicos	Quitosano, aminodextranos, etc.
	Aniónicos	CB, CMC, alginato de sodio, CB
	No-iónicos	PVA, PVP, etc.
POTENCIALES ENLACES BIOADHESIVOS	Covalente	Cianoacrilatos
	Puente hidrógeno	CB, CB, PVA, etc.
	Interacciones electrostáticas	Quitosano insoluble en agua a pH neutro, soluble a pH ácido

Tabla 1.3: Clasificación y algunos ejemplos de polímeros utilizados en la formulación de SBAF.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Generales

Diseñar y formular nuevos SBAF con potencial aplicación en terapéutica abordando la problemática de un modo integral ponderando la eficacia, seguridad y confiabilidad de los mismos.

2.2 Objetivos Específicos

En el caso puntual del diseño, formulación y evaluación de una nueva forma farmacéutica resulta difícil desglosar los objetivos perseguidos en función del tiempo requerido (corto, mediano y largo plazo) ya que dependiendo de los resultados que se vayan obteniendo va a ser el grado de avance y cumplimiento de estos objetivos.
Sin embargo, se establecieron los siguientes objetivos específicos para el desarrollo de este proyecto.

- Diseño de sistemas bioadhesivos en forma de comprimidos y films para el tratamiento de infecciones bucales mediante la selección de excipientes y procesos.
- Optimización de los SBAF´s diseñados.
- Evaluación biofarmacéutica.

2.3 Antecedentes sobre sistemas bioadhesivos

El nacimiento de las formas farmacéuticas bioadhesivas puede situarse temporalmente en 1947 con el uso de una mezcla de goma tragacanto y polvos adhesivos dentales en la que incorporaban penicilina para uso odontológico. Posteriormente, se desarrolla el Orahesivo (carboximetilcelulosa sódica, pectina y gelatina) y Orabase (mezcla de carboximetilcelulosa sódica, pectina y gelatina en una base de aceite mineral/polietileno), ambas formulaciones bioadhesivas para la cavidad oral[28]. En los años 70, entre otros

[28] H. Batchelor. Novel bioadhesive formulations in drug delivery. The drug delivery companies report autumn. Winter 2004. PharmaVentures LTD. 2004

investigadores, se destacan Chen J.L. y Cyr G.N. por sus trabajos en mucoadhesión. En este período ya se consiguieron preparados mucoadhesivos eficaces. En la década de los ochenta se llevó a cabo una amplia y sistemática investigación en el tema, estudiándose las limitaciones que imponen las variables fisiológicas de los diferentes lugares de aplicación.

En la actualidad son numerosos los grupos de investigadores[29] que abocan sus esfuerzos en la búsqueda de sistemas bioadhesivos con adecuadas características para el tratamiento de diversas patologías (tabla 2.1).

Fármaco	**Polímero**	**Investigadores**
Acitretin	CB 934P y HPMC	Gaeta et al.
Carbamazepina	HPMC y CB	İkinci et al.
Chlorhexidina	Quitosano y alginato sódico	Giunchedi et al.
Chlorfeniramina	Hakea gum	Alur et al.
Cianocobalamina	Polioxietilen	Tiwari et al.
Danazol	PC o HPMC	Jain et al.
Diltiazem HCl	CB 934P y HPMC	Singh y Ahuja
Diltiazem HCl	CB 934, HPC, HPMC o PVP K30	Ahuja et al.
Ergotamina	Carboxivinil polímero y HPC	Tsutsumi et al.
Glucagon	Poli(etilene oxido) y CB	Gutniak et al.
Hydrocortisona	HPMC, CB 974P, o PC	Ceschel et al.
Insulina	CB 934 con HPC o HPMC	Hosny et al.
Insulina	CB 934 y HPC	Ishida et al.
Lidocaina HCl	CB 934P, sodio CMC, y PVP K30	Parvez et al.
LHRH	PVP K30, PVP K90, CB 934P	Nakane et al.
Metronidazol	HPMC, sodio CMC, y CB 934P	Ahuja et al.
Miconazol	HPMC, CMC, CB 934P, y alginato de sodio	Mohammed et al
Morfina	HPMC y CB	Anlar et al.
Nicotina	CB 934 y HPC	Park y Munday
Nicotina	CB 974P, alginato de sodio, y HPMC	İkinci et al.
Nifedipina	CMC y CB	Varshosaz y et al
Nifedipina	Alginato de sodio, PVP, y PEG	Save et al.

[29] N. Salamat-Miller, M. Chittchang, T.P. Johnston. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. Advanced Drug Delivery Reviews 57, 11, 1666-1691. 2005.

Omeprazol	Alginato de sodio, HPMC	Choi et al.
Piroxicam	HPMC y CB 940	Jug et al
Propranolol	HPMC, y HPC	Çelebi y Kişla
Propranolol HCl	HPMC y PC	Akbari et al.
Testosterona	Almidón pregelatinizado y CB 974P	Voorspoels et al.
Triamcinolona	CB 934P y sodio CMC	Ali et al.
Sulfato de Zinc	EC y Eudragit®	Diarra et al

Tabla 2.1: Ejemplos de sistemas bioadhesivos bajo estudio.

Los resultados obtenidos en este tipo de investigaciones han llamado la atención de la industria farmacéutica. Informes recientes[30], sugieren que la cuota de mercado de los sistemas adhesivos bucales está aumentando tanto en el mercado americano como en el europeo con un índice de crecimiento constante del 10%. Algunas de las formulaciones adhesivas bucales comercialmente disponibles se enumeran en la tabla 2.2.

Nombre comercial	**Polímero bioadhesivo**	**Compañía**	**Forma Farmac.**
Buccastem	PVP, goma xantano	Rickitt Benckiser	Comprimido
Suscard	HPMC	Forest	Comprimido
Gaviscon liquid	Alginato de sodio	Rickitt Benckiser	Líquido
Orabase	Gelatina, pectina	ConvaTech	Pasta oral
Corcodyl gel	HPMC	Glaxo Smith Kline	Gel
Corlan pellets	Acacia	Celltech	Pellets
Luborant	CMC sódica	Antigen	Saliva artificial
Saliveze	CMC sódica	Wyvern	Saliva artificial

Tabla 2.2: Sistemas bioadhesivos disponibles (comercialemente) en la actualidad.

Es evidente que el número de formulaciones bioadhesivas existentes es ínfimo comparado con las gran oferta de formulaciones convencionales que existen en la actualidad.

Como se mencionara anteriormente, estos sistemas están siendo muy estudiados a nivel mundial, sin embargo son pocas las formulaciones que llegan a ser comercializadas.

[30] B. Jasti, X. Li, G. Cleary. Recent advances in mucoadhesive drug delivery systems. Business briefing: Pharmatech. 2003. www.touchbriefings.com

A su vez muchos de estos nuevos productos en etapa de investigación están siendo diseñados para obtener formulaciones como soluciones, geles y micropartículas, lo cual posee innumerables inconvenientes.

Las preparados formulados en forma de soluciones, sufren una rápida eliminación de la zona de aplicación, por lo que no pueden ser categorizados como sistemas de liberación modificada (escaso tiempo de permanencia en el sitio de aplicación)[31]. La formulación en forma de geles, al igual que las soluciones, acarrea un grave problema de inestabilidad para un gran número de fármacos de gran interés como lo son algunos péptidos y proteínas[32].

Por otro lado la formulación de polvos y micropartículas requiere de dispositivos sofisticados para su administración y dosificación. Además, los sistemas micropartículados presentan inconvenientes adicionales tales como necesidad de equipamiento especial (manufactura y caracterización) y alto costo de producción; lo que lleva a la industria farmacéutica a desestimar este tipo de formulaciones.

De este modo en este trabajo de tesis se propone el estudio, diseño y formulación de nuevos sistemas bioadhesivos en forma de comprimidos y films, los que reportarían ventajas en comparación a los sistemas antes mencionados tales como:

En el caso de comprimidos: procesos de manufactura económico y accesible, dosificación precisa, gran estabilidad tanto del fármaco como de la formulación, etc.

En el caso de los films: además de poseer las ventajas de lo que se podría denominar como un clásico sistema de administración de fármacos bioadhesivos, estas formulaciones ofrecen potenciales ventajas en cuanto a su flexibilidad, lo que facilita la aplicación de la formulación en sitios en los que los comprimidos serían imposible aplicar o muy incómodo para el paciente.

Con este trabajo de investigación, se pretende contribuir a la adquisición de conocimientos básicos y prácticos, en lo que respecta al diseño, preformulación, formulación y evaluación de estos sistemas.

---

[31] R. J. Soane, M. Hinchcliffe, S. S. Davis and L. Illum. Clearance characteristics of Quitosano based formulations in the sheep nasal cavity. Int. J. Pharm. 217, 1-2, pg. 183-191, 2001.

[32] W., Wang, Instability, stabilization and formulation of liquid protein pharmaceuticals. INt. J. Pharm. 185, pg. 129-188. 1999

3. RACIONALIDAD EN EL DISEÑO DE SISTEMAS BIOADHESIVOS

3.1 Consideraciones Generales

El objetivo principal de este trabajo, como su título lo indica, fue el diseño de formulaciones bio/mucoadhesivas para la administración de fármacos por vías alternativas, es decir, la obtención de nuevos sistemas portadores de fármacos capaces de superar los inconvenientes de las formulaciones tradicionales en el tratamiento de ciertas patologías. Un claro ejemplo de esto es representado por *Candidiasis bucal,* ya que es una patología que presenta dificultades en cuanto a su tratamiento fármaco-terapéutico. Esto está asociado al limitado tiempo de permanencia de las formulaciones utilizadas como geles, enjuagues, etc. y debido a las características del sitio de aplicación más comúnmente utilizado: la mucosa bucal.

Es por esto que resulta importante para la concreción de este trabajo de tesis, conocer detalladamente no solamente las características relacionadas a la farmacotecnia del sistema, sino también otros aspectos tales como vía de administración, patologías, etc.

3.2 Vía de Administración.

La mucosa bucal ha sido muy estudiada y utilizada como sitio de administración de fármacos tanto para aplicación sistémica como local. La terapia local es utilizada para el tratamiento de lesiones de la cavidad bucal como caries, gingivitis, enfermedad periodontal, xerostomía y afecciones de la mucosa bucal como candidiasis, aftas, herpes, leucopenias y otros. También se ha utilizado la mucosa bucal para la administración de fármacos por vía sistémica (transmucosal) para el tratamiento de un gran número de patologías[33].

A diferencia de lo que ocurre en la administración per-oral, la utilización de la mucosa bucal provee al fármaco un ambiente menos hostil (el fármaco no tiene contacto con el pH gástrico agresivo, sistemas enzimáticos, mucus, flora intestinal, bilis, etc.). Además

[33] J.A.J. Hoogstraate, P.W., Wertz. Drug delivery via the buccal mucosa. PSTT 1 (7). pg. 309-316. 1998

los fármacos administrados por esta vía ingresan a la circulación sistémica evitando su degradación por el llamado *efecto de primer paso,* ya que drenan a las venas reticulada y yugular y luego ingresan a la circulación sistémica[34].

Como ya se mencionó anteriormente existen otras vías de administración alternativas como las mucosas rectal, nasal, ocular, pulmonar y vaginal, sin embargo la mucosa bucal ofrece una serie de ventajas, además de las ya mencionadas, con respecto a estas vías de administración (tabla 3.1).[35,36]

- Es una zona altamente vascularizada
- Accesible para la aplicación y remoción de la forma farmacéutica aplicada
- Altamente aceptada por parte del paciente

Sin embargo también se deben resaltar ciertas desventajas asociadas a esta vía de administración. Es una mucosa con relativamente baja permeabilidad, especialmente comparada con la membrana sublingual, y posee un área permeable de aproximadamente 170 cm^2, lo que representa un área superficial pequeña, sobre todo comparada con la mucosa intestinal. La continua secreción de saliva (0,5 a 2 litros/día) y deglución de la misma traen aparejado la constante dilución del fármaco administrado y la remoción del mismo, ya sea disuelto o en suspensión, y por último la deglución involuntaria de la formulación[37].

Es por esto que en el caso de administración local o sistémica (mucosal o transmucosal) las formulaciones convencionales no pueden asegurar concentraciones de fármacos terapéuticamente activo tanto sobre la mucosa como, en la circulación sistémica. Para poder asegurar una terapia correcta, las formulaciones diseñadas para esta vía de administración, deben poseer ciertas características para sortear estos inconvenientes. Es necesaria la incorporación de agentes mucoadhesivos, para mantener un contacto íntimo y prolongado de la formulación con el sitio de aplicación y, en el caso de ser requerido, la

[34] J.D., Smart. Recent developments in the use of bioadhesive systems for delivery of drugs to the oral cavity. Critical Reviews Drug Carrier Systems 21 (4). pg. 319-344. 2004

[35] N., Salamat-Miller, M.,Chittchang, T.P., Johnston. The use of mucoadhesive polymers in bucal drug delivery. Adv. Drug. Deliver. Rev. 57 pg.1666-1691 2005

[36] J., Nicolazzo, B., Reed, B., Finnin. Buccal penetration enhancers – How do the really work?. J. Control. Release 105 pg. 1-15. 2005

[37] R.B., Fuentes, M.C., Vidal García, J., Orgeira Padín. Papel de los bioadhesivos en el tratamiento tópico de las enfermedades orales. Revista de la SMEG 486 (50) pg. 486-490. 2003

presencia de agentes promotores de la penetración (enhancers) y excipientes auxiliares (inhibidores enzimáticos, modificadores del pH, saborizantes, etc.).

	Nasal	Bucal	Vaginal/rectal	Gastrointestinal	Dérmica
Accesibilidad	++	++	+	+	+++
Efecto primer paso	+++	+++	++	+	+++
Aceptabilidad	++	+++	+	+++	+++
Área superficial	+	++	++	+++	+++
Inicio de la acción	+++	++	+++	+++	+
Robustez	+	++	++	++	+++
Duración	++	+++	+++	+	++
Permeabilidad	++	++	+++	+++	+
Drenaje vascular	+++	+++	+++	+++	+
+: no favorable, ++: intermedio, +++: muy favorable					

Tabla 3.1: Comparación entre las distintas mucosas.

De esta manera resulta esencial conocer las características del sitio de aplicación.

3.3 Cavidad Bucal

3.3.1 Anatomía de la Cavidad Bucal[38,39]

La cavidad bucal está dividida por las arcadas gingivodentarias en dos partes, una periférica o vestíbulo de la boca, y otra central, o cavidad bucal propiamente dicha. Dentro del vestíbulo de la boca, en su pared externa, se destacan los orificios de drenaje de los ductos parotideos o de Stenon, a la altura del cuello de los primeros o segundos molares (figura 3.1).

La cavidad bucal está limitada hacia delante y hacia los lados por las arcadas gingivodentarias, hacia arriba por la bóveda palatina y hacia abajo por el piso de la boca. Hacia atrás, se comunica con la faringe por un orificio circunscripto por el velo del paladar, los pilares anteriores del velo y la base de la lengua llamado istmo de las fauces.

[38] J.L., Castellanos. Mucosa bucal. Revista AMD vol. LIX N°2 pg 73, 2002.
[39] M.J. Rathbone, B.K. Drummond and I.G. Tucker. The oral cavity as a site for systemic drug delivery. Adv. Drug. Deliv. Rev. 13, pg. 1-22. 1994

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

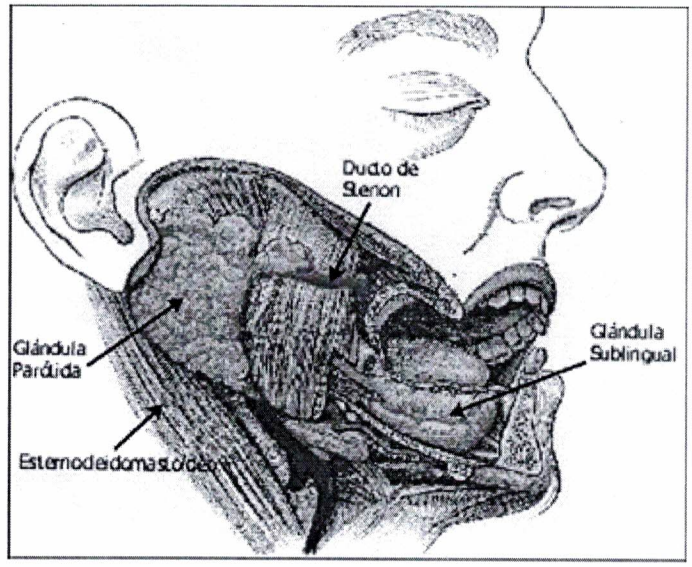


Figura 3.1: Anatomía de las glándulas salivales.

En la bóveda palatina se pueden distinguir dos partes: una anterior o paladar duro, y una posterior o paladar blando. En el paladar duro es posible encontrar en el tercio medial y anterior, un orificio llamado agujero nasopalatino o palatino anterior, que marca el límite del paladar primitivo, a través del cuál pasan el nervio y arteria esfenopalatina. Bajo la mucosa del paladar duro, a la altura del segundo molar, se encuentra el orificio palatino posterior, en donde emergen los vasos y el nervio palatino anterior. El borde posterior del paladar duro se continúa con el paladar blando. Este último es un tabique músculo-membranoso que prolonga la bóveda palatina hacia atrás y abajo, y separa la nasofaringe de la orofaringe. El borde posterior del paladar blando presenta en su parte media una prolongación de 10 a 15 mm. de longitud, la úvula, y a cada lado, dos repliegues curvilíneos, uno anterior y otro posterior, llamados pilares anteriores y posteriores del velo del paladar. Dichos pilares contribuyen a limitar la fosa amigdalina, cuya mitad superior está ocupada por la amígdala palatina (figura 3.2). La amígdala palatina está rodeada por un tejido más denso, que forma la cápsula amigdalina. La cara medial de la amígdala es mamelonada y tiene en su superficie la desembocadura de las criptas amigdalinas. En el piso de la boca encontramos el frenillo, que es un pliegue mucoso que une la cara ventral de la lengua con la mucosa del piso de la boca.

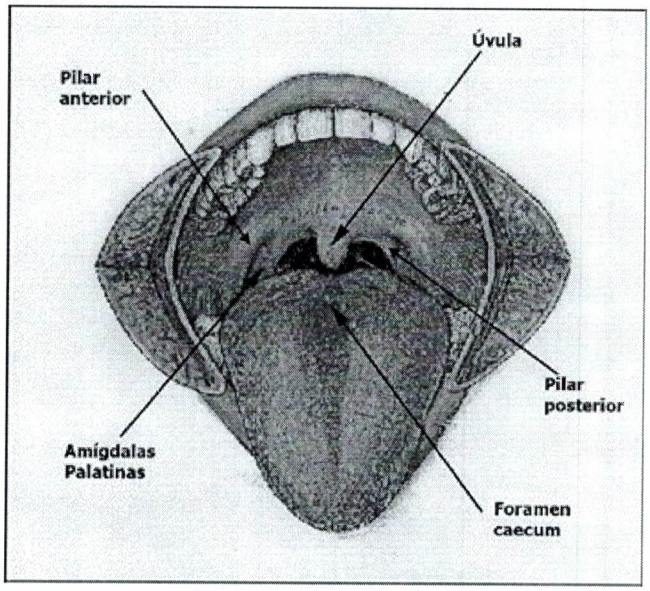


Figura 3.2: Anatomía cavidad bucal.

A cada lado del frenillo se produce una elevación, el pliegue sublingual o carúncula, bajo el cual esta la glándula sublingual. También se destaca el orificio del conducto submandibular o de Wharton que se abre en la carúncula o papila sublingual (ostium umbilicale), a cada lado del frenillo.

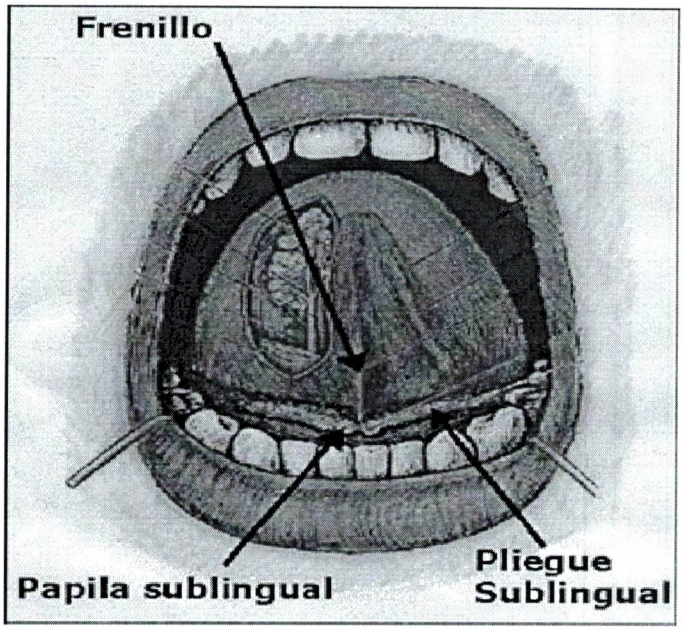


Figura 3.3: Anatomía del piso de la boca.

La lengua (figura 3.3 y 3.4) ocupa la parte media del piso de la boca. Su cara superior o dorsal está dividida en dos partes, una anterior o bucal y otra posterior o faríngea, por un surco en forma de "V" abierta hacia delante llamada surco terminal o "V" lingual. La parte faríngea de la cara dorsal de la lengua presenta pequeñas prominencias dispuestas oblicuamente, que son debidas a la presencia en la capa superficial de la mucosa, de folículos cuyo conjunto constituye las papilas de la "V" lingual y el foramen caecum, que es el remanente del conducto tirogloso. En el tercio posterior se encuentran las amígdalas linguales. Hay diferentes tipos de papilas linguales que se distribuyen característicamente en la superficie de la lengua: las papilas filiformes contienen aferencias táctiles, son abundantes, rugosas, con forma de filamento y se ubican en todo el dorso lingual. Las fungiformes, son pequeñas y tienen forma de hongo, se observan rojizas a la inspección. Las caliciformes son las de mayor tamaño y están ubicadas por delante del surco terminal, ellas están rodeadas por una depresión profunda que posee abundantes cálices gustatorios. Las foliáceas están hacia los bordes laterales (sector posterior) y en el ser humano no están muy desarrolladas. Las circunvaladas, foliáceas y fungiformes contienen receptores para el gusto en los calículos gustatorios.

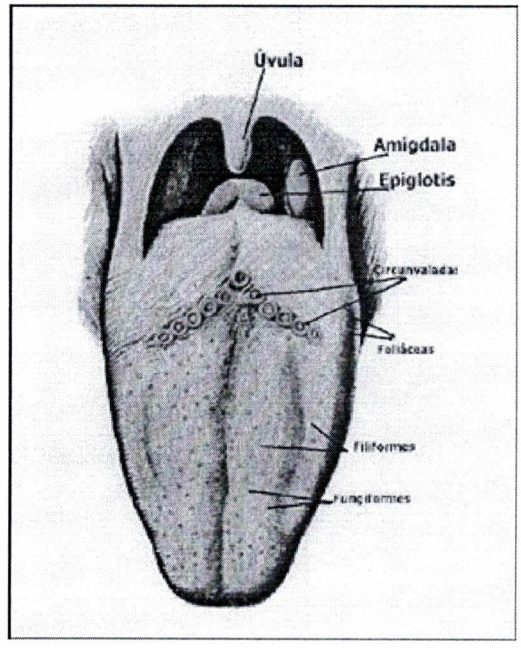


Figura 3.4: Anatomía de la lengua.

La inervación motora de la lengua procede del nervio hipogloso mayor. La sensación del gusto de los dos tercios anteriores es conducida por la cuerda del tímpano, rama del nervio facial, y la del tercio posterior, por los nervios glosofaríngeo y vago. La sensibilidad lingual está dada por el nervio lingual de la rama mandibular del trigémino y los nervios glosofaríngeo y laríngeo interno.

3.3.2 Aspectos Biofarmacéuticos de la Cavidad Bucal[40,41]

La permeabilidad de la mucosa bucal, considerada globalmente, es intermedia entre la percutánea y la intestinal. Evidentemente debido a las distintas estructuras y funciones de sus partes, existen diferencias considerables en su permeabilidad. Así, en principio cabría establecer el orden decreciente: sublingual (piso de la boca) > fondo del surco vestibular (arcadas gingivodentarias) > palatal (bóveda palatina). Esto se debe a que la mucosa sublingual es más delgada, la yugal (vestíbulo) mas gruesa y la palatina se encuentra queratinizada.

Al igual que en el caso de otros epitelios, es necesario distinguir entre dos posibles caminos de difusión: clásicamente se designan transcelular y paracelular. La permeación transcelular es mayoritaria y la difusión se realiza a través de las membranas lipídicas de las células. Cabe destacar que existen diferencias notables en la velocidad de penetración en función de la zona que se esté considerando, debido principalmente a las diferencias en el grosor de las distintas áreas de la mucosa bucal. La ruta paracelular se encuentra en el espacio que existe entre las células, esta vía necesita que el soluto difunda a través del medio intercelular.

Se estima que la absorción se realiza mayoritariamente por difusión pasiva entre una fase acuosa, saliva, y otra lipófila, bicapa lipídica de la membrana.

Si se acepta como general el mecanismo de difusión pasiva, es obvio que también influirá en la absorción el grado de ionización, el cual depende de pKa del fármaco y del pH de la zona (6,2-7,4).

---

[40] T.,Pelufo, M., Val Bermejo Sanz. Absorción por vía perilingual, bucal y rectal. En: J., Doménech Berrozpe, J., Martinez Lanao, J.M., Plá Delfina eds.: Biofarmacia y Farmacocinética. Volumen II: Biofarmacia. Capítulo 16: Ed. Síntesis. Madrid, España. 2000

[41] M.A., Repka, S., Prodduturi, M., Munjal and P., Midididdi. Matrix-and reservoir-based transmucosal delivery systems: Tailoring delivery solutions. Am. J. Drug Deliv. 2 (3) pg 173-192. 2004.

Por otra parte, la irrigación es muy buena, lo cual conduce a una buena absorción. Además, como ya se mencionara anteriormente, esta vía permite evitar el efecto de primer paso hepático, ya que la sangre que drena de la cavidad bucal accede directamente a la vena cava superior.

Otro efecto muy interesante es que la absorción de un fármaco en la zona bucal se produce de forma rápida inicialmente pero luego aparece un perfil de absorción continuo y lento.

3.3.3 Mucus

El mucus, a través de su componente principal mucina y está directamente involucrado en el proceso de bioadhesión cuando un material bio/mucoadhesivo es puesto en contacto con la mucosa[42,43]. De esta manera es importante conocer aspectos físico-químicos y biológicos relacionados con esta sustancia (mucus).

El mucus es una secreción viscosa, translúcida que forma una capa continua, delgada y adherente en la superficie de la mucosa epitelial, cuyo espesor varía desde 50 a 450 μm en humanos.

Las funciones fundamentales son la lubrificación y la protección de las células epiteliales subyacentes contra agresiones de tipo mecánico o químico y la degradación bacteriana. El mucus está en constante renovación, existiendo un equilibrio dinámico entre la cantidad secretada por las células y la pérdida por acción mecánica, proteólisis o por solubilización de las moléculas de mucina que, con carácter temporal, forman capas externas a las de gel adherente de mucus. En su composición se destacan las mucinas, glicoproteínas de alto peso molecular ($2x10^6$ a $14x10^6$) capaces de formar geles viscoelásticos con un contenido acuoso que puede superar el 95 %. Además, en el mucus, se encuentran sales inorgánicas, proteínas y lípidos. La composición exacta del mucus, así como el espesor de la capa mucosa, varían considerablemente dependiendo de la especie animal y, a su vez, de la ubicación anatómica y del estado fisiopatológico de la persona, factores a tener muy en cuenta en el diseño de la forma farmacéutica bioadhesiva. Las grandes moléculas de glicoproteínas con las que tiene que interaccionar

[42]I.C., Rodríguez, A., Cerezo, I.I., Salem. Bioadhesive delivery systems. Ars Pharmaceutica, 41:v1; pg. 115-128, 2000

[43]S., Rossi, G., Sandri, C.M., Caramella. Buccal drug delivery: a challenge already won?. Drug Discov. Today:Technologies. 2 (1). pg. 59-65. 2005

el preparado están formadas por varias partes. En la figura 3.5 se muestran dos modelos de estructura de la glicoproteína del mucus. Una unidad fundamental de peso molecular $5x10^5$ que consiste en un esqueleto peptídico de alrededor de 800 aminoácidos ricos en serina, treonina y prolina. En una porción importante, y a través de los restos hidroxílicos (treonina y serina) establece uniones O-glicosídicas con cadenas oligosacarídicas (sub-unidades) de distinta composición y tamaño (entre 2 y 20 azúcares, con un promedio de 8). En su composición el número de azúcares se limita a (figura 3.6): galactosa, fucosa, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina y ácido acetilneuramínico (ácido siálico) que se agrupan en diversas combinaciones, terminando en un grupo L-fucosa o de ácido siálico.

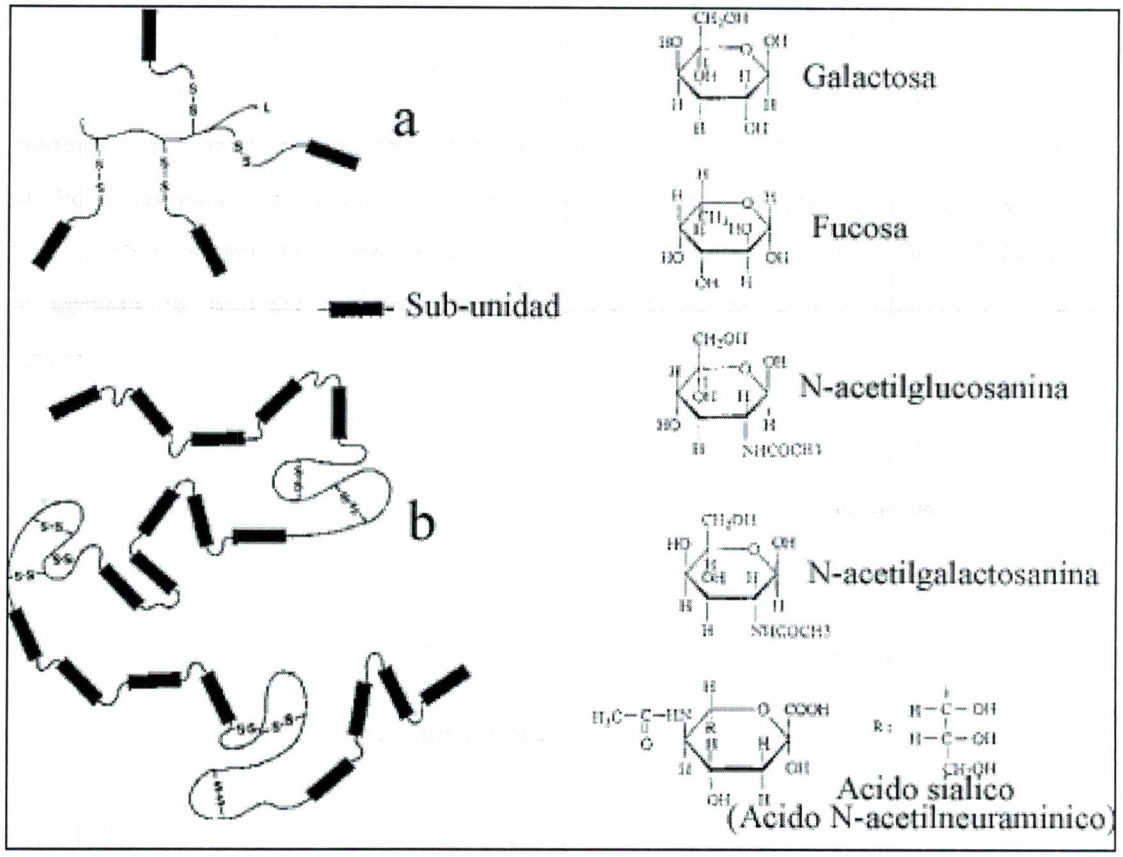


Figura 3.5: Estructuras macromoleculares propuestas para las glicoproteínas del mucus. a) modelo no lineal, b) modelo lineal.

Figura 3.6: Carbohidratos de la mucina.

El conjunto de cadenas laterales constituye el 70-90 % del peso de la glicoproteína debido a que el esqueleto proteico posee aproximadamente una cadena de carbohidratos

por cada cuatro aminoácidos. La "región desnuda", que no contiene cadenas laterales, comprende el 25 % de la proteína siendo esta zona susceptible de ataques enzimáticos con acortamiento de la molécula, y de formación de enlaces reticulados con otras moléculas de mucina o de asociación entre ellas por medio de enlaces disulfuro. Debido al ácido siálico (pKa 2,6) y a los grupos sulfato que llevan algunos azúcares, las moléculas de mucina se comportan como un polielectrolito aniónico a pH neutro. La carga de la mucina es de crucial importancia en relación con la adhesividad de las formas farmacéuticas.

3.4 Patologías Bucales

La estrategia de aumentar el tiempo de residencia del medicamento en la cavidad bucal mediante el uso de SBAFs puede ser de mucha utilidad en varias patologías que se desarrollan normalmente en la boca. En este caso se seleccionó como patología modelo a Candidiasis bucal, ya que es una afección común en personas sanas y además de gran incidencia en pacientes VIH positivos e inmunosuprimidos.

Muchas de las especies de candida son componentes de la flora normal de la mucosa bucal. Estas son usualmente innocuas, pero pueden causar infecciones cuando las condiciones son favorables. Este organismo coloniza la superficie muco-cutánea, lo cual es un portal para una penetración más profunda cuando el huésped se encuentra con sus defensas comprometidas[44,45,46,47].

Concepto: Candidiasis es el término aplicado al conjunto de enfermedades producidas por hongos del género ***Candida***. Diferentes especies de *Candida spp.* producen una amplia variedad de enfermedades, desde infecciones mucocutáneas leves a formas diseminadas graves con posible participación de cualquier órgano o sistema.

Etiología: Aunque se han reportado unas 200 especies de *Candida*, sólo 10 se han descripto asociadas a la enfermedad. La más frecuente, es *Candida álbicans* (80-95% de los casos de candidiasis oral). En el niño inmunodeprimido, cada vez se describen con

[44]C.S., Farah, R.B., Ashman, S.J., Challacombe. Oral candidosis. Clin. Dermatol. 18. pg. 553-562. 2000
[45]P.G., Pappas, J.H., Rex, J.D., Sobel, S.G., Filler, W.E., Dismukes, T.J., Walsh. Guidelines for treatment of candidiasis. IDSA Guidelines. Clin. Inf. Diseases. 38. pg. 161-189. 2003
[46]Asociación española de pediatría. Web: http://aeped.es/protocolos/infectologia/. 2006
[47]J., Rodríguez Ortega, J.M., Tarragó, H., Morejón Lugones y J.C., Santana Garay. Candidiasis de la mucosa bucal. Revisión bibliográfica. Rev. Cubana Estomatol; 39(2). pg. 187-233. 2002

más frecuencia otras especies de *Candida no-albicans*, que incluyen *C. parapsilosis, C. krusei, C. glabrata o C tropicalis*. Otras especies menos comunes son *C. guilliermondi o C. lusitaniae.*

Epidemiología: *C. albicans* es un microorganismo ubicuo. Coloniza la piel, el tracto gastrointestinal o la vagina de individuos sanos. En la tabla 3.2 se numeran algunos de los factores que originan la infección.

Factores locales	•Xerostomía: síndrome de Sjogren, irradiación, empleo de drogas, etc. •Antibióticos de amplio espectro. •Corticoides. •Dieta rica en carbohidratos. •Leucoplasia, cáncer bucal. •Prótesis (estomatitis prostética). •Tabaco fumado.
Factores sistémicos	•Infancia, vejez, embarazo. •Alteraciones endocrinas: diabetes mellitus, hipotiroidismo. •Trastornos nutricionales: deficiencias de Fe^{2+}, folatos y Vit. B12. •Enfermedades malignas: leucemia aguda, agranulocitosis. •Defectos de inmunidad: SIDA, aplasia tímica, corticosteroides.

Tabla 3.2: Factores que predisponen la infección de candidas en la mucosa bucal.

Clínica: Entre las que son más comunes se incluyen las formas orofaríngea, esofágica, mucocutánea y diseminada. Mientras que en las formas mucocutáneas o en la candidiasis esofágica la infección es casi siempre debida a *C. albicans*, en las formas diseminadas la infección puede deberse a diversas especies de *Candida.* Además, la sensibilidad a los antifúngicos y la virulencia de las diferentes especies son variables, condicionando no sólo el tratamiento, sino también la realización de pruebas invasivas para el diagnóstico de localización.

La **candidiasis bucal** es la infección fúngica más común. Está presente en aproximadamente un 4% de los niños en los primeros meses de vida. El mecanismo de adquisición habitual es por contagio en el canal del parto de una madre colonizada por *Candida sp.* Puede ser recurrente, a pesar de un tratamiento correcto.

Se describen cuatro formas de candidiasis bucal:

— Candidiasis seudomembranosa: se caracteriza por las típicas lesiones blanquecinas cremosas, adheridas a la mucosa bucal, que dejan un área eritematosa cuando se desprenden. Afecta sobre todo a la mucosa bucal yugal, labial, paladar blando y cara ventral.

— Candidiasis atrófica: se manifiesta como un eritema brillante con pérdida de papilas en la lengua, en paladar duro y en toda la cavidad bucal.

— Candidiasis hiperplásica crónica: se caracteriza por áreas eritematosas de distribución simétrica junto a lesiones blanquecinas sobreelevadas que no se desprenden. Es la forma más rara en niños.

— Queilitis angular: existen eritema y fisuras en la comisura bucal.

Clasificación de candidiasis bucal

A su vez la candidiasis bucal se puede clasificar en *primaria* cuando la infección candidal está confinada a los tejidos orales y periorales y *secundaria* cuando la candidiasis oral es una manifestación de una infección muco-cutánea causada por Candidas[48].

A su vez dependiendo de la zona afectada la candidiasis se puede clasificar en:

Candidiasis orofaríngea: cuando las lesiones atróficas o pseudomembranosas afectan boca y faringe. Se da frecuentemente en pacientes con inmunosupresión severa, VIH y/o diabetes descompensada.

Candidiasis esofágica: traduce siempre una profunda alteración de la inmunidad celular. Es de difícil diagnóstico en el niño pequeño, pues éste no refiere disfagia. El niño mayor puede referir disfagia, odinofagia o dolor retrosternal. Generalmente se asocia a candidiasis orofaríngea, aunque puede presentarse sin ella.

Candidiasis mucocutánea: es la segunda forma más frecuente de candidiasis en el niño. La presentación más común es en el lactante, en quien *Candida spp.* suele sobreinfectar las lesiones preexistentes de dermatitis de contacto en el área del pañal. La presencia de dermatitis con bordes sobreelevados, nítidos y lesiones satélites periféricas de pequeño tamaño son hallazgos sugestivos de candidiasis.

Candidiasis diseminada: es muy común en el paciente oncológico, sobre todo en el trasplante alogénico de médula ósea, en donde puede aparecer hasta en el 10% de los

[48] J., Rodríguez Ortega, J.M., Tarragó, H., Morejón Lugones y J.C., Santana Garay. Candidiasis de la mucosa bucal. Revisión bibliográfica. Rev. Cubana Estomatol; 39(2). pg. 187-233. 2002

pacientes. La candidemia no tratada, puede evolucionar a un cuadro agudo de candidiasis diseminada con shock séptico, o a un cuadro crónico de afectación multiorgánica conocido como candidiasis crónica diseminada.

Diagnóstico: El hallazgo de *Candida* en algunas lesiones de la boca no es suficiente para el diagnóstico de candidiasis. Hace falta, en las formas superficiales, que sea positivo el examen directo (frotis) y el hallazgo del pseudomicelio, que se acompañe de los aspectos clínicos e histológicos debidamente comprobado así como que responda a la terapéutica específica. La clínica, la citología, la histología, la micología, la terapéutica y eventualmente la serología, decidirán si la candidiasis es el proceso fundamental o solo está agregada, en forma oportunista, a otra lesión.

Laboratorio:

Frotis: se realiza mediante la aposición de un portaobjetos en la lesión o raspando con una torunda o espátula. Luego se hace la extensión, se trata con una solución de KOH del 10 al 20 % y se observa mediante microscopio la presencia de hifas tabicadas características.

Cultivo: mediante Saboureaud o agar-sangre y a las 48 hs. se observan las colonias cremosas, brillantes y redondeadas.

Biopsia: se pueden apreciar esporas que aparecen con morfología redondeada u ovoide de 3-4 micras. A veces poseen un pequeño halo claro. En otras ocasiones, se pueden apreciar hifas que se tiñen bien con la técnica de PAS (ácido periódico de Schiff), Gram o con plata-metinamina. Aparecen tabicadas y con pequeñas dicotomizaciones en ángulo agudo

En los raspados de las zonas con muguet se pueden encontrar restos de células necróticas, queratina, abundantes hifas en forma de red y esporas en los estratos superficiales del epitelio bucal.

Serología: se utiliza la inmunofluorescencia para detectar anticuerpos anticandida. Tiene especial importancia en las candidiasis crónicas y en estudios clínicos, ya que en estas formas el frotis y el cultivo son menos concluyentes. Clásicamente se aceptan 2 serotipos, el A (*C. tropicallis*) y el B (*C. stellatoidea*), pero estudios recientes, establecen importantes novedades en función de la antigenicidad de las distintas capas de la membrana.

Tratamiento: Las opciones de tratamiento son variadas, dependiendo de la forma de candidiasis, del tipo de paciente y de la localización y extensión de la infección.

En la candidiasis bucal la respuesta es favorable al tratamiento tópico con diversos agentes.

Nistatina oral en enjuagues: la dosis recomendada varía de 100.000 a 400.000 o 600.000 U.I. dependiendo de la extensión y el paciente de 4a6 veces al día. También se utiliza miconazol en gel, en aplicación tópica, 3 o 4 veces al día (400.000 UI). En casos en los que el tratamiento tópico no se puede realizar (sabor amargo de ambas drogas), se aconseja el tratamiento sistémico con un derivado imidazólico por vía oral. En la tabla 3.3 se muestran algunos de los tratamientos más comunes.

COMPUESTO	DOSIS DIARIA TOTAL	FRECUENCIA
ORAL		
Nistatina	4-6 ml/dosis (100.000 u/ml)	Cada 6 horas
Miconazol gel	3-4 aplicaciones/día	Cada 6-8 horas
Cotrimazol comprimidos 5	comp. 10 mg	5 veces/día
Ketoconazol	5-10 mg/kg/día	Cada 12-24horas
Fluconazol	3-12 mg/kg/día	Cada 24 horas
Itraconazol	5 mg/kg/día	Cada 24 horas
5-Fluocitosina	50-150 mg/kg/día	Cada 6 horas
PARENTERAL		
Anfotericina B	0,5-0,7 mg/kg/día	Cada 24 horas
Anfotericina B liposomal	3 mg/kg/día	Cada 24 horas
Fluconazol	6-12 mg/kg/día	Cada 24 horas

Tabla 3.3: Tratamiento usuales contra Candidiasis.

3.5 Estrategia de Trabajo

Para el desarrollo de este trabajo de tesis se realizaron estudios que comprenden básicamente dos fases:

3.5.1 Fase de Diseño y Evaluación "in-vitro" de la Formulación (Fase Farmacéutica):

Fase en la cual se realizaron los estudios preliminares sobre los excipientes y fármacos a utilizar como así también la evaluación *in-vitro* de las formulaciones diseñadas. La misma comprende distintas etapas.

3.5.1.1 Preformulación y formulación: aspectos físico-mecánicos de los materiales sólidos.

En el desarrollo y optimización de una forma farmacéutica existen diversos factores que afectan este proceso, para esto se realizan ensayos que permiten obtener información referida a una serie de propiedades de los excipientes utilizados, solos o en combinación, tanto entre sí como con el principio activo a los fines de seleccionar excipientes para la composición de la formulación. En estos estudios se determinan las propiedades *físicas, químicas y mecánicas* de los materiales a utilizar tales como:

- Tamaño de partícula
- Interacción fármaco-excipiente
- Estabilidad
- Fluidez
- Compresibilidad
- Compactabilidad
- Absorción de agua

3.5.1.2 Obtención de comprimidos y films mucoadhesivos por la técnica más conveniente.

En función de los datos obtenidos se diseñó una formulación, estableciéndose:

- Componentes (polímeros, fármaco y excipientes auxiliares).
- Porcentaje de los componentes.
- Método de elaboración a escala laboratorio.

Se optimizaron los parámetros relacionados con el proceso de obtención de la forma farmacéutica a escala laboratorio.

3.5.1.3 Evaluación de propiedades biofarmacéuticas de los sistemas obtenidos:

Para la realización de este trabajo de tesis se implementaron una serie de estudios biofarmacéuticos, los cuales permitieron evaluar el comportamiento *in-vitro* de la fórmula diseñada, para lo cual se realizaron las siguientes determinaciones:

- Ensayos de bioadhesión.
- Estudios de sorción de agua y velocidad de hinchamiento.
- Liberación de principios activos.

3.5.2 Fase de Evaluación "in-vivo" de las Formulaciones Obtenidas: (Fase Biofarmacéutica)

Una vez obtenida una formulación adecuada (fase farmacéutica), se evaluó su comportamiento en seres humanos, en una etapa inicial se analizó la performance de los sistemas solos, sin el fármaco, sólo para evaluar su comportamiento, interacciones, efectos adversos, etc., y por sobre todo cual es la región de la mucosa más conveniente. Tomando como ejemplo la mucosa bucal (figura 3.6) y analizando la figura se muestran varios sitios probables de aplicación, los cuales pueden variar de acuerdo a las distintas formulaciones obtenidas.

Si la forma formacéutica seleccionada es destinada para tratamientos de tipo local los estudios a realizar son menos complejos.

Además de estudiar el comportamiento del sistema matriz-fármaco-solvente (medio) se determinó el perfil de liberación en el sitio de aplicación utilizando técnicas analíticas como HPLC para cuantificar el fármaco liberado. Esto nos permitió recabar información mecanística relacionada al proceso de liberación.

En la figura 3.7 se esquematiza la interrelación entre ambas fases, donde la información obtenida en cada una de ellas se utiliza retrospectivamente con el objetivo de optimizar la formulación bajo estudio.

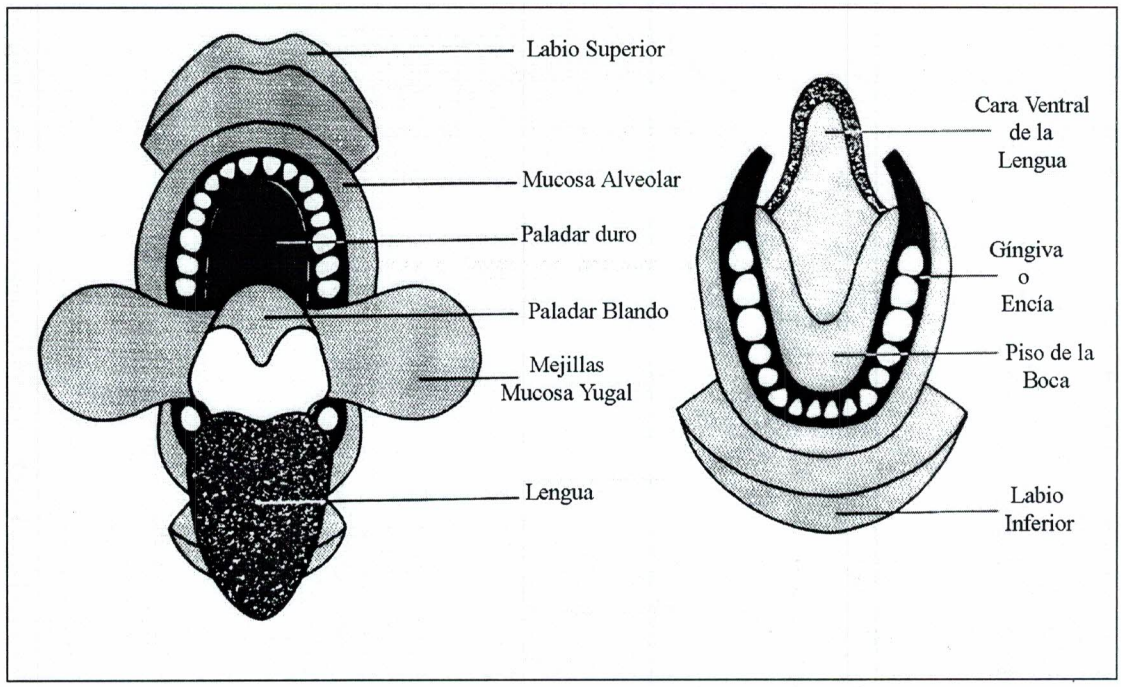


Figura 3.6: Sitios de aplicación posibles dentro de la cavidad bucal.

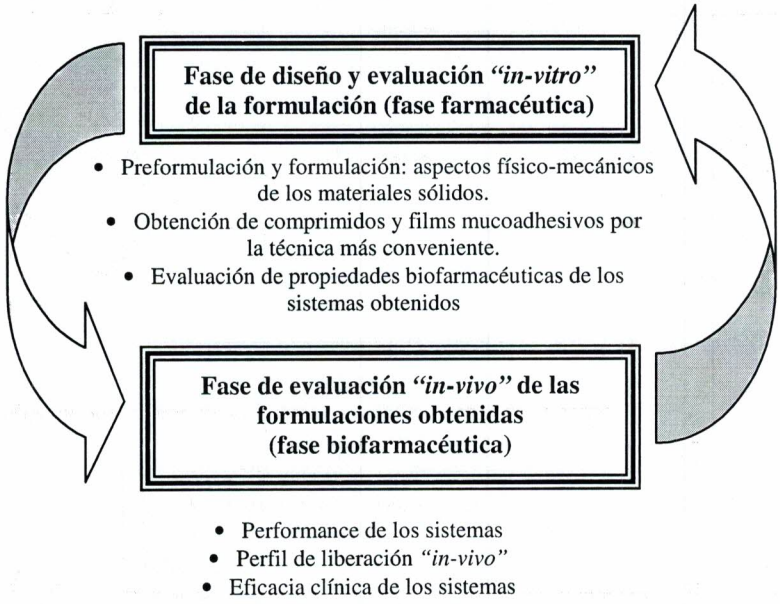


Figura 3.7: Esquema de la interacción entre la fase farmacéutica y biofarmacéutica.

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales[49]

A continuación de detallan las características principales de los materiales utilizados durante el trabajo de tesis

4.1.1 Carbomer (ácido poli-acrílico)

Polielectrolito lineal, derivado del ácido acrílico, el cual puede estar entrecruzado con alilazúcares. El grado de entrecruzamiento, el tipo de agente utilizado para tal fin, y los diferentes residuos tóxicos de la síntesis del polímero generan los diferentes tipos y aplicaciones de Carbomer, las cuales son listadas en la tabla 4.1:

Aplicaciones		**Ej. Carbomer**
Tópica y cosmética	Sólo uso externo	907,910,940,941,980, etc.
Oral y mucosal	Farmacéutico (uso interno)	934-P, 971-P, 974-P,

Tabla 4.1: Diferentes tipos de Carbomer y sus aplicaciones.

Se seleccionó el Carbomer 934P, en adelante (CB), el cual posee propiedades mucoadhesivas, entrecruzado con alilsucrosa. Su síntesis genera un producto con bajo contenido de residuos de benceno (< 0,01%) por lo que está clasificado como un CB apto para uso interno, de muy baja toxicidad (tabla 4.1). Los diferentes tipos de CB son de gran utilidad en distintos tipos de industrias, de constante desarrollo desde su síntesis en 1960. Es un polímero hidrofílico, que en contacto con agua se hincha y forma hidrogeles de alta viscosidad a muy bajas concentraciones (desde 0.1%) y en amplio intervalo de pH, entre 4,5 y 8. Compatible con principios activos ácidos, neutros y básicos, posee excelentes propiedades como agente estabilizante de suspensiones y emulsiones, excelente apariencia y aceptabilidad por los pacientes, disponibilidad y reproducibilidad

[49] A., Wade, P.J., Weller. Handbookof pharmaceutical excipients. 2da edición. American Pharm. Association, The Pharm. Press. Londres. 1994

lote a lote, lo que garantiza la calidad tanto de la materia prima como del producto elaborado.

La molécula de CB en estado sólido se encuentra fundamentalmente plegada,[50] posee una temperatura de transición vítrea relativamente elevada, 100 a 105°C que disminuye drásticamente cuando se pone en contacto con agua. La molécula se hidrata rápidamente y se despliega, generando un aumento de viscosidad. (figura 4.1). La neutralización (total o parcial) de los grupos carboxílicos presentes en la molécula de CB genera cargas negativas a lo largo de la misma produciendo el despliegue total como consecuencia de la repulsión electroestática entre las cargas generadas. Esta reacción es rápida, y produce instantáneamente un aumento de viscosidad en la dispersión. En la tabla 4.2 se resumen algunas propiedades fisico-químicas de CB.

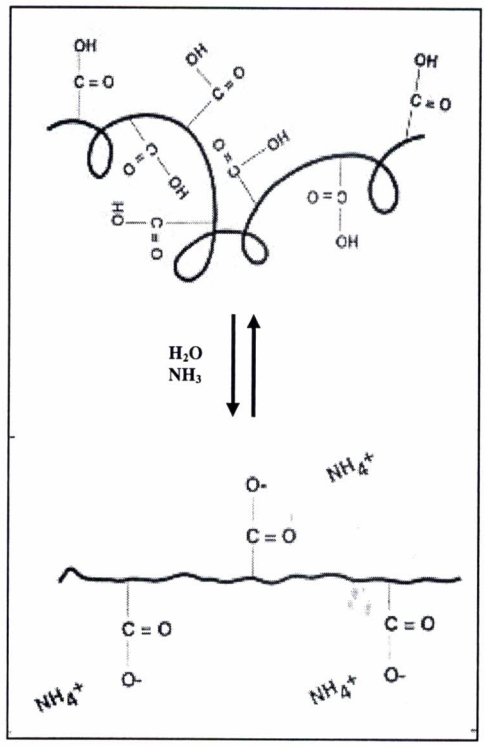


Figura 4.1: Cambio de conformación de la molécula de CB en presencia de agua.

[50]BFGoodrich Specialty Chemicals. Carbopol. Technical Bulletin N°17. 1994

Propiedad	CB 934-P.
PM	$6x10^6$
Punto de fusión	No funde, descompone a 260° C
Tg	100 – 105° C
pKa	6,0 (± 0,5)
peso equivalente	81,0 gr (± 0,4)
Toxicidad (DL_{50})	I.V.: 0,07 gr/kg (en conejos) P.O.: 2,5 gr/kg (en ratas y perros)
Viscosidad	1000 y 4000 mPa.s (sol. 0,2%)

Tabla 4.2: Propiedades fisicoquímicas de interés del CB 934-P♣.

4.1.2 Carboximetilcelulosa sódica (CMC-Na)

Es un derivado semisintético de la celulosa (figura 4.2). A partir de celulosa en soluciones de hidróxido de sodio se obtiene celulosa alcalina que luego se hace reaccionar con monocloroacetato de sodio para producir carboximetilcelulosa sódica (CMC-Na).

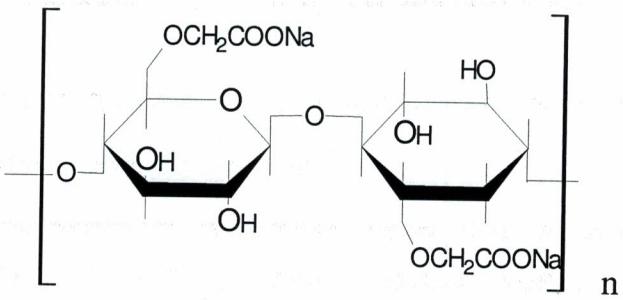


Figura 4.2: Estructura química de carboximetilcelulosa sódica.

Están disponibles CMC-Na de diferentes viscosidades (alta, baja y media) y sus características principales se resumen en la tabla 4.3.

♣ La letra P indica calidad farmacéutica.

Propiedades	Carboximetilcelulosa sódica
Peso molecular (PM)	90.000-700.000
Constante de disociación ácida (pKa)	4,30
Solubilidad	Insoluble en acetona, etanol. Fácilmente dispersable en agua formando dispersiones coloidales.
Viscosidad (25°C)	5-4000 mPa. s
Toxicidad	No tóxico ni irritante, OMS no especifica una ingesta diaria aceptable por no considerarse de riesgo para la salud. DL_{50}(ratas, oral): 27gr/kg

Tabla 4.3: Propiedades fisicoquímicas de Carboximetilcelulosa sódica.

La sal sódica es soluble en agua a todas las temperaturas y precipita como ácido (HCMC) a valores de pH menores a 2.

La sal sódica de CMC es ampliamente utilizada en formulaciones de uso tópico y oral, principalmente como viscosante. Las soluciones acuosas viscosas son usadas para suspender polvos para aplicación tópica, administración oral y parenteral. También es usada como agente ligante y desintegrante en comprimidos o agente estabilizante en emulsiones (tabla 4.4).

Los grados de mediana viscosidad en concentraciones de 4 a 6 % pueden ser usados para preparar geles.

CMC-Na es uno de los principales ingredientes de los adhesivos para parches de ostomía, cuidado de heridas y dermatológicos donde es usado para absorber el exudado o el agua trans-epidermal y sudor. También es utilizada en productos cosméticos y alimenticios.

Uso	Concentración (%)
Agente emulsificante	0,25 -1
Agente formador de geles	4-6
Inyectables	0,05-0,75
Soluciones orales	0,1-1
Ligante en comprimidos	1-6

Tabla 4.4: Uso de carboximetilcelulosa sódica en tecnología farmacéutica.

Terapéuticamente, 4-10 g de CMC-Na de mediana y alta viscosidad son utilizados como laxantes en dosis divididas.

4.1.3 Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)

HPMC es un derivado de celulosa muy utilizado en la industria farmacéutica en preparaciones orales, oftálmicas, tópicas, etc. como agente de cobertura, formador de films para recubrimiento, estabilizante, ligante (comprimidos) formador de matriz (liberación controlada), etc.

Existen diversos tipos de HPMC, según el grado de viscosidad y substitución. Los distintos grados de HPMC indican la viscosidad, en mPas, de un sistema al 2% p/p en solución acuosa a 20°C.

HPMC de alto grado de viscosidad es utilizada como agente formador de matriz en sistemas de liberación controlada y las de bajo grado de viscosidad son utilizadas en soluciones acuosas como agentes formadores de films en recubrimiento. En la tabla 4.5 se muestran los distintos usos y concentraciones.

Usos	Grado de viscosidad	Concentración (%)
Ligante para comprimidos	---	2-5
Formador de film (cobertura)	Bajo	2-10
Formador de matriz (liberación modificada)	Alto	35-50
Agente viscozante en soluciones oftálmicas	---	0,45-1

Tabla 4.5: Usos y concentraciones de HPMC.

HPMC es conocida por su baja o nula toxicidad y como una sustancia no irritante, un consumo excesivo por vía oral puede producir efectos laxantes.

4.1.4 Polietilenglicol (HOCH2(CH2OCH2)mCH2OH

Polietilenglicol (PEG) es un polímero formado por la reacción entre óxido de etileno y agua. Existen varios grados según su peso molecular, en la tabla 4.6 se enumeran los distintos tipos.

Grado	PM	Grado	PM	Grado	PM
PEG200	190-210	PEG900	855-900	PEG3000	2700-3300
PEG300	285-315	PEG1000	950-1050	PEG3350	3000-3700
PEG400	380-420	PEG1450	1300-1600	PEG4000	3000-4800
PEG540	500-600	PEG1540	1300-1600	PEG4600	4400-4800
PEG600	570-613	PEG2000	1800-2200	PEG8000	7000-9000

Tabla 4.6: Distintos tipos de PEGs.

Son compuestos muy utilizados en la industria farmacéutica en amplio espectro de productos oftálmicos, parenterales, formulaciones tópicas, oral, rectal, etc.

Son sustancias esencialmente no irritantes de la piel (muy utilizados como base para pomadas) y pueden combinarse los distintos grados de PEG a los fines de obtener distintas consistencias (a temperatura ambiente por debajo de 600 son líquidos y por encima de 1000 son sólidos). Son muy utilizados como base de supositorios.

En formulaciones sólidas (comprimidos), PEG3000 es utilizado como ligante de la formulación y plastificante de granulados.

También es un compuesto muy utilizado como plastificante de las soluciones poliméricas utilizadas en el área de recubrimiento de comprimidos.

Como desventaja poseen una muy alta reactividad química, conferida por sus dos grupos OH terminales (reacciones de esterificación) lo que los hace incompatibles con ciertos antibióticos (penicilina, bacitracina), conservantes (parabenos), colorantes, etc.

Son esencialmente no tóxicos y no irritantes

4.1.5 Glicerina

Glicerina (Gli) es un líquido límpido, inodoro, incoloro, viscoso, higroscópico, con un leve sabor dulce (0,6 veces el sabor de sucrosa). También es un producto esencialmente atóxico.

Está clasificado como conservante antimicrobiano, emoliente, humectante, plastificante, etc. En la tabla 4.7 se enumeran sus usos y concentraciones más comunes.

Uso	Concentración (%)
Conservante antimicrobiano	> 20
Emoliente	> 30
Humectante	> 30
Formulaciones oftálmicas	0,5-3,0
Plastificante en soluciones poliméricas para recubrimiento	Variable
Solvente para soluciones parenterales	> 50
Agente endulzante en elíxires alcohólicos	> 20

Tabla 4.7: Uso de glicerina sódica en tecnología farmacéutica.

4.1.6 Palmitato de ascorbilo (ASC16)

Sustancia utilizada esencialmente como antioxidante, es utilizada sola o en combinación con α-tocoferoles como estabilizantes en formulaciones orales a base de aceites. No obstante, en trabajos recientes, se ha observado que ASC16 posee propiedades tensioactivas que pueden ser de particular interés para la solubilización y estabilización de fármacos poco solubles e inestables en medio acuoso[51]. Desde esta perspectiva y teniendo en cuenta estas propiedades, ASC16 fue incorporado en las respectivas formulaciones como agente surfactante. En la figura 4.3 se puede observar la estructura química de este compuesto.

[51]S., Palma, R., Manzo, D., Allemandi, L., Fratoni, P., LoNostro. Drugs solubilization in ascorbyl-decanoate micellar solutions. Colloid Surf. A 212, pg. 163–173. 2003

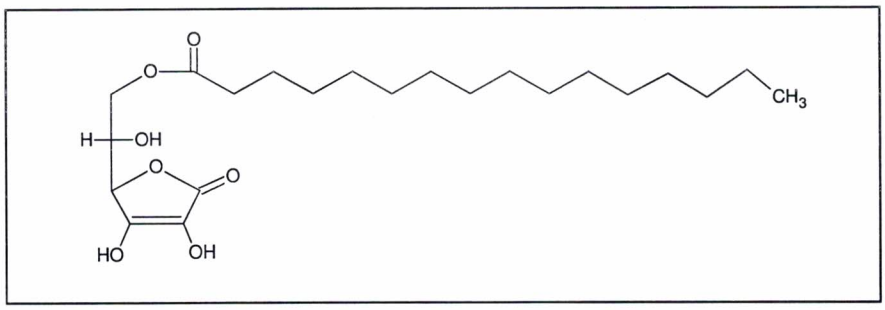


Figura 4.3: 6-O-hexadecanoato de ascorbilo (ASC16).

4.1.7 Nistatina

Nistatina es un compuesto poliénico, con actividad fungistática y fungicida de uso tópico (producido por *Streptomices noursei*). Su absorción sistémica es baja o nula, tanto en el tracto gastrointestinal como en la mucosa bucal, por lo que es excretada por heces como fármaco inalterado. Modo de acción: afecta la permeabilidad de las membranas celulares del hongo (candida) por unión a los esteroles de la misma, mayormente al ergosterol. Nistatina es indicada para el tratamiento de candidiasis en niños y adultos. La infección por candida puede ser cutánea, vaginal, oral, etc. Para tal fin, se vehiculiza el fármaco en pomadas, cremas, geles, entre otros. La dosis usual es de 100.000 UI, en casos excepcionales puede llegar a 500.000 UI, 4 veces al día. En la figura 4.4 se muestra su estructura química y en la tabla 4.8 se enumeran sus características y propiedades físico-químicas.

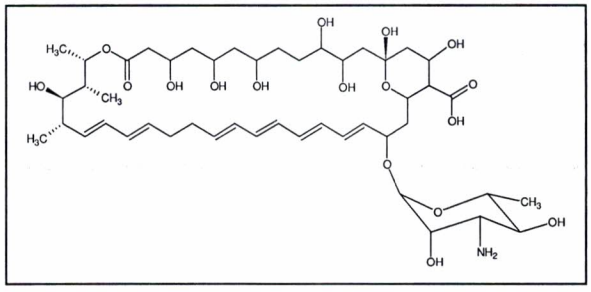


Figura 4.4: Estructura química de Nistatina.

Características	
Fórmula molecular:	$C_{47}H_{75}NO_{17}$
Aspecto físico	polvo amarillo claro
Clasificación ATC	D01AA01
Clasificación CAS	1400-61-9
Propiedades físico-químicas:	
Punto de fusión	250°C
PM	926,13
Solubilidad:	es muy poco soluble en agua, prácticamente insoluble en etanol, cloroformo y eter, ligeramente soluble en metanol y altamente soluble en dimetil formamida
CIM	≈ 0,78 a 1,5 µg/ml

Tabla 4.8: Características y propiedades físico-químicas de Nistatina.

4.1.8 Lactosa

Es un compuesto muy utilizado como relleno en cápsulas y relleno-ligante en comprimidos. Comercialmente se encuentran distintos derivados de lactosa dependiendo de la funcionalidad requerida (lactosa amorfa, α-lactosa monohirato, α-lactosa, β-lactosa anhidra, etc.)

Para el método de compresión directa, se utiliza lactosa con buenas propiedades de flujo y compactación preparada a partir de mezclas de lactosa amorfa (compresibilidad) y lactosa nativa obtenida por el método de spray-dried♣ (flujo). Dependiendo de la composición de esta mezcla se pueden obtener distintos grados de lactosa con diversas propiedades físico-mecánicas.

Otras aplicaciones de lactosa: suele ser utilizada como vehículo/diluyente para productos inhalatorios y productos liofilizados.

Lactosa es considerado un producto esencialmente atóxico. Salvo en aquellas personas con intolerancia a la lactosa.

4.1.9 Sacarina sódica

Sacarina sódica es un agente edulcorante utilizado en una gran gama de productos de la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica (comprimidos, geles, líquidos,

♣spray-dried: método de obtención de partículas de tamaño y peso uniforme.

suspensiones, etc.). En la tabla 4.9 se enumeran algunos de sus usos y concentraciones habituales.

Usos	Concentración (%)
Pasta o gel para dientes	0,12-0,3
Inyecciones IM/IV	0,9
Soluciones orales	0,075-0,6%
Jarabes	0,04-0,25

Tabla 4.9: Usos y concentraciones habituales de sacarina sódica.

En cuanto a su toxicidad, hace algunos años esta sustancia fue objeto de discusiones en cuanto a su seguridad de uso. Sin embargo en la actualidad la OMS acepta una ingesta diaria de 2,5 mg/kg como segura y no tóxica.

4.1.10 Estearato de magnesio

Estearato de magnesio es una sustancia muy utilizada en la industria cosmética, farmacéutica y alimenticia. Principalmente utilizado como lubricante en cápsulas y comprimidos en concentraciones que van del 0,25 al 5%.

Es considerada una sustancia no tóxica para la administración oral, sin embargo el consumo de grandes cantidades puede producir efectos laxantes o irritantes en la mucosa. La aspiración pulmonar de este compuesto es considerada peligrosa.

4.1.11 Fosfato de calcio dibásico dihidratado

Fosfato de calcio dibásico dihidratado (Emcompress®) es uno de los excipientes para comprimidos más utilizados a nivel mundial, tanto para compresión directa como para granulación húmeda. Presenta buenas propiedades de flujo y compresibilidad. Por su carácter abrasivo debe ser incorporado a la formulación con lubricantes (1% de estearato de magnesio).

Es prácticamente insoluble en agua, por lo que los comprimidos que utilizan este relleno-ligante pueden tener problemas de desintegración, es así que resulta imprescindible utilizar desintegrantes en la formulación (povidona, croscarmelosa, etc.).

Es una sustancia considerada no tóxica y no irritante. El consumo de grandes cantidades por vía oral puede llevar a malestares abdominales.

4.1.12 Talco

Talco (silicato de magnesio) es un excipiente muy utilizado en formas farmacéuticas sólidas como deslizante y relleno. Es también utilizado en preparaciones tópicas como vehículo para facilitar el espolvoreo de la formulación. En la tabla 4.10 se muestran los usos y concentraciones habituales.

Usos	Concentración (%)
Agente espolvoreante	90-99
Diluyente en comprimidos y cápsulas	5-30
Antiadherente y lubricante en comprimidos	1-10

Tabla 4.10: Usos de silicato de magnesio (talco) y concentraciones habituales.

Silicato de magnesio es muy utilizado en formulaciones orales y es una sustancia reconocida por sus propiedades atóxicas y no irritantes.

4.1.13 Dióxido de silicio coloidal (Aerosil® y Cab-o-Sil®)

Dióxido de silicio coloidal es utilizado por la industria farmacéutica, cosmética y alimenticia. Se caracteriza por ser una partícula muy pequeña pero con una gran superficie específica lo que le otorga al sólido adecuadas propiedades de flujo (aumenta el deslizamiento), por lo que es muy utilizado para mejorar el flujo de mezclas de polvos secos en diversos procesos (compresión). En la tabla 4.11 se muestran ejemplos de utilización.

Usos	Concentración (%)
En Aerosoles (agente suspensor de partículas)	0,5-2
Estabilizante de emulsiones	1-5
Antiadherente (compresión)	0,1-0,5

Tabla 4.11: Usos habituales y concentraciones utilizadas de dióxido de silicio coloidal.

Dióxido de silicio coloidal es una sustancia reconocida por sus propiedades atóxicas y no irritantes. Sin embargo su aspiración pulmonar es considerada sumamente peligrosa (riesgo de silicosis)

4.2 Métodos

4.2.1 Titulación de Carbomer 934-P

Se determinaron los equivalentes de grupos carboxílico por gramo de CB. Para ello, se secó una cantidad suficiente de CB a 80ºC al vacío durante una hora (según procedimiento USP-XXIV), luego se pesó una cantidad exacta de CB, aproximadamente 25 mg, se dispersó en aproximadamente 10 ml de agua y se tituló potenciométricamente mediante la técnica de PDB, con solución de NaOH 0,1 N.

Se determinó que el CB utilizado posee 0,0012 ±0,001 equivalentes por gramo de material sólido, lo que concuerda con las especificaciones codificadas de peso equivalente, (81 ± 4 g.).

4.2.2 Mediciones de pH

Las lecturas se realizaron previa homogeneización de las muestras a temperatura controlada entre 23 y 26°C. Se utilizó pH-metro Hanna (HI 9321) con electrodo combinado de uso general (HI 1131).

4.2.3 Mediciones reológicas

Las determinaciones reológicas de los hidrogeles (geles precursores de films) fueron realizadas usando un viscosímetro rotacional Haake, modelo VT500, con sensores NV, MVI o MVII cilindro-copa, acoplado a una PC con el programa VT500 3,01v, específico para el procesamiento de los datos. Durante las mediciones las muestras fueron termostatizadas a 25° C.

Se realizaron mediciones de los geles precursores de films inmediatamete después de ser preparados. Las curvas de flujo fueron programadas de la siguiente manera: segmento 1: de 0 a 46.6 s^{-1} (velocidad de cizallamiento) en 3 minutos, segmento 2: velocidad constante de 46.6 s^{-1} durante 3 minutos y, segmento 3: descenso a posición cero en 3 minutos. Los hidrogeles una vez preparados fueron dejados en reposo durante 15-24 hs. antes de ser usados para las mediciones de flujo.

4.2.4 Mediciones de bioadhesión

La fuerza de adhesión fue medida en términos de la fuerza necesaria para separar o romper las uniones adhesivas entre la matriz y el sustrato biológico. Es importante destacar que las mediciones de fuerza de adhesión *"in-vitro"* pueden no correlacionarse con la performance adhesiva del sistema en una situación real (*"in-vivo"*). Sin embargo, este tipo de mediciones son de suma utilidad para poder comparar sistemas entre sí.

Las matrices son fijadas a un soporte con pegamento a base de cianoacrilatos, este soporte es suspendido de un resorte y se ponen en contacto directo la superficie libre del comprimido con el sustrato biológico, previa humectación de la zona con 50 µl de agua. Se le aplica una fuerza de 20 gramos durante 30 segundos y luego se hace funcionar el motor que estira el resorte hasta la separación de las dos superficies (figura 4.5). La distancia de estiramiento del resorte es indicativa de la fuerza necesaria para producir la ruptura de la interacción bioadhesiva. Esta correlación puede ser expresada a través de la siguiente ecuación matemática:

$$g\ (\text{fuerza}) = K_{resorte} \times L \qquad \text{ec. 4.1}$$

donde $K_{resorte}$ es la constante del resorte (gr/cm) y L es la longitud de desplazamiento vertical (cm)

La calibración del resorte es realizada utilizando diferentes pesas patrones y midiendo la distancia de desplazamiento necesaria para levantarlas.

Como sustrato biológico se utiliza un gel de mucina porcina al 30% (p/v) el cual luego de preparado, es puesto en placas de vidrio y dejado en reposo 24 hs (4-5°C)

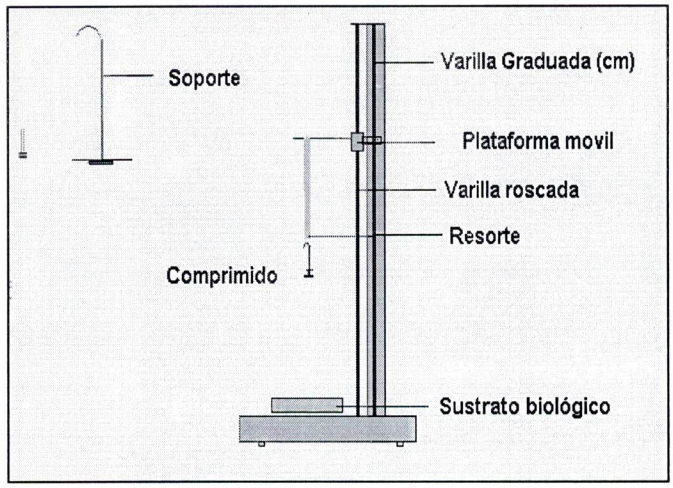


Figura 4.5: Balanza de Joli adaptada para mediciones de bioadhesión.

4.2.5 Difracción de Rx

Los patrones de difracción de Rx fueron obtenidos usando un difractómetro Rigaku Miniflex equipado con un software específico (Standard monitoring 3.2). Se fijó un intervalo de barrido entre 1 y 30 $2\theta/\theta$, y una velocidad de barrido 0,02° $2\theta/s$.

En el caso particular de los films, su tamaño fue adaptado al correspondiente porta muestra del equipo y adheridos al mismo con grasa siliconada, la cual es inerte a los Rayos X.

4.2.6 Mediciones de sorción de líquidos

Se utilizó en dispositivo hecho especialmente para estas determinaciones y descrito por Nogami et. al[52]. En la figura 4.6 se puede ver el equipo en forma de "U", el cual en uno de los extremos tiene un soporte porta muestra (A) y en el otro, una pipeta graduada al mismo nivel (B). Asimismo cuenta con un reservorio de solvente o medio líquido (C), el cual permite mantener los niveles de líquido y enrasar el sistema. La muestra consistió en el material compactado a 1,5 tons., durante 10 seg., utilizando una prensa hidráulica y punzones planos de 12,8 mm. de diámetro. La muestra es colocada en el soporte del equipo. El material sorbe líquido por capilaridad, (no debe actuar ninguna otra fuerza), y

[52]H., Nogami, T., Nagai, E., Fukuoka and T., Somobe. Desintegration of the aspirin tablets containing potato starch and microcrystaline cellulose in various concentration. Chem Pharm. Bull. 17, 1450-1455. 1969

se mide el volumen tomado a intervalos de tiempo preestablecidos. Se estableció una temperatura ambiente óptima entre 22 y 26° C.

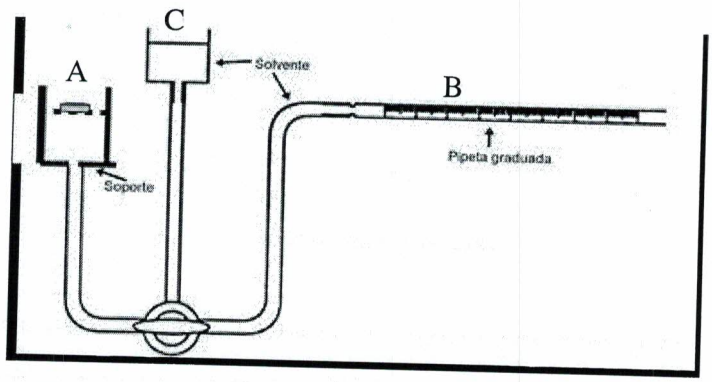


Figura 4.6: **Esquema del equipo para medir sorción de líquidos**

4.2.7 Estudio de liberación de Fármaco

Los ensayos de disolución fueron realizados con un equipo para medir disolución de comprimidos (USP XXIV método II) utilizando un disolutor Hanson Res. Se utilizó agua (900 ml) como medio de disolución y los ensayos fueron realizados a 75 RPM y a 37°C. Los comprimidos fueron pegados a una superficie de acero inoxidable para darle el peso necesario y mantenerlos en el fondo del vaso de disolución. Se tomaron muestras del medio (5,0 ml) a intervalos de tiempo preestablecidos con reposición del medio en igual volumen. Se filtraron a través de doble filtro Watman n°1 y la concentración de F disuelto fue medida espectrofotométricamente a la longitud de onda de máxima absorción (Nistatina: 306,5 nm), El equipo utilizado fue un espectrofotómetro UV-Vis., Shimadzu Mini 1240.

4.2.8 Medición de frentes radiales de hinchamiento

Se midió el avance de los frentes radiales de hinchamiento utilizando un dispositivo *ad hoc*.[53] Las matrices fueron colocadas entre dos placas de vidrio transparente, firmemente sujetas en los extremos por bandas elásticas. El ensamble es introducido en un recipiente conteniendo agua o solución de NaCl 0,9 % a 37° C. La evolución de los frentes es analizada mediante tomas fotográficas a intervalos de tiempos definidos, utilizando una cámara digital (Nikkon Coolpix 775, Tokio, Japón) y procesadas con un software

[53] C., Ferrero, A., Muñoz-Ruiz, M.R., Jimenez-Castellanos. Fronts movements as a useful tool for hydrophilic matrix release mechanism elucidation. Int. J. Pharm. 137, pg. 233-241. 2000

apropiado (Adobe Photoshop® 6.0) para la medición de cada frente. Los experimentos fueron realizados por duplicado, el diámetro inicial de las matrices fue de 13 mm. La posición de los diferentes frentes fue obtenida por la medición de los radios a un determinado tiempo t. La interfaz entre la matriz sólida y el medio de liberación al inicio del experimento (tiempo inicial) fue establecida como posición cero.

4.2.9 Cromatografía Líquida de alta performance (HPLC)

Se utilizó un sistema cromatográfico (Brezee system) que consiste en:
Bomba dual isocrática *Waters 1525 pump*, autosampler *Waters 717 plus autosampler*, horno para mantener estable la temperatura de la columna *Waters 1500 series column heater*, detector de fluorescencia *Waters 2475 multy λ Fluorescence detector* (λex 290 nm, λem 410 nm, la detección fue realizada en emisión), y un detector UV *Waters 2996 Photo Array Detector (PDA)* (Waters Corp. Milford, USA), cuya longitud de onda fue determinada a 306.5 nm. La adquisición de datos fue a través del software *Empower Software data registration*®. Como columna de separación se utilizó una columna C18 de fase reversa (*reversed-phase Luna*™ *C18* 250 x 4,6 mm I.D., 100 Å, 10 µm de tamaño de partícula *Phenomenex*) con una precolumna *SecurityGuard*®. La fase móvil utilizada fue 70 % metanol, 20 % agua, and 10 % n-n-dimetilformamida.
Las condiciones de elución fueron: 25 ºC con un flujo constante de 0.8 ml/min. La fase móvil fue filtrada a través de filtros *Durapore de Millipore*® y desgasificada por vacío.

4.2.9.1 Desarrollo y Validación de la técnica de determinación de Nistatina en saliva por HPLC.

Para la correcta determinación del fármaco en el fluido biológico (saliva) se debió desarrollar una técnica adecuada para su valoración por este método, ya que no se contaba con antecedentes en la bibliografía consultada.

4.2.9.2 Preparación de la solución stock.

Para la preparación de una solución stock estándar de Nistatina se peso una cantidad exactamente conocida del fármaco [N], la cual fue mezclada con 10 ml de saliva

proveniente de voluntarios sanos, en un tubo de polipropileno (tubo de centrífuga). Esta solución fue almacenada a 37 ºC al reparo de la luz durante 90 minutos, sometiendo dicha mezcla a intervalos de mezclado (vortex) durante 1 minuto cada 10 minutos. Luego de esto la mezcla es centrifugada (15 min 5000RPM), el sobrenadante fue colectado y transferido a un vial de vidrio y almacenada a -20 ºC (hasta la preparación de los estándares de calibración). Por otro lado el precitado fue resuspendido en metanol y ensayado espectrofotométricamente para así determinar la cantidad de Nistatina no soluble en saliva [P]. La cantidad de Nistatina soluble [S] fue calculada de acuerdo a la ecuación 4.2

$$[S] = [N] - [P] \qquad \text{ec. 4.2}$$

4.2.9.3 Preparación de los estándares de calibración

Las soluciones para las curvas de calibrado fueron preparadas mediante dilución de diferentes alícuotas del sobrenadante colectado previamente con saliva sola hasta obtener un volumen de 600 µl. Estas muestras fueron mezcladas (vortex) durante 15 segundos y se agregó a cada una, solución desproteinizante de metanol-acetonitrilo (1:1). Estas mezclas fueron homogeneizadas cada 10 minutos durante 30 minutos. Luego de este ciclo de mezcla-reposo fueron centrifugadas durante 10 minutos a 5000RPM, filtradas (Durapore filter), transferidas a los viales e inyectadas (50 µl) en el sistema cromatográfico.

4.2.9.4 Parámetros de validación

Curvas de calibrado

Todos los estándares fueron preparados y analizados de la siguiente manera:

Se realizaron curvas de calibrado de seis, siete y doce puntos, cada uno por duplicado, también realizándose curva inter e intra-día. Dichas curvas fueron obtenidas por el análisis de regresión lineal de la suma de las áreas de los dos picos mayoritarios de Nistatina en función de la concentración. El coeficiente de correlación (r^2) y la desviación estándar relativa (RSD %) del factor de respuesta para cada estándar fue calculado. La linealidad de las curvas fue analizada graficando las concentraciones interpoladas en función de las concentraciones reales de las muestras.

Límite de cuantificación inferior.

El límite de cuantificación inferior es definido como la concentración menor de estándar que puede se cuantificada con una desviación de la concentración real menor a un 20%

Precisión y exactitud.

La precisión y exactitud del método fue determinado por el análisis de réplicas de los estándares. Se analizaron 3 puntos en los ensayos intra-día y 5 en los ensayos inter-día en distintos niveles de concentración (alto, medio y bajo) de cada curva de calibrado.

Selectividad

La selectividad fue determinada utilizando muestras de saliva libre de fármaco: pool de saliva de 10 voluntarios desproteinizada con la solución de metanol-acetonitrilo (1:1) e inyectada en el equipo.

En las tablas 4.12 y 4.13 se muestran los valores obtenidos para estos parámetros.

Estabilidad

La estabilidad de Nistatina fue evaluada almacenando las mismas soluciones utilizadas en las curvas de calibrado, las cuales fueron almacenadas a -25°C durante 5 semanas y luego ensayadas.

Detector Fluorescencia				
y = bx + a	r_5	r_6	r_7	media
a (ordenada al origen)	$2.8x10^8$	$-1.3x10^7$	$7.3x10^7$	$1.1x10^8$
b (pendiente)	$6.3x10^{10}$	$6.0x10^{10}$	$6.3x10^{10}$	$6.2x10^{10}$
r^2 (coeficiente de correlación)	0.992	0.991	0.994	0.992
n (número de puntos)	6	6	12	
Factor de respuesta RSD %	5.2	5.4	6.0	5.5

Detector UV					
y = bx + a	r_1	r_2	r_3	r_4	media
a (ordenada al origen)	$3.1x10^4$	$2.7x10^4$	$4.1x10^4$	$6.3x10^4$	$1.2x10^4$
b (pendiente)	$6.5x10^7$	$6.6x10^7$	$6.6x10^7$	$6.8x10^7$	$6.6x10^7$
r^2 (coeficiente de correlación)	0.992	0.997	0.999	0.998	0.997
n (número de puntos)	6	7	12	12	
Factor de respuesta RSD %	4.5	4.9	3.7	6.4	4.9

Factor de respuesta: Área del pico/concentración del estándar

Tabla 4.12: Resultados del análisis de regresión linear par alas curves obtenidas por espectrofotometría UV y fluorescencia.

Concentración Nominal (µg mL^{-1})	**Concentración calculada (media ± SD) (µg ml^{-1})**	**Precisión RSD %**	**Exactitud %**	**n**
Día 1				
Detector UV				
4.1	3.6 ± 0.2	5.6	88	4
25.1	23.7 ± 0.1	3.9	95	4
50.2	49.9 ± 0.7	5.8	99	5
Detector Fluorescencia				
4.2	4.2 ± 0.4	12.1	100	4
25.1	24 ± 2	3.4	96	4
50.2	49 ± 2	8.8	98	5

Día 2				
Detector UV				
0.78	0.79 ± 0.05	6.3	101	6
2.35	2.1 ± 0.2	3.6	89	4
3.91	3.4 ± 0.3	1.4	87	5
23.4	23 ± 1	1.0	98	6
46.9	47 ± 5	5.0	100	5
Detector Fluorescencia				
0.75	0.6 ± 0.1	11.2	85	3
2.46	2.1 ± 0.1	3.4	90	2
4.10	3.6 ± 0.3	7.7	88	3
24.6	24 ± 2	12.1	98	3
49.2	50 ± 2	8.9	102	2

Ds: Desviación estándar; n: número de réplicas

Tabla 4.13: Precisión exactitud de del ensayo de HPLC para Nistatina en saliva

4.2.10 Microfotografías

4.2.10.1 Microscopía electrónica

La potencia amplificadora de un microscopio óptico está limitada por la longitud de onda de la luz visible. El microscopio electrónico utiliza electrones para iluminar un objeto. Dado que los electrones tienen una longitud de onda mucho menor que la de la luz pueden mostrar estructuras mucho más pequeñas. La longitud de onda más corta de la luz visible es de alrededor de 4.000 ángstroms. La longitud de onda de los electrones que se utilizan en los microscopios electrónicos es de alrededor de 0,5 ángstroms.

Hay dos tipos básicos de microscopios electrónicos: el microscopio electrónico de transmisión (Transmission Electron Microscope, TEM) y el microscopio electrónico de barrido (Scanning Electron Microscope, SEM).

4.2.10.2 Microscopio electrónico de transmisión (MET o TEM):

permite la observación de muestra en cortes ultrafinos. Un TEM dirige el haz de electrones hacia el objeto que se desea aumentar. Una parte de los electrones rebotan o son absorbidos por el objeto y otros lo atraviesan formando una imagen aumentada del espécimen. Para utilizar un TEM debe cortarse la muestra en capas finas, no mayores de un par de miles de ángstroms. Se coloca una placa fotográfica o una pantalla fluorescente

detrás del objeto para registrar la imagen aumentada. Los microscopios electrónicos de transmisión pueden aumentar un objeto hasta un millón de veces. El proceso de fractura y replicación fueron realizados en una cámara de cryo-fractura BALZERS: 119 BAE 301, Munich, Alemania) a −140°C. Platino/carbono fue depositado a un ángulo de 45° y 90° respectivamente. Las muestras obtenidas fueron analizadas en un microscopio SIEMENS: ELMISKOP IA electron microscope (Munich, Alemania)

4.2.10.3 Cryo-Fractura

El equipo de cryo-fractura consiste en un cámara de vacío (10^{-6} Torr) y de enfriamiento (-100°C o menos) con una cuchilla la cual es operada desde afuera de la cámara.

Esta técnica es muy utiliza en el estudio de dilucidación de estructuras de membranas biológicas, sin embargo en el tipo de sistemas estudiados en este trabajo de tesis (geles precursores de films) también fue de gran utilidad.

Como primer paso la muestra debe ser congelada (deben ser sistemas acuosos). En un pequeño soporte se pone una porción de la muestra (gota), el cual es introducido en un contenedor con nitrógeno líquido (-150°C), produciendo el congelamiento del sistema. Esta muestra congelada es puesta en la cámara, y sometida al proceso de corte como se esquematiza en la figura 4.7.

La fractura de la muestra produce una superficie desigual a medida que la cuchilla atraviesa la muestra y, dependiendo de la estructuración del sistema en sus distintas partes, es que se produce la fractura, dejando distintas formaciones (hendiduras cóncavas y convexas) como se observa en la figura 4.8.

Una vez realizada la fractura, esta cámara, posee dos electrodos a 45°y a 90° los cuales van a depositar Platino (Pt) y Carbono (C) respectivamente sobre la superficie. Esta deposición de metales produce una réplica metálica de la muestra para poder ser analizada en un Microscopio de Transmisión Electrónica (TEM).

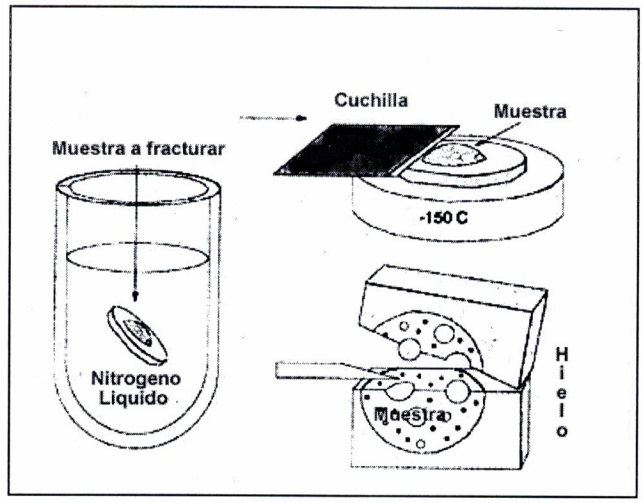


Figura 4.7: Esquema del proceso de congelación y fractura.

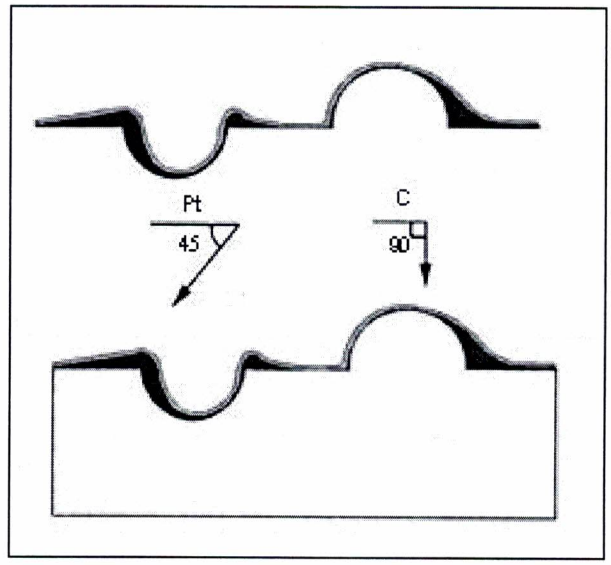


Figura 4.8: Esquema de una réplica obtenida por cryo-fractura.

Esta réplica como tal no puede ser manipulada por su fragilidad, por lo que es extraída de la cámara y lavada con agua, cuando se observa que la réplica flota libre de restos, esta es montada en una grilla para ser observada en el TEM (figura 4.9).

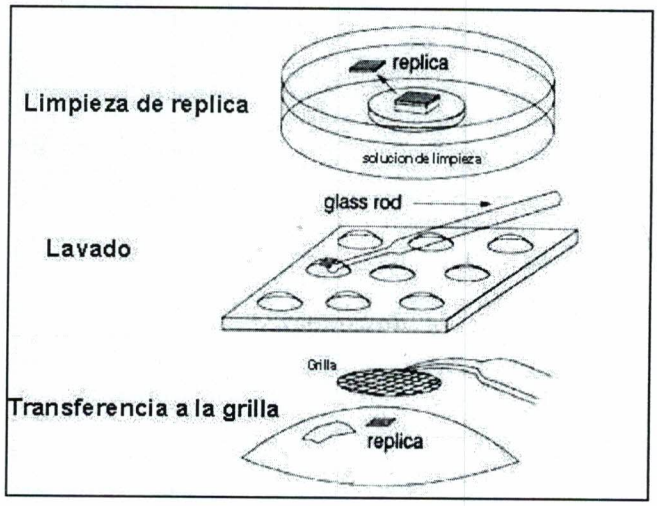


Figura 4.9: Proceso de lavado y montado sobre una grilla de la réplica.

Por último, en la interpretación de las microfotografías tomadas en TEM, es de suma importancia conocer la dirección de las sombras para saber si la estructura es elevada (hacia afuera) o una depresión (hacia adentro) respecto al plano general como se observa en la figura 4.10.

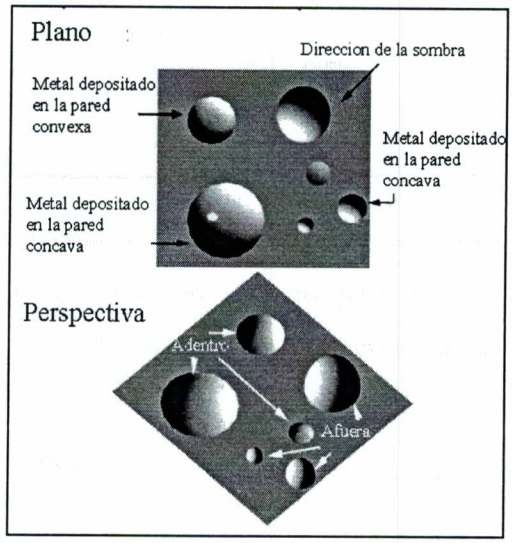


Figura 4.10: Interpretación de la sombras aportadas por los metales en la microfotografía de la réplica en TEM.

Es importante destacar que para la correcta manipulación de muestras e interpretación de las estructuras contamos con el apoyo del Dr. Juan Carlos Cavicchia miembro del

Instituto de Histología y Embriología "Dr. Mario H. Burgos" IHEM–CONICET, Mendoza, Argentina.

4.2.10.4 Microscopio electrónico de barrido (MEB o SEM):

Crea una imagen ampliada de la superficie de un objeto. No es necesario cortar el objeto en capas para observarlo con un SEM, sino que puede colocarse en el microscopio con muy pocos preparativos. El SEM explora la superficie de la imagen punto por punto, al contrario que el TEM, que examina una gran parte de la muestra cada vez. Su funcionamiento se basa en recorrer la muestra con un haz muy concentrado de electrones, de forma parecida al barrido de un haz de electrones por la pantalla de una televisión. Los electrones del haz pueden dispersarse de la muestra o provocar la aparición de electrones secundarios. Los electrones perdidos y los secundarios son recogidos y contados por un dispositivo electrónico situado a los lados del espécimen. Cada punto leído de la muestra corresponde a un píxel en un monitor de televisión. Cuanto mayor sea el número de electrones contados por el dispositivo, mayor será el brillo del píxel en la pantalla. A medida que el haz de electrones barre la muestra, se presenta toda la imagen de la misma en el monitor. Los microscopios electrónicos de barrido pueden ampliar los objetos 200.000 veces o más. Este tipo de microscopio es muy útil porque, al contrario que los TEM o los microscopios ópticos, produce imágenes tridimensionales realistas de la superficie del objeto.

Preparación de muestras: Los films fueron cortados en laminas de aproximadamente 0,5 cm de largo por 0,2 cm de alto, se fijaron a un soporte (resina epóxica) y se colocaron en una cámara de alto vacío (desecado de la muestra) los films fueron colocados perpendiculares al soporte (muestras de perfil) y paralelos al soporte (superficie), luego se realizó la metalización de la muestras, proceso que consiste en cubrir el film con una fina de capa de un metal pesado (en este caso una mezcla de paladio y oro). Esta metalización tiene por objeto aportar los electrones secundarios los que impactan en la pantalla formando la imagen.

Se utilizó para este estudio un SEM Siemens Autoscan, (Alemania).

4.2.11 Reología de polvos. Compresibilidad y flujo

4.2.11.1 Medición de densidad de polvos y ángulo de reposo.

Se midió la densidad bulk o a granel (D_G) y densidad tap o empaquetada (D_E) (densidad del polvo después de someterlo a impactos)

- Determinación de D_G: el polvo bajo estudio fue colocado suavemente en el interior de un recipiente calibrado (probeta) previamente tarado y fue pesado para determinar el peso del polvo.
- Determinación de D_E: el recipiente calibrado con el polvo en su interior fue sometido a una serie de suaves impactos verticales hasta que el volumen final ocupado por el polvo no presenta variaciones (volumen constante).

Ambas densidades fueron calculadas como la relación entre el peso del polvo y el volumen que ocupa (figura 4.11).

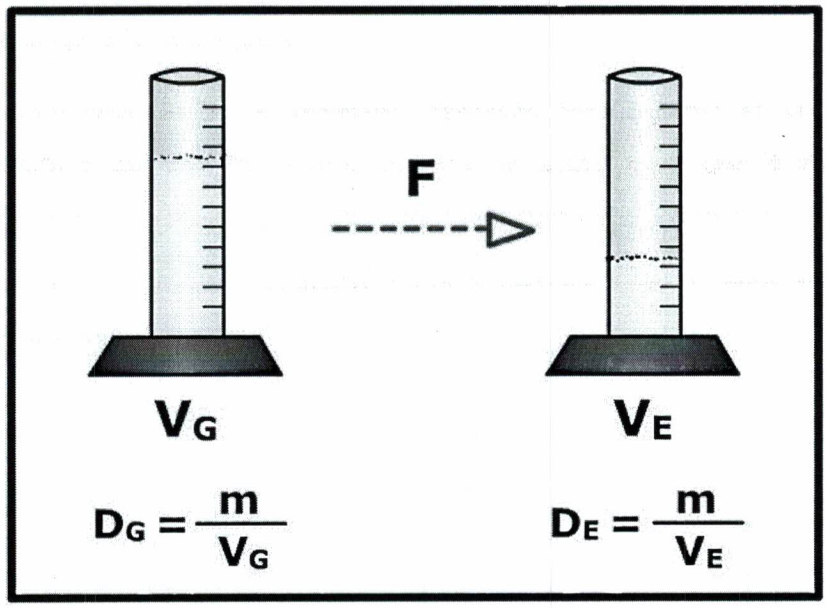


Figura 4.11: Esquema la determinación de densidad a granel y empaquetada.
V_G: volumen granel; V_E: volumen empaquetado.

- Medición del ángulo de reposo dinámico: se dejo caer el polvo sobre una base de diámetro conocido (2R), a través del orificio de un embudo ubicado 5 cm de altura. El ángulo de reposo se calculó como 0 = arctg h/R (Figura 4.12).

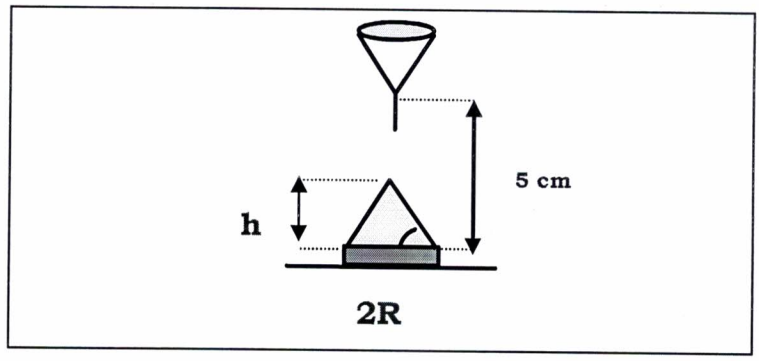


Figura 4.12: Ángulo de reposo dinámico.

4.2.11.2 Determinación de índices relacionados (índice de carr o compresibilidad y hausner).

Con las medidas de las densidades se obtuvieron los índices relacionados para la evaluación del flujo de las mezclas.

$$\% \text{ Compresibilidad o } I_C = (D_E - D_G)/D_E \times 100$$

$$\text{Índice o cociente de hausner } C_H = D_E/D_G$$

4.2.11.3 Determinación de dureza

La dureza de las matrices fue determinada en términos de la fuerza necesaria para producir la rotura del comprimido. (Durómetro DU4, AVIC)

4.2.11.4 Determinación de friabilidad

Para este ensayo se utilizó un friabilómetro que consta de un tambor sostenido sobre un eje central sobre el cual gira. Este dispositivo posee una rampa en su interior que somete a los comprimidos a una tensión externa (simula las tensiones que podría sufrir el comprimido durante su almacenamiento y transporte).

Se pesó la cantidad indicada en Farmacopea Argentina 7ma Ed. y al terminar los 100 giros, especificados, se realizó nuevamente la pesada obteniéndose una pérdida de peso dentro de los rangos especificados (pérdida < 1%).

4.2.11.5 Determinación del tiempo de mezclado

La determinación del tiempo de mezclado fue realizado siguiendo el esquema de la figura 4.13

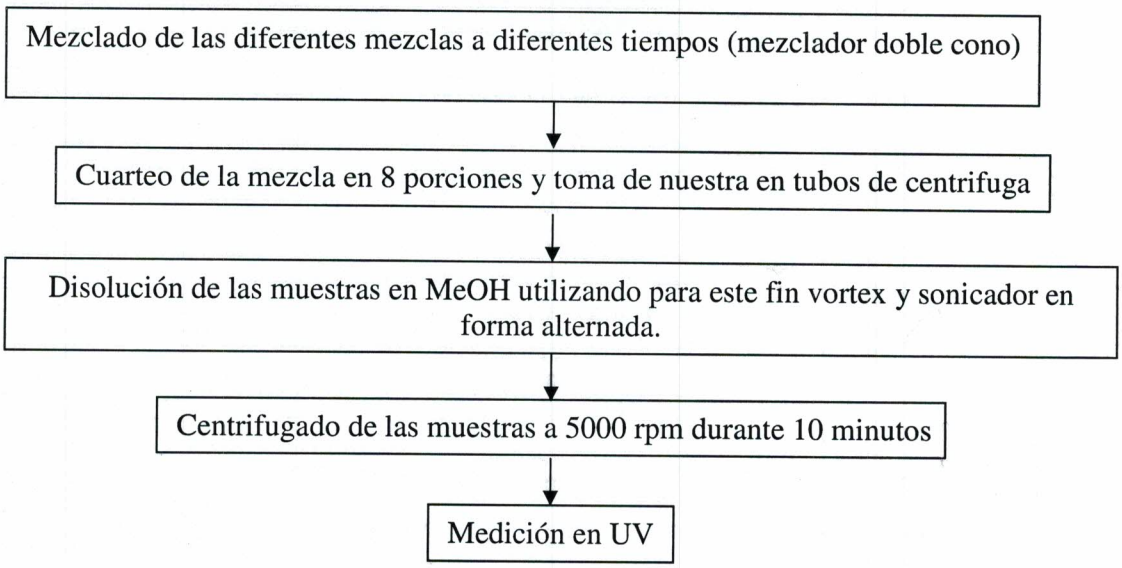


Figura 4.13: Esquema del método utilizado para la determinación del tiempo de mezclado.

4.2.11.6 Determinación de uniformidad de peso

Para este ensayo se pesaron exacta e individualmente 20 comprimidos Y se determinó el Valor Promedio, DS y E%. según procedimiento Farmacopea Nacional Argentina 7ma Ed.

4.2.11.7 Determinación de uniformidad de contenido

Se determinó este parámetro por medio de de espectrofotometría UV.

La preparación de las muestras para este ensayo se realizó de la siguiente manera: se tomaron 10 comprimidos, cada uno fue pesado y mortereado. El fármaco presente en el sólido fue extraído con metanol y se hizo la determinación correspondiente.

La muestras fueron normalizadas al peso promedio del comprimido (991.25 mg) y se estableció un intervalo de valores (85% - 115%) en el cual deberían encontrarse los datos.

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

5: SISTEMAS DESARROLLADOS

En la formulación de formas farmacéuticas bioadhesivas para la cavidad bucal existen una serie de consideraciones a tener en cuenta:

- Adherirse rápidamente al sitio de aplicación y permanecer en él durante al menos unas horas.
- Liberar el fármaco de manera sostenida.
- Aumentar el tiempo de efectividad del fármaco, ya sea aumentando el tiempo de contacto (tratamientos locales) o favoreciendo la absorción (tratamientos sistémicos).
- No causar inconvenientes al paciente tales como irritación, incomodidad, mal sabor, etc., lo cual puede conspirar contra la continuidad del tratamiento
- No interferir con las funciones normales del individuo (hablar, comer, beber).

Además, los nuevos sistemas desarrollados, deben ser seguros, confiables y eficaces (exigencia común para todo medicamento), para lo cual se deben considerar factores como liberación del fármaco, penetración a través de la mucosa (en el caso que no se desee, este sería considerado un efecto adverso), propiedades organolépticas, etc.

Teniendo esto en cuenta, en los inicios de este trabajo de tesis, se planteó el objetivo de diseñar un comprimido mucoadhesivo para el tratamiento de la candidiasis bucal.

5.1 Selección de Materiales

Sobre la base del diseño racional, se seleccionaron polímeros con propiedades mucoadhesivas y conocidos por su capacidad de modular la liberación del fármaco. En la tabla 5.1 se enumeran algunos ejemplos de polímeros y sus características.[54]

[54]Y., Sudhakar, K., Kuotsu, A.K. Bandyopadhyay. Buccal bioadhesive drug delivery — A promising option for orally less efficient drugs J. Control. Release 114, 1. pg 15-40. 2006

Polímeros bioadhesivos	Propiedades	Características
Policarbófilos (ácido poliacrílico entrecruzado con divinilglicol)	PM: $2.2x10^5$ Viscosidad: 2000-22500 cps (1% sol. ac) Insoluble en agua pero se hincha en solventes orgánicos, ácidos minerales fuertes y bases.	Polímero hinchable dependiendo del pH del medio y la fuerza iónica (el hinchamiento aumenta con el aumento del pH), capaz de absorber agua sobre todo en pH alcalino. Capaz de formar puentes hidrógeno entre ácidos carboxílicos no ionizados y la mucina.
Carbopol/Carbomer (carboxi-polimetilenos)	Grados farmacéuticos: 934P, 940P, 971P y 974P PM: $1x10^6$ a $4x10^6$ Viscosidad: 29,400 a 39,400cps. pH: 2,5 - 3	Polímero sintetizado por entrecruzamiento de alil-sucrosa. Extensamente utilizado como agente emulsificante, de suspensión y gelante. No es afectado por los cambios de temperatura, hidrólisis, oxidación y resistente al ataque bacteriano. Presenta buenas propiedades bioadhesivas.
Carboximetilcelulosa sódica.	PM: $9x10^4$ a $7x10^5$ Viscosidad: 1200 cps. En solución al 1% pH: 6,5 – 8,5	Incompatible con soluciones ácidas fuertes. Presenta buenas propiedades bioadhesivas.
Hidroxipropilcelulosa	PM: $6x10^4$ a $1x10^6$ Viscosidad: de 4 a 6500 cps en solución al 2% pH: 5,0 a 8,0 Soluble en agua por debajo de los 38°C, etanol y propilenglicol.	Es un polímero inerte y no provoca irritación. Muy utilizado como agente granulante en comprimidos.
Hidroxipropilmetilcelulosa	PM: $8,6x10^4$ Viscosidad variada de acuerdo a su grado farmacéutico: E15, 15cps. E4M, 4000cps. K4M, 4000cps. Todos en solución al 2%. Soluble en agua fría e insoluble en alcohol, cloroformo y eter.	Formador de film en cobertura. Ligante en comprimidos, buena estabilidad en soluciones con pH de 3,0 a 11,0.

Tabla 5.1: Características y propiedades de algunos polímeros con reconocidas propiedades bioadhesivas.

Se seleccionaron Carbomer (CB) e Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) como polímeros formadores de la base del sistema. CB fue seleccionado debido a que este material fue ampliamente estudiado en el grupo de investigación, por lo que se contaba con amplia información en cuanto a sus características como formador de matriz, geles y soluciones;

gran conocimiento en cuanto a su estabilidad y compatibilidad, como así también de sus propiedades como agente utilizado en liberación modificada[55,56,57,58].

Por otro lado, también se incluyó HPMC, ya que es un polímero bioadhesivo, sin entrecruzamientos y muy utilizado como agente matricial en formulaciones de liberación modificada[59,60,61], además cuenta con mejores propiedades físico-mecánicas[62] (flujo) y compactación que CB.

En un principio se realizó un estudio comparativo de diversas composiciones para evaluar su comportamiento. En la tabla 5.2 se muestran las diferentes mezclas realizadas.

CB	HPMC
100	0
90	10
80	20
70	30
50	50

Tabla 5.2: Distintas mezclas de CB:HPMC ensayadas.

[55] A Jimenez-Kairuz, D.A. Allemandi and R.H. Manzo Mechanism of lidocaine release from carbomer-lidocaine hydrogels., Journal of Pharmaceutical Sciences, 91, 267-72 2002

[56] A. P. Vilches, A. Jimenez Kairuz, F. Alovero, M.E. Olivera, D. Allemandi and R.H. Manzo. Release kinetics and up-take of model fluoroquinolones from carbomer hydrogels. o. International Journal of Pharmaceutics, 246, 17-24, 2002.

[57] A. Jimenez Kairuz, D. Allemandi and R.H. Manzo Equilibrium properties and mechanism of kinetic release of metoclopramide from carbomer hydrogels. International Journal of Pharmaceutics 250, 1, 129-136 2003.

[58] A Jimenez-Kairuz, D.A. Allemandi and R.H. Manzo A strategy to improve the chemical stability of a model basic drug by ion pairing with acid groups of polyelectrolytes. International Journal of Pharmaceutics, 269, 149-156 2004.

[59] C. Narendraa, M.S. Srinathb y B. Prakash Raoa. Development of three layered buccal compact containing metoprolol tartrate by statistical optimization technique. International Journal of Pharmaceutics 304, 1-2 , 4, pg 102-114. 2005.

[60] B. Singh y N. Ahuja, Development of buccoadhesive hydrophilic matrices of diltiazem hydrochloride: optimization of bioadhesion, dissolution and diffusion parameters. Drug Dev. Ind. Pharm. 28, pg. 431–442. 2002

[61] S. Bouckaert y J.P. Remon, *"in-vitro"* bioadhesion of buccal Miconazole slow-release tablet. J. Pharm. Pharmacol. 45, pp. 504–507. 1993

[62] H-H. Chen y Y.C. Huanga. Rheological properties of HPMC enhanced surimi analyzed by small- and large-strain tests—II: Effect of water content and ingredients. Food Hydrocolloids. Article in Press. 2007.

5.2 Ensayo Comparativo de Diversas Mezclas Mecánicas de Polímeros con Propiedades Adhesivas.

Siempre teniendo en cuenta que los sistemas diseñados deben presentar adecuadas propiedades bioadhesivas, la forma de seleccionar o de descartar una posible formula se basó, en primera instancia, en la fuerza de adhesión que estas poseían.

Para esto se elaboraron los comprimidos en forma manual en una prensa excéntrica con una matriz de 13 mm. y aplicando una fuerza de 1500 Kg durante 5 segundos. De esta forma se obtuvieron comprimidos de 2 mm. de espesor y 13 mm. de diámetro a los cuales se los sometió al ensayo de fuerza de adhesión, método descripto en el capítulo de materiales y métodos (Capítulo 4, sección 4.2.3).

5.2.1 Selección la Matriz Adecuada Sobre la Base de las Propiedades de Bioadhesión y Captura de Agua

El estudio de la interacción del sistema con agua y/o fluidos biológicos es importante, debido a que, las propiedades de liberación del sistema y la bioadhesividad están íntimamente relacionadas a la mojabilidad del sólido.

Actualmente, los estudios de captura (up-take) de agua u otros medios fisiológicos simulados (ej: fluido gástrico, solución fisiológica, etc.) son de mucho interés en tecnología farmacéutica, sobre todo para el análisis de sistemas de liberación compuestos por polímeros.

Generalmente el proceso mediante el cual el líquido penetra en el sistema es la difusión como resultado de un movimiento molecular al azar. Este mecanismo es tenido en cuenta en una de las teorías que se postulan para explicar el fenómeno de bioadhesión como es la teoría de mojado (Capítulo 1, sección 1.3.2). Esta teoría se aplica sobre todo a sistemas líquidos y considera las energías superficiales e interfaciales. Implica la capacidad de un líquido de expandirse espontáneamente sobre una superficie como requisito previo para el desarrollo de la adherencia. La afinidad de un líquido por una superficie se puede obtener utilizando técnicas tales como la medición del ángulo del contacto entre el líquido y la superficie, siguiendo la regla general que cuanto más bajo es el ángulo de contacto, mayor es la afinidad del líquido al sólido. El coeficiente de expansión (S_{AB}) se

puede calcular de las energías superficiales del sólido y de los líquidos usando la ecuación 5.1:

$$S_{AB} = \gamma_B - \gamma_A - \gamma_{AB} \qquad \text{ec. 5.1}$$

Donde γ_A es la tensión superficial (energía) del líquido, γ_B es la energía superficial del sólido B y γ_{AB} es la energía interfacial entre el sólido y el líquido. Si S_{AB} es positivo el líquido se expande espontáneamente sobre el sólido[63].

Durante este proceso el polímero, debido a su interacción con el líquido, va adoptando nuevos estados (sólido o semisólido) y dependiendo de este estado va a ser diferente la difusión del líquido hacia el interior del sistema.

Es conocido que ciertos segmentos de las cadenas poliméricas están en constante movimiento, dicho movimiento (similar al movimiento browniano de los gases), crea espacios vacíos los cuales son ocupados rápidamente por las moléculas de agua que comienzan a interprenetrar el polímero[64].

Numerosos investigadores presentaron correlaciones de sorción de agua con la cinética de liberación de fármacos[65]; con las propiedades bioadhesivas de los sistemas[66,67] y modelos cinéticos que describen los mecanismos de sorción de diferentes materiales[68].

Como se expuso anteriormente (sección 1.3.2), la interacción bioadhesiva entre el polímero y la mucina necesita un contacto íntimo entre las dos superficies, en este caso polímero-mucosa, y la presencia de fluidos. Esto último es fundamental para que se produzca el hinchamiento del polímero, lo que aumenta la movilidad de las cadenas y facilita la interpenetración de las mismas con la capa de mucus.

---

[63] J.D., Smart. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. Advanced Drug Delivery Reviews 57, 11, 3, pg 1556-1568. 2005.

[64] J.M., Vernaud. Liquid controlled release processes in polymeric materials: Applications to oral dosage forms. Int J Pharm. 90, 89-94.1995

[65] V., Michailova, S., Titeva, R., Kotsilkova, E., Krusteva, and E., Minkov. Influence of hydrogel structure on the process of water penetration and drug release form mixed HPMC/ thermally pregelatinized waxy maize starch hydrophilic matrices. Int. J. Pharm. 222, pg. 7-17. 2001

[66] T., Nguyen-Xuan, R., Toward, A., Terras, Y., Jacques, P., Buri, and R. Gurny. Mucoadhesive semi-solid formulations for intraoral use containing sucralfate. Eur. J. Pharm. Biopharm. 43(2), pg. 133-137. 1996

[67] Y., Machida, and T., Nagai. Bioadhesive preparation as topical dosage forms. En: E., Mathiowitz, D.E., Chickering III, and C-M., Lehr. Bioadhesive drug delivery systems. capítulo 23, Marcel Dekker Inc., New York, pg. 641-658. 1999

[68] L. Massaro and X.X., Zhu. Physical models of difusion for polymer solutions, gels and solids. Prog. Polym. Sci., 24, pg. 731-775. 1999

De esta manera se analizaron las distintas matrices en función de la captura de agua, y fuerza de adhesión, con el objetivo de evaluar la performance de cada una. En las figuras 5.1 y 5.2 se pueden observar estos resultados.

En forma general las mezclas que presentaron mayor bioadhesividad son las que mostraron mayor capacidad de absorción de agua. Sin embargo, en este caso, se observó que la mezcla CB:HPMC 9:1, con mejor adhesividad, absorbe menor cantidad de agua que la mezcla CB:HPMC 8:2.

Esto se debe a que si bien la presencia de agua es fundamental para que se inicien los procesos involucrados en la bioadhesión (fenómeno agua-activado), un exceso de la misma en el sistema, puede provocar que la fuerza de adhesión disminuya considerablemente, lo cual puede ser atribuido a que un exceso de líquido provocaría que las cadenas poliméricas adquieran mayor velocidad de movimiento produciendo una disminución en la fuerza de adhesión o bien una disminución de la duración de las uniones adhesivas entre las dos superficies[69].

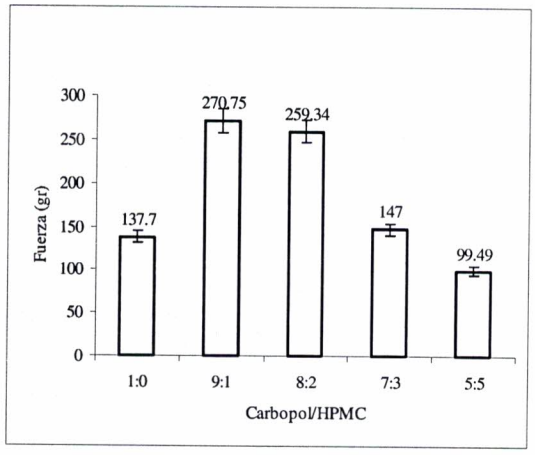


Figura 5.1: Fuerza de adhesión de distintos sistemas CB/HPMC.

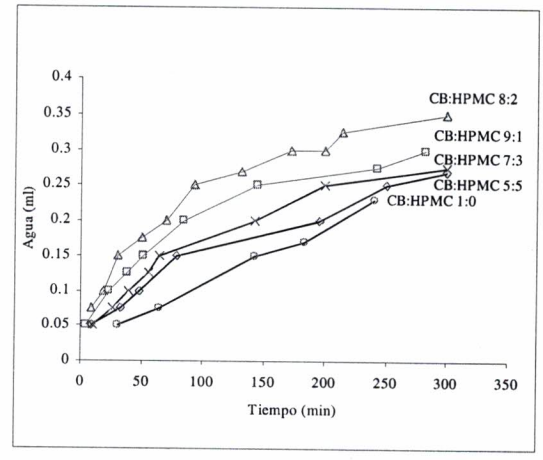


Figura 5.2: Captura de agua de distintos sistemas CB/HPMC.

Sobre la base de estos resultados se seleccionó la matriz compuesta por CB:HPMC 9:1 debido a que esta fue la que mostró mejores propiedades adhesivas sobre el sustrato.

[69]N. Salamat-Miller, M. Chittchang, T. P. Johnston. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. Adv. Drug. Deliver. Rev. 57 pg.1666-1691. 2005

5.3 Evaluación Farmacéutica del Sistema

5.3.1 Influencia del Fármaco en el Sistema

Se seleccionó Nistatina como fármaco modelo para ser incorporado en el sistema.
La cantidad de Nistatina incorporada en la formulación fue establecida de acuerdo a los antecedentes de su utilización clínica y a las dosis usualmente utilizadas en distintas formulaciones tradicionales (100.000 UI por dosis)[70,71].

5.3.1.1 Evaluación Radial de los Frentes de Solvente

Los sistemas evaluados (comprimidos) en este trabajo de tesis, formados por polímeros hidrofílicos) son también llamados *matrices hidrogel, matrices hidrocoloidales, sistemas de liberación controlados por hinchamiento, matrices hidrofílicas, matrices hinchables, entre otros*[72], a los fines prácticos, en adelante, se nombrarán como *matrices hinchables (MH).*

Para conocer cuales son los mecanismos por los que se produce la liberación del fármaco desde este tipo de matrices, hay que evaluar primero el comportamiento del sistema (sorción de líquidos, liberación del fármaco, etc.) y su interacción con el medio.
Cuando están en contacto con un medio acuoso, las MH, se hinchan, aumentan su volumen debido a la absorción de líquido. Este hinchamiento es el resultado macroscópico de una serie de fenómenos que se llevan a cabo como consecuencia de la interacción del polímero con el medio acuoso. Es por esto que este tipo de comportamiento puede ser considerado desde dos aspectos complementarios: el comportamiento *macroscópico y microscópico.*
Macroscópicamente se visualiza el hinchamiento de la matriz en donde se pueden distinguir claramente 3 zonas delimitadas por distintos frentes llamados *frentes de*

[70]J.G., Hardman, L.E., Limbird, P.B., Molinoff, R.W., Ruddon . Goodman Gilman, in: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, McGraw-Hill Interamericana, México, 1996
[71]MYCOSTATIN® (nystatin lozenges, USP) Pastilles, www.bms.com. 2004
[72]P., Colombo, R., Bettini, S., Santi, A de Asentís, N., Peppas. Analysis of the swelling and release mechanisms from drug delivery systems with emphasis on drug solubility and water transport. J. Con. Release 39, pg. 231-237. 1996

solvente[73]. Estos frentes de solvente van evolucionando a medida que aumenta el tiempo de contacto entre el sistema y el solvente. En el esquema presentado en la figura 5.3 se muestra este comportamiento.

En la zona 1 el polímero se encuentra en estado seco, el agua aún no ha penetrado en este sector del sistema, las cadenas poliméricas se encuentran en un estado enrollado y sin perturbaciones. Esta zona esta delimitada por el *frente de hinchamiento* el cual es fácilmente identificado ya que separa al *sólido seco* del *sólido mojado o humectado.*

En las zonas 2 y 3 el solvente ya penetró en el sistema, esto produce un cambio brusco pasando de un estado sólido (vítreo) a un nuevo estado solvatado (mojado – gomoso).

Este cambio abrupto se produce como consecuencia de la interacción entre el solvente y las cadenas poliméricas que resulta en una disminución de la Temperatura de Transición Vítrea (Tg) del polímero la cual es definida como la temperatura a la cual el polímero cambia su estado físico (vítreo a gomoso por calentamiento o gomoso a vítreo por enfriamiento)[74].

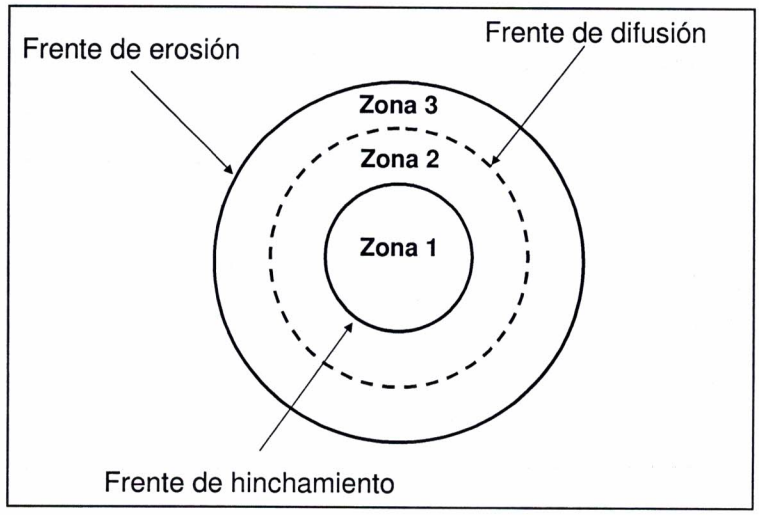


Figura 5.3: Esquema de los frentes de solvente.

[73] S., Kill, K., Dam-Johansen. Controlled drug delivery from swellable hydrxypropylmethycellulose matrices: model-based analysis of observed radial front movemenets. J. Control. Release. 90, 1, pg. 1-21. 2003

[74] Martin, A. Polymer science. En Physidal Pharmacy. 4ta Ed. Williams & Wilkins. Cap. 20, pg 586. Baltimore. USA. 1993.

Esta disminución de la Tg aumenta la libertad de movimiento de las cadenas del polímero aumentado su radio y velocidad de giro, resultando en el hinchamiento del sistema[75] como se muestra en la figura 5.4.

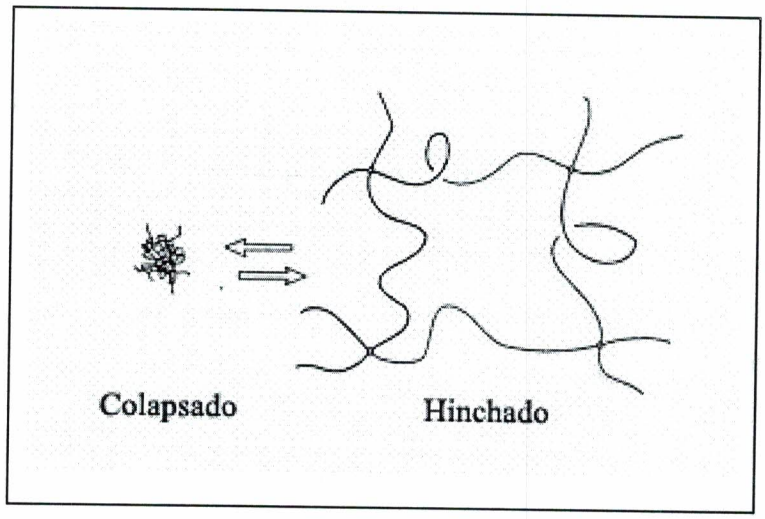


Figura 5.4: Representación del cambio de estado del polímero en estado seco a un estado solvatado.

Estas dos zonas son las que forman la llamada "capa gel", la cual actúa como una capa protectora de la matriz (separa al solvente del sistema) ayudando a mantener la integridad de la matriz, por lo tanto su estabilidad y rápida formación es fundamental.

Durante el proceso de liberación del fármaco, la capa gel está expuesta a continuos cambios en su estructura y grosor. Esta capa es una barrera hidrofílica que regula la difusión de agua dentro del sistema y la difusión del fármaco hacia el medio. La formación de esta capa gel es rápida cuando el polímero absorbe agua y se hincha, en este entorno las cadenas poliméricas están entrelazadas, por lo que esta capa está fuertemente constituida pero, a medida que el frente de solvente avanza hacia el interior de la matriz, la hidratación en la zona externa (frente de erosión) aumenta, llegando al punto en donde hay suficiente agua en la región provocando que las cadenas poliméricas se desenreden y el polímero comience a disolverse.

[75]P., Colombo, R., Bettini, P., Santi and N., Peppas. Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance. PSTT Vol. 3, No. 6. pg. 198-204. 2000

Dentro de esta capa gel se pueden distinguir además otros dos *frentes,* los que delimitan las zonas 2 y 3 antes mencionadas (figura 5.3). El frente de erosión, es el más externo y es el que separa la matriz del medio; y el frente de difusión, cuya extensión depende de la solubilidad y concentración del fármaco en el sistema. La zona delimitada por el frente de difusión (figura 5.3) es donde se lleva a cabo la disolución del fármaco, separa la matriz con fármaco aún no soluble de la matriz con fármaco soluble. De esta forma, la diferencia entre el frente de hinchamiento y el frente de difusión es inversamente proporcional a la solubilidad del fármaco en el medio, si el fármaco es poco soluble este frente va a avanzar más que si fuera soluble, incluso en algunos sistemas este frente de difusión puede no estar presente o ser imperceptible.[76]

Macroscópicamente se observa que el frente de erosión se mueve hacia fuera siguiendo el hinchamiento de la matriz o bien puede ser hacia adentro cuando la matriz se disuelve. El frente de hinchamiento se mueve hacia adentro "marcando" la penetración del solvente (figura 5.5). El grosor de la capa gel es medido tomando las distancias entre el frente de hinchamiento y el de erosión como se muestra en la figura 5.5[77].

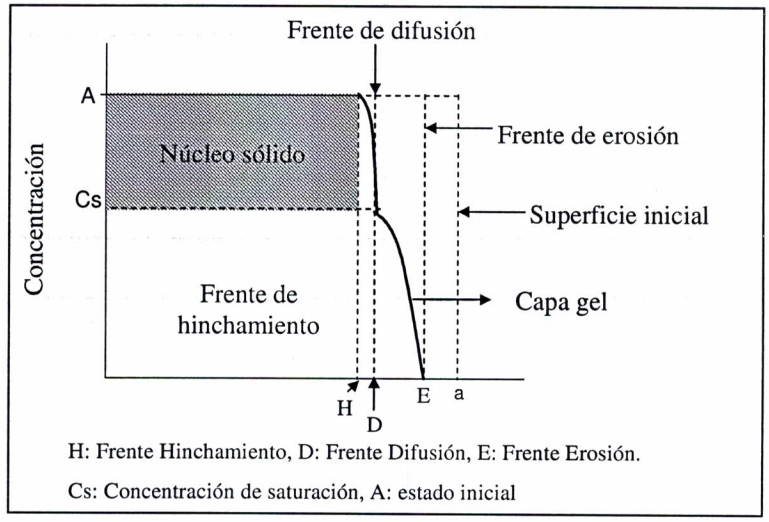


Figura 5.5: Esquema del avance de los frentes de solvente.

[76]P., Colombo, R., Bettini, N., Peppas. Observation of swelling proces and diffusion front position during swelling in hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) matrices containing a soluble drug. J. Control. Release. 61, pg. 83-91. 1999

[77]P. Colombo. Swelling-controlled release in hydrogel matrices for oral route. Adv. Drug Deliv. Rev. 11, pg. 37-57. 1993

En matrices donde el fármaco es muy soluble el frente de difusión se mueve hacia el centro de la matriz siguiendo al frente de hinchamiento muy de cerca. Cuando se trabaja con fármacos insolubles este frente se mueve hacia fuera como el frente de erosión.

Con el análisis de estas tres zonas o frentes se pueden determinar tres parámetros importantes relacionados al comportamiento de la matriz en el medio: i) la velocidad de captura de agua (frente de hinchamiento), ii) la velocidad de disolución del fármaco (frente de difusión) y iii) la erosión de la matriz (frente de erosión).

De esta manera, el movimiento de los frentes de solvente fue analizado para el sistema compuesto por CB:HPMC 9:1. La variación del color observado durante el proceso de migración de los frentes debido a la disolución de Nistatina (amarillo: Nistatina no disuelta, amarillo claro: Nistatina disuelta) permitió una clara identificación de cada uno de ellos. En la figura 5.6 se muestra el desarrollo de los frentes en función del tiempo.

Como se puede observar en la figura 5.6, los frentes de erosión y difusión se mueven hacia fuera de la matriz, mientras que el frente de hinchamiento lo hace hacia adentro acorde con la muy baja solubilidad acuosa de Nistatina[78].

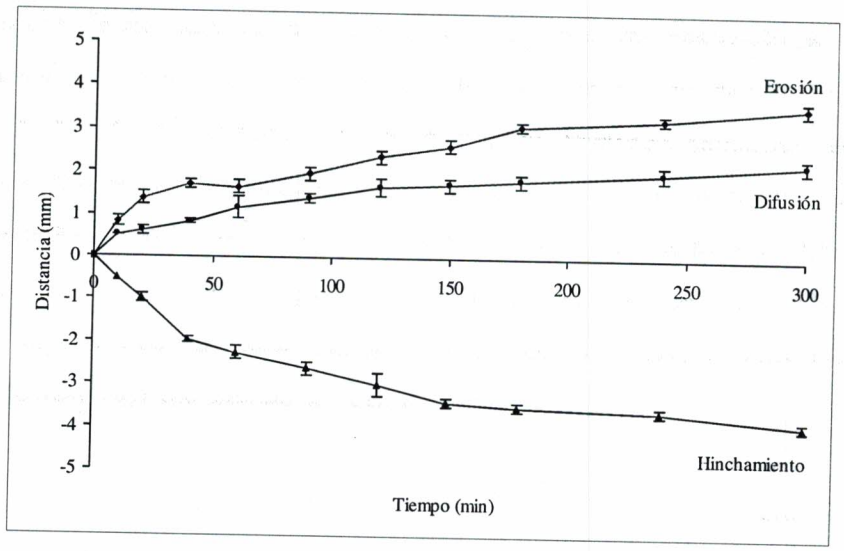


Figura 5.6: Avance de los frentes de solvente en función del tiempo para el sistema CB/HPMC/Nistatina.

[78]G.W., Michel. Nystatin. En: K., Florey, ed. Analytical Profiles of Drugs Substances, vol. 6. Academic Press, New York, pg. 341–421. 1977

Inicialmente, se puede observar un rápido desarrollo del frente de erosión que, luego de aproximadamente una hora, este crecimiento se vuelve sostenido. Algo similar ocurre con los frentes de difusión e hinchamiento, pero con un inicio más lento.

Es importante analizar no solo el comportamiento de los frentes de solventes sino también la relación que existe entre ellos.

Como se mencionara anteriormente, la distancia entre los frentes de hinchamiento y de erosión definen la capa gel, la cual está involucrada en los mecanismos de liberación del fármaco.

En la figura 5.7 se muestra el comportamiento de esta capa gel a lo largo del tiempo. El crecimiento de esta zona (zona 2 + zona 3) no es constante, se nota un crecimiento rápido los primeros 60 minutos y luego la pendiente comienza a decrecer (velocidad más lenta).

También se observa una gran diferencia entre los frentes de hinchamiento y el de difusión (Fh – Fd) debido a la baja solubilidad de Nistatina en el medio. Finalmente se puede observar que el proceso de erosión no es muy significativo y no contribuirá a la modulación de la liberación del fármaco desde la matriz. Este comportamiento puede ser atribuido a la presencia de altas proporciones de CB, lo cual da lugar a la formación de un gel rígido debido a la presencia de entrecruzamientos químicos en su estructura[79].

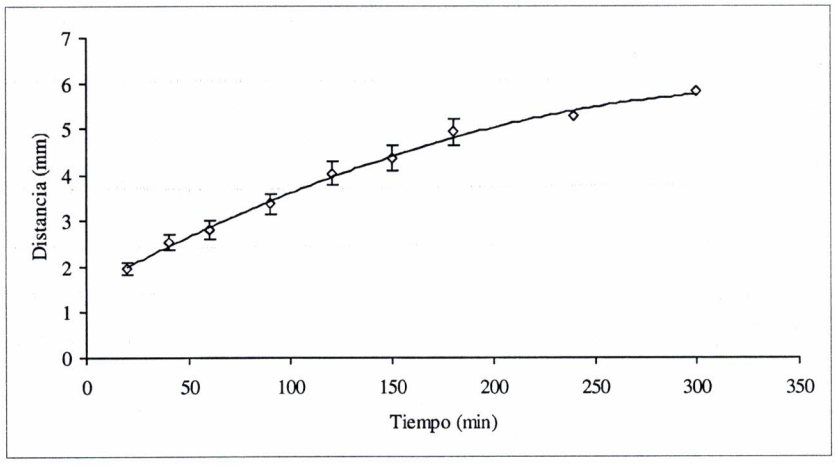


Figura 5.7: Evolución de la capa gel en función del tiempo.

[79]BFGoodrich Specialty Chemicals. Carbopol. Technical Bulletin N°17. 1994

5.3.1.2 *Captura de Agua y Bioadhesión*

Cuando los polímeros se combinaron con el fármaco se produjo un efecto no esperado, se observó un aumento en la bioadhesión del sistema medido en términos de la fuerza que se necesitó para despegar las dos superficies (figura 5.8).

Este comportamiento podría deberse a que el agregado de Nistatina produciría un aumento de la presión osmótica de la mezcla de polímeros. Este aumento en la presión osmótica está dado por la proporción de Nistatina disuelta en el sistema. En la figura 5.9 se advierte que desde el inicio del experimento ambas matrices absorven agua, por lo que existe cierta proporción de fármaco disuelto en la matriz (ver *disolución del fármaco,* capítulo 5, sección 5.3.1.3). Este aumento en la presión osmótica, con el consecuente aumento de la absorción de agua (teoría de mojado, capítulo 1, sección 1.3.2.3), facilitaría la interacción entre los sustratos, efecto que puede ser observado en la figura 5.8 como un aumento en la fuerza de adhesión.

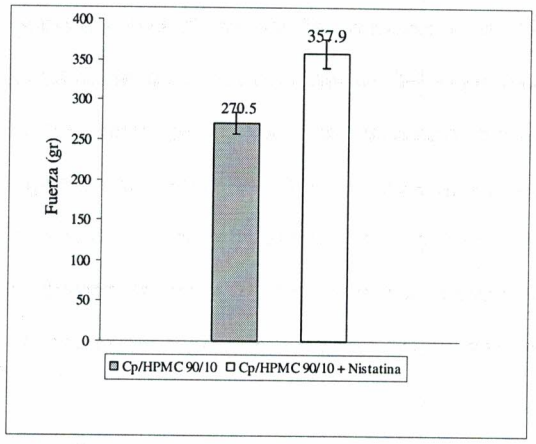


Figura 5.8: Comparación de la fuerza de adhesión CB/HPMC y CB/HPMC + Nistatina.

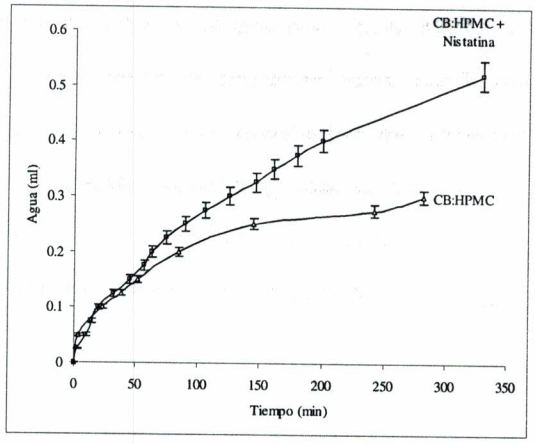


Figura 5.9: Comparación de la captura de agua de CB/HPMC y CB/HPMC + Nistatina.

5.3.1.3 *Disolución del Fármaco*

Desde hace tiempo, en el área de farmacotecnia y tecnología farmacéutica se investiga en formas farmacéuticas no convencionales. Así surgieron las formas farmacéuticas de liberación retardada (el fármaco se libera global y masivamente, pero no de forma inmediata a su administración sino al cabo de un cierto tiempo), de liberación prolongada (tras la liberación inmediata de una dosis inicial de principio activo continua liberando cantidades que aseguran niveles plasmáticos terapéuticos durante al menos 6-8 horas) y

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

formas de liberación sostenida (después de la cesión inicial de fármaco la liberación se prolonga durante un tiempo relativamente largo, normalmente 24 horas).

Hoy se prefiere el término, más general, de formas farmacéuticas o sistemas de liberación modificada donde se incluyen todas aquellas formulaciones que en su diseño intervienen, de una u otra forma, modificaciones en el proceso tecnológico que son determinantes del lugar de liberación (formas o sistemas de liberación diferida, que incluyen las formas enterosolubles y las de liberación colónica) y del control de la liberación del fármaco (formas o sistemas de liberación controlada)[80].

En los últimos años, el desarrollo y evaluación de sistemas de liberación de fármacos basadas en MH han atraído la atención de numerosos investigadores.[81,82,83] Estas matrices pueden definirse como sistemas monolíticos constituidos por una mezcla de sólidos particulados de uno o más fármacos homogéneamente dispersos en una matriz polimérica hidrofílica.[84] La liberación de fármaco desde MH es modulada por los procesos de disolución y difusión de la droga a través del cuerpo de la matriz, y del proceso de relajación de las cadenas poliméricas, producida por la absorción de agua, observándose frecuentemente una fuerte dependencia de la velocidad de liberación con respecto al grado de hinchamiento de la MH.[85,86]

Es así que partiendo de la premisa de contar con un sistema de liberación sostenida bioadhesivo (con una dosis de ataque para un rápido inicio de la acción terapéutica) se propuso el diseño de un comprimido de dos capas de acuerdo al esquema de la figura 5.10.

---

[80]I.C., Rodríguez, A., Cerezo, I.I, Salem, Sistemas de liberación Bioadhesivos Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia Universidad de Ganada, 18071 Granada. 2003

[81]D.S., Roy, and B.D., Rohera. Comparative evaluation of rate of hydration and matrix erosion of HEC and HMC and study of drug release from their matrices. Eur. J. Pharm. Sci. 16, pg. 193-199. 2002

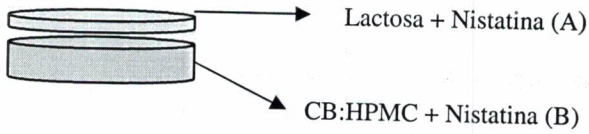
[82]G.M., Jantzen, and J.R., Robinson. Sustained and controlled release drud delivery systems. En: G.S., Banker, and C.T., Rhodes. Modern Pharmaceutics, 3rd ed. Capítulo 15, Marcel Dekker Inc., New York, pg. 575-609. 1996

[83]R-K., Chang, and J.R., Robinson. Sustained drug release form tablets and particles through coating. En: H.A., Lieberman, L., Lachman, and .B., Schwartz. Pharmaceutical dosage form: Tablets, volumen 3, Capítulo 4, pg. 199-302. 1990

[84]P., Colombo, R., Bettini, P., Santi, and N.A., Peppas. Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performace. PSTT 3 (6), 198-204. 2000

[85]P., Colombo. Swelling-controlled release in hydrogel matrices for oral route. Adv. D. Delivery Rev. 11, 37-57. 1993

[86]P., Colombo, R., Bettini, G., Massimo, P.L., Catellani, P., Santi, and N.A., Peppas. Drug diffusion front movement is important in drug release control from swellable matrix tablets. J. Pharm. Sci. 84 (8), 991-997. 1995



Capa A (dosis de ataque)		Capa B (mucoadhesiva)	
Componentes	**mg**	**Componentes**	**mg**
Lactosa CD	100	CB:HPMC (9:1)	200
Nistatina	30	Nistatina	33.3

Figura 5.10: Esquema del comprimido de doble capa diseñado.

Se analizó la disolución *"in-vitro"* de Nistatina desde el comprimido bicapa como así también cada una de las capas por separado. La comparación entre los resultados es solo de carácter cualitativo ya que las condiciones del ensayo cambian cuando se trata de: i) el sistema completo (comprimido bicapa) o ii) de sus partes por separado (capa polimérica sola o capa de lactosa sola). Los resultados se muestran en la figura 5.11.

Este ensayo *"in-vitro"* fue realizado inhibiendo una de las caras del comprimido, simulando las condiciones que el mismo tendría *"in-vivo"* al estar adherido a la mucosa.[87]

La capa de liberación inmediata (dosis de ataque) compuesta por lactosa y Nistatina libera más del 50% de la dosis en 1 hora. Siguiendo una cinética que puede ser descripta por la ecuación de Noyes-Whitney, lo que implica que la disolución es el mecanismo por el que se produce la liberación de Nistatina.[88]

[87]U., Conte, L., Maggi, P., Colombo, A., La Manna. Multi-layered hydrophilic matrices as constant release devices (Geomatrix Systems). J Control Release. 26 pg. 39-47. 1993

[88]A.A., Noyes, W.R., Whitney. The rate of solution of solid substances in their own solutions, J. Am. Chem. Soc. 19 930-934. 1897

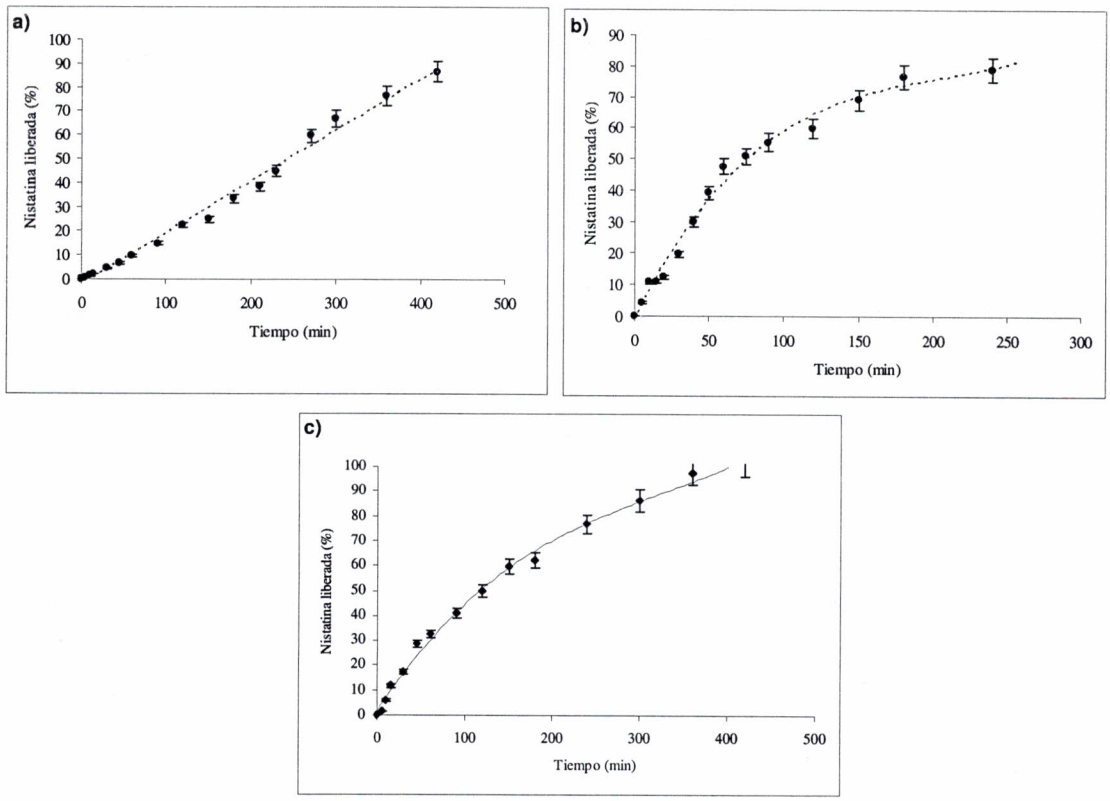


Figura 5.11 a): Perfil de liberación desde la capa polimérica (CB/HPMC + Nistatina, b): perfil de liberación desde la capa de lactosa y c): perfil de liberación desde el sistema completo.

La capa mucoadhesiva libera el fármaco en forma más lenta, en aproximadamente 6 horas se disuelve un 80% de la dosis de Nistatina en el sistema de forma prácticamente constante. Por último el perfil de disolución desde el comprimido bicapa muestra que la capa de lactosa es la que produce la mayor contribución en términos de fármaco liberado durante las primeras dos horas, luego de la cual la liberación es sostenida y modulada por las características de los polímeros que componen la capa mucoadhesiva.

Los datos de liberación fueron analizados como una función del tiempo utilizando una ecuación exponencial simplificada descripta para el estudio de sistemas de liberación basados en MH [89,90]. Acorde con el modelo semiempírico desarrollado por Korsmeyer y

[89]P.I., Lee. Kinetics of drug release from hydrogel matrices. J. Cont. Release. 2, pg. 277-288. 1985
[90]G.W., Sinclair, and N.A., Peppas. Analysis of non-fickian transport in polymers using simplified exponential expressions. J. Membrane Sci., 17, 329-331. 1984

col[91]. (ecuación 5.2), la velocidad de liberación de un fármaco desde este tipo de sistemas puede calcularse por:

$$F_t / F_\infty = k_l \cdot t^n \qquad \text{ec. 5.2}$$

Donde $\mathbf{F_t}$ y $\mathbf{F_\infty}$ representan la fracción de fármaco liberado en un determinado tiempo **t** y la cantidad total contenida en el sistema, respectivamente, ($\mathbf{k_l}$) es la constante de liberación aparente y **n** el exponente de difusión.

En este tipo de sistemas poliméricos, resulta sumamente interesante, el poder estudiar y comprender cual o cuales son los mecanismos involucrados en la liberación del fármaco. Calculando este coeficiente *n* se realiza una aproximación para la interpretación de los mecanismos de liberación que operan durante el proceso.[92,93] Este modelo, desarrollado para MH (constituidos por una mezcla heterogénea de sólidos) propone: (a) que si *n* es igual a la unidad, la velocidad de liberación es constante en el tiempo, por lo tanto, la cinética de liberación es de orden cero, y el paso limitante sería la relajación de las cadenas del polímero; (b) si el valor de *n* es igual a 0,5 (ó se halla entre 0,45 y 0,55), la velocidad de liberación se aproxima o es proporcional a la raíz cuadrada del tiempo siguiendo una cinética fickiana, donde la liberación estaría controlada por la difusión de fármaco a través de la matriz y (c) Si el valor de *n* resulta: $0,55<n<1$, habría un aporte simultáneo a la velocidad de liberación, de los procesos de difusión y relajación, conociéndose como liberación no-fickiana o anómala[94].

De los datos obtenidos, un valor de n = 0.82 fue calculado, indicando un comportamiento anómalo (cinética de liberación anómala) lo cual sugiere que los mecanismos por los cuales el sistema regula la cesión de fármaco al medio son: la difusión de Nistatina a través de la red polimérica conjuntamente con la relajación del polímero. Resultados

[91]R.W., Korsmeyer, R., Gurny, E., Doelker, P., Buri and N.A., Peppas. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers, Int. J. Pharm. 15, pg. 25-35. 1983

[92]P.I., Lee. Kinetics of drug release from hydrogel matrices. J. Cont. Release. 2, pg. 277-288. 1985.

[93]R.W., Korsmeyer, R., Gurny, E., Doelker, P., Buri and N.A., Peppas. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers, Int. J. Pharm. 15, pg. 25-35. 1983

[94]P., Costa and J.M., Sousa Lobo. Modeling and comparison of dissolution profiles. Eur. J. Pharm. Sci., 13,pg.123-133. 2001

similares para este tipo de matriz con CB y HPMC con metronidazol y morfina ya han sido reportados[95,96].

Como se observa en la figura 5.11c el perfil mostrado para el sistema completo estaría acorde con los objetivos perseguidos en un sistema bioadhesivo de administración de fármacos.

5.4 Evaluación Biofarmacéutica

Para la evaluación *"in-vivo"* del sistema en la cavidad bucal se contó con la colaboración de la Cátedra de Estomatología B de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba. Este grupo, dirigido por la Dra Silvia López de Blanc cuenta con la experiencia e infraestructura para la implementación de estudios *"in-vivo"* tendientes a evaluar, en una primera etapa: posibles efectos adversos, aceptabilidad por parte del paciente y selección del lugar de aplicación más conveniente. Los resultados de estos estudios fueron de utilidad para realizar ajustes en la formulación para la optimización del sistema.

En primera instancia se evaluó el sistema polimérico solamente, sin la capa de lactosa y sin el fármaco, ya que se quería determinar el efecto de los componentes bioadhesivos sobre la mucosa bucal.

De esta forma se realizaron comprimidos de la mezcla CB:HPMC 9:1 para iniciar con las pruebas en voluntarios sanos[♣].

5.4.1 Prueba Clínica de Comprimidos Adhesivos[97]

5.4.1.1 Materiales y Métodos:

Se le administraron comprimidos a 7 voluntarios: 6 de sexo femenino y 1 masculino.

---

[95]G., Ponchel, F., Touchard, D., Wouessidjewe, D., Duchene , N.A., Peppas. Bioadhesive analysis of controlled release systems, III: bioadhesive and release behavior of metronidazole containing poly(acrylic acid)-hydroxypropyl methylcellulose systems. Int J Pharm.;38. pg. 65-70. 1987

[96]S., Anlar, Y., Capan, O., Guven, A., Gogus, T., Dalkara, A.A., Hincal. Formulation and *"in-vitro"-"in-vivo"* evaluation of buccoadhesive morphine sulfate tablets. Pharm Res.;11(2). pg. 231-236. 1994

[♣] Personal docente-investigador de la Cátedra de Estomatología B de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba

[97]Extracto del informe elevado por la cátedra de estomatología

5.4.1.2 Resultados:

5.4.1.2.1 Bioadhesión:

En primer lugar se estudió la adhesividad de los comprimidos aplicándolos en la mucosa. Se utilizaron 17 comprimidos (CB:HPMC 9:1), cuya duración promedio fue de 7 hs, con un rango de 1 - 25 horas.

Se pudo observar que existen importantes variaciones individuales, como por ejemplo el promedio de permanencia del comprimido en la boca fue de 2 hs en algunos voluntarios, mientras que en otros llegó a 19 hs de duración.

Se evaluó la influencia del momento del día en el cual se aplicó el sistema sobre el tiempo de adhesión. Se constató que los comprimidos permanecieron mayor tiempo adheridos durante la noche, observándose que la actividad bucal, debido a la ingesta de alimentos, tampoco tuvo mayores efectos sobre la bioadhesión.

5.4.1.2.2 Efectos adversos:

En los casos donde la duración fue mayor, se observaron: mucosas con aspecto despulido, erosión, leucoedema en superficie y en los casos más severos, aspecto de quemadura química, descalcificaciones de superficie dentaria y formación de quistes mucoides en el lecho donde se adhirió el comprimido. Todas estas modificaciones de la mucosa fueron reversibles.

Algunos de estos efectos serían atribuibles principalmente a la oclusión de la zona donde estaba adherido el comprimido.

5.4.1.3 Conclusiones:

Los estudios realizados mostraron que:

- el tiempo de adhesión promedio de los comprimidos fue de 7 horas.
- la presencia del comprimido causó efectos no esperados sobre la mucosa (mucosas con aspecto despulido, erosión, leucoedema, aspecto de quemadura química, descalcificaciones de superficie dentaria y formación de quistes mucoides).

Se deberá continuar con estudios clínicos con el fin de regular tiempos de permanencia así como diferentes composiciones de los comprimidos para evitar los efectos adversos.

Los resultados obtenidos de la fase biofarmacéutica de los comprimidos reveló que la aplicación de los mismos sobre la mucosa provocaba una serie de efectos adversos los cuales podían ser divididos en dos grupos: i) efectos adversos provocados por la oclusión de la zona de aplicación y ii) efectos adversos provocados por la excesiva acidez del CB. Aquellas lesiones provocadas por la oclusión de la zona de aplicación (lesiones de tipo reversibles), no reportaron gran preocupación, ya que durante un potencial tratamiento con estos comprimidos, la zona de aplicación puede variar (de una mejilla a la otra) dando tiempo a que la lesión se revierta. Por otro lado, las lesiones provocadas por el efecto ácido del CB fueron las más graves y preocupantes ya que justamente el polímero que le otorga las propiedades de bioadhesión y liberación sostenida al sistema, es el causante de las lesiones observadas.

6. RE-DISEÑO DEL COMPRIMIDO

El análisis e interpretación de los resultados obtenidos, especialmente lo relacionado a la aparición de efectos adversos, indicaron que debía realizarse un re-diseño de la formulación originalmente seleccionada para los estudios.

Es así que surge como potencial solución la utilización de la sal sódica de CB (CBNa) en reemplazo de CB. Este producto (CB neutralizado), obtenido de la neutralización del CB, no posee las características ácidas de su precursor (CB) por lo que potencialmente podría evitar la aparición de efectos adversos (pH de CB: solución 1% ≅ 3, pH de CBNa: solución 1% ≅ 7).

6.1 Obtención de Materiales

La obtención de CBNa es un procedimiento sencillo, una reacción ácido-base simple entre CB e NaOH como se muestra en el esquema representado en la figura 6.1

$$R\text{-}COOH + NaOH \rightarrow R\text{-}COO^{-}Na^{+} + H_2O \text{ (a)}$$

$$CB_{sólido} + NaOH_{solución} \Longrightarrow CBNa_{gel} \Longrightarrow \text{Liofilización} \Longrightarrow CBNa_{sólido} \text{ (b)}$$

Figura 6.1: a) Esquema de reacción ácido base entre CB – NaOH y b) Esquema de obtención de CBNa en estado sólido.

La neutralización del CB se hizo al 100%, neutralizándose todos los grupos carboxilos (grupos ácidos). Se utilizó NaOH 1M (CB posee $1{,}2 \times 10^{-3}$ equivalentes a ser neutralizados por gramo de polímero, capítulo 4, sección 4.2.1). Esta reacción de neutralización da lugar a un gel, el cual fue liofilizado para la obtención del sólido de la sal sódica de CB.

El sólido fue obtenido por liofilización ya que el que se obtenía por evaporación[♣] era un sólido extremadamente duro, lo que hacía imposible su manipulación. Ocurre lo que se conoce como efecto de ***sinterizado***, fenómeno que se lleva a cabo usualmente cuando un

[♣] Primero se realiza el gel de CB con sodio y luego se lleva a estufa hasta peso constante

sólido que ha sido húmectado es sometido a temperatura para su secado, cuando el líquido se evapora se forman puentes entre los sólidos (por cristalización) dando lugar a aglomerados fuertemente unidos. La formación de estas uniones entre las partículas sólidas se produce por una fusión localizada (se deforma la partícula lo que da lugar a una reacción química localizada) entre las superficies adyacentes.[98]

Por el contrario el sólido liofilizado posee adecuadas características para su utilización en formas farmacéuticas sólidas.

De esta forma, con el material sólido, se comenzaron las pruebas sobre este nuevo sistema.

6.2 Comprimidos con CBNa.

En primera instancia, se realizaron mezclas sólidas entre CB y su sal sódica (descartamendo la inclusión de HPMC para restarle complejidad al sistema). Esto debido principalmente a que una matriz compuesta en su totalidad por CBNa podría no poseer adecuadas propiedades adhesivas, debido a la neutralización de los grupos carboxílos, grupo funcional importante en la formación de las uniones adhesivas (capítulo 1, sección 1.3.1).

De esta forma se realizaron una serie de mezclas entre CB y CBNa para obtener distintas matrices, en la tabla 6.1 se describen las proporciones analizadas. En esta ocasión se tuvo en cuenta el pH de las mismas. Este pH fue obtenido por formación del gel al 1% en 10 ml de agua.

	CBNa	**CB**	**pH**
A	90	10	7.10
B	80	20	6.54
C	70	30	6.13
D	60	40	5.40
E	50	50	5.37
F	40	60	5.09

Tabla 6.1: Composición de las matrices CBNa/CB y su respectivo valor de pH.

[98] C.M., Sinko. Granulation characterization: methods and significance. En D.M., Parikh. Ed. Handbook of pharmaceutical granulation technology. Capítulo 14. pg. 14-15. Marcel Dekker Inc., New York. 1997.

Se realizaron estudios preliminares tendientes a conocer la capacidad adhesiva de estas nuevas matrices. Todos los sistemas mostraron adecuadas propiedades adhesivas (valores mayores a 400 gramos de fuerza aplicada para despegar la matriz del sustrato biológico, (capítulo 4, sección 4.2.4).

Ya con la certeza de que la capacidad de adherirse a la mucosa del polímero, pese a la neutralización era buena, se continuó con los estudios para caracterizar estas nuevas matrices.

Se realizaron los estudios de liberación del fármaco, observándose que para los casos donde CBNa se encontraba en altas proporciones con respecto a CB (≤ al 70%), se liberaba el total de la dosis en un intervalo de tiempo de entre 2,5 y 3,5 horas (tabla 6.2), lo cual representaba una velocidad de liberación demasiado rápida. Sin embargo las matrices D, E y F (tabla 6.1) presentaron un perfil de liberación del fármaco más acorde con los objetivos preestablecidos, cediendo al medio el 90% de la dosis entre 4 y 7 horas (tabla 6.2).

Matriz	% Liberado	Tiempo (Hs)
A	100	2.5
B	100	2
C	100	3.5
D	90	4
E	90	6
F	90	7

Tabla 6.2: Porcentaje de liberación de Nistatina en el tiempo.

6.3 Selección de la Composición de Polímeros

En función de las propiedades de bioadhesión y liberación del princio activo, las matrices D, E y F fueron seleccionadas.

Asimismo, a los fines de evaluar el efecto de las características del material sólido (liofilizado) sobre las propiedades de captura de agua, bioadhesión y liberación, fue incorporado CB liofilizado (CB_L) en reemplazo de CB en su forma comercial, formando dos series de matrices: CBNa/CB (serie 1) y CBNa/CB_L (serie 2) (tabla 6.3).

Comp	D1	D2	E1	E2	F1	F2
CBNa %	60	60	50	50	40	40
CB %	40		50		60	
CB_L %		40		50		60

Tabla 6.3: Composición de comprimidos CB:CBNa y CB_L:CBNa (serie 1 y serie 2).

6.4 Caracterización de los Sistemas

Los sistemas fueron caracterizados mediante las siguientes técnicas:

- *Bioadhesión "in-vitro" y Captura de Agua.*
- *Evaluación radial de los frentes de solvente*
- *Disolución del fármaco*

6.4.1 Bioadhesión "in-vitro" y Captura de Agua.

Se realizó el ensayo de bioadhesión sobre los sistemas obtenidos a partir de la mezclas CB:CBNa y CB_L:CBNa (tabla 6.3). Los resultados obtenidos (figura 6.2), revelan que todas las matrices ensayadas poseen adecuadas propiedades bioadhesivas.

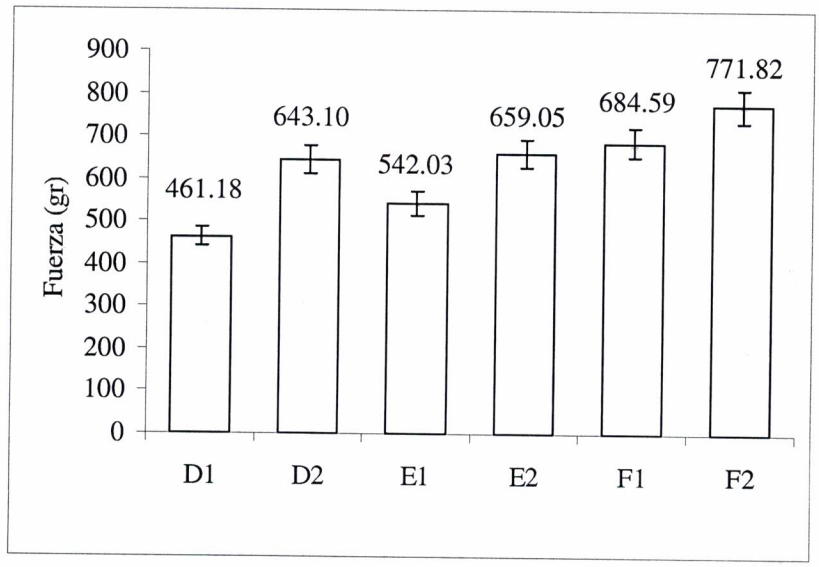


Figura 6.2: Fuerza de adhesión de las distintas mezclas de CB:CBNa y CB_L:CBNa.

Se observa que aquellas matrices en donde la proporción de CB o CB_L aumenta, también aumenta la bioadhesión del sistema. También se observa que las matrices que contienen CB_L en lugar de CB exhiben una mayor adhesión siguiendo el siguiente orden F>E>D; y F2>F1, E2>E1, y D2>D1 respectivamente. Esto debido, al estado físico del material liofilizado (CB_L) es lo que facilita la formación de los enlaces bioadhesivos.

Los resultados obtenidos en cuanto a las mediciones de sorción de agua muestran que los sistemas formados por las mezclas binarias de CB_L:CBNa poseen mayor capacidad de absorber fluidos que aquellas mezclas compuestas por CB:CBNa. Estos resultados se muestran en la figura 6.3

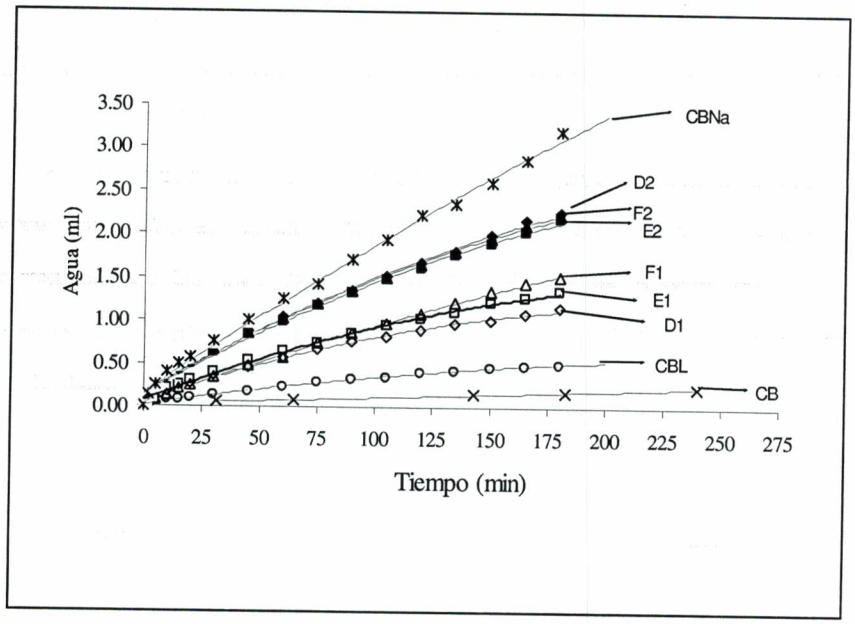


Figura 6.3: Absorción de agua desde las matrices CB:CBNa y CB_L:CBNa, de CBNa, CB_L y CB.

El factor clave es el estado físico del CB, los sistemas que contienen CB_L (D2, E2, F2) absorben agua en mayor proporción y más rápidamente que CB en su forma no liofilizada. Es bien conocido que el material sólido obtenido luego del proceso de liofilización presenta una estructura más porosa, ordenada (con cierto grado de cristalinidad) y con alta superficie específica. Estas características, en su conjunto, facilitan la penetración del agua en el sistema[99,100]. La variación de la proporción de CB_L

[99]M., Jellinek. Liofilización. En: Helman, J. (Ed.), Farmacotecnia Teórica y Práctica. Tomo III. Cía Editorial Continental, México, 971 pp. 1982

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

o CB en las matrices de cada una de las series parece no producir un cambio significativo en la sorción de agua.

Los datos de sorción de agua fueron también analizados mediante el modelo de Vergnaud, este modelo es utilizado para conocer el mecanismo mediante el cual se lleva a cabo la sorción de fluidos en este tipo de matrices. [101]

Un polímero puede estar en estado sólido (estado vítreo) o en estado gomoso (humectado) dependiendo de la temperatura. Si la temperatura del medio se encuentra por debajo de la Tg del polímero éste se mantiene en su estado vítreo, por el contrario cuando la temperatura del medio supera la Tg éste adopta un estado gomoso. La difusión de un líquido a través del polímero difiere apreciablemente dependiendo del estado del sistema. Como se mencionó anteriormente, las cadenas poliméricas se encuentran en constante movimiento, creando espacios vacíos que son ocupados por las moléculas de solvente. Cuando se produce un incremento en la temperatura o en la concentración del solvente en el sistema, aumenta la movilidad de las cadenas poliméricas, y disminuye el tiempo de relajación de las mismas [102].

Según este modelo (modelo de Vergnaud) existen tres situaciones distintas en cuanto a absorción a través de polímeros.

Caso I: cuando un polímero se encuentra por algún motivo en su estado gomoso responde rápidamente a los cambios de condiciones. Las cadenas del polímero se "acomodan" rápidamente a la presencia de líquido. La velocidad de difusión del líquido es mucho menor que la velocidad de relajación de las cadenas.

En este caso la difusión del líquido dentro del sistema es de tipo *fickiana* respondiendo a la ecuación $\mathbf{W_t=k.t^{1/2}}$, donde $\mathbf{W_t}$ es la cantidad de líquido transferido en un tiempo t y k es la constante de velocidad de penetración (la cantidad de agua absorbida por el sistema responde linealmente a la raíz cuadrada del tiempo).

Caso II: cuando el polímero se encuentra en su estado vítreo, cristalino, el movimiento de las cadenas poliméricas es más lento, por lo tanto el proceso de relajación

[100] M., Fakes, M., Dali, T., Haby, K., Morris, S., Varia, A., Serajuddin. Moisture sorption behavior of selected bulking agents used in lyophilized products. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 54, pg. 144–149. 2000

[101] J.M., Vergnaud, Liquid transport controlled release processes in polymeric material: applications to oral dosage forms. Int. J. Pharm. 90, 89–94. 1993

[102] D.S., Roy, B.D.,Rohera. Comparative evaluation of rate of hydration and matrix erosion of HEC and HPC, and study of drug release from their matrices. Eur. J. Pharm. Sci. 16, pg. 193–199. 2002

es lento comparado con la velocidad con la que se lleva a cabo el proceso de difusión del líquido, el cual difunde dentro del sistema con una velocidad constante. En este caso es donde se produce el *frente de hinchamiento* (frente de penetración del líquido en el sistema), separando al sistema en: polímero en estado gomoso (adelante de este frente) y polímero en estado vítreo (detrás donde el líquido aún no ha penetrado). La ecuación que representa esta situación $\mathbf{W_t=k.t}$

Caso III: cuando la velocidad de difusión del líquido y la velocidad de relajación del polímero son del mismo orden de magnitud, se observa lo que se denomina *difusión anómala o no-fickiana.* En este caso el sistema se comporta de manera intermedia entre los sistemas de comportamienti tipo Caso I y los de tipo Caso II y la cantidad de líquido absorbido es igual a $\mathbf{W_t=k.t^n}$, donde el exponente **n** se encuentra entre 0,5 (caso I) y 1 (caso II).

Los resultados obtenidos para este sistema se muestran en la tabla 6.4. Para todos los sistemas ensayados se obtuvo un valor de $0.62<n<0.88$, lo cual es indicativo de un mecanismo de absorción de agua anómalo.

	n	**k**	**r^2**		**n**	**k**	**r^2**
D1	0.68	0.036	0.99	D1+N	0,74	0,033	0,99
D2	0.67	0.077	0.99				
E1	0.81	0.048	0.99	E1+N	0,88	0,017	0,99
E2	0.68	0.056	0.99				
F1	0.74	0.024	0.99	F1+N	0,84	0,016	0,99
F2	0.66	0.086	0.99				

Tabla 6.4: Valores del exponente **n** para las distintas matrices utilizando el modelo de Vergnaud y el parámetro de correlación estadístico r^2 para la ecuación $W_t=k.t^n$.

La incorporación de Nistatina en la serie 1 produce un decrecimiento de *k* y un aumento de *n* (tabla 6.4) indicando una menor relajación de las cadenas poliméricas.

6.4.2 Evaluación Radial de los Frentes de Solvente

La evaluación radial de los frentes de solvente resulta útil para la comprensión de los mecanismos de liberación[103]. El seguimiento de los distintos frentes en este caso fue realizado con captura de imágenes digitales y procesadas con Adobe Photoshop® 6.0. En la figura 6.4 se muestra un ejemplo con la matriz D1. De esta forma es posible realizar un análisis de los frentes de solvente más ordenado, en el tiempo adecuado (tiempo real) y con mayor precisión, ya que se puede realizar la medición en distintas direcciones para obtener un promedio de las mismas y así obtener un dato más confiable desde el punto de vista estadístico.

En la figura 6.5 se muestran los gráficos obtenidos de estas matrices de distancia recorrida en función del tiempo para las 2 series de matrices.

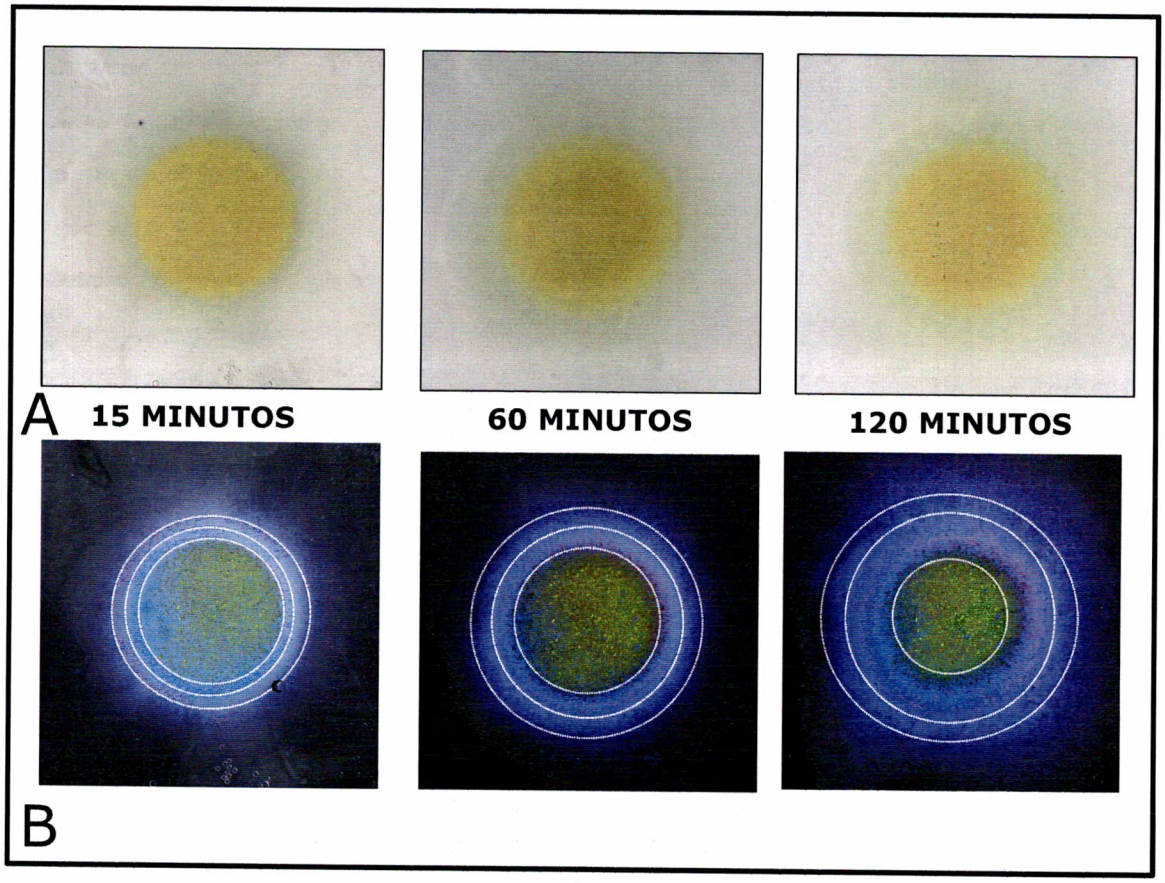


Figura 6.4: A) Fotografías digitales de la matriz D1 a distintos tiempos y B) Filtro aplicado mediante el uso del software para una mejor visualización del sistema.

[103]P., Colombo, R., Bettini, P., Santi and N., Peppas. Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance. PSTT Vol. 3, No. 6. pg. 198-204. 2000

Del análisis de los gráficos se desprende que la erosión de los sistemas es mínima (debido al entrecruzamiento de CB), ya que el frente de erosión avanza lentamente y siguiendo el hinchamiento total de la matriz. Si el proceso de erosión fuera de mayor magnitud, este frente sería constante o estaría representado en los gráficos con pendientes negativas[104].

Por otro lado, el avance hacia el exterior de la matriz del frente de difusión, concuerda con la baja solubilidad acuosa de Nistatina (capítulo 5, sección 5.3.1.1). Por último, se observa al frente de hinchamiento (relacionado con la capacidad de absorción de agua del sistema) es mayor para aquellas matrices de la serie 2 (ambos CBNa y CB_L liofilizados) lo cual se condice con lo observado en la figura 6.3.

Como se mencionara en el capítulo anterior (capítulo 5, sección 5.3.1.1) el análisis del comportamiento de la llamada *capa gel*, resulta sumamente informativo, ya que la formación y posterior evolución de esta capa gel es la determinante del mecanismo de liberación del fármaco desde el sistema.

Cuando el polímero es suficientemente soluble, la capa de gel que se forma permanece constante en el tiempo, observándose una sincronización de los frentes de solvente[105]. Este proceso da lugar a una liberación con cinética de orden cero. Este comportamiento no fue observado en ninguna de las matrices estudiadas debido a que CB es un polímero sintético con entrecruzamiento químico (aproximadamente 2% del total), lo cual restringe la posibilidad de disolver sus cadenas en forma unitaria para dar lugar al proceso de erosión. En la figura 6.6 se muestran las capas gel de las distintas matrices, en ningún caso se observa una capa gel constante, acorde con los resultados de los ensayos de disolución del fármaco (sección 6.4.3 disolución del fármaco).

[104]P. Colombo. Swelling-controlled release in hydrogel matrices for oral route. Adv. Drug Deliv. Rev. 11, pg. 37-57. 1993

[105]P., Colombo, R., Bettini, G., Massimo, P.L., Catellani, P., Santi, and N.A., Peppas. Drug diffusion front movement is important in drug release control from swellable matrix tablets. J. Pharm. Sci. 84 (8), pg. 991-997. 1995

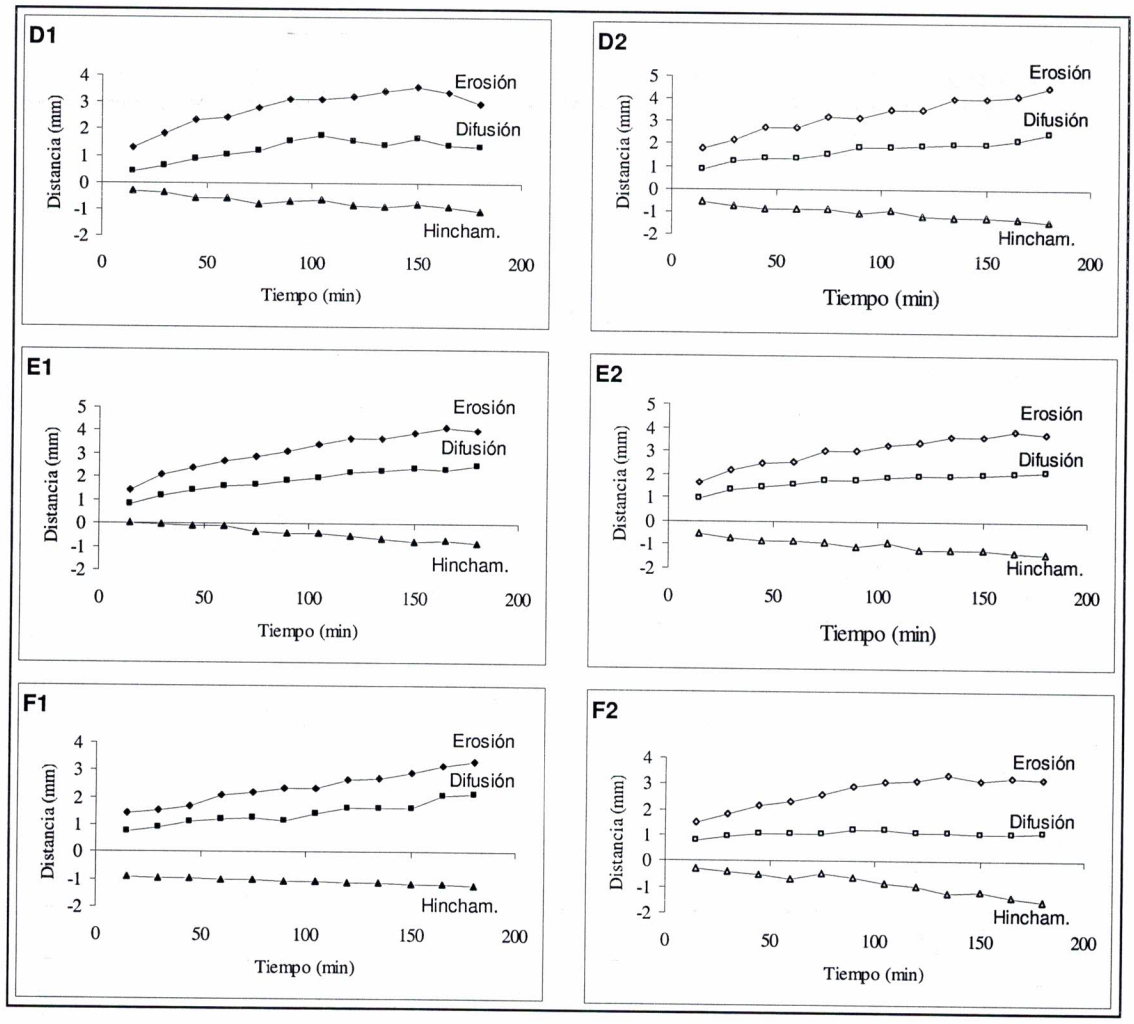


Figura 6.5: Evolución de los frentes de erosión, difusión e hinchamiento en función del tiempo para las matrices de la serie 1 y serie 2.

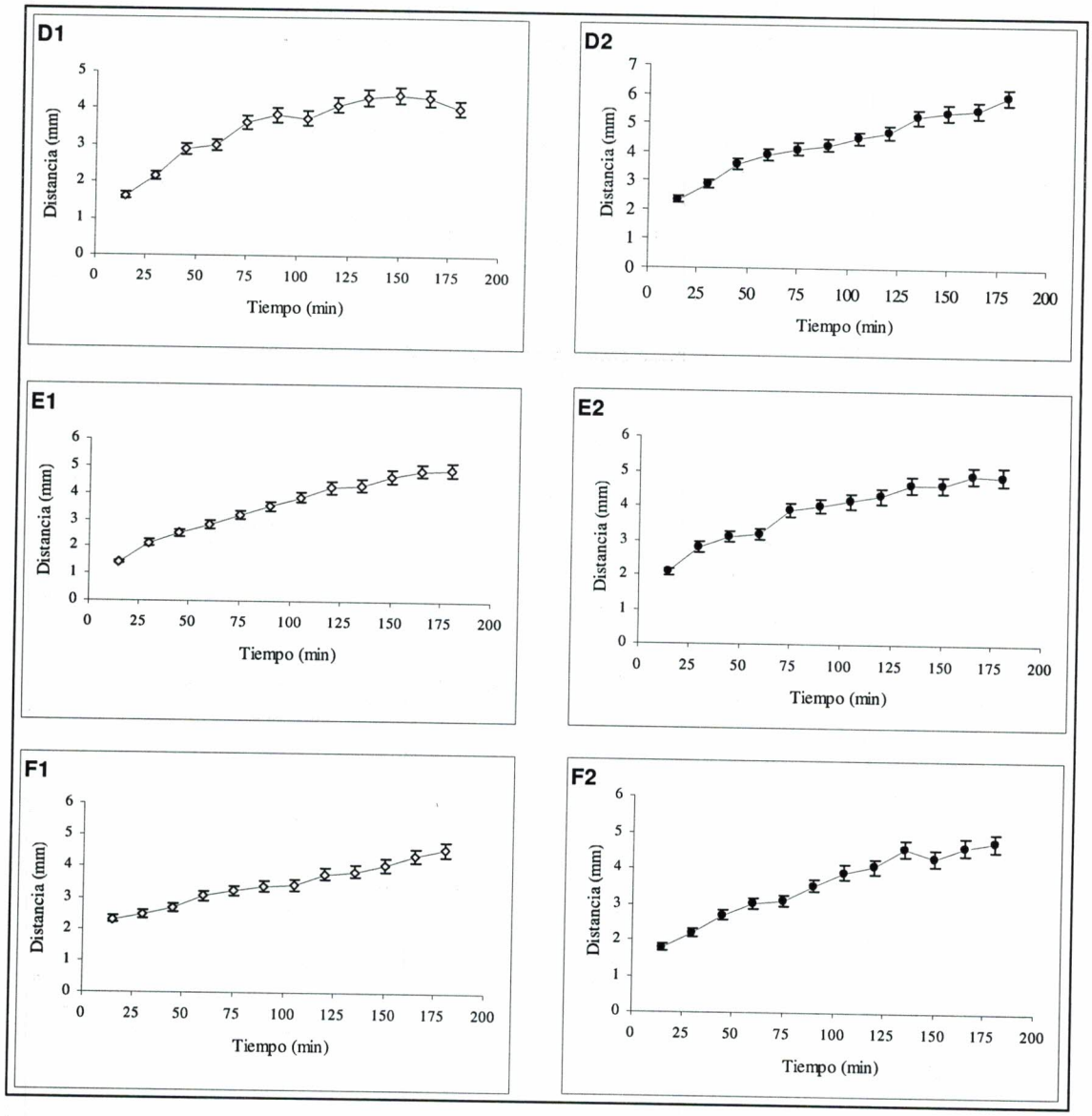


Figura 6.6: evolución del espesor de la capa gel en función del tiempo. Izquierda matrices D1, E1 y F1; derecha matrices D2, E2 y F2

Cuando este efecto de *sincronización* (capítulo 5, sección 5.3.1.1) no se lleva a cabo, el análisis de los frentes de *hinchamiento, difusión y erosión* toma mayor importancia en la dilucidación del mecanismo de liberación.

Existen ciertas condiciones como solubilidad del fármaco y dosis, que hacen que estos frentes se muevan a distintas velocidades (no sincronizada). En estos casos la diferencia entre los frentes de difusión y de erosión es indicativa del mecanismo por el cual se va a liberar el fármaco. De esta forma aparece una nueva zona llamada ***capa de disolución del***

fármaco (distancia entre los frentes de difusión y erosión) que sirve como referente en este tipo de matrices[106].

En la figura 6.7 se muestran en forma comparativa esta capa de disolución entre las dos series.

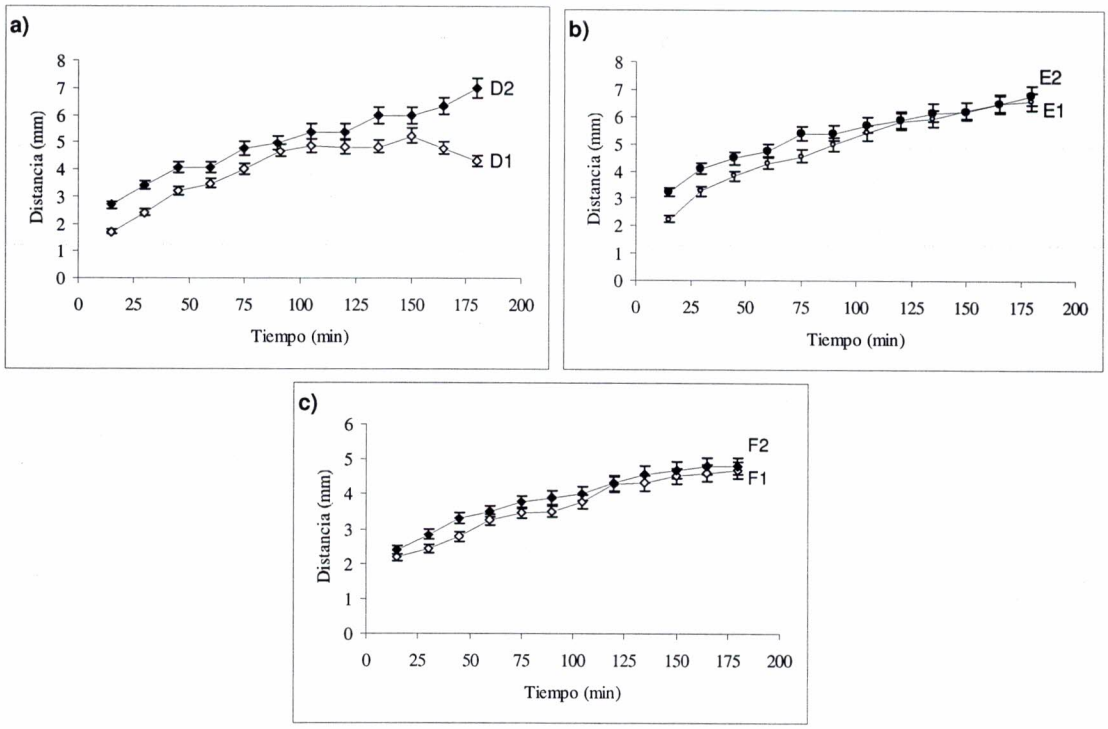


Figura 6.7: Representación de la distancia recorrida por la capa de disolución del fármaco en función del tiempo a) matrices D1 y D2, b) matrices E1 y E2 y c) matrices F1 y F2.

En todos los casos evaluados las matrices compuestas por CBNa/CB_L (serie 2) poseen una capa de disolución del fármaco mayor a la serie 1, siendo esta diferencia mayor a medida que el porcentaje de CBNa aumenta en la matriz (% de CBNa: D>E>F). Este efecto sería ocasionado principalmente por el aumento en la absorción de fluidos en el sistema que provoca la presencia del CBNa (figura 6.3), produciendo una mayor diferencia entre los frentes de difusión y erosión.

[106]P., Colombo, R., Bettini, S., Santi, A de Asentís, N., Peppas. Analysis of the swelling and release mechanisms from drug delivery systems with emphasis on drug solubility and water transport. Journal of controlled release. 39, pg. 231-237. 1996

6.4.3 *Disolución del fármaco*

La figura 6.8 muestra los perfiles de disolución de Nistatina desde los sistemas matriciales tanto para la serie 1 como para la serie 2.

Para D1, E1 y F1 se observa una disolución del 90% del fármaco en una rango de 5 a 7 horas. Para las matrices D2, E2 y F2 el total de la dosis fue cedida al medio aproximadamente en 3 horas. Como se mencionó anteriormente, el mecanismo mediante el cual estos sistemas liberan el fármaco al medio es determinado por diversos fenómenos físico-químicos. Entre ellos se pueden mencionar: captura de agua, formación de la capa gel y relajación del polímero.

Al igual que con el sistema anterior (comprimido bicapa), el uso de la ecuación 5.2 ($F_t/F_\infty=k_1.t^n$) resulta sumamente útil para esclarecer los mecanismos involucrados en la cesión del fármaco al medio. En la tabla 6.5 se muestran los posibles valores del exponente **n** y su implicancia en el mecanismo[107].

Exponente n	Mecanismo de transporte del F	Disolución en función del tiempo
0,5	Difusión tipo fickiana	$t^{-0,5}$
$0,5 < n < 1.0$	Transporte anómalo	t^{n-1}
1.0	Transporte Caso II	Orden cero
n> 1.0	Transporte Super Caso II	t^{n-1}

Tabla 6.5: valores del exponente ***n*** y su implicancia en el mecanismo de liberación

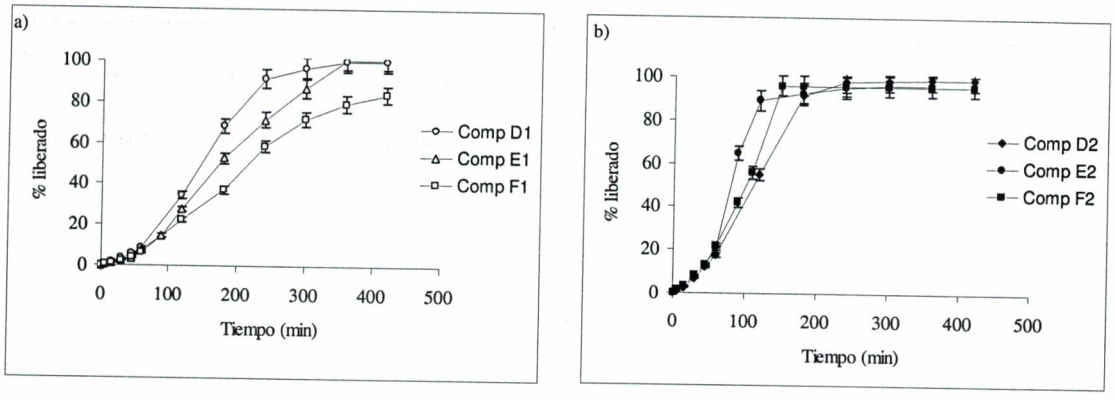


Figura 6.8: Perfil de liberación de Nistatina a) matrices de la serie 1 y b) matrices de la serie 2.

[107]P., Costa, J.M., Costa Lobo. Modeling and comparison of disolution profiles. Eur. J. Pharm. Sci. 13, pg. 123-133. 2001

Analizando los datos en términos del parámetro estadístico r^2 (tabla 6.6) resulta interesante observar que la serie de matrices compuesta por CB_L:CBNa (D2, E2 y F2) poseen un buen grado de correlación con la ecuación operando por el mecanismo de transporte de Súper caso II.

Comp	$Ft / F\infty = k_1.t^n$		
	n	K (min^{-n})	r^2
D1	1.30	0.055	0.9645
D2	1.40	0.059	0.9931
E1	1.18	0.059	0.9759
E2	1.40	0.060	0.9935
F1	1.31	0.036	0.9704
F2	1.12	0.34	0.9936

Tabla 6.6: Valores obtenidos de la ecuación para las distintas matrices y el parámetro de correlación estadístico r^2 para la ecuación $F_t/F_\infty=k_1.t^n$.

Los valores de n > 1 son consecuencia de un proceso de plastificación en la capa gel del sistema[108]. Este efecto extra de plastificación provoca una fuerte reducción en las fuerzas atractivas entre las cadenas poliméricas lo que incrementa la movilidad de las macromoléculas [109].

Si el fármaco debe difundir a través de la matriz, las cadenas del polímero deben permanecer con un cierto grado de "arreglo espacial" para permitir el proceso de difusión. Es por esto que la movilidad de las macromoléculas es decisiva en la cinética de transferencia de fármaco ya que la difusión del mismo aumenta a medida que aumenta la velocidad de relajación de las cadenas del polímero. Además este aumento de la velocidad aumenta la entrada de agua y también aumenta la erosión del sistema ya que las cadenas poliméricas comienzan a desprenderse del polímero más rápidamente[110].

[108] P.L., Ritger, N.A., Peppas. A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swellable devices. J. Control. Release. 5, pg. 37–42. 1987

[109] J., Siepmann, F., Lecomte, R., Bodmeier. Diffusion controlled drug delivery systems: calculation of the required composition to achieve desired release profiles. J. Control. Release, 60, pg. 379-389. 1999

[110] C.S., Brazel, N., Peppas. Mechanism of solute and drug transport in relaxing, swellable hydrophilic glassy polymers. Polymer 40, pg.3383-3398. 1999

Por otro lado como se puede ver en la tabla 6.6 las matrices que contienen CB en vez de CB_L (serie 1) no poseen una buena correlación *(fitting)* con la ecuación $F_t/F_\infty=k_1.t^n$ (valores de $r^2 < 0,99$).

Al realizarse un análisis más detallado, se pudo observar que en esta serie de matrices (D1, E1 y F1) se produce un cambio notable de pendiente a partir de determinado tiempo, el cual es variable dependiendo de la matriz bajo estudio. A los fines de analizar más detalladamente este comportamiento, se dividió la curva en dos partes, obteniendo un segmento A y un segmento B (figura 6.9), los cuales fueron evaluados por separado. En la tabla 6.7 se muestran los resultados para cada segmento para la ecuación 5.2 en donde tanto para el segmento A como el B se observó una buena correspondencia (r^2=0.99) al modelo matemático. En la tabla 6.7 también se muestran los valores del coeficiente de difusión **n** para cada segmento en donde se observa un cambio en todos los casos de difusión anómala a un transporte de tipo súper caso II.

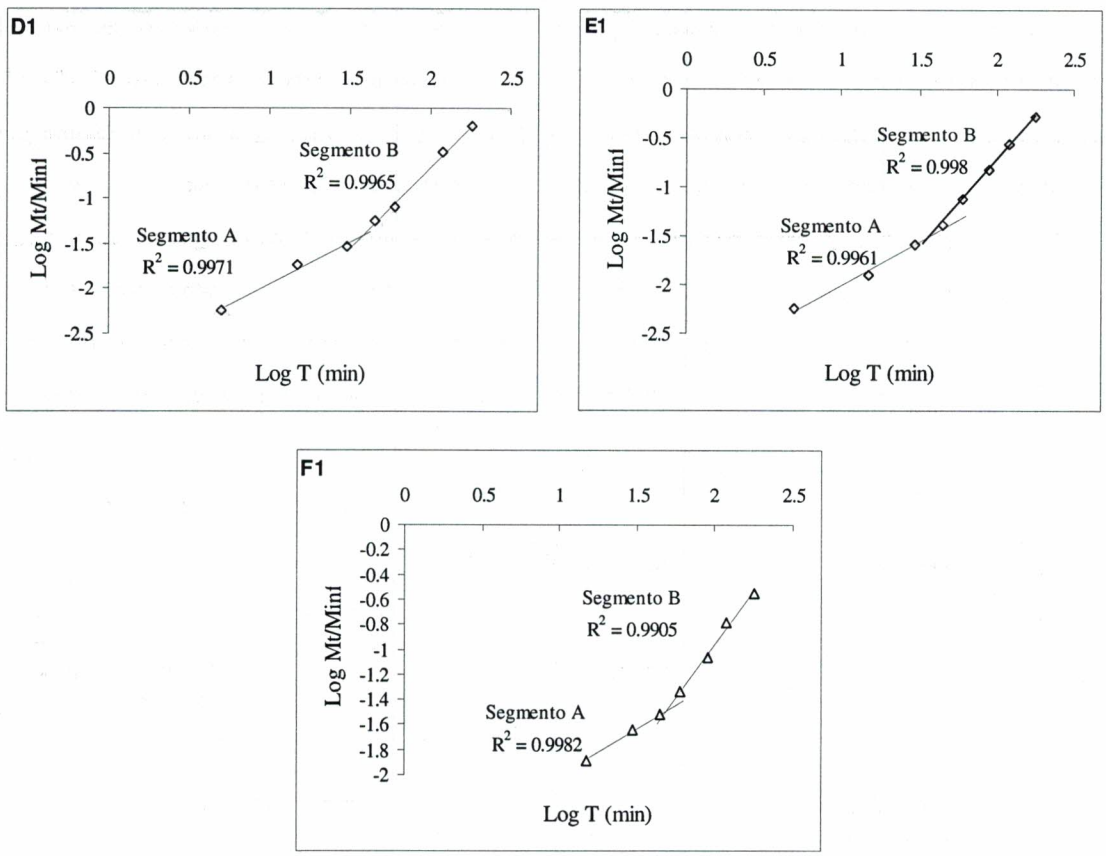


Figura 6.9: Gráficos de liberación de la serie 1 de matrices analizados a través de la ecuación $F_t/F_\infty=k_1.t^n$.

Matriz	SEGMENTO A			SEGMENTO B		
	n	k	r^2	n	k	r^2
D1	0.9917	-1.97E-3	0.99	1.89	-5.03E-2	0.99
E1	0.8916	-9.49E-4	0.99	1.77	-4.51E-2	0.99
F1	0.7857	4.56E-4	0.99	1.62	-2.70E-2	0.99

Tabla 6.7: Parámetros obtenidos para ambos segmentos de la curva.

Para corroborar que realmente se producía un cambio de mecanismo en estos sistemas se procesaron los datos utilizando el modelo desarrollado por Peppas y Sahling. Este modelo permite, mediante el uso de la ecuación 6.1, calcular la contribución relativa de la difusión del fármaco y de la relajación del polímero[111].

$$M_t / M_\infty = k_d\ t^m + k_r\ t^{2m} \qquad \text{ec. 6.1}$$

El primer término de la derecha representa la contribución al proceso de liberación de la difusión del fármaco (transporte que obedece a la ley de fick), con una constante k_d y el segundo término es la contribución de la relajación del polímero con una constante k_r.
Un término nuevo se introduce en esta ecuación llamado coeficiente difusional ***m***, que es un factor que depende de la forma geométrica del sistema (matrices cilíndricas de 2 mm. de alto y 13 mm de diámetro). Para este caso todas las matrices poseen un coeficiente ***m*** de 0,46[112].
De este modo los datos obtenidos en cada segmento fueron tratados con este modelo, en la tabla 6.8 se muestran los resultados.♣

[111]N.A., Peppas, J.J., Sahlin. A simple equation for description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. Int. J. Pharm. 57, 169–172. 1989
[112]P., Costa, J.M., Costa Lobo. Modeling and comparison of disolution profiles. Eur. J. Pharm. Sci. 13, pg. 123-133. 2001
♣Los datos fueron obtenidos utilizando el software Curve Expert 1.3 para la ecuación $M_t/M_\infty=k_dt^m+k_rt^{2m}$ para cada segmento.

Comp	SEGMENTO A				SEGMENTO B			
	n♠	k_d	k_r	r^2	n♠	k_d	k_r	r^2
D1	0.9917	-1.97E-3	1.93E-3	0.99	1.89	-5.03E-2	9.61E-3	0.99
E1	0.8916	-9.49E-4	1.36E-3	0.99	1.77	-4.51E-2	8.35E-3	0.99
F1	0.7857	4.56E-4	7.29E-4	0.99	1.62	-2.70E-2	7.29E-3	0.99

Tabla 6.8: Parámetros obtenidos con la ecuación $M_t / M_\infty = k_d\ t^m + k_r\ t^{2m}$ para las matrices D1, E1 y F1 para los segmentos A y B.

Se puede observar en la tabla 6.8 que para el segmento A (n: D1>E1>F1, Kd: D1<E1<F1 Kr: D1≈E1>F1) observándose correlación entre el aumento de CB, el aumento de Kd y una disminución de Kr. Para el segmento B (n: D1≈E1≈F1, Kd: D1≈E1≈F1, Kr: D1≈E1≈F1) todos los valores son similares ya que se observa un transporte de tipo Súper Caso II.

El cambio en el mecanismo de liberación es observado para las matrices D1, E1 y F1 lo cual puede estar asociado con el efecto de plastificación dependiente de la concentración de Nistatina disuelta y la cantidad de agua en la capa gel en formación. Por lo que, cuando la concentración del fármaco en el hidrogel alcanza una concentración crítica, se produce ese punto de transición, donde en las matrices D2, E2 y F2, este fenómeno no es observado ya que estos sistemas se comportan como matrices poliméricas plastificadas desde el principio del proceso de liberación (Súper caso II). Esto puede ser atribuido, a la incorporación de CB_L y CBNa, ambos liofilizados con gran capacidad de absorción de agua y relajación de sus cadenas poliméricas. En la tabla 6.9 se muestran los resultados obtenidos con el uso del modelo Peppas y Sahling para la serie de matrices D2, E2 y F2. En todos los casos, los valores de $\mathbf{K_r}$ son mayores que los valores de $\mathbf{K_d}$ confirmando que la relajación del polímero es el proceso predominante en el sistema. Cabe destacar que los valores negativos de $\mathbf{K_d}$ pueden ser interpretados como que el proceso de difusión es insignificante para el proceso de liberación del fármaco.[113]

♠n: valor del coeficiente de difusión para cada segmento

[113]C., Ferrero, A., Muñoz-Ruiz, M.R., Jiménez-Castellano. Fronts movements as a useful tool for hydrophilic matrix release mechanism elucidation. Int. J. Pharm., 202, pg. 21-28. 2000

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

Comp	Ecuación 4			
	n	k_d ($min^{-0.46}$)	k_r ($min^{-0.46}$)	r^2
D2	1.40	- 0.038	0.010	0.9961
E2	1.40	- 1.49E-6	4.35E-7	0.9942
F2	1.12	- 0.038	0.0149	0.9975

Tabla 6.9: Resultados obtenido de la ecuación de Peppas-Shaling (ec 6.1) para la serie 2.

Resulta interesante realizar una comparación entre la cinética de liberación del fármaco desde el sistema, la captura de agua y los frentes de solvente.

Es claro que las matrices de la serie 2 (CB_L:CBNa) absorben mayor cantidad de fluido y en menor tiempo (mayor velocidad) que las matrices de la serie 1, lo cual va a tener gran influencia en la cinética de liberación.

En la figura 6.10 se evidencia como la matriz D2 posee cinéticas de absorción de fluidos y liberación del fármaco mayor a la matriz D1.

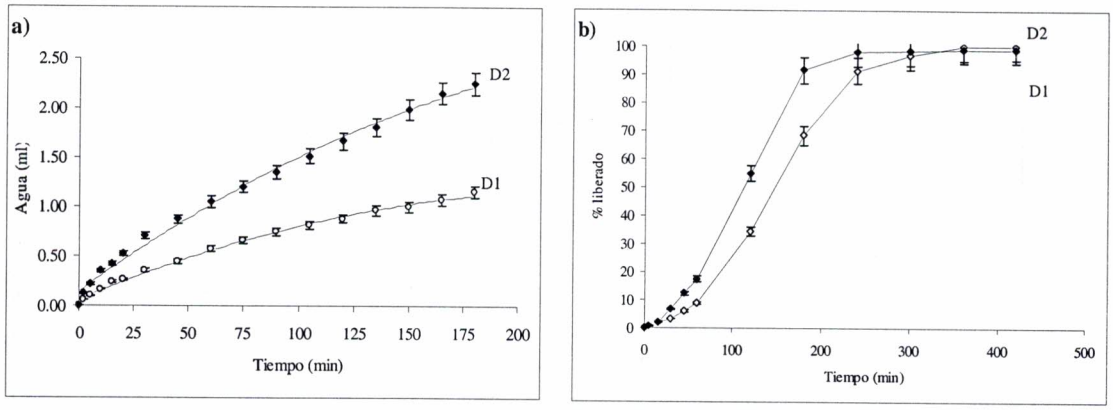


Figura 6.10: a) cinética de sorción de agua para las matrices D1 y D2 y b) perfil de liberación para D1 y D2.

Al analizar en forma conjunta la cinética de liberación de las matrices D1, E1 y F1 y los gráficos de la ***capa de disolución del fármaco*** se confirma, el cambio de mecanismo que sufren los sistemas en el tiempo.

En la figura 6.11 se muestran en forma simultánea los gráficos de cinética de liberación y de la capa de disolución de fármaco. Este comportamiento se evidencia en todos los sistemas, a modo de ejemplo se muestra solamente esta comparación de las matrices D1 y D2.

Para el caso de la matriz D1 el cambio de mecanismo se produce aproximadamente a los 50 minutos. En el gráfico de la capa de disolución también se observa esta inflexión en el período de tiempo similar. Es necesario advertir que las condiciones del ensayo para cada experimento, frentes de solvente y liberación, son distintas (capítulo 4, sección 4.2.7 y 4.2.8) por lo que no se puede esperar que se repita exactamente lo mismo en los mismos intervalos de tiempo.

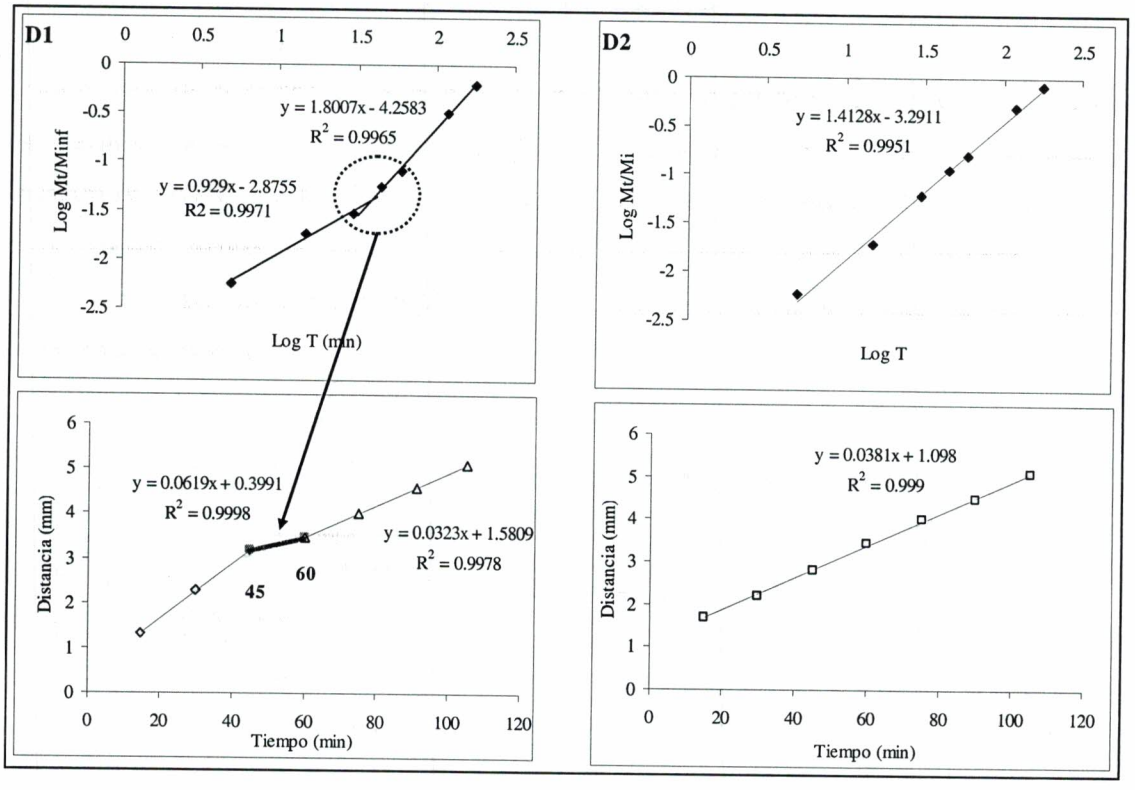


Figura 6.11: Análisis comparativo entre los gráficos de cinética de liberación y capa de disolución del fármaco para las matrices D1 y D2.

Por otro lado para la matriz D2 no se observa modificación alguna de la recta para las dos experiencias.

Del análisis global de los ensayos realizados sobre las matrices se puede concluir que:

- El pH que generan en su microentorno estas nuevas matrices no es nocivo para las mucosas (tabla 6.1).

- Las matrices compuestas por CB:CBNa o CB_L:CBNa poseen adecuadas propiedades de bioadhesión.
- Las matrices que contienen CB_L/CBNa (serie 2) liberan el fármaco en forma más rápida que aquellas matrices que contienen por CB/CBNa (serie 1).
- Los ensayos *"in-vitro"* permitieron dilucidar los mecanismos involucrados en la liberación del fármaco.

6.5 Evaluación Biofarmacéutica

Ya con el sistema caracterizado en la fase farmacéutica, se comenzaron nuevamente los estudios *"in-vivo"*.

Las matrices seleccionadas para estos estudios fueron las compuestas por CB:CBNa 50:50 (matrices E1) ya que fueron las que mejor performance mostraron en los ensayos *"in-vitro"*, en cuanto a liberación del fármaco. También, a modo comparativo, se realizó el ensayo con las matrices E2.

Una vez más las pruebas realizadas fueron en primera instancia sobre la matriz polimérica sola, sin el fármaco, para evaluar sitio de aplicación más cómodo, tiempo de adhesión, posibles reacciones adversas, sensaciones, etc.

Los resultados obtenidos[♣] se resumen a continuación:

Tiempo promedio de adhesión de ambas matrices: 3.5 horas

Efectos adversos: tabla 6.10

Lesiones en paladar: tabla 6.11

Lesiones en mucosa yugal: tabla 6.12

Sintomatología subjetiva: tabla 6.13

[♣] Número total de muestras: 60 (n=60)

	Número de lesiones provocadas (%)	
Lesiones	**Matriz E1**	**Matriz E2**
Eritema	56	52
Púrpuras	19	16
Atrofias	14	20
Quistes mucoides	9	4
Erosión	2	8

Tabla 6.10: Efectos adversos provocados por los comprimidos.

	Número de lesiones provocadas (%)	
Lesiones	**Matriz E1**	**Matriz E2**
Eritema	60	60
Púrpuras	17	13
Atrofias	10	7
Quistes mucoides	7	3
Erosión	2	7

Tabla 6.11: Lesiones en paladar provocadas por los comprimidos.

	Número de lesiones provocadas (%)	
Lesiones	**Matriz E1**	**Matriz E2**
Eritema	86	100
Púrpuras	14	

Tabla 6.12: Lesiones en mucosa yugal provocadas por los comprimidos.

El tiempo promedio de adhesión de ambas matrices fue de aproximadamente de 4 horas

En todos los casos se observaron cambios superficiales en la mucosa, ya sea en el paladar o en la mucosa yugal, lo cual era de esperarse, ya que se trata de un cuerpo extraño que se adhiere a la mucosa y ocluye la zona. Sin embargo, las mismas fueron todas reversibles en el término de 24 a 72 horas.

	Sensación subjetiva (%)	
Sensación	**Matriz E1**	**Matriz E2**
Ardor	4	0
Aumento de sensibilidad	4	0
Sabor amargo	2	2
Boca seca	6	1
Gusto metálico	2	1
Mucosa áspera	4	2
Sensación de brida	6	1
Aumento de volumen	2	7

Tabla 6.13: Sintomatología subjetiva reportada por los usuarios de los comprimidos.

A continuación se detallan las conclusiones de estos estudios[114]:

- Ambos tipos de comprimidos mostraron adhesividad.
- El tiempo de adhesividad fue similar a las pruebas *"in-vitro"* de liberación de drogas (aproximadamente 4 hs.).
- El eritema observado en el sitio de colocación de los comprimidos fue la lesión mas frecuentemente observada.

[114]Extracto del trabajo: "Comportamiento de los Comprimidos Mucoadhesivos en la cavidad bucal." Belardinelli P., Hernandez S.,Llabot J., Manzo R., Allemandi D., Femopase F. L. Presentado en XXXIV Reunión anual de la Sociedad Argentina de Investigación Odontológica. División Argentina de la International Association For Dental Research. Buenos Aires 8 y 9 de noviembre de 2002

- Los efectos adversos comprendieron principalmente microlesiones que remitieron en un periodo máximo de 72 hs.
- La sintomatología subjetiva fue disminuyendo con el transcurso del uso de los comprimidos.
- El comportamiento de los Comprimidos mucoadhesivos permitirían ser utilizados como una forma farmacéutica válida para el tratamiento de diferentes afecciones estomatológicas.

Estos resultados son auspiciosos en cuanto a la performance biofarmacéutica del sistema, corroborando lo planteado en un inicio de que el reemplazo parcial de CB por CBNa, ayudaría a disminuir el efecto ácido del polímero.

De acuerdo a estos resultados se seleccionó la matriz E1 (CB/CBNa 50:50)

7. FORMULACIÓN DEL COMPRIMIDO

Los resultados obtenidos en las etapas previas nos permitieron avanzar hacia la selección de compuestos y optimización de la formulación, en este caso comprimidos mucoadhesivos. Según Farmacopea Nacional Argentina 7ma Ed. se define a esta forma farmacéutica como "*...formas farmacéuticas sólidas que contienen uno o más principios activos generalmente acompañados por excipientes apropiados y se administran por diferentes vías. Se preparan mediante la aplicación de altas presiones sobre polvos o granulados, empleando equipos mecánicos provistos de matrices o punzones apropiados...*"[115]

En una primera instancia, se propuso la composición de la fórmula de la siguiente manera:

CBNa	45 mg
CB	45 mg
Nistatina	10 mg

En función de los resultados de liberación del fármaco y tiempo de adherencia de los sistemas a la mucosa, se decidió utilizar una dosis menor que la utilizada en las formas farmacéuticas tradicionales. Usualmente el gel de aplicación tópica tiene una dosis de 100.000 UI de Nistatina[116], lo que equivaldría a unos 30 mg de fármaco. Para nuestro sistema fue seleccionada una dosis de 10 mg. Teniendo en cuenta la dosis, composición probable de la formula, y racionalidad en la forma y tamaño del comprimido, se programó la obtención de los mismos con un tamaño de diámetro de 7 mm. y un peso aproximado de 100 mg.

Un inconveniente surgido en las pruebas *"in-vivo"* fue el sabor. En primera instancia el sabor poco agradable del polímero y el sabor amargo de Nistatina presentaron serios problemas para los voluntarios de estas pruebas.

[115]Farmacopea Nacional Argentina 7ma Ed. pg.368. 2003

[116]B., Millns, M.V., Martin. Nystatin pastilles and suspension in the treatment of oral candidosis. Brit Dent J.;181(6) pg. 209-211. 1996

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

En primera instancia, para solucionar este problema, se recurrió a saborizantes utilizados comúnmente en la industria alimenticia. Los criterios utilizados para la selección están relacionados al sabor del fármaco a ser enmascarado[117]. En este caso Nistatina posee un sabor muy amargo, razón por la cual se seleccionaron saborizantes como chocolate, frutilla, vainilla y banana en las combinaciones que se muestran en la tabla 7.1.

Componentes	Concentración (%)		
CBNa	44	42	40
CB	44	42	40
Nistatina	10	10	10
Saborizante	2	4	10

Tabla 7.1: Combinaciones utilizadas de sustancia saborizantes.

La evaluación *"in-vivo"* de estos nuevos comprimidos saborizados mostró que el gusto del saborizante era perceptible solamente los primeros minutos luego de la aplicación del sistema, transcurrido este tiempo el sabor desagradablemente amargo de Nistatina prevalecía al del saborizante, esto atribuido principalmente al bajo porcentaje en la formulación y a la alta solubilidad de estos componentes (saborizantes). Es importante recordar que la composición de la formula del comprimido es un delicado balance entre tamaño (un tamaño aceptable por el paciente de 100 mg y 7 mm de diámetro) y el porcentaje de polímeros, ya que éstos son los responsables de la bioadhesión del sistema y de modular la liberación del fármaco. Es por este motivo, que no se puede aumentar la proporción de saborizantes sin disminuir la proporción de los polímeros lo que iría en detrimento de las propiedades del sistema.

En una segunda etapa se incorporaron edulcorantes en la formulación. Cabe destacar que los términos *saborizante* y *edulcorante* no son sinónimos; el término sabor se refiere a una combinación específica entre gusto y olor (sensación olfativa). Un ejemplo claro de esto lo representa por un lado el azúcar, que tiene gusto dulce pero no provoca ninguna sensación olfatoria (edulcorante) y por otro lado la miel, que también tiene gusto dulce y posee un olor característico, que combinados dan lugar a lo que se conoce como *sabor*

[117] R.W., Mendes, A.O., Anaebonam, J.B., Daruwala. En: H. A., Lieberman, L., Lachman, J.B., Schwartz eds. Pharmaceutical dosage forms: Tablets. Volume 1. Capítulo 8: Chewable tablets. Marcel Dekker Inc., New York pg. 390. 2001

miel[118]. La utilización de sacarina[119] (sustancia aproximadamente 450 veces más dulce que el azúcar) fue evaluada en los porcentajes que se muestran en la tabla 7.2

En las pruebas *"in-vivo"* de este sistema se vio que en aquellas matrices que contenían porcentajes de sacarina mayores al 2%, prevalecía una sensación desagradable por el sabor dulce-metálico del edulcorante. En aquellos comprimidos con un porcentaje de 0,5% de edulcorante, el efecto en el sabor fue insuficiente y el gusto predominante fue el de Nistatina.

Componentes	**Concentración (%)**					
CBNa	44,7	44,5	44	43,5	42,5	41,5
CB	44,7	44,5	44	43,5	42,5	41,5
Nistatina	10	10	10	10	10	10
Sacarina	0,50	1	2	3	5	7

Tabla 7.2: Concentraciones de edulcorantes evaluadas.

Sobre la base de este test de palatabilidad, se seleccionó una concentración de entre 1 y 1,5% de edulcorante resultando la siguiente fórmula general (tabla 7.3)

Componentes	**Concentración (%)**
CBNa	44,25
CB	44,25
Nistatina	10
Saborizante	1,5

Tabla 7.3: Composición general de la formula seleccionada.

En este punto ya se contaba con la base bioadhesiva de liberación controlada y con propiedades organolépticas aceptables por el paciente. Por lo que el próximo paso en el

[118] R.W., Mendes, A.O., Anaebonam, J.B., Daruwala. En: H. A., Lieberman, L., Lachman, J.B., Schwartz eds. Pharmaceutical dosage forms: Tablets. Volume 1. Capítulo 8: Chewable tablets. Marcel Dekker Inc., New York pg. 368. 2001

[119] R.W., Mendes, A.O., Anaebonam, J.B., Daruwala. En: H. A., Lieberman, L., Lachman, J.B., Schwartz eds. Pharmaceutical dosage forms: Tablets. Volume 1. Capítulo 8: Chewable tablets. Marcel Dekker Inc., New York pg. 390. 2001

diseño de esta forma farmacéutica fue el de la selección de un método adecuado para la manufactura a escala piloto del comprimido, la selección de un método que permita la obtención a mayor escala de comprimidos.

7.1 Métodos de Elaboración de Comprimidos

Existen tres métodos generales para la manufactura de comprimidos a gran escala: *Granulación húmeda, Granulación seca y Compresión directa.* En la tabla 7.4 se muestra de forma esquemática estos tres métodos.

Paso	Compresión directa (CD)	Granulación seca (GS)	Granulación húmeda (GH)
1	Tamizado	Tamizado	Tamizado
2	Mezcla del fármaco con los adyuvantes	Mezcla del fármaco con los adyuvantes	Mezcla del fármaco con los adyuvantes
3	Compresión	Compresión en lingotes o comprimidos grandes	Preparación de la solución aglutinante
4		Reducción de tamaño del lingote y tamizado	Amasado de los sólidos obtenidos en el paso 2 con la solución aglutinante del paso 3
5		Mezcla de los gránulos con excipientes (deslizante, lubricante, etc.)	Tamizado de la masa húmeda y obtención de gránulos de tamaño uniforme
6		Compresión	Secado de los gránulos
7			Mezcla de los gránulos secos con excipientes (deslizante, lubricante, etc.)
8			Compresión

Tabla 7.4: Detalle de los pasos involucrados en el obtención de comprimidos mediante los métodos conocidos en compresión.

7.1.1 Compresión Directa (CD)

Comparado con los otros métodos de compresión, CD ofrece numerosas ventajas. Requiere menos procesos unitarios, lo que significa menos equipamiento y menos espacio, menor costo, menor tiempo y menor consumo de energía (figura 7.1)[120].

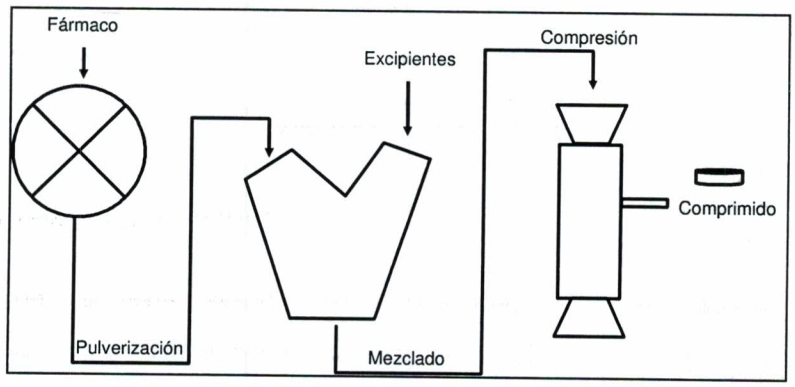


Figura 7.1: Esquema del proceso de compresión mediante la utilización del método de CD.

Por otro lado CD también posee una serie de limitaciones, siendo la más importante la dependencia del flujo de la mezcla para una correcta compresión. Por ende aquellas mezclas que no cuentan con características físico-mecánicas adecuadas poseen inconvenientes para ser comprimidas por este método, en la figura 7.2 se muestra un esquema donde este inconveniente resulta evidente.[121]

El sólido debe deslizarse por la comprimidora libremente (posición 2, tolva-zapata) y llenar la cavidad donde se va a comprimir (posición 3, matriz) por efecto de la gravedad. Si el flujo del sólido es malo, este deslizamiento por las partes de la comprimidora no va a ser posible.

7.1.1.1 Flujo de Sólidos (reología de polvos)

El flujo de un polvo es definido como el movimiento diferencial de las partículas constituyentes del sólido cuando son sometidas a un estímulo (fuerza) externo.[122] El flujo es una propiedad importante en la producción de comprimidos debido a que un adecuado

[120] G.K., Boihuis, Z.T., Chowhan. Materials for direct compaction. En: G., Alderborn, C., Nyström eds. Pharmaceutical powder compaction technology. Capitulo 14. Marcel Dekker Inc., New York pp: 419. 2002
[121] G., Alderborn. Tablets and compaction. En M. E. Aulton Ed. Pharmaceutics, the science of dosage form design. Second edition. Capítulo 27. C., Livingstone. España. pp. 399. 2002
[122] K.M., Nagel, G.E., Peck, Investigating the effects of excipients on the powder flow characteristics of theophyline anhydrous powder formulations. Drug Dev. Ind. Pharm. Vol 29, 3 pg. 277-287. 2003

nivel de flujo es necesario para asegurar un llenado constante de la matriz en la comprimidora durante la producción. La ausencia de un flujo aceptable (tabla 7.5) por parte del sólido a comprimir puede traer aparejado una alta variación en el peso y contenido de los comprimidos, por un llenado no homogéneo de la matriz.

Existe un número importante de factores que afectan el flujo de los polvos, entre ellos, se pueden citar la forma, densidad y tamaño de las partículas, carga electrostática e higroscopicidad.[123]

Por las ventajas mencionadas anteriormente es que en primera instancia se intenta el diseño de las formulaciones para ser obtenidas por CD.

En el caso de sistemas que presenten inadecuadas propiedades físico-mecánicas (mal flujo) se puede recurrir al agregado de excipientes que mejoren estas propiedades, siempre teniendo en cuenta el balance entre la proporción de polímeros y el tamaño del comprimido.

En el caso particular de nuestro sistema, el fármaco posee malas propiedades de flujo, pero este representa solamente el 10% de la fórmula, lo cual no constituiría gran problema. La mayor dificultad se presenta por la presencia del CB. Este excipiente, en su forma comercial, posee muy malas propiedades de flujo y se encuentra en altas proporciones (mayor al 40%). Por el contrario CBNa al ser un sólido obtenido por liofilización, posee un mayor ordenamiento, y cristalinidad, lo que le otorga buenas propiedades de flujo.

[123]P., Cork, Solid-state properties of powders in the formulation and processing of solid dosage forms. Int. J. Pharm. 14, pg. 1-28. 1985

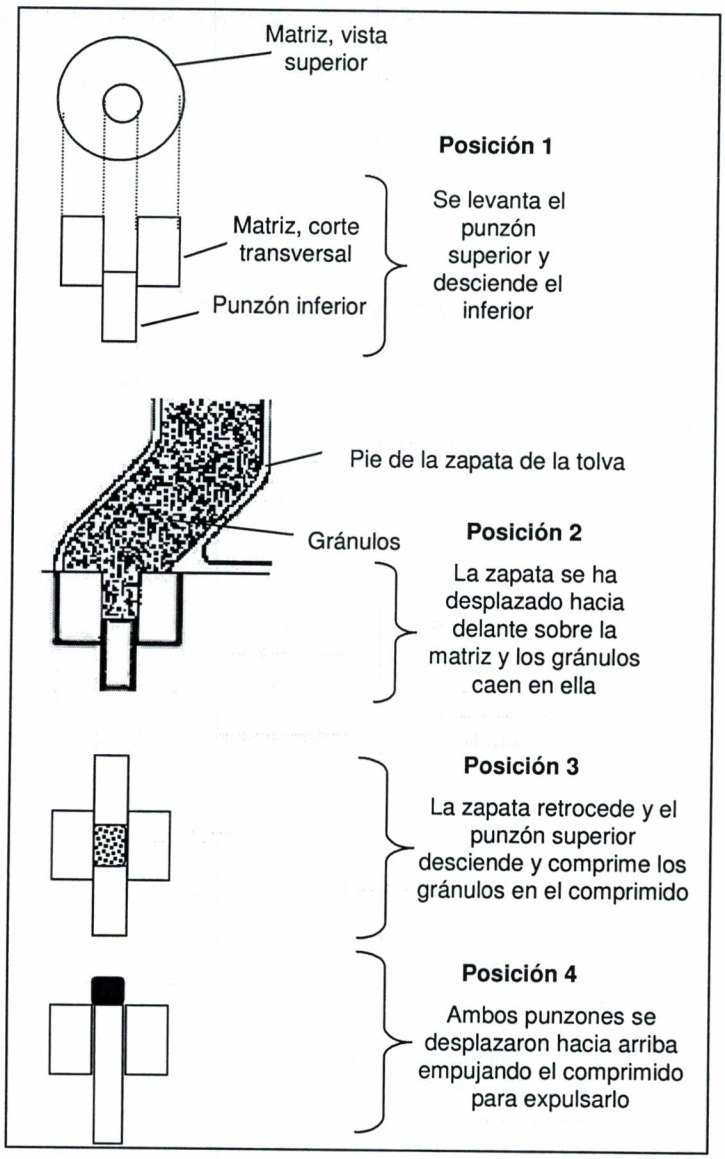


Figura 7.2: esquema de la obtención de comprimidos mediante CD

7.1.1.2 Optimización de los materiales

Es conocido que aquellos sólidos constituidos por partículas "grandes" poseen mejor flujo que aquellos que poseen partículas pequeñas. Esto sucede, debido a que la presencia

de partículas pequeñas (menores a 10 μm) produce fuerzas cohesivas mayores e igualan la fuerza gravitacional, con lo que el flujo se ve restringido.[124]

Por lo tanto, el proceso de tamizado es realizado en primera medida para eliminar las partículas "pequeñas" de los sólidos para tratar de mejorar el flujo de los mismos y además para así obtener tamaños de partículas homogéneos para obtener una mejor mezcla [125].

Se utilizaron tamices de mesh 50 y 70 para obtener un rango tamaño de partícula entre $300\mu m \leq X \geq 250\mu m$.

7.1.1.3 Determinación de las propiedades reológicas

Existen diversos parámetros que permiten evaluar la reología de un sólido y así determinar si este sólido posee muy buenas, buenas, regulares, malas o muy malas propiedades de flujo.

Es así que para evaluar las propiedades reológicas se determinaron: Densidad a granel (D_G), Densidad empaquetada (D_E), Angulo de Reposo (α) e índices relacionados: Índice de Carr (I_C), Índice de Haussner (I_H).

La densidad *bulk* o *a granel* es dependiente de la forma, el tamaño y la cohesión entre las partículas del sólido. Partículas grandes, que pueden dejar espacios entre sí, poseen una densidad a granel menor que los sólidos constituidos por partículas pequeñas, ya que éstas generan espacios más pequeños, formando un empaquetamiento mas compacto.

La densidad *Tap* o *empaquetada* es una extensión de la densidad a granel. Este parámetro se obtiene mediante la aplicación de una fuerza externa (vibración) al sólido provocando la compactación del mismo. Aquellos sólidos cuyas partículas dieron lugar a espacios vacíos grandes entre ellas, se van a compactar más que aquellos sólidos con partículas pequeñas que producen un empaquetamiento más cerrado (capítulo 4, sección 4.2.11.1).

El ángulo de reposo es determinado mediante técnicas sencillas (capítulo 4, sección 4.2.11.1) y es utilizado para realizar la medición de la resistencia de las

[124]P., Cork, Solid-state properties of powders in the formulation and processing of solid dosage forms. Int. J. Pharm. 14, pg. 1-28. 1985

[125]J. Helman. En: J. Helman ed. Farmacotecnia teórica y práctica. Tomo VI. Cía editorial continental. pg. 1639. 1982

partículas a moverse. El ángulo de reposo es definido como el ángulo máximo que puede ser obtenido entre la superficie de un cono de sólido y su plano horizontal, lo que implica la medición cualitativa de las fuerzas internas de cohesión y fricción del sólido.[126]

La **determinación del índice de compresibilidad** (ecuación 7.1), también llamado Índice de Carr o porcentaje de compresibilidad (I_C) es una medida indirecta del flujo de las partículas relacionado con la fuerza de cohesión y el tamaño de las mismas.

$$I_C = (D_E - D_G) / D_E \times 100 \qquad \text{ec 7.1}$$

Otro parámetro para la evaluación del flujo de los sólidos, es el **índice de Hausner (I_H)**. En este índice, que se obtiene del cociente de la densidad a granel y la densidad empaquetada (ecuación 7.2) relaciona las condiciones de fricción inter-partícula durante el movimiento de la masa de polvo y la cohesividad del material en relación con su fluidificación. Es así que dependiendo de los valores de este cociente para cada mezcla se van a clasificar en materiales con buen flujo (<1.25) o materiales cohesivos (>1.40).[127]

$$I_H = D_E / D_G \qquad \text{ec 7.2}$$

En la tabla 7.5 se muestran los valores teóricos indicativos de estos parámetros que permiten cualificar las propiedades de fluidez de los polvos. [128]

I_C	I_H	Angulo de reposo	Tipo de flujo
5 – 15		<20°	Excelente
12 – 16	< 1.25	20° - 30°	Bueno
18 – 21	1.25	30° - 34°	Aceptable
23 – 35	1.50	34° - 40°	Malo
33 - 38	> 1.50	> 40°	Muy malo
> 40			Extremad. malo

Tabla 7.5: Valores-límites de referencia para la caracterización del flujo de un sólido.

[126]H.G., Brittain. Overview of phisical characterization methodology. En: H. G. Brittain , Physical characterization of pharmaceutical solids. Volumen 70 Marcel Dekker Inc., New York, pg. 20-21 2003
[127] S.L., Rougha, D.I., Wilsona, A.E., Baylyb and D.W., York. Mechanisms in high-viscosity immersion–granulation. Chem. Eng. Sci. 60, 14. pg. 3777-3793. 2005
[128]J., Staniforth. En: M.E., Aulton ed. Pharmaceutics, the science of dosage desing. Second edition. Capítulo 14. C. Livingstone. España. pg. 206-209. 2002

La determinación de I_C, I_H, y el ángulo de reposo α para la mezcla de polímeros y principio activo mostró que las propiedades de flujo no era adecuadas para CD. Los resultados se muestran en la tabla 7.6.

D_G	D_E	I_C	I_H	α
0.2295	0.40866	43.83266	1.78039	41.496

Tabla 7.6: Parámetros reológidos de la *formula base.*

En función de estas observaciones, se consideró la posibilidad de agregar excipientes auxiliares cuya funcionalidad permitiera mejorar las propiedades de flujo.

7.1.1.4 Diseño de la Formulación para CD

El *International Pharmaceutical Excipients Council (IPEC)* define a los excipientes como "sustancias que además del fármaco, son incluidas en la forma farmacéutica final para facilitar la manufactura de la misma; para proteger o aumentar la estabilidad de la formulación; para aumentar la biodisponibilidad de la formulación o bien para mejorar su aspecto visual (agradable al paciente), para la identificación de productos e incluso para asegurar la efectividad del sistema durante el almacenamiento o el uso"[129].

Si bien los excipientes no poseen actividad terapéutica definida, estas sustancias tienen gran influencia en los aspectos biofarmacéuticos del sistema como así también en aspectos relacionado a lo tecnológico (mezcla, compresión, etc.). Las propiedades inherentes de cada excipiente definen la funcionalidad en la formulación final, para lo cual los excipientes a utilizar deben contar con determinadas propiedades:[130]

- Deben poseer buen flujo: para asegurar un llenado homogéneo de la matriz en la comprimidora.
- Compresibilidad: propiedad requerida para una compresión satisfactoria, la cual se mide en términos de la capacidad del sólido de mantenerse compacto luego de retirar la fuerza de compresión.
- Buen potencial de dilución: para asegurar que en el comprimido final se encuentre la dosis exacta en el menor peso del comprimido posible.

[129] I., Michael Robertson. Regulatory issues with excipients Int. J. Pharm.. 187, 2, 5, Pages 273-276 1999
[130] M.C., Gohel, P.D., Jogani. A review of co-processed directly compressible excipients. J Pharm Pharmaceut Sci (www.cspscanada.org) 8(1):76-93, 2005

- Tamaño de partícula adecuado: debe ser de un tamaño homogéneo y similar al del fármaco vehiculizado para asegurar una mezcla homogénea.
- Estabilidad: los excipientes utilizados en estas formulaciones no deben ser inestables, ni interferir con la estabilidad del fármaco contenido en la formulación.

El tipo y proporción de los excipientes incluidos en las formulaciones a evaluar fueron seleccionados teniendo en cuenta estos criterios (tabla 7.7).

Se procedió a la caracterización reológica de los polvos mediante la determinación de los parámetros que definen el flujo de estas mezclas. En la tabla 7.8 se muestran los resultados obtenidos.

FÓRMULA	A	B	C	D	E	E´	F	G	H	I	J
CB	37.5	37.5	37.5	37.5	37.5	37.5	37.5	37.5	43	41.5	44
CBNa	37.5	37.5	37.5	37.5	37.5	37.5	37.5	37.5	43	41.5	44
N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Lactosa CD	10	5	---	10	10	10	10	35	---	---	---
Emcompress	---	5	10	---	---	---	---	---	---	---	---
Talco	---	3	3	3	1.5	1.5	2	---	---	5	---
Cab-o-Sil	---	---	---	---	---	1.5	---	3	2	---	---
Aerosil	3	---	---	---	---	1.5	---	1	---	---	---
Est. Mag	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2

Tabla 7.7: Formulaciones diseñadas para CD.

Si bien sería de esperar un mejoramiento del flujo por el agregado de excipientes con relativa alta densidad y buen flujo como lactosa y emcompress®, el hecho de ser añadidos en bajas proporciones hace que este mejoramiento sea mínimo. La alta proporción de polímeros (base del sistema que proporciona bioadhesividad y modula la liberación) y fármaco junto, a la restricción de peso final del comprimido, hace que el margen para el agregado de excipientes auxiliares sea insuficiente para lograr un comportamiento reológico satisfactorio.

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

	D_G	D_E	I_C	I_H	α
A	0.247	0.444	44.416	1.799	////
B	0.253	0.482	47.504	1.905	45.753
C	0.265	0.513	48.311	1.934	45.199
D	0.261	0.456	42.737	1.746	45.841
E	0.249	0.463	46.260	1.861	////
E´	0.234	0.409	42.947	1.753	44.396
F	0.245	0.476	48.475	1.941	45.907
G	0.274	0.513	46.602	1.873	43.599
H	0.217	0.371	41.455	1.708	44.064
I	0.233	0.413	43.510	1.770	42.617
J	0.229	0.409	43.832	1.780	41.496

Tabla 7.8: Parámetros reológidos de las formulaciones ensayadas.

7.1.2 Granulación

La estrategia más utilizada para mejorar el flujo de sólidos es la granulación, cuyo objetivo es lograr la aglomeración de pequeñas partículas en otras de mayor tamaño, con la consecuente densificación de las mismas.

Granulación es el proceso mediante el cual las partículas primarias del sólido son forzadas a adherirse para formar entidades multiparticulares de mayor tamaño denominadas ***gránulos*** (figura 7.3).

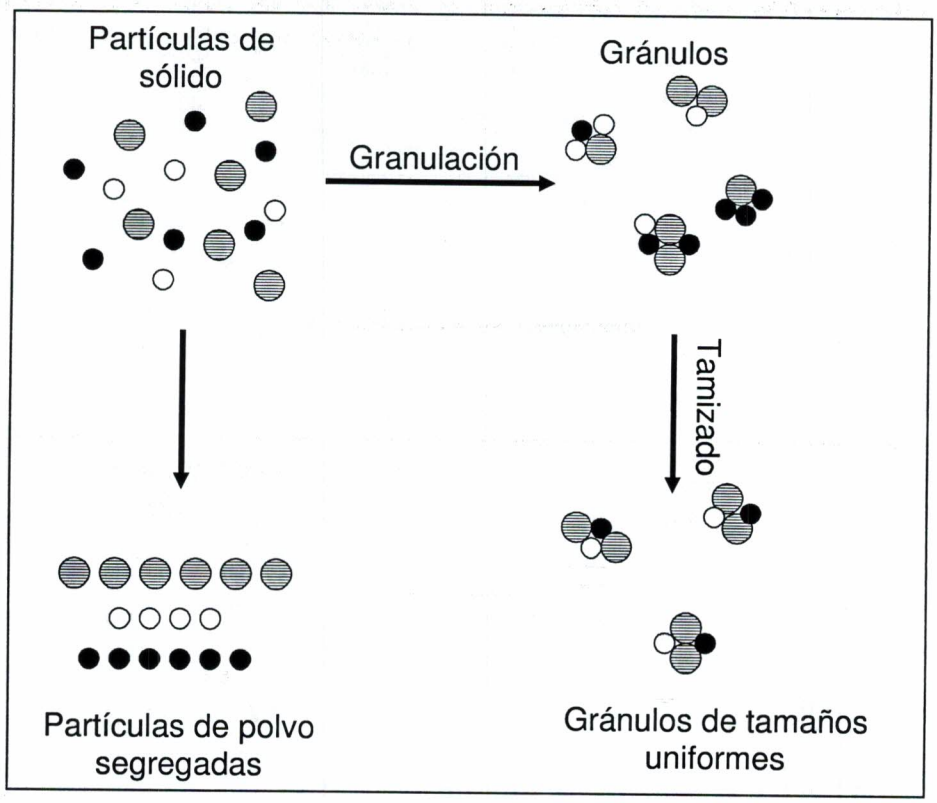


Figura 7.3: Proceso de granulación de las partículas de un sólido.

Son varias las razones por la que se realiza este proceso[131]:

- Prevenir la segregación de los componentes de una mezcla: la principal causa de segregación (desmezclado) es la diferencia en los tamaños de partículas de las mezclas. Las partículas más pequeñas y/o densas se concentran en la base del contenedor de la mezcla. Aquellas grandes y/o menos densas se acumulan en la parte superior. Si se logran obtener gránulos de tamaño y peso uniforme este problema puede evitarse.
- Mejorar las características de flujo de la mezcla: muchos sólidos, debido a que están compuestos por partículas pequeñas, irregulares (superficie y/o forma), no poseen propiedades adecuadas de flujo. La granulación aparece como una opción a tener en cuenta ya que de esta forma se pueden conseguir partículas de mayor tamaño y de forma regular

[131]M., Summers, M.E., Aulton. En: M.E., Aulton ed. Pharmaceutics, the science of dosage desing. Second edition. Capítulo 25. C. Livingstone. España. pg. 365-366. 2002

- Mejorar las características de compresión de la mezcla: cuando el sólido a compactar es muy adhesivo puede provocar que la mezcla posea malas propiedades de compactación. Al realizar un gránulo, el sólido adhesivo, queda incluido dentro del gránulo junto con el resto de la mezcla, lo que mejoraría las propiedades de compactación globales de la mezcla.

Los métodos conocidos para granular son *granulación húmeda* y *granulación seca.*

7.1.2.1 Granulación Húmeda (GH)

Este método es fundamentado en la capacidad aglutinante que poseen determinados solventes, ya sea agregados en forma pura o como solución conteniendo polímeros que favorecen y mantienen fuertes interacciones entre partículas pequeñas para formar los gránulos. Los procesos involucrados en la granulación húmeda comprenden básicamente la humectación de los polvos con la solución aglutinante, tamizado de la masa humectada, secado en condiciones apropiadas, posterior tamizado de los gránulos secos para proceder a la homogeneización de tamaño de partícula previo a la compresión, excipientes auxiliares como antiadherentes, lubricantes, etc., son agregados, mezclados y finalmente la mezcla es comprimida (tabla 7.4).

No obstante todas las ventajas de este método, en el caso de comprimidos bioadhesivos conteniendo mezclas CB:CBNa (CBNa liofilizado), la utilización de solventes o soluciones granulantes podría llevar a un cambio en la estructura del sólido que será contraproducente para las propiedades biofarmacéuticas de los sistemas (mucoadhesión, modulación de la liberación, etc.).

De este modo, la granulación húmeda fue descartada como método de elección para la elaboración de comprimidos.

7.1.2.2 Granulación Seca (GS).

En el método de granulación seca o "precompresión" la obtención de gránulos se lleva a cabo por la aplicación de una presión externa que provoca la interacción entre partículas para formar los gránulos. Fuerzas interparticulares que actúan a corta distancia como interacciones electrostáticas y de Van der Waals son las responsables de esta cohesión.

Existen dos métodos para la obtención de gránulos vía GS. El primero de ellos, produce un comprimido o lingote de gran tamaño (*slugging)* y el segundo es mediante la utilización de dos rodillos que pre-compactan la mezcla (*chilsonator*).

En ambos casos el producto intermediario que se obtiene (comprimido de gran tamaño o masa pre-compacta) es sometido a una operación de disminución de tamaño de partículas, utilizando distintos métodos (molinos, mallas, etc.), y luego son tamizados para así conseguir los gránulos deseados (tabla 7.4). Este método aparece como una opción conveniente para la compresión de nuestro sistema. De esta forma se comenzaron los estudios para la manufactura de comprimidos, de acuerdo al siguiente esquema de trabajo (figura 7.4):

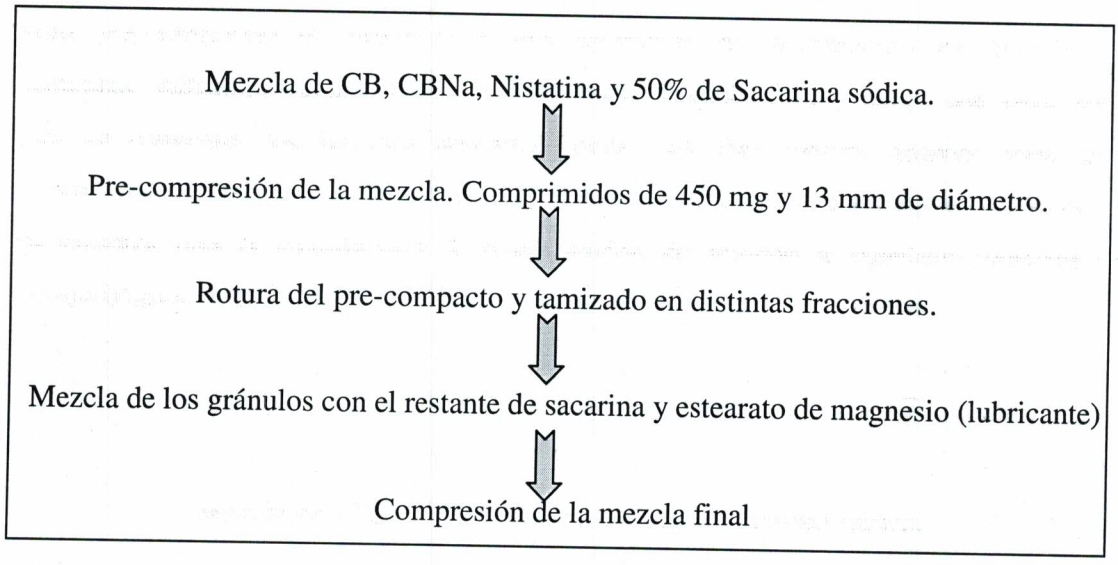


Figura 7.4: Esquema planteado para la obtención de comprimidos mediante la utilización de GS.

7.1.2.2.1 Optimización del Tiempo de Mezclado

Este proceso puede ser definido como una operación cuyo objetivo es producir una distribución estadística de partículas sólidas disímiles dentro de un sistema. La eficiencia

de mezclado de sólidos puede ser afectada por diversos parámetros tales como velocidad de mezclado, características del equipo, entre otras.[132]

El objetivo de este ensayo fue el de conocer cual es el tiempo óptimo durante el cual se debe mezclar el sistema para lograr una mezcla con un nivel de homogeneidad aceptable. En la tabla 7.9 se muestran los tiempos de mezclado del sistema y los errores porcentuales de cada uno. Se seleccionó un tiempo de 16 minutos como óptimo teniendo en cuenta que el error asociado en el contenido del principio activo es mínimo.

Tiempo Mezcla	Promedio	DS	E%
5	3.167E-03	1.716E-03	54,195
10	3.231E-03	1.832E-03	56,689
15	4.674E-03	2.509E-03	53,690
16	4.576E-03	7.192E-05	1,572
17	4.297E-03	8.757E-04	20,381
20	4.502E-03	5.746E-04	12,763
25	4.815E-03	3.689E-04	7,661
30	4.998E-03	1.027E-03	20,545

Tabla 7.9: Estudio del tiempo de mezclado para CB, CBNa, Nistatina y Sacarina sódica.

7.1.2.3.2 Pre-compactación de la Mezcla Sólida

Se realizaron comprimidos de 13 mm de diámetro y 450 mg de peso de una mezcla del sistema:

CBNa/CB	86,5%
Nistatina	10%
Sacarina	0,75%

[132]J. Helman. En: J. Helman ed. Farmacotecnia teórica y práctica. Tomo VI. Cía editorial continental. pg. 1639. 1982

se lo trituró y tamizó. El tamizado de este sólido se realizó haciendo pasar las partículas por una serie de tamices, para así obtener fracciones de tamaño de partículas y poder evaluar cual es la fracción apropiada de gránulos para comprimir, utilizando parámetros reológicos como indicadores del comportamiento ulterior de la mezcla en el proceso de compresión. En la tabla 7.10 se muestran las distintas fracciones de tamaños de gránulos y su evaluación en cuanto al flujo.

	Fr_{40}	Fr_{50}	Fr_{70}	$Fr_{<70}$
D_G	0.3474	0.3831	0.3943	0.3301
D_E	0.37020	0.40831	0.43092	0.44907
I_C	6.14863	6.17558	8.49351	26.49691
I_H	1.06551	1.06582	1.09282	1.36049
α	35.014051	36.8007	38.1782	40.8350

Fr_{40}: 425 μm, Fr_{50}: 300 μm, Fr_{70}: 212 μm, $Fr_{<70}$: ≤212 μm

Tabla 7.10: Parámetros reológicos de los gránulos obtenidos en sus distintas fracciones (Fr) de tamaño.

Resulta claro y previsible que la fracción Fr_{40} es la fracción que mejores propiedades de flujo posee por lo que fue seleccionada para continuar con el estudio.

A estos gránulos se los vuelve a mezclar con el resto del edulcorante (0,75%) y se agrega estearato de magnesio como lubricante para el proceso de compresión (1%).

7.2 *Evaluación Farmacotecnica del Sistema en Forma de Comprimidos*

Luego de obtenidos, los comprimidos fueron sometidos a ensayos farmacotécnicos tendientes a evaluar la calidad de los mismos.

En las distintas farmacopeas, se codifican estándares para determinar si una formulación cumple con los parámetros predeterminados de calidad. Estos estándares son:

- *Apariencia general*
- *Uniformidad de contenido*
- *Friabilidad*
- *Dureza*
- *Desintegración*

- *Otras propiedades*
  - *Perfil de liberación*
  - *Bioadhesión*

7.2.1 Apariencia General

La identificación visual y sobre todo la elegancia de la formulación es esencial para la aceptación por parte del paciente. La uniformidad en el control lote a lote y en el control comprimido a comprimido es un parámetro importante, también, para realizar un control del proceso de obtención de la formulación. Otros aspectos a tener en cuenta son tamaño, forma, color, gusto, textura de la superficie, etc.

Tamaño y forma: a una fuerza de compresión constante, el grosor de los comprimidos debe permanecer también constante, en general se acepta una variación del 5%.

Peso: en los distintos compendios legales (farmacopeas) se codifica este test y la variación aceptable depende del peso del comprimido de acuerdo al siguiente detalle (tabla 7.11).

Peso promedio	**Porcentaje de diferencia aceptado**
Comprimidos de 130mg o menos	10
Comprimidos de 130mg hasta 324mg	7,5
Comprimidos de más de 324mg	5

Tabla 7.11: Variación de peso aceptada para los distintos pesos en comprimidos.

Propiedades organolépticas: el color de los comprimidos es un parámetro importante, en general la presencia de color no uniforme o "moteo" en el comprimido, además de conferirle mal aspecto, casi siempre sugiere que el contenido del comprimido no es homogéneo. El olor puede también ser un parámetro a tener en cuenta, no solo por la posible degradación de los componentes de la formulación, sino también por la aceptación.

7.2.2 Uniformidad de contenido

La uniformidad en el contenido de un comprimido es un punto importante en la calidad del mismo. Su determinación se hace especialmente importante para comprimidos de

bajo peso (< 50 mg.). En las distintas farmacopeas se acepta una desviación de hasta el 5%.

7.2.3 Friabilidad

El comprimido durante su manufactura, embalaje (primario y secundario) y almacenamiento sufre un alto estrés mecánico (fuerzas de fricción y golpes), lo que constituye la mayor causa de rotura de los comprimidos. Es por esto que el ensayo de friabilidad está diseñado para medir la resistencia de la formulación a este estrés mecánico externo. Para que una formulación sea aceptable la friabilidad debe ser menor al 1%.

7.2.4 Dureza

La dureza de un comprimido se mide en términos de la fuerza necesaria para romper el compacto. Este ensayo es utilizado durante el proceso de compresión y es útil para corroborar si la presión ejercida por la comprimidora es la adecuada. Este test requiere de una explicación más exhaustiva ya que depende del aparato utilizado, el tipo de comprimido, etc., análisis que excede a este trabajo de tesis, por lo que solo nos limitaremos a decir que un comprimido aceptable puede tener una dureza de entre 4 a 10 Kg.

7.2.5 Desintegración

El test de desintegración consiste en la medición del tiempo necesario para que se produzca la desintegración del comprimido en sus partículas primarias (gránulos) bajo ciertas condiciones específicas. Este es un ensayo utilizado comúnmente en comprimidos, sin embargo la formulación bajo estudio, comprimido bioadhesivo de liberación modificada, no se desintegra, por lo que este test no se aplica a nuestra formulación.
En la tabla 7.12 se muestran los resultados obtenidos para el comprimido formulado.

	Aspecto visual	Dureza (Kg)	Friabilidad (%)	Uniformidad de peso (gr)	Uniformidad de Contenido (gr)
Promedio	OK	4,42	0,11	0,0991	0,0118
Des Est		1,08		0,0022	0,0009
E%		24,54		2,31	8,3139

Tabla 7.12: Controles farmacotécnicos realizados sobre los comprimidos mucoadhesivos.

7.2.6 Evaluación de Otras Propiedades

7.2.6.1 Perfil de liberación: En la figura 7.5 se muestra el perfil de liberación de Nistatina en agua, lográndose un perfil similar al obtenido en la evaluación farmacéutica del sistema (Capítulo 6, sección 6.4.3).

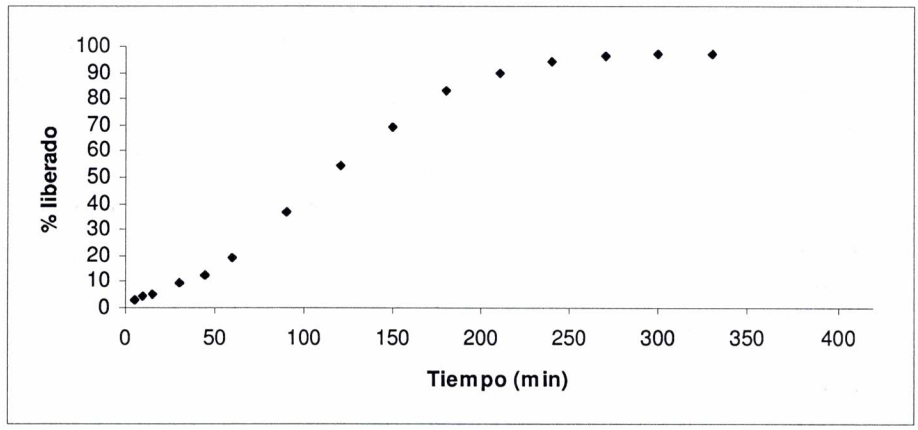


Figura 7.5: Perfil de liberación de Nistatina.

7.6.2.2 Bioadhesión: En la tabla 7.13 se muestra el resultado obtenido para este test, es válido aclarar que no existe una clara correlación entre los valores *in-vitro* de bioadhesión y lo que va a suceder *in-vivo*. Sin embargo el resultado de este test permite conocer y comparar con otras formulaciones la bioadhesividad de estos sistemas.

Promedio	105,45 gr
D.S.	10,28 gr
E%	9,75 %
Fuerza por cm^2	150,64 gr/cm^2

Tabla 7.13: Valores de bioadhesividad obtenidos para el sistema.

En este punto del trabajo de investigación se ha logrado:

- El diseño de un comprimido bioadhesivo
- Formulación del comprimido
- Manufactura a escala piloto
- Evaluación de las propiedades farmacéuticas y biofarmacéuticas
- Evaluación de aspectos relacionados a la aceptabilidad por parte del paciente.

8. DETERMINACIÓN DE LOS PERFILES DE LIBERACIÓN "IN-VIVO" Y EFECTIVIDAD CLÍNICA DE COMPRIMIDOS MUCOADHESIVOS

La determinación *"in-vivo"* de los perfiles de liberación de Nistatina desde los comprimidos formulados se realizó en un grupo de 12 voluntarios sanos. Este ensayo fue llevado a cabo en el marco del Programa de la Universidad Nacional de Córdoba para la evaluación de la Biodisponibilidad y Bioequivalencia de Medicamentos, creado en el año 2003 por Res HCS N° 182/03.

Para la correcta realización de esta experiencia se procedió a la protocolización del ensayo, dicho protocolo fue evaluado y aprobado (junio de 2006) por el comité de ética de Hospital Nacional de Clínicas (CIEIS). Ver anexo I.

8.1 Clasificación de los ensayos clínicos

Los ensayos clínicos pueden ser clasificados de diferentes maneras (según la investigación, la metodología, la asignación del tratamiento), siendo la más conocida la clasificación según su finalidad.

Los ensayos clínicos según su finalidad son clásicamente divididos en cuatro fases, siguiendo la clasificación internacional propuesta por la Food and Drug Administration (FDA). Esta división en cuatro fases sucesiva es teórica porque, a pesar de que existe una real progresión cronológica, hay una cierta superposición de una fase sobre otra y, por otro lado, algunas fases pueden ser a su vez subdivididas[133].

[133] A.M., Moreira Reis, A.R., Santos Maggi. Pesquisa clínica com medicamentos. En M.J. Vasconcelos de Magalhaes Gomes y A.M. Morira Reis Eds. En: Ciencias farmaceuticas: uma abordagem em farmácia hospitalar. Capítulo 28 pg 505. Atheneu. Sao Paulo. Brasil. 2003

8.1.1 Estudios clínicos Fase I

Corresponden a la primera etapa de investigación de un nuevo medicamento en humanos. Comprenden fundamentalmente los estudios de farmacocinética y farmacodinamia. Son utilizados voluntarios sanos para la evaluación preliminar de tolerancia, evidencia de acciones farmacológicas, seguridad de los esquemas posológicos, absorción, distribución, metabolismo y excreción. En esta fase no se estudia la eficacia del fármaco, ya que son empleados voluntarios sanos. Las vías de administración estudiadas deben ser las mismas que serán utilizadas en la práctica clínica y nunca puede experimentarse en otra vía que no haya sido ensayada previamente en animales.

8.1.2 Estudios clínicos Fase II

Esta fase, también denominada *estudio terapéutico piloto*, tiene como objeto demostrar la actividad y establecer la seguridad a corto plazo del fármaco en pacientes portadores de una determinada enfermedad o condición patológica. Los estudios son realizados con un número limitado de pacientes portadores de la patología de interés, con el objetivo de estudiar la actividad biológica específica, el control o la profilaxis de una enfermedad. La utilidad de los estudios de fase II radica en que proporciona información preliminar sobre la eficacia del fármaco y complementa los parámetros de seguridad obtenidos en la fase I.

8.1.3 Estudios clínicos Fase III

En la fase III se determina el valor terapéutico relativo del fármaco en investigación es determinado a través de la comparación con un fármaco de referencia o placebo. En esta fase se explora el tipo y perfil de reacciones adversas más frecuentes así como las características especiales del medicamento tales como: interacciones clínicamente relevantes, grupos de pacientes con riesgo de desarrollar efectos secundarios y factores modificadores del efecto. La descripción de los resultados obtenidos en los estudios de Fase III es uno de los documentos exigidos por los organismos sanitarios para efectuar el registro de un medicamento.

8.1.4 Estudios Fase IV

Los estudios de fase IV son investigaciones realizadas luego de la comercialización de un medicamento. La población estudiada no es seleccionada, es poco homogénea e incluye pacientes raramente reclutados durante las fases I, II y III: pacientes que sufren de patologías diversas, pacientes que reciben asociaciones terapéuticas y ancianos. En la fase IV las investigaciones son ejecutadas de acuerdo a las características con las que el medicamento fue autorizado. Generalmente son estudios de vigilancia para establecer el valor terapéutico o surgimiento de nuevas reacciones adversas y/o confirmar la frecuencia de aparición de las ya descriptas y las estrategias de tratamiento.

En el marco de este trabajo, se realizaron estudios clínicos que permiten obtener información similar (aunque con poblaciones menores) a la recabada en los estudios de fase I y III, ya que se utilizó un fármaco reconocido y extensamente utilizado (Nistatina), para una patología también muy conocida y estudiada (candidiasis bucal). El estudio se realizó en forma comparativa con formulaciones actualmente disponibles en el mercado farmacéutico*.

8.2 Realización del Estudio

Se administró una única dosis de la formulación y se evaluó la concentración obtenida en saliva durante el período de tiempo que el comprimido permaneció adherido a la cavidad bucal y durante 30 minutos posteriores luego del despegue de la formulación, mediante muestras tomadas en intervalos de tiempo predeterminados. Este estudio se llevó a cabo en la Clínica Odontológica, perteneciente a la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, donde se realizaron los controles respectivos y la admisión o no de los voluntarios al estudio (estado general de la boca, de la mucosa, etc.). Luego de la inclusión del voluntario al ensayo, el resto del estudio se desarrolló en el Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba, bajo la supervisión de la Dra. Ruth S. Ferreyra (miembro representante por la

*Actualmente para el tratamiento de candidiasis oro-faríngea se utiliza un gel denominado "Orabase" (gel mezcla de gelatina y CMC sódica), se aplica 4 veces/día con una dosis de 100.000 UI

Facultad de Odontología del Programa de la Universidad Nacional de Córdoba para la evaluación de la Biodisponibilidad y Bioequivalencia de Medicamentos).
Antes de comenzar el estudio, se realizó una reunión informativa con cada voluntario, sobre cómo se debía realizar el ensayo y la firma del consentimiento informado (anexo I). A continuación se detallan los puntos a tener en cuenta durante el ensayo y firma del consentimiento informado.

8.2.1 Indicaciones para la Realización del Estudio

1) Antes de comenzar el ensayo se deberá concurrir a Clínica Odontológica, perteneciente a la Facultad de Odontología de la UNC, donde se realizaran controles de las mucosas y así comparar con el estado de la misma al finalizar el ensayo (se realizaran también registros fotográficos).
2) Realizar la higiene bucal y no ingerir, a partir de ese momento, ni sólidos ni líquidos.
3) Transcurrida una hora desde el punto 2 retener saliva en la boca por 30 segundos (no tragar) y luego salivar en un vial previamente rotulado (el máximo volumen posible). Esta muestra será la muestra blanco, inmediatamente después de recolectada se procederá a su almacenamiento en freezer hasta su posterior procesamiento.
4) Colocar el comprimido en la mucosa yugal (parte interna de la mejilla) a la altura de los Premolares (dientes cuya ubicación será indicada por el profesional), nunca por debajo, o al medio o mas arriba). Ejercer una leve presión con el dedo índice hasta que el comprimido quede adherido (aproximadamente 10 segundos). Se tomará como tiempo 0 (cero) el momento en el que se introduce el comprimido en la cavidad bucal.
5) A partir del tiempo 0 se tomarán muestras a los 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240, etc. minutos. La primera hora de muestreo no se podrá ingerir líquido. A posteriori se podrá ingerir agua teniendo la precaución de no hacerlo durante los 20 minutos previos a la toma de cada muestra.

6) En caso de, por cualquier razón, querer despegarse el comprimido, llenar la boca con agua y retenerla para que se hidrate el comprimido, repetir esto hasta que el comprimido se despegue.
7) Se tomarán muestras en intervalos de una hora mientras el comprimido esté adherido en el sitio. Cuando el mismo se despegue se registrará el tiempo y se tomarán 2 muestras más, a los 15 y 30 minutos subsiguientes. En ese período debe suspenderse la ingestión de líquidos. Transcurrido ese tiempo se da por finalizado esta etapa del ensayo.
8) A lo largo de todo el ensayo cada voluntario registrará en su planilla (anexo I) las sensaciones organolépticas (si las hubiere) que tuvo durante el período, como así también sensaciones desagradables (ardor, dolor, etc.)
9) Al otro día de despegado el comprimido se realizará un nueva visita a a la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, en donde un odontólogo hará su historia clínica y procederá a revisar el estado de la mucosa bucal verificando la presencia o no de lesiones en la misma luego de la administración del comprimido, en cuyo caso se hará un seguimiento hasta verificar la reversión de las mismas, donde nuevamente se hará un registro fotográfico de la mucosa.

8.2.2 Examen clínico odontológico

Se dividió a los voluntarios en 2 grupos (cada grupo en un día distinto) para facilitar el trabajo de controlar la correcta realización del ensayo.

Cada voluntario incluido en el ensayo debió seguir un cronograma específico, esquematizado en la figura 8.1.

Como primera medida se realizó el examen clínico e historia clínica correspondiente a la etapa pre-comprimido (ver anexo II) el cual se utilizó como historia clínica del voluntario y donde se realizaron observaciones pertinentes, luego en el control post-comprimido. También se fotografió la zona elegida por el voluntario donde el comprimido iba a ser adherido.

Una vez admitido en el ensayo (Anexo I, sección A.5), a cada voluntario se le entregó una planilla para llenar durante el tiempo que permaneció con el comprimido, donde se

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

describe que sensaciones tuvo. Durante este período cada voluntario depositó su muestra (ver procedimiento de toma de muestra en el protocolo del estudio, anexo I) en el intervalo de tiempo correspondiente, se rotuló el envase y se almacenó dicha muestra a -25°C para su posterior análisis.

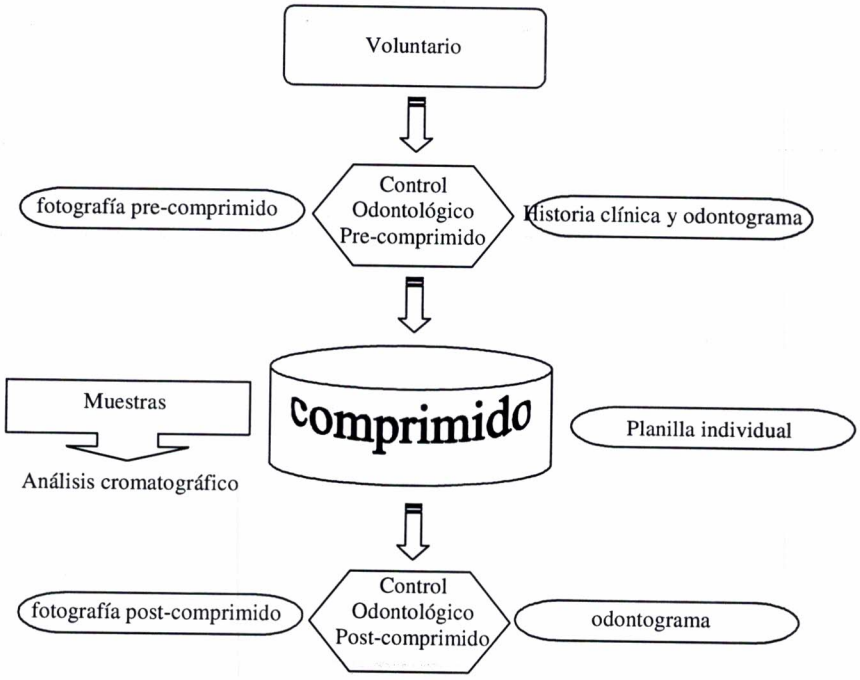


Figura 8.1: esquema del estudio clínico desarrollado

El día posterior luego de aplicado el comprimido, el voluntario nuevamente debía asistir a la Clínica Odontológica para el examen clínico por parte del mismo profesional odontólogo de la zona de aplicación y del estado general de la mucosa y se fotografió la zona para contar con un registro adicional. A modo de ejemplo, en la figura 8.2 se muestran las fotografías tomadas de la zona antes, durante y después del ensayo para un solo voluntario.

El examen bucal reveló que en 11 de los 12 voluntarios no se produjo lesión alguna. El voluntario que presentó lesión fue debido a que éste, durante el ensayo, despegó el comprimido, ya que se lo administró erróneamente, sin seguir los indicativos del protocolo descripto para tal caso (anexo I).

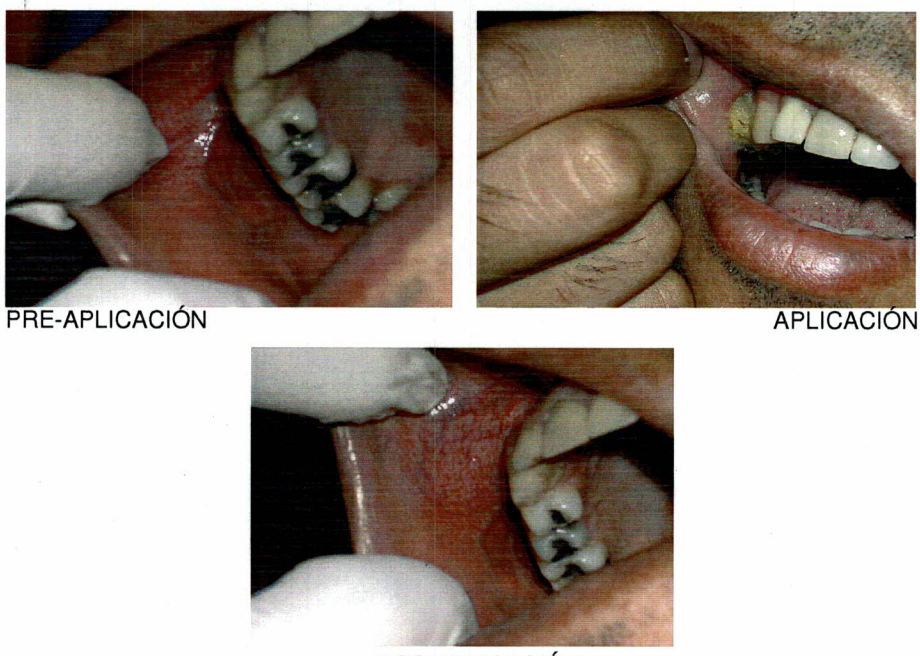


Figura 8.2: Fotografías de la mucosa del voluntario pre-aplicación, aplicación y post-aplicación

8.2.3 Determinación de los Perfiles "in-vivo"

Los perfiles obtenidos para cada voluntario[♣] son mostrados en la figura 8.3 y el perfil promedio de los 9 voluntarios en la figura 8.4.

[♣]De los 12 voluntarios solo 9 pudieron ser procesados debido principalmente a errores en la administración del comprimido.

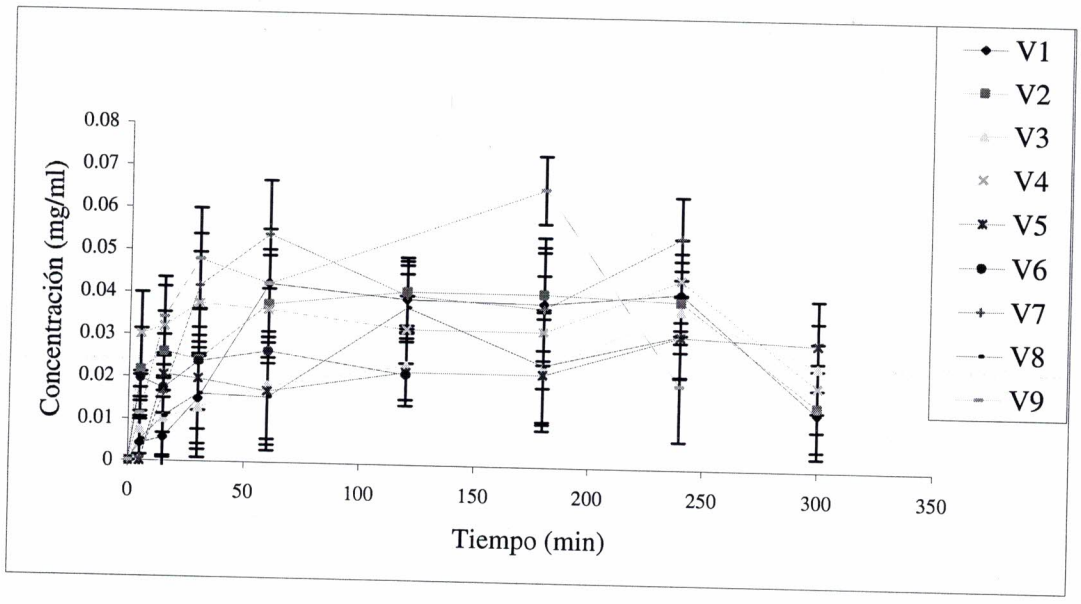


Figura 8.3: Perfiles *"in-vivo"* de concentración de Nistatina en función del tiempo para cada voluntario (V = voluntario).

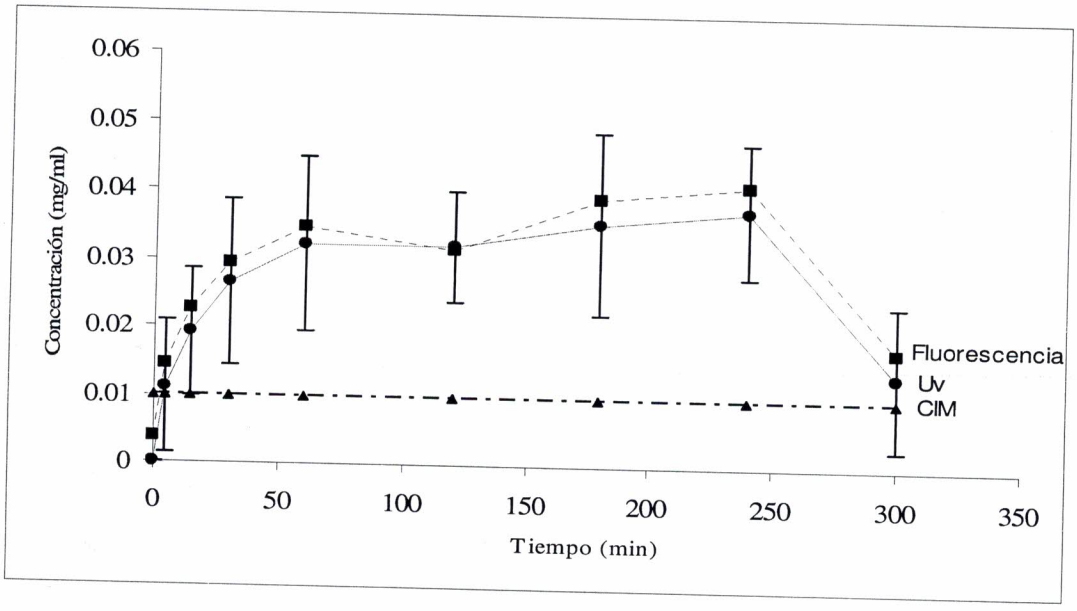


Figura 8.4: Perfiles *"in-vivo"* promedio de concentración de Nistatina en función del tiempo (■ fluorescencia, ● ultravioleta, ▲CIM).

Como se puede observar la concentración de Nistatina en todos los casos se encuentra muy por encima de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la droga[134].

Habiendo corroborado que el sistema se mantiene adherido a la mucosa 4,5 ± 0,5 horas (tiempo máximo de permanencia), que mantiene aproximadamente constante la concentración de Nistatina siempre por encima de la CIM teórica y que no provoca efectos adversos graves, se procedió al ensayo de efectividad clínica de la formulación.

8.3 Evaluación de la Efectividad Clínica de los Comprimidos[♣]

Se incluyeron 12 pacientes (9 fem. y 3 masc.) con diagnóstico clínico y micológico de candidasis bucal a los que se les realizó una historia clínica donde se consignaron datos filiatorios, edad, sexo, factores locales y generales predisponentes de candidasis bucal tales como uso de prótesis, consumo de tabaco e iconografías de las lesiones para su registro. Se tomaron muestras de las distintas lesiones para su examen directo, hisopado para cultivo e identificación de las cepas. Los pacientes fueron divididos en dos grupos al azar para su tratamiento, Grupo A (tratados con comprimidos mucoadhesivos, 2 veces por día, aproximadamente 53.000 UI por comprimido[135]) y Grupo B (tratados con gel "orabase" con Nistatina 100000 UI 4 veces por día, tratamiento control).
La edad media para el grupo A fue de 56.7 años (rango 38-82 años) y para el Grupo B de 65.2 años (rango 53-82 años)[♠]. En la figura 8.5 se muestra la distribución por sexo para cada tratamiento.

[134]A.N.B., Ellepola and L.P, Samaranayake. Adhesion of oral C *alcicans* to human buccal epithelial cells following limited exposure to antifungal agents. J. Oral Pathol Med. 27, pg. 325-331. 1998.
[♣]Estudio realizado en la Cátedra de Estomatología II de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, Por el Dr F. Femopase y colaboradores.
[135]Valoraciones microbiológicas de sistemas poliméricos portadores de antifúngicos: eficacia *"in-vitro"* de films bioadhesivos de nistatina. Informe Primer Período Practicanato Profesional de Farmacia. Área Investigación y desarrollo ALUMNO: Natalia Viviana Sanchez. Año 2006
[♠]Grupo A: tratados con los conprimidos mucoadhesivos. Grupo B: Tratados con Orabase (gel utilizado en el tratamiento tradicional)

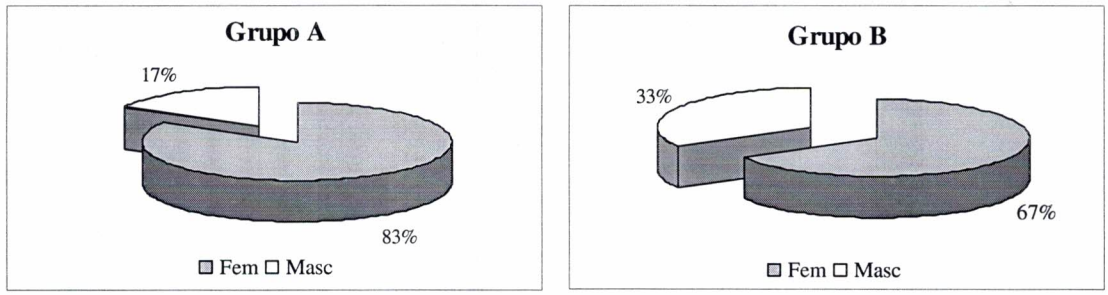


Figura 8.5: Distribución del sexo de los pacientes para cada tratamiento.

En la figura 8.6 se muestra la distribución de los pacientes sometidos al tratamiento discriminando el uso o no de prótesis dentales removibles y si el paciente fuma o no.

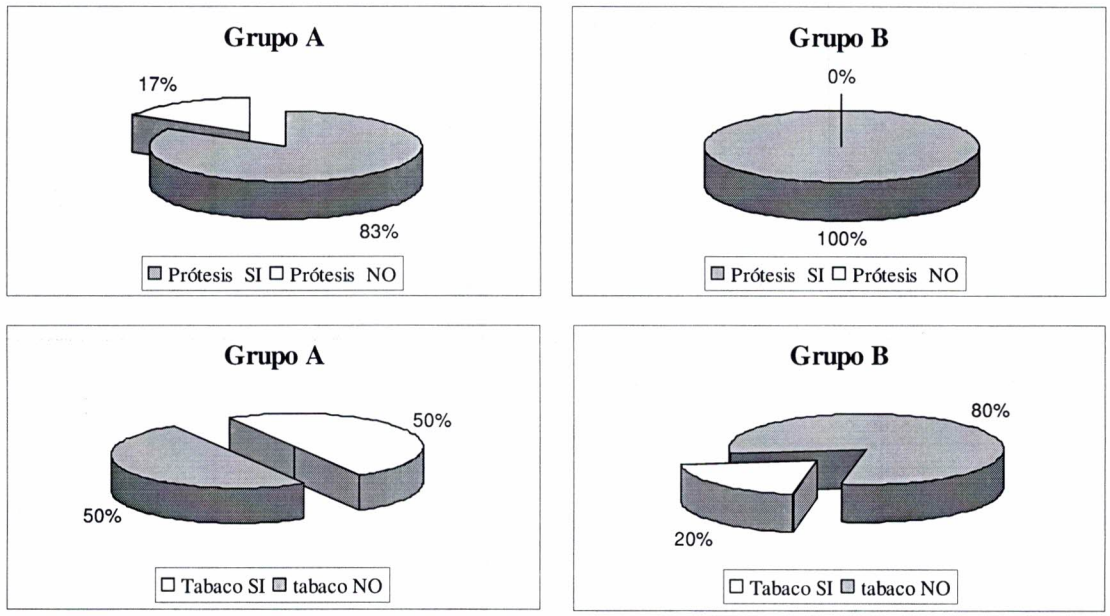


Figura 8.6: Distribución de los pacientes sometidos a los dos tratamientos en cuanto al uso de prótesis dentarias y al hábito de fumar.

En la figura 8.7 se muestran los resultados obtenidos para el cultivo e identificación de las cepas pre-tratamiento, donde se identifican las cepas de Candida que causan la patología del paciente.

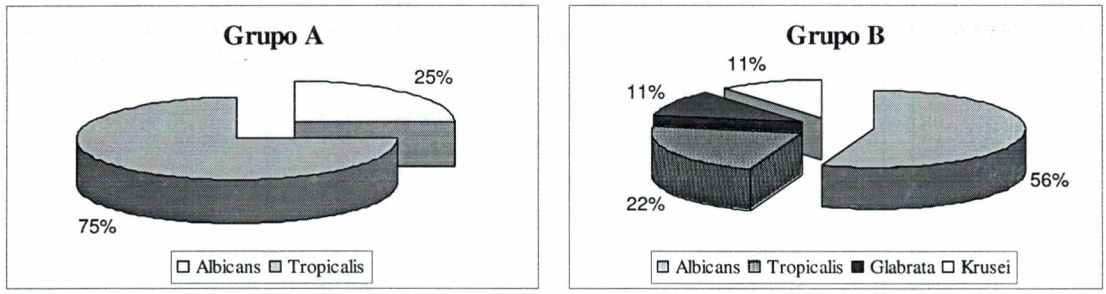


Figura 8.7: Cepas de candidas encontradas en los distintos pacientes sometidos a ambos tratamientos.

Para la evaluación de la efectividad clínica de los comprimidos también se evaluó la variación del índice de lesión pre y pos-tratamiento. Para este análisis se cuantifica la lesión (pre-tratamiento) asignándole valores arbitrarios entre 0 y 10 para contar con parámetros ciertos para cuantificar la evolución de dicha lesión durante el tratamiento. En la figura 8.8 se muestra esta variación del índice de lesión para ambos tratamientos, al inicio (pre-tratamiento) y al final (pos-tratamiento).

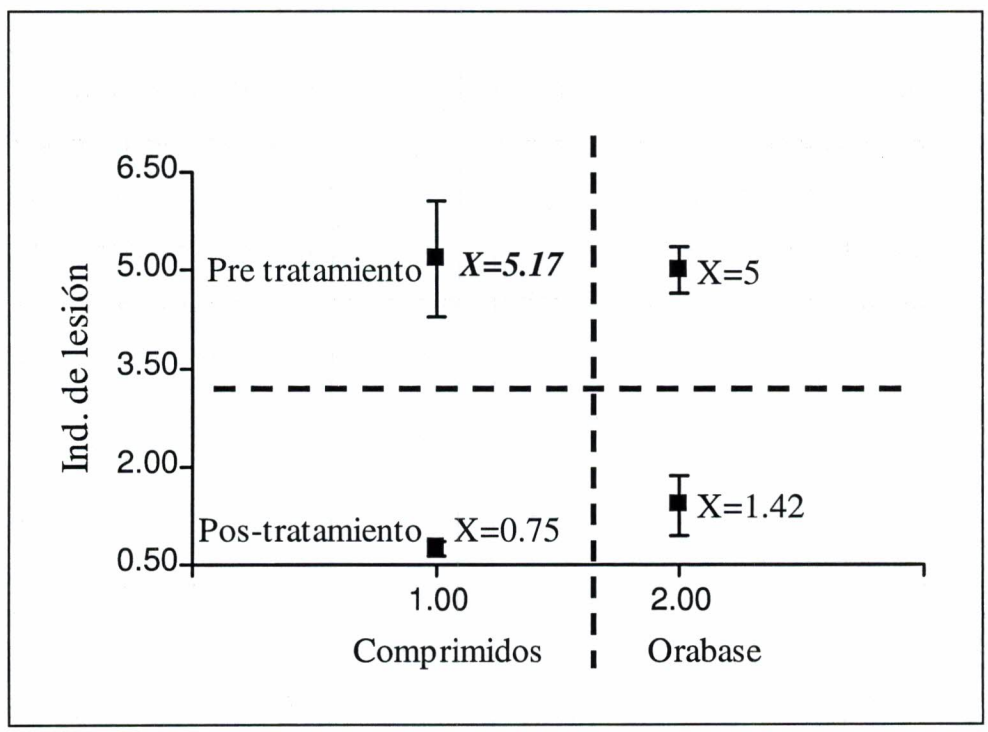


Figura 8.8: Variación del índice de lesión pre y pos-tratamiento para ambas formulaciones.

El objetivo fármaco-terapéutico de máxima efectividad esperada implica que al final del tratamiento pueda alcanzarse un índice de lesión mínimo, idealmente cercano a cero. Sin embargo, en los pacientes con prótesis, siempre existen lesiones debido a la presencia de la misma prótesis. Estas lesiones son muy difíciles de diferenciar de las causadas por Candida, y esto es lo que lleva a que los resultados del índice de lesión no lleguen a valores cercanos al cero.

Para comparar estadísticamente los resultados obtenidos para los dos tratamientos se realizó el test de Wilcoxon cuyo resultado se muestra en la tabla 8.1

Forma farmacéutica	Estadío		n	p(2 colas)
Comprimidos	Post-tratamiento	Pre-tratamiento	6	0.002
Orabase	Post-tratamiento	Pre-tratamiento	6	0.002

Tabla 8.1: Prueba de Wilcoxón (muestras apareadas) para los dos tratamientos.

Este test muestra que no hay diferencia estadística entre los dos tratamientos en cuanto al resultado final de los mismos.

Estos datos son parciales, ya que se planea continuar con el ensayo y conseguir un mayor número de pacientes. Sin embargo los resultados obtenidos hasta el momento muestran que los comprimidos mucoadhesivos aportarían ventajas significativas en comparación con el tratamiento tradicional (gel) ya que se utiliza aproximadamente 1/6 de la dosis habitual y además reporta un gran beneficio al paciente, en lo que respecta a comodidad. El tratamiento resultó efectivo con solamente dos aplicaciones por día en lugar de cuatro realizadas en el caso de la utilización del gel.

9. FILMS

Además de la formulación de comprimidos, en este trabajo de tesis, se propuso la elaboración de films mucoadhesivos como formulación alternativa para la administración de fármacos.

La obtención de films mucoadhesivos es objeto de estudio para administración de fármacos tanto a nivel sistémico como local.[136,137,138]

Esta forma farmacéutica presenta potenciales ventajas frente a las ya conocidas formulaciones tradicionales por sus características bio/mucoadhesivas como ya ha sido descripto, sin embargo en comparación con un comprimido, puede aparecer como una buena alternativa de tratamientos para aquellas zonas en donde la aplicación del comprimido puede ser inviable, tanto por el confort del paciente como por la zona de aplicación. A modo de ejemplos se pueden citar:

- Micosis en pacientes con prótesis dentales: La estomatitis protésica corresponde a un proceso patológico que aparece en sujetos portadores de prótesis removibles. El origen del cuadro parece deberse a la influencia de múltiples factores etiológicos: traumatismos continuos ejercidos por la prótesis, infecciones por diferentes microorganismos, alergia a los materiales de la prótesis, diabetes mellitus, falta de higiene, etc. Dicha estomatitis incluye todas las manifestaciones clínicas derivadas del uso de la prótesis, en la que se puede incluir la candidiasis oral asociada.[139,140] De esto, resulta casi imposible pensar en la administración de un comprimido entre la prótesis y el paladar (el principal mecanismo de adhesión prótesis paladar es el vacío que se forma al introducir la prótesis) por lo que el film bioadhesivo aparece como una buena opción.

[136]H., Okamoto, H., Taguchi, K., Iida, K., Danjo Development of polymer film dosage forms of lidocaine for buccal administration I. Penetration rate and release rate. J. of Control. Release 77 pg. 253–260. 2001
[137]D.S., Jones, N.J., Medlicott. Casting solvent controlled release of chlorhexidine from ethylcellulose films prepared by solvent evaporation. Int. J. Pharm.114 pg. 257-261. 1995
[138]J., Yoo, K., Dharmala, C.H., Lee. The physicodynamic properties of mucoadhesive polymeric films developed as female controlled drug delivery system. Int. J. Pharm. 309 pg. 139–145. 2006
[139]J., Rodríguez Ortega, J.M., Tarragó, H., Morejón Lugones y J.C., Santana Garay. Candidiasis de la mucosa bucal. Revisión bibliográfica. Rev Cubana Estomatol;39(2) 2002
[140]J.M., Aguirre Urizar. Candidiasis orales. Rev Iberoam Micol; 19: pg. 17-21.2002

- Periodontitis: La enfermedad periodontal es una enfermedad que afecta a las encías y a la estructura de soporte de los dientes. La bacteria presente en la placa causa la enfermedad periodontal. Si no se retira, cuidadosamente, todos los días con el cepillo y el hilo dental, la placa se endurece y se convierte en una sustancia dura y porosa llamada cálculo dental (también conocida como sarro). Las toxinas, que se producen por la bacteria en la placa, irritan las encías. Al permanecer en su lugar, las toxinas provocan que las encías se desprendan de los dientes y se forman bolsas periodontales, las cuales se llenan de más toxinas y bacteria. Es en estas bolsas periodontales que se deben aplicar agentes terapéuticos para control la población de bacterias, por lo que la inserción de un film flexible que se mantenga adherido liberando antibióticos a la zona sería una buena opción a los tratamiento convencionales.[141,142,143]
- Protección de lesiones ulcerosas: las úlceras bucales pueden manifestarse por un sinnúmero de situaciones, la aplicación de formulaciones en estas zonas lesionadas de la mucosa, que cubran la lesión y que puedan administrar analgésicos u otros fármacos de modo local, resulta también interesante. [144,145]
- Extracciones de piezas dentarias: cuando una extracción se lleva a cabo, queda la cavidad de la pieza extraída expuesta al exterior, actualmente se recomienda la administración oral de antibióticos, sin embargo, la administración de un sistema flexible que cubra esta cavidad y a su vez administre un tratamiento tópico paliativo del dolor y antiséptico, resulta atractiva.

[141]K., Higashi M., Matsushita, K., Morisaki, S.I., Hayashi, T., Mayumi. Local drug delivery systems for the treatment of periodontal disease. J. Pharmacobio-dynamics. 14, no2, pg. 72-811991
[142]M.E., Ryan. Nonsurgical approaches for treatment of periodontal diseases. Den. Clin. N. Am. 49 pg. 611-636. 2005
[143]K., Schwach-Abdellaoui, N., Vivien-Castioni and R., Gurny. Local delivery of antimicrobial agents for the treatment of periodontal diseases. Eur. J. Pharm. Biopharm. 50, 1, 3 pg. 83-99. 2000
[144]T., Nguyen-Xuan, R., Towart, A., Terras, Y., Jacques, P., Buri, R., Gurny. Mucoadhesive semi-solid formulations for intraoral use containig sucralfate. Eur. J. Pharm. Biopharm. 43 (2) 133-137. 1996
[145]L., Perioli, V., Ambrogi, F., Angelici, M., Ricci, S., Giovagnoli, M., Capuccella, C. Rossi. Development of mucoadhesive patches for buccal administration of ibuprofen. J. Control. Release. 99, 73-82. 2004

9.1 Selección de Materiales

Se seleccionaron Carbomer 934P (CB), Hidroxipropilmetilcelolusa (HPMC) y Carboximetilcelulosa sódica (CMC-Na). Estos materiales poliméricos son usualmente utilizados en la industria farmacéutica, conocidos por su inocuidad y propiedades bioadhesivas.

9.2 Obtención de films

La obtención de este sistema se realizó a través del método de evaporación de solvente. En primera instancia se prepara un gel con los constituyentes del film, el cual es sometido a temperatura para la evaporación del agua, dando lugar al film. Este proceso es esquematizado en la figura 9.1.

El proceso general comprende las siguientes etapas:

1°) Se prepara una dispersión de ambos polímeros (CB/CMC-Na o CB/HPMC) en agua, con agitación constante hasta la obtención de una dispersión homogénea.

2°) Se agrega el plastificante (ver más adelante) con agitación

3°) Aplicación de vacío para desgasificar el sistema y

4°) Se trasvasa el contenido a un molde adecuado y se lo deja en estufa hasta sequedad y obtención del film.

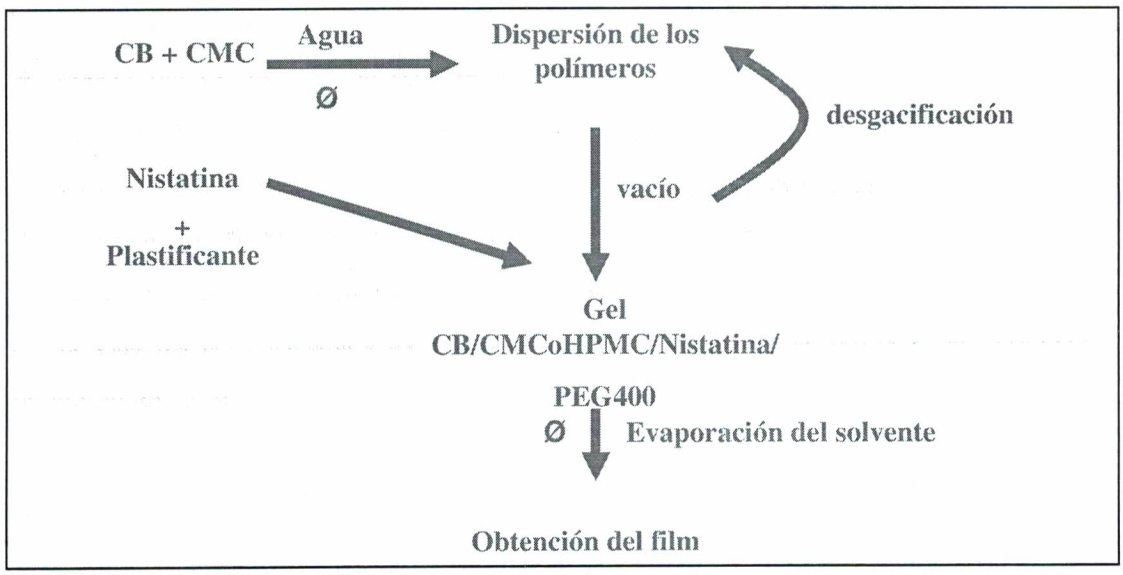


Figura 9.1: Esquema del proceso de obtención del film.

En primera instancia se realizaron estudios preliminares tendientes a conocer la performance de sistema. Los films obtenidos a partir de CB:HPMC no tuvieron buenas propiedades, por lo que continuó con el sistema compuesto por CB:CMC-Na.

Resulta imprescindible contar con una variable de evaluación para seleccionar la composición adecuada. La determinación de la fuerza de adhesión fue el parámetro seleccionado para esta evaluación. En la tabla 9.1 se muestran las distintas composiciones de los films y la fuerza de adhesión de cada uno.

CB (gr)	CMC-Na (gr)	H_2O (ml)	Fuerza (gr)
1	0.2	50	198
1	0.4	50	107
1	0.6	50	136
1	0.8	50	382
1	1	50	487

Tabla 9.1: Fuerza de adhesión de las distintas mezclas CB/CMC-Na.

De los resultados, se destaca que el film compuesto por CB:CMC-Na 1:1 es la que mayor fuerza de adhesión posee.

Otra variable crítica en la formulación del film es la cantidad adicionada de plastificante en el sistema, de lo contrario la formulación obtenida se torna frágil y quebradiza.[146,147]

Para la selección del plastificante se utilizó el mismo parámetro de la fuerza de adhesión. En las tablas 9.2 y 9.3 se muestran los resultados obtenidos utilizando como plastificante Polietilenglicol 400 (PEG400) y Glicerina (Gli)

[146]C., Wu, J.W., McGinity. Non-traditional plasticization of polymeric films. Int. J. Pharm. 177, 15-27. 1999

[147] K.K., Peh, C.F., Wong. Polymeric Films as Vehicle for Buccal Delivery: Swelling, Mechanical, and Bioadhesive Properties. J Pharm Pharmaceut Sci 2 (2):53-61, 1999.

Film	PEG400 (%)	Fuerza (gr)
P1	0.5	370
P2	1	549
P3	1.5	382
P4	2	632
P5	2.25	294
P6	2.5	372
P7	3	247
P8	4	126

Tabla 9.2: Fuerza de adhesión de films CB:CMC-Na con distintos porcentajes de PEG400.

Film	Gli (%)	Fuerza (gr)
G1	2	84
G2	4	72
G3	5	64
G4	7	40
G5	10	12

Tabla 9.3: Fuerza de adhesión de films CB:CMC-Na con distintos porcentajes de Gli.

De los resultados obtenidos se puede observar que la inclusión de Gli como plastificante produce un efecto importante de disminución en la fuerza de adhesión del sistema, efecto no observado con PEG400.

9.3 Conformación del sistema

Los resultados obtenidos en los ensayos previos establecieron que, en el marco del presente estudio, la fórmula debía estar compuesta por CB:CMC-Na en proporción 1:1 y PEG400 como plastificante al 2% p/v.

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

El fármaco a vehiculizar, Nistatina, es prácticamente insoluble en agua[148], lo que representaría potenciales problemas para la formulación del sistema. En estudios preliminares se observó que el agregado de Nistatina provocó en la formulación la aparición de pequeñas partículas de fármaco, lo que conspiraría contra la homogeneidad del sistema. Para solucionar este problema se recurrió al agregado de palmitato de ascorbilo (ASC16), sustancia conocida por su capacidad de aumentar la solubilidad de fármacos insolubles.[149]

9.4 Caracterización de los sistemas

Para realizar una caracterización integral del sistema se realizaron estudios sobre los dos estadíos fundamentales de la formulación, ***geles y films***.

9.5 Geles

El estudio del gel precursor del film nos brindó información de cómo el sistema se va conformando con el agregado de las distintas sustancias. De esta forma se estudiaron los geles precursores de films descritos en la tabla 9.4.

La incorporación de hidrocoloides como CB y CMC-Na produce un gel con propiedades particulares. Estas propiedades van cambiando a medida que el agua del sistema va siendo removida (proceso de casting) hasta llegar a la formulación final (film). Con el objeto de adquirir conocimiento en cuanto a la estructura de los films, evaluamos las propiedades de los distintos geles y la influencia del agregado de los distintos componentes en la formulación durante el proceso de evaporación del solvente.

[148]G.W., Michel. Nystatin. En: Florey, K. (Ed.), Analytical Profiles of Drugs Substances, vol. 6. Academic Press, New York, pp. 341–421. 1977

[149]S., Palma, R.H., Manzo, D., Allemandi, L., Fratoni, P., LoNostro. Drugs solubilization in ascorbyl-decanoate micellar solutions. Colloid Surf. A 212, 163–173. 2003

GEL	CB	CMC-Na	NISTATINA	PEG400	ASC16	pH
A	0,25	0,25	-----	-----	-----	3.90
B	0,25	0,25	0,20	-----	-----	4.03
C	0,25	0,25	0,20	2	-----	4.10
D	0,25	0,25	0,20	2	0,1	4.12
E	0,25	0,25	0,20	2	0,2	4.14

Tabla 9.4: Geles precursores de films.

9.5.1 Incorporación de Nistatina

Como se dijera anteriormente el fármaco modelo para la evolución de los sistemas bioadhesivos seleccionados es Nistatina. Para el estudio de los films en particular, a diferencia de los comprimidos, es necesario tener en cuenta ciertas características inherentes a este fármaco, debido a que estas características influyen de manera determinante en la formulación final (homogeneidad, resistencia mecánica, liberación del fármaco, etc.)

Nistatina posee tres posibles configuraciones diferentes cristalinas conocidas como Tipo A, Tipo B y Tipo C[150]. En estudios previos se utilizó Difracción de Rayos X (XRPD) para conocer con exactitud cual era la forma cristalina con la cual estábamos trabajando, los resultados mostraron que la Nistatina que utilizábamos correspondía al Tipo C.

Sin embargo, en la literatura especializada está descrito que Nistatina tiene la propiedad de intercambiar su forma cristalina (entre A, B y C) ante cambios en las condiciones del ambiente en el que se encuentre. Teniendo esto en cuenta, se realizaron pruebas para determinar si esto sucedía en nuestro sistema, ya que durante el proceso de obtención del film, el fármaco se dispersa en una solución acuosa y luego es expuesto a temperatura hasta la obtención del film (60° C durante 24 horas). Para esto se utilizó XRPD sobre muestras de Nistatina a las cuales se las sometió a diferentes condiciones simulando el "estrés" del fármaco durante la obtención del sistema. Dichas condiciones se describen en la tabla 9.5.

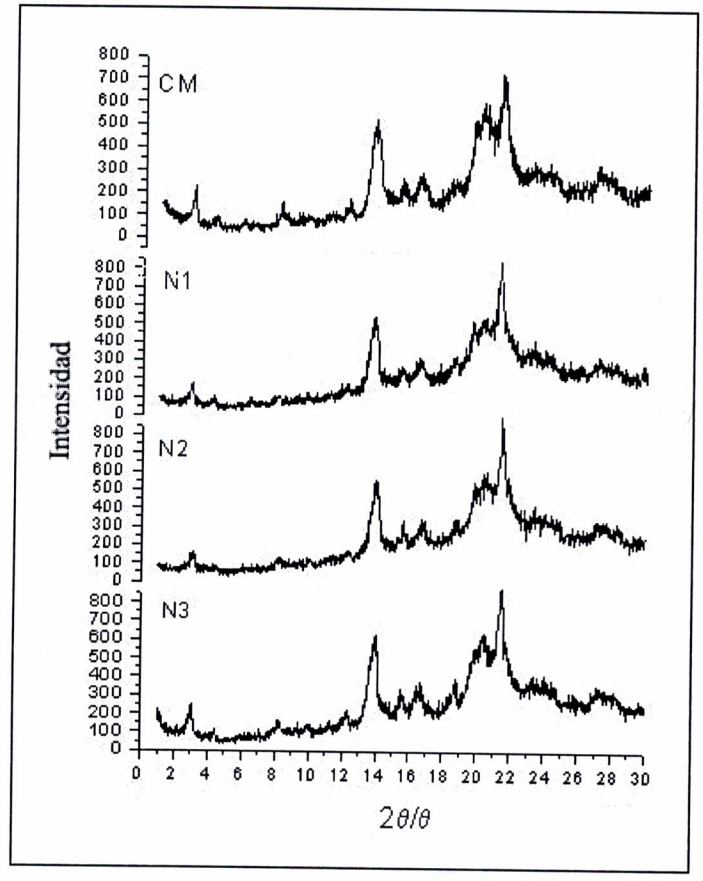
[150]G.W., Michel. Nystatin. In: Florey, K. (Ed.), Analytical Profiles of Drugs Substances, vol. 6. Academic Press, New York, pp. 341–421. 1977

Muestra	Temperatura de dispersión (°C)	Tiempo de dispersión (min)	Temperatura de secado (°C)
N1	65	20	60
N2	25	20	TA
N3	65	20	TA

TA: temperatura ambiente.

Tabla 9.5: Obtención de distintas muestras de Nistatina expuestas a diferentes condiciones de temperatura y humedad.

En la figura 9.2 se observan los patrones de XRPD para las distintas muestras en comparación con la Nistatina comercial utilizada durante el trabajo. De acuerdo con esto durante el proceso de obtención del film, la forma cristalina de Nistatina no cambia.



CM: Nistatina comercial

Figura 9.2: Difractograma de las muestras de Nistatina descriptas en la tabla 9.5.

9.5.2 *Viscosidad del sistema*

Como se mencionara anteriormente la incorporación del fármaco en el sistema, sin el agregado del surfactante (ASC16) provocaba la obtención de films con pequeñas partículas lo cual conspira contra las condiciones de homogeneidad del sistema. Asimismo las propiedades físico-mecánicas del mismo (flexibilidad y resistencia mecánica), pueden ser afectadas.

Para solucionar este problema, la utilización de ASC16 surge como una opción a estudiar. Sin embargo la adición en el sistema de este surfactante puede no solo influir en el estado del fármaco, sino también en el comportamiento de todo el sistema.

Siguiendo el esquema de la figura 9.1, la incorporación de Nistatina en el gel se realiza junto con el plastificante, el surfactante también se adiciona en este punto, a temperaturas superiores a la Temperatura micelar crítica (TMC) del ASC16.[151]

ASC_{16} ha sido ampliamente estudiado en nuestro laboratorio. Cuando se administra calor a una suspensión acuosa de este compuesto, la solubilidad se incrementa rápidamente por encima de la TMC o Krafft Point. La solución resultante por enfriamiento da lugar a la formación de una estructura cristalina semisólida denominada en forma general *coagel*. Dichas estructuras presentan distintas propiedades físico-químicas y reológicas, dependiendo del largo de la cadena alquílica, de su concentración y de la temperatura. Los coageles no son afectados en forma general por el pH, sin embargo, la presencia de sales (serie de Hofmeister) tiene un efecto mucho más marcado sobre las propiedades de estos sistemas. Presentan además un gran potencial de solubilización de drogas poco solubles por encima de la TMC y como portadores de drogas con características semisólidas al descender la temperatura por debajo de este punto. Asimismo, la presencia del grupo ascorbilo, provee un efecto estabilizante de fármacos con problemas de estabilidad en medio acuoso. De acuerdo a los estudios realizados, las propiedades tensioactivas de estos compuestos podrían tener aplicación como solubilizantes de drogas de baja solubilidad en agua e inestables en este medio. Este comportamiento ofrece la

[151]M., Ambrosi, P., Lo Nostro, L., Fratoni, L., Dei, B.W., Ninham, S., Palma, R.H, Manzo, D., Allemandi, and P., Baglioni. Water of hydration in coagels. Phys. Chem. Chem. Phys. 6 (7) 1401–1407. 2004

posibilidad de utilizar estos derivados para el diseño y obtención de distintos sistemas portadores de fármacos[152].

Por otra parte cuando esta dispersión es vertida en el gel, se producen una serie de interacciones complejas, ya que estos agregados ahora forman parte del gel interactuando con los polímeros presentes en el sistema (CB y CMC-Na).

Es conocido que la incorporación de surfactantes en una dispersión polimérica puede alterar la conformación adoptada por los polímeros y la viscosidad del sistema[153]. Estas alteraciones, dependen del tipo de polímero y del tipo de surfactante utilizado (debido a la ionización de ambos compuestos) y a la concentración a la que estos componentes se encuentran.[154,155] La coexistencia de ambas sustancias (polímero y surfactante) trae aparejada la formación de nuevos agregados, lo cual surge como consecuencia de las interacciones hidrofóbicas entre la porción no-polar del surfactante y la porción hidrofóbica del polímero, o por la presencia de interacciones electrostáticas entre la cabeza polar del surfactante y los grupos ionizados de los polímeros, o una mezcla de ambos efectos (interacciones hidrofóbicas e interacciones electrostáticas)[156]. En este caso, CB posee pK_a=6,10, CMC-Na pK_a=5,80 y ASC16 pK_a=4,27. Analizando los valores de pH de los distintos sistemas (tabla 9.4) CB y CMC-Na están prácticamente en su forma no-ionizada, mientras que ASC16 se encuentra parcialmente ionizado. Es por esto que las interacciones hidrofóbicas son las que mayormente se encuentran involucradas en la formación de estos nuevos agregados.

Estos cambios conformacionales del sistema pueden ser evaluados a través de las mediciones reológicas del gel. La figura 9.4 muestra los cambios en las curvas de flujo de los geles precursores de los distintos films a medida que aumentan su complejidad.

---

[152]S., Palma, R., Manzo, D., Allemandi, L., Fratoni and P., LoNostro. Coagels from Ascorbic Acid Derivatives. Langmuir 18 pg 9219-9224. 2002

[153]C., Alvarez-Lorenzo and A., Concheiro. Effects of surfactants on gel behavior. Desing implications for drug delivery systems. Am. J. Drug Deliv. 1 (2): 77-101. 2003

[154]R., Barreiro-Iglesias, C., Alvarez-Lorenzo, A., Concheiro. Poly(acrylic acid) microgels (carbopol 934)/surfactant interactions in aqueous media. Part I: Nonionic surfactants. Int. J. Phar., 258 pg. 165-177. 2003

[155]R., Barreiro-Iglesias, C., Alvarez-Lorenzo, A., Concheiro. Poly(acrylic acid) microgels (carbopol 934)/surfactant interactions in aqueous media. Part II: Ionic surfactants. Int. J. Phar., 258 pg. 179-191. 2003

[156] K., Higashi, M., Matsushita, K., Morisaki, S.I., Hayashi, T., Mayumi. Local drug delivery systems for the treatment of periodontal disease. J. Pharm.-dynamics, vol. 14, no2, pp. 72-81.1991

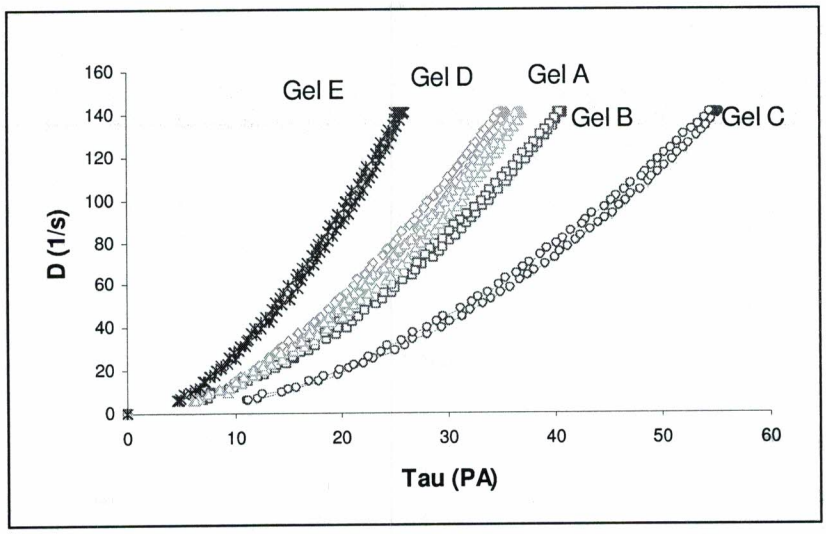


Figura 9.4: Curvas de flujo de los distintos geles precursores de films.

Todos los geles muestran un flujo pseudoplástico. La incorporación de Nistatina (gel B) provoca un aumento en la viscosidad del gel comparado al gel compuesto por los polímeros solos (gel A). Con el agregado del plastificante se produce un aumento considerable de la viscosidad, lo cual era de esperarse debido al efecto plastificante del PEG400 en el sistema (gel C). Este efecto se encuentra relacionado a la capacidad del plastificante de debilitar las fuerzas de atracción de las interacciones intermoleculares de los polímeros, lo que causa que las cadenas poliméricas se encuentren más relajadas por lo que adquieren una libertad de movimiento mayor (aumento de la flexibilidad del polímero).[157] Por otro lado también esta descrito que la presencia de plastificante en estos sistemas disminuye la temperatura de transición vítrea de los polímeros (Tg) otorgándole mayor movilidad a sus cadenas.[158] Como consecuencia de este mayor movimiento catenario, aumenta de manera considerable la posibilidad de entrelazamiento físico, lo que provoca un aumento en la viscosidad total del sistema.[159]

Por otro lado, la incorporación de ASC16 (geles D y E) causa un notable descenso en la viscosidad de ambos sistemas, efecto que se acentúa cuando la concentración de ASC16

[157]R., Sothornvit, J.M., Krochta. Plasticizer effect on mechanical properties of β-lactoglobulin films. J. Food. Eng. 50, pg. 149-155. 2001
[158]A., Gómez-Carracedo, C., Alvarez-Lorenzo, J.L., Gómez-Amoza, A., Concheiro. Glass tansitions and viscoelastic properties of Carbopol® and Noveno® compacts. Int. J. Pharm. 274, pg. 233-243. 2004
[159]G., Bonacucina, S., Martelli, G.F., Palmieri. Rheological, mucoadhesive and release properties of Carbopol gels in hydrophilic cosolvents. Int. J. Pharm. 282, pg. 115-130. 2004

aumenta. Dicho efecto es debido a que la concentración de ambos polímeros es relativamente baja (CB+CMC-Na = 0,5%) y el descenso en la viscosidad es producido como resultado de la presencia de surfactante en el sistema, ya que facilita las interacciones intra-poliméricas (en su mayoría hidrofóbicas) lo que produce un efecto de "encogimiento del gel".[160]

Por otra parte al analizar los distintos geles a medida que el agua es removida, donde la concentración de los componentes aumenta, el efecto antes mencionado no se observó. En las tablas 9.6 y 9.7 se muestran las viscosidades de estos geles con el contenido de agua parcialmente removida (durante el proceso de casting).

Film	% CB	% CMC	% ASC16	% N	% PEG400	Eta
D1	0.575	0.575	0.23	0.46	2.574	257.612
D2	0.636	0.636	0.254	0.509	2.848	267.858
D3	0.671	0.671	- - -	0.536	3.004	253.614
D4	0.858	0.858	0.345	0.686	3.849	284.906
D5	1.196	1.196	0.477	0.955	5.354	288104
D6	1.434	1.434	0.575	1.143	6.427	544.374
D7	1.472	1.472	0.589	1.178	6.596	598.634

Tabla 9.6: Composición (%p/v) y viscosidad de gel D a medida que el agua fue removida.

Film	% CB	% CMC	% ASC	% N	% PEG400	Eta
E1	0.551	0.551	0.441	0.441	2.468	207
E2	0.611	0.611	0.489	0.489	2.736	205.85
E3	0.69	0.69	0.552	0.552	3.091	212
E4	0.738	0.738	0.592	0.592	3.308	214
E5	0.762	0.762	0.64	0.609	3.413	223.46
E6	0.984	0.984	0.788	0.788	4.407	256.66
E7	1.144	1.144	0.915	0.915	5.126	286.27
E8	1.506	1.506	1.205	1.205	6.747	381.39

Tabla 9.7: Composición (%p/v) y viscosidad de gel E a medida que el agua fue removida.

[160]R., Barreiro-Iglesias, C., Alvarez-Lorenzo, A., Concheiro. Incorporation of small quantities of surfactants as a way to improve the rheological and diffusional behavior of carbopol gels, J. Control. Release 77 pg. 59-75. 2001

En ambos casos, la viscosidad permanece prácticamente constante hasta que el contenido de agua en el sistema alcanza un valor crítico, a partir del cual la viscosidad del sistema comienza a aumentar de manera pronunciada. Para el gel D a concentraciones de agua menores al 45% (Tabla 9.6: Dato#5, CB + CMC-Na = 2.4%, ASC16=0.477%) y para el gel E a concentraciones de agua menores al 59% (Tabla 9.7: Dato#5, CB + CMC-Na = 1.5%, ASC16=0.64%). Este aumento de la viscosidad no se evidencia para el gel A (polímeros solos).

Este comportamiento puede ser explicado considerando la influencia de la presencia de surfactante en las interacciones intra e inter-poliméricas. En la figura 9.5 se observa este comportamiento en las curvas de viscosidad en función del porcentaje de ASC16.

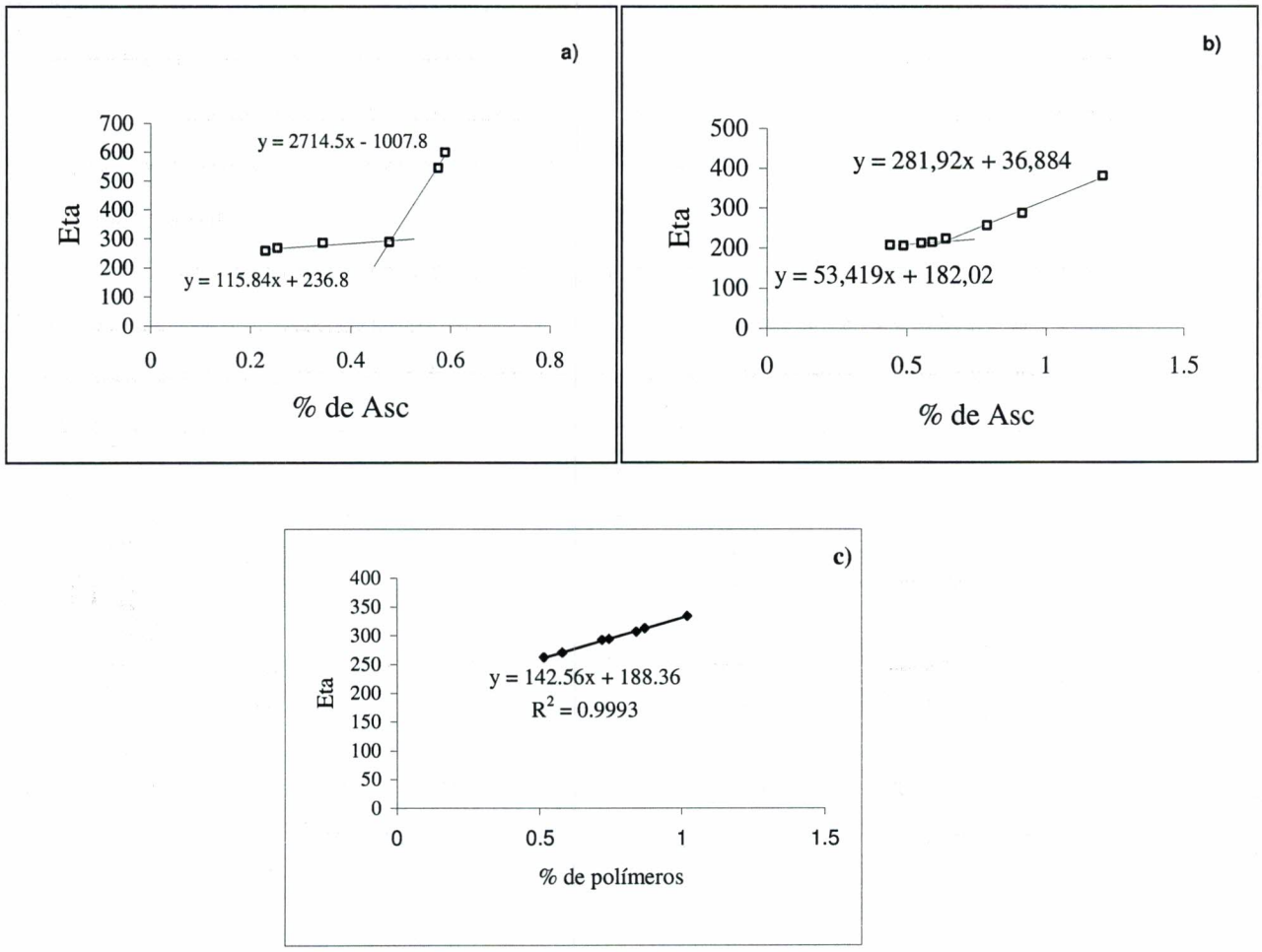


Figura 9.5: a) viscosidad en función del % de ASC16 para el gel D, b) viscosidad en función del % de ASC16 para el gel E y c) viscosidad en función del % de polímeros para el gel A.

Durante el primer período de remoción del agua, las concentraciones de los polímeros y del surfactante (ASC16) son suficientemente bajas para permitir que prevalezcan las interacciones intra-poliméricas. En estas condiciones la cantidad de ASC16 aún no es suficiente para promover las interacciones inter-poliméricas. Sin embargo hay un punto crítico de evaporación del solvente en donde el surfactante alcanza una concentración tal que comienza a facilitar la creación de uniones hidrofóbicas entre las diferentes cadenas poliméricas, dando lugar, a la formación de una red tridimensional más rígida lo que redunda en un considerable aumento en la viscosidad del sistema.

Resulta importante observar que para el gel D (45%) el porcentaje de agua es menor que para el gel E (59%), lo cual es debido a que en este último la concentración de ASC16 es mayor. Esto significa que la presencia del surfactante en el sistema es la razón de este comportamiento ya que la proporción %ASC16/%agua en el punto crítico para ambos geles es la misma (%ASC16/%agua = 0.011).

De esta forma la concentración de polímeros determina el valor de la viscosidad del gel, mientras que la concentración de ASC16 y agua determina los cambios de viscosidad a medida que el agua es removida del sistema.

9.5.3 Evaluación morfológica del sistema

Para la evaluación morfológica del sistema se utilizó la técnica de crio-fractura y de microscopía de transmisión eléctrica (Cryo-TEM). Esta técnica permite visualizar las estructuras conformacionales de los geles precursores de films a medida que el agua es removida del sistema. En la figura 9.6 se muestran las microfotografías obtenidas para los sistemas con diferente contenido de agua.

Es claro que la estructura de todos los sistemas es afectada por la cantidad de agua y la adición de PEG400 y ASC16. Asimismo, la "solubilización" de Nistatina es consecuencia de las proporciones relativas de PEG400 y ASC16.

Como se puede observar en la figura 9.6a (gel B), el gel constituido por CB, CMC-Na y Nistatina (50% de agua) presenta una estructura "laminar", en donde cada "lámina" está separada de la otra por la inserción de agua "libre". De la observación de esta estructura, sería de esperar la obtención de un film cristalino, quebradizo y frágil. Este comportamiento se condice con la prevalencia de las interacciones hidrofóbicas entre los

polímeros. CB es una resina polimérica entrecruzada y la adición de CMC-Na (polímero lineal) aumenta la posibilidad de entrecruzamientos físicos ("enredo" entre las cadenas de los polímeros). La remoción parcial de agua (figura 9.6b) encoge esta malla formada por los polímeros, produciendo una conformación tipo "bola de pelo enrollada" la cual es característica para polímeros como CB en estas condiciones.[161] En las figuras 9.6a y 9.6b se denota la presencia de Nistatina en forma de partículas sólidas, las cuales pueden ser observadas en la microfotografía como puntos negros (ver materiales y métodos). Este hecho es corroborado con la difracción de rayos X (ver más adelante en *films sección 9.6.2*).

Cuando PEG400 se incorpora al sistema (gel C, figuras 9.6c y 9.6d) un notable cambio en la estructuración del gel se produce, la red polimérica se vuelve más desordenada adoptando una conformación globular. Esta nueva conformación es consecuencia de la presencia del plastificante en el sistema, el cual produce una disminución en la Tg del polímero y por ende las cadenas poliméricas se vuelven más flexibles. La reducción del contenido de agua en este gel (figura 9.6d, 36% de agua) no afecta significativamente la conformación vista en la figura 9.6a (51% de agua). En ambos casos Nistatina permanece insoluble en el sistema, indicando que la adición del plastificante no tiene gran influencia en la solubilización del fármaco.

Las microfotografías del gel D (0.1 g de ASC16) corresponden a las figuras 9.6e y 9.6f. Desafortunadamente, dadas las condiciones del ensayo, no fue posible obtener una muestra de gel con un 50% aproximadamente de agua, para poder comparar con los anteriores. En la figura 9.6e se observa una configuración relativamente ordenada, esto puede ser causado por la gran cantidad de agua aún remanente en el sistema. Cuando el agua es removida, el sistema tiende nuevamente a formar una estructura tipo globular. La presencia de surfactante produce la formación de pequeños glóbulos, y se puede observar la presencia de estructuras vesiculares (figura 9.6f). Además, ASC16 aumenta la solubilización de Nistatina y consecuentemente solo unas pequeñas partículas del fármaco precipitado pueden observarse.

Finalmente, el incremento de ASC16 (gel E) acentúa este efecto en la estructura del gel. En las figuras 9.6g y 9.6h se puede observar que el tamaño de las unidades globulares

[161] BFGoodrich Specialty Chemicals. Carbopol. Technical Bulletin N°17. 1994

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

disminuye considerablemente y prácticamente no se observan partículas de Nistatina precipitada (ausencia de puntos negros característicos observados en la figura 9.6b), indicando que el fármaco podría estar solubilizado en el sistema. En la figura 9.6h, con bajo porcentaje de agua, se observa una estructura muy compacta.

9.6 Films

Con la caracterización completa de los geles precursores de films, se obtuvo información valiosa de como el sistema se va estructurando a medida que el proceso de casting se lleva a cabo. De esta forma se continúa con el estudio del film en cuanto a sus propiedades farmacéuticas.

9.6.1 Mucoadhesión "in-vitro"

Para realizar un análisis comparativo de los films, se realizaron los estudios de mucoadhesión *"in-vitro"* para los films A, C, D y E para evaluar la influencia de los distintos agregados (PEG400 y ASC16) en el sistema. Los resultados son mostrados en la figura 9.7.

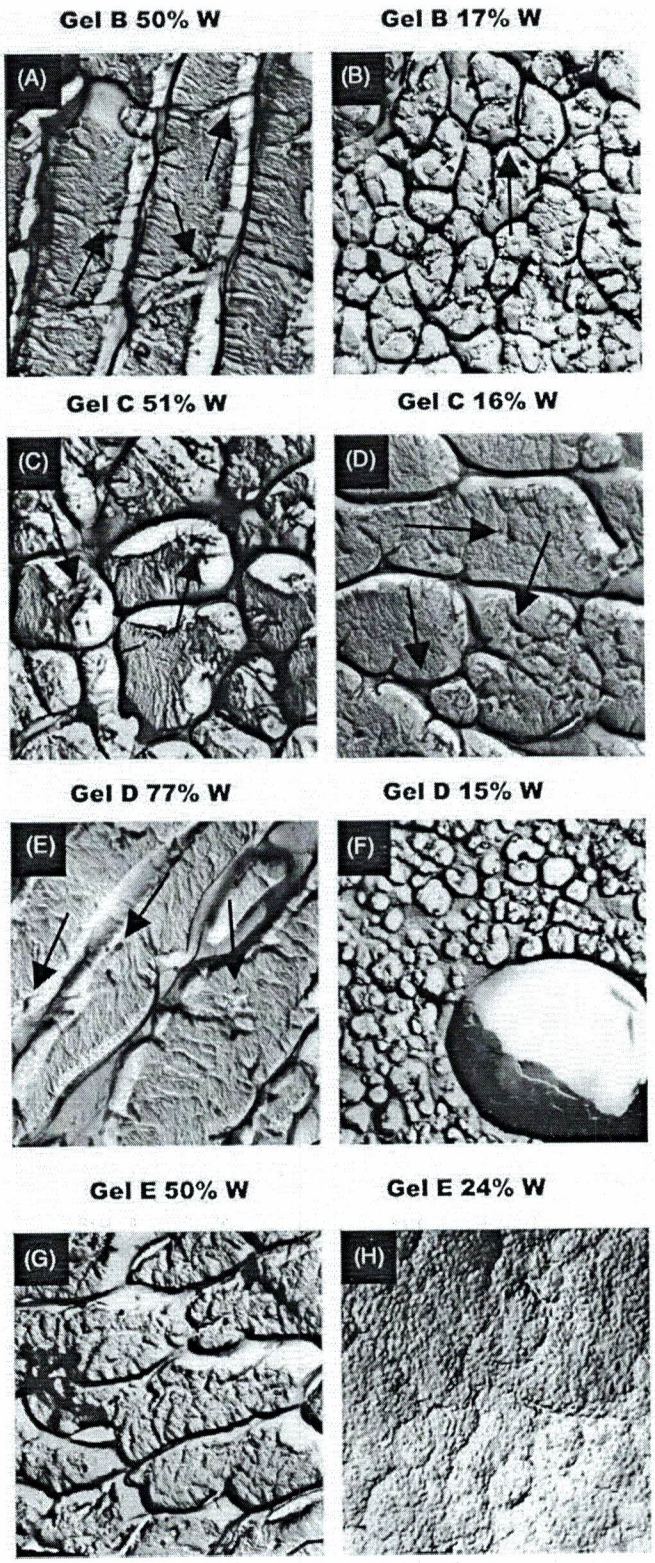


Figura 9.6: microfotografías obtenidas por Cryo-TEM para los distintos geles precursores del film. Aumento 18000 X.

El film A (CB:CMC-Na) mostró buenas propiedades de mucoadhesión. Sin embargo la incorporación de PEG400 (film C) y PEG400+ASC16 (film D) produjeron un aumento en la adhesión del sistema. Dicho aumento estaría relacionado al efecto plastificante de PEG400 en la red polimérica del sistema. Este efecto estaría acorde a lo postulado en la teoría de difusión, unas de las teorías que explican el proceso de bioadhesión.[162] La adición de plastificantes, disminuye las interacciones intra-catenarias, por lo que aumenta la relajación de las cadenas poliméricas. Como consecuencia de este aumento en la relajación, se ve también aumentada la posibilidad de interpenetración y "enredo" entre las cadenas que forman la red polimérica y las cadenas poliméricas de la mucina aumentando la posibilidad de formación de uniones bioadhesivas.

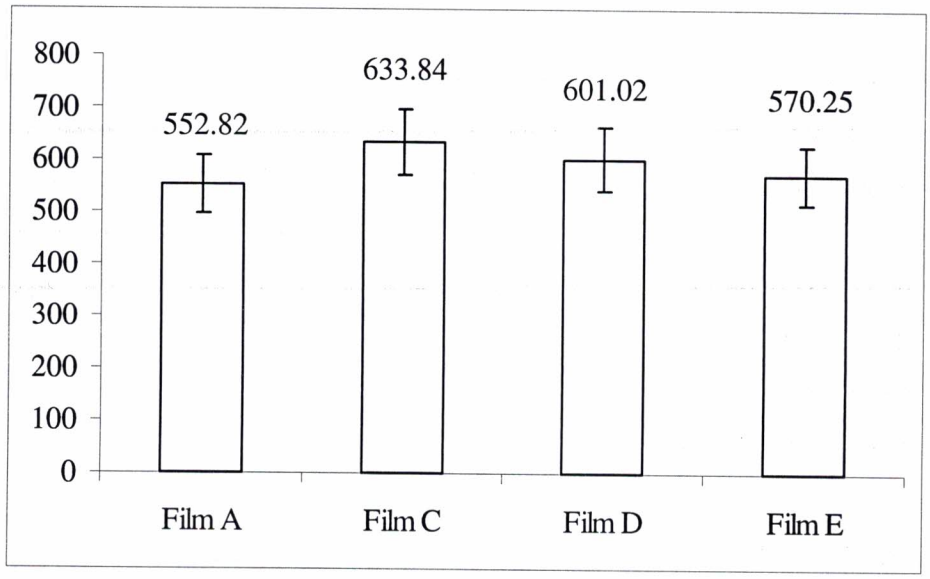


Figura 9.7: Mucoadhesión de los films A, C, D y E.

9.6.2 Evaluación del Estado de Nistatina en el Film.

En este tipo de formulaciones (films mucoadhesivos) la manera en que el fármaco es incorporado, puede influir significativamente en propiedades relevantes de la formulación como a) bioadhesión, b) resistencia mecánica, c) homogeneidad y d) cesión del fármaco al medio. Como se mencionara oportunamente, Nistatina es prácticamente insoluble en

[162]D.E., Chickering III and E., Mathiowitz. Definitions, Mechanisms, and Theories of Bioadhesion. En: Bioadhesive Drug Delivery Systems. New York, NY. Marcel Dekker Inc; pg. 1 1999

agua,[163] por lo que es de gran importancia la manera en la cual este fármaco es incorporado al sistema. ASC16 es conocido por sus propiedades surfactantes y es capaz de solubilizar grandes cantidades de fármacos hidrofóbicos dentro del tipo de agregado supramolecular que forma, denominado coagel.[164,165,166]

En el marco de este trabajo no se pudo determinar si Nistatina se encuentra molecularmente homogénea en la dispersión o está incorporada dentro de algún tipo de agregado supramolecular resultante de la interacción entre los polímeros, PEG400 y ASC16. Es por esto que en adelante se utilizará el término "dispersión homogénea" para referirse al estado del fármaco en el sistema. Para evaluar como se encuentra el fármaco en el film utilizamos XRPD, aprovechando que Nistatina posee claros patrones de difracción de rayos X. la muestra comercial que se utilizó para este trabajo de tesis, posee una señal intensa a los $2\theta=15.2°$, correspondiente al polimorfo tipo C.

En la figura 9.8 se muestran los difractogramas de los distintos films ensayados.

Sin embargo al analizar los resultados obtenidos, surgieron varios interrogantes *"...es esta señal que se visualiza en el gráfico evidencia de la presencia de Nistatina* y, si esa señal efectivamente corresponde a Nistatina, *es proporcional a la concentración del fármaco en el sistema...?"*

El primer interrogante planteado fue fácilmente dilucidado al realizar XRPD sobre los componentes por separado y sobre el film A (polímeros solos), un film compuesto por polímeros + plastificante, a un film constituido de polímeros + plastificante + ASC16 y al ASC16 solo. En la figura 9.9 se muestran estos difractogramas y resulta claro que estos componentes no poseen ninguna señal capaz de interferir con las de Nistatina.

[163]G.W., Michel. Nystatin. In: Florey, K. (Ed.), Analytical Profiles of Drugs Substances, vol. 6. Academic Press, New York, pp. 341–421. 1977

[164]S., Palma, A., Jiménez-Kairuz, L., Fratoni, P., Lo Nostro, R., Manzo and D., Allemandi. Coagels from 6-O-alkyl Ascorbic Acid Derivatives as drug carriers: Structure and rheology. Il Farmaco, 22(4) pg 305-12. 2003

[165]S., Palma, R., Manzo, P., Lo Nostro, L., Fratoni y D., Allemandi.Vehiculización de Antralina en coageles de n-alquil derivados del Ácido Ascórbico, Acta Farmacéutica Bonaerense, 22(4), pg. 305-12. 2003

[166]S., Palma, R., Manzo, D., Allemandi, L., Fratoni and P., LoNostro. Drugs Solubilization in Ascorbyl-Decanoate Micellar Solutions. Colloid and Surfaces A. 212 pg. 163-173. 2003

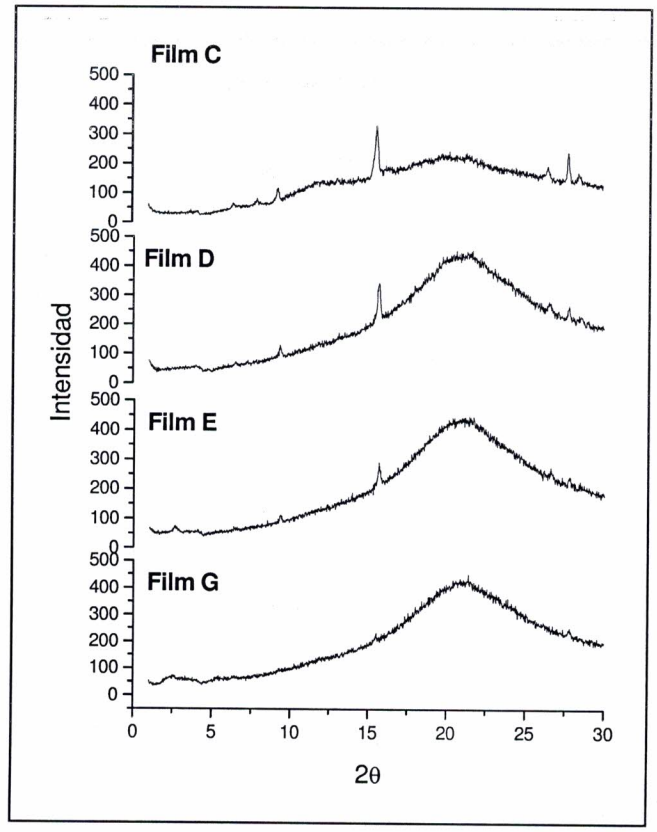


Figura 9.8: Difractogramas de rayos X para los distintos films.

Para responder al segundo interrogante planteado, se realizó una evaluación de la señal de Nistatina en función de su concentración en el sistema. Para esto se seleccionó el film C (polímeros+plastificante+Nistatina) como film modelo para realizar las diferentes experiencias. Esta elección se fundamenta en que este sistema posee adecuadas propiedades físico-mecánicas que permiten realizar un corte exacto del film para insertarlo correctamente en el porta-muestra del equipo de XRPD. El film B no pudo ser utilizado debido a su fragilidad, lo que dificulta un corte homogéneo del mismo. En la figura 9.10 se muestran los difractogramas del film C con concentraciones crecientes conocidas del fármaco y en la figura 9.11 se muestra un gráfico de intensidad de la señal en función de la concentración en el film, pudiendo observar una correlación directamente proporcional entre las dos variables.

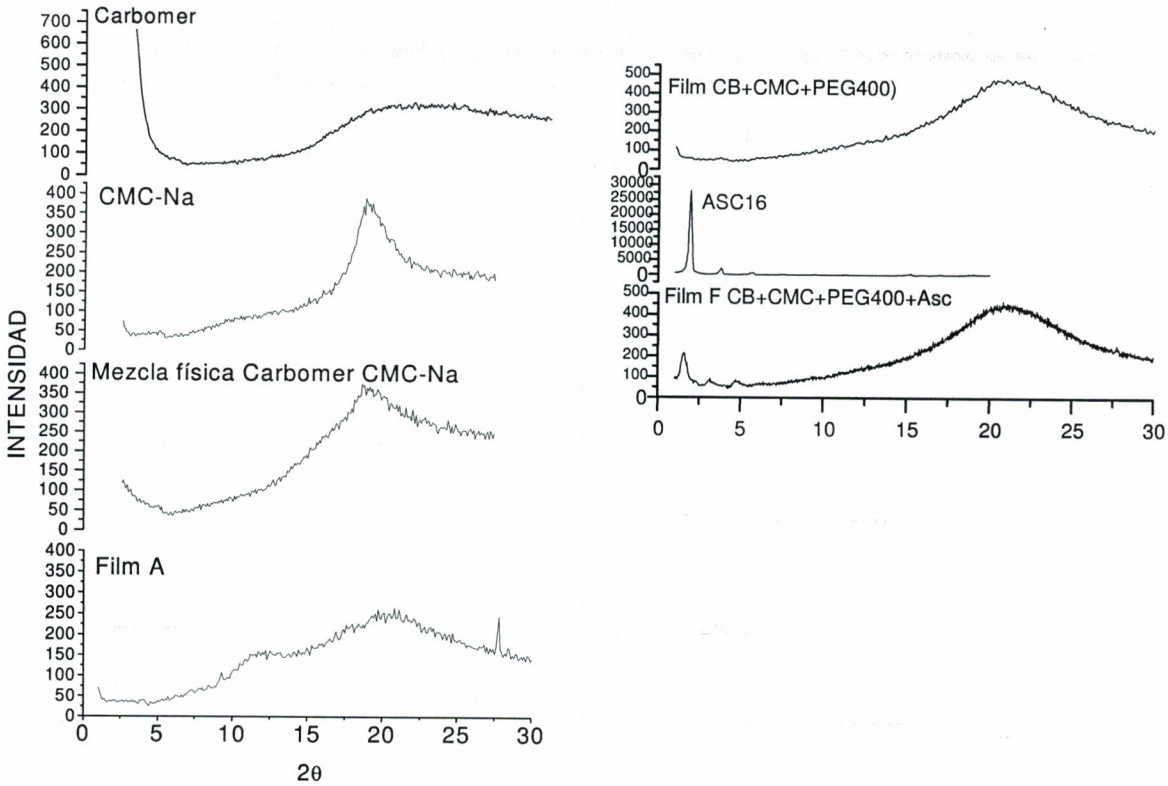


Figura 9.9: Difractogramas de rayos X para los distintos componentes.

El alto grado de correlación ($r^2 = 0,99$) indica que el aumento o disminución de la señal es un indicador cuantitativo de la presencia del fármaco en el sistema. Otro punto importante a considerar es el posible uso de esta técnica como técnica analítica para la cuantificación del fármaco presente en el sistema.

Resulta evidente que la intensidad de la señal correspondiente al fármaco disminuye cuando PEG400 y ASC16 son agregados al sistema y, teniendo en cuenta que los films son sistemas sólidos anhidros, se podría postular la teoría que la desaparición de la señal a $2\theta=15.2°$ implica que Nistatina es incorporada al sistema en forma de dispersión sólida amorfa. El efecto de PEG400 y el aumento de la concentración de ASC16 sobre la disminución de intensidad de la señal presenta un efecto acumulativo sobre la formación de la dispersión sólida de Nistatina.

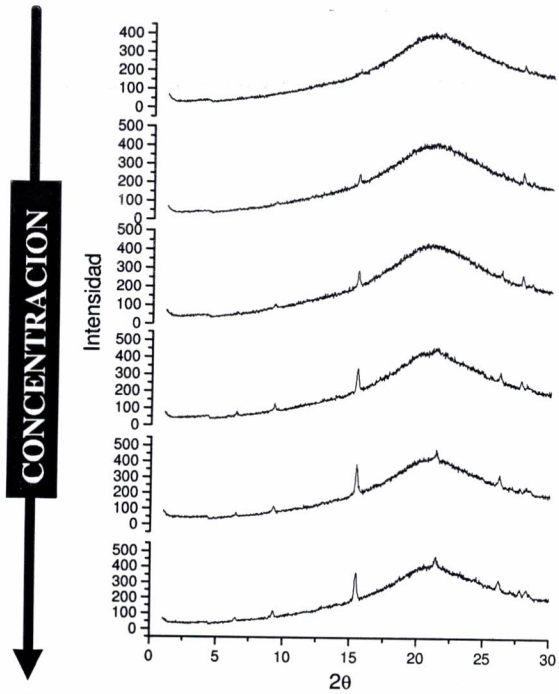


Figura 9.10: difractoramas film D con concentraciones crecientes de Nistatina.

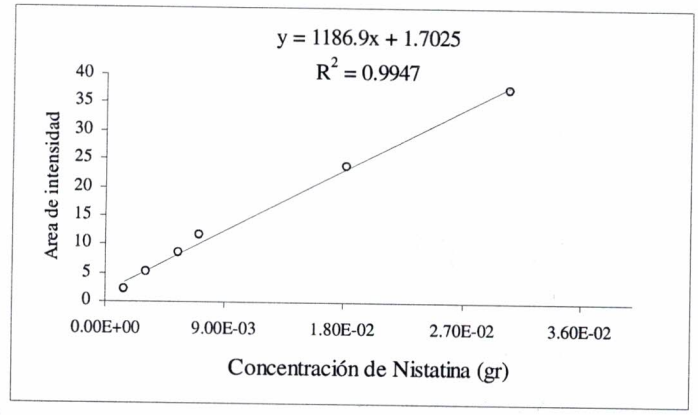


Figura 9.11: Concentración en función de la intensidad de señal.

De esta forma se observa como la cristalinidad de Nistatina, reflejada en la intensidad de la señal, disminuye en el orden: film B>film C>film D>film E, donde en el caso de este último, la señal es casi imperceptible.

9.6.3 Caracterización Morfológica del Film

Para la caracterización morfológica del sistema se recurrió a la Microscopía Electrónica de Barrido (SEM). En la figura 9.12 se muestran las microfotografías obtenidas para los distintos film (desde el film A al D).

El film A presenta una estructura laminar-rígida y una superficie totalmente lisa (figuras 9.12a y 9.12b).

Para el film B (figura 9.12c) se observa una estructura "laminar", lo que le confiere al sistema un alto grado de "cristalinidad", entendiéndose por cristalinidad, a un alto grado de ordenamiento espacial de los componentes del sistema. Este ordenamiento es que le confiere al film fragilidad. Este comportamiento es causado por la presencia de fuertes interacciones hidrofóbicas entre los polímeros y se correlaciona con lo observado en las

microfotografías obtenidas del gel precursor del film B (figura 9.6a y b). En las fotografías de la superficie (9.12d) de este mismo film se puede ver fácilmente partículas sólidas de Nistatina, lo cual se correlaciona con lo observado en el patrón de Rx para este film (figura 9.9).

Para el film C, la incorporación de PEG400 produce un marcado efecto de plastificación en el sistema, dando lugar a un film menos estructurado, reflejado en la microfotografía de la figura 9.12e. La imagen de la superficie de este sistema (figura 9.12f) muestra una estructura globular y también pueden verse partículas sólidas de Nistatina dispersas en la superficie, lo que indica que la presencia de PEG400 solo cumpliría una función plastificante del sistema y ayudando parcialmente en la formación de la dispersión homogénea del fármaco. Como se observara anteriormente, cuando el film C fue sometido a XRPD la intensidad de la señal era menor a la del film B. (figura 9.9).

La adición de ASC16 (0,1 gr, film D) (figuras 9.12g y 9.12h) produce un film con la misma estructura "desordenada" y globular que el anterior sistema, pero en la superficie la densidad de partículas sólidas de Nistatina es menor, acorde con los observa en la difracción de Rx de este mismo sistema (figura 9.9) en donde la intensidad de la señal es bastante menor. Finalmente, un aumento en la concentración de ASC16 (0.2 gr, film E) produce un film con estructura similar al film D, pero con estructuras globulares de menor tamaño (9.12i y 9.12j).

9.6.4 Liberación de Nistatina

Es conocido que la presencia de surfactantes en formas farmacéuticas sólidas, normalmente, produce un aumento en la velocidad de disolución del fármaco. ASC16 ejerce este efecto en los films D y E.

De la comparación de los perfiles de liberación mostrados en la figura 9.13a y 9.13b (perfil y velocidad de disolución respectivamente), resulta claro que ambos films (D y E) poseen una velocidad de liberación de Nistatina mayor que los films B y C. También se evidencia que la presencia de PEG400 no produce efecto alguno sobre la disolución de Nistatina, ya que el perfil de disolución y la velocidad de disolución de ambos sistemas es prácticamente igual.

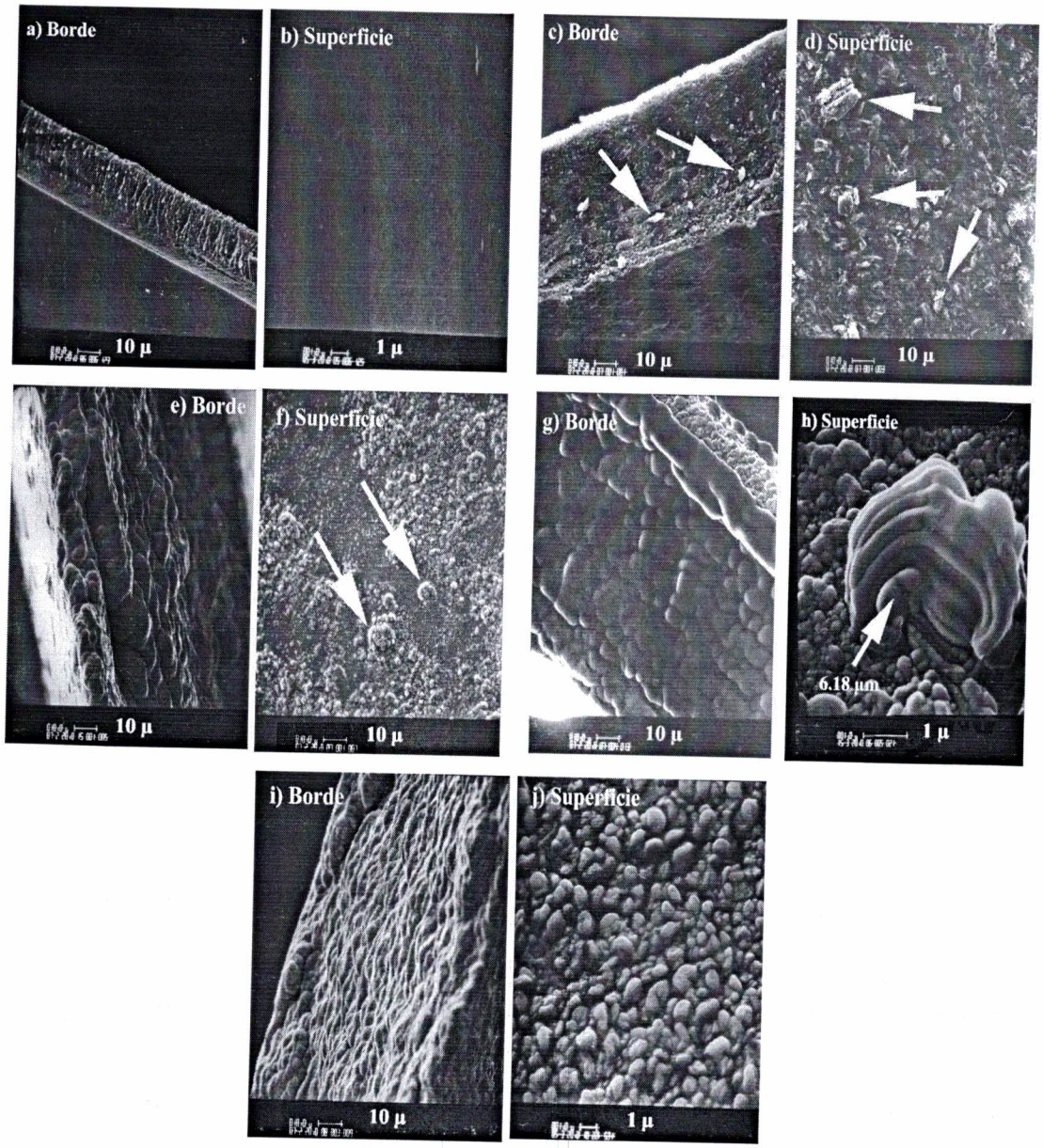


Figura 9.12: Microfotografías obtenidas por SEM para los distintos films.

En función de los resultados obtenidos hasta el momento, se puede concluir que ASC16 produce un aumento de la velocidad de disolución mediante dos mecanismos principales. Por un lado favorece la formación de una dispersión sólida homogénea de Nistatina, lo cual es una ventaja en términos de velocidad de disolución, comparada con su forma

cristalina y en segundo lugar, provoca una mayor mojabilidad del sistema, facilitando así la penetración del medio de disolución y la consecuente disolución del fármaco. Resultados similares para este tipo de sistemas se han descrito en bibliografía[167].

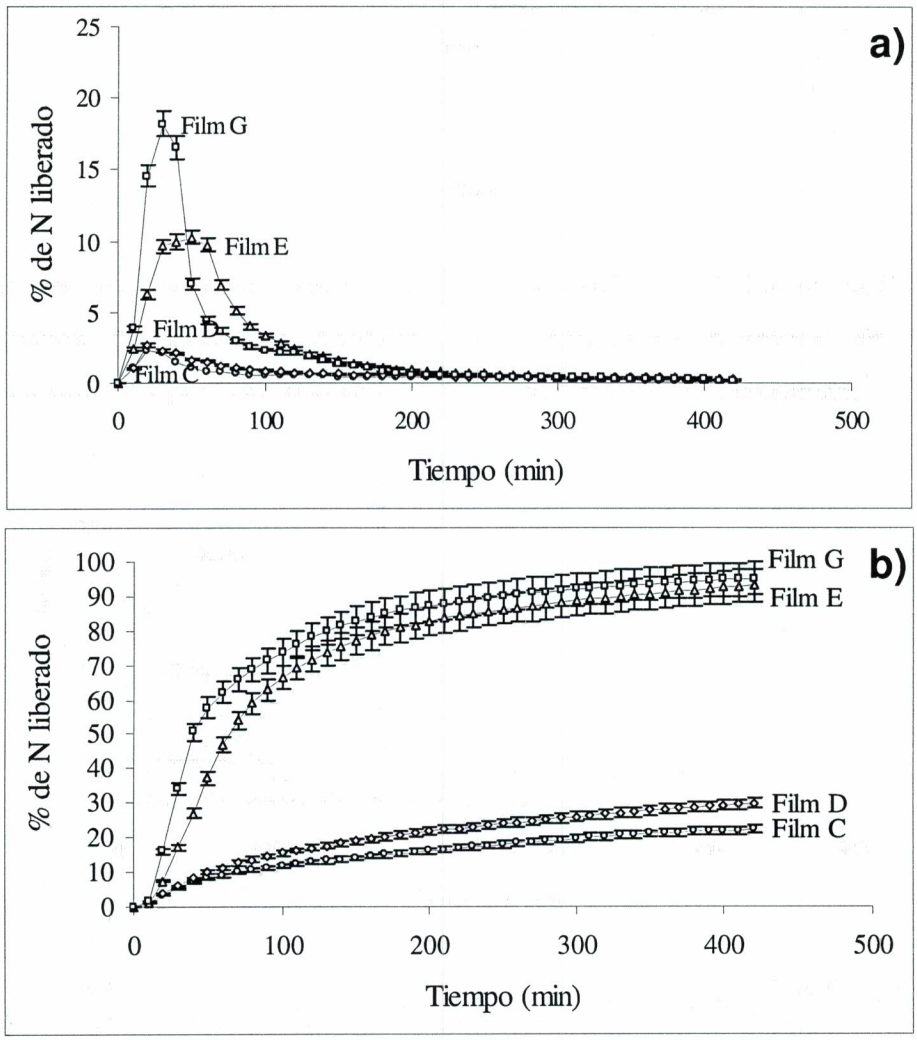


Figura 9.13: a) perfil de disolución desde films b) velocidad de liberación desde films G(€), E(Δ), D(◊), C(○).

De esta forma, se puede concluir que los films obtenidos cumplen satisfactoriamente con los requerimientos planteados en la etapa farmacéutica, presentando adecuadas propiedades bioadhesivas y de liberación de fármaco. Los films E y G fueron los que

[167]S., Okonogi and S., Puttipipatkhachorn. Dissolution improvement of high drug-loaded solid dispersion. AAPS PharmSciTech 7 (2) Article 52. 2006

presentaron mejor comportamiento biofarmacéutico lo cual los convierten en candidatos para estudios clínicos posteriores.

10. CONCLUSIONES

10.1 Acerca de los sistemas obtenidos

Las conclusiones del presente trabajo se pueden dividir en dos partes, relacionadas a los sistemas obtenidos: comprimidos y films

Con respecto al SBAF en forma de comprimido se puede resumir:

1. Propiedades farmacéuticas
   - Los sistemas desarrollados bajo la forma de comprimidos cumplen con los parámetros farmacéuticos fijados al inicio de este trabajo de tesis en relación a:

   Fuerza de adhesión: Como se indicara en el capítulo de materiales y métodos, la medida de la fuerza de adhesión *"in-vitro"* no es indicativa de lo que pudiera suceder *"in-vivo"*, sin embargo este test nos permitió comparar entre las diversas alternativas de formulación para que en su momento pudiéramos discernir cual era la mejor opción. La evaluación de distintos polímeros y sus combinaciones nos permitió seleccionar la mezcla CB:CBNa 1:1 como la de mejor comportamiento en cuanto a fuerza de adhesión. Esta combinación de polímeros fue utilizada como componente de la matriz para el diseño de comprimidos bio/mucoadhesivos.

   Liberación del fármaco: este test nos permitió determinar la forma en que el sistema liberaba Nistatina al medio. No solo se observó que mantenía la concentración del activo en saliva (por encima de la CIM) por un período de tiempo considerable (aproximadamente 5 horas), sino que también nos permitió estudiar el mecanismo por el cual la matriz cedía el fármaco, comprobando, juntos con los ensayos de sorción de líquidos y frentes de solvente, que el mecanismo de liberación depende de la composición del comprimido (CB-CBNa o CBL-CBNa). A través de modelos matemáticos se pudo observar que el mecanismo de liberación sufría un cambio en función

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

del tiempo pasando de un mecanismo anómalo (proceso gobernado por la difusión del fármaco y la relajación del polímero) a un mecanismo de tipo super caso II (producido por un efecto extra de plastificación que provoca una reducción en las fuerzas atractivas entre las cadenas poliméricas lo que incrementa la movilidad de las macromoléculas).

2. Propiedades biofarmacéuticas

   - Como se planteó en el capítulo *racionalidad en el diseño de sistemas bioadhesivos*, las experiencias tendientes a evaluar las propiedades biofarmacéuticas de los SBAF fueron realizadas por el grupo de investigación liderado por el Dr. Fabián L. Femopase de la Cátedra de Estomatología II de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, pudiendose determinar parámetros como:

     Sitio de aplicación: parámetro importante para determinar el mejor sitio dependiendo de la comodidad del paciente, facilidad de aplicación, etc. Se observó que el mejor sitio es la mucosa yugal, principalemente por la accesibilidad y comodidad que este lugar posee.

     Parámetros organolépticos: los conocimientos aportados por los estudios nos permitieron de alguna manera cuantificar las sensaciones que sentiría un potencial paciente al aplicarse este sistema; no solo desde el punto de vista del sabor o la comodidad, sino describiendo todos los efectos que producía el sistema en el sitio de aplicación (sensación de hinchamiento, rugosidad en la zona de aplicación, etc). La reducción del tamaño del comprimido mejoró la comodidad para el paciente y la adición de edulcorante permitió enmascarar el sabor desagradable de Nistatina.

     Efectos adversos: como en toda forma farmacéutica, se evaluaron los efectos adversos del comprimido, pudiendo determinarse que la aparición de ciertos efectos no esperados (quistes mucoides, sensación de brida, etc.) eran reversibles en el término de 24 horas.

     Efectividad clínica: en este ensayo se demostró que el sistema desarrollado permite una reducción importante de la dosis necesaria para el

mantenimiento de la concentración de fármaco del rango mínimo terapéutico (1/6 de la dosis); el tratamiento con orabase es de 100.000 UI de Nistatina 4 veces/día y la nueva formulación son aproximadamente 30.000 UI 2 veces al día; y aportando una mayor comodidad para el paciente ya que la aplicación es solo dos veces por día.

Con respecto al SBAF en forma de films se puede resumir:

1. Propiedades farmacéuticas:
   - El estudio *"in-vitro"* de la formulación desde el punto de vista químico, físico-químico y físico-mecánico fue de gran utilidad para adquirir conocimientos del sistema bajo estudio:

Gel: la evaluación de las propiedades del gel precursor del film nos permitió comprender el proceso de estructuración el sistema hasta llegar al film mucoadhesivo final, brindándonos información del efecto de la incorporación de plastificantes y surfactantes en un sistema tan complejo.

Films: se obtuvo una formulación con adecuadas propiedades bioadhesivas y físico-mecánicas (flexibilidad y resistencia). El agregado de un surfactante como ASC16 permitió la incorporación de un fármaco poco soluble (Nistatina) en forma homogénea optimizando las propiedades de liberación. Esta estrategia puede ser utilizada para el mejoramiento de formulaciones de drogas de baja solubilidad.

10.2 Acerca de la experiencia adquirida

El objetivo principal fue el de obtener formulaciones bio-mucoadhesivas para la administración de fármacos por vías alternativas, es por esto que basamos nuestra investigación en un sistema portador de fármacos, *no en un nuevo fármaco ni en la búsqueda de una nueva entidad bioactiva para el tratamiento de alguna patología.* De esta manera, se estudiaron los sistemas apuntado a una patología específica (candidiasis bucal) y con un fármaco específico (Nistatina).

Sin embargo, más allá de los resultados obtenidos a partir de este trabajo de tesis, resulta sumamente interesante el background de información adquirido sobre el diseño, evaluación y formulación de los sistemas bioadhesivos como portadores de fármacos, lo

que nos permite tener conocimientos básicos[168,169,170,171,172]y experiencia de laboratorio para continuar con los estudios sobre estos sistemas, ya que la formación adquirida durante este trabajo de investigación otorgó gran experiencia y conocimiento en cuanto a:

- Mecanismos de adhesión
- Mecanismos de
  - Absorción de fluidos
  - Interacción matriz-medio biológico
  - Liberación de fármacos desde matrices poliméricas
- Métodos de manufactura de comprimidos
- Métodos de manufactura de films
- Métodos de caracterización de sólidos, morfológicos, etc
- Gran experiencia en el manejo de metodología analítica para la cuantificación de fármacos en fluidos biológicos.

10.3 Acerca de las perspectivas del presente trabajo

A corto plazo, se planea concluir con los estudios tendientes a evaluar la efectividad clínica de los comprimidos. Con respecto a los films, comenzar con los estudios de efectividad clínica, comparando los resultados obtenidos con los comprimidos.

Además existen una serie de patologías en las que, por sus características, la utilización de sistemas mucoadhesivos puede presentar ventajas fármaco-terapéuticas importantes.

---

[168] J.M., Llabot, R.H., Manzo, D.A., Allemandi. "Double-Layered mucoadhesive tablets containing Nystatin" AAPS PharmSciTech 2002; 3 (3) article 22 pp 1-6

[169] J.M., Llabot, R.H., Manzo, D.A., Allemandi "Drug release from combined Carbopol:Carbopol sodium salt matrices with potential use as mucoadhesive drug delivery system". Int. J. Pharm.276, 1-2, pg. 59-66 2004.

[170] A.F., Jimenez-Kairuz, J.M., Llabot, D.A., Allemandi, R.H., Manzo. "Swellable drug-polyelectrolyte matrices (SDPM): Characterization and delivery properties". Int. J. Pharm. 288, 1, pg. 87-99, 2005.

[171] J.M. Llabot, S.D. Palma, R.H. Manzo and D.A. Allemandi, Design of novel antifungal mucoadhesive films: Part I. Pre-formulation studies. Int. J. Pharm, 330, 1-2, pg. 54-60. 2007.

[172] J.M. Llabot, S.D. Palma, R.H. Manzo and D.A. Allemandi Design of novel antifungal mucoadhesive films: Part II. Formulation and *"in-vitro"* biopharmaceutical evaluation. Int. J. Pharm. Artículo en prensa. doi:10.1016/j.ijpharm.2006.12.001

Tratamientos para combatir el hábito de fumar: el tabaco es la principal causa de muertes prevenibles, enfermedades y discapacidades en el mundo, alrededor de 5 millones de personas mueren por año a causa de esta adicción, sin mencionar el gasto que esto ocasiona.

En la actualidad el tratamiento farmacológico para dejar de fumar (terapia de reemplazo de nicotina) consta con un amplio número de formulaciones que se pueden agrupar en 2:

Grupo A: productos que liberan rápidamente una dosis de nicotina para satisfacer los requerimientos de nicotina (chicles con nicotina) y

Grupo B: productos diseñados para lograr una cesión controlada de nicotina para mantener concentraciones constantes del fármaco (parches trandérmicos). Investigaciones recientes sugieren que para un tratamiento efectivo en la terapia de reemplazo de nicotina se deben utilizar ambos grupos combinados, lo que aumenta los costos del tratamiento y la disminuye a la adherencia del tratamiento por parte del paciente[173]. Es así que surge la necesidad de una única formulación que cumpla con las exigencias de este tipo de patología. De este modo la administración de nicotina a través del uso de sistemas biodhesivos para la cavidad bucal resulta sumamente interesante.

Administración de péptidos y proteínas por vía oral[174]: este es un tópico ampliamente estudiado, en donde convergen dos tendencias, a) aceptabilidad de la vía por parte del paciente y b) evitar la alta metabolización de estos fármacos (capitulo 1, sección 1.2.3).

Como estos ejemplos, existen numerosos casos que necesitan el desarrollo de nuevas estrategias tecnológicas para su correcta formulación. Existen fármacos que poseen excelentes propiedades de absorción en el tracto gastrointestinal (TGI), sin embargo existen otros que muestran ciertas deficiencias. El Sistemas de Clasificación Biofarmacéutica, introducido por la FDA en 1995, categoriza a los fármacos en términos de su solubilidad y permeabilidad intestinal en 4 clases. Los fármacos Clase I poseen buena permeabilidad y buena solubilidad, por lo que se puede predecir una buena absorción por el TGI. Por otro lado existen otros fármacos (Clase II y IV) que poseen baja solubilidad, baja permeabilidad o ambos. En estos casos la absorción de los

[173] A., Bohanada, F., Nilsson, T., Martinet. Nicotine inhaler and nicotine patch as a combination therapy for smoking cessation: a randomised, double blind, placebo controlled trial. Arch. Int. Med.. 160, 20 pg. 3128-3134. 2000.

[174] W-C, Shen. Oral peptide and protein delivery: unfulfilled promises?. DDT, 8, 14. pg. 607-608. 2003.

fármacos se torna impredecible[175]. Dentro de esta clase se pueden citar: furosemida, griseofulvina, nifedipina, ritonavir, trimetropima, acetazolamida[176], entre otros.

Con respecto a las distintas patologías, se pueden citar: periodontitis, aplicación local de AINE´s para lesiones (aftas, lesiones pre-cancerosas), aplicación local de antibióticos en caso de extracciones u otras lesiones[177,178]. A nivel de otras rutas de administración vaginal: para administración sistémica en el tratamiento de reemplazo hormonal (progesterona, estrógenos)[179], osteoporosis post-menstrual (calcitonina), tratamiento de tumores mamarios hormona-dependiente (LH-RH), etc.; Ocular: diseñando films para administración tópica de pilocarpina[180,181]

[175] S. S. Davis. Formulation strategies for absoption Windows. Drug Discovery Today. 10, (4), 249-257, 2005

[176] M. Lindenberg, S. Kopp, J. B. Dressman. Classification of orally administered drugs on the world health organization model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. European journal. of pharmaceutics and biopharmaceutics. 58, 265-278, 2004

[177] D.S. Jones, A.D. Woolfson, A.F. Brown, W.A. Coulter, C. McClelland and C.R. Irwin, Design, characterisation and preliminary clinical evaluation of a novel mucoadhesive topical formulation containing tetracycline for the treatment of periodontal disease, J. Control. Release 67, pg. 357–368. 2000.

[178] D.S. Jones, A.D. Woolfson, J. Djokic and W.A. Coulter, Development and mechanical characterization of bioadhesive semi-solid, polymeric systems containing tetracycline for the treatment of periodontal diseases, Pharm. Res. 13, pp. 1734–1738, 1996.

[179] C. Valenta, C. Kast, I. Harich and A. Bernkop-Schnürch, Development and *"in-vitro"* evaluation of a mucoadhesive vaginal delivery system for progesterone, J. Control. Release 77, pg. 323–332. 2001.

[180] C. Bucolo, A. Spadaro and S. Mangiafico, Pharmacological evaluation of a new timolol/pilocarpine formulation, Ophthalmic Res. 30, pg. 101–108. 1998

[181] S.D. Desai and J. Blanchard, Evaluation of Pluronic F 127-based sustained-release ocular delivery systems for pilocarpine using the albino rabbit eye model, J. Pharm. Sci. 87, pg. 1190–1195. 1998

1. Anexo I

Protocolo del estudio de determinación de perfiles *"in-vivo"* presentado ante el CIEIS

A.1 Ensayo Clínico para la Evaluación del Perfil de Liberación de Nistatina (Biodisponibilidad) desde Comprimidos Mucoadhesivos de Aplicación en la Cavidad Bucal

A.1.1 Introducción:

El presente protocolo de ensayo clínico se enmarca en el proyecto de tesis del Farm. Juan Manuel Llabot "Diseño y Evaluación de Nuevos Sistemas Bio/Mucoadhesivos para Administración de Drogas por Vías Alternativas", el cual se está llevando a cabo en el Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba bajo la dirección del Dr. Daniel A. Allemandi.

El ensayo consiste en la evaluación de un tratamiento tópico en la cavidad bucal utilizando Nistatina, fármaco que se utiliza para el tratamiento de afecciones bucales causadas por *Candida Albicans,* formulada en un comprimido mucoadhesivo de aplicación en mucosa yugal.

El objetivo es la determinación del perfil de liberación de Nistatina en el tiempo mediante el análisis de su concentración en muestras de saliva.

El ensayo se realiza en voluntarios sanos utilizando un fármaco de uso corriente para la indicación que se aborda.

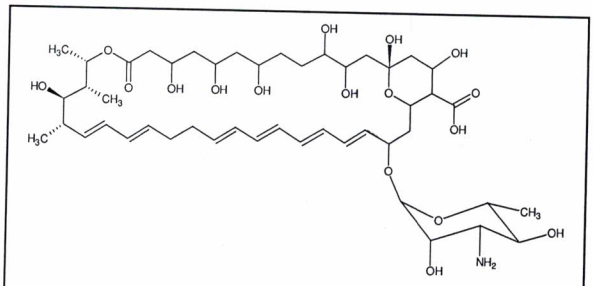
Dado que se estudia un acción tópica, de un fármaco de muy baja absorción sistémica por vía gastrointestinal, proceso este asociado a la natural deglución de saliva durante el ensayo, el mismo puede calificarse como de muy bajo riesgo para los voluntarios.

A.1.2 Información General:

Nistatina es un agente poliénico, fungistático y fungicida de uso tópico (producido por *Streptomices noursei*). Su absorción sistémica es baja o nula tanto en el tracto gastrointestinal como en la mucosa bucal por lo que es excretada por heces como fármaco

inalterado. Su modo de acción: afecta la permeabilidad de las membranas celulares del hongo (candida) por unión a los esteroles de la misma, mayormente al ergosterol. Nistatina es indicada para el tratamiento de candidiasis en niños y adultos. Esta infección por candida puede ser cutánea, vaginal, oral, etc. para tal fin se vehiculiza el fármaco en pomadas, cremas, geles, entre otros. La dosis usual es de 100.000 UI, en casos excepcionales puede llegar a 500.000 UI, 4 veces al día.

A.1.3 Propiedades Físico-Químicas de Nistatina



Fórmula química de Nistatina

- Fórmula molecular: $C_{47}H_{75}NO_{17}$
- Aspecto físico: polvo amarillo claro
- Clasificación ATC: D01AA01
- Clasificación CAS: 1400-61-9
- Propiedades físico-químicas:
  - Punto de fusión: 250°C
  - PM: 926,13
  - Solubilidad: es muy poco soluble en agua, prácticamente insoluble en etanol, cloroformo y eter, ligeramente soluble en metanol y altamente soluble en dimetil formamida
  - CIM: ≈ 0,78 a 1,5 µg/ml

A.1.4 Problema (Razones para su Ejecución)

En la actualidad el tratamiento contra Candida Albicans en la cavidad bucal se realiza con formulaciones de liberación inmediata que contienen Nistatina como geles, soluciones, suspensiones, comprimidos de disolución orales, etc. (de 100.000 a 500.000 UI).

El tratamiento de la candidiasis demanda aproximadamente 21 días, lo que obedece al escaso tiempo de permanencia de las formulaciones (15 minutos) en el sitio de acción (mucosa bucal) e influye negativamente en el cumplimiento de la prescripción por parte del paciente.

En este trabajo se propone evaluar una nueva forma farmacéutica (FF) desarrollada en nuestro laboratorio que contiene Nistatina, con capacidad para adherirse a la mucosa

bucal alrededor de 4 horas y de liberar al principio activo (PA) en forma sostenida durante este tiempo. Esta formulación potencialmente permitiría disminuir la duración del tratamiento, aumentar el cumplimiento por parte del paciente como así también disminuir la dosis administrada.

A.1.5 Objetivos

Determinar la biodisponibilidad (BD) del PA contenido en una FF, mediante mediciones de la concentración del PA en saliva en función del tiempo, en voluntarios sanos. Este ensayo se realiza sin fines de comparación con el objetivo de determinar el perfil de liberación del PA en la cavidad bucal. La información que se obtiene es de utilidad para la evaluación de la eficacia clínica de la FF, ensayo clínico planeado como paso siguiente al presente.

A.1.6 Formulación a Estudiar

Comprimidos muco-adhesivos conteniendo Nistatina para el tratamiento tópico contra *Candida Albicans*.

Los comprimidos contienen:

Carbomer Sódico/Carbomer	86% (50% CBNa + 50% CB)
Nistatina	10% (10 mg ≈ 1/3 de la dosis utilizada)
Cab-O-Sil	2%
Sacarina Sódica	1%
Estearato de Mg.	1%

A.1.7 Antecedentes

A.1.7.1 Resultados in-vitro de la Formulación a Ensayar

PA: Nistatina

- FF: Comprimido mucoadhesivo
    - Fuerza de adhesión *in-vitro*

      Uno de los primeros ensayos *in-vitro* sobre estos sistemas consiste en la evaluación la adhesión de los mismos sobre un sustrato que imita la mucosa. En este caso se utilizó un gel de mucina al 30% en donde se adhiere el comprimido y se mide la fuerza necesaria para despegarlo (fuerza de

adhesión). El experimento mostró que los comprimidos se adhirieron con facilidad , con una fuerza de adhesión de aprox. 200 gr/cm^2.

- Disolución del PA *in-vitro*

Se estudió el perfil de liberación de la formulación. El ensayo mostró que el fármaco es liberado desde la formulación en forma sostenida durante al menos 5 horas. Los niveles de fármaco fueron en todo momento superiores a la CIM (Figura A.1).

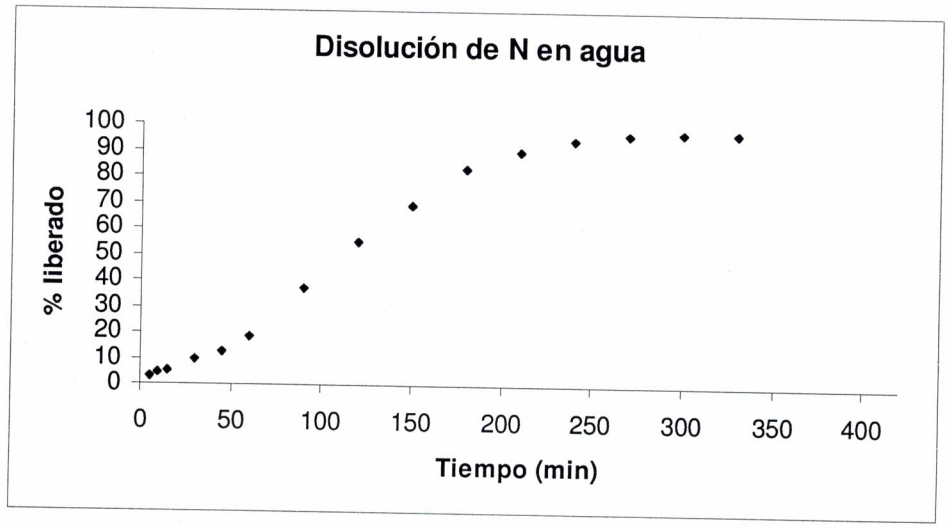


Figura A1: Disolución *in-vitro* de Nistatina

A.1.8 Diseño del Estudio

- La fase de investigación clínica en la cual se lleva a cabo el estudio es la Fase III debido a que tanto el fármaco como la indicación a evaluar han sido aprobados previamente. El estudio será unicéntrico y prospectivo. Se administrará una única dosis de la formulación y se evaluará la concentración obtenida en saliva el período de tiempo que el comprimido permanezca adherido a la cavidad bucal más los 30 minutos posteriores al despegue del mismo mediante muestras tomadas en intervalos de tiempo predeterminados. El estudio se llevará a cabo en la Clínica Odontológica, perteneciente a la Facultad de Odontología de la UNC, donde se harán los odontogramas respectivos y se admitirán los voluntarios al estudio. Luego de la inclusión, el resto del estudio se desarrollará en el

Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNC bajo la supervisión de la Dra.Ruth S. Ferreyra.

- Personal responsable del ensayo:
    - Patrocinador/Director: Dr. Daniel Allemandi
    - Investigador analítico y de procesamiento de datos: Dra., María E. Olivera, Farm. Juan M. Llabot,
    - Investigador principal: Ruth Ferreyra.
    - Monitor: Farm. Juan M. Llabot

A.1.9 Tratamiento

- Descripción del período de tratamiento, de la dosis, forma y vía de administración.
    - Los voluntarios se colocarán 1 comprimido de una dosis de 10 mg de Nistatina de la formulación asignada., 1 vez al día. El tratamiento será de solo 1 día.
    - La administración del comprimido se deberá realizar como se describe en "*consentimiento informado y hoja de información al paciente*"
- Descripción de los métodos de conservación y almacenamiento de la FF en estudio.
    - Mantener los comprimidos en los blisters, a temperatura ambiente y al resguardo de la luz.

A.1.10 Obtención y Manipulación de la Muestra

- Matriz: saliva.
- Recolección de muestra: el voluntario deberá salivar en un vial (debidamente rotulado) tratando de recolectar la mayor cantidad de muestra posible siguiendo las pautas marcadas en *consentimiento informado y hoja de información al paciente (administración y toma de muestra)*
- Rotulado de la muestra: el vial donde es recolectada la muestra estará rotulado con las iniciales del nombre y apellido del voluntario y un número a continuación

BIBLIOTECA DE CIENCIAS QUIMICAS

indicando los minutos transcurridos desde el inicio del tratamiento (tiempo 0) hasta la toma de la muestra. Ejemplo:

muestra a los 5 min. **JML 5´**
15 min. **JML 15´**
30 min. **JML 30´**

- Conservación de la muestra recolectada: la muestra deberá ser llevada al frezzer inmediatamente después de ser recolectada hasta el momento de ser procesada. Estudios de estabilidad realizados previamente mostraron que la conservación de esta matriz es optima a la temperatura del freezer.
- Para el procesamiento de las muestras, las mismas serán descongeladas a temperatura ambiente, desproteinizando con el agregado de una parte de una mezcla de acetonitrilo y metanol (1:1). Luego de centrifugar y filtrar las muestras se inyectan en el cromatógrafo.

A.1.11 Método Analítico

Sistema Cromatográfico:

Sistema Brezee que consiste en bomba binaria waters (Waters 1525 pump), autosampler (Waters 717 plus autosampler), horno para termostatizar columnas (Waters 1500 series column heater), detector de fluorescencia (Waters 2475 multy λ Fluorescence detector (λ_{ex} 290 nm, λ_{em} 410 nm)) y un detector de fluorescencia (Waters 2996 Photo Array Detector (PDA)). La longitud de onda 305,6 nm. Se utilizó una columna fase reversa C_{18} (250 x 4,6 mm I.D., 100 Å, con un tamaño de partícula de 10 µm, Phenomenex) y precolumna (SecurityGuard).

La fase móvil consiste en metanol-agua-nn dimetilformamida (MeOH-H_2O-n-n-DMF) 70-20-10. Elusión isocrática a 25 °C con un flujo de 0,8 ml/min.

Estudios previos mostraron que la muestra es estable luego de ciclos de congelamiento descongelamiento y una vez descongelada se mantiene inalterada por al menos 5 horas, lo que da un tiempo suficiente para su cuantificación por el método analítico seleccionado.

Este método analítico ha sido validado para ser aplicado en este estudio, resultando en un método robusto y confiable. Los componentes de la saliva no interfieren con la señal de Nistatina. El método es lineal en el intervalo de concentración de 0,1 µg/ml a 50 µg/ml.

A.1.12 Tratamiento de Datos

- Los datos obtenidos serán analizados graficando
  - Concentración promedio Vs Tiempo
  - Log de concentración promedio Vs Tiempo
- Así también se evaluará el ABC^{0}_{t}, Concentración máxima (Cmax), Tiempo máximo (Tmax), Tiempo medio de residencia (MRT),variación interindividuo y el intervalo de tiempo en que se tiene concentración de Nistatina efectiva para la indicación evaluada, etc.

A.2 Declaración del Investigador a Cumplir, Principios Éticos Vigentes y Guías de Buenas Prácticas Clínicas

A.2.1 Aspectos Éticos

- El estudio a realizar es compatible con la Declaración de Helsinki.
- Cada voluntario deberá aceptar el tratamiento asignado y firmar el consentimiento informado de participación.
- Todo cambio sustancial del protocolo deberá ser asentado por escrito, firmado y fechado por quien los haya determinado.
- Cada voluntario tendrá libertad de retirarse del ensayo, en cualquier etapa del mismo, sin necesidad de manifestar la causa.
- En el presente estudio, la participación de los voluntarios, no implicará gastos ni erogaciones económicas para los mismos.

A.2.2 Declaración de Helsilnki

Recomendaciones para los investigadores en investigaciones biomédicas en las que participan seres humanos:

A.2.2.1 Principios Básicos

1. La investigación biomédica en seres humanos debe atenerse a principios científicos y comúnmente aceptados y debería tener como base los experimentos realizados en

animales y los datos de laboratorio, así como los conocimientos obtenidos de la literatura internacional.

2. El diseño y la ejecución de cada procedimiento experimental que incluya seres humanos debería estar claramente detallado en un protocolo de investigación que debe enviarse a un comité independiente debidamente designado para su consideración, discusión y asesoramiento. Dicho comité debe ajustarse a las leyes y regulaciones del país en que se lleva a cabo la investigación.

3. La investigación biomédica que incluya seres humanos debería ser conducida sólo por personas científicamente calificadas y bajo la supervisión de un profesional médico competente en los aspectos clínicos. La responsabilidad por el ser humano debe siempre recaer sobre una persona médicamente calificada, nunca sobre el individuo sujeto a la investigación, aunque él haya otorgado su consentimiento.

4. La investigación biomédica que incluya seres humanos no puede realizarse legítimamente a menos que la importancia del objetivo guarde proporción con el riesgo inherente para la persona que toma parte en ella.

5. Todo proyecto de investigación biomédica en seres humanos debe ir precedido de una minuciosa evaluación de los riesgos predecibles en comparación con los beneficios previsibles para el participante o para otros. La preocupación por el interés del individuo debe siempre prevalecer sobre los intereses de la ciencia y de la sociedad.

6. Siempre debe respetarse el derecho del participante en la investigación a proteger su integridad. Deben tomarse todas las precauciones del caso para respetar la vida privada del participante y para reducir al mínimo el impacto del estudio en la integridad física y mental del participante y en su personalidad.

7. Los médicos deben abstenerse de emprender proyectos de investigación en seres humanos a menos que tengan la certeza de que los peligros que entrañan se consideran previsibles. Los médicos deben interrumpir toda investigación si se determina que los peligros sobrepasan los posibles beneficios.

8. Al publicar los resultados de su investigación, el médico está obligado a mantener la exactitud de los resultados. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

9. En toda investigación en seres humanos, se debe dar a cada posible participante suficiente información sobre los objetivos, métodos, beneficios previstos y posibles peligros del estudio y las molestias que puede acarrear. Se le debe informar que es libre de abstenerse de participar en el estudio y que es libre de revocar en cualquier momento el consentimiento que ha otorgado para participar.

10. Al obtener el consentimiento informado para el proyecto de investigación, el médico debe ser especialmente cuidadoso para darse cuenta si en el participante se ha formado una condición de dependencia con él o si consiente bajo coacción. En ese caso el consentimiento informado debe obtenerlo un médico que no tome parte en la investigación y que tenga completa independencia de esa relación oficial.

11. En el caso de incapacidad legal, el consentimiento informado debe obtenerse del tutor legal de conformidad con la legislación nacional. Cuando la incapacidad física o mental hacen imposible obtener un consentimiento informado, o cuando el participante es menor de edad, un permiso otorgado por un pariente responsable reemplaza al del participante de conformidad con la legislación nacional.

Cuando el menor de edad está de hecho capacitado para otorgar su consentimiento, debe obtenerse además del consentimiento por parte del menor, el consentimiento otorgado por su tutor legal.

12. El protocolo de investigación debe siempre contener una declaración de las consideraciones éticas que van aparejadas y debe indicar que se cumple con los principios enunciados en la presente Declaración.

A.2.2.2 Investigación Médica Combinada con Atención Profesional (Investigación Clínica)

1. En el tratamiento de la persona enferma, el médico debe tener la libertad de usar un nuevo método diagnóstico y terapéutico, si a su juicio ofrece la esperanza de salvar una vida, restablecer la salud o aliviar el sufrimiento.

2. Los posibles beneficios, peligros y molestias de un nuevo método deben compararse con las ventajas de los mejores métodos diagnósticos y terapéuticos disponibles.

3. En cualquier investigación médica, a todos los pacientes --incluidos aquéllos de un grupo de control, si los hay--se les debe garantizar el mejor método diagnóstico y terapéutico probado.

4. La negativa del paciente a participar en un estudio no debe nunca interferir en la relación médico-paciente.

5. Si el médico considera esencial no obtener el consentimiento informado del individuo, él debe estipular las razones específicas de esta decisión en el protocolo que se enviará al comité independiente (I.2)

6. El médico puede combinar la investigación médica con la atención profesional, con el propósito de adquirir nuevos conocimientos, sólo en la medida en que la investigación médica se justifique por su posible valor diagnóstico o terapéutico para el paciente.

A.3 Consentimiento Informado para Pacientes que Participan en:

Ensayo clínico para la evaluación del perfil de liberación de Nistatina (biodisponibilidad) desde comprimidos mucoadhesivos de aplicación en la cavidad bucal.

Ensayo clínico para evaluar los perfiles de liberación de una nueva forma farmacéutica que contiene Nistatina, con capacidad para adherirse a la mucosa bucal. Esta formulación potencialmente permitiría disminuir la duración del tratamiento contra *Candida Albicans*, aumentar el cumplimiento por parte del paciente como así también disminuir la dosis administrada. Se planea incorporar 12 voluntarios sanos al estudio.
Usted está invitado a participar en este estudio de investigación y puede decidir si desea participar o no. La siguiente información describe el estudio y su rol como participante del mismo. Por favor, tómese su tiempo para decidir lo que va a hacer. Lea atentamente y no dude en formular las preguntas que considere necesarias acerca de la información que se le proporciona en este documento.

¿Por qué se está haciendo este estudio?

En la actualidad el tratamiento contra Candida Albicans en la cavidad bucal se realiza con formulaciones de liberación inmediata que contienen Nistatina como geles, soluciones, suspensiones, comprimidos de disolución orales, etc. (de 100.000 a 500.000 UI).

El tratamiento de la candidiasis demanda aproximadamente 21 días, lo que obedece al escaso tiempo de permanencia de las formulaciones (15 minutos) en el sitio de acción (mucosa bucal) e influye negativamente en el cumplimiento de la prescripción por parte del paciente.

En este trabajo se propone evaluar una nueva forma farmacéutica (FF) desarrollada en nuestro laboratorio que contiene Nistatina, con capacidad para adherirse a la mucosa bucal alrededor de 4 horas y de liberar al principio activo (PA) en forma sostenida durante este tiempo. Esta formulación potencialmente permitiría disminuir la duración del tratamiento, aumentar el cumplimiento por parte del paciente como así también disminuir la dosis administrada.

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

¿Quiénes no deberán participar de este estudio?

Si usted es menor de 21 años no puede participar en este estudio.

Si usted no puede cumplir con las visitas de seguimiento, la medicación, las toma de muestra (saliva) y otros procedimientos del estudio no puede participar del mismo. Los investigadores responsables del estudio determinarán si usted presenta esta condición y no lo hará participar del estudio.

Si usted ha utilizado medicamentos cuyo fármaco sea Nistatina en las cuatro semanas previas al comienzo del estudio, no puede participar en el mismo.

Si usted presenta algún tipo de lesión en la mucosa bucal podrá ser motivo de su exclusión del estudio

¿Qué se me pedirá que haga?

La primera instancia de este estudio es realizar una visita a la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, en donde un odontólogo hará su historia clínica y procederá a revisar el estado de la mucosa bucal verificando la presencia o no de lesiones en la misma antes de la administración del comprimido. En este momento se tomará una fotografía de la mucosa para contar con una

imagen para luego poder comparar cuando se realice en control luego del despegue del comprimido.

Durante el estudio se le suministrará el comprimido y el investigador a cargo le explicará detalladamente como debe ser realizado el estudio y las pautas a seguir durante la duración del mismo.

Indicaciones para la realización del estudio

1) Realizar la higiene bucal y no ingerir a partir de ese momento ni sólidos ni líquidos.
2) Transcurrida una hora desde el punto 1 retener saliva en la boca por 30 segundos (no tragar) y luego salivar en un vial previamente rotulado (el máximo volumen posible). Esta muestra será la muestra blanco, inmediatamente después de recolectada se procederá a su almacenamiento en freezer hasta su posterior procesamiento.
3) Colocar el comprimido en la mucosa yugal (parte interna de la mejilla) a la altura de los Premolares (dientes cuya ubicación será indicada por el profesional) , nunca por debajo, o al medio o mas arriba). Ejercer una leve presión con el dedo índice hasta que el comprimido quede adherido (aproximadamente 10 segundos). Se tomará como tiempo 0 (cero) el momento en el que se introduce el comprimido en la cavidad bucal.
4) A partir del tiempo 0 se tomarán muestras a los 5, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240, etc. min. La primera hora de muestreo no se podrá ingerir líquido. A posteriori se podrá ingerir agua teniendo la precaución de no hacerlo durante los 20 minutos previos a la toma de cada muestra.
5) Se tomarán muestras en intervalos de una hora mientras el comprimido esté adherido en el sitio. Cuando el mismo se despegue se registrará el tiempo y se tomarán 2 muestras más, a los 15 y 30 minutos subsiguientes. En ese período debe suspenderse la ingestión de líquidos. Transcurrido ese tiempo se da por finalizado esta etapa del ensayo.

6) En caso de, que por cualquier razón, querer despegarse el comprimido, llenar la boca con agua y retenerla para que se hidrate el comprimido, repetir esto hasta que el comprimido se despegue.
7) En el transcurso de las 24 horas posteriores de finalizado el ensayo los voluntarios serán sometidos a un nuevo control odontológico donde se constatará la aparición de posible lesiones reacciones adversas, en cuyo caso se hará un seguimiento hasta verificar la reversión de las mismas.
8) A lo largo de todo el ensayo cada voluntario registrará en su planilla las sensaciones organolépticas (si las hubiere) que tuvo durante el período, como así también sensaciones desagradables (ardor, dolor, etc.)
9) Al otro día de despegado el comprimido se realizará un nueva visita a la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, en donde un odontólogo hará su historia clínica y procederá a revisar el estado de la mucosa bucal verificando la presencia o no de lesiones en la misma luego de la administración del comprimido, donde nuevamente se hará un registro fotográfico de la mucosa.

¿Qué se conoce sobre esta droga?

Nistatina es un agente poliénico, fungistático y fungicida de uso tópico. Su absorción sistémica es baja o nula tanto en el tracto gastrointestinal como en la mucosa bucal por lo que es excretada por heces como fármaco inalterado. Su modo de acción: afecta la permeabilidad de las membranas celulares del hongo (candida) por unión a los esteroles de la misma, mayormente al ergosterol. Nistatina es indicada para el tratamiento de candidiasis en niños y adultos. Esta infección por candida puede ser cutánea, vaginal, oral, etc. para tal fin se vehiculiza el fármaco en pomadas, cremas, geles, entre otros. La dosis usual es de 100.000 UI, en casos excepcionales puede llegar a 500.000 UI, 4 veces al día.

¿Qué efectos adversos podría sufrir si participo en este estudio?

Al no haber absorción sistémica de Nistatina no se esperarían ningún tipo de efecto adverso en cuanto al uso de este fármaco. Por otro lado con la aplicación del comprimido podría aparecer una leve lesión en la mucosa, debido a la oclusión constante en la zona de

adherencia al comprimido. Sin embargo es una lesión que no reporta molestias en el voluntario y que desaparece a las pocas horas de haberse despegado el comprimido.

Participación y compensación:

El siguiente estudio no reportará ningún tipo de erogaciones para el voluntario.

¿Qué beneficios puedo esperar de mi participación en este estudio?

Al ser un estudio sobre voluntarios sanos el mismo no reportará ningún beneficio en el voluntario.

Responsabilidad:

Los efectos colaterales o el daño son posibles en cualquier programa de investigación, a pesar de utilizar elevados estándares de calidad y pueden ocurrir sin una falta suya o de los investigadores. Los efectos colaterales conocidos han sido descriptos en este mismo formulario de consentimiento. Sin embargo, puede ocurrir un daño imprevisible que requiera atención médica. En el caso de que usted se enfermara o dañara como resultado directo de su participación en el estudio, se dispondrá del cuidado médico necesario. De acuerdo a la droga y la dosis a utilizar en este protocolo, no se espera ningún efecto adverso no conocido. Pero si existiera una eventual lesión relacionada a la medicación o protocolo se le proveerá la atención médica que corresponda en tiempo y forma sin que signifique ningún gasto para usted.

¿Qué debo hacer si tengo alguna duda acerca de la aparición de un síntoma o una modificación de algún síntoma preexistente?

Puede consultar con su médico y/o odontólogo de cabecera o con cualquiera de los investigadores del estudio cuyas direcciones y teléfonos figuran al pie.

¿Quién podrá ver mis registros y saber que yo estoy incluido en el estudio?

Si usted acepta participar en el estudio, su nombre y datos médicos serán confidenciales y hasta donde lo permitan las leyes y/o regulaciones aplicables, no se harán de conocimiento público. Si los resultados del estudio se publican la identidad del voluntario se mantendrá confidencial. A menos que lo requiera la ley, solo los investigadores involucrados en el estudio y el odontólogo encargado de evaluar las mucosas pre y pos aplicación, el comité de ética y los inspectores de las agencias regulatorias del gobierno tendrán acceso directo a sus registros médicos para examinar la información del estudio.

¿Se me informará si se descubre nueva información sobre el sistema en estudio?

Se le informará con tiempo toda información nueva y significativa que pueda afectar su interés.

¿A quien debo llamar si tengo preguntas?

Nombre del contacto:

Teléfono/Fax:

¿Puedo negarme a permanecer en el estudio y puede pedírseme que deje el estudio?

Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede elegir no tomar parte en el estudio, o usted puede abandonarlo en cualquier momento sin sufrir penalidades ni pérdida de los beneficios para los cuales estuviese calificado.

La firma de este consentimiento no significa la perdida de los derechos que legalmente le corresponden de acuerdo a las leyes vigentes en la República Argentina.

He leído y entendido este consentimiento. Todas mis preguntas han sido contestadas y yo acepto participar voluntariamente en este estudio.

_____

Nombre del paciente

_____ _____

Firma del paciente Fecha

_____

Nombre del testigo

_____ _____

Firma del testigo Fecha

_____

Nombre del investigador

_____ _____

Firma del investigador Fecha

A.4 Modo de Reclutamiento de Pacientes

Los pacientes seleccionados para la realización de este estudio son voluntarios sanos que se encuentran realizando tareas de investigación en el área de farmacotecnia y tecnología farmacéutica del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba. Sobre los mismos se aplicarán los siguientes criterios de admisión para ser ingresados como voluntarios en el ensayo

A.5 Criterio de Selección de los Voluntarios

- Especificaciones de la muestra:
  - Voluntarios: 12 (doce)
  - Edad: 21 – 50 años
  - Sexo: masculino y femenino
- Criterios de inclusión y exclusión de voluntarios
  - Inclusión:
    - voluntarios sanos de ambos sexos, que no sean portadores de prótesis y que no presenten lesiones ni en tejidos duros, ni en los tejidos blandos orales.
  - Exclusión:
    - Voluntarios que estén recibiendo alguna terapia farmacológica durante el período del estudio o aquellos que padezcan alguna adicción declarada.
    - Voluntarios que hayan participado en otro estudio clínico dentro de las 2 semanas anteriores.
    - Voluntarios que durante el período del presente estudio deban iniciar un tratamiento incompatible con el mismo.
- Retiro del voluntario del estudio
  - Ante la observación de efectos adversos no esperados
  - Ante el eventual abandono del tratamiento

- En ambos casos el investigador responsable (Dra. Ruth Ferreyra) deberá documentar.

Anexo II

En este anexo se muestran la documentación del análisis *"in-vivo"* de la determinación del perfil de liberación de Nistatina desde comprimidos mucoadhesivos♣.

La documentación presentada consta para cada voluntario, de♥:

Ficha de sensaciones: durante la realización del ensayo, a cada voluntario, se le entregó una ficha donde manifestaba las sensaciones que sentía con respecto al uso del comprimido.

Odontograma: ficha donde el profesional odontológico realizó la historia clínica del voluntario y realizó la observación de posibles lesiones en la mucosa causadas por el comprimido.

Fotografías: de la zona de aplicación (pre y post-comprimido)

Perfil de liberación: se muestran los perfiles correspondiente a cada voluntario.

♣En cada caso los datos del voluntario fueron alterados para salvaguardar la identidad del mismo.

♥ A modo de ejemplo se presenta la documentación de un solo voluntario.

Voluntario N° 1:

Ficha de sensaciones

Voluntario. [redacted]
Fecha:
Hora de inicio: 08:40 **Hs.**
Hora de finalización: 13:12 **Hs.**
Identificación del vial (rótulo) **A.B**

Tiempo	Toma de muestra (si/no)	Sensación organoléptica (amargo/dulce/etc)	Sensación desagradable (dolor/ardor/etc)	
			SI	NO
(blanco)				
0 (hora.....)				
5 (min)	✓	Dulce (al principio)		X
15 (min)	✓	Neutro	sensación muy leve de rugosidad	en la zona de
30 (min)	✓	~~Amargo (después~~ de [redacted]		
60 (min)	✓	Amargo (+)		X
2 (horas)	✓	Amargo (++)		X
3 (horas)	✓	Amargo (++)		X
4 (horas)	✓	Amargo (+++)		X
5 (horas)				
Despegue				
Muestra 15´	✓	queda un sabor amargo residual		X
Muestra 30´	✓	queda algo de sabor amargo		X

Sensación rugosa en la zona en la q' fue aplicado el comprimido

Odontograma:

CLÍNICA ODONTOLÓGICA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

DATOS PERSONALES: **HISTORIA CLÍNICA Nº**

Nombre y Apellido:
Domicilio particular:
Barrio:
Ocupación:
Obra Social:
Vencimiento Carnet: Teléfono:

ANTECEDENTES CLÍNICOS:

	SI	NO	Observaciones
Alérgico			
Hipertensión			
Cardiaco			
Diabetes			
Chagas			
Fiebre Reumática			

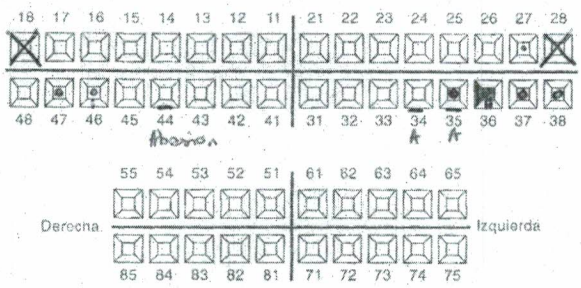
	SI	NO	Observaciones
Hemorragias			
Hepatitis			
Infecto-Contagiosas			
Enfermedad Tiroidea			
Anemias			
Otros			
Embarazo			

¿Se medica actualmente? No.
Observaciones:

1- Por la presente autorizo al Dr/a ..... y/o Asociados o Ayudantes de su elección a realizar el siguiente tratamiento: .....
2- He conversado con el profesional sobre la naturaleza y propósitos del tratamiento, sobre la posibilidad de complicaciones, los riesgos y posibles alternativas del tratamiento.
3- Autorizo al Dr/a ..... A proveer los servicios o tratamientos adicionales que considere razonables, incluyendo aunque no limitados a ellos, la administración de anestesia local, prácticas radiológicas y otros métodos de diagnóstico.
Declaro que he contestado todas las preguntas con honestidad y según mi conocimiento.
Asimismo, he sido informado que los datos suministrados quedan reservados en la presente Historia Clínica y amparada en el secreto profesional.

Firma del Profesional: ..... *Firma del Paciente:* ..... *Nº de Documento:*

A = Abrasiones en cuña sin caries



REFERENCIAS

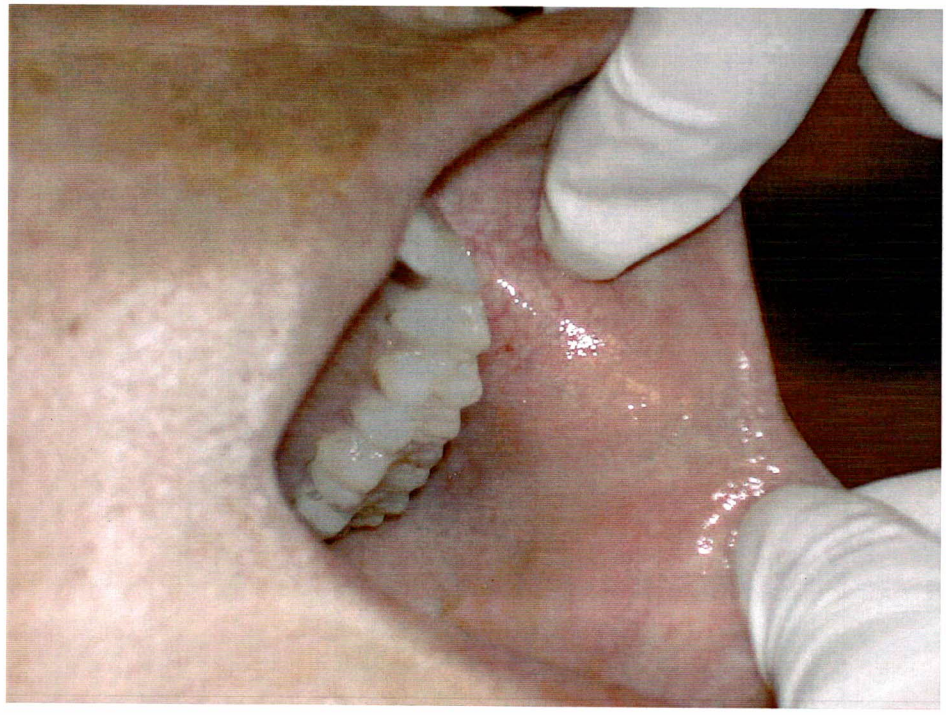
COLOR ROJO: Prestaciones existentes
COLOR AZUL: Prestaciones requeridas
X: Diente ausente o a extraer
PRÓTESIS FIJA
PRÓTESIS REMOVIBLE
CORONAS
CANTIDAD DE ELEMENTOS EXISTENTES

Fecha	*Código*	*Descripción*	*Elementos*	*Caras*	*Firma del Paciente*
		Lengua natural. Sin lesiones en resto			
		de tejidos blandos.			
		Sarro supragingival.			
		A las 24 horas no se observan cambios en la zona.			

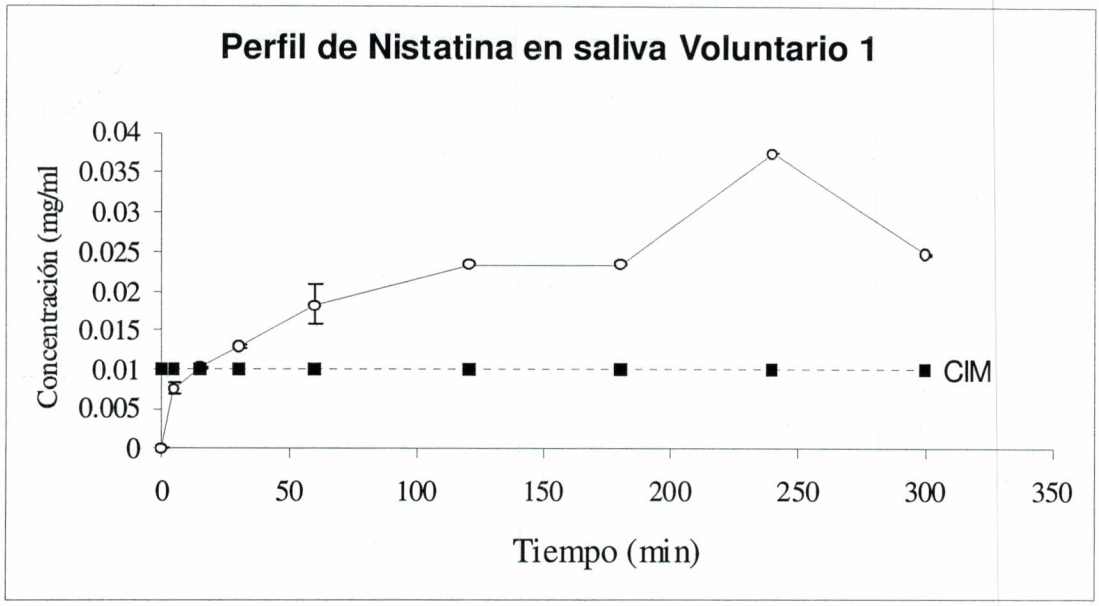
Fotografías:

Pre-trataminento

Post-tratamiento



Perfil:


Perfil de Nistatina en saliva Voluntario 1
Concentración (mg/ml
0.04
0.035
0.03
0.025
0.02
0.015
0.01
0.005
0
CIM
0
50
100
150
200
250
300
350
Tiempo (min)

ABREVIATURAS:

POLÍMEROS

ASC16: Palmitato de ascorbilo
CB: Carbomer
CBNa: Carbomer sódico
CMC: Carboximetilcelulosa
CMC-Na: Carboximetilcelulosa sódica
EC: Etilcelulosa
HEC: Hidroetilcelulosa
HPC: Hidroxipropilcelulosa
HPMC: Hidroxipropilmetilcelulosa
PC: Policarbófilos
PEG: Polietilenglicol
PVA: Polivinil alcohol
PVP: Polivinilpirrolidona

COMPRIMIDOS CBNA/CB

	CBNa	CB	CB_L
A	**90**	**10**	
B	**80**	**20**	
C	**70**	**30**	
D1	**60**	**40**	
D2	**60**		**40**
E1	**50**	**50**	
E2	**50**		**50**
F1	**40**	**60**	
F2	**40**		**50**

FILMS

FILM	CB	CMC-Na	NISTATINA	PEG400	ASC
A	**0,25**	**0,25**	**-----**	**-----**	**-----**
B	**0,25**	**0,25**	**0,20**	**-----**	**-----**
C	**0,25**	**0,25**	**0,20**	**2**	**-----**
D	**0,25**	**0,25**	**0,20**	**2**	**0,1**
E	**0,25**	**0,25**	**0,20**	**2**	**0,2**