

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**DEPARTAMENTO DE**

**FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA**



**DESARROLLO GALÉNICO DE PREPARADOS OBTENIDOS POR  
INTERACCIÓN DEL ÁCIDO 5-AMINO SALICÍLICO CON  
HALLOYSITA**

TESIS DOCTORAL

María Teresa Viseras Iborra

2008

Editor: Editorial de la Universidad de Granada  
Autor: María Teresa Viseras Iborra  
D.L.: GR.1786-2008  
ISBN: 978-84-691-5652-0



**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**FACULTAD DE FARMACIA  
DEPARTAMENTO DE  
FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA**

**TESIS DOCTORAL**

**DESARROLLO GALÉNICO DE PREPARADOS OBTENIDOS POR  
INTERACCIÓN DEL ÁCIDO 5-AMINO SALICÍLICO CON  
HALLOYSITA**

Memoria que para optar al grado de  
Doctor presenta la Licenciada en Farmacia:

María Teresa Viseras Iborra



CÁROLA AGUZZI, Profesora Ayudante, PILAR CEREZO GONZÁLEZ, Profesora Contratada Doctora y CESAR VISERAS IBORRA, Profesor Titular, todos ellos profesores del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Granada,

CERTIFICAN: Que la Memoria de Tesis Doctoral “DESARROLLO GALÉNICO DE PREPARADOS OBTENIDOS POR INTERACCIÓN DEL ÁCIDO 5-AMINO SALICÍLICO CON HALLOYSITA”, ha sido realizada bajo nuestra dirección por la licenciada en Farmacia Dña. MARÍA TERESA VISERAS IBORRA, como requisito para aspirar al grado de Doctor en Farmacia.

Y para que así conste, expedimos el presente certificado en Granada, a 25 de Junio de dos mil ocho.

Los Directores:

Fdo. Cárola Aguzzi

Fdo. Pilar Cerezo González

Fdo. César Viseras Iborra

La Doctoranda:

Fdo. María Teresa Viseras Iborra



La investigación sobre la que se asienta la presente Tesis Doctoral ha contado con la subvención de los siguientes Proyectos del Plan Nacional de I+D:

Proyecto MAT2003-06606: Arcillas especiales (esmectitas, paligorskita, sepiolita y halloysita) como soportes en la liberación modificada de fármacos y caracterización de sus propiedades en fangoterapia.

Investigador responsable: Alberto López-Galindo.

Entidad financiadora: DGI (Ministerio de Ciencia y Tecnología).

Proyecto MAT2006-05231: Empleo de arcillas especiales en terapéutica y estética: caracterización mineralógica, química, textural y tecnológica. Desarrollo de formulaciones farmacéuticas y valoración de efectos antioxidantes

Investigador responsable: César Viseras Iborra.

Entidad financiadora: DGI (Ministerio de Ciencia y Tecnología).

Asimismo, durante la realización de la Tesis Doctoral, la doctoranda ha disfrutado de una beca de Formación de Doctores en Centros de Investigación y Universidades Andaluzas, concedida por la Junta de Andalucía, desde el 1 de marzo de 2004 al 28 de Febrero del 2008.





Parte de los resultados que constituyen esta memoria han dado lugar a las siguientes publicaciones y comunicaciones a congresos:

### **Publicaciones**

**Viseras, M.T., Aguzzi, C., Cerezo, P., Viseras, C., Valenzuela, C.** *Equilibrium and kinetics of 5-aminosalicylic acid adsorption by halloysite*. Micropor. Mesopor. Mat., 108: 112-116, 2008.

**Viseras, M.T., Aguzzi, C., Cerezo, P., Cultrone, G., Viseras, C.** *The supramolecular structure of 5-asa/halloysite nanocomposites delivery system*. J. Microencapsul., Aceptada. Pendiente de publicación.

### **Comunicaciones a Congresos**

**Viseras, M.T., Cerezo, P., Aguzzi, C., Garcés, A. López-Galindo, A., Viseras, C.** *Retención del ácido 5 amino salicílico por halloisitas*. Jornadas científicas de la Sociedad Española de Arcillas (SEA), Madrid, Noviembre 2004.

**Viseras, M.T., Aguzzi, C., Cerezo, P. López-Galindo, A., Valenzuela, C., Caramella, C.** *Study of adsorption kinetics of 5-aminosalicylic acid in phyllosilicates for controlled drug delivery in the treatment of inflammatory bowel disease*. Pharmaceutical Sciences Fair & Exhibition, European Federation for Pharmaceutical Sciences (EUFEPS), Niza, Francia, Junio 2005.

**Viseras, M. T., Cerezo, P., Aguzzi C., Garcés, A., Viseras C.** *Estudio del equilibrio y cinética de adsorción del ácido 5-amino salicílico por halloisitas en vistas al control de la liberación del fármaco*. VII Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica (SEFIG), Salamanca, Febrero 2006.

**Viseras, M.T., Cerezo, P., Garcés, A., Aguzzi, C., Viseras, C., Valenzuela, C.** *Retention of 5-aminosalicylic acid by halloysite.* 5th World Meeting on Pharmaceutics Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Association de Pharmacie Galénique Industrielle (APGI), Ginebra, Suiza, Marzo 2006.

**Viseras, M.T., Aguzzi, C, Cerezo, P, Viseras, C, López-Galindo, A.** *Solid-State Characterization of 5-Aminosalicylic acid/Halloysite complexes.* Pre-Satellite Meeting of the 3rd Pharmaceutical Sciences World Congress (PSWC), European Federation for Pharmaceutical Sciences (EUFEPS), International Pharmaceutical Federation (FIP), Amsterdam, Holanda, Abril 2007.

**Viseras, M.T., Aguzzi, C., Cerezo, P., Viseras, C.** *Supramolecular structure assessment of 5-aminosalicylic acid/halloysite complexes by electron microscopy.* Pre-satellite meeting of the 3rd Pharmaceutical Sciences World Congress (PSWC), European Federation for Pharmaceutical Sciences (EUFEPS), International Pharmaceutical Federation (FIP), Amsterdam, Holanda, Abril 2007.



Mi más sincero agradecimiento a mis directores porque sin su apoyo, trabajo y dedicación a lo largo de estos años esta Tesis no habría sido posible. Quiero agradecer asimismo el interés y ayuda prestados en el desarrollo de esta Tesis al Prof. Dr. D. Cristóbal Valenzuela Calahorro.

Agradezco a la Directora del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada, la Profesora Doctora Dña. María Dolores Contreras Claramonte, por haberme permitido utilizar los laboratorios departamentales; agradecimiento que hago extensible a todos los profesores del Departamento y en particular a los miembros del grupo de investigación CTS-121 en el que he estado integrada.



Han pasado cuatro años y medio desde que decidiera comenzar esta Tesis Doctoral, en estos años he recibido el apoyo de distintas personas a las quiero expresar mi más sincero agradecimiento, todas ellas han contribuido a mi desarrollo como investigadora pero sobre todo como persona.

En primer lugar empezaré por mis padres, ellos son los principales artífices, me animaron a que me hiciera farmacéutica y tras licenciarme, apoyaron mis inquietudes por completar mi formación académica hasta alcanzar el grado de Doctora. Muchas gracias a los dos. A mi hermana y a mis sobrinas por esa sonrisa y ánimos recibidos durante este tiempo. Y por supuesto, a mi hermano y director, porque sin su apoyo, trabajo y dedicación a lo largo de estos años esta tesis no habría sido posible.

En segundo lugar, quiero agradecerle su ayuda, paciencia y dedicación a otra persona que a lo largo de estos años ha sido para mí, más una amiga que una directora, me refiero a la Dra. Aguzzi, ella me ha transmitido sus conocimientos a cerca de los ensayos de disolución y ha "peleado" junto a mí con el HPLC y los datos, cada día que pasa, pienso que su entrega a lo largo de estos años ha sido un regalo venido de Italia.

A continuación, aprovecho para dar las gracias a una serie de personas que me han aportado sus conocimientos en distintas áreas para obtener algunos de los resultados presentados en esta tesis. Al Dr. López-Galindo, por el análisis de rayos X, al Dr. Cultrone, por los ensayos de porosimetría, al Dr. Campos Rosa, por el análisis de RMN, así como, al personal del Centro de Instrumentación Científica, por el interés y dedicación demostrados en los análisis de mis muestras y por supuesto al decanato de la Facultad de Farmacia y en especial al Dr. Quesada, por facilitarme el acceso al HPLC siempre que lo he necesitado.

Por otra parte, a lo largo de estos últimos tres años, he compaginado mi labor investigadora con la docente y quisiera agradecerle su apoyo en primer lugar a la Dra. Medina, por la ayuda que me ofreció para enfrentarme a mis primeras prácticas como profesora, las de Tecnología Farmacéutica General, que continuaría con las de Biofarmacia y Farmacocinética, gracias a la Dra. Contreras y al Dr. Hernández (que además fue mi tutor en el DEA) y finalmente con las de Formulación Magistral, gracias a la Dra. Marín y la Dra. Bedmar, todos ellos me han aportado su experiencia y conocimientos.

Gracias al departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, especialmente a mis compañeros de laboratorio que han ido cambiando a lo largo de los años, comenzaron conmigo en la planta industrial: Mercedes, Joaquina, Angeles, Mar y Cristina; sin olvidarme de Jenny, que nos ayudó en aquella pesada mudanza y que me ha apoyado en todo momento, a ella le deseo todo lo mejor en su tierra, no saben los canariones iilo que se llevan!! A nuestro compañero colombiano JR y a los tesinandos italianos, Massi, Alessia y Prisci, todos ellos hicieron su tesina con nosotros y les deseo lo mejor. A mis actuales compañeras de laboratorio que me han tenido que "sufrir" estos últimos meses, gracias, Rita, Mar y Monia.

A mis compañeros de Química Inorgánica que me han acogido en su laboratorio como una más y me han ayudado siempre que lo he necesitado, a Pepa, Juan, Gemma, Carolina, Carlos, Alejandro, a Almudena ( los botes, las pipetas y matraces prestados, iial final han dado sus frutos!!), a Ricardo, por la paciencia que tuvo conmigo durante los ensayos de los botes y especialmente a Pilar, que me he apoyado a lo largo de estos años siempre que visitaba mi "segunda casa" en la facultad.

A mis amigos y compañeros en estos años de tesis, han sido becarios como yo y han conseguido doctorarse, enhorabuena a todos: Ia, Laura, Natalia, Namma´a y por supuesto a Javi, nuestro farmacéutico militar.

Asimismo, quiero darles las gracias a mis amigos, que me han demostrado que estaban ahí para lo que me hiciera falta. Empezando por mis amigas de la playa (a las que conozco desde pequeña y que siempre me han apoyado, Maite, Belén, Elena, Ana, Blanca y Almudena, espero que todas cumpláis las metas que os habéis marcado, iios lo merecéis!!). A Carlos, Mar, Antonio, María y Mari Angeles, aunque nos separen kilómetros, la amistad no tiene distancias. Y por supuesto a mis amigos del gimnasio, que me han animado muchísimo en los últimos meses, muchas gracias a Concha, Herminia, Laura, Mari Carmen, Raquel, Alex, Isaac y Sergio.

Finalmente, no quisiera olvidarme de aquellas personas que forman parte de esta facultad y que para mí han sido un apoyo más a lo largo de estos años, me refiero a José Manuel e Isa (sin vosotros el departamento no sería el mismo), a Luis (de la cafetería), a mis amigas de la fotocopidora, Ana y Laly y al personal de limpieza (que han hecho más amenas las tardes de ensayos), gracias a todos.





*A mi familia*



*“No existe en el mundo nada más poderoso  
que una idea a la que le ha llegado su tiempo”.*

*Víctor Hugo (Novelista, poeta y dramaturgo, 1802-1885)*



## *INDICE*

|  |     |
|--|-----|
| <b>I. INTRODUCCIÓN</b>   | 001 |
| I.1. Liberación de fármacos desde formas farmacéuticas                       | 003 |
| I.1.1. Formas farmacéuticas y liberación                                     | 003 |
| I.1.2. Formas farmacéuticas de liberación modificada                         | 004 |
| I.1.3. Modelos para el ajuste de cinéticas de liberación                     | 009 |
| I.1.3.1. Modelos reales o mecanicistas                                       | 010 |
| I.1.3.1.1. Modelo de orden cero  | 013 |
| I.1.3.1.2. Modelo de orden uno   | 015 |
| I.1.3.1.3. Modelo de Hixson-Crowell o de la raíz cúbica                      | 017 |
| I.1.3.1.4. Modelo de Higuchi o de la raíz cuadrada                           | 021 |
| I.1.3.1.5. Modelo de Peppas o ley de la potencia                             | 027 |
| I.1.3.1.6. Modelo de Baker-Lonsdale  | 032 |
| I.1.3.1.7. Modelos para sistemas hinchables                                  | 033 |
| I.1.3.1.7.1. Modelos de hinchamiento/disolución                              | 034 |
| I.1.3.1.7.2. Modelo de Peppas y Sahlin                                       | 040 |
| I.1.3.1.7.3. Modelo de la capa secuencial                                    | 044 |
| I.1.3.1.8. Modelos para sistemas erosionables                                | 048 |
| I.1.3.1.8.1. Modelos basados en la difusión y reacción                       | 050 |
| I.1.3.2. Modelos empíricos o no mecanicistas                                 | 053 |
| I.1.3.2.1. Modelo de Weibull   | 053 |
| I.1.3.2.2. Modelos de Hopfenberg y de Cooney                                 | 059 |
| I.1.3.3. Nuevos modelos  | 060 |
| I.1.3.3.1. Modelo de Jørgensen y Christensen                                 | 060 |
| I.1.3.3.2. Modelo de Van Vooren y colaboradores                              | 062 |
| I.1.3.3.3. Modelo de Frenning y Strømme (Disolución-Difusión-Inmovilización) | 063 |
| I.1.3.3.4. Modelo de Borgquist y colaboradores                               | 063 |

|  |     |
|--|-----|
| I.1.3.3.5. Modelos basados en el Método de Elementos Finitos                                 | 064 |
| I.1.3.3.6. Modelos basados en Programación Genética  | 065 |
| I.1.3.3.7. Modelo limitado por la Reacción en la Interfase Sólido-Líquido                    | 065 |
| I.1.4. Comparación entre modelos y selección del idóneo                                      | 066 |
| I.2. Ácido 5 amino salicílico y tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal         | 069 |
| I.2.1. Denominación, perfil fisicoquímico y uso del ácido 5 amino salicílico                 | 069 |
| I.2.2. Tratamiento de la EII   | 070 |
| I.2.2.1. Tratamiento quirúrgico  | 071 |
| I.2.2.2. Tratamiento farmacológico   | 071 |
| I.2.2.2.1. Aminosalicilatos  | 071 |
| I.2.2.2.2. Antibióticos  | 074 |
| I.2.2.2.3. Glucocorticoides  | 075 |
| I.2.2.2.4. Agentes inmunosupresores  | 076 |
| I.2.2.2.5. Terapia biológica   | 078 |
| I.2.3. Desarrollo galénico del tratamiento de la EII: formas farmacéuticas colon-específicas | 079 |
| I.2.3.1. Sistemas dependientes del tiempo de tránsito gastrointestinal                       | 081 |
| I.2.3.2. Sistemas dependientes del Ph  | 081 |
| I.2.3.3. Sistemas dependientes del pH y del tiempo   | 082 |
| I.2.3.4. Sistemas activados por la presión   | 084 |
| I.2.3.5. Sistemas activados por las enzimas  | 084 |
| I.2.3.5.1. Profármacos   | 085 |
| I.2.3.5.1.1. Azo-reducción   | 085 |
| I.2.3.5.1.2. Hidrólisis  | 087 |
| I.2.3.5.2. Matrices y sistemas recubiertos   | 088 |
| I.3. Filosilicatos de empleo en liberación modificada  | 090 |
| I.3.1. Concepto de arcilla   | 091 |
| I.3.2. Estructura de los filosilicatos   | 093 |

|   |     |
|---|-----|
| I.3.3. Halloysita                               | 097 |
| I.3.3.1. Historia y nomenclatura                | 098 |
| I.3.3.2. Composición química                    | 099 |
| I.3.3.3. Morfología                             | 100 |
| I.3.3.4. Intercalación con moléculas orgánicas  | 101 |
| I.3.3.5. Aplicaciones                           | 102 |
| <b>II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO</b>          | 103 |
| <b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>                | 109 |
| III.1. Materiales                               | 111 |
| III.2. Métodos                                  | 111 |
| III.2.1. Caracterización de las materias primas | 111 |
| III.2.1.1. Principio activo                     | 111 |
| III.2.1.1.1. Difracción de rayos X              | 111 |
| III.2.1.1.2. Espectroscopía de infrarrojos      | 111 |
| III.2.1.1.3. Análisis térmico                   | 112 |
| III.2.1.1.4. Análisis morfológico               | 112 |
| III.2.1.1.5. Espectroscopía de ultravioleta     | 112 |
| III.2.1.1.6. Estudios de estabilidad            | 113 |
| III.2.1.1.6.1. Espectroscopía de ultravioleta   | 113 |
| III.2.1.1.6.2. Resonancia magnética nuclear     | 113 |
| III.2.1.2. Halloysita                           | 113 |
| III.2.1.2.1. Difracción de rayos X              | 113 |
| III.2.1.2.2. Espectroscopía de infrarrojos      | 114 |
| III.2.1.2.3. Análisis térmico                   | 114 |
| III.2.1.2.4. Análisis morfológico               | 114 |
| III.2.1.2.5. Porosimetría de mercurio           | 115 |
| III.2.1.2.6. Adsorción de nitrógeno             | 115 |
| III.2.1.2.7. Capacidad de intercambio catiónico | 115 |



|   |            |
|---|------------|
| III.2.2. Productos de interacción 5-ASA/HLC                                   | 115        |
| III.2.2.1. Retención de 5-ASA por HLC   | 115        |
| III.2.2.1.1. Cinética   | 116        |
| III.2.2.1.2. Equilibrio   | 116        |
| III.2.2.2. Elaboración de productos de interacción 5-ASA-HLC                  | 117        |
| III.2.2.3. Caracterización de los productos de interacción                    | 117        |
| III.2.2.3.1. Difracción de rayos X  | 117        |
| III.2.2.3.2. Espectroscopía de infrarrojos                                    | 117        |
| III.2.2.3.3. Análisis térmico   | 117        |
| III.2.2.3.4. Microscopía electrónica  | 118        |
| III.2.2.3.4.1. FESEM  | 118        |
| III.2.2.3.4.2. HREM y X-EDS   | 118        |
| III.2.2.3.5. Porosimetría de mercurio   | 118        |
| III.2.2.4. Liberación del principio activo desde los productos de interacción | 119        |
| III.2.2.4.1. Ensayos de liberación  | 119        |
| III.2.2.4.1.1. Análisis del fármaco liberado                                  | 119        |
| III.2.2.4.2. Ajuste de datos de liberación                                    | 123        |
| <b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>   | <b>125</b> |
| IV.1. Características de las materias primas                                  | 127        |
| IV.1.1. Principio activo  | 127        |
| IV.1.1.1. Difracción de rayos X   | 127        |
| IV.1.1.2. Espectroscopía de ultravioleta                                      | 128        |
| IV.1.1.3. Estudios de estabilidad   | 132        |
| IV.1.1.3.1. Espectroscopía de ultravioleta                                    | 132        |
| IV.1.1.3.2. Resonancia magnética nuclear                                      | 134        |
| IV.1.2. Halloysita  | 135        |
| IV.1.2.1. Difracción de rayos X   | 135        |
| IV.1.2.2. Adsorción de nitrógeno  | 136        |

|   |     |
|---|-----|
| IV.1.2.3. Capacidad de intercambio catiónico                                    | 142 |
| IV.2. Productos de interacción 5-ASA-HLC  | 142 |
| IV.2.1. Modelo para el ajuste de datos de retención y liberación                | 143 |
| IV.2.1.1. Hipótesis de partida  | 143 |
| IV.2.1.2. Modelo matemático   | 145 |
| IV.2.1.2.1. Modelización del proceso de retención                               | 147 |
| IV.2.1.2.1.1. Cinética de retención   | 147 |
| IV.2.1.2.1.1.1. Procesos sencillos de adsorción-desorción                       | 147 |
| IV.2.1.2.1.1.2. Proceso sencillo de precipitación (adsorción en “multicapa”)    | 148 |
| IV.2.1.2.1.1.3. Influencia de la difusión en la cinética de adsorción-desorción | 148 |
| IV.2.1.2.1.2. Equilibrio de retención (Isotermas ns vs. C)                      | 151 |
| IV.2.1.2.1.2.1. Procesos sencillos de adsorción/desorción                       | 151 |
| IV.2.1.2.1.2.2. Proceso sencillo de precipitación (adsorción en “multicapa”)    | 152 |
| IV.2.1.2.1.2.3. Proceso global de retención                                     | 152 |
| IV.2.1.2.2. Modelización del proceso de liberación                              | 153 |
| IV.2.1.2.2.1. Aspectos teóricos   | 153 |
| IV.2.2. Retención de 5-ASA por HLC (Publicación 1)                              | 156 |
| IV.2.2.1. Autores y título  | 156 |
| IV.2.2.2. Resumen   | 156 |
| IV.2.2.3. Discusión   | 156 |
| Copia de la publicación   |     |
| IV.2.3. Caracterización de los productos de interacción (Publicación 2)         | 172 |
| IV.2.3.1. Autores y título  | 172 |
| IV.2.3.2. Resumen   | 172 |
| IV.2.3.3. Discusión   | 172 |
| Copia de la publicación   |     |
| IV.2.4. Liberación de 5-ASA desde los productos de interacción                  | 199 |
| IV.2.4.1. Análisis del fármaco  | 199 |

|  |            |
|--|------------|
| IV.2.4.2. Ajuste de datos de liberación  | 200        |
| IV.2.4.2.1. Estudio comparativo  | 201        |
| IV.2.4.2.1.1. Sistema 5-ASA-HLC-30/Agua. Volumen: 700 mL   | 201        |
| IV.2.4.2.1.1.1. Ajuste de los datos al modelo postulado (ecuación (IV.26))                               | 204        |
| IV.2.4.2.1.1.2. Ajuste de los datos a la ecuación de Higuchi   | 206        |
| IV.2.4.2.1.1.3. Ajuste de los datos a la ecuación de Peppas  | 208        |
| IV.2.4.2.1.1.4. Ajuste de los datos a la ecuación de orden cero  | 211        |
| IV.2.4.2.1.1.5. Ajuste de los datos a la ecuación de orden uno   | 211        |
| IV.2.4.2.1.1.6. Ajuste de los datos a la ecuación de Weibull   | 212        |
| IV.2.4.2.1.1.7. Ajuste de los datos a la ecuación de Hixson-Crowell                                      | 214        |
| IV.2.4.2.1.1.8. Ajuste de los datos a la ecuación de Peppas y Sahlin                                     | 216        |
| IV.2.4.2.1.2. Comparación de modelos   | 218        |
| IV.2.4.2.2. Ajuste de las curvas de liberación con el modelo seleccionado                                | 222        |
| IV.2.4.2.2.1. Sistema 5-ASA-HLC-30/Agua. Volumen: 525 mL (0-2 h),<br>700 mL (2-8 h)                      | 222        |
| IV.2.4.2.2.2. Sistemas 5-ASA-HLC/HCl 0,1 N. Volumen: 700 mL  | 226        |
| IV.2.4.2.2.3. Sistemas 5-ASA-HLC/tampón pH 6.8. Volumen: 700 mL  | 229        |
| IV.2.4.2.2.4. Sistemas 5-ASA-HLC/disolución con cambio de pH.<br>Volumen: 525 mL (0-2 h), 700 mL (2-8 h) | 232        |
| <b>V. CONCLUSIONES</b>   | <b>239</b> |
| <b>VI. BIBLIOGRAFIA</b>  | <b>247</b> |
| <b>ANEXO I.</b>  | <b>289</b> |
| A.I. Enfermedad Inflamatoria crónica del intestino   | 291        |
| A.I.1. Antecedentes históricos   | 291        |
| A.I.2. Epidemiología   | 292        |
| A.I.3. Etiología   | 293        |
| A.I.3.1. Factores genéticos  | 293        |
| A.I.3.2. Factores ambientales  | 296        |

|   |            |
|---|------------|
| A.I.4. Patogénia  | 299        |
| A.I.4.1. Factores desencadenantes                         | 299        |
| A.I.4.2. Amplificación y reacción tisular                 | 300        |
| A.I.4.3. Inmunopatogénesis                                | 302        |
| A.I.5. Clínica  | 303        |
| A.I.5.1. Manifestaciones intestinales                     | 303        |
| A.I.5.2. Manifestaciones extraintestinales                | 304        |
| A.I.6. Diagnóstico  | 305        |
| <b>ANEXO II. Tablas con los resultados experimentales</b> | <b>307</b> |



# **I. INTRODUCCIÓN**



## **I.1. LIBERACIÓN DE FÁRMACOS DESDE FORMAS FARMACÉUTICAS**

### **I.1.1. FORMAS FARMACÉUTICAS Y LIBERACIÓN**

Se denomina “forma farmacéutica o galénica” a “la disposición a que se adaptan los principios activos y excipientes para constituir un medicamento” (Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios). Las formas farmacéuticas deben liberar el fármaco o fármacos que contienen cumpliendo dos objetivos: que el principio activo alcance el lugar de acción y que lo haga con una temporalidad adecuada a las necesidades del enfermo. El tiempo y lugar serán por tanto los dos parámetros fundamentales en relación con la liberación del principio activo desde una forma farmacéutica. Mientras que en las “formas farmacéuticas de liberación convencional o inmediata” la liberación de la sustancia o sustancias activas no está deliberadamente modificada, en las “formas farmacéuticas de liberación modificada” (FFLM) la liberación de la sustancia o sustancias activas es diferente de la de la forma farmacéutica de liberación convencional administrada por la misma vía (RFE, 2005; EP 6.0, 2008). Las modificaciones consisten en cambios en la formulación y/o en el método de fabricación, y tienen como objetivo alcanzar niveles terapéuticos del fármaco en el lugar de acción y mantenerlos a lo largo del tratamiento, sea alterando la velocidad y/o el tiempo y/o el lugar de liberación del fármaco (Ding et al., 2002). Como consecuencia, las FFLM presentan numerosas ventajas, entre las que destacan (Doménech y Escribano, 1998):

- reducción de la frecuencia de la administración (simplificación de la posología);
- disminución de la fluctuación de niveles plasmáticos;
- incremento de los intervalos de dosificación;
- efecto terapéutico más uniforme;
- reducción de efectos secundarios relacionados con dosis elevadas;



No obstante, existen algunas limitaciones e inconvenientes, entre los que cabe señalar (Doménech y Escribano, 1998):

- coste elevado;
- correlaciones *in vitro/in vivo* difíciles de predecir;
- posible sobre-dosificación por liberación inmediata e incontrolada de la dosis;
- dificultad de ajuste de la dosificación;
- posible reducción de la biodisponibilidad por incremento del efecto de primer paso hepático;
- dependencia del tiempo de tránsito intestinal, en las formas de administración oral;
- riesgo de acumulación del fármaco y necesidad de ajuste de pautas posológicas.

### **I.1.2. FORMAS FARMACÉUTICAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA**

Desde mediados del siglo pasado se han desarrollado numerosas FFLM capaces de un control temporal de la liberación, mientras que el control espacial permanece aún por resolver de manera efectiva en la mayoría de los casos. En consecuencia, las farmacopeas reconocen actualmente FFLM destinadas al control temporal de la liberación, distinguiendo formas farmacéuticas de liberación prolongada, de liberación retardada y de liberación pulsátil (RFE, 2005; EP 6.0, 2008). A éstas habría que añadir las formas farmacéuticas capaces de un control espacial específico de la liberación (sitio-específico y sistemas diana). Por último, destacar el desarrollo reciente de FFLM de rápida disgregación (“fast dissolving”), capaces de disolver o disgregar en la cavidad oral (Ding et al., 2002).

- *Formas farmacéuticas de liberación prolongada o ampliada:* modificadas para garantizar una liberación más lenta de la sustancia o sustancias activas que la de una forma farmacéutica de liberación convencional administrada por la misma vía. Se corresponden con los términos “extended-release” (USP 31, 2008) y “prolonged-release” (EP 6.0, 2008). Los términos “liberación sostenida”, “acción prolongada” y “acción repetida” son usados en ocasiones como sinónimos de liberación prolongada o ampliada, aún cuando no sean oficiales. Por último, el término “controlled release” se ha usado como equivalente de “extended release” (FDA, 1993), pero también como sinónimo de “modified release” (Skelly et al., 1990; Ding et al., 2002).
- *Formas farmacéuticas de liberación retardada:* modificadas para retrasar la liberación de la sustancia o sustancias activas. Incluyen las formas farmacéuticas gastrorresistentes (preparadas de manera que resistan el jugo gástrico y liberen su principio o principios activos en el fluido intestinal).
- *Formas farmacéuticas de liberación pulsátil:* modificadas para garantizar una liberación secuencial de la sustancia o sustancias activas.
- *Formas farmacéuticas de liberación con control espacial:* modificadas para liberar la sustancia o sustancias activas cuando la forma farmacéutica alcance el lugar de acción, sea un órgano o tejido o un determinado receptor celular.

Resulta interesante plantearse una clasificación de los métodos o sistemas que permiten modificar la liberación en una FFLM. En este sentido, Ding y colaboradores proponen una clasificación de los Sistemas de Liberación Modificada (SLM) usando como primer criterio que el control de la liberación sea temporal o espacial, y para cada una de estas categorías, los sistemas y mecanismos que han sido desarrollados para alcanzar dicha modificación (Tabla I.1.I.) (Ding et al., 2002).

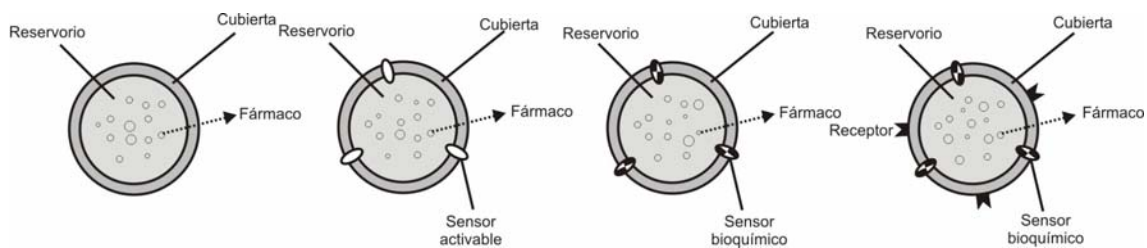
**Tabla I.1.I.** Tipos de sistemas de liberación controlada de fármacos según Ding et al., 2002.

| Categoría   | Mecanismo de control       | Formas y Sistemas de liberación                         |   | Ejemplos  |   |
|---|----------------------------|---|---|---|---|
| Control temporal  | Difusión                   | Formas sólidas orales                                   | Sistemas de membrana o reservorios                        | Nico-400 <sup>®</sup> , Nitro-Bid <sup>®</sup> , Cerespan <sup>®</sup> , Nitrospan <sup>®</sup> , Measurin <sup>®</sup> , Bronkodyl SR <sup>®</sup> |   |
|   |                            |   | Sistemas matriciales o monolíticos                        | Desoxym <sup>®</sup> , Ferro-Gradumet <sup>®</sup> , Trai <sup>®</sup> , PBZ SR <sup>®</sup> , Procan SR <sup>®</sup> , Cholelyl SA <sup>®</sup>    |   |
|   |                            | Implantes   | Reservorios   | Progesterasert IUD <sup>®</sup> , Ocusert <sup>®</sup>  |   |
|   |                            |   | Matriciales   | Chien 1992, Compudose <sup>®</sup>  |   |
|   |                            |   | Híbridos reservorio-matriz                                | Syncro-Mate-C <sup>®</sup> , Implanon <sup>®</sup>  |   |
|   |                            | Parches transdérmicos                                   | Reservorio  | Transderm-Scop <sup>®</sup>   |   |
|   |                            |   | Matriciales con fármaco disperso en el adhesivo           | Deponit <sup>®</sup>  |   |
|   |                            |   | Matriciales   | Nitrodur <sup>®</sup>   |   |
|   |                            |   | Microreservorios  | Nitrodisc <sup>®</sup>  |   |
|   |                            | Disolución  | Formas sólidas orales                                     | Reservorio  | Dexedrine <sup>®</sup> , Hispril <sup>®</sup> , Thorazine <sup>®</sup> , Artane <sup>®</sup> , Diamox <sup>®</sup> , Ferro-Sequels <sup>®</sup> |
|   | Matriciales                |   |   | Dimetane <sup>®</sup> , Quinidex <sup>®</sup> , Mestinox <sup>®</sup> , Chlor-Trimeton <sup>®</sup> , Demazin <sup>®</sup> , Trilafon <sup>®</sup>  |   |
|   | Implantes                  |   | Zoladex <sup>®</sup>                                      |   |   |
|   | Presión osmótica           | Formas sólidas orales                                   | Bomba osmótica elemental                                  | Alzet <sup>®</sup> , Durox <sup>®</sup>   |   |
|   |                            |   | Sistema PUSH-PULL (dos compartimentos)                    | Robinson, 1978  |   |
|   | Fuerza mecánica            | Implantes   |   | Infusaid <sup>®</sup> , SynchroMed <sup>®</sup> , MiniMed <sup>®</sup>  |   |
|   | Hinchamiento               | Formas orales sólidas                                   | Hidrogeles  | Alhaique y Rossi, 2004  |   |
|   | Erosión                    | Implantes   |   | Langer, 1990  |   |
|   | Estimulación o activación  | Implantes   | Activados por magnetismo                                  | Kost et al., 1987   |   |
|   |                            |   | Parches transdérmicos iontoforéticos                      | Sistemas Estimulados por electricidad   | Sing y Maibach, 1994; Green, 1996   |
|   |                            |   | Complejos poliméricos                                     |   | Kwon et al., 1991   |
| Implantes   |                            | Modulados por ultrasonidos (fonoforesis)                |   | Miyazaki et al., 1988; Kost et al., 1989; Liu et al., 1992; Hippus et al., 1998a, b; Asano et al., 1997   |   |
|   |                            | Formas tópicas  | Activados por fotoirradiación                             | Bae, 1997; Ishiara y Shinohara, 1984  |   |
| Termosensibles  |                            |   |   | Feil et al., 1992; Hoffman et al., 1986; Dong y Hoffman, 1986; Jeong et al., 1997   |   |
| Formas sólidas orales   |                            | pH dependientes   |   | Albin et al., 1985; Heller et al., 1990   |   |
| Sistemas autoregulados o retroalimentados por estímulo bioquímico |                            | Respuesta modulada                                      |   | Fishel-Ghodisan et al., 1988; Kim y Jacobs, 1994; Obaidat y Park, 1996  |   |
|   | Respuesta activada         |   | Pitt et al., 1984, 1985                                   |   |   |
| Control espacial (mecanismos variados)                            | Transportadores coloidales | Micropartículas   |   | Rogerson et al., 1988;  |   |
|   |                            | Nanopartículas  |   | Yokohama, 1992; Moghimi, 1995; Peracchia et al., 1997;  |   |
|   |                            | Complejos macromoleculares (lipoproteínas)              |   | Moghimi y Bonnemain, 1999;  |   |
|   |                            | Liposomas y niosomas                                    |   | Kumar y Banker, 2002  |   |
|   | Sistemas vectoriales       | Primera generación: dirigidos al compartimento vascular |   | Feener y King, 1998.  |   |
|   |                            | Segunda generación: dirigidos a las células             |   |   |   |
|   |                            | Tercera generación: intracelulares                      |   |   |   |
| Eritrocitos modificados   |                            |   | Gu et al., 1988; Jain y Jain, 1998; Sinha y Kumria, 2001a |   |   |
| Sistemas bioadhesivos   |                            |   |   |   |   |
| Profármacos   |                            |   |   |   |   |

Resulta evidente que algunos sistemas de control temporal permiten un cierto control espacial; por ejemplo, asegurando que la liberación tenga lugar alcanzado un cierto lugar del tracto gastrointestinal.

Por otra parte, Chien y Lin agrupan los sistemas usados para conseguir modificar la liberación en cuatro grandes categorías (Chien y Lin, 2006) (Figura I.1.1.):

- Sistemas de velocidad pre-programada (“Rate-preprogrammed drug delivery systems”).
- Sistemas activables (“Activation-modulated drug delivery systems”).
- Sistemas retroalimentados (“Feedback-regulated drug delivery systems”).
- Sistemas diana (“Site-targeting drug delivery systems”).



**Fig. I.1.1.** Tipos de SLM: (A) Sistemas de velocidad pre-programada, (B) Sistemas activables, (C) Sistemas retroalimentados y (D) Sistemas diana (adaptado de Chien y Lin, 2006).

Dentro de cada categoría es posible distinguir diferentes SLM, que de forma muy resumida aparecen recogidos en la Tabla I.1.II.

**Tabla I.1.II.** Tipos de sistemas de liberación controlada de fármacos según Chien y Lin, 2006.

| Categoría   | Sistema de liberación                                | Mecanismo de control                         | Ejemplos   |
|---|--|--|--|
| Sistemas de velocidad pre-programada                      | Reservorios con cubierta polimérica                  | Difusión del fármaco a través de la cubierta | Ocuser <sup>®</sup> , Progestasert <sup>®</sup> IUD, Mirena <sup>®</sup> , Transderm-Nitro <sup>®</sup> , Norplant <sup>®</sup> , Estraderm <sup>®</sup> , Duragesic <sup>®</sup> , Androderm <sup>®</sup>                                       |
|   | Matrices poliméricas                                 | Difusión del fármaco en el seno de la matriz | Nitro-Dur <sup>®</sup> , Nitro-Dur <sup>®</sup> II, Frandol <sup>®</sup> , Habritol <sup>®</sup> , Nicotrol <sup>®</sup> , Minitran <sup>®</sup> , Testoderm <sup>®</sup> , Climara <sup>®</sup> , Compudose <sup>®</sup> , Deponit <sup>®</sup> |
|   | Matrices con cubierta polimérica                     | Combinación de los dos anteriores            | Catapres-TTS <sup>®</sup> , TransdermScop <sup>®</sup> , Norplant <sup>®</sup> II  |
|   | Micro-reservorios                                    | Disolución /Difusión del fármaco             | Nitrodisc <sup>®</sup> , Syncro-Mate-C implant <sup>®</sup>  |
| Sistemas activables                                       | Activación física                                    | Presión osmótica                             | Alzet <sup>®</sup> , Acutrim <sup>®</sup>  |
|   |  | Presión hidrodinámica                        | Michaels, 1979   |
|   |  | Presión de vapor                             | Infusaid <sup>®</sup>  |
|   |  | Fuerza mecánica                              | Chien, 1985  |
|   |  | Fuerza magnética                             | Hsieh y Langer, 1983   |
|   |  | Sonoforesis                                  | Kost, 1993; Tyle y Agrawala, 1989  |
|   |  | Iontoforesis                                 | Phoresor <sup>®</sup>  |
|   |  | Hidratación                                  | Syncro-Male-B <sup>®</sup> , Valrelease <sup>®</sup>   |
|   | Activación química                                   | pH   | Gupta et al., 2001a,b  |
|   |  | Fuerza iónica                                | Tussionex <sup>®</sup>   |
|   |  | Hidrólisis                                   | Lupron-Depot <sup>®</sup> , Zoladex <sup>®</sup>   |
|   | Activación bioquímica                                | Enzimas                                      | Morimoto y Fujimoto, 1985; Sezaki y Hashida, 1984; Heller y Pengburn, 1986   |
|   | Sistemas retroalimentados                            | Bio-erosionables                             | Retro-regulación   |
| De respuesta a un estímulo bioquímico                     |  | Horbett et al., 1984                         |  |
| Autorregulados (de respuesta a una necesidad fisiológica) |  | Kim et al., 1983; Jeong et al., 1984         |  |
| Sistemas dirigidos a dianas celulares                     | Reconocimiento y activación por receptores celulares | Unión específica a receptores de membrana    | Ringsdorf, 1978  |

Lo que antecede pone de manifiesto que son numerosas las estrategias desarrolladas para modificar la liberación de los fármacos y obtener un control espacial o temporal de las dosis administradas. Sin embargo, es escasa la información relativa a los factores reales que controlan la liberación en cada caso, siendo pocos los mecanismos propuestos para explicar como tiene lugar el control de la liberación. A continuación se revisan los principales modelos, mecanismos y ecuaciones que han sido propuestos para explicar la liberación del fármaco desde una forma farmacéutica, discutiendo sus fortalezas y debilidades.

### **I.1.3. MODELOS PARA EL AJUSTE DE CINÉTICAS DE LIBERACIÓN**

La liberación de un fármaco es un fenómeno complejo, que dependerá entre otros factores del quimismo, cristalinidad, solubilidad, cantidad y tamaño de partícula del fármaco (Salomon y Doelker, 1980; El-Arini y Leuenberger, 1995), de factores dependientes del medio donde tiene lugar la liberación, y por último, de los demás componentes de la formulación, del tipo de forma farmacéutica y del método de elaboración (Lauroba y Doménech, 1998; Aulton, 2004; Alhaique y Rossi, 2004). Resulta, en consecuencia, un fenómeno difícil de modelizar. Quizás por ello, son numerosas las ecuaciones planteadas para intentar relacionar la cantidad de fármaco liberado (Q) en función del tiempo (t). Los correspondientes modelos cinéticos destinados a describir la liberación desde formas de dosificación inmediata o modificada, se pueden agrupar en (Lauroba y Doménech, 1998; Costa y Sousa Lobo, 2001a; Siepman y Göpferich, 2001):

- Modelos matemáticos mecanicistas o reales, en los que la ecuación  $Q = f(t)$  tiene un sentido real y los parámetros que la constituyen surgen o se explican como resultado de un análisis teórico. Entre ellos se encuentran los denominados de orden 0, orden 1, modelo de la raíz cuadrada o de Higuchi y de la raíz cúbica o de Hixson-Crowell. El modelo conocido como “Ley de la Potencia” o modelo de Peppas, así como las modificaciones posteriores de

este modelo, son en esencia modelos empíricos, aún cuando en determinadas ocasiones puedan dar una explicación mecanicista de la liberación.

- Modelos matemáticos empíricos, basados en ecuaciones cuyo éxito reside no tanto en su naturaleza real o mecanicista y sí en su capacidad para ajustar distintas curvas experimentales. El ejemplo más usado es el denominado modelo de Weibull.

No obstante, a estos dos grupos ampliamente definidos en la bibliografía, podría añadirse un tercer apartado, correspondiente a los nuevos modelos que han surgido en los últimos años, y cuyo empleo generalizado aún está por materializarse.

### **I.1.3.1. MODELOS REALES O MECANICISTAS**

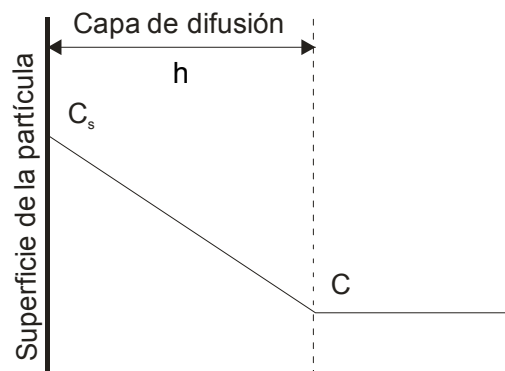
El planteamiento de modelos matemáticos reales para explicar el control de la liberación de un fármaco desde un SLM se fundamenta en una base científica que explica los mecanismos implicados en el transporte de masa que tiene lugar.

Las leyes básicas sobre las que se asientan estos modelos surgen hace más de un siglo, cuando Noyes y Whitney (Noyes y Whitney, 1897a) llevan a cabo los primeros experimentos de disolución de un sólido en un medio líquido, en los que observan que la velocidad de disolución es proporcional a la diferencia entre la concentración de sólido disuelta en cada instante y su solubilidad en el medio de disolución. Esta afirmación se expresa matemáticamente con la conocida ecuación:

$$\frac{dC}{dt} = k(C_s - C) \quad (\text{I.1})$$

donde  $dC/dt$  es la variación de concentración de sólido en solución por unidad de tiempo,  $k$  es una constante de velocidad que depende de las condiciones experimentales y tiene dimensiones de  $t^{-1}$ ,  $C$  es la concentración de sólido en solución libre a un tiempo  $t$  y  $C_s$  es la concentración a saturación del sólido en el medio de disolución.

La ecuación de Noyes-Whitney asume que la superficie del sólido permanece constante durante la disolución. En esas condiciones, los autores plantearon que la disolución tenía lugar en dos pasos consecutivos: disolución del sólido en la interfase sólido-líquido con la consiguiente formación de una fina capa de difusión alrededor de la superficie del sólido, seguida de la difusión del soluto desde esa capa saturada hacia el medio de disolución (Figura I.1.2.). El primer paso, rápido, es el responsable de la formación de una capa saturada de soluto en la interfase. El segundo, lento, viene limitado por la velocidad de disolución del sólido.



**Fig. I.1.2.** Esquema del modelo de capa de difusión, modificada de Lee et al., 2008.  $C_s$  (concentración de fármaco en la superficie de la partícula),  $C$  (concentración de fármaco en el medio de disolución),  $h$  (espesor de la capa de difusión).

Posteriormente, Noyes y Whitley estudiaron los efectos de la superficie de contacto sólido-líquido en la velocidad de disolución (Noyes y Whitley, 1897b), como también hicieron Brunner y Tolloczko (Brunner y Tolloczko, 1900), incluyendo además en sus estudios la velocidad de agitación y la temperatura. Como resultado de estos experimentos, se propuso incorporar a la ecuación (I.1) el valor del área del sólido accesible al medio de disolución:

$$\frac{dC}{dt} = k_1 S (C_s - C) \quad (\text{I.2})$$

donde  $k_1 S$  es igual a  $k$ , siendo  $S$  la superficie del sólido y  $k_1$  una constante con dimensiones de longitud<sup>2</sup>/t.



El desarrollo de la ecuación (I.2) en base al concepto de capa de difusión de la segunda ley de Fick, llevado a cabo de forma paralela por Brunner (Brunner, 1904) y Nernst (Nernst, 1904), condujo a la conocida como ecuación de Nernst-Brunner:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DS}{Vh}(C_s - C) \quad (I.3)$$

donde  $D/Vh$  es igual a  $k_1$ , siendo  $D$  el coeficiente de difusión,  $h$  el espesor de la capa de difusión y  $V$  el volumen del medio de disolución.

Las bases teóricas planteadas por Noyes y Whitney en el modelo de capa de difusión para explicar la disolución han sido usadas por numerosos autores para desarrollar modelos en los que la etapa limitante en la transferencia de soluto desde el sólido hacia el medio de disolución es siempre la difusión de las moléculas a través de esa capa o película en torno a la partícula sólida. De todos ellos, centraremos nuestra atención en aquellos que hoy en día siguen siendo empleados con cierta frecuencia para el ajuste de cinéticas de disolución y liberación.

No obstante, antes de tratar en detalle los modelos más empleados, resulta un deber citar al menos otros modelos planteados paralelamente a los difusionales. Así, en 1909, Wilderman propuso que la cinética de disolución dependía del transporte interfacial, más que de la difusión a través de la película, ya que su energía de activación es superior, en el que se conoce como modelo de barrera interfacial (Wilderman, 1909). Este modelo carece de un desarrollo matemático que lo haga aplicable al ajuste de datos de cinética de disolución, por lo que no suele considerarse. Asimismo, en 1951, Danckwerts propone otro modelo alternativo basado en la adsorción del soluto por parte del disolvente en continua renovación y posterior liberación en el seno de la solución (Danckwerts, 1951). Estos y otros modelos no han tenido acogida y apenas se emplean para el ajuste de cinéticas de disolución.

Por otra parte, antes de abordar de forma individual cada modelo, resulta práctico hacer unas consideraciones generales. Los modelos mecanicistas que plantean que la liberación es difusión dependiente se han desarrollado para ajustar datos de liberación desde sistemas reservorio y matriciales. Los primeros cumplen la segunda ley de Fick de la difusión, y el ajuste matemático de la liberación es sencillo si se supone que el dispositivo o sistema es esférico (Crank, 1975). Los segundos (matriciales) asumen que el fármaco se encuentra uniformemente distribuido en la matriz desde la que se libera, partiendo de dos situaciones: a) que la dosis de fármaco sea menor que la solubilidad en la matriz ( $C_0 < C_s$ ), esto es, que el fármaco está disuelto; b) que la dosis de fármaco presente en la matriz sea mayor que su solubilidad ( $C_0 > C_s$ ), y por tanto que el fármaco está disperso en la matriz. En el primer caso, de nuevo Crank plantea una solución cuando no exista resistencia a la transferencia de masa (Crank, 1975), mientras que Vergnaud propone una solución matemática asumiendo que la transferencia tiene lugar por convección (Vergnaud, 1993). Sin embargo, son mucho más frecuentes los sistemas de liberación en los que el fármaco está disperso. En ellos, se pueden distinguir dos zonas: una región de fármaco sin disolver y concentración  $C_0$ , y una región de fármaco disuelto desde la que tiene lugar la difusión. Los correspondientes modelos serán útiles, siempre que la separación entre estas dos regiones sea nítida, perdiendo validez si  $C_s$  se aproxima a  $C_0$ .

#### **I.1.3.1.1. Modelo de Orden Cero**

La denominación del modelo de orden cero surge de la base teórica desarrollada para el estudio cinético de reacciones químicas, en las que el término “orden” de reacción se refiere a la forma en que la concentración de una sustancia influye en la velocidad de una reacción química, de manera que se denomina “cinética de orden cero” aquella en la que la velocidad es independiente de la concentración.

En el medio biológico, la disolución de un sólido viene seguida de su absorción, por lo que la concentración de soluto se mantiene en valores discretos, muy alejados de su solubilidad (sobre todo en el caso de fármacos de alta permeabilidad). Esto permite

plantear una solución parcial de la ecuación (I.1) para el caso en que  $C \ll C_s$  (condiciones sumidero o “sink”, que simulan la liberación *in vivo*). En la práctica es suficiente que  $C < 0.2 C_s$ . En esas condiciones y puesto que para una determinada especie cristalina de un fármaco dado  $C_s$  es constante, la ecuación de Noyes-Whitney (I.1) puede escribirse como:

$$\frac{dC}{dt} = k \quad (I.4)$$

donde multiplicando por el volumen de disolución, obtenemos la ecuación que expresa la cantidad de fármaco liberado en el tiempo:

$$\frac{dQ}{dt} = k \quad (I.5)$$

Ecuación correspondiente al modelo cinético de orden cero, en el que la velocidad de disolución es constante e independiente de la cantidad de fármaco disuelto, asumiendo que el área desde la que se libera el fármaco sea constante (la forma farmacéutica no hincha, ni disgrega).

Al integrar la ecuación (I.5) entre tiempo 0 y t, obtenemos:

$$Q_t = Q_0 + K t \quad (I.6)$$

donde  $Q_t$  es la cantidad de fármaco liberado a tiempo t y  $Q_0$  es la cantidad inicial de fármaco en solución. Dado que  $Q_0$  suele ser igual a 0, la ecuación suele expresarse como:

$$Q_t = K t \quad (I.7)$$

Esta relación se emplea satisfactoriamente para el ajuste de datos de liberación obtenidos con SLM de tipo osmótico y reservorio. También se ha propuesto para

describir parcialmente la liberación de fármacos desde SLM de tipo matriciales (Brooke y Washkuhn, 1977; Kuu y Yalkowsar, 1985; Varelas et al., 1995).

#### I.1.3.1.2. Modelo de Orden Uno

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, en el modelo cinético de orden uno la velocidad de disolución es proporcional a la primera potencia de la concentración de fármaco disuelto.

A partir de la ecuación de Brunner y Tolloczko (I.2), asumiendo condiciones sumidero o “sink” y que  $C_s$  sea constante para un fármaco dado, obtenemos:

$$\frac{dC}{dt} = kS \quad (\text{I.8})$$

donde  $k$  es igual a  $k_1 C_s$ .

Como hicimos anteriormente, basta multiplicar por el volumen de disolución para obtener la ecuación que expresa la cantidad de fármaco liberado en el tiempo:

$$\frac{dQ}{dt} = kS \quad (\text{I.9})$$

Asumiendo, como proponen Hixson y Crowell (1931) y Gibaldi y Feldman (1967), que durante la disolución la forma del sólido no cambia, su superficie ( $S$ ) será proporcional a la cantidad de fármaco que quede por disolver:

$$S \propto (Q_\infty - Q_t) \quad (\text{I.10})$$

donde  $Q_\infty$  es la dosis de fármaco y  $Q_t$  es la cantidad de fármaco disuelto tiempo  $t$ .  
Sustituyendo en la ecuación (I.9) y separando las variables, obtenemos:

$$-\frac{dQ}{Q_{\infty} - Q_t} = k_1 dt \quad (\text{I.11})$$

donde  $k_1$  incluye la constante de proporcionalidad entre  $S$  y  $(Q_{\infty} - Q_t)$  y el signo menos indica la disminución de la cantidad de sólido al disolverse.

Integrando entre  $t_0$  y  $t$  (teniendo en cuenta el periodo de latencia ( $t_0$ )), se obtiene:

$$(Q_{\infty} - Q_t) = Q_{\infty} e^{-k_1(t-t_0)} \quad (\text{I.12})$$

Ecuación que podemos hacer lineal, tomando logaritmos neperianos. Por otra parte, despejando la cantidad disuelta en función del tiempo obtenemos la ecuación representativa de un proceso de orden uno:

$$Q_t = Q_{\infty} (1 - e^{-k_1(t-t_0)}) \quad (\text{I.13})$$

En 1959, Wagner demostró que la mayoría de las formas de liberación prolongadas cuya liberación se había estudiado en años precedentes, mostraban cinéticas de liberación *in vitro* de tipo pseudo- (aparente) orden uno (Wagner, 1959). Esto es, el modelo no era capaz de ajustar la primera parte de la curva de liberación. Algo parecido sucede con formas de liberación convencional (Schroeter et al., 1962).

Sin embargo, el modelo de orden uno ha sido empleado para el ajuste de cinéticas de liberación (Gibaldi y Feldman, 1967; Wagner, 1969), así como para describir la absorción y/o eliminación de algunos fármacos (Gibaldi y Perrier, 1982). En general, el modelo resulta incapaz de ajustar los primeros datos de liberación.

Mulye y Turco desarrollan un modelo basado en la cinética de orden uno para el ajuste de la liberación de fármacos muy solubles desde matrices insolubles de distintas geometrías (Mulye y Turco, 1994, 1995). Estos autores introducen el valor de área superficial y porosidad de la matriz en la constante de disolución, en función de su geometría. En un trabajo posterior, observan que en ausencia de interacción

entre el fármaco y la matriz, la constante de velocidad del modelo parece variar linealmente con la densidad de la matriz (Mulye y Turco, 1996).

### I.1.3.1.3. Modelo de Hixson-Crowell o de la Raíz Cúbica

En 1931 Hixon y Crowell proponen un modelo para el ajuste de datos de liberación a partir de la ecuación de Bruner y Tolloczko (I.2). Considerando  $Q_0$  la masa de una partícula de sólido a tiempo cero;  $Q$  la masa transcurrido un tiempo  $t$ ;  $Q_s$  la masa necesaria para saturar el medio de disolución en las condiciones experimentales (volumen, temperatura, etc.) a tiempo cero;  $S$  la superficie del sólido a tiempo  $t$ ,  $V$  el volumen de medio de disolución y  $d$  la densidad del sólido; la ecuación (I.2) se puede expresar como:

$$\frac{dQ}{dt} = -k_2 S (C_s - C) \quad (\text{I.14})$$

donde  $dQ/dt$  es la variación de la masa de sólido en función del tiempo,  $K_2$  es una constante positiva,  $C$  es la concentración de la solución a tiempo  $t$  y  $C_s$  es la concentración a saturación,  $S$  es la superficie del sólido, que no es constante, y el signo menos indica la disminución de la cantidad de sólido al disolverse. Al considerar que la superficie varía, Hixson y Crowell, introducen un nuevo enfoque al ajuste de las cinéticas de disolución.

Dado que  $Q_0 - Q$  es la cantidad disuelta a tiempo  $t$ , tenemos que:

$$C = \frac{Q_0 - Q}{V} \quad (\text{I.15})$$

y paralelamente;

$$C_s = \frac{Q_s}{V} \quad (\text{I.16})$$

Sustituyendo las ecuaciones (I.15) y (I.16) en la ecuación (I.14), obtenemos:

$$V\left(\frac{dQ}{dt}\right) = -k_2 S(Q_s - Q_o + Q) \quad (\text{I.17})$$

Asumiendo que todas las partículas que constituyen el sólido son isométricas (cuyo factor de forma es independiente de la longitud) y que no cambian de forma al disolverse, su superficie varía de acuerdo a:

$$S = \alpha V^{2/3} \quad (\text{I.18})$$

donde  $\alpha$  es una constante de proporcionalidad (factor de forma) que depende de la forma de la partícula, y dado que:

$$V = Qd \quad (\text{I.19})$$

donde  $d$  es la densidad del sólido.

Sustituyendo el valor de  $S$  (I.18) en la ecuación (I.17) obtenemos:

$$V\left(\frac{dQ}{dt}\right) = -k_3 Q^{2/3} (Q_s - Q_o + Q) \quad (\text{I.20})$$

donde  $K_3$  es una constante que considera la densidad del sólido y el factor de forma.

A partir de esta ecuación general (I.20), Hixson y Crowell plantean tres casos específicos:

**Caso 1.** Que la cantidad inicial ( $Q_o$ ) sea igual a la cantidad necesaria para saturar el medio ( $Q_s$ ), con lo que la ecuación (I.20) queda:

$$V\left(\frac{dQ}{dt}\right) = -k_3 Q^{5/3} \quad (\text{I.21})$$

Integrando se obtiene:

$$K_4 t = V(Q^{-2/3} - Q_0^{-2/3}) \quad (\text{I.22})$$

donde  $K_4$  es igual a  $2/3K_3$ .

**Caso 2.** La concentración en el medio de disolución (C) no varía o lo hace de forma despreciable. Equivale a las condiciones “sink”, frecuentes en los ensayos de liberación. En estas condiciones  $(C_s - C)$  es constante. A partir de las ecuaciones (I.14), (I.18) y (I.19) obtenemos:

$$\frac{dQ}{dt} = -k_5 Q^{2/3} \quad (\text{I.23})$$

donde  $K_5$  contiene el volumen de disolución. Integrando obtenemos:

$$k_6 t = (Q_0^{1/3} - Q^{1/3}) \quad (\text{I.24})$$

donde  $K_6$  es igual a  $1/3K_5$ . Esta es la ecuación que con mayor frecuencia se emplea para el ajuste de cinéticas de liberación, con el nombre de “ecuación de la raíz cúbica o de Hixson y Crowell”, que relaciona el tiempo de liberación con la raíz cúbica de la masa, en el caso especial de condiciones sumidero o “sink”.

**Caso 3.** Los autores plantean, por último, la solución de su ecuación general (I.20), cuando la superficie sea constante. Como era de esperar, el resultado conduce a la ecuación de Noyes-Whitney (I.1).



El modelo de Hixson y Crowell asume que:

- la disolución tiene lugar en un plano perpendicular a la superficie del sólido;
- la superficie del sólido es lisa;
- la forma del sólido es predominantemente esférica, pudiendo calcular su volumen y superficie en función de la masa;
- el sólido mantiene su forma al disolverse (sin fragmentarse);
- el medio es isótropo;
- el efecto de la agitación del medio no afecta a la disolución;
- la agitación permite una renovación constante del medio en torno a la partícula.

Estas premisas conducen a que el modelo, en palabras de sus autores, “no sea válido cuando no existe agitación”. Por otra parte, el modelo asume que la liberación está controlada por la velocidad de disolución de las partículas del fármaco y no por la difusión a través de la matriz polimérica. Asume asimismo que se cumplen las condiciones sumidero y que las partículas son isométricas y monodispersas.

A partir de la ecuación de Hixson y Crowell se han planteado otras destinadas a ser aplicadas en condiciones no “sink” (Patel y Carstensen, 1975; Pothisiri y Carstensen, 1973), cuando las partículas no sean esféricas (mediante la inclusión de un factor de forma) (Pedersen y Brown, 1975; Pedersen, 1977; Lai y Carstensen, 1978), o cuando el número de partículas sea elevado (incluido el caso de poblaciones polidispersas) (Carstensen y Musa, 1972; Brooke, 1973; Carstensen y Patel, 1975), o incluso asumiendo la presencia de una capa de difusión en torno a la partícula que se está disolviendo. En este sentido, Costa y Sousa Lobo proponen que la constante ( $k_6$ ) puede sustituirse por (Costa y Sousa Lobo, 2001a):

$$k_6 = \frac{k' N^{1/3} C_s D}{\delta} \quad (\text{I.25})$$

donde  $k'$  es una constante que depende de la superficie, forma y densidad de la partícula,  $N$  es el número de partículas (monodispersas),  $C_s$  es la concentración a saturación,  $D$  el coeficiente de difusión y  $\delta$  es el espesor de la capa de difusión en torno a las partículas.

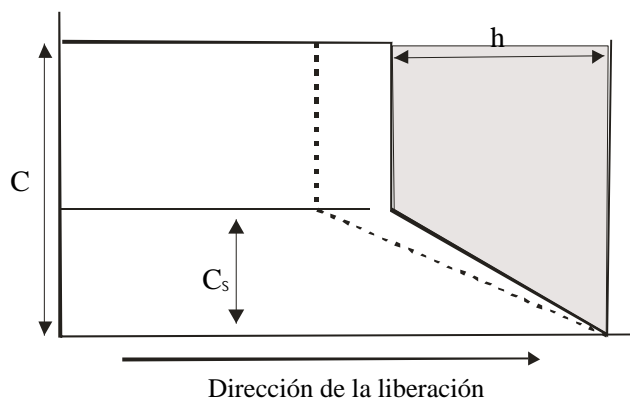
El modelo de Hixson y Crowell se ha empleado para el ajuste de datos de liberación asumiendo que la forma geométrica inicial se mantiene constante y se produce una disminución de superficie asociada a la disolución de la forma farmacéutica (Niebergall et al., 1963; Prista et al., 1995).

#### **I.1.3.1.4. Modelo de Higuchi o de la Raíz Cuadrada**

En 1961, Higuchi propuso un modelo para el ajuste de la cinética de liberación de fármacos suspendidos en bases de pomadas, asumiendo que:

- el diámetro de las partículas de fármaco dispersas sea mucho menor del espesor de la capa de pomada aplicada;
- la concentración inicial del fármaco en la base de la pomada ( $C$ ) sea mucho mayor que su solubilidad en la base ( $C_s$ );
- la superficie de aplicación de la pomada sea inmisible en la base y constituya un “sink” perfecto para el fármaco liberado.

Con estas premisas, y suponiendo que la liberación tiene lugar desde un plano perfecto, el perfil de concentración del fármaco transcurrido un tiempo  $t$  desde la administración se puede representar según la Figura I.1.3.



**Fig. I.1.3.** Perfil teórico de concentración en una pomada suspensión en contacto con un “sink” perfecto (modificado de Higuchi, 1961).

En el esquema de la Figura I.1.3., la línea continua representa la variación de la concentración de fármaco transcurrido un tiempo  $t$ , en una capa de pomada perpendicular a la superficie de aplicación. De izquierda a derecha, la concentración del fármaco permanece constante hasta una distancia  $h$  de la superficie, en la que disminuye bruscamente hasta un valor igual a  $C_s$ , a partir del cual, al aproximarnos a la superficie de aplicación, la concentración de fármaco disminuye siguiendo la primera ley de Fick. La línea punteada indica el desplazamiento del perfil de concentración transcurrido un intervalo adicional  $\Delta t$ , correspondiente con el crecimiento de la zona de agotamiento del fármaco. A tiempo  $t$  la cantidad de fármaco liberado ( $Q$ ) se corresponde con la zona sombreada en el diagrama.

De acuerdo con este modelo el fármaco en suspensión debe primero disolverse y, solo una vez disuelto (cuando  $C < C_s$ ), difundir a través del vehículo que constituye la pomada.

La cantidad de fármaco liberado ( $dQ$ ) dependerá del avance del frente de disolución ( $dh$ ):

$$dQ = Cdh - \sqrt{C_s}dh \quad (I.26)$$

Por otra parte, de acuerdo con la ley de Fick:

$$dQ/dt = DC_s/h \quad (\text{I.27})$$

donde D es el coeficiente de difusión del fármaco en el vehículo o base de la pomada. Sustituyendo la (I.26) en la (I.27) se obtiene:

$$\frac{(Cdh - \sqrt{C_s dh})}{dt} = \frac{DC_s}{h} \quad (\text{I.28})$$

o

$$\frac{h(2C - C_s)dh}{2DC_s} = dt \quad (\text{I.29})$$

Integrando ambos miembros de la ecuación (I.29) obtenemos:

$$t = \frac{h^2}{4DC_s} (2C - C_s) \quad (\text{I.30})$$

o

$$h = 2 \sqrt{\frac{DtC_s}{2C - C_s}} \quad (\text{I.31})$$

En base a la Figura I.1.3., es posible calcular, aplicando la fórmula del área del trapecio, la cantidad de fármaco liberado (Q) a tiempo t:

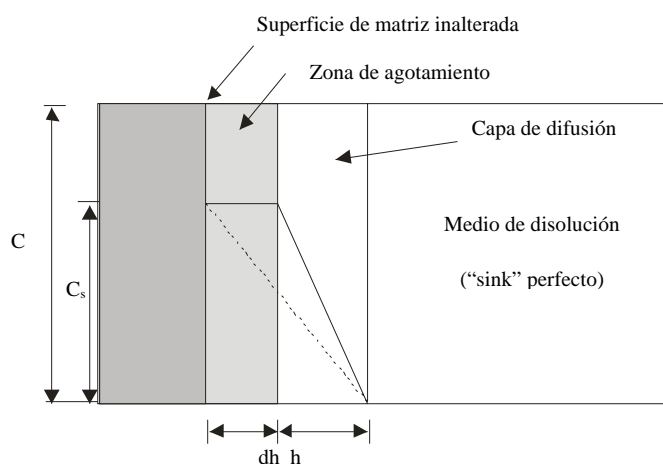
$$Q = hC - \frac{hC_s}{2} \quad (\text{I.32})$$

Sustituyendo la ecuación (I.31) en (I.32) obtenemos:

$$Q = 2 \sqrt{\frac{DtC_s}{2C - C_s}} (C - C_s) = \sqrt{Dt(2C - C_s)C_s} \quad (\text{I.33})$$

La ecuación (I.33) es válida para tiempos menores al agotamiento del fármaco en suspensión. De manera que la cantidad de fármaco liberado desde pomadas tipo suspensión resulta, de acuerdo a Higuchi, proporcional a la raíz cuadrada de la concentración del fármaco, a la constante de difusión, solubilidad del fármaco y tiempo.

Posteriormente, Higuchi planteó el empleo de su ecuación a la liberación desde matrices homogéneas y granulares (Higuchi, 1963). Cuando se trata de matrices no porosas (homogéneas), no hinchables y en las que el fármaco se encuentra uniformemente disperso, se asume que el fármaco se disuelve en el seno de la matriz y posteriormente difunde a través de esta hasta la superficie. Conforme el fármaco se va liberando, la distancia de difusión se hace mayor, de manera que la variación de concentración de fármaco liberado progresa siguiendo el perfil de la Figura I.1.4., similar al propuesto para pomadas suspensión (Figura I.1.3.). En estas condiciones puede emplearse la ecuación (I.33).



**Fig. I.1.4.** Esquema de una matriz sólida con detalle del desplazamiento del frente de difusión conforme se libera el fármaco (modificado de Martin, 1993).

En cambio, si la matriz presenta poros, primero debe entrar el medio de disolución a través de estos, por lo que resulta necesario introducir un factor de tortuosidad en la ecuación. Presuponiendo que la concentración de fármaco en la matriz es menor que su solubilidad y que la liberación del fármaco tiene lugar por lenta disolución y

posterior difusión a través de los poros formados en la matriz por el disolvente, la ecuación de Higuchi se puede expresar como:

$$Q = \sqrt{\frac{D\varepsilon}{\tau}(2C - \varepsilon C_s)C_s t} \quad (\text{I.34})$$

donde  $\varepsilon$  es la porosidad de la matriz y  $\tau$  es el factor de tortuosidad del sistema. La ecuación (I.34) asume además que el sistema no esté recubierto y que la geometría de la matriz no cambie durante la liberación.

Posteriormente, Lapidus y Lordi modificaron la ecuación (I.33) para describir la liberación de fármacos solubles en agua desde matrices hidrófilas de liberación prolongada, obteniendo (Lapidus y Lordi, 1966, 1968):

$$Q_t = Q_0(S/V)\sqrt{\frac{Dt}{\tau\pi}} \quad (\text{I.35})$$

donde  $Q_t$  es la cantidad de fármaco disuelto a tiempo  $t$ ,  $Q_0$  es la dosis de la matriz,  $S$  el área superficial,  $V$  el volumen del medio de disolución,  $D$  el coeficiente de difusión del fármaco en el medio y  $\tau$  la tortuosidad de la matriz.

De manera general, es posible agrupar las ecuaciones que genera el modelo de Higuchi en la “ecuación de la raíz cuadrada” o “modelo de Higuchi simplificado”:

$$Q = k_H \sqrt{t} \quad (\text{I.36})$$

donde  $k_H$  es la constante de disolución de Higuchi.

La ecuación (I.36) ha sido ampliamente usada para describir la liberación de fármacos desde distintos tipos de formas farmacéuticas, incluyendo sistemas transdérmicos (Costa et al., 1996) y matrices de administración oral (Desai et al.,

1965, 1966a,b; Schwartz et al., 1968a,b; Ford et al., 1985a,b; Gao et al., 1995; Sung et al., 1996; Talukdar y Kinget, 1997).

Recientemente, se ha propuesto un método matemático, basado en el cálculo del área bajo la curva por el método de los trapecios, capaz de determinar la desviación en el ajuste de datos de liberación cuando se emplea el modelo de Higuchi, (Gohel et al., 2000).

El análisis matemático de cinéticas de liberación basado en la difusión del fármaco desde la matriz que lo contiene presenta el inconveniente de que el frente de difusión se desplaza conforme el fármaco se libera. Higuchi resuelve este problema planteando un estado estacionario ( $C \gg C_s$  y condiciones “sink”) en el que es válida la primera ley de Fick. Este mismo planteamiento ha sido empleado para describir la liberación desde matrices esféricas con fármacos en suspensión (Koizumi y Panomsuk, 1995).

Paul y McSpadden proponen una modificación del modelo de Higuchi basándose en la segunda ley de Fick, obteniendo una solución analítica exacta para sistemas laminares en condiciones “sink” perfectas, útil sobretodo cuando  $C \leq C_s$  (Paul y McSpadden, 1976). Lee emplea la segunda ley de Fick para resolver el problema de transferencia de materia con frentes de difusión móviles en condiciones “sink”, concluyendo que es posible encontrar soluciones aproximadas más sencillas que la propuesta por Paul y McSpadden cuando  $C \leq C_s$ , y más precisas que la ecuación de Higuchi cuando  $C \gg C_s$  (Lee, 1980).

Durante años, la búsqueda de soluciones analíticas exactas, y basadas en la difusión, para describir la cinética de liberación de solutos dispersos (principalmente desde sistemas laminares) sigue siendo un problema matemático debatido y complejo, que los autores no pueden resolver sin tener que postular aproximaciones (Ayres y Lindstrom, 1977; Lindstrom y Ayres, 1977; Rhine et al., 1980; Chandrasekaran y Paul, 1982; Tojo, 1985). Más recientemente, Zhou y Wu proponen soluciones analíticas generales y simplificadas para ajustar la liberación de fármacos dispersos

en matrices de caras planas, aplicables a un amplio rango de casos prácticos, incluidas condiciones no “sink” y desplazamiento del frente de difusión (Zhou y Wu, 2002).

#### **I.1.3.1.5. Modelo de Peppas o “Ley de la Potencia”**

A partir de los años 70 se desarrollaron numerosos sistemas de liberación modificada con mecanismos basados en la difusión a través de matrices inertes o membranas, intercambio iónico, ósmosis, hinchamiento, etc. El ajuste de las cinéticas de liberación de estos sistemas mediante las ecuaciones planteadas hasta esa fecha era, con frecuencia, inapropiado. Empieza a resultar evidente que en numerosas ocasiones un solo mecanismo no es capaz de explicar el comportamiento de liberación. Wang y colaboradores (Wang et al., 1969) propusieron que la cinética de liberación es resultado de la contribución simultánea de la difusión y disolución, cuyo peso en la liberación dependerá del sistema objeto de estudio; por lo que ni la cinética de primer orden, ni la ecuación de Higuchi, serán capaces de ajustar el perfil de disolución. Estas ideas condujeron al desarrollo de un modelo empírico (o semiempírico) en el que se relacionaba la cantidad de fármaco liberado desde sistemas poliméricos hidrofílicos con el tiempo, y cuya exposición fue desarrollando y aplicando Nikolaos Peppas en colaboración con otros autores, en sucesivos trabajos (Peppas et al., 1980; Gurny et al., 1982; Langer y Peppas, 1981; Korsmeyer y Peppas, 1981; Korsmeyer et al., 1983; Sinclair y Peppas, 1984; Peppas, 1985; Ritger y Peppas, 1987a,b).

Peppas y colaboradores plantearon que el mecanismo de difusión se desvía con frecuencia de la difusión Fickiana, pudiendo seguir un comportamiento anómalo que denominan no-Fickiano, que puede explicarse empleando la siguiente ecuación:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_1\sqrt{t} + K_2t \quad (\text{I.37})$$



donde  $Q_t$  es la cantidad liberada a tiempo  $t$ ,  $Q_\infty$  es la cantidad de fármaco que se liberaría a tiempo infinito (por tanto,  $Q_t/Q_\infty$  es la fracción de fármaco liberado a tiempo  $t$ ). En el segundo término quedan reflejadas la contribución de la difusión ( $K_1 t^{1/2}$ ) y de la liberación independiente del tiempo (orden cero) ( $K_2 t$ ).

En realidad, de acuerdo con la solución de la segunda ley de Fick, propuesta por Crank (Crank, 1975):

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 4 \sqrt{\left(\frac{Dt}{\pi l^2}\right)} \left[ \sqrt{\pi} + 2 \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n \operatorname{ierfc} \frac{nl}{2\sqrt{Dt}} \right] \quad (\text{I.39})$$

y aproximando para “tiempos cortos” (primer 60% del total de fármaco liberado), obtenemos:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 4 \sqrt{\left(\frac{Dt}{\pi l^2}\right)} = K \sqrt{t} \quad (\text{I.40})$$

donde  $D$  es el coeficiente de difusión,  $t$  el tiempo y  $l$  el espesor de la película a través de la que difunde el fármaco.

Es evidente que la ecuación (I.40) es igual a la (I.36) propuesta por Higuchi, por lo que su validez estará limitada al ajuste de la primera parte (60%) de las curvas de liberación. Por el mismo motivo, la ecuación (I.37) propuesta por Peppas y colaboradores sólo será válida cuando  $Q_t/Q_\infty \leq 0.6$ .

De forma general, la ecuación (I.37) se puede escribir como:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = kt^n \quad (\text{I.38})$$

donde  $k$  es una constante cinética que refleja las características estructurales y geométricas del sistema polimérico y del fármaco,  $t$  el tiempo, y  $n$  es un exponente que informa del mecanismo de liberación que subyace (exponente difusional).

La ecuación (I.38) cuando  $n = 0.5$  se corresponde con la (I.40): difusión fickiana (para intervalos de tiempo cortos). Valores de  $n$  superiores a 0.5 se asocian a un mecanismo de difusión anómalo (no-fickiano). En particular, si  $n = 1$ , la ecuación que se obtiene es la de cinética de orden cero, que Peppas considera un caso límite de transporte no-fickiano, denominándolo “transporte de Caso II” (Langer y Peppas, 1981). Esta cinética se corresponde a la obtenida a partir de matrices poliméricas en las que el frente de hinchamiento del polímero avanza de forma constante. Valores de  $n > 1$  aparecen usualmente cuando el tiempo de liberación es muy elevado. Este tipo de mecanismo de difusión anómalo no-fickiano lo denominan “transporte de Supercaso II”. Por último, valores de  $n < 0.5$ , se asocian a la presencia de poros en la matriz polimérica, y la consiguiente difusión simultánea a través de la matriz hinchada y a través de los poros llenos de medio de disolución.

La Tabla I.1.III. recoge de forma resumida los posibles exponentes de la ecuación (I.38) y sus correspondientes mecanismos (Korsmeyer et al., 1983).

**Tabla I.1.III.** Resumen de los casos de transporte dependiendo del valor del exponente  $n$  de la ecuación (I.38).

| Exponente de liberación ( $n$ ) | Mecanismo de transporte del fármaco |
|---------------------------------|-------------------------------------|
| 0.5                             | Difusión según Fick                 |
| $0.5 < n < 1$                   | Transporte anómalo                  |
| 1.0                             | Transporte Caso II                  |
| $n > 1$                         | Transporte Super-caso II            |

La nomenclatura usada por Peppas está tomada de la empleada para denominar los mecanismos de adsorción de moléculas orgánicas en polímeros, cuando los datos no se ajustan al modelo de difusión Fickiano. Alfrey y colaboradores propusieron que, en ocasiones, la velocidad de transporte de la molécula orgánica adsorbida está controlada por la relajación del polímero, denominando a este mecanismo de transporte “Caso II”, para distinguirlo del mecanismo de difusión Fickiana, que

denominan “Caso I” (Alfrey et al., 1966). Posteriormente, Hopfenberg y Frisch describieron los mecanismos de transporte que se presentan en sistemas polímero/sorbato orgánico, planteando que con frecuencia, los dos “Casos” descritos por Alfrey y colaboradores aparecen simultáneamente (Hopfenberg y Frisch, 1969).

La ecuación (I.38) presenta las siguientes limitaciones:

- requiere condiciones sumidero perfectas;
- los coeficientes de difusión deben ser independientes de la concentración;
- no es aplicable a valores superiores al 60% de cantidad liberada;
- la liberación debe tener lugar en una sola dimensión.

En relación con la última limitación, Peppas describió otra importante condición de su ecuación (Peppas, 1985). En concreto, planteó que su uso solo era adecuado cuando la forma del sistema fuese laminar, con una relación (largo/espesor o ancho/espesor) de al menos 10/1. Su empleo en sistemas de forma esférica o cilíndrica estará limitado a un ajuste aproximado, a causa de factores geométricos y matemáticos.

Enscore y colaboradores plantearon un modelo matemático donde desarrollaron el “Caso II” para diferentes geometrías de sorbente (esferas, cilindros y láminas) (Enscore et al., 1977), que será usado por Peppas y colaboradores para resolver la limitación de la ecuación (I.38). En concreto, en dos trabajos del año 1987, abordaron el empleo del “modelo de Peppas” a los datos de liberación obtenidos en sistemas poliméricos no hinchables (Ritger y Peppas, 1987a) e hinchables (Ritger y Peppas, 1987b). En el primero de ellos, reconocían la necesidad de estudiar la dependencia del exponente  $n$  en función de la geometría del sistema. En este sentido, aceptaban que la interpretación de los valores de  $n$  al aplicar la ecuación (I.37) a la liberación desde sistemas cilíndricos o esféricos no podía hacerse con los valores límites planteados en sistemas laminares (Tabla I.1.III.), siendo tan solo válida para el primer 15% de los datos de liberación. Para poder ampliar su empleo al primer

60% (como en sistemas laminares), era necesario definir nuevos valores límite del exponente, que quedan recogidos en la Tabla I.1.IV.

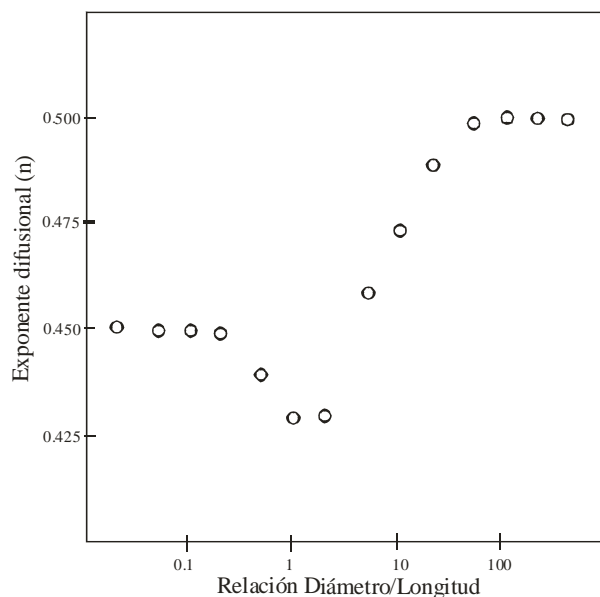
**Tabla I.1.IV.** Valor del exponente  $n$  y mecanismo de liberación difusional para sistemas no hinchables de distinta geometría (modificado de Ritger y Peppas, 1987a).

| Exponente de liberación ( $n$ ) |                |                | Mecanismo de liberación del fármaco |
|---------------------------------|----------------|----------------|-------------------------------------|
| Laminar                         | Cilíndrico     | Esférico       |                                     |
| 0.5                             | 0.45           | 0.43           | Difusión Fickiana                   |
| $0.5 < n < 1$                   | $0.45 < n < 1$ | $0.43 < n < 1$ | Transporte anómalo (no-fickiano)    |
| 1                               | 1              | 1              | Transporte Caso II                  |

Como se observa, tan solo cuando la liberación es de orden cero ( $n = 1$ ) el exponente permanece constante, con independencia de la geometría. No obstante, en el caso de cilindros y esferas no se corresponde con un transporte Caso II, y tan solo que es un transporte no-fickiano.

En relación con la geometría del sistema, resulta interesante plantear la liberación tridimensional desde un sistema no hinchable con forma de comprimido. Ritger y Peppas determinaron los valores de  $n$  correspondientes a la liberación desde cilindros con diferente relación diámetro/longitud ( $D/L$ ), obteniendo los resultados que se muestran en la Figura I.1.5. (Ritger y Peppas, 1987a). Como se observa, cuando la relación  $D/L$  es mayor de 50 (geometría laminar) el valor del exponente es 0.5; en cambio, cuando la relación  $D/L$  es igual o inferior a 0.2 (cilindros muy alargados), el exponente es 0.45. En ambos casos límite la difusión puede suponerse unidimensional, dado que es mucho mayor en una de las dimensiones del espacio que en las otras. La transición entre la difusión unidimensional desde un plano a un cilindro no es lineal, presentando un valor mínimo (0.43) cuando la relación  $D/L$  es igual a 1.

Posteriormente se ha demostrado que la ecuación (I.38) se puede plantear como una solución específica de una ecuación general para describir la liberación de fármacos en dirección radial y axial desde sistemas matriciales cilíndricos (Kosmidis et al., 2003a).



**Fig. I.1.5.** Relación entre la forma de un sistema de liberación cilíndrico y el valor de  $n$  (modificado de Ritger y Peppas, 1987a).

Ritger y Peppas abordaron también la situación que se presenta cuando se aplica la ecuación (I.38) a los datos de liberación desde un sistema constituido por una distribución polidispersa de partículas esféricas (Ritger y Peppas, 1987a). En esencia, la presencia de partículas de pequeño tamaño acelera la velocidad de liberación al inicio, mientras que la presencia de partículas grandes, disminuye la velocidad a partir de cierto tiempo. No obstante, y de acuerdo con sus datos, el efecto sobre el exponente difusional es despreciable, a menos que el intervalo de tamaños sea muy grande. Por último, en ese mismo trabajo plantearon la aplicación de la ecuación cuando la concentración de fármaco en el medio de disolución aumenta exponencialmente hasta alcanzar el equilibrio, para concluir que la ecuación (I.38) no puede explicar esta situación.

#### **I.1.3.1.6. Modelo de Baker-Lonsdale**

Este modelo, desarrollado a partir del modelo de Higuchi, describe la liberación de fármacos desde matrices de forma esférica (Baker y Lonsdale, 1974). La expresión matemática del modelo es la siguiente:

$$\frac{3}{2} \left[ 1 - \left( 1 - \frac{Q_t}{Q_\infty} \right)^{2/3} \right] - \frac{Q_t}{Q_\infty} = \frac{3D_m C_{ms} t}{r_0^2 C_0} \quad (\text{I.41})$$

donde  $Q_t$  es la cantidad de fármaco liberada a un tiempo  $t$ ,  $Q_\infty$  la cantidad de fármaco liberada a tiempo infinito,  $D_m$  el coeficiente de difusión,  $C_{ms}$  la solubilidad del fármaco en la matriz,  $r_0$  el radio de la matriz esférica y  $C_0$  la concentración inicial del fármaco en la matriz.

Posteriormente el modelo fue modificado para aplicarlo al ajuste de datos de disolución desde matrices no homogéneas (porosas) (Seki et al., 1980):

$$\frac{3}{2} \left[ 1 - \left( 1 - \frac{Q_t}{Q_\infty} \right)^{2/3} \right] - \frac{Q_t}{Q_\infty} = \frac{3D_f C_{fs} \varepsilon t}{r_0^2 C_0 \tau} \quad (\text{I.42})$$

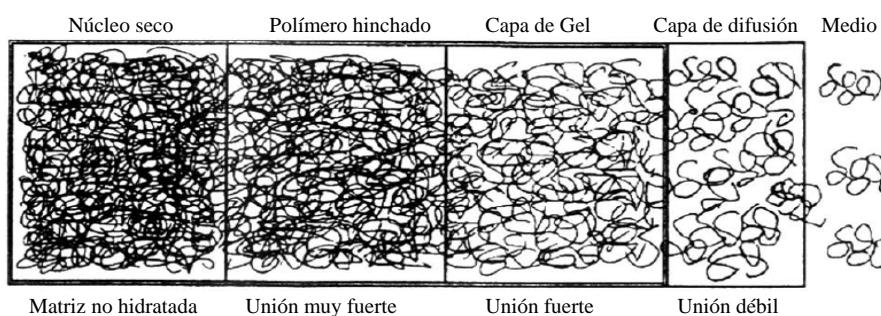
donde  $D_f$  es el coeficiente de difusión,  $C_{fs}$  la solubilidad del fármaco en el medio de disolución,  $\tau$  un factor que expresa la tortuosidad del sistema y  $\varepsilon$  la porosidad de la matriz.

Esta ecuación ha sido empleada para el ajuste de datos de liberación desde microesferas y microcápsulas (Seki et al., 1980; Jun y Lai, 1983; Chang et al., 1986; Shukla y Price, 1989, 1991; Bhanja y Pal, 1994).

### **I.1.3.1.7. Modelos para Sistemas Hinchables**

El empleo de polímeros hinchables en el diseño de formas de liberación modificada permite alcanzar un mayor control de la liberación del fármaco, especialmente cuando el coeficiente de difusión del fármaco en el polímero hinchado es muy bajo. Con esta premisa, los sistemas hinchables suelen estar constituidos por polímeros hidrófilos, que en presencia de agua originan el correspondiente coloide, alejando las cadenas poliméricas (Figura I.1.6). La matriz polimérica hincha generando una capa

de gel donde la movilidad del fármaco aumenta. En el extremo del gel en contacto con el disolvente, la concentración polimérica es muy baja y la asociación entre cadenas muy débil, lo que determina su disolución en el medio. De manera que, en sistemas hinchables, se observa una desviación del modelo de Fick, dado que la liberación del fármaco no está controlada sólo por la difusión de las moléculas en el seno de la matriz, sino también por la separación y disolución de las cadenas poliméricas.

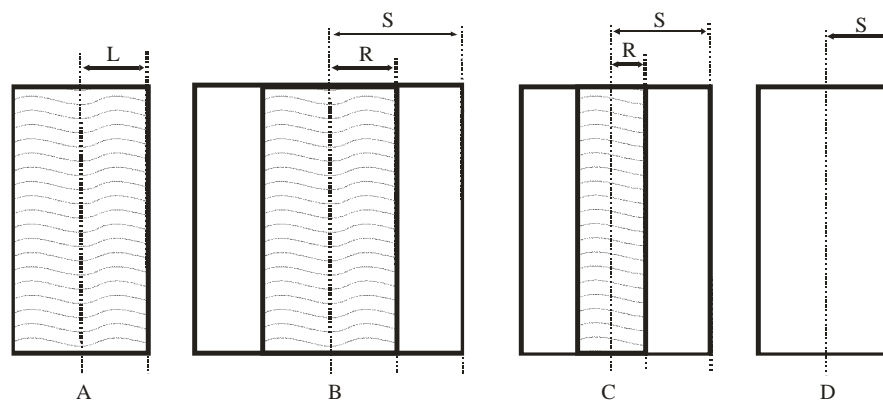


**Fig. I.1.6.** Representación esquemática del nivel de disociación de las cadenas de polímero en la matriz, desde la zona aún seca hacia el medio de disolución (modificado de Arifin, 2006).

#### 1.1.3.1.7.1. Modelos de Hinchamiento/Disolución

En el decenio 1987-1997, el grupo del Profesor Nikolaos Peppas estudia la disolución de polímeros partiendo de la base de que la disolución de polímeros hinchables es el resultado de dos fenómenos: la penetración del disolvente y la disolución del polímero propiamente dicha (Lee y Peppas, 1987; Harland et al., 1988; Peppas et al., 1994; Narasimhan y Peppas, 1996a,b, 1997). De manera que, simultáneamente al hinchamiento, las cadenas poliméricas se disuelven en el medio, siempre y cuando la estructura tridimensional polimérica no esté reforzada por enlaces permanentes entre cadenas (“cross-links”). En consecuencia, es necesario desarrollar un modelo específico que explique la disolución del polímero cuando viene acompañada de su hinchamiento. Tu y Ouano habían propuesto años antes un modelo matemático que trataba por separado la difusión del líquido en el polímero, la difusión del polímero en el líquido y el desplazamiento de la interfase polímero/medio de disolución, concluyendo que la disolución de las cadenas poliméricas estará controlada por el fenómeno más lento, sea este el hinchamiento o

la disociación de las mismas (Tu y Ouano, 1977). De acuerdo con este modelo, al poner en contacto una matriz polimérica de caras planas con un disolvente, y transcurrido un cierto tiempo, aparecerán dos superficies límites (interfases): una interfase polímero seco/polímero hinchado, inducida por la penetración del disolvente en la matriz; y otra interfase polímero hinchado/disolvente, en la que el polímero empieza a disolverse, una vez alcanzada una concentración crítica de solvente capaz de desenmarañar la red polimérica (Figura I.1.7). El proceso transcurre de manera que inicialmente la primera interfase (R, que delimita la zona de hinchamiento) se desplaza hacia el interior de la matriz polimérica, mientras que la interfase S (de disolución) lo hace hacia el exterior. Cuando el polímero, en la segunda interfase (S), alcanza su equilibrio termodinámico con el medio que lo rodea, el frente S disuelve, desplazándose ahora hacia la matriz.



**Fig. I.1.7.** Representación esquemática de los fenómenos de difusión unidimensional de solvente y disolución del polímero al poner en contacto una matriz de espesor  $L$  con un solvente en el que hincha: (A) espesor inicial ( $2L$ ) a tiempo cero; (B) etapa inicial de hinchamiento, con indicación de la distancia desde el centro de la matriz a la interfase polímero hinchado/disolución (S) y polímero no hinchado/polímero hinchado (R); (C) comienzo de la disolución del polímero con disminución de las distancias hasta las dos interfases; (D) etapa final en la que todo el polímero ha hinchado (desaparece la interfase R) y disminuye la distancia hasta la interfase S (modificado de Lee y Peppas, 1987).

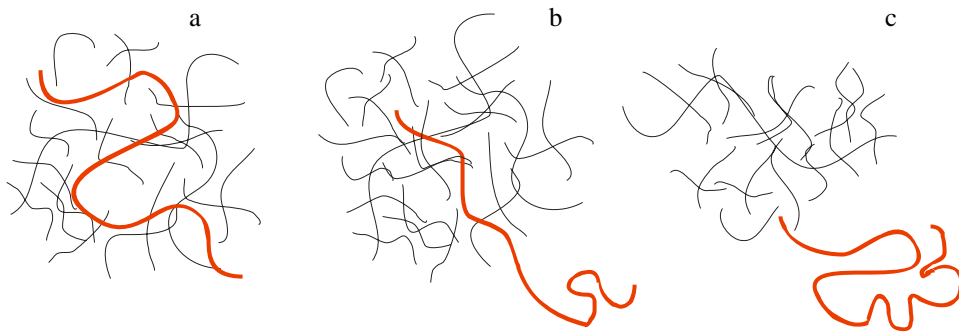
La correspondiente descripción matemática asume que coexisten dos procesos de transferencia de materia: la entrada de disolvente en la matriz y la salida del polímero una vez disuelto. Suponiendo que el espesor de la película polimérica a tiempo cero es muy pequeño, es posible aplicar la Ley de Fick y obtener una relación



(aproximada) entre el espesor de la capa de hinchamiento y la raíz cuadrada del tiempo de hinchamiento/disolución (Lee y Peppas, 1987).

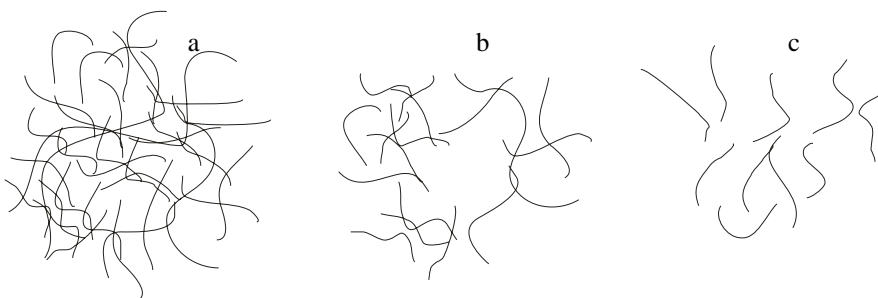
Posteriormente, el Profesor Peppas en colaboración con el grupo de investigación del Profesor Paolo Colombo, de la Universidad de Parma, propuso una nueva teoría en base a la cual en la capa de gel se pueden distinguir dos zonas: una primera donde el fármaco no está todavía disuelto; y una segunda donde el fármaco se encuentra ya en su estado molecular, y cuyo espesor representa el parámetro mas importante que influencia la liberación (Colombo et al., 1996). Esta colaboración permitió además a los dos grupos desarrollar una técnica para visualizar los frentes de hinchamiento, difusión y erosión en matrices cilíndricas de hydroxypropylmetilcelulosa de elevado peso molecular (Bettini et al., 2001). Posteriormente, otros investigadores propusieron un modelo matemático para estimar la posición de los frentes en función del tiempo, con numerosas condiciones, entre las que destacan que sólo plantean la liberación del fármaco en dirección radial y que la dosis de fármaco debe superar el 30% del peso total de la matriz (Kii y Dam-Johansen, 2003).

Por otra parte, basándose en dos modelos que planteaban que la cinética de disolución de los polímeros hinchables está controlada por la relajación de las tensiones que existen en el gel polimérico (Brochard y de Gennes, 1983) y por la velocidad de deslizamiento (“reptation”) de las cadenas de polímero en el gel (Papanu et al., 1989) (Figura I.1.8.), Peppas y colaboradores desarrollaron y aplicaron a distintos sistemas poliméricos un nuevo modelo para describir la cinética de disolución de polímeros hinchables (Peppas et al., 1994; Narasimhan y Peppas, 1996a,b).



**Fig. I.1.8.** Esquema de la salida de una cadena de polímero desde un gel polimérico denso (a), pasando por una etapa en la que la cadena empieza a separarse del resto (b), hasta alcanzar su total disolución en el medio circundante (c) (modificado de Narasimhan y Peppas, 1996a).

De acuerdo con este modelo, la disolución del polímero en un medio en el que hincha puede abordarse asumiendo la existencia de tres zonas diferenciadas: el polímero hinchado (“zona concentrada”), la zona correspondiente a la cara interna de la interfase solvente-polímero hinchado (“zona semidiluida”) y la cara externa de dicha interfase (“zona diluida”). Estas tres zonas se corresponden con el modelo molecular de disolución progresiva de un gel polimérico representado en la Figura I.1.9. Con estas premisas, los autores procedieron al cálculo de ecuaciones independientes para cada una de las zonas, realizando distintas aproximaciones, y asumiendo una difusión unidimensional del solvente y un espesor discreto de la matriz polimérica.



**Fig. I.1.9.** Esquema de la progresiva disolución de un gel polimérico en un sistema de liberación controlada: (a) antes de que comience la disolución, no hay separación entre las cadenas del sistema hinchado (“zona concentrada”), (b) el comienzo de la disolución en la capa de difusión (cara interna de la interfase solvente/polímero hinchado) conduce a la “zona semidiluida” de espesor constante, (c) la disolución se completa y las cadenas muestran movimiento browniano en la “zona diluida” (modificado de Narasimhan y Peppas, 1996b).

Los modelos de hinchamiento/disolución, que acabamos de exponer muy brevemente, condujeron al planteamiento de un nuevo modelo para el ajuste de datos de liberación de fármacos desde sistemas controlados por la disolución (Narasimhan y Peppas, 1997). Suponiendo una película polimérica hidrófila e hinchable, de espesor inicial ( $2l$ ) cargada con una concentración ( $v_{d,0}$ ) de un fármaco hidrosoluble, al ponerla en contacto con agua o un medio biológico hinchará, debido a la penetración del agua y consiguiente transición vítrea del polímero, para dar lugar a las interfases R y S antes expuestas hasta la completa desaparición del núcleo no hinchado (Figura I.1.7.).

Suponiendo que la difusión del agua y del fármaco en el seno del polímero es unidimensional, y que está controlada por el proceso global de hinchamiento/disolución del polímero, el sistema agua/polímero/fármaco se comportará de manera que es posible plantear la siguiente ecuación para el ajuste de la cinética de liberación del fármaco:

$$\frac{Q_d}{Q_{d,\infty}} = \frac{\sqrt{B}(v_{d,eq} + v_d^*)}{2l} (\sqrt{2\alpha t} + \sqrt{Bt}) \quad (I.43)$$

donde  $Q_d$  es la cantidad de fármaco liberada a tiempo  $t$ ;  $Q_{d,\infty}$ , la cantidad liberada a tiempo infinito;  $v_d^*$  y  $v_{d,eq}$  son las fracciones de volumen de fármaco, en el equilibrio, en las interfases R y S, respectivamente;  $2l$  el espesor inicial de la película polimérica; por último,  $B$  y  $\alpha$  vienen dados por:

$$B = \frac{k_d}{v_{1,eq} + v_{d,eq}} \quad (I.44)$$

$$\alpha = \frac{A}{B} \quad (I.45)$$

donde  $k_d$ , es la constante de velocidad de disociación de las cadenas poliméricas,  $v_{1,eq}$  la fracción de volumen de agua en el equilibrio en la interfase R y A viene dada por:

$$A = D_1(v_{1,eq} - v_1^*) \left[ \frac{v_{1,eq}}{v_{1,eq} + v_{d,eq}} + \frac{1}{v_1^* + v_d^*} \right] + D_d(v_d - v_{d,eq}) \left[ \frac{v_{d,eq}}{v_{1,eq} + v_{d,eq}} + \frac{1}{v_1^* + v_d^*} \right] \quad (I.46)$$

donde  $D_1$  y  $D_d$ , son los coeficientes de difusión del agua y del fármaco en el polímero, respectivamente.

De manera que, de acuerdo con la ecuación (I.43), bajo condiciones de “cuasi-estado estacionario”, la cantidad de fármaco liberada ( $Q_d$ ) normalizada respecto a la cantidad liberada a tiempo infinito ( $Q_{d,\infty}$ ), dependerá de la raíz cuadrada el tiempo.

Resulta evidente que el modelo se basa en la superposición del proceso de difusión fickiana y de disolución: el parámetro A se asocia al fenómeno difusional, mientras que B lo hace a la disociación (disolución) de las cadenas poliméricas. De manera que si uno de los dos fenómenos predomina, es posible simplificar la ecuación (I.43). Las dos situaciones límites se corresponden con:

A  $\gg$  B

$$\frac{Q_d}{Q_{d,\infty}} = \sqrt{\frac{A(v_{d,eq} + v_d^*)}{2l}} \sqrt{t} \quad (I.47)$$

B  $\gg$  A

$$\frac{Q_d}{Q_{d,\infty}} = \frac{k_d(v_{d,eq} + v_d^*)}{2l(v_{d,eq} + v_{1,eq})} t \quad (I.48)$$

De acuerdo con la ecuación (I.47), si la liberación del fármaco está controlada únicamente por la disociación del polímero, es posible obtener una cinética de orden cero (transporte Caso II, velocidad independiente del tiempo). En concreto los

autores indican que cuando el sistema disolvente/polímero/fármaco cumple con  $2A/B^2 \ll 1$ , la cinética resultante será de orden cero (Narasimhan y Peppas, 1997).

#### *1.1.3.1.7.2. Modelo de Peppas y Sahlin*

Peppas y colaboradores estudiaron la aplicación de la ley de la potencia a sistemas de liberación hinchables (Ritger y Peppas, 1987b; Peppas y Sahlin, 1989). Empezaron asumiendo que el sistema no debe hinchar más allá del 25% de su volumen inicial. En esas condiciones planteaban que el exponente difusional podría dar información del mecanismo de liberación del fármaco desde el sistema polimérico hinchable. No obstante, reconocían la dificultad para encontrar soluciones analíticas al problema que genera la presencia de un frente de difusión que se desplaza debido al hinchamiento del sistema. El mecanismo de liberación será el resultante del efecto de la relajación macromolecular que produce el hinchamiento y de la difusión del fármaco a través del polímero hinchado, dependiendo de la relación difusión-relajación (Lee, 1985). La correspondiente modelización de este tipo de situaciones, conocidas como problemas difusionales con frentes en movimiento o de Stefan-Neumann (Lee, 1985), requiere de ecuaciones complicadas (Crank, 1984), que no obstante no conducen a soluciones analíticas exactas, siendo necesario plantear soluciones numéricas (Ritger y Peppas, 1987b).

En concreto, el desarrollo del modelo de difusión cuando simultáneamente tiene lugar la relajación del polímero, conduce, a partir de la ecuación (I.38), a la siguiente ecuación (Peppas y Sahlin, 1989):

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_1 t^m + K_2 t^{2m} \quad (\text{I.49})$$

donde el fenómeno difusional se corresponde con el primer sumando, mientras que el fenómeno de relajación se corresponde con el segundo, dado que se asume que ambos son aditivos (Alfrey et al., 1966). En concreto, la ecuación (I.49), recoge la contribución de la difusión fickiana y de la relajación polimérica (Caso II). El

coeficiente “m” es el exponente de difusión fickiano, válido para cualquier geometría del sistema de liberación.  $K_1$  es la constante correspondiente a la difusión, mientras que  $K_2$  se corresponde con la relajación del polímero.

La ecuación (I.49) puede escribirse:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_1 t^m \left[ 1 + \frac{K_2 t^{2m}}{K_1 t^m} \right] = K_1 t^m \left[ 1 + \frac{K_2}{K_1} t^m \right] \quad (\text{I.50})$$

El porcentaje de la liberación correspondiente a la difusión fickiana (F), vendrá dado por:

$$F = \frac{1}{1 + \frac{K_2}{K_1} t^m} \quad (\text{I.51})$$

Y por tanto, la relación entre porcentaje liberado por relajación (R) y por difusión (F) será:

$$\frac{R}{F} = \frac{K_2}{K_1} t^m \quad (\text{I.52})$$

Por tanto, la liberación del soluto desde cualquier sistema polimérico, independientemente de su forma geométrica, puede describirse como la suma de dos mecanismos: la difusión de acuerdo con la Ley de Fick y la relajación y consiguiente hinchado de la estructura polimérica. Si el polímero no hincha, la ecuación (I.49) se hace (I.38), siendo  $m = n$ . La aplicación de la ecuación (I.49) a sistemas hinchables, genera los exponentes difusionales recogidos en la Tabla I.1.V.

**Tabla I.1.V.** Valor del exponente  $m$  y mecanismo de liberación difusional para sistemas hinchables de distinta geometría (modificado de Peppas y Sahlin, 1989).

| Exponente de liberación ( $m$ ) |                   |                   | Mecanismo de liberación del fármaco |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------------|
| Laminar                         | Cilíndrico        | Esférico          |                                     |
| 0.5                             | 0.45              | 0.43              | Difusión Fickiana                   |
| $0.5 < m < 1$                   | $0.45 < m < 0.89$ | $0.43 < m < 0.85$ | Transporte anómalo (no-fickiano)    |
| 1.0                             | 0.89              | 0.85              | Transporte Caso II                  |

Como criterio para predecir si el transporte en el seno de una matriz polimérica está controlado por la difusión o por la relajación, resulta útil emplear el parámetro propuesto por Vrentas y colaboradores, denominado “numero Deborah de difusión,  $(DEB)_D$ ” (Vrentas et al., 1975):

$$(DEB)_D = \frac{\lambda_m}{\theta_D} \quad (I.53)$$

donde  $\lambda_m$  es el tiempo de relajación medio del sistema disolvente/polímero y  $\theta_D$  es un tiempo de difusión característico, que viene dado por  $L^2/D_s$  (donde  $L$  es el espesor de la muestra y  $D_s$  el coeficiente de difusión en el disolvente).

De acuerdo con lo propuesto por los autores se pueden producir los siguientes casos (Vrentas et al., 1975):

- si  $(DEB)_D \ll 1$  o  $(DEB)_D \gg 1$ , la difusión fickiana tendrá lugar en el estado hinchado o seco;
- si  $(DEB)_D \cong 1$ , el transporte no fickiano (anómalo), incluyendo el Caso II, se adelantará dependiendo de la importancia relativa de los procesos de difusión fickiana y relajación del polímero.

Con el mismo objetivo, Peppas y colaboradores introducen el “número de la interfase de hinchamiento,  $S_w$ ” para el estudio del transporte mono-dimensional del fármaco en el seno de matrices poliméricas (Korsmeyer y Peppas, 1983; Peppas y Franson, 1983), que viene dado por:

$$S_w = \frac{v\delta(t)}{D} \quad (\text{I.54})$$

donde  $v$  es la velocidad del frente de penetración,  $\delta(t)$  el espesor tiempo-dependiente de la fase hinchada y  $D$  el coeficiente de difusión de la fase hinchada.

El número  $S_w$  permite comparar las movilidades relativas del disolvente que penetra y del fármaco que sale de la matriz, conforme se produce la relajación del polímero, de manera que:

- si  $S_w \ll 1$ , la velocidad de difusión del fármaco a través de la región hinchada es mucho mayor que la velocidad con la que el frente polímero seco/polímero hinchado avanza y la cinética de liberación será de orden cero;
- si  $S_w \gg 1$ , la velocidad del frente de hinchamiento es mayor que la velocidad de difusión del fármaco y se observará una liberación fickiana;
- si  $S_w \cong 1$ , la liberación no fickiana se adelanta en el tiempo.

La relación entre los parámetros adimensionales ( $(DEB)_D$  y  $S_w$ ) y el mecanismo de liberación, así como los valores del exponente  $m$  de la ecuación (I.49) en los distintos casos, se recogen en la Tabla I.1.VI.

**Tabla I.1.VI.** Parámetros de difusión en polímeros (modificado de Lee, 1985).

| Mecanismo de liberación          | Parámetro |                   |           |
|----------------------------------|-----------|-------------------|-----------|
|                                  | $m$       | $(DEB)_D$         | $S_w$     |
| Difusión Fickiana                | 0.5       | $\ll 1$ o $\gg 1$ | $\gg 1$   |
| Transporte anómalo (no-fickiano) | $> 0.5$   | $\cong 1$         | $\cong 1$ |
| Transporte Caso II               | 1         | $\cong 1$         | $\ll 1$   |

Años más tarde, el Profesor Peppas, en colaboración con las Universidades de Parma y Pavía definió un nuevo número adimensional (“número del área de hinchamiento,  $S_a$ ”) para describir el transporte del fármaco en sistemas tridimensionales (comprimidos), teniendo en cuenta el incremento del área de la matriz en el tiempo (velocidad del frente de disolución) (Colombo et al., 1992).



Las ecuaciones (I.38) y (I.49) se han usado ampliamente para ajustar los perfiles de liberación de fármacos desde matrices poliméricas de distinta naturaleza, tanto hinchables (Ford et al., 1987; Conte et al., 1988; Skoug et al., 1993; Bettini et al., 1994; Conte et al., 1994; Kim, 1995; Colombo et al., 1999; Rekhi et al., 1999; Losi et al., 2006), como inertes (Sangalli et al., 1994). Asimismo, han sido propuestas y aplicadas modificaciones de ambas ecuaciones para el ajuste de datos de liberación desde matrices hinchables con tiempo de latencia (Ford et al., 1991; Pillay y Fassihi, 1999) o efecto “burst” inicial (Wolfram y Lippold, 1995; Kim y Fassihi, 1997).

#### *1.1.3.1.7.3. Modelo de la “capa secuencial”*

En 1999 los grupos de las Universidades de Purdue y Berlín inician una colaboración que conduce al desarrollo de un nuevo modelo para el ajuste de cinéticas de liberación de fármacos solubles en agua desde sistemas poliméricos de hidroxipropilmetilcelulosa (comprimidos de caras planas), combinando los mecanismos de difusión, hinchamiento y disolución (Siepmann et al., 1999a,b). De acuerdo con este modelo, durante la liberación tienen lugar los siguientes acontecimientos:

- inicialmente el agua penetra en la matriz polimérica por difusión, cuya cinética dependerá de la geometría del sistema, las direcciones (axial y radial) de transporte de masa, y la dependencia de la constante de difusión respecto del grado de hinchamiento de la matriz (según una ley exponencial). De manera que inicialmente el coeficiente de difusión del agua será muy pequeño, aumentando al hinchar el polímero, hasta aproximarse al valor del agua pura;
- la entrada de agua da lugar al hinchamiento del sistema, cambiando dramáticamente las concentraciones de polímero y de fármaco, así como las dimensiones del sistema y la movilidad de las cadenas poliméricas;
- al aumentar el contenido en agua, aumenta el coeficiente de difusión del fármaco, que empieza a salir del sistema;

- asimismo, el polímero empieza a disolverse, lo que cambia la composición del sistema, y reduce sus dimensiones.

El tratamiento matemático de estos acontecimientos lo abordan asumiendo que:

- el hinchamiento del sistema es ideal y no hay contracción de volumen, de manera que la suma de los volúmenes de los tres componentes (agua, fármaco y polímero) es igual al volumen total del sistema;
- durante la liberación se cumplen las condiciones sumidero;
- el aumento de volumen axial y radial por la entrada de agua es proporcional al área superficial relativa de partida;
- los coeficientes de difusión del fármaco y del agua varían con la concentración, pero no con el tiempo;
- la disolución del fármaco en el medio es instantánea (el fármaco es muy soluble), o al menos es mucho más rápida que su difusión a través de la matriz;
- el comportamiento termodinámico del sistema es ideal.

De los tres componentes del sistema, el modelo considera que las especies que difunden, de acuerdo con la segunda ley de Fick, son el agua y el fármaco. En cambio, el proceso de disolución del polímero se cuantifica como pérdida de masa total de la matriz a lo largo de la liberación, tal y como se refleja en la siguiente ecuación:

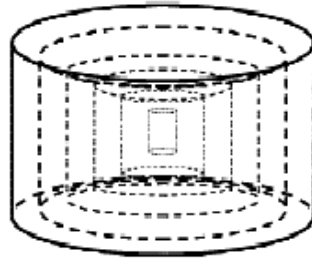
$$M_{p,t} = M_{p,0} - k_{dis} A_t t \quad (I.55)$$

donde  $M_{p,t}$  y  $M_{p,0}$  son las masas secas de la matriz a tiempo  $t$  y  $0$ , respectivamente;  $k_{dis}$  es la constante de velocidad de disolución del polímero y  $A_t$  el área superficial del sistema a tiempo  $t$ .

Es importante destacar que en este modelo la disolución del polímero no se considera un fenómeno confinado en la interfase matriz/medio de disolución. La masa total del

polímero se calcula teniendo en cuenta en cada momento como varía la composición de la matriz, sus dimensiones y el camino difusional del fármaco y del agua.

El desarrollo ulterior de este modelo condujo al denominado modelo de la “capa secuencial” (Siepmann y Peppas, 2000; Siepmann et al., 2002a). Este nuevo modelo se basa en la suposición de que el hinchamiento de la matriz tenga lugar de forma secuencial (“capa tras capa”), de manera que hinchan primero las capas más externas, seguidas por las capas adyacentes más internas (Figura I.1.10.). Esto permite una estimación más precisa de cómo varía el volumen del sistema, que afecta tanto a la concentración de los componentes como al aumento de su movilidad, debido a la penetración del agua.

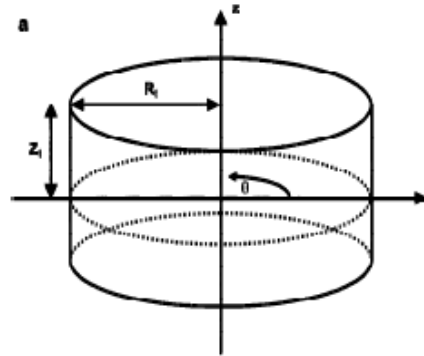


**Fig. I.1.10.** Esquema de la matriz, con detalle de las sucesivas capas para el análisis numérico (modificado de Siepmann y Peppas, 2000).

Como ya planteaban en el modelo anterior (Siepmann et al., 1999a,b), en el modelo de la capa secuencial los autores consideraron que la masa del polímero se reducía con una velocidad que dependía de la constante  $k_{dis}$ , de acuerdo con la ecuación (I.55). Asimismo, describían la difusión del agua y del fármaco en el seno de la matriz aplicando la segunda ley de Fick al transporte de masa axial y radial desde una geometría cilíndrica y con coeficientes de difusión dependientes de la concentración:

$$\frac{\partial c_{\kappa}}{\partial t} = \frac{1}{r} \left\{ \frac{\partial}{\partial r} \left( r D_{\kappa} \frac{\partial c_{\kappa}}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial \theta} \left( \frac{D_{\kappa}}{r} \frac{\partial c_{\kappa}}{\partial \theta} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left( r D_{\kappa} \frac{\partial c_{\kappa}}{\partial z} \right) \right\} \quad (I.56)$$

donde  $c_k$  y  $D_k$  son los coeficientes de concentración y difusión de las especies que difunden respectivamente ( $k=1$  (agua),  $k=2$  (fármaco));  $r$ ,  $z$  y  $\theta$ , son las coordenadas radial, axial y angular (Figura I.1.11.); y  $t$  es el tiempo.



**Fig. I.1.11.** Esquema de la matriz, con detalle de las coordenadas para el análisis matemático (modificado de Siepman y Peppas, 2000).

En la ecuación (I.56), los coeficientes de difusión de los componentes dependen de la concentración del polímero, de acuerdo con la siguiente ley exponencial:

$$D_k = D_{k_{crit}} \exp \left\{ -\beta_k \left( 1 - \frac{c_1}{c_{1crit}} \right) \right\} \quad (I.57)$$

donde  $\beta_k$  ( $k = 1$  (agua),  $k = 2$  (fármaco)) es la constante adimensional que caracteriza la dependencia de la concentración y  $D_k$  ( $k = 1$  (agua),  $k = 2$  (fármaco)) es el coeficiente de difusión en la interfase matriz/medio de liberación, donde tiene lugar la disociación de las cadenas de polímero (Narasimhan y Peppas, 1996a,b, 1997).

El modelo conducía, en fin, a la aplicación de un análisis numérico para obtener, en función de las ecuaciones (I.55) y (I.57), datos de una simulación que los autores comparaban con los datos experimentales obtenidos con matrices de distinta altura, radio, tipo de fármaco o polímeros y concentraciones de partida, obteniendo, en general, buenos resultados en el ajuste de los datos (Siepman et al., 2002a).

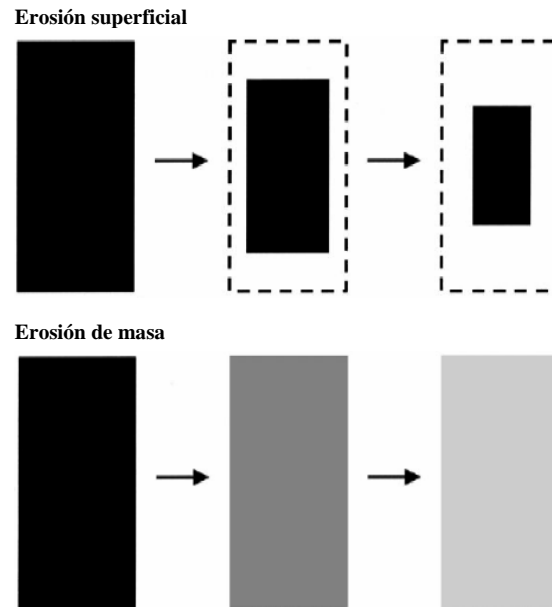
Sin embargo, tanto el modelo de la capa secuencial, como el anterior (hinchamiento-difusión-disolución), no proporcionan soluciones matemáticas explícitas, siendo por tanto difícil destacar los parámetros más importantes que afectan a la liberación (Arifin et al., 2006). Además los modelos no plantean la existencia de la interfase R (matriz seca/matriz hinchada), asumiendo que el agua y el fármaco difunden en todo el sistema. No obstante, aparentemente, la difusión en la matriz seca puede ser despreciable y la liberación del fármaco es controlada por el aumento de la difusión en la capa de gel. En este sentido, una mejora interesante a introducir en el modelo de la capa secuencial podría ser el desarrollo de la zona no hinchada y la observación de las dos interfases (R y S) durante la liberación (Arifin et al., 2006).

#### **I.1.3.1.8. Modelos para Sistemas Erosionables**

Los polímeros bioerosionables son materiales versátiles usados en numerosas aplicaciones biomédicas y especialmente en sistemas de liberación de fármacos, dado que las cinéticas de erosión pueden programarse seleccionando oportunamente el polímero. Es importante distinguir entre los términos degradación y erosión: el primero es más específico e indica un proceso químico de escisión de uniones entre cadenas, mientras que el segundo término denota la pérdida de material desde la matriz polimérica (ej.: monómeros, oligómeros) (proceso químico y físico). De manera que la erosión se puede componer de varias etapas químicas y físicas, incluida la degradación. Debido a su carácter más general, el término erosión será el más utilizado en esta sección.

Existen dos tipos de patrones para describir la erosión de una matriz polimérica: erosión superficial (heterogénea) y erosión de masa (homogénea) (Figura I.1.12.). En el primer caso la erosión del polímero tiene lugar principalmente en las capas más externas (sin afectar las capas más internas; proceso heterogéneo), dado que la velocidad de degradación es mucho mayor que la velocidad de penetración del agua en el seno de la matriz. Por otra parte, en la erosión de masa, el polímero degrada lentamente, siendo la penetración del agua en el sistema un proceso mucho más

rápido. De manera que todo el sistema se hidrata rápidamente y la erosión no está restringida a la superficie del polímero (proceso homogéneo).



**Fig. I.1.12.** Representación esquemática de la erosión superficial y de la erosión de masa (modificado de Siepmann y Göpferich, 2001).

Dependiendo de la composición (tipo de polímero, dosis del fármaco, sustancias auxiliares) y de la geometría (dimensión y forma) de un sistema erosionable, se considera que numerosos fenómenos de transporte de masa y reacciones químicas pueden afectar a la cinética de liberación del fármaco, entre los que cabe distinguir (Siepman y Göpferich, 2001):

- penetración de agua en el sistema;
- disolución del fármaco;
- degradación del polímero;
- aumento de la porosidad de la matriz;
- difusión del fármaco y/o de los productos de degradación del polímero en el seno de la matriz o en el interior de los poros;
- cristalización del fármaco y/o de los productos de degradación del polímero en el seno de la matriz;

- variaciones del pH en los poros de la matriz, debido a los productos de degradación;
- posibles efectos autoacatalíticos durante la degradación;
- efectos osmóticos;
- hinchamiento del polímero;
- procesos convectivos y de adsorción/desorción.

Todos estos fenómenos hacen que el tratamiento de modelos matemáticos para el ajuste de datos de liberación desde sistemas erosionables sea un proceso complejo y no se haya desarrollado tanto como en el caso de los sistemas hinchables. Sin embargo, los modelos propuestos incluyen tanto ecuaciones empíricas (véase I.1.3.2.2.), como modelos mecanicistas que consideran fenómenos fisicoquímicos, como el transporte de masa o reacciones químicas (Siepmann y Göpferich, 2001; Arifin et al., 2006). Los modelos mecanicistas se pueden agrupar a su vez en dos categorías principales: modelos controlados por la difusión y reacción, desarrollados principalmente para sistemas con erosión de masa (excepto los modelos de Larobina et al., 2002 y Zhang et al., 2003), y modelos computerizados, diseñados para sistemas de erosión superficial (“cellular-automata model”), suponiendo que la erosión sea un suceso aleatorio (Zygourakis, 1990; Göpferich y Langer, 1993; Zygourakis y Markenscoff, 1996; Siepmann et al., 2002b).

#### *I.1.3.1.8.1. Modelos Basados en la Difusión y Reacción*

El modelo de Heller y Baker ha sido propuesto para sistemas poliméricos insolubles que por hidrólisis de sus cadenas liberan moléculas más pequeñas y solubles (ej.: ácido poli(láctico), PLA; ácido poli(láctico-co-glicólico), PLGA). El desarrollo matemático parte del modelo de Higuchi y asume que la degradación de las cadenas poliméricas obedece a una cinética de orden uno (Heller y Baker, 1980). De manera que la ecuación que cuantifica la liberación de fármacos homogéneamente dispersos en películas poliméricas erosionables, se puede expresar como:

$$\frac{dQ_t}{dt} = \frac{A}{2} \sqrt{\frac{2P_0 \exp(Kt)C_0}{t}} \quad (\text{I.58})$$

donde  $Q_t$  es la cantidad total de fármaco liberada en un tiempo  $t$ ,  $A$  el área superficial a ambos lados de la película polimérica,  $P_0$  la permeabilidad inicial del fármaco,  $K$  la constante de velocidad de degradación de orden I y  $C_0$  la concentración inicial del fármaco en la matriz (asumiendo  $C_0 \gg C_s$ , siendo  $C_s$  la solubilidad del fármaco en la matriz).

A diferencia de la hipótesis original de Higuchi, Heller y Baker consideran que en sistemas poliméricos biodegradables la permeabilidad del fármaco en la matriz no es constante, sino que aumenta en el tiempo. En consecuencia, plantean la siguiente relación entre la permeabilidad del fármaco a tiempo  $t$  ( $P_t$ ) y su permeabilidad inicial ( $P_0$ ):

$$\frac{P_t}{P_0} = \frac{N}{N - Z} \quad (\text{I.59})$$

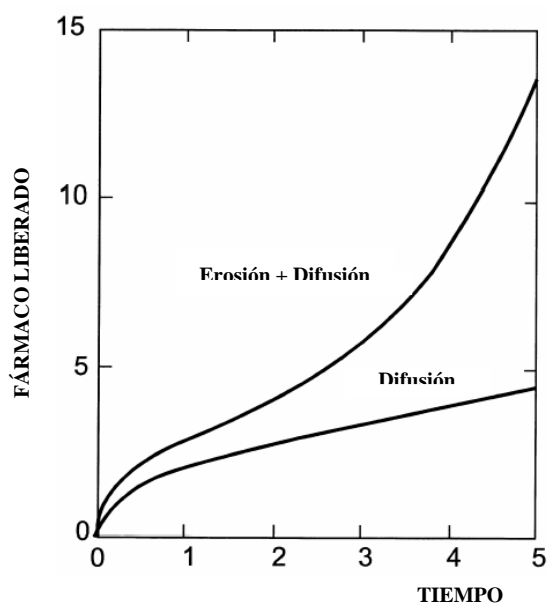
donde  $N$  es el número inicial de uniones entre las cadenas y  $Z$  el número de uniones rotas en un intervalo de tiempo determinado.

La ecuación (I.58) se basa en procesos de difusión y de erosión; en cambio el modelo de Higuchi describe la cinética de liberación desde sistemas puramente controlados por la difusión. Por tanto, mientras que de acuerdo con el modelo de Higuchi la velocidad de liberación del fármaco disminuye en el tiempo (por el aumento del camino difusional), en el modelo de Heller y Baker, transcurrido un cierto tiempo la velocidad aumenta por el aumento de la permeabilidad del polímero producido por la erosión (Figura I.1.13.).

Posteriormente, Thombre y Himmelstein desarrollaron un modelo para matrices de poly(ortoesteres) con geometría laminar y en perfectas condiciones “sink”, asumiendo que durante la erosión el coeficiente de difusión de los componentes del



sistema dependía de la concentración, según una ley exponencial (Thombre y Himmelstein, 1985).



**Fig. I.1.13.** Comparación entre el modelo de Haller y Baker (curva erosión + difusión) y el modelo de Higuchi (curva difusión) (modificado de Siepmann y Gøpferich, 2001).

En la misma línea, Charlier y colaboradores propusieron un modelo matemático basado simultáneamente en la degradación y en la difusión, asumiendo como base el modelo de Higuchi y que la degradación del polímero siga una cinética de orden uno (Charlier et al., 2000). Además asumían que el coeficiente de difusión del fármaco ( $D$ ) aumentaba en el tiempo de forma exponencial:

$$D = D_0 \exp(kt) \quad (\text{I.60})$$

donde  $D_0$  es el coeficiente de difusión del fármaco a tiempo cero (antes de la degradación) y  $k$  la constante de velocidad de degradación.

De acuerdo con estas hipótesis, la ecuación que expresa la cantidad acumulativa de fármaco liberado ( $Q$ ) en el tiempo es la siguiente:

$$Q = S \sqrt{\frac{2C_0 C_s D_0 [\exp(kt) - 1]}{k}} \quad (\text{I.61})$$

donde  $S$  es el área superficial de la lamina polimérica expuesta al medio de disolución; y  $C_0$  y  $C_s$  la concentración inicial y la solubilidad del fármaco en el sistema, respectivamente ( $C_0 \gg C_s$ ).

Más recientemente, se han desarrollado varios modelos basados en la difusión, teniendo en cuenta el aumento de la porosidad del sistema producido por la erosión del polímero (Batycky et al., 1997), la dependencia del coeficiente de difusión con la masa del polímero (Siepmann et al., 2004; He et al., 2005; Raman et al., 2005) o posibles efectos autocatalíticos (Siepmann et al., 2005).

### I.1.3.2. MODELOS EMPÍRICOS O NO MECANICISTAS

#### I.1.3.2.1. Modelo de Weibull

En 1951, Waloddi Weibull dedujo una ecuación general para el estudio estadístico de “poblaciones” de datos de distinto origen (Weibull, 1951). Planteó que cualquier función de distribución estadística puede escribirse de la siguiente forma:

$$F(x) = 1 - e^{-\varphi(x)} \dots\dots\dots (\text{I.62})$$

Limitando la función  $\varphi(x)$  para que sea positiva y creciente a partir de un cierto valor (que no tiene por qué ser igual a cero), la solución más sencilla que satisface estas condiciones es:

$$\frac{(x - x_\mu)^m}{x_0} \quad (\text{I.63})$$

y por tanto, propuso la siguiente ecuación para el ajuste de datos crecientes:

$$F(x) = 1 - e^{-\frac{(x - x_\mu)^m}{x_0}} \dots\dots\dots (I.64)$$

Ecuación cuyo segundo miembro es un serie creciente, de manera que x es el valor individual,  $x_0$  el primer valor de la serie,  $x_\mu$  el valor para el que la función se anula y m es un exponente que informa de la curvatura de la función (que siendo positiva es siempre convexa).

La ecuación de distribución propuesta por Weibull es usada ampliamente en numerosos campos (fatiga de materiales, distribuciones de pesos, alturas, etc.). Su empleo en el ajuste de datos de liberación fue propuesto por Langenbucher con la siguiente ecuación, que suele denominarse ecuación de Weibull (Langenbucher, 1972):

$$m = 1 - \exp\left[-\frac{(t - T_i)^b}{a}\right] \quad (I.65)$$

donde m es la fracción acumulada de fármaco disuelto a tiempo t, a es un parámetro de “escala”, que define la escala de tiempo del proceso,  $T_i$  representa el tiempo de latencia, y b es el “parámetro de forma” (b=1, exponencial; b>1, sigmoidal; b<1, exponencial con brusco aumento inicial “burst effect”).

El mismo Langenbucher, en un trabajo posterior reconocía que Weibull “redescubrió” una ecuación que años antes había sido planteada de forma muy parecida, por lo que la denomina “Distribución de RRSBW” en homenaje a sus diferentes “padres”: Rosin, Rammler, Sperling, Bennett y Weibull (Langenbucher, 1976).

Como quiera que la denominemos, la ecuación (I.65) se puede hacer lineal fácilmente:

$$\log[-\ln(1 - m)] = b \log(t - T_i) - \log a \quad (I.66)$$

donde b se obtiene de la pendiente de la recta y a de la ordenada en el origen (1/a) cuando t = 1.

Langenbucher propuso sustituir el factor de escala “a” por el “tiempo de disolución” (T<sub>d</sub>), que viene dado por a = (T<sub>d</sub>)<sup>b</sup>. En la práctica, como demostró en su trabajo, T<sub>d</sub> es el tiempo necesario para que m = 0.632, esto es, para que la liberación alcance el 63.2 % del total, lo que lo hace comparable al parámetro T<sub>50</sub>, usado ampliamente en la comparación de perfiles de disolución. La linearización requiere que m<sub>∞</sub> = 1. Si no es así, es necesario recalcular los valores de m, suponiendo que el mayor es igual a 1.

Sustituyendo el valor de “a” en la ecuación (I.65), de acuerdo con el trabajo de 1976, obtenemos:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - \exp\left\{-\left(\frac{t - T_i}{T_d}\right)^b\right\} \quad (\text{I.67})$$

donde si T<sub>i</sub> = 0 (no hay tiempo de latencia), tenemos:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - \exp\left\{-\left(\frac{t}{T_d}\right)^b\right\} \quad (\text{I.68})$$

donde los dos casos límites (b = 1 y b = 0) conducen a una ecuación de primer orden (siendo este caso especial el único en el que la ecuación informa del mecanismo de liberación) o a una línea recta, respectivamente. Precisamente, cuando b = 0, la ecuación (I.68) queda:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - e^{-1} = 0.632 \quad (\text{I.69})$$

valor coincidente con el caso de que T<sub>d</sub> = t, dado que:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - e^{-t^b} = 0.632 \quad (\text{I.70})$$

En presencia de un tiempo de latencia,  $T_d$  se calcula a partir del tiempo de latencia.

Este modelo ha sido y sigue siendo usado con frecuencia para el ajuste de datos de liberación (Lin y Cham, 1996; Antal et al., 1997; Bonferoni et al., 1998; Costa, 2001; Costa y Sousa Lobo, 2001b,c; Adams et al., 2002; Costa et al., 2003; Sathe y Venitz, 2003; Koester et al., 2004; Varma et al., 2005). No obstante, el modelo no se deduce desde ningún fundamento cinético, por lo que presenta algunas deficiencias que han sido objeto de críticas (Pedersen y Myrick, 1978; Christensen et al. 1980; Costa y Sousa Lobo, 2001a), tales como:

- no hay ningún fundamento cinético y podría solo describir, pero no caracterizar adecuadamente, las propiedades de disolución del fármaco;
- no presenta ningún parámetro relacionado con la velocidad de disolución intrínseca;
- su empleo no es adecuado cuando se pretende establecer correlaciones *in vivo/in vitro*.

Si es posible obtener información, al menos cualitativa, del mecanismo de disolución preferente, en función del valor que presente el parámetro de forma (b). Así, valores de  $b > 1$  aparecen cuando la disgregación del sistema influye en la liberación del fármaco, mientras que  $b \leq 1$  se corresponden con sistemas que no disgregan o en los que la disgregación es muy rápida (Langenbucher, 1976). En este sentido, se ha intentado mejorar el modelo (Schreiner et al., 2005), así como validar su empleo (Elkoshi, 1997; Macheras y Dokoumetzides, 2000; Lansky y Weiss, 2003).

Resulta particularmente interesante un trabajo en el que se demuestra que la ecuación de Weibull puede derivarse a partir de la ecuación de Noyes-Whitney (Macheras y Dokoumetzidis, 2000). En concreto, multiplicando ambos términos de la ecuación (I.1) por V, y dado que  $VdC = dQ$ ,  $VC_s = Q_\infty$ , y  $VC = Q$ , obtenemos:

$$\frac{dQ}{dt} = k(Q_{\infty} - Q) \quad (\text{I.71})$$

Por otra parte, la constante  $k$  depende del tiempo, pudiendo sustituirse por (Kopelman, 1988):

$$k = k^* t^{-h} \quad (\text{I.72})$$

donde  $k^*$  es una constante independiente del tiempo, con unidades  $t^{h-1}$ , siendo  $h$  un número puro (adimensional). Obteniendo:

$$\frac{dQ}{dt} = k^* t^{-h} (Q_{\infty} - Q) \quad (\text{I.73})$$

Integrando, obtenemos:

$$\frac{Q}{Q_{\infty}} = 1 - \exp\left(-\frac{k^*}{1-h} t^{1-h}\right) \quad (\text{I.74})$$

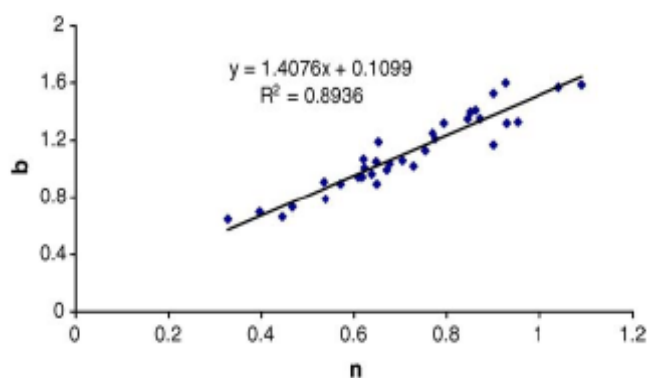
Ecuación que es idéntica a la (I.65) cuando  $T_i = 0$ , sin más que sustituir:

$$\frac{1}{a} = \frac{k^*}{1-h} \quad \text{y} \quad b = 1-h$$

Lo que viene a validar la ecuación de Weibull como modelo no sólo empírico, sino con una base mecanicista.

Por otra parte, empleando simulaciones de Monte-Carlo, se ha demostrado que la ecuación de Weibull describe de forma apropiada la liberación cuando el mecanismo es la difusión Fickiana (Kosmidis et al., 2003b,c). A partir de estos trabajos, el grupo de las Universidades de Atenas y Tesalónica, llevaron a cabo un estudio de liberación desde formas farmacéuticas diversas (9 elaboradas por ellos, 3 comerciales

y 22 tomadas de la literatura), ajustando sus perfiles con las ecuaciones de Weibull (I.65) y Peppas (I.38), y buscando correlaciones entre el parámetro “b” de la ecuación (I.65) y “n” de la ecuación (I.38) (Papadopoulou et al., 2006). Sus resultados demuestran la existencia de una correlación lineal entre los dos parámetros (Figura I.1.14.), que les permitía concluir la existencia de una conexión física entre los dos parámetros y el mecanismo de liberación.



**Fig. I.1.14.** Regresión lineal entre los valores de “n” y “b”, al aplicar las ecuaciones (I.38) (hasta el 60%) y (I.65) a datos de liberación desde distintas formas farmacéuticas (tomada de Papadopoulou et al., 2006).

Por ejemplo, valores de  $n = 0.45$ , correspondientes a la liberación controlada por difusión desde cilindros (Ritger y Peppas, 1987a,b), se corresponden con valores de  $b = 0.74$ , correspondientes a difusión fickiana de acuerdo con las simulaciones hechas por los autores en trabajos previos (Kosmidis et al., 2003b). Asimismo, valores de  $n > 0.5$ , correspondientes a combinaciones de difusión y “Caso II” (transporte anómalo non-Fickiano) (Ritger y Peppas, 1987a,b), corresponden con valores de  $b > 0.8$ , superiores a los obtenidos al simular difusión fickiana con Monte Carlo (Kosmidis et al., 2003b,c). Por último, cuando  $b = 1$ , se cumple el modelo de primer orden, y si  $b > 1$ , se trataría de un mecanismo de liberación complejo. Estos mismos autores abordan el estudio, mediante simulaciones de Monte-Carlo, del empleo de la ecuación (I.65) para el ajuste de cinéticas de liberación de fármacos desde matrices con frentes de difusión en movimiento y coeficientes de difusión que varían en cada frente (Kosmidis y Macheras, 2008). Concluyen que respecto del caso en el que las matrices estén formadas por una mezcla homogénea, los valores de  $a$  y  $b$  de la

ecuación (I.65) pueden cambiar (aumentando o disminuyendo), pero en esencia sigue siendo capaz de ajustar los perfiles de liberación de forma satisfactoria.

### I.1.3.2.2. Modelos de Hopfenberg y de Cooney

El modelo de Hopfenberg se aplica a la liberación de fármacos desde sistemas erosionables de distintas geometrías (películas, esferas, cilindros) (Hopfenberg, 1976; Katzhendler et al., 1997). Asume que la liberación es un proceso de orden cero, resultado de la combinación de la disolución y erosión en la superficie del polímero. Por tanto, la correspondiente ecuación empírica se aplica esencialmente para el ajuste desde matrices erosionables en la superficie, suponiendo que la velocidad de liberación sea proporcional al área superficial del sistema, de acuerdo a:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - \left[ 1 - \frac{k_0 t}{a_0 C_0} \right]^n \quad (\text{I.75})$$

donde  $Q_t$  es la cantidad de fármaco liberada a un tiempo  $t$ ,  $Q_\infty$  la cantidad de fármaco liberada cuando la forma farmacéutica se ha agotado,  $k_0$  la constante de velocidad de erosión,  $C_0$  la concentración inicial del fármaco en la matriz,  $a_0$  es el radio inicial (esfera o cilindro) o la mitad del espesor (lámina) del sistema y  $n$  es un factor de forma que toma valor 1, 2 o 3 para laminas, cilindros o esferas, respectivamente.

Este modelo ha sido posteriormente modificado para incorporar el tiempo de latencia ( $l$ ) en los primeros minutos de la liberación (El-Arini y Leuenberger, 1998):

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - [1 - k_1 t(t-l)]^n \quad (\text{I.76})$$

donde  $k_1 = k_0 / C_0 a_0$ .

Una descripción mas detallada de la liberación de fármacos desde sistemas erosionables con geometría esférica y cilíndrica fue llevada a cabo por Cooney



(Cooney, 1972). Asumiendo que la velocidad de disolución del fármaco sea proporcional al área superficial de la matriz polimérica, Cooney describió la “disolución” de un sólido homogéneo (no poroso) como el resultado de dos procesos consecutivos: (a) la separación de átomos (moléculas o iones) desde la superficie del sólido y (b) su difusión en el medio de disolución a través de una capa estacionaria de disolvente. De acuerdo con este modelo, para un cilindro de longitud inicial  $L_0$  y diámetro inicial  $D_0$ , la disolución relativa ( $f$ ) (o relación entre la velocidad de disolución instantánea del fármaco y su velocidad de disolución inicial) en función del tiempo, siendo  $K$  una constante, viene dada por:

$$f = \frac{(D_0 - 2Kt)^2 + 2(D_0 - 2Kt)(L_0 - 2Kt)}{D_0^2 + 2D_0L_0} \quad (I.77)$$

### **I.1.3.3. NUEVOS MODELOS**

Las limitaciones de los modelos existentes, puestas de manifiesto en los apartados anteriores, han conducido al esfuerzo de distintos investigadores por desarrollar nuevos modelos, que con frecuencia han tenido poco o ningún impacto en la comunidad científica, cayendo en el olvido por unas u otras razones. Sin embargo, parece conveniente recoger aquí algunos modelos que han visto la luz en los últimos años, y que bien podrían tener un empleo generalizado en el futuro.

#### **I.1.3.3.1. Modelo de Jørgensen y Christensen**

Estos autores propusieron un modelo empírico para el ajuste de datos de liberación al que denominaron “modelo de orden”, en referencia a que planteaban el uso del orden cinético de reacción como parámetro de forma para el ajuste de las curvas (Jørgensen y Christensen, 1996). Dado que la disolución se corresponde con cambios composicionales de las fases que constituyen el sistema, por cambio de compartimiento de sus componentes, es posible plantear un orden cinético que vendrá dado por:

$$\frac{dY(t)}{dt} = k(1-Y(t))^n \quad (\text{I.78})$$

donde  $Y(t)$  es la fracción de fármaco disuelto a tiempo  $t$ ,  $n$  es el orden cinético, y  $k$  la constante de velocidad.

Resolviendo la ecuación (I.78) para valores distintos de cero, e incluyendo un tiempo de latencia ( $t_0$ ), los autores deducían la siguiente expresión a la que denominaban “Order Model”:

$$Y(t) = 1 - (1 - (1 - n)k(t - t_0))^{1/(1-n)} \quad (\text{I.79})$$

La ecuación (I.79) es válida siempre que se cumplan las siguientes limitaciones:

- $n \neq 1$  (si  $n=1$ , es válida la ecuación de primer orden);
- $t \geq t_0$  ( $Y(t)$  debe siempre partir de cero);
- $t \leq (1-n)^{-1}k^{-1} + t_0$  (si  $n < 1$ ).

Sustituyendo  $Y(t)$  por su correspondencia en cantidades, la ecuación (I.79) se puede expresar como:

$$m(t) = m_\infty (1 - (1 - (1 - n)k(t - t_0))^{1/(1-n)}) \quad (\text{I.80})$$

donde  $m(t)$  es la cantidad liberada a tiempo  $t$ , y  $m_\infty$  es la dosis.

El uso de esta ecuación implica el cálculo de cuatro parámetros:  $n$ ,  $k$ ,  $t_0$  y  $m_\infty$ . El valor de  $n$  representa la correlación entre la velocidad de liberación ( $dY(t)/dt$ ) y la fracción de fármaco no liberada ( $1-Y(t)$ ), informa del mecanismo de liberación, y se corresponde con un parámetro de forma adimensional, cuyo cálculo preciso requiere un cierto valor de tiempo. La constante  $k$  es la velocidad de disolución intrínseca,

tiene como dimensiones  $t^{-1}$ , y se corresponde con un factor de escala cuyo valor viene dado por la pendiente de los datos iniciales de disolución (10% máximo).

La ecuación (I.80) puede informar del mecanismo de liberación, aún cuando se trata de una expresión empírica. Así, cuando  $n = 0$ , el mecanismo es de orden cero, caracterizado por una constante de velocidad  $k$ . Cuando  $n = 1$ , el orden es uno. Cuando  $n = 2$ , la cinética es de segundo orden. Cuando  $n = 2/3$ , la cinética se corresponde con el modelo de Hixson-Crowell. Cuando  $n = 0.5$ , la cinética es de sistemas cilíndricos erosionables (tipo Hopfenberg).

### **I.1.3.3.2. Modelo de Van Vooren y colaboradores**

Este modelo fue planteado asumiendo las siguientes premisas (Van Vooren et al., 2001):

- que la curva de disolución alcance una meseta;
- que en su parte inicial la liberación sea lineal;
- que sea posible tomar al menos tres puntos en la zona lineal y dos en la meseta.

Los autores propusieron la siguiente ecuación general:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 I_i t_i + \beta_2 I_i + \varepsilon_i \quad (\text{I.81})$$

donde  $Y_i$  es el porcentaje de fármaco disuelto en tiempo  $t_i$ ,  $I_i$  es un parámetro que toma valor 1 en la zona lineal y 0 en la meseta,  $\beta_{0, 1, 2}$  son los parámetros de regresión lineal calculados por mínimos cuadrados y  $\varepsilon_i$  es el error residual en el modelo de regresión para tiempo  $t_i$ . Sustituyendo el valor de  $I_i$  por sus valores, obtenemos las ecuaciones para la zona lineal y la meseta:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 t_i + \beta_2 + \varepsilon_i \quad (\text{I.82})$$

$$Y_i = \beta_0 + \varepsilon_i \quad (\text{I.83})$$

A la vista de las ecuaciones anteriores, podemos observar, de acuerdo con la ecuación (I.83) que  $\beta_0$  es el máximo porcentaje de fármaco liberado (en la meseta), y de acuerdo con la ecuación (I.82) que  $\beta_0 + \beta_2$  es el punto de corte de la recta inicial con el eje de ordenadas, cuya pendiente es  $\beta_1$ .

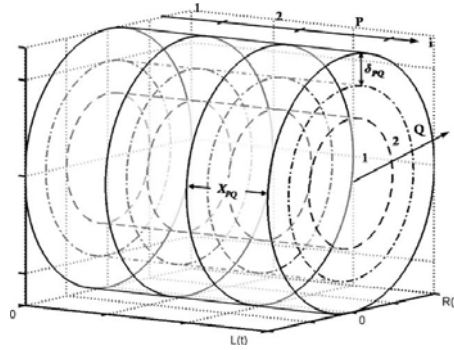
#### **I.1.3.3.3. Modelo de Frenning y Strømme (Disolución-Difusión-Inmovilización)**

Estos autores consideran que los modelos usados para el ajuste de datos de liberación carecen de capacidad predictiva cuando la absorción del fármaco liberado está limitada por su permeabilidad de membrana o cuando el medio de liberación contiene poco líquido y el fármaco es poco soluble (esto es, cuando no se cumplan las condiciones sumidero, asumidas casi de forma generalizada). Proponen un modelo para el ajuste de datos de liberación desde comprimidos matriciales, que combina disolución, difusión e inmovilización (por adsorción en los componentes del comprimido) del fármaco sujeto a liberación (Frenning y Strømme, 2003). Asumen que la absorción de agua, hinchamiento y disgregación de la matriz es mucho más rápida que la disolución del fármaco y fases sucesivas. Además, suponen que el fármaco en la matriz aparece como cristales de tamaño y forma idéntica, y que al disgregarse la matriz genera un cierto número de fragmentos esféricos. La agitación del medio debe ser suficiente para que la concentración de fármaco sea independiente de las coordenadas espaciales. Con esas condiciones desarrollan su modelo describiendo la disolución a partir de la ecuación de Noyes y Whitney, la inmovilización con isothermas de Langmuir y Freundlich, e incluyen estos dos procesos (y las correspondientes ecuaciones matemáticas) en una ecuación de difusión.

#### **I.1.3.3.4. Modelo de Borgquist y colaboradores**

Este modelo simula la liberación de fármaco y polímero desde matrices cilíndricas de caras planas. A diferencia del enfoque teórico que hacían Siepmann et al. (Siepmann

et al. 1999a,b, 2000), los autores calculan el desplazamiento de los frentes de disolución del fármaco y del polímero a partir del incremento de volumen que experimenta la matriz al hincharse y simultáneamente erosionar (Figura I.1.15.) (Borgquist et al., 2006).



**Fig. I.1.15.** “Discretización” de volúmenes (ejemplo para 9 volúmenes finitos, 3X3). La dimensión axial (i) ha sido “discretizada” en P cortes y cada corte ha sido “discretizado” en Q; aros anulares (tomado de Borgquist et al., 2006).

Mediante cálculos geométricos el modelo genera una serie ecuaciones diferenciales que los autores resuelven numéricamente, de manera que la precisión del modelo depende del número de volúmenes de matriz en expansión que se consideren.

### I.1.3.3.5. Modelos basados en el Método de Elementos Finitos

El método de los elementos finitos (MEF en castellano o FEM en inglés) es un método numérico general usado para conseguir soluciones aproximadas de ecuaciones diferenciales parciales, cuyas soluciones analíticas son difíciles de obtener, siendo una herramienta muy usada en diversos campos de Ingeniería y Física (Hughes, 2000; Zienkiewicz y Taylor, 2000).

En los últimos años, distintos autores han usado esta metodología para el ajuste de datos de liberación, asumiendo restricciones de geometría o aproximaciones asociadas a la existencia de un estado pseudo-estacionario (Zhou y Wu, 1997; Wu y Zhou, 1998, 1999; Siepmann et al., 1999a,b, 2002a; Siepmann y Peppas, 2000; Radu et al., 2002; Zhou et al., 2005; Cabrera et al., 2006). La aplicación de este método

requiere estar familiarizado con ecuaciones matemáticas complejas, y sus resultados son siempre aproximaciones, por lo que su empleo es muy limitado.

#### **I.1.3.3.6. Modelos basados en Programación Genética**

La programación genética es una técnica para generar ecuaciones en base a datos experimentales basada en la teoría de Darwin (Koza 1994, 1997, 1998), de manera que la forma de la ecuación y los parámetros aparecen como resultado de un mecanismo de evolución. El método de programación genética crea una primera generación de ecuaciones para un determinado problema (o población de datos experimentales), a la que siguen otras generaciones de ecuaciones obtenidas por mutaciones y cruce de las primeras, evaluando la capacidad de ajuste de los datos de cada nueva ecuación hasta alcanzar una ecuación ideal para el problema objeto de estudio. Recientemente, se ha usado esta técnica para ajustar los perfiles de liberación de dos formas de liberación controlada (matrices y micro-esferas), obteniendo ecuaciones capaces de predecir de forma satisfactoria el comportamiento de liberación (Do et al., 2008).

#### **I.1.3.3.7. Modelo limitado por la Reacción en la Interfase Sólido-Líquido**

Recientemente, se ha propuesto un nuevo tipo de modelos para el ajuste de datos de liberación (Dokoumetzidis y Macheras, 1997; Lansky y Weiss, 1999; Dokoumetzidis et al., 2008). Dado que la disolución es un proceso heterogéneo que tiene lugar en la interfase sólido-líquido, con dos etapas consecutivas (el transporte interfacial y la transferencia del soluto hacia el medio de disolución), la mayoría de los modelos de disolución asumen que la segunda etapa es la limitante y que la concentración de soluto en la superficie de sólido es constante (concentración a saturación). En cambio este tipo de modelos parten de la hipótesis de que la disolución está limitada por la reacción sólido-soluto en la interfase sólido/medio de disolución, de acuerdo con distintos estudios previos (Touitoy y Donbrow, 1981; Kimura et al., 1994; Lin et al., 1995; Sunagawa et al., 1995; Dejmeck y Ward, 1998; Ji et al., 2001).

La velocidad de disolución vendrá dada, por tanto, por la velocidad de la reacción química sólido no disuelto  $\leftrightarrow$  soluto, con las correspondientes constantes cinéticas, obteniendo la siguiente ecuación:

$$\frac{dC}{dt} = k_1 \left( \frac{D}{V} - C \right)^a - k_{-1}C \quad (\text{I.84})$$

donde C es la concentración de fármaco disuelto, D es la dosis, V es el volumen del medio de disolución,  $k_1$  y  $k_{-1}$  son las constantes cinéticas de la reacción en ambos sentidos, respectivamente, y a es un exponente que determina el orden de reacción.

La ecuación (I.84) no tiene solución analítica exacta y bien debe resolverse numéricamente o requiere ser simplificada, por ejemplo, suponiendo que  $a=1$ , o bien que  $k_1 \gg k_{-1}$  (Dokoumetzidis et al., 2008).

#### **I.1.4. COMPARACIÓN ENTRE MODELOS Y SELECCIÓN DEL IDÓNEO**

Como ha quedado de manifiesto, la liberación de un fármaco desde una forma farmacéutica es un fenómeno de transporte de masa en el que están implicados numerosos factores, siendo difícil plantear un modelo matemático capaz de generar ecuaciones sencillas que reproduzcan los perfiles de liberación y tengan además sentido físico. En el apartado anterior hemos discutido los modelos más usados. En la mayoría de los casos, los modelos describen la liberación del fármaco asumiendo que viene determinada por un fenómeno simple, bien porque sea el único o porque sea limitante por ser el más lento y por tanto condicione el resto.

Hasta ahora, los modelos que mejor han descrito la liberación (y por tanto los más usados) son el modelo de Higuchi, el de orden cero, el de Hixson-Crowell, el de Peppas y el de Weibull.

La elección del mejor modelo para explicar el proceso de disolución/liberación del fármaco se puede realizar siguiendo distintos métodos. Uno de los más empleados es el cálculo del “coeficiente de determinación” ( $R^2$ ), para evaluar el “ajuste” de una ecuación modelo. Sin embargo, este valor tiende a ser mejor con la adición de más parámetros al modelo, sin tener en cuenta el significado de la variable añadida. Cuando se pretende comparar modelos con diferente número de parámetros, resulta necesario emplear el coeficiente de determinación normalizado ( $R^2_{\text{ajustado}}$ ), que viene dado por:

$$R^2_{\text{ajustado}} = 1 - \frac{(n-1)}{(n-p)}(1-R^2) \quad (\text{I.85})$$

donde  $n$  es el número de datos de disolución y  $p$  es el número de parámetros del modelo. Mientras el valor de  $R^2$  siempre aumenta, o al menos se mantiene constante, cuando se añaden nuevos parámetros al modelo, el valor de  $R^2_{\text{ajustado}}$  puede, de hecho, disminuir, indicando si el nuevo parámetro realmente mejora el modelo.

Un segundo método que se emplea con frecuencia para comparar el ajuste de distintos modelos es el criterio de información de Akaike (AIC), que viene dado por:

$$AIC = n \ln(WSSR) + 2p \quad (\text{I.86})$$

donde  $n$  es el número de datos de disolución,  $p$  el número de parámetros en el modelo y  $WSSR$  es la suma de los cuadrados de los residuos, dado por:

$$WSSR = \sum_{i=1}^n \left[ w_i (y_i - z)^2 \right] \quad (\text{I.87})$$

donde  $w_i$  es un factor de peso opcional y  $z$  denota el valor predicho de  $y_i$ .

Se trata de una medida de calidad del ajuste basada en la probabilidad máxima. Cuando compara varios modelos para una serie de datos, el modelo asociado con el

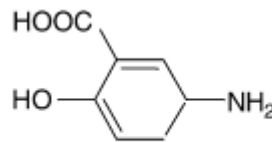


valor más bajo de AIC es el que mejor ajusta. Este criterio sólo es apropiado cuando se comparan modelos usando el mismo esquema de peso.

## I.2. ÁCIDO 5-AMINO SALICÍLICO Y TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

### I.2.1. DENOMINACIÓN, PERFIL FÍSICOQUÍMICO Y USO DEL ÁCIDO 5-AMINO SALICÍLICO

El ácido 5-amino salicílico (5-ASA) se conoce comúnmente como Mesalamina o Mesalazina, denominaciones con las que aparece en la USP (USP 31, 2008) y RFE (RFE, 2005), respectivamente. Asimismo, sus nombres químicos, junto con el de ácido 5-amino salicílico son ácido 5-amino-2-hydroxybenzoico, ácido 5-amino-2-hydroxybenceno-1-carboxílico, ácido *m*-aminosalicílico y ácido 5-amino-2-salicílico (Dash y Brittain, 1998). Su fórmula empírica es C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub> y su estructura esta relacionada con los salicilatos (Figura I.2.1.), siendo similar al ácido 4-amino salicílico, también conocido como ácido *p*-aminosalicílico. El perfil fisicoquímico del 5-ASA aparece resumido en la Tabla I.2.I.



**Fig. I.2.1.** Estructura química del 5-ASA.

El 5-ASA es el fármaco de elección para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal (Bondensen et al., 1987). La categoría de enfermedad inflamatoria intestinal (EII) idiopática comprende trastornos caracterizados por una tendencia a la activación inmune crónica o recidivante en el interior del tracto gastrointestinal. La enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa representan las dos formas principales de EII idiopática. Las dos formas mayores de EII comparten numerosas características clínicas y epidemiológicas, sin embargo son síndromes diferentes con un tratamiento y un pronóstico distinto. La enfermedad de Crohn es una inflamación crónica que puede afectar cualquier sitio del tracto gastrointestinal

entre la boca y el ano, pero con mayor frecuencia compromete el intestino delgado distal y el intestino grueso proximal. La inflamación es discontinua a lo largo del eje longitudinal del intestino pero puede afectar todas las capas de la pared intestinal (desde la mucosa hasta la serosa). La colitis ulcerosa es un trastorno inflamatorio que afecta el recto y se extiende en dirección proximal para comprometer el colon en grado variable.

**Tabla I.2.I.** Propiedades físicoquímicas del 5-ASA.

| <b>Propiedad</b>                                 | <b>Valor</b>                          |
|--|---------------------------------------|
| Peso molecular                                   | 153.14 g mol <sup>-1</sup>            |
| Punto de fusión                                  | 280 °C, con descomposición            |
| Constantes de disociación (pK <sub>a</sub> 25°C) | 3.0 (-COOH)                           |
|  | 6.0 (-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )  |
|  | 13.9 (-OH)                            |
| Solubilidad en agua a 25 °C                      | 0.844 mg/mL                           |
| Solubilidad en agua a 37 °C                      | 1.41 mg/mL                            |
| Aspecto  | Polvo blanco, gris claro o rosa claro |
| Pérdida por desecación (105 °C, 3 horas)         | no más del 0.5 % M/M                  |
| Residuo por combustión                           | no más del 0.2 % M/M                  |

Siendo el 5-ASA el fármaco modelo usado en esta tesis, parece oportuno discutir con cierto detalle su objetivo terapéutico. No obstante, para no alargar demasiado esta introducción, se ha decidido desarrollar en este apartado tan sólo los aspectos relativos al tratamiento de la enfermedad, describiendo en un anexo (véase Anexo I) sus antecedentes, epidemiología, etiología, patogenia, manifestaciones clínicas y diagnóstico.

## **I.2.2. TRATAMIENTO DE LA EI**

Los objetivos principales del tratamiento de esta enfermedad son inducir y mantener la remisión. Para cumplir estos objetivos es necesario aliviar los síntomas y mejorar

la calidad de vida del paciente. Por lo tanto, es esencial tener presente los efectos adversos del tratamiento, sobre todo en lo que concierne a las consecuencias persistentes del tratamiento a corto plazo y los efectos adversos de la terapéutica de mantenimiento. Una nutrición adecuada a veces puede presentar un problema, siendo un objetivo importante en todos los casos.

### **I.2.2.1. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO**

La cirugía desempeña un papel integral en el tratamiento de la enfermedad de Crohn, tanto para el control de los síntomas como para el tratamiento de las complicaciones. Los procedimientos quirúrgicos pueden clasificarse en resecciones externas o con cirugía de “bypass” interna y una diversidad de abordajes quirúrgicos para la reparación o la resección de una fístula (Strong y Fazio, 2000). Las indicaciones para la intervención quirúrgica comprenden diversas complicaciones, como abscesos intra-abdominales, fístulas refractarias al tratamiento médico, estrecheces fibróticas con síntomas de obstrucción intestinal, megacolon tóxico (dilatación aguda del colon), hemorragia y cáncer (Hurst et al., 1997). En el caso del cáncer colorrectal en la enfermedad de Crohn, las características y el pronóstico son similares a los asociados con la colitis ulcerosa (Ribeiro et al., 1996). Por estos motivos se recomendó el seguimiento con colonoscopia de vigilancia destinada a la detección temprana del tumor (Friedman et al., 2001). Por otra parte, en el caso de la colitis ulcerosa, las indicaciones para la colectomía son: ataques de colitis ulcerosa severos que no responden al tratamiento farmacológico, complicaciones de un ataque severo (por ej: perforación, dilatación aguda), enfermedad continua crónica con disminución de la calidad de vida, displasia o carcinoma.

### **I.2.2.2. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO**

#### **I.2.2.2.1. Aminosalicilatos**

Como decíamos al comienzo de este apartado, el 5-ASA y sus derivados constituyen el tratamiento principal en pacientes con colitis ulcerosa leve a moderada y

enfermedad de Crohn leve. El 5-ASA es también eficaz en el mantenimiento del periodo de remisión en pacientes con colitis ulcerosa.

Aún cuando el mecanismo de acción permanece en buena parte por determinar, los mecanismos de acción atribuidos al 5-ASA comprenden la inhibición de la proliferación de células T, la presentación de antígenos a las células T y la producción de anticuerpos por las células B; la inhibición de la adherencia de macrófagos y neutrófilos y la inhibición de la producción de IL-1 y TNF. Los aminosalicilatos son muy eficaces para eliminar los radicales libres e inhiben la ciclooxigenasa y la producción de prostaglandina E<sub>2</sub> (MacDermott, 2000). Muchos de estos efectos serían mediados por la regulación en menos de la actividad de NF-kB (Bantel et al., 2000).

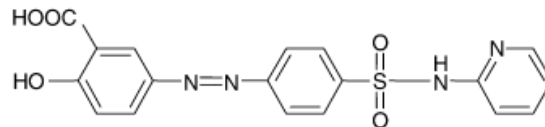
El 5-ASA se administra tanto por vía oral como rectal, aunque, en general, la vía oral es la preferente (Tabla I.2.II.).

**Tabla I.2.II.** Formas farmacéuticas orales comercializadas de 5-ASA

| <b>Nombre comercial</b> | <b>Forma farmacéutica</b> | <b>Dosis</b> | <b>Posología</b> |
|-------------------------|---------------------------|--------------|------------------|
| Asacol <sup>®</sup>     | Comprimidos recubiertos   | 400 mg       | 0.8-2.4 g/d      |
| Salofac <sup>®</sup>    | Comprimidos recubiertos   | 250 mg       | 1.0-4.0 g/d      |
| Claversal <sup>®</sup>  | Comprimidos recubiertos   | 500 mg       | 1.0-2.0 g/d      |
| Pentasa <sup>®</sup>    | Microgránulos recubiertos | 500 mg       | hasta 4 g/d      |

Las formas farmacéuticas de administración oral del 5-ASA deben liberar el fármaco en la región terminal del íleon y colon, donde éste ejercerá una acción local. Sin embargo, entre un 20 y un 50% se pierde en la absorción a niveles superiores del tracto gastrointestinal. La porción absorbida de fármaco es casi completamente acetilada en la pared intestinal y en el hígado. El metabolito acetilado es excretado principalmente en orina por secreción tubular junto con trazas del compuesto sin

acetilar. El tiempo de vida media del fármaco es aproximadamente 1 hora y de un 40 a un 50% se une a proteínas plasmáticas. El metabolito acetilado presenta una vida media de hasta 10 horas, uniéndose a proteínas plasmáticas aproximadamente un 80% (Lauritsen et al., 1990). De tal manera que el 5-ASA administrado por vía oral se absorbe con rapidez en el yeyuno y no llega al colon. Por tanto, se emplean moléculas transportadoras (profármacos) capaces de proporcionar 5-ASA al colon por vía oral. Así, la **sulfasalazina**, primer profármaco utilizado en la EII, se introdujo para el tratamiento de la artritis reumatoide, pero en pacientes con colitis ulcerosa tratados por una artropatía asociada se observó que aliviaba los síntomas de la colitis. Esta molécula presenta una fracción de 5-ASA unido a la sulfapiridina por una unión azo (Figura I.2.2.).



**Fig. I.2.2.** Estructura química de la sulfasalazina.

En el momento en que la sulfasalazina administrada por vía oral llega al colon, las azorreductasas bacterianas escinden la unión azo y liberan los dos componentes del fármaco. La sulfapiridina se absorbe con rapidez para luego metabolizarse en el hígado y excretarse en orina. Sin embargo, la fracción aminosalicilato se excreta en mayor medida en las heces (alrededor de un 70%). Cerca del 25% de este compuesto se absorbe en el colon y la mayor parte de esta fracción aparece en la circulación sanguínea en la forma de N-acetil-5-ASA. Las acetiltransferasas bacterianas luminales son responsables de cierto grado de acetilación del compuesto, pero la mayor parte del 5-ASA se acetila en el citosol de las células epiteliales colónicas (Ireland et al., 1986). En pacientes con una enfermedad activa, en el caso de la colitis ulcerosa, la sulfasalazina es menos eficaz que los glucocorticoides; su utilidad principal es mantener la remisión una vez que remite la inflamación activa. Este efecto fue demostrado por Misiewicz y col. (Misiewicz et al., 1965). El efecto supresor de la sulfasalazina sobre la colitis ulcerosa se mantiene durante varios años (Misiewicz et al., 1965) pero la incidencia de efectos adversos es elevada

(Dissanayake y Truelove, 1973). Estos efectos adversos pueden dividirse en reacciones dependientes de la dosis como: las náuseas, vómitos, anorexia, mala absorción de folato, cefalea o alopecia. O bien como reacciones no relacionadas con la dosis entre las que destacan las erupciones cutáneas por hipersensibilidad o la esterilidad masculina (que se revierte después de interrumpir el tratamiento con sulfasalazina). Actualmente se sabe que estos efectos adversos son debidos a la fracción sulfapiridina de las moléculas de sulfasalazina. Por lo tanto el descubrimiento de Azad Khan y colaboradores (Azad Khan et al., 1980) de que el efecto beneficioso de la sulfasalazina se debía a la fracción aminosalicilato permitió el desarrollo de nuevas moléculas transportadoras de 5-ASA. Por ejemplo, cabe destacar el empleo de la **olsalazina** (Courtney et al., 1992), sal sódica del dímero formado por dos moléculas de 5-ASA unidas a través de los grupos amino (enlace N=N). Se emplea como sustituto del fármaco, en base a su baja absorción en el estómago. La rotura del enlace azo a nivel del intestino promovida por las bacterias presentes en la zona, deja libres para su absorción las moléculas del fármaco.

Por último, puede recurrirse para el tratamiento de la colitis ulcerosa activa y el mantenimiento de la remisión al empleo por vía rectal de mesalazina en forma de enemas, espumas o supositorios (Campieri et al., 1991; Marshall e Irvine, 1995).

#### **I.2.2.2.2. Antibióticos**

Los antibióticos desempeñan un papel importante en el tratamiento de las complicaciones piogénicas de la enfermedad de Crohn. Sin embargo, pueden desempeñar un papel auxiliar en el tratamiento de la enfermedad de Crohn y se utilizan en caso de perforación en la colitis ulcerosa. En casos selectos pueden ser valiosos para el tratamiento de enfermedad perianal, fistulas enterocutáneas o enfermedad colónica activa.

Varios estudios centrados en el uso del ciprofloxacino (Prantera et al., 1996; Colombel et al., 1999), demostraron que la administración de 1 g/día de ciprofloxacino se asociaba con resultados similares a los obtenidos con 4 g/día de 5-

ASA en lo que respecta a la inducción de remisión de una enfermedad de Crohn leve a moderada después de 6 semanas de tratamiento. Las evidencias preliminares sugieren que la monoterapia con claritromicina también podría ser útil para el tratamiento de la enfermedad de Crohn activa (Leiper et al., 2000), presentando además como ventaja el ser muy eficaz para el tratamiento de una infección micobacteriana atípica.

#### **I.2.2.2.3. Glucocorticoides**

Los glucocorticoides desempeñan un papel central en el tratamiento de la enfermedad de Crohn y de la colitis ulcerosa. Su eficacia se atribuyó a numerosos efectos antiinflamatorios e inmunosupresores, como la inhibición de la expresión de citocinas proinflamatorias, moléculas de adherencia, moléculas MHC clase II, leucotrienos, elastasa, colagenasa y óxido nítrico sintasa. Los glucocorticoides se fijan a un receptor citoplasmático presente en todas las células y luego ingresan en el núcleo para unirse a elementos de respuesta a glucocorticoides presentes en el DNA cromosómico, lo que conduce a una diversidad de efectos fisiológicos (Franchimont et al., 1998). Los efectos antiinflamatorios de los glucocorticoides pueden ser consecuencia de la regulación en menos de NF- $\kappa$ B y la inducción de  $\kappa$ B inhibidor (Thiele et al., 1999). También es posible que los glucocorticoides ejerzan efectos celulares directos y reduzcan la actividad fagocítica de los neutrófilos y en algunas situaciones, la apoptosis de los linfocitos (Franchimont et al., 1998). Lamentablemente, los efectos beneficiosos de los glucocorticoides se producen a expensas de efectos adversos frecuentes y a menudo severos, tales como síntomas neuropsiquiátricos preocupantes (alteraciones del estado anímico e insomnio) y efectos cosméticos (acné, rasgos cushingoides, caída del cabello e hirsutismo). Los efectos secundarios metabólicos son aún más graves y comprenden supresión suprarrenal cortical, intolerancia a la glucosa, miopatía y pérdida de la masa ósea. Los glucocorticoides aumentan también el riesgo de complicaciones infecciosas, sobre todo con dosis de prednisona mayores de 40mg; las dosis menores de 10 mg no se asocian con un aumento apreciable del riesgo de infección (Stuck et al., 1989).



Este perfil de riesgo desfavorable contraindica la administración prolongada de glucocorticoides.

Con la intención de limitar los efectos sistémicos indeseables de los glucocorticoides se desarrollaron corticosteroides nuevos como el dipropionato de beclometasona o la budesonida. Estos fármacos poseen la misma afinidad o mayor por los receptores para glucocorticoides que los tradicionales y su mayor grado de metabolismo durante el primer pasaje hepático pueden contribuir a una reducción de la exposición sistémica. La budesonida se evaluó en forma de liberación controlada destinada al tratamiento del íleon terminal y el colon derecho (Greenbeg et al., 1994).

#### **I.2.2.2.4. Agentes Inmunosupresores**

Los agentes inmunosupresores utilizados con mayor frecuencia en el tratamiento de la EII son la azatioprina y 6-mercaptopurina (6-MP). La azatioprina es un profármaco que se convierte por mecanismos no enzimáticos en 6-MP en el hígado y la 6-MP se transforma posteriormente en tioguanina. Este último compuesto altera la biosíntesis de las purinas, inhibiendo de ese modo la proliferación celular. El tratamiento con azatioprina y 6-mercaptopurina debe considerarse en pacientes con enfermedad de Crohn que no respondan a la terapéutica de primera línea o en quienes es imposible reducir de manera gradual la dosis de glucocorticoides sin que recurra la enfermedad. También debe considerarse en pacientes que reciben antibióticos por una fistula y no toleran o no responden a esta modalidad terapéutica. En el caso de instaurar un tratamiento con estos fármacos es necesario tener presente el comienzo de acción lenta de estos fármacos. En muchos casos se debe administrar un régimen inicial de glucocorticoides con reducción gradual de la dosis para obtener una respuesta rápida y complementar el tratamiento con azatioprina o 6-MP. Por otra parte, en el caso de la colitis ulcerosa, la aplicación principal de estos fármacos es en el tratamiento de la enfermedad activa crónica (Kirk y Lennard-Jones, 1982) y en el mantenimiento de la remisión (Jewel y Truelove, 1974). Si se administran a dosis moderadas (2 a 2,5 mg/Kg en el caso de la azatioprina) los efectos adversos son

mínimos y comprenden náuseas, fiebre, mialgias, diarrea, pancreatitis y disfunción hepática.

Por otra parte, otro agente inmunosupresor que se viene utilizando con frecuencia creciente para el tratamiento de la colitis ulcerosa severa es la ciclosporina (Lichtiger y Present, 1990), de hecho, alrededor de un 50 a un 80% de los pacientes con ataque severos durante el episodio agudo de la enfermedad, que no responden a la administración de glucocorticoides por vía intravenosa, podrían evitar la colectomía si se administra una infusión lenta y continua de ciclosporina. Otra indicación para el uso de ciclosporina es el tratamiento de una colitis distal o una proctitis resistentes mediante enema de retención (Winter et al., 1993). Sin embargo, la concentración sanguínea de ciclosporina tras la administración por vía rectal es reducida, lo que sugiere que la absorción colónica es reducida. A diferencia de lo que ocurre en la colitis ulcerosa, en pacientes con enfermedad de Crohn la ciclosporina no desempeña un papel terapéutico importante. En una serie de ensayos no controlados y aleatorizados se llegó a la conclusión de que este fármaco en dosis elevadas era eficaz para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria y las fístulas, pero a expensas de una incidencia inaceptable de efectos adversos tales como hepatotoxicidad, hipertensión, temblores, reducción reversible o irreversible de la función renal. Las dosis más reducidas presentan menos efectos adversos, pero no son eficaces para mantener la remisión (Feagan et al., 1994).

Por último, el metotrexato puede considerarse como alternativa a la tiopurinas, sobre todo en enfermos que no toleran bien estos últimos fármacos (Mack et al., 1998). Además de su acción como agente ahorrador de glucocorticoides, el metotrexato puede considerarse para el tratamiento de la enfermedad de Crohn activa, aunque en estos casos los beneficios son menos evidentes (Lemann et al., 1996). Los efectos adversos que pueden presentarse con el tratamiento con metotrexato son: anorexia, náuseas y vómitos, leucopenia, anemia megaloblástica, neuropatía y fibrosis hepática, pero sobre todo está contraindicado en embarazadas al ser muy teratogénico, sobre todo durante el primer trimestre del embarazo pudiendo provocar el aborto.

#### **I.2.2.2.5. Terapia biológica**

El infliximab es un anticuerpo monoclonal anti-TNF que ha mejorado las opciones terapéuticas de los enfermos de EII. La eficacia de este fármaco se ha confirmado para la enfermedad de Crohn en fase activa y en la curación de las fistulas (Hanauer et al., 2002; Sands et al., 2004). Estudios recientes han demostrado también su efectividad con la colitis ulcerosa en fase moderada a severa (Rutgeerts et al., 2005). Más aún, el tratamiento con infliximab reduce la necesidad de cirugía y hospitalización en pacientes con enfermedad de Crohn (Lichtenstein et al., 2004). El tratamiento durante 8 semanas con infliximab ha demostrado la capacidad de mantener la remisión y cicatrizar la mucosa intestinal (Rutgeerts et al., 2004; Hanauer et al., 2004). Los estudios realizados han demostrado que el tratamiento sistemático es preferible al uso esporádico porque se reduce la formación de anticuerpos para infliximab relacionados con una corta duración de la respuesta (Baert et al., 2003). También se han realizado estudios para el uso concomitante del infliximab con los agentes inmunosupresores, en concreto con azatioprina y metotrexato, con el fin de reducir los anticuerpos para infliximab (Vermeire et al., 2007). El mecanismo del infliximab está relacionado con su capacidad para fijarse y eliminar el TNF soluble, pero también se fija al TNF unido a las células. Mediante este último mecanismo es posible que el infliximab induzca citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos, o por medio de su isotipo IgG1, la fijación del complemento y la lisis de las células portadoras de TNF en su superficie (Scallon et al., 1995). Los efectos derivados de la inhibición del TNF comprenden la expresión disminuida de IL-2, interferón- $\gamma$  y otras citocinas proinflamatorias; la regulación en menos de moléculas de adherencia, la óxido nítrico sintasa inducible y las proteínas de fase aguda y la inhibición de la proteólisis y la resorción ósea (Eigler et al., 1997). Sin embargo, a pesar de que el infliximab es muy eficaz, no todos los enfermos responden a este fármaco, de tal manera que el factor clave para un uso inocuo eficaz y apropiado del infliximab es la selección adecuada de los pacientes. Los candidatos adecuados suelen ser los que no respondieron a otras modalidades terapéuticas, incluidos los agentes inmunomoduladores si la necesidad de tratamiento no es demasiado urgente para permitir un ensayo apropiado con estos

fármacos. Actualmente, la terapia biológica está basada en la actuación de nuevos fármacos sobre el sistema inmune de la mucosa intestinal, los nuevos agentes biotecnológicos actúan como inhibidores de las células T, inhibidores de las citocinas proinflamatorias, inhibidores de las moléculas de adhesión, etc.

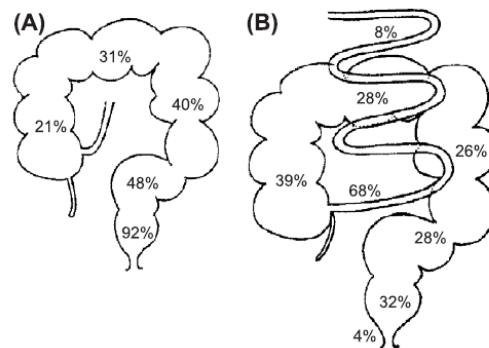
### **I.2.3. DESARROLLO GALÉNICO DEL TRATAMIENTO DE LA EII: FORMAS FARMACÉUTICAS COLON-ESPECÍFICAS**

Como se ha discutido anteriormente, el tratamiento farmacológico de la EII, presenta como principal obstáculo superar la prematura absorción del fármaco de elección (5-ASA) antes de alcanzar su lugar de acción. En este sentido, parece oportuno describir las formas farmacéuticas de liberación colón-específica, en tanto en cuanto, plantean el camino a seguir para la mejora del tratamiento de esta enfermedad.

Estos sistemas de liberación se incluyen dentro del grupo de formas farmacéuticas con control espacial de la liberación (véase apartado I.1.2), como formas farmacéuticas sitio-específicas de administración oral. Su objetivo en el tratamiento de la EII es liberar el principio activo específicamente en la zona de la mucosa intestinal afectada, permitiendo reducir la dosis administrada y posibles efectos secundarios del fármaco.

La mayoría de los pacientes con EII sufren inflamación a nivel del colon y en consecuencia son numerosas las revisiones bibliográficas sobre sistemas de liberación colón-específicos (Rubinstein, 1990, 1995; Friend, 1991; Ashford y Fell, 1994; Rubinstein y Friend, 1994; Wilding et al., 1994; Rama Prasad et al., 1996; Watts e Illum, 1997; Reddy et al., 1999; Sarasija y Hota, 2000; Sinha y Kumria, 2001a,b; Lee et al., 2002; Yang et al., 2002; Friend, 2005). En estos trabajos se describen distintos sistemas destinados a dirigir la liberación del fármaco en el tracto gastrointestinal, cuyos mecanismos dependen de una o más de las siguientes variables: tiempo de tránsito, pH del tracto gastrointestinal, actividad enzimática, potencial de óxido-reducción, presión intraluminal. Muchas de estas variables están directamente afectadas por la presencia de la enfermedad, de manera que, por

ejemplo, la EII normalmente conlleva la alteración de los tiempos de tránsito, sobre todo a nivel del colon. En consecuencia, los sistemas de liberación dependientes del tiempo necesitan funcionar eficazmente en pacientes que puedan presentar estasis en algunas regiones y un tránsito rápido y variable en otras partes. Con sistemas basados en otros mecanismos para dirigir la liberación del fármaco podrían hacerse consideraciones similares. Paralelamente, la localización de la inflamación en las distintas zonas del intestino varía dependiendo del paciente (Figura I.2.3.), siendo uno de los factores a tener en cuenta durante el diseño de formas farmacéuticas sitio-específica.



**Fig. I.2.3.** Localización de la inflamación en el diagnóstico de 783 pacientes con colitis ulcerosa (A) y 195 pacientes con enfermedad de Crohn (B) (tomado de Both et al., 1983). Los datos representan los porcentajes de pacientes con inflamación en cada segmento del intestino.

En la colitis ulcerosa, las zonas inflamadas se extienden a las regiones más proximales del colon. En la enfermedad de Crohn la zona de predominio de la inflamación es el íleon distal: entre el 30% y el 40% de los pacientes manifiestan también complicaciones a nivel del colon. Por tanto, un sistema de liberación diseñado para pacientes con colitis ulcerosa será diferente de uno para pacientes con enfermedad de Crohn. No obstante, el subconjunto de pacientes de Crohn con complicación a nivel del colon mejorará a partir de un sistema diseñado para tratar colitis ulcerosa.

De conformidad con los factores fisiológicos afectados por la enfermedad, así como en base a las particularidades fisiológicas de la zona de liberación, los sistemas de

liberación colónica, se pueden dividir según su mecanismo de liberación en cuatro categorías principales (Friend, 2005):

- Sistemas dependientes del tiempo de tránsito gastrointestinal.
- Sistemas dependientes del pH.
- Sistemas activados por la presión.
- Sistemas activados por las enzimas.

#### **I.2.3.1. Sistemas dependientes del tiempo de tránsito gastrointestinal**

La variabilidad con la que las formas farmacéuticas abandonan el estómago impide calcular con precisión el tiempo necesario para alcanzar el colon con precisión (Kinget et al., 1998). Además los tiempos de tránsito a través del colon en pacientes con síndrome intestinal irritable, diarrea y colitis ulcerosa son más rápidos de lo normal (Reddy et al., 1991; Vassallo et al., 1992; Von der Ohe et al., 1993). Por tanto, los sistemas de liberación que dependen del tiempo de tránsito gastrointestinal no son los más adecuados para dirigir la liberación del fármaco en el colon (Yang et al., 2002). No obstante, existen medicamentos comercializados que emplean este mecanismo de control, como por ejemplo la Pentasa<sup>®</sup>, constituido por microgránulos de 5-ASA recubiertos con etilcelulosa, que se administran en forma de comprimidos y cápsulas (Yu et al., 1995), así como en sobres con los microgránulos libres en polvo (Wilding et al., 2000). Los microgránulos alcanzan el intestino delgado a través del píloro, y durante su tránsito intestinal, la absorción de agua a través de la cubierta de etilcelulosa inicia la liberación del fármaco, dando lugar a un gradiente de concentración entre el interior y el exterior de los microgránulos, que teóricamente asegura la difusión del fármaco a velocidad constante (Small y Schraa, 1994).

#### **I.2.3.2. Sistemas dependientes del pH**

Los sistemas colon específicos dependientes del pH se basan en las diferencias en los niveles de pH que se observan a lo largo del tracto gastrointestinal. Emplean

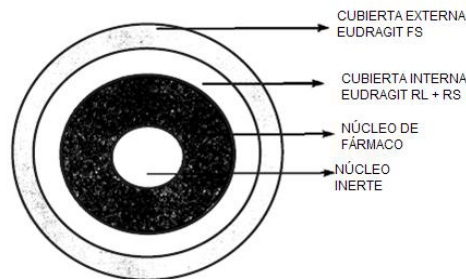
polímeros insolubles en medio gástrico, capaces de retrasar la liberación del fármaco hasta alcanzar el intestino delgado, donde dependiendo de su estructura, disuelven a valores de pH entre 5 y 7.

Aunque un polímero pH-dependiente puede proteger una forma farmacéutica en el estómago y en el intestino delgado proximal, quizás empiece a disolver incluso en la zona más baja del intestino delgado, presentando poca especificidad en el lugar de liberación (Fukui et al., 2001). En el estómago el pH es 1-2 en ayunas, aumentando después de comer de forma significativa (Wilson et al., 1989; Rubinstein, 1995). En el intestino delgado proximal es 6.5, siendo alrededor de 7.5 en el distal (Evans et al., 1988). Desde el íleon al colon el pH desciende significativamente, siendo 6.4 en el intestino ciego. En el colon ascendente se han observado valores de 5.7 en voluntarios sanos (Bussemer et al., 2001), mientras que en el colon transversal y en el descendente, el pH vuelve a aumentar hasta alcanzar valores de 6.6 y 7, respectivamente. Además, hay que resaltar que el pH del tracto gastrointestinal varía entre y dentro de los individuos (Friend, 1991; Ashford et al., 1993; Kinget et al., 1998). Está afectado por ejemplo por la dieta y la enfermedad (Rubinstein, 1995). Así, el pH colónico es significativamente más bajo de lo normal en el periodo agudo de la EII (Leopold and Eikener, 2000), pudiendo caer a valores entre 2.3 y 4.7 en zonas proximales del colon en pacientes con colitis ulcerosa (Fallingborg et al., 1989).

### **I.2.3.3. Sistemas dependientes del pH y del tiempo**

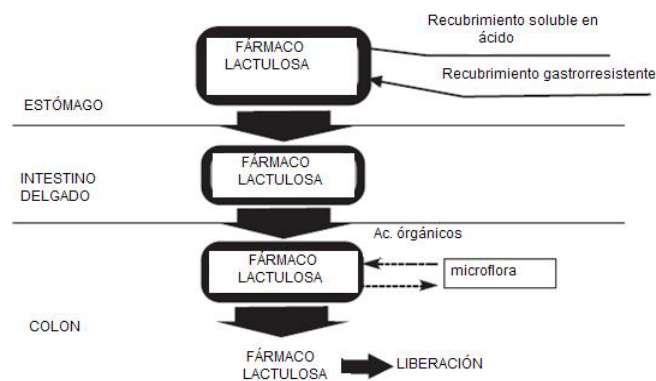
Con frecuencia, las formas farmacéuticas tiempo dependientes lo son también pH dependientes. Combinando el empleo de polímeros gastrorresistentes en formulaciones dependientes del tiempo, es posible obtener sistemas multicapa capaces de dirigir la liberación a nivel del íleon y del colon terminal (Pozzi et al., 1994; Ueda et al., 1994; Vandelli et al., 1996; Gupta et al., 2001a, b). Estos sistemas presentan una cubierta gastrorresistente externa (normalmente de Eudragit<sup>®</sup> de diferentes grados L, S o FS) capaz de prevenir la liberación del fármaco hasta que la forma farmacéutica alcance y transite a lo largo del intestino delgado (Figura I.2.4.).

Una segunda barrera tiempo dependiente (que puede ser de Eudragit<sup>®</sup> de otro grado diferente a la anterior) es utilizada para retrasar la liberación tras el vaciado gástrico (y subsiguiente disolución de la cubierta externa) durante un periodo de tiempo predeterminado (generalmente varias horas).



**Fig. I.2.4.** Esquema de un sistema de liberación multicapa dependiente del pH y del tiempo de tránsito gastrointestinal (modificado de Gupta et al., 2001a).

Recientemente se han desarrollado sistemas más sofisticados denominados CODES<sup>™</sup>, basados en la conversión de lactulosa a ácidos orgánicos por parte de las enzimas bacterianas del colon (Katsuma et al., 2002; Yang et al., 2003) (Figura I.2.5.).



**Fig. I.2.5.** Esquema de la formulación CODES<sup>™</sup> (modificado de Katsuma et al., 2002).

En este caso la cubierta más externa está compuesta por un polímero gastrorresistente (Eudragit<sup>®</sup> L). Una vez que la forma farmacéutica atraviesa el píloro y entra en el duodeno, se disuelve la cubierta más externa, quedando expuesta la



segunda cubierta polimérica compuesta por Eudragit® E. Esta segunda cubierta, insoluble en el intestino delgado y grueso, permite no obstante la liberación de la lactulosa en el medio, donde este disacárido es degradado por la microflora intestinal a ácidos grasos de cadena corta, disminuyendo el pH de la zona, lo que determina la disolución del Eudragit E y subsiguiente exposición del núcleo del comprimido al medio y liberación del fármaco.

#### **I.2.3.4. Sistemas activados por la presión**

Los sistemas activados por la presión liberan el fármaco cuando la presión intestinal aumenta temporalmente, superando un cierto umbral (Takada et al., 1995; Takaya et al., 1995; Hu et al., 1998; Muraoka et al., 1998; Jeong et al., 2001). Este efecto se debe a que la reabsorción de agua desde el intestino grueso aumenta la viscosidad del contenido luminal y el peristaltismo colónico (Digenis y Sandefer, 1991; Ritschel, 1991; Moës, 1993). No obstante, la reproducibilidad y duración de esta fase de presión elevada deben aún aclararse (Leopold, 1999).

#### **I.2.3.5. Sistemas activados por las enzimas**

Es un hecho que la concentración de enzimas aumenta considerablemente al avanzar en el tracto gastrointestinal, como consecuencia directa del número de bacterias presentes en cada zona. La microflora bacteriana del estómago e intestino delgado ronda las  $10^3$ - $10^4$  unidades formadoras de colonias (CFU/ml) (Gorbach, 1971; Simon y Gorbach, 1986). Sin embargo, la concentración de la microflora aumenta enormemente al pasar del íleon terminal al colon ascendente ( $10^{11}$ - $10^{12}$  CFU/ml), donde estas bacterias se alimentan fermentando una amplia gama de sustratos (oligosacáridos, polisacáridos, mucopolisacáridos y sustancias similares) que quedan sin digerir en el intestino grueso (Rubinstein, 1990). Las enzimas bacterianas destinadas a fermentar estos sustratos incluyen azoreductasas,  $\beta$ -glucuronidasas,  $\beta$ -xilosidasas, dextranasas, esterases, nitroreductasas, etc (Scheline, 1973). Estas enzimas se pueden emplear para conseguir la liberación del fármaco en el colon, bien porque activen moléculas farmacológicamente inactivas (profármacos), bien por

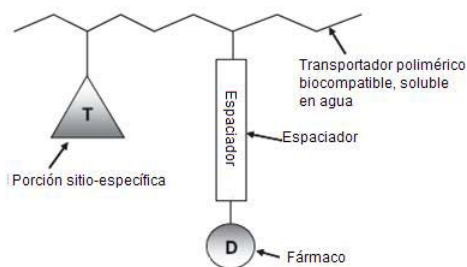
degradación de matrices y cubiertas poliméricas (Sinha y Kumria, 2001a), o como han desarrollado recientemente, para inducir una disminución controlada del pH que determine a su vez la liberación a través de un polímero de liberación pH dependiente, como hemos discutido antes (Katsuma et al., 2002; Yang et al., 2003).

### **I.2.3.5.1. Profármacos**

Los profármacos están constituidos por moléculas inactivas farmacológicamente unidas a un principio activo mediante un enlace covalente (ej: -N=N-). En los sistemas de liberación basados en profármacos, la porción inactiva minimiza la absorción del fármaco hasta que este no es liberado (normalmente por acción enzimática) cerca de su lugar de acción. De manera que la porción inactiva se emplea para aumentar la hidrofilia del fármaco, su tamaño molecular, o ambos, para poder retrasar su absorción (Sinha y Kumria, 2001a).

#### **I.2.3.5.1.1. Azoreducción**

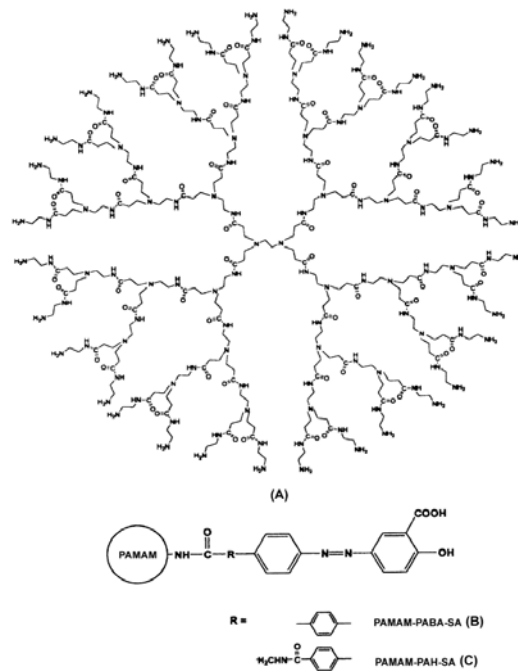
Ejemplos clásicos de profármacos colon específicos con este mecanismo de liberación son la sulfasalazina (Klotz, 1985) y la olsalazina (Travis et al., 1994), cuya molécula activa es la mesalazina, como hemos discutido ampliamente en el apartado (I.2.2.1). A partir de estos derivados, se han ido desarrollando otras moléculas de variada complejidad, en los que el 5-ASA puede ser transportado incluso por macromoléculas (**azo-polímeros**) originando los denominados “profármacos poliméricos” (Brown et al., 1983; Garretto et al., 1983; Lashner et al., 1985). Los profármacos poliméricos normalmente aumentan la solubilidad del fármaco y gracias a su tamaño y a la especificidad de la porción diana, pueden modificar la farmacocinética del principio activo en comparación con la del fármaco no conjugado (Lu et al., 2002). En los últimos años esta estrategia se ha desarrollado generando sistemas complejos como el que se muestra en la Figura I.2.6., en la que se emplea un espaciador biodegradable, entre el polímero y el fármaco, para controlar el lugar y la velocidad de liberación del principio activo.



**Fig. I.2.6.** Estructura de un profármaco sitio-específico polimérico (Lu et al., 2002).

Otra posible variación en el diseño de profármacos basados en azo-poímeros es el uso de dendrímeros como moléculas transportadoras (Wiwattanapatapee et al., 2003) Figura I.2.7. Este sistema ha sido empleado para el transporte del 5-ASA a nivel cecal en ratas, presentando una velocidad de liberación del fármaco más lenta que la observada con la sulfasalazina (Wiwattanapatapee et al., 2003).

La utilización de sistemas “azo” (de bajo y elevado peso molecular) para la liberación colon específica de fármacos es controvertida. Mientras los profármacos de bajo peso molecular son usados clínicamente, casi todas las formas poliméricas han sido usadas tan sólo en animales de experimentación (Van Den Mooter et al., 1997). Los sistemas poliméricos presentan una lenta liberación del activo desde el transportador (Schacht et al., 1996). El empleo de profármacos poliméricos no es la estrategia más adecuada cuando las dosis diarias de fármaco requerido son elevadas, como sucede con el 5-ASA, cuya dosis diaria recomendada supera el gramo. Suponiendo que el fármaco sea el 10% de la masa total del sistema, y sin incluir el resto de excipientes de la forma farmacéutica final, la masa requerida superaría los 10 gramos, cantidad bastante elevada, lo que limita el empleo de profármacos poliméricos.



**Fig. I.2.7.** Estructura de la generación 3(G3) de dendrímeros de polyamidoamina (PAMAM). (A) Ácido PAMAM-*p*-aminohippúrico (PAH), (B) Ácido salicílico (SA) conjugado y (C) conjugado PAMAM-PAH-SA (tomada de Wiwattanapatapee et al., 2003).

#### I.2.3.5.1.2. Hidrólisis

La hidrólisis enzimática ha sido empleada para desarrollar sistemas de liberación colon-específica de fármacos conjugados con aminoácidos, glicósidos, glucurónidos, sulfatos, dextrano y ciclodextrinas, siendo testados en animales (y de forma muy limitada en humanos) tal y como queda ampliamente documentado en la bibliografía (Sarasija y Hota, 2000; Sinha y Kumria, 2003).

#### *Ciclodextrinas*

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos constituidos por 6-8 unidades de glucosa ampliamente usadas para aumentar la solubilidad de fármacos poco solubles. La absorción de las ciclodextrinas en el tracto gastrointestinal es escasa, debido a su tamaño e hidrofilia, siendo fermentadas por las enzimas presentes en el colon (Antenucci y Palmer, 1984; Flourie et al., 1993) lo que permite su empleo como transportadoras para la liberación de fármacos en esta zona. Así, conjugados de  $\alpha$ -,  $\beta$ -

y  $\gamma$ - Ciclodextrinas con prednisolona han sido propuestos como profármacos específicos del colon (Yano et al., 2001a, b; Yano et al., 2002). La velocidad con la que son hidrolizados los diferentes tipos ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ) de ciclodextrinas proporciona flexibilidad en el diseño de estos sistemas de liberación (Yano et al., 2001a). Por ejemplo, el complejo prednisolona- $\alpha$ -ciclodextrina reduce eficazmente la inflamación en animales, de forma comparable al fármaco libre, con una reducción de los efectos adversos (Yano et al., 2002).

#### *Dextranos*

Estos polisacáridos son relativamente estables en la zona alta del intestino, estando sujetos a hidrólisis enzimática una vez alcanzan las zonas bajas del intestino por acción de las dextranasas bacterianas (Hehre y Sery, 1952; Sery y Hehre, 1956; Rosenfeld y Lukomskaya, 1957). Los dextranos presentan un número relativamente elevado de grupos hidroxilos, a los que fármacos con grupos ácidos (por ejemplo, carboxilos) pueden unirse por puentes de hidrógeno. Asimismo, puede usarse un espaciador (tal como una molécula de ácido succínico o glutámico) entre el polímero y el fármaco (Harboe et al., 1988; McLeod et al., 1993), permitiendo la liberación de manera eficaz en la zona baja del intestino, tal y como se ha demostrado en ratas (McLeod et al., 1994).

#### **I.2.3.5.2. Matrices y sistemas recubiertos**

La degradación enzimática permite, junto con el control mediante la obtención de profármacos, el desarrollo de sistemas matriciales y recubiertos con polímeros degradables por las enzimas del tracto gastrointestinal. En concreto, la mayoría de los polisacáridos naturales son estables en la parte más alta del intestino pero susceptibles a la degradación hidrolítica en la parte más baja (Sinha y Kumria, 2001b y 2003; Vandamme et al., 2002). Además, pueden ser químicamente modificados para optimizar alguna propiedad, como la capacidad para formar películas impermeables (Hovgaard y Brondsted, 1996). Todo ello, hace que sean muchos los sistemas propuestos que emplean polisacáridos para dirigir la liberación del fármaco en la zona baja del tracto gastrointestinal (Tabla I.2.III).

**Tabla I.2.III.** Sistemas polisacáridicos de liberación específica en colon (tomado de Friend, 2005).

| Polisacárido       | Excipientes                           | Formas farmacéuticas   | Referencias  |
|--------------------|---------------------------------------|--|--|
| Pectinas           | Sales de calcio                       | Matrices, comprimidos recubiertos por compresión.<br>Matrices de cubierta entérica | Rubinstein et al., 1993; Rubinstein y Radai, 1995; Adkin et al., 1997  |
|                    | Derivados Metoxilados                 | Comprimidos recubiertos por compresión   | Ashford et al., 1994   |
|                    | Derivados de amidas                   | Comprimidos matriciales, gránulos recubiertos                                      | Wakerly et al., 1997; Munjeri et al., 1997   |
|                    | Pectinato cálcico de amida            | Comprimidos matriciales  | Arabi et al., 2000   |
| Chitosan           | Películas mixtas                      | Cubiertas peliculares para comprimidos y gránulos                                  | Wakerly et al., 1996; Semdé et al., 1998 y 2000a y b; MacLeod et al., 1999a y b; Fernandez- Hervas y Fell, 1998      |
|                    | Chitosan natural                      | Microesferas y cápsulas recubiertas  | Tozaki et al., 1997, 1999; Lorenzo-Lamosa et al., 1998   |
| Goma guar          | Derivados del chitosan                | Matrices   | Aiedeh y Taha, 1999  |
|                    | Goma guar natural                     | Comprimidos matriciales, comprimidos recubiertos por compresión                    | Krishnaiah et al., 1998, 1999, 2002, 2003a,b; Rama Prasad et al., 1998; Wong et al., 1997; Kenyon et al., 1997       |
| Amilasa            | Derivados de la goma guar             | Comprimidos recubiertos o matriciales  | Rubinstein y Gliko-kabir, 1995; Gliko-Kabir et al, 2000  |
|                    | Películas mixtas                      | Pellets recubiertos, comprimidos y cápsulas  | Watts y Illum, 1997; Milojevic et al., 1996a,b; Cummings et al., 1996; Siew et al., 2000a, b; Vilivalam et al., 2000 |
| Condroitin sulfato | Condroitina de unión-cruzada          | Comprimidos matriciales  | Rubinstein et al, 1992a, b   |
| Alginatos          | Sales de calcio                       | Gránulos hinchables  | Shun y Ayres, 1992   |
| Inulina            | Películas mixtas                      | Comprimidos y gránulos recubiertos   | Vervoort y Kinget, 1996  |
|                    | Derivados de metacrilato              | Hidrogeles de unión-cruzada  | Vervoort et al., 1998  |
| Dextrano           | Diisocianato de dextrano "cross-link" | Hidrogeles   | Brondsted et al., 1995 y 1998; Simonsen et al., 1995; Chiu et al., 1999  |

### **I.3. FILOSILICATOS DE EMPLEO EN LIBERACIÓN MODIFICADA**

La mayor parte de las estrategias de modificación de la liberación de fármacos asumen un nuevo concepto de “excipiente”. De tal manera, que los “excipientes” no son sólo “componentes inertes” de la formulación, sino que pueden usarse con fines biofarmacéuticos (disminuir o aumentar la velocidad de disolución, retardar y/o liberar el fármaco en su diana biológica), farmacológicos (previenen o reducen los efectos secundarios), tecnológicos (enmascarar sabores) o químicos (aumentando la estabilidad del principio activo). Las arcillas o filosilicatos son materias primas farmacéuticas empleadas fundamentalmente como excipientes, así como ocasionalmente por su actividad farmacológica (López Galindo et al., 2007; Viseras et al., 2007). De entre las arcillas empleadas en farmacia, tales como esmectitas, talco, kaolinita y arcillas fibrosas, algunas han sido ampliamente utilizadas para modificar la liberación de principios activos, especialmente de fármacos básicos (Aguzzi et al., 2007). La Tabla I.3.I. recoge los posibles mecanismos de interacción entre las arcillas y las moléculas orgánicas.

La importancia de cada mecanismo dependerá de la naturaleza de la arcilla (Browne et al., 1980), de los grupos funcionales implicados (Lagaly, 2001) y de las propiedades fisicoquímicas del fármacos (Tolls, 2001). En base a estas interacciones, pero también gracias al tamaño coloidal de las partículas de arcilla y su consiguiente especial comportamiento en dispersión, las arcillas son usadas con éxito para retardar la liberación, así como para controlar la velocidad y/o el lugar de la misma (Aguzzi et al., 2007). En particular, la halloysita ha sido propuesta como soporte para la liberación modificada de diferentes fármacos (Price et al., 2001; Levis y Deasy, 2002, 2003; Kelly et al., 2004; Byrne y Deasy, 2005), así como, más recientemente, para la liberación de proteínas y material genético (Veerabadran et al., 2007).

**Tabla I.3.I.** Mecanismos de interacción arcillas-molécula orgánica (tomado de Aguzzi et al., 2007).

| Mecanismo  | Ejemplos de minerales   | Grupos funcionales implicados   |
|--|---|---|
| Interacciones hidrofóbicas (Van der Waals)   | Cualquier arcilla con sitios neutros (ej., kaolinita, esmectitas) | No cargados, no polares (ej., hidrocarburos alifáticos y aromáticos)  |
| Puentes de hidrógeno   | Arcillas con O superficiales (ej., kaolinita)                     | Aminas, grupos carbonilos, carboxilos, fenilhidroxilos, heterociclos con N                                    |
| Protonación  | Bordes de los filosilicatos, óxidos de hierro y aluminio, etc.    | Aminas, grupos carbonilos, carboxilos, fenilhidroxilos, heterociclos con N                                    |
| Intercambio de ligandos  | Bordes de los filosilicatos, óxidos de hierro y aluminio, etc.    | Carboxilatos y fenolatos  |
| Intercambio catiónico (sitios cargados permanentemente)                                  | Esmectitas, illita, vermiculitas                                  | Aminas, Anillos con NH, heterociclos con N  |
| Sitios con carga pH dependiente: frecuentemente intercambio aniónico, rara vez catiónico | Bordes de los filosilicatos, óxidos de hierro y aluminio, etc.    | Carboxilatos para intercambio aniónico, aminas, anillos con NH, heterociclos con N para intercambio catiónico |
| Puentes catiónicos   | Esmectitas, illita,   | Carboxilatos, aminas, carbonilos, alcoholes   |
| Puentes de agua  | vermiculitas  |   |

Siendo la halloysita, una arcilla, la materia prima empleada en esta Tesis, parece conveniente discutir, al menos brevemente, algunos aspectos relativos al concepto y estructura de este tipo de materiales de interés farmacéutico.

### I.3.1. CONCEPTO DE ARCILLA

El término “arcilla” deriva del griego “argilos”, cuya raíz (“argos”) significa blanco, en referencia a su color. Así, el diccionario de la Real Academia de la Lengua Española (RAE, 2008), define arcilla como “tierra finamente dividida, constituida por agregados de silicatos de aluminio hidratados, que procede de la descomposición de minerales de aluminio, blanca cuando es pura y con coloraciones diversas según las impurezas que contiene”. Profundizando en su concepto, encontramos dos criterios, que conducen a diferentes definiciones: uno granulométrico o textural, según el cual las arcillas son “partículas de dimensiones inferiores a 2  $\mu\text{m}$ ”, otro mineralógico, en base al cual se definen como “silicatos estratificados” o “semi-estratificados hidratados” (Rautureau et al., 2004).



El concepto de arcilla ha evolucionado a lo largo de la Historia. En su tratado *De Natura Fossilium* (1546), Georg Bauer, conocido como Agrícola, define las arcillas como materiales finos, de comportamiento plástico y que endurecen manteniendo su forma cuando se secan en el horno. Muchos años más tarde, Grim amplía esta definición indicando que las arcillas son “sustancias naturales, terrosas y de grano fino, que presentan un comportamiento plástico en presencia de agua, y que están formadas fundamentalmente por sílice, óxido de aluminio, agua y cantidades variables de hierro y metales alcalinos y alcalinotérreos (Grim, 1968).

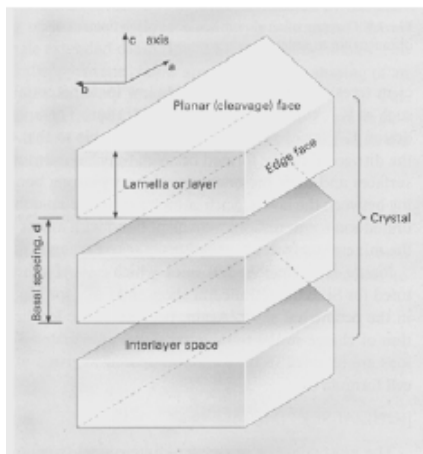
Posteriormente, Bailey (Bailey, 1980a) y Weaver (Weaver, 1989) han puesto de manifiesto la dificultad de combinar los requisitos granulométricos y mineralógicos en una simple definición de arcilla. La comisión de nomenclatura de la Asociación Internacional para el estudio de las arcillas (AIPEA) y de la “Clay Mineral Society” (CMS) han definido la arcilla como “un material natural, compuesto principalmente de minerales de pequeño tamaño de partícula (la mayor parte filosilicatos), que es generalmente plástico en presencia de una cantidad apropiada de agua, y que endurece al secarse (Guggenheim y Martin, 1995).

Desde un punto de vista mineralógico el término arcilla engloba a un grupo de minerales (minerales de la arcilla), en su mayor parte filosilicatos, cuyas propiedades físico-químicas dependen de su estructura y de su tamaño de partícula muy fino (inferior a 2  $\mu\text{m}$ ). Dado que las arcillas están formadas fundamentalmente por filosilicatos, muchos autores utilizan para los filosilicatos la denominación de “minerales de las arcillas” (Hurlbut y Klein, 1991) y no resulta extraño que se solapen términos, por lo que el Comité de Nomenclatura de la AIPEA distingue con el término “minerales de la arcilla”, tanto a los filosilicatos como a otros minerales presentes como fases minoritarias y copartícipes en las propiedades fisicoquímicas de las mismas, tales como cuarzo, feldespato, calcita, dolomita, denominados como “fases asociadas a los minerales de la arcilla” (González, 2000).

### I.3.2. ESTRUCTURA DE LOS FILOSILICATOS

El término “Filosilicato” deriva del griego *πιλλων*, que significa hoja, y del latín “silex” (sílice). Estos minerales\* están constituidos esencialmente por estratos o capas tetraédricas y octaédricas, dispuestos regularmente unos sobre otros a lo largo del eje c (Figura I.3.1.).

\*Un mineral es un compuesto químico sólido y homogéneo, de origen natural, formado como consecuencia de un proceso generalmente inorgánico, dotado de una composición química definida, pero no fija, y con una estructura interna ordenada (Internacional Mineralogical Association, 1995).



**Plano de átomos** (O, OH, Si).

**Estrato:** combinación de planos individuales de átomos (ej. Estrato tetraédrico).

**Lamina** (“layer”): combinación de estratos (ej. Lámina TO).

**Cristal:** combinación de muchas láminas.

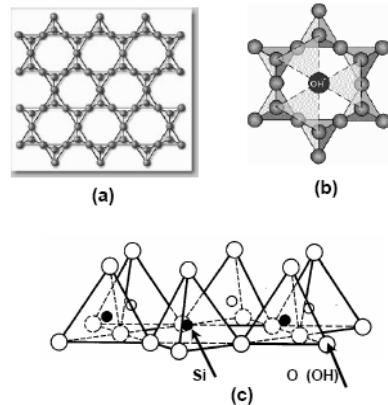
**Interlámina:** espacio entre dos láminas sucesivas (puede estar ocupado por agua, iones, moléculas orgánicas).

**Espaciado basal:** distancias entre una cara de una lámina y la misma cara de la lámina sucesiva.

**Fig. I.3.1.** Estructura general de los minerales de la arcilla.

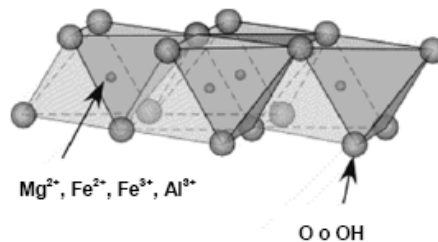
Los estratos tetraédricos están constituidos por tetraedros de silicio y oxígeno ( $\text{SiO}_4$ ), con una deficiencia de carga (-4), en los que el silicio se encuentra en posición central, y los oxígenos (u OH) ocupan los vértices del tetraedro. En el plano, los tetraedros se disponen formando anillos de seis unidades, en los que cada tetraedro comparte tres de sus cuatro vértices. Estos anillos se repiten indefinidamente dando lugar a la unidad  $\text{Si}_2\text{O}_5^{2-}$ , que se representa en la Figura I.3.2a. La fórmula mineral del estrato se completa con grupos OH localizados en el centro de la mayor parte de los anillos, como se aprecia en la Figura I.3.2b. Los oxígenos situados por encima del plano de enlace, se orientan todos en el mismo sentido (Figura I.3.2c). Para cada

capa o estrato tetraédrico se pueden, por tanto, distinguir tres planos sucesivos de átomos: un plano de O (base de los tetraédros), un plano de Si (situados en el centro de cada tetraédro) y un tercer plano de OH situados en el vértice superior de los tetraédros. (Grim, 1968).



**Fig. I.3.2.** Esquema de la estructura de la capa tetraédrica de los filosilicatos.

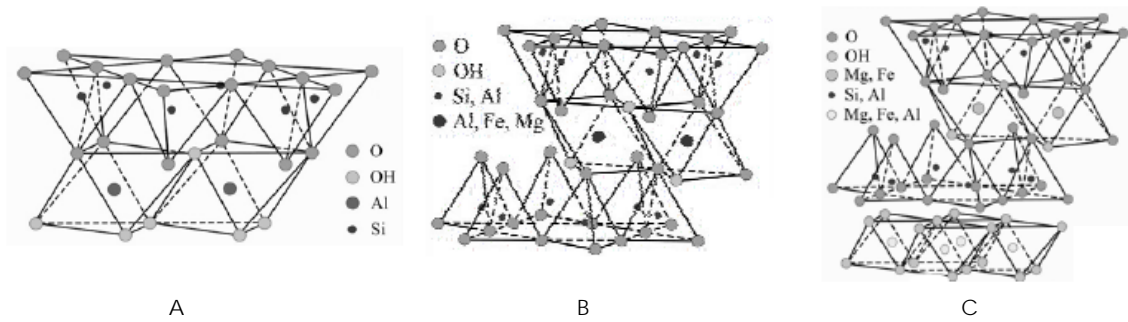
Unidos a los átomos de O u OH en posición apical, se enlazan cationes metálicos di o trivalentes en coordinación octaédrica (equidistantes de seis O u OH), de manera que por encima de esos cationes se sitúa un segundo estrato tetraédrico con sus O u OH apicales invertidos (Figura I.3.3), formando un estrato octaédrico.



**Fig. I.3.3.** Esquema de la estructura de la capa octaédrica de los filosilicatos.

Cuando los cationes del estrato octaédrico son divalentes ( $Mg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ) los filosilicatos se denominan **trioctaédricos**, por estar ocupadas las tres posiciones disponibles en coordinación octaédrica, mientras que si los cationes son trivalentes ( $Al^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ), tan sólo se ocupan dos de las tres posiciones y los filosilicatos se denominan **dioctaédricos**.

Los estratos o capas tetraédricos (T) y octaédricos (O) se pueden asociar para formar paquetes estructurales, que pueden ser eléctricamente neutros o presentar una carga neta negativa, compensada por cationes no coordinados que se sitúan en los espacios interlaminares (Figura I.3.4.) (Baronnet, 1988; Milovski y Kononov, 1988; Battey, 1990; Hurlbut y Klein 1991; Prothero y Schwab, 1996).



**Fig. I.3.4.** Tipos de apilamientos o paquetes estructurales de los filosilicatos: A) T-O (1:1), B) T-O-T (2:1), C) T-O-T-O (2:1:1).

Los principales criterios de clasificación (recomendados por la AIPEA) para los filosilicatos se basan en tipo de apilamiento, tipo de catión en el estrato octaédrico, carga neta del paquete estructural y tipo de catión (moléculas o agua) en el espacio interlaminares. En base a estos criterios se clasifican de acuerdo con los tipos recogidos en la Tabla I.3.II.

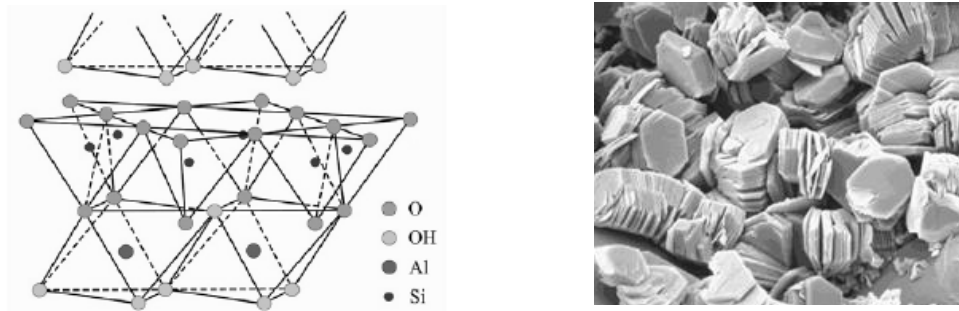
**Tabla I.3.II.** Clasificación de los filosilicatos de acuerdo con la AIPEA.

| Tipo de apilamiento        | Material interlaminar      | Grupo                                | Subgrupo                       | Especie (ejemplos)             | Formula mineralógica  |   |   |
|----------------------------|----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---|---|---|
| 1:1                        | Ninguno o agua             | Serpentina -                         | Serpentinas                    | Crisotilo                      | $Al_2Si_2O_5(OH)_4$   |   |   |
|                            |                            | Kaolinita<br>( $x \cong 0$ )         | Kaolin                         | Kaolinita,<br>halloysita       | $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$   |   |   |
|                            |                            | Talco -                              | Talco                          | Talco                          | $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$  |   |   |
| 2:1                        | Ninguno                    | Pirofilita<br>( $x \cong 0$ )        | Pirofilita                     | Pirofilita                     | $Al_2Si_4O_{10}(OH)_2$  |   |   |
|                            |                            | Esmectita<br>( $x \cong 0.2-0.6$ )   | Saponita                       | Saponita, hectorita            | $Ca_{0.25}Si_4$<br>$(Mg_{2.5}Li_{0.5})O_{10}(OH)_2$<br>$nH_2O$                            |   |   |
|                            |                            |                                      | Montmorillonita                | Montmorillonita,<br>nontronita | $(Na,Ca)(Al,$<br>$Mg)_2(Si_4O_{10})(OH)_2 nH_2O$  |   |   |
|                            |                            |                                      | Vermiculitas<br>Dioctáedricas  | Vermiculitas<br>Dioctáedricas  |   |   |   |
|                            |                            | Vermiculita<br>( $x \cong 0.6-0.9$ ) | Vermiculitas<br>Trioctáedricas | Vermiculitas<br>Trioctáedricas | $Ca_{0.65}(Si_{2.86}Al_{1.14})(Mg_{2.83}$<br>$Al_{0.15}Fe_{0.01})O_{10}(OH)_2$<br>$nH_2O$ |   |   |
|                            |                            |                                      | Mica<br>( $x \cong 0.5-1$ )    | Micas Dioctáedricas            | Moscovita,<br>paragonita  | $KAl_2(Al, Si_3O_{10})(OH)_2$             |   |
|                            |                            |                                      |                                | Micas Trioctáedricas           | Biotita, lepidolita   | $K(Fe,Mg)_3(Al,$<br>$Si_3)O_{10}(OH)_2$   |   |
|                            |                            | 2:1:1                                | Cationes no hidratados         | Mica frágil<br>( $x \cong 2$ ) | Micas Frágiles<br>Dioctáedricas   | Margarita                                 | $Ca(Si_2,Al_2)Al_2O_{10}(OH)_2$               |
|                            |                            |                                      |                                |                                | Micas Frágiles<br>Trioctáedricas  | Clintonita                                | $Ca(Mg,Al)_5(Al_3Si)O_{10}(O$<br>$H)_2$       |
|                            |                            |                                      |                                | Clorita                        | Cloritas<br>Dioctáedricas   | Donbassita                                | $Al_2(Al_{2.33})(Si_3AlO_{10})_4(O$<br>$H)_8$ |
| Cloritas<br>Trioctáedricas | Cookeita                   |                                      |                                |                                | $Li,Al_4(Si_3,Al)O_{10}(OH)_8$  |   |   |
| Hidróxidos                 | Clorita<br>( $x$ variable) |                                      |                                | Cloritas<br>Trioctáedricas     | Clinochloro   | $(Fe,Mg,$<br>$Al)_6(Si,Al)_4O_{10}(OH)_8$ |   |
|                            |                            |                                      |                                | Sepiolita -                    | Sepiolitas  | Sepiolita                                 | $Mg_8(OH)_4(OH_2)_4 8H_2O$                    |
| 2:1 (fibrosas)             | Ninguno                    | Palygorskita<br>( $x$ variable)      | Paligorskitas                  | Palygorskita                   | $(Mg,Fe,$<br>$Al)_5Si_8O_{20}(OH)_2(OH_2)_4 4$<br>$H_2O$                                  |   |   |

x = carga por unidad de fórmula.

### I.3.3. HALLOYSITA

De los diferentes grupos, el denominado grupo de la serpentina-kaolinita, engloba el mineral usado como excipiente nanotransportador en esta tesis; la halloysita. Como recoge la Tabla I.3.II., el grupo se corresponde con un apilamiento 1:1 o T-O, caracterizado por un bajo número de sustituciones en los estratos tetraédricos u octaédricos y con baja o nula presencia de agua en la interlámina. Los dos minerales principales del grupo son la serpentina y la kaolinita, constituyendo dos subgrupos, de los que sólo en el segundo encontramos minerales con interés farmacéutico: kaolinita y halloysita.

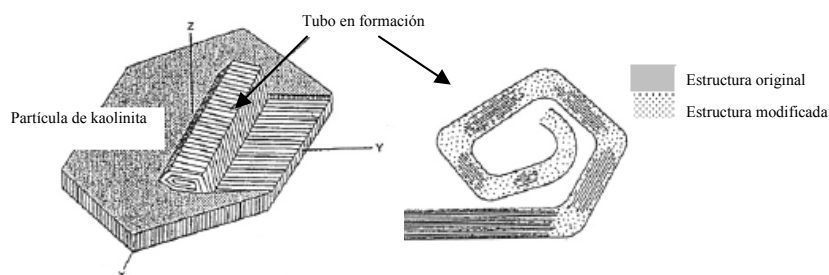


**Fig. I.3.5.** Estructura y microfotografía de la kaolinita.

La kaolinita ( $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ) representa la especie principal de este subgrupo. Desde el punto de vista morfológico, la kaolinita está constituida de partículas que presentan una típica forma hexagonal (Figura I.3.5.).

La halloysita es un polimorfo de la kaolinita con morfología tubular. La transformación de la kaolinita en halloysita (Figura I.3.6.) tiene lugar como resultado de fenómenos de hidratación (consecuencia de procesos hidrotermales o atmosféricos), que inducen sustituciones de los silicios tetravalentes de la capa tetraédrica por aluminios trivalentes (Tarí et al., 1999). La hidratación determina en primer lugar la delaminación de los paquetes T-O, y posteriormente un aumento del espacio basal, por debilitación de los enlaces por puentes de hidrógeno interlaminares.

Paralelamente, las sustituciones en la capa tetraédrica determinan una deformación estructural, que da origen a la característica morfología tubular (Tarí et al., 1999).

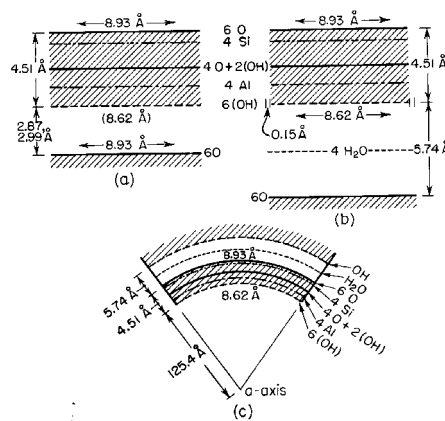


**Fig. I.3.6.** Esquema de la formación de halloysita a partir de kaolinita.

### I.3.3.1. HISTORIA Y NOMENCLATURA

El término halloysita fue dado por Berthier para el material encontrado en filones carboníferos de piedra cerca de Lieja, Bélgica, en un distrito de minas de zinc viejo y hierro (Berthier, 1826). Se le denominó halloysita en honor de Omalius d'Halloy, quien había observado este mineral varios años antes. Con anterioridad, al desarrollo de las técnicas de difracción de rayos X, muchos materiales fueron descritos como halloysita. Dana enumeró 16 minerales que consideró similares a la halloysita (Dana, 1914). Posteriormente, Ross y Kerr estudiaron muchos de estos minerales mediante métodos más modernos, demostrando que la halloysita es cristalina y estableciendo su estrecha relación con la kaolinita (Ross y Kerr, 1934). Además, Ross y Kerr observaron que existían dos tipos de halloysita, una que era normalmente blanca o ligeramente coloreada, porosa, friable, o de textura casi algodonosa; y otra que es densa, no porosa y como porcelana. A partir de entonces distintos autores hicieron referencia a los tipos de halloysita (Hoffman et al., 1934; Mehmel, 1935; Alexander, 1943), diferenciando un tipo de halloysita de composición química  $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$  (forma deshidratada) de otro con la composición  $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (forma hidratada). Hendricks observó que el espacio basal de la forma deshidratada es alrededor de 7.2 Å, aumentando a 10.1 Å en la forma hidratada (Hendricks, 1938). Brindley y colaboradores estudiaron de forma detallada, la transición de la forma hidratada a la deshidratada del mineral, demostrando que a bajas temperaturas (60 °C a 75 °C) tiene lugar una parcial deshidratación, mientras que alcanzados los 400 °C se elimina por completo el agua interlamilar, dando lugar a la forma con espaciado

d001 de 7.2 Å (Brindley y Robinson, 1948; Brindley y Gooyear, 1948; Brindley et al., 1948). Respecto de la forma parcialmente deshidratada, que aparece al desecar por debajo de 80 °C durante un tiempo prolongado, presenta un espaciado basal en torno a 7.36 Å - 7.9 Å, que se corresponde con la presencia de 0.5 a 1 molécula de agua por paquete estructural. Bates y colaboradores mostraron por vez primera la estructura tubular de la halloysita a partir de microfotografías electrónicas, estableciendo además las distancias existentes entre las capas estructurales (Bates et al., 1950). Precisamente, la diferencia en las distancias entre los planos superior e inferior de las láminas causa una curvatura de las mismas, con un radio en concordancia con las dimensiones de los tubos observados (Figura I.3.7.).



**Fig. I.3.7.** Representación esquemática de la estructura de la kaolinita y de la halloysita (tomado de Grim, 1968).

De acuerdo con la recomendación del Comité de Nomenclatura de la AIPEA, y en consonancia con la nomenclatura generalmente aceptada en la actualidad, distinguiremos dos tipos de halloysita: halloysita-(7Å) (forma deshidratada) y halloysita-(10Å) (forma hidratada). No se reconocen estados intermedios de hidratación a efectos de nomenclatura, de manera que cuando aparezcan espaciados intermedios, se entenderá que se trata de mezclas de las dos formas.

### I.3.3.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Como se ha sugerido antes, la halloysita tiene la misma composición química teórica que la kaolinita, exceptuando su alto contenido en agua. La fórmula unitaria ideal de



la halloysita-(7Å) y de la halloysita-(10Å) es  $Al_2Si_2O_5(OH)_4 \cdot nH_2O$ , siendo  $n=0$  y 2 respectivamente (Bailey, 1980b; Guggenheim y Eggleton, 1988). Sin embargo, tratándose de materias primas naturales, la composición puede variar ligeramente. Los análisis químicos de la mayoría de halloysitas reflejan la presencia de cantidades superiores al 10% de  $Fe_2O_3$  (Kunze y Bradley, 1964; De Souza Santos et al., 1966; Tazaki, 1982; Wada y Mizota, 1982; Churchman y Theng, 1984; Noro, 1986; Hayashi et al., 1987; Nagasawa y Noro, 1987; Soma et al., 1992; De Oliveira et al., 1997; Hart et al., 2002; Singer et al., 2004), que puede deberse a la presencia de óxidos de hierro o a la sustitución parcial de  $Al^{3+}$  por  $Fe^{3+}$  en la capa octaédrica (Aomine y Wada, 1962; Wada y Mizota, 1982; Churchman y Theng, 1984; Quantin et al., 1984, 1988; Nagasawa y Noro, 1987; Muller y Calas, 1989; Hart et al., 2002).

### I.3.3.3. MORFOLOGÍA

La morfología de la halloysita depende de las condiciones de cristalización y localización geológica, como refleja la Tabla I.3.III., siendo en la gran mayoría de los casos tubular o esferoidal.

**Tabla I.3.III.** Morfologías de la halloysita y entorno geológico (adaptada de Joussein et al., 2005).

| Morfología   | Entorno geológico   |
|--|---|
| Tubular  | Sedimentos cársticos, vidrios volcánicos, piedra pómez, alteración de feldespatos y micas   |
| Pseudoesférica y esferoidal                              | Cenizas volcánicas y piedra pómez en ambientes de alta humedad, vidrios volcánicos en ambientes marinos (suelos de Guatemala y Nueva Zelanda) |
| Plana  | Suelos de cenizas volcánicas, fisuras en granitos, alteración hidrotermal, etc. (Texas, Brasil y Guatemala)                                   |
| Fibrosa  | Suelos lateríticos y granitos húmedos (Australia y Brasil)  |
| Prismática   | Suelos de cenizas volcánicas y granitos húmedos (Japón)   |
| Otras (cilíndrica, irregular, lamelar, glomerular, etc.) | Vidrios volcánicos alterados, piedra pómez húmeda, cenizas volcánicas, etc. (Nueva Zelanda, Japón, Camerún, Escocia, etc.)                    |

La Halloysita esferoidal aparece como resultado de la disolución de vidrios volcánicos y posterior recristalización desde soluciones sobresaturadas. El interior de

los esferoides formados está constituido por material amorfo, mientras que la capa externa es cristalina (Askenasy et al., 1973).

No obstante, la aparición en determinadas condiciones de otras morfologías, la forma predominante de la halloysita es la de tubos huecos cuyas dimensiones pueden variar dependiendo del origen de material (Bates et al., 1950; Honjo et al., 1954; De Souza Santos et al., 1964; Chukhrov et al., 1969; Parham, 1969; Dixon y McKee, 1974; Nagasawa y Myazachi, 1976; Kohyama et al., 1978; Saigusa et al., 1978; Noro et al., 1981; Churchman y Theng, 1984; Nagasawa y Noro, 1985; Noro, 1986; Robertson y Eggleton, 1991; Norrish, 1995; Churchman et al., 1995; Adamo et al., 2001). La longitud de los tubos varía entre 0.02 y >30  $\mu\text{m}$ , y su diámetro externo entre 50 y 200 nm, lo que determina un diámetro interno (poro) de entre 5 y 15 nm (Sudo y Osaka, 1952; Minato y Utada, 1969; Dixon, 1977; Ross et al., 1983; Churchman y Theng, 1984; Churchman et al., 1995; Norrish, 1995; De Oliveira et al., 1997; Hart et al., 2002). Empleando microscopía electrónica de transmisión se ha observado que la deshidratación de la halloysita-(10Å) para formar halloysita-(7Å) produce una expansión del diámetro en torno al 10-20% (Kohyama et al., 1978, 1982).

#### **I.3.3.4. INTERACCIÓN CON MOLÉCULAS ORGÁNICAS Y SALES**

La intercalación de moléculas orgánicas por parte de la halloysita conduce a la expansión de las láminas a lo largo del eje *c*, lo que determina un aumento del espaciado basal fácilmente observado por difracción de rayos X (Tabla I.3.IV.). Hay que resaltar que la intercalación efectiva no puede demostrarse de forma unívoca mediante difracción de rayos X si el aumento en el espaciado basal es del orden de los 3 Å, dado que podría tratarse de una simple monocapa de moléculas de agua. Los compuestos orgánicos que forman complejos con la halloysita contienen grupos -OH o -NH<sub>2</sub>, siendo por tanto ácidos o bases débiles y en su mayoría se intercalan como una monocapa (Theng, 1974). La intercalación se ve favorecida cuando la halloysita está hidratada (MacEwan, 1946; Carr y Chih, 1971; Churchman y Theng, 1984; Churchman et al., 1984; Theng et al., 1984; Churchman, 1990). Asimismo, es posible favorecer la interacción con moléculas orgánicas previa rehidratación de la halloysita

con soluciones de acetato de K o de amonio (Carr y Chih, 1971; Levis y Deasy, 2002).

**Tabla I.3.IV.** Espaciado basal de halloysita tras su interacción con diferentes moléculas orgánicas o sales (adaptado de Joussein et al., 2005).

| Molécula intercalada | Espaciado basal (Å) |
|----------------------|---------------------|
| Etanol               | < 7.5-10.7          |
| Metanol              | 9.7-10.6            |
| Glicerol             | 11-11.2             |
| Etilenglicol         | 10.8-10.9           |
| Acetona              | 8.4-11.1            |
| Acetonitrilo         | 7.7-10.6            |
| Dimetilsulfoxido     | 11-11.2             |
| Hidracina            | 10.4                |
| Formamida            | 10.1                |
| Acetamida            | 10.9                |
| Urea                 | 10.7                |
| Acetato de amonio    | 14.05               |
| Trimetilacetato de K | 12-19.8             |
| Cloruro de amonio    | 10.1-10.4           |
| Cloruro de Na        | 7.5-10.1            |

### I.3.3.5. APLICACIONES

La halloysita se ha empleado históricamente para producir la porcelana de mejor calidad (Wilson, 2004). Asimismo, se emplea con frecuencia en catálisis y como tamiz molecular para la separación de mezclas de líquidos y la purificación de aguas (Joussein et al., 2005). De especial interés para nosotros es su empleo como microcápsulas destinadas a controlar la liberación de distintas sustancias, gracias a su especial morfología en microtubos. Con este objetivo, la halloysita se usa para transportar aditivos de pinturas (Neuber y Bender, 2004), lubricantes (Zhang, 2004), herbicidas (Baskaran et al., 1996; Stolpe y Kuzila, 2002), productos de higiene personal y cosméticos (Theng y Wells, 1995; Ha y Lee, 2003; Maubru et al., 2004) y fármacos (Price et al., 2001; Levis y Deasy, 2002, 2003; Kelly et al., 2004; Byrne y Deasy, 2005; Smith, 2005).

## **II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO**



Desde el punto de vista histórico es relativamente joven el tema de la liberación modificada de los medicamentos pues, aunque las primeras formas farmacéuticas de liberación controlada aparecen por los años 1930, es aproximadamente en la década 1965-75 cuando se producen las grandes innovaciones. En los albores de este movimiento, el grupo de trabajo de nuestra facultad de farmacia comandado por el Profesor Suñé Arbussá, se incorporó a la investigación de este núcleo temático contribuyendo a su desarrollo con varias Tesis doctorales (Quesada Nieto; Gómez Carrasco; Socias Manzano, 1973), a las que dieron continuidad las realizadas siendo responsable de nuestro grupo el Profesor Cerezo Galán (Marín Boscá, 1987, Cerezo González, 2003) en las que la línea de trabajo se proyectó y continuó en el ámbito de desarrollo de formas farmacéuticas de liberación modificada, a la que hoy, con esta memoria de Tesis doctoral, realizada al amparo del Grupo CTS-121, del que es responsable la Profesora Rodríguez Galán, se da continuidad.

Las formas farmacéuticas o galénicas de liberación modificada constituyen un sector en alza y en la actualidad representan aproximadamente el 20% del total del comercio, siendo las destinadas a la vía oral las más solicitadas y estudiadas en razón de su buena aceptabilidad por el paciente. Sea a través de cambios en la formulación y/o en el método de fabricación, se pretende alterar la velocidad y/o el tiempo y/o el lugar de liberación del fármaco, con el objetivo de alcanzar niveles terapéuticos del fármaco en el lugar de acción y mantenerlos a lo largo del tratamiento (Ding et al., 2002). Como consecuencia, se hacen necesarios sistemas o dispositivos capaces de inducir y controlar estas alteraciones en la liberación, cuyos mecanismos son variados, como hemos discutido en la introducción de esta memoria, pero que en esencia descansan en dos pilares fundamentales; uno de carácter material, constituido por las sustancias cuya presencia en la formulación modifica la liberación del fármaco; y otro de carácter cognitivo, relativo al conocimiento en profundidad de los mecanismo de control, y al desarrollo de modelos que expliquen adecuadamente los perfiles de liberación obtenidos con los nuevos sistemas.

Respecto del pilar material de la liberación modificada, resulta hoy día evidente que el concepto de excipiente (de *excipere*, recibir, según Le Hir, 1997), interpretado

ancestralmente como simple sustancia inerte con función de recibir o dar acogida al principio activo, ha mutado, y a sus fundamentales funciones de facilitar la administración de los principios activos y asegurar su conservación hasta la fecha límite de utilización, suma la de mejorar la eficacia del principio activo. Es decir, el concepto de excipiente utilizado como simple vehículo o diluyente del principio activo cambió y hoy se considera como algo vivo -calificativo que adjudicó Del Pozo a Steiger-Trippi (Steiger-Trippi, 1962) en la frase “componente vivo del medicamento”-, porque puede, por su naturaleza, modificar profundamente la absorción, la actividad e incluso la toxicidad del principio activo (Del Pozo, 1967; Rochat y Verain, 1983).

Por su parte, el conocimiento de los mecanismos implicados en el transporte de masa que tiene lugar en la liberación de un fármaco ha sido, y es, uno de los campos de trabajo fundamentales del galénico, siendo, sin duda, un fenómeno difícil de explicar con una base racional y científica, como hemos discutido en la introducción de esta memoria. La necesidad de contar con modelos capaces de ajustar los perfiles de liberación de forma adecuada, tiene interés teórico, pero sobretodo práctico, tanto para la investigación de nuevos sistemas de liberación basados en el conocimiento de los mecanismos por los que esta se rige, como para el desarrollo de nuevas estrategias para la comparación de resultados de ensayos de liberación *in vitro*.

Con lo relatado en párrafos precedentes hemos sentado las bases de los objetivos fijados y perseguidos en esta Tesis: la obtención de preparados o sistemas que sirvan como productos intermedios en la elaboración de formas farmacéuticas de liberación modificada, mediante formación de productos de interacción (o complejos) principio activo-excipiente, cuyo comportamiento nos servirán para comprobar la validez de un nuevo modelo mecanicista para el ajuste de cinéticas de liberación, propuesto en esta memoria.

El principio activo seleccionado, ácido 5-amino salicílico, es el fármaco de elección en el tratamiento de mantenimiento de un grupo de patologías que se engloban en la denominación enfermedad inflamatoria intestinal, y que en esencia consisten en una

inflamación crónica o recidivante del interior del tracto gastrointestinal, afectando principalmente al intestino grueso. El fármaco se administra por vía oral y rectal, siendo preferente la primera, en forma de comprimidos y microgránulos recubiertos. El control de la liberación no es óptimo y parte sustancial de la dosis administrada (entre el 20 y el 50 %) es absorbida antes de alcanzar el lugar de acción. Como hemos discutido en la introducción, el desarrollo galénico de formas de liberación colon específicas se plantea como imprescindible para la mejora del tratamiento de la enfermedad. Los sistemas existentes hasta la fecha para la administración oral sitio-específica del fármaco presentan distintas limitaciones que hacen necesaria la investigación y desarrollo de nuevas estrategias y sistemas. Fue precisamente esto último lo que suscitó nuestra curiosidad y forjó el reto que nos planteamos en primer lugar: el desarrollo de sistemas de liberación modificada del ácido 5-amino salicílico.

El excipiente elegido (halloysita) es una arcilla estructuralmente similar al kaolín, pero cuya morfología en tubos la hace susceptible de empleo en liberación modificada, como ha sido puesto de manifiesto recientemente (Levis y Deasy, 2002, 2003; Kelly et al., 2004; Byrne y Deasy, 2005). Las razones de su elección han sido, además, la experiencia previa de nuestro grupo con este tipo de materiales (Tesis doctorales de Viseras Iborra, 1997; Cerezo González, 2003 y Aguzzi, 2005), y trabajos en los que se ha puesto de manifiesto un efecto farmacológico por parte de algunas arcillas de estructura similar en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal (Gonzalez, et al., 2004), lo que permite aventurar la posibilidad de efecto sinérgico con el fármaco soportado.

Los productos resultantes de la interacción de principio activo y excipiente, bajo la consideración de preparados galénicos o sistemas de liberación modificada del fármaco; como tales productos intermedios, fueron sometidos a la correspondiente caracterización preformulativa, y empleados como prototipos para la aplicación experimental del modelo de ajuste de datos de liberación propuesto.



El planteamiento y desarrollo del trabajo pueden esquematizarse en apartados netamente diferenciados, a saber:

**I.** El desarrollo y diseño de una nueva formulación implica la selección previa de los constituyentes y va precedido del estudio de preformulación, cuyo cometido es el conocimiento de determinadas propiedades físicas, químicas y biofarmacéuticas. Es por ello que en el planteamiento de nuestro trabajo el primer objetivo haya sido la caracterización de los componentes, principio activo (propiedades físicas, texturales y estabilidad) y excipiente (composición, características físicas, comportamiento térmico, etc.).

**II.** El estudio de los procesos de retención y liberación (mediante las metodologías apropiadas) y la caracterización de ambos mediante un modelo matemático planteado al efecto, cuya base teórica se asienta en la hipótesis de que el proceso global de retención (y de liberación) es el resultado de procesos sencillos de adsorción-desorción.

**III.** La caracterización de los productos de interacción (entendidos como productos farmacéuticos intermedios), mediante los ensayos adecuados, servirá de fuente de información sobre la bondad del modelo propuesto, corroborando sus hipótesis e informándonos, además, del tipo de enlace, posición y forma en que se encuentra la molécula de fármaco en la unión al excipiente.

**IV.** El estudio de las cinéticas de disolución del fármaco soportado en el excipiente, permitirá concluir acerca de los procesos cinéticos y mecanismos de liberación, con el doble objetivo de discernir sobre la bondad del modelo propuesto en esta memoria en comparación con otras ecuaciones ampliamente usadas para el ajuste de cinéticas de liberación, y de conocer las posibilidades de empleo de los productos obtenidos en la elaboración de formas farmacéuticas de liberación modificada del fármaco.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**



## **III.1. MATERIALES**

- Ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) (Sigma Aldrich, España).
- Halloysita (HLC), muestra procedente de yacimiento en Zaragoza, facilitada por el Departamento de Química Inorgánica de la Universidad de Granada, sometida a pulverización (Molino Ika<sup>®</sup>-Werke M20, GMBH & Co. KG, Alemania) y tamización para separar la fracción granulométrica entre 125 y 250  $\mu\text{m}$ . La fracción granulométrica seleccionada se secó en estufa a 60°C hasta peso constante (variación de masa en 24 h < 0,01%).

## **III.2. MÉTODOS**

### **III.2.1. CARACTERIZACIÓN DE LAS MATERIAS PRIMAS**

#### **III.2.1.1. PRINCIPIO ACTIVO**

##### **III.2.1.1.1. Difracción de Rayos X**

El difractograma de rayos X del fármaco se obtuvo empleando un difractómetro Philips<sup>®</sup> PW 1710 (Philips, Holanda), dotado de rendija automática, radiación CuK $\alpha$  y monocromador de grafito. Se exploró la zona comprendida entre 3-40° 2 $\theta$ , a una velocidad de exploración de 6°/minuto, voltaje 40 KV, sensibilidad 1 X 10<sup>3</sup>, intensidad 40 MA y tiempo constante 2s. Los datos de difracción se registraron y analizaron con ayuda del programa XPOWDER<sup>®</sup> (Martín Ramos, 2006).

##### **III.2.1.1.2. Espectroscopía de Infrarrojos**

Se empleó un espectrómetro de infrarrojos por transformada de Fourier modelo Nicolet 20 SXB (Nicolet Analytical Instruments, USA), con programa OMNIC

versión 1.1. Los espectros se obtuvieron en la zona del infrarrojo medio (4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$ ), usando la técnica de comprimido de BrK, y con una resolución de 0.5  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **III.2.1.1.3. Análisis Térmico**

Se estableció la pérdida de peso de cantidades conocidas de muestra mediante un analizador termogravimétrico (TG), modelo TGA-50H (Shimadzu® Corp., Japón), en atmósfera de aire y a una velocidad de calentamiento de 10 °C/minuto. El intervalo de calentamiento de las muestras fue de 20 – 500 °C.

#### **III.2.1.1.4. Análisis Morfológico**

La muestra de fármaco se montó en una rejilla de aluminio para microscopía electrónica de barrido y se cubrió por una película de carbón. Se examinó con un microscopio electrónico de tipo FESEM, marca LEO, mod. GEMINI-1530 (Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada).

#### **III.2.1.1.5. Espectroscopía de Ultravioleta**

Se prepararon soluciones de concentración conocida del fármaco en H<sub>2</sub>O purificada, HCl 0.1 N y NaOH 0.1 N, llevando a cabo barridos espectrales en la zona del UV (Espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Lambda 25, Alemania), con objeto de determinar los máximos de absorción. Para las longitudes de onda de máxima absorción se construyeron las correspondientes curvas de Ringbom (100-%T vs. log C), que permitieron calcular las rectas de calibración y sus coeficientes de correlación, así como determinar los límites de detección máximo y mínimo.

### **III.2.1.1.6. Estudios de Estabilidad**

#### *III.2.1.1.6.1. Espectroscopia de Ultravioleta*

Se emplearon soluciones de fármaco (50 ppm) en H<sub>2</sub>O purificada, HCl 0.1 N y NaOH 0.1 N. Las soluciones se mantuvieron en matraces de 50 mL, en ausencia de luz, a temperatura y humedad ambiente, llevando a cabo un seguimiento espectrofotométrico de cada solución mediante barridos en la zona del UV (Espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Lambda 25, Alemania) en intervalos semanales durante 3 meses. Cada ensayo se hizo por triplicado.

#### *III.2.1.1.6.2. Resonancia Magnética Nuclear*

Se disolvieron 200 mg de 5-ASA en 1 litro de H<sub>2</sub>O purificada, HCl 0.1 N y NaOH 0.1 N, así como en 1 litro de tampón fosfato pH 6.8 (USP 31, 2008). Se mantuvieron las soluciones en vasos de precipitado tapados con papel de filtro para permitir la evaporación durante un mes. Transcurrido ese tiempo se recogieron los precipitados, se pulverizaron y tuvieron en estufa a 40°C (Nahita, modelo XMT C-7000) durante 24 horas. Posteriormente se pusieron en contacto con dimetilsulfóxido y se estudiaron con resonancia magnética nuclear de protones (RNM, Bruker AM-300, Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada). Los resultados se compararon con los obtenidos para el fármaco sin tratar.

### **III.2.1.2. HALLOYSITA**

#### **III.2.1.2.1. Difracción de rayos X**

El análisis mineralógico se realizó con el mismo dispositivo y condiciones de medida a las descritas en el apartado III.2.1.1.1. Esta técnica nos permite determinar cualitativamente la composición mineral de una muestra natural. La muestra original de HLC fue tamizada en columna para seleccionar tres fracciones granulométricas. >250 µm, 125-250 µm y <125 µm, con objeto de determinar si la selección de la

fracción granulométrica 125-250  $\mu\text{m}$  inducía alguna discriminación de fases minerales.

#### **III.2.1.2.2. Espectroscopía de Infrarrojos**

Se realizó con el mismo dispositivo y condiciones de medida a las descritas en el apartado III.2.1.1.2.

#### **III.2.1.2.3. Análisis Térmico**

Se realizó con el mismo dispositivo y condiciones de medida a las descritas en el apartado III.2.1.1.3.

#### **III.2.1.2.4. Análisis Morfológico**

El FESEM se realizó con el mismo dispositivo y condiciones de medida a las descritas en el apartado III.2.1.1.4.

#### **III.2.1.2.5. Porosimetría de Mercurio**

La porosidad absoluta, así como el tipo y número de poros de la muestra de arcilla se determinó mediante porosimetría de mercurio, empleando un dispositivo Micromeritics® 9310 Autopore III (Departamento de Mineralogía, Universidad de Granada). Las medidas fueron realizadas en muestras de polvo desecadas en estufa a 80 °C hasta peso constante, tomando 250 mg, y usando un penetrómetro de 5  $\text{cm}^3$ . Se usaron presiones de intrusión entre 0.5 and 60000 psi (414 MPa), correspondientes a diámetros de poro entre 360 y 0.006  $\mu\text{m}$ , tomando medidas de forma automática cada 10 s, tanto en la subida, como en la bajada de presión.

#### **III.2.1.2.6. Adsorción de Nitrógeno**

Se obtuvo una isoterma de adsorción de nitrógeno a 77K, empleando un equipo automático Quantachrome<sup>®</sup>, modelo Autosorb-1 del Departamento de Química Inorgánica de la Universidad de Badajoz. La utilización de las ecuaciones de BET y de DR (programadas en el equipo mencionado) permitió calcular el volumen de microporos, volumen de mesoporos y superficie accesible al nitrógeno (SBET).

#### **III.2.1.2.7. Capacidad de Intercambio Catiónico**

Se dispersó 1 g de HLC en 25 mL de solución acuosa de bromuro de tetrametilamonio 1 M, con el objetivo de desplazar completamente los cationes interlaminares de la arcilla. La dispersión se mantuvo agitando a 50 rpm durante 12 horas a temperatura ambiente. Se filtró y el sobrenadante se diluyó con agua destilada hasta 100 mL. En la solución se determinaron los cationes por espectroscopia de absorción atómica (Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup>) o de emisión atómica (K<sup>+</sup>) usando un espectrofotómetro Perkin Elmer mod. 5100 (USA). Como blanco se preparó una solución de idéntica composición, excepto por la presencia de la arcilla. La capacidad de intercambio catiónico (CEC) de la muestra de HLC se calculó como la suma de los cationes, expresándola en meq/100 g de HLC.

### **III.2.2. PRODUCTOS DE INTERACCIÓN 5-ASA-HLC**

#### **III.2.2.1. RETENCIÓN DE 5-ASA POR HLC**

##### **III.2.2.1.1. Cinética**

Los ensayos cinéticos de adsorción se llevaron a cabo suspendiendo 5 g de HLC en 500 mL de solución acuosa de 5-ASA (C<sub>0</sub>, 200 ppm). Las suspensiones fueron agitadas a 100 rpm durante 24h empleando un dispositivo para ensayos de disolución (Sotax<sup>®</sup>, modelo AT7, España), equipado con el aparato tipo II de la USP. Los ensayos se llevaron a cabo a diferentes temperaturas (30, 35, 40 y 45 °C ± 0,1 °C),



tomando muestras a tiempos previamente establecidos mediante una bomba peristáltica acoplada al sistema, y determinando en ellas la concentración de fármaco (C), usando un espectrofotómetro (Perkin Elmer<sup>®</sup>, Lambda 25, Alemania) a 297 nm. La cantidad de fármaco retenido se calculó como la diferencia entre la concentración de fármaco inicial ( $C_0$ ) y la residual (C). Las isotermas cinéticas se construyeron representando la concentración de fármaco retenida (ppm) frente al tiempo.

### **III.2.2.1.2. Equilibrio**

Se suspendieron 250 mg de HLC en 25 mL de soluciones acuosa de 5-ASA de concentraciones iniciales ( $C_0$ ) crecientes en el intervalo 0-200 ppm, empleando frascos de 25 mL de vidrio Pyrex<sup>™</sup>. Los frascos fueron agitados durante una semana a 150 rpm en un baño termostático a diferentes temperaturas (15, 25, 35 y 45 °C ± 0,1 °C). Este periodo de tiempo fue suficiente para asegurar que se alcanzaba el equilibrio entre el 5-ASA adsorbido y el 5-ASA en solución. Tras la agitación, se determinó mediante espectroscopía UV a 297 nm (Perkin Elmer<sup>®</sup>, Lambda 25, Alemania) la concentración de fármaco en el sobrenadante (C). La diferencia entre la concentración inicial ( $C_0$ ) y la final (C) permitió el cálculo de la cantidad de 5-ASA retenido por gramo de HLC. Se emplearon “blancos” sin 5-ASA para cada serie de experimentos. Se hicieron, al menos, tres réplicas de cada experiencia.

Las isotermas cinéticas y de equilibrio fueron ajustadas de acuerdo con el modelo propuesto en esta Tesis (véase apartado IV.2.1).

### **III.2.2.2. ELABORACIÓN DE PRODUCTOS DE INTERACCIÓN 5-ASA-HLC**

Los productos de interacción 5-ASA-HLC se prepararon suspendiendo 5 g de arcilla en 500 mL de solución acuosa de 5-ASA ( $C_0$ , 200 ppm), empleando un dispositivo de disolución (Sotax<sup>®</sup>, AT7, España) equipado con el aparato de disolución USP tipo II. Se agitaron a 100 rpm durante 24 h, a 30, 35, 40 y 45 °C ± 0,1 °C. Una vez transcurrido este tiempo, se recogía el complejo por decantación y posterior

filtración, para posteriormente secarlo en estufa a 60 °C durante 24 h. Se elaboraron, asimismo, mezclas físicas con la misma relación M/M que los sistemas obtenidos por intercalación, empleando un mortero y el método de las diluciones seriadas.

La Tabla III.2.I. recoge los preparados obtenidos en función de la temperatura de preparación, con las denominaciones abreviadas que emplearemos más adelante.

**Tabla III.2.I.** Preparados obtenidos por interacción del fármaco con el soporte a las diferentes temperaturas, con indicación de su nombre abreviado.

| Temperatura | Producto de interacción |
|-------------|-------------------------|
| 30 °C       | 5-ASA-HLC-30            |
| 35 °C       | 5-ASA-HLC-35            |
| 40 °C       | 5-ASA-HLC-40            |
| 45 °C       | 5-ASA-HLC-45            |

### **III.2.2.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE INTERACCIÓN**

#### **III.2.2.3.1. Difracción de Rayos X**

Se realizó con el mismo dispositivo y condiciones de medida descritas en el apartado III.2.1.1.1.

#### **III.2.2.3.2. Espectroscopía de Infrarrojos**

Se realizó con el mismo dispositivo y condiciones de medida a las descritas en el apartado III.2.1.1.2.

#### **III.2.2.3.3. Análisis Térmico**

Se realizó con el mismo dispositivo y condiciones de medida a las descritas en el apartado III.2.1.1.3.

#### **III.2.2.3.4. Microscopía Electrónica**

##### *III.2.2.3.4.1. FESEM*

Se realizó con el mismo dispositivo y condiciones de medida a las descritas en el apartado III.2.1.1.4.

##### *III.2.2.3.4.2. HREM y X-EDS*

Las muestras se deshidrataron con etanol absoluto, y posteriormente se embebieron durante 2 h en una mezcla de etanol y resina epoxy para microscopía (EMbed 812, EMS Ltd., Reino Unido), para acabar incluyéndolas en resina pura. Transcurridas 24 h, se llevó a cabo una polimerización mediante calentamiento a 37 °C, durante 24 h, elevando la temperatura a 70 °C y dejando pasar otras 24 h. Los bloques polimerizados de las muestras embebidas en resina se cortaron en laminas ultrafinas de 900 Å de espesor usando un ultramicrotomo (Reichert UltraCut S<sup>®</sup>, Reichert Analytical Instruments, Ltd., USA), procurando que los tubos de HLC estuviesen orientados perpendicularmente al plano de corte. Las láminas fueron depositadas en rejillas de cobre para microscopia de transmisión (300-mesh copper grids, Neyco, Francia). Se procedió a tinar las muestras para poder determinar el fármaco mediante dispersión de rayos X. Para ello, se depositó en cada rejilla una gota de solución de acetato de uranilo (2 % M/V), durante 1 minuto. El exceso de agente de tinción se retiró absorbiéndolo con papel de filtro. Por último, se cubrieron las rejillas con una película de carbono, para su observación al microscopio electrónico. Se utilizó un microscopio electrónico (STEM PHILIPS<sup>®</sup> CM20, Alemania), acoplado con un sistema de análisis por rayos X (X-ray Energy Dispersive Spectrometer<sup>®</sup>, EDAX, Japón).

#### **III.2.2.3.5. Porosimetría de Mercurio**

Se realizó con el mismo dispositivo y condiciones de medida a las descritas en el apartado III.2.1.2.5.

### III.2.2.4. LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO DESDE LOS PRODUCTOS DE INTERACCIÓN

#### III.2.2.4.1. Ensayos de Liberación

Se siguió el procedimiento y dispositivo propuesto por la Farmacopea (EP 6.0, 2008). Se dispersaron 2 g de muestra (aprox. 8 mg de 5-ASA) en 700 mL de medio de disolución agitando a 50 rpm, durante 8 horas a 37 °C, usando un dispositivo de disolución tipo paletas (Sotax<sup>®</sup>, AT7, España). Los medios de disolución usados fueron agua purificada, solución de HCl (0.1 N) y tampón fosfato pH 6.8 (HCl 0.1 N: Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0.2 M, 3:1) (EP 6.0, 2008). Los ensayos fueron realizados en cada uno de los medios por separado, así como con cambio de pH. En este último caso, se partió de 525 mL de solución de HCl (0.1 N), para transcurridas 2 h, añadir 125 mL de una solución de Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (0.2 M), que elevaba el pH hasta 6.8 (siguiendo el método descrito en Farmacopea, para los ensayos de formas farmacéuticas gastroresistentes (EP 6.0, 2008)). A tiempos predeterminados se tomaron alícuotas (2 mL) del medio de disolución empleando una bomba de pistones (Sotax<sup>®</sup>, modelo CY 7-50), que se recogieron en tubos de ensayo, con ayuda de un muestreador de fracciones (Sotax<sup>®</sup>, modelo C613) para su posterior análisis. Una vez analizada la concentración, las cantidades acumulativas de fármaco liberado a tiempo t (Q<sub>t</sub>) se calcularon de acuerdo con:

$$Q_t = V_m C_t + \sum_{i=0}^{t-1} V_a C_i$$

donde V<sub>m</sub> y C<sub>t</sub> son el volumen de medio y concentración de fármaco a tiempo t, y V<sub>a</sub> y C<sub>i</sub> el volumen de la alícuota y concentración de fármaco a tiempo i (i < t).

##### III.2.2.4.1.1. Análisis del Fármaco Liberado

Las alícuotas obtenidas en el ensayo de liberación se filtraron con filtros Millipore<sup>®</sup> de 0.45 μm. El análisis de las muestras se realizó usando un equipo HPLC (Perkin

Elmer<sup>®</sup> serie 200B/250, Alemania), con automuestrador (Perkin Elmer<sup>®</sup> serie 200LC, Alemania), acoplado a un espectrofotómetro diodo array UV-Vis (Perkin Elmer<sup>®</sup>, Alemania). Se usó una columna C18, 5 µm, 25 X 0.46 cm (Kromasil<sup>®</sup>, modelo 100, Teknokroma, España) termostata da a 25 °C (Perkin Elmer<sup>®</sup> column oven, modelo S200, Alemania). El registro y análisis de los cromatogramas se llevó a cabo con la ayuda del programa TotalCrom WS 6.2 (Perkin Elmer<sup>®</sup>, Alemania).

De acuerdo con Cendrowska y colaboradores, los análisis se llevaron a cabo usando como fase móvil una mezcla de CH<sub>3</sub>COOH 0.5 % (V/V):acetonitrilo en proporción volumétrica 78:22; velocidad de flujo de 1 mL / min; volumen de inyección de 20 µl; y longitud de onda del detector a 297 nm. Tiempo de análisis de 5 min (Cendrowska et al., 1990).

La concentración de 5-ASA se calculó a partir de las rectas de calibración obtenidas analizando soluciones de fármaco de concentración conocida (5-100 µg/mL) en los dos medios usados en los ensayos de liberación.

Se determinaron las siguientes características analíticas del método (ICH, 1995, USP 31, 2008):

- **Linealidad:** capacidad del método de generar resultados que sean proporcionales (directamente o mediante transformaciones matemáticas bien definidas) a la concentración de fármaco en un intervalo dado de validez.
- **Límite de detección (LD):** concentración menor de fármaco que puede ser identificada, aún cuando no sea cuantificable en las condiciones establecidas. Se expresa habitualmente en las mismas unidades usadas para la concentración del fármaco. Las líneas guía de la ICH prevén, cuando el método tiene ruido de fondo, que se confronten las señales de muestras que contengan concentraciones bajas y conocidas de fármaco con otras muestras correspondientes a blancos.

El límite de detección se corresponderá a la concentración que alcanza una relación señal : ruido de 3:1 (o 2:1), de acuerdo con:

$$LD = H/h$$

donde H es la altura del pico del fármaco y h es la mayor fluctuación (en valor absoluto) de la línea base del cromatograma del blanco.

• **Límite cuantificable (LC):** mínima cantidad de fármaco que puede determinarse con suficiente precisión y exactitud en las condiciones experimentales de trabajo. Se expresa habitualmente en las mismas unidades usadas para la concentración del fármaco. El límite de cuantificación se corresponderá a la concentración que alcanza una relación señal : ruido de 10:1, de acuerdo con:

$$LC = H/h$$

donde H es la altura del pico del fármaco y h es la mayor fluctuación (en valor absoluto) de la línea base del cromatograma del blanco.

• **Repetibilidad:** se obtiene para un mismo operador, en un mismo laboratorio, con el mismo dispositivo y en un espacio de tiempo breve. Las líneas guía ICH recomiendan que se lleven a cabo un mínimo de 9 medidas en el intervalo especificado en el método (ejemplo: 3 réplicas de 3 concentraciones distintas).

• **Exactitud:** grado de afinidad entre los resultados y el valor verdadero, o aceptado como tal, en el intervalo de validez especificado por el método. Se puede calcular como porcentaje de recuperación del fármaco desde muestras con cantidades conocidas. Las recomendaciones de las líneas guía ICH son las mismas que para el punto anterior.

- **Factor de cola (T):** es una medida de la simetría del pico. Es igual a 1 cuando el pico es perfectamente simétrico, y su valor aumenta al disminuir la simetría (Figura III.2.1).

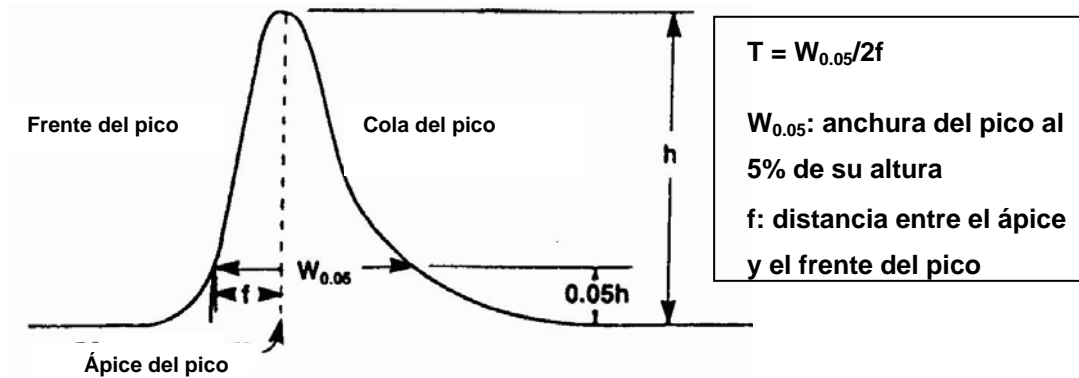


Fig. III.2.1. Cálculo del factor de cola.

- **Factor de capacidad (K')**: es una medida del tiempo que es retenido el fármaco en la columna. Es igual a la diferencia entre el tiempo de retención del fármaco y el de una sustancia no retenida, todo dividido por el tiempo de retención de la sustancia no retenida (Figura III.2.2.).

El uso del factor de capacidad es preferible al del tiempo de retención, dado que es menos sensible a las fluctuaciones cromatográficas (tales como la velocidad de flujo) y por tanto asegura una mayor reproducibilidad de los ensayos.

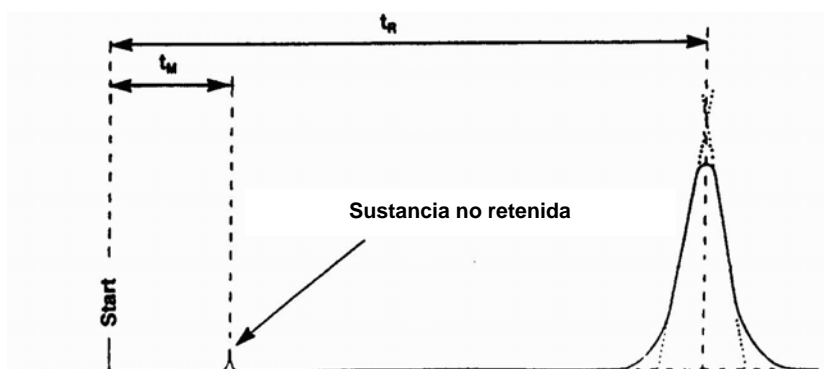


Fig. III.2.2. Cálculo del factor de capacidad.

• **Eficiencia de la columna:** es un índice de la finura del pico, esencial para la determinación de compuestos en concentración muy baja. Se expresa como el número de platos teóricos (N) de la columna (Figura III.2.3.). Debe especificarse, en particular cuando en el cromatograma aparece tan sólo un pico de interés.

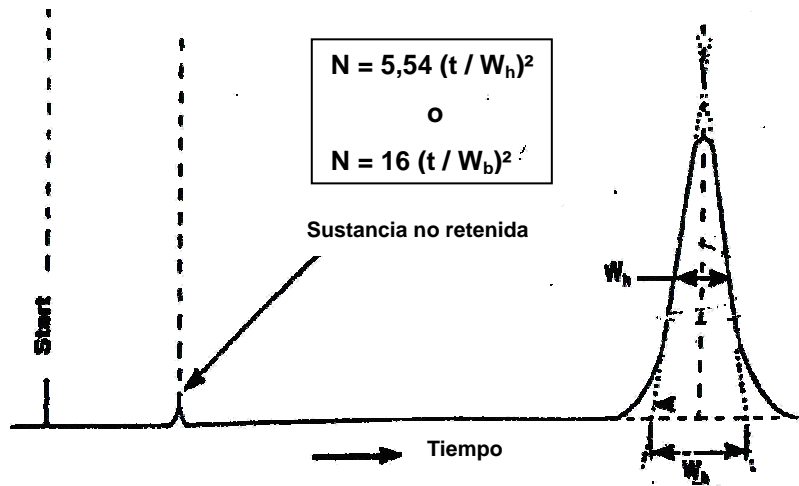


Fig. III.2.3. Cálculo del número de platos teóricos.

El valor de N depende de la naturaleza del fármaco y de las condiciones operativas, como velocidad de flujo de la fase móvil, temperatura, calidad e uniformidad del relleno de la columna, etc.

#### III.2.2.4.2. Ajuste de Datos de Liberación

Los datos experimentales de liberación de 5-ASA desde los preparados con HLC fueron ajustados empleando las siguientes ecuaciones: orden cero, orden uno, modelo de Higuchi (de la raíz cuadrada), modelo de Hixson-Crowell (de la raíz cúbica), modelo de Peppas, modelo de Peppas y Sahlin, modelo de Weibull, así como con la ecuación correspondiente al modelo propuesto en esta Tesis y descrito en el apartado IV.2.1.





## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



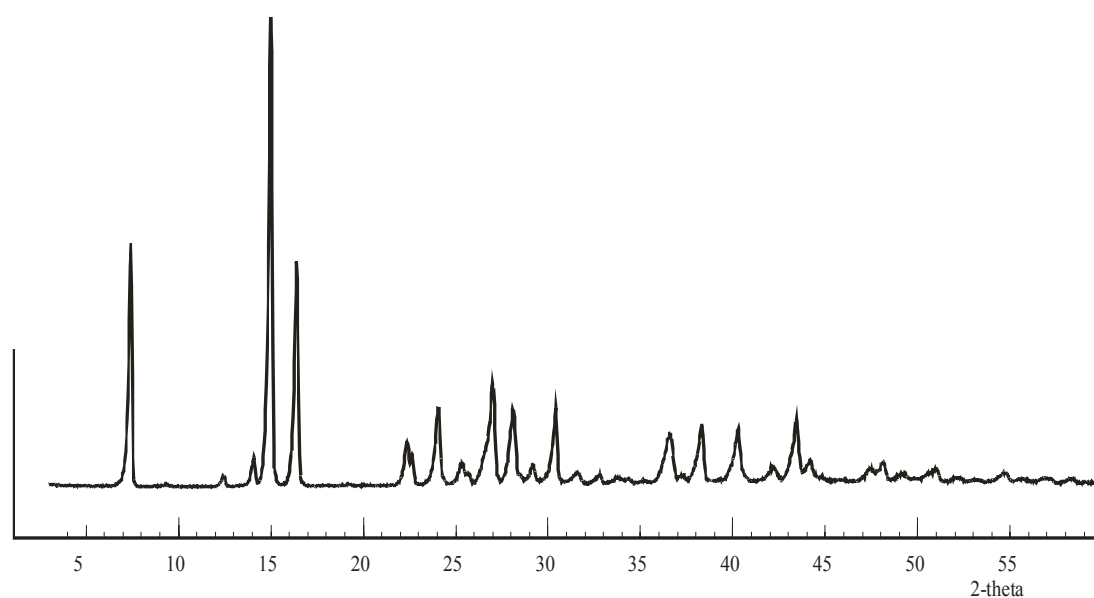
## IV.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS MATERIAS PRIMAS

Los resultados de caracterización de las materias primas han sido publicados en parte en los trabajos que forman parte de los apartados IV.2.2. y IV.2.3., de forma que con objeto de no ser repetitivos, en este apartado se recogen tan sólo aquellos resultados de la caracterización que no han formado parte de estas publicaciones, remitiéndonos a ellas para la exposición y discusión del resto.

### IV.1.1. PRINCIPIO ACTIVO

#### IV.1.1.1. DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Todo compuesto cristalino produce un patrón característico de difracción de rayos X. Estos patrones, muy útiles con fines de identificación, también lo son para análisis cuantitativos de mezclas sólidas, y para clasificación de formas polimorfas y solvatadas de distintos principios activos. Del difractograma del 5-ASA (Figura IV.1.) se deduce que se trata de un compuesto bastante bien cristalizado.

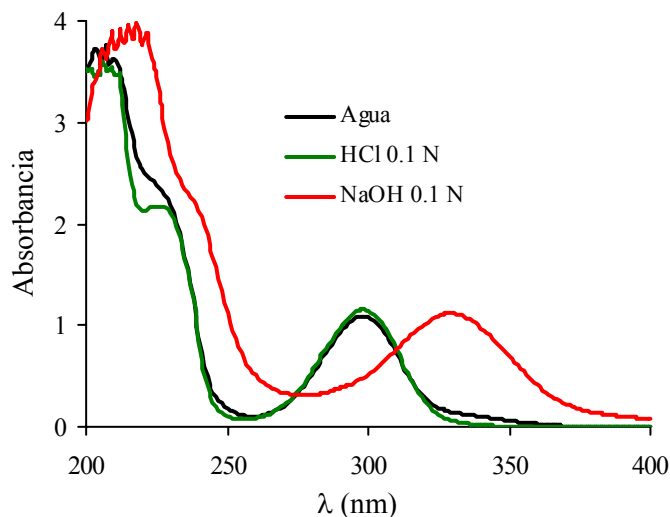


**Fig. IV.1.** Difractograma de rayos X del 5-ASA.

La comparación de las posiciones de las reflexiones de nuestro difractograma con las publicadas para el fármaco (Dash y Brittain, 1998), permite concluir que se trata de 5-ASA de elevada pureza, dado que no se observan reflexiones distintas a las descritas para este compuesto.

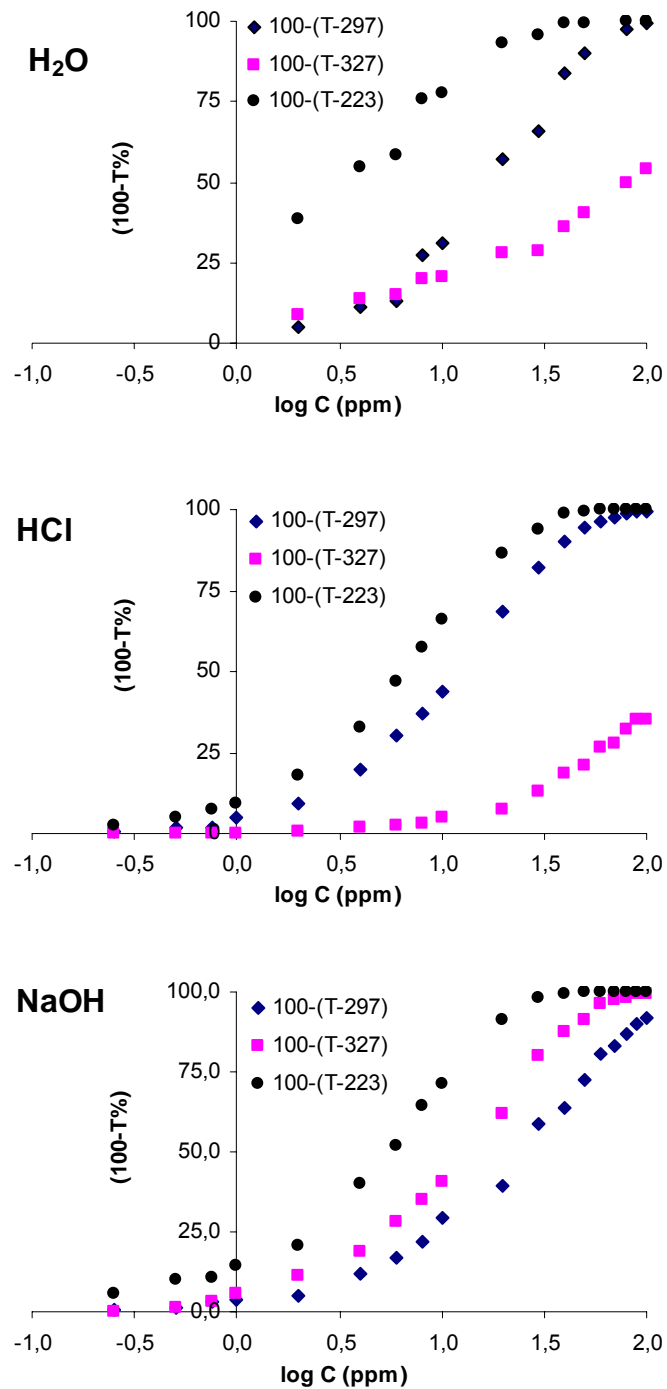
#### IV.1.1.2. ESPECTROSCOPIA DE ULTRAVIOLETA

Los barridos espectrales llevados a cabo hicieron aconsejable la selección de tres valores de longitud de onda: 223, 297 y 327 nm. Las medidas de absorbancia para la determinación de las rectas de calibración, en cualquiera de los medios, se llevaron a cabo a esas tres longitudes de onda (Figura IV.2.).



**Fig. IV.2.** Barridos espectrales del 5-ASA (50 ppm) en los medios considerados.

La Figura IV.3. presenta las curvas de Ringbom correspondientes a cada uno de los medios empleados, para las tres longitudes de onda de estudio. Como sucede para la mayoría de los casos, las curvas de Ringbom tienen forma de S, y en ellas la parte lineal se corresponde con el intervalo de concentraciones óptimo (intervalo que presenta una relación lineal entre absorbancia y concentración). Asimismo, los puntos de intersección del tramo intermedio (recto) con la zona inferior y superior permitieron determinar los valores de límite de detección mínimo y máximo, respectivamente (5-100 ppm).



**Fig. IV.3.** Curvas de Ringbom obtenidas en los tres medios y longitudes de onda seleccionadas.

Con los datos obtenidos a partir de cada curva de Ringbom se procedió a construir las correspondientes rectas de calibración, previo ajuste de los datos por mínimos cuadrados y revisando que el coeficiente de correlación es estadísticamente significativo.

La representación gráfica de las rectas de calibración aparece en la Figura IV.4., mientras que las correspondientes ecuaciones de las rectas y coeficientes de correlación están recogidos en la Tabla IV.I. Se calculó para cada valor experimental el correspondiente error relativo, obteniendo valores inferiores al 10% en todos los puntos.

**Tabla IV.I.** Ecuaciones de las rectas de calibración en los tres medios y longitudes de onda objeto de estudio (C = concentración; A = absorbancia).

| Medio                 | 223 nm                  | 297 nm                  | 327 nm                  |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>H<sub>2</sub>O</b> | C = 19,266A - 2,3346    | C = 48,279A + 1,9879    | C = 426,67A - 42,299    |
|                       | R <sup>2</sup> = 0,999  | R <sup>2</sup> = 0,9991 | R <sup>2</sup> = 0,9967 |
| <b>HCl 0.1 N</b>      | C = 22,786A - 0,1851    | C = 43,117A - 1,395     | C = 467,82A + 1,383     |
|                       | R <sup>2</sup> = 0,9968 | R <sup>2</sup> = 0,9976 | R <sup>2</sup> = 0,9933 |
| <b>NaOH 0.1 N</b>     | C = 18,83A - 0,1127     | C = 92,322A - 2,3317    | C = 45,981A - 0,526     |
|                       | R <sup>2</sup> = 0,9991 | R <sup>2</sup> = 0,9969 | R <sup>2</sup> = 0,9964 |

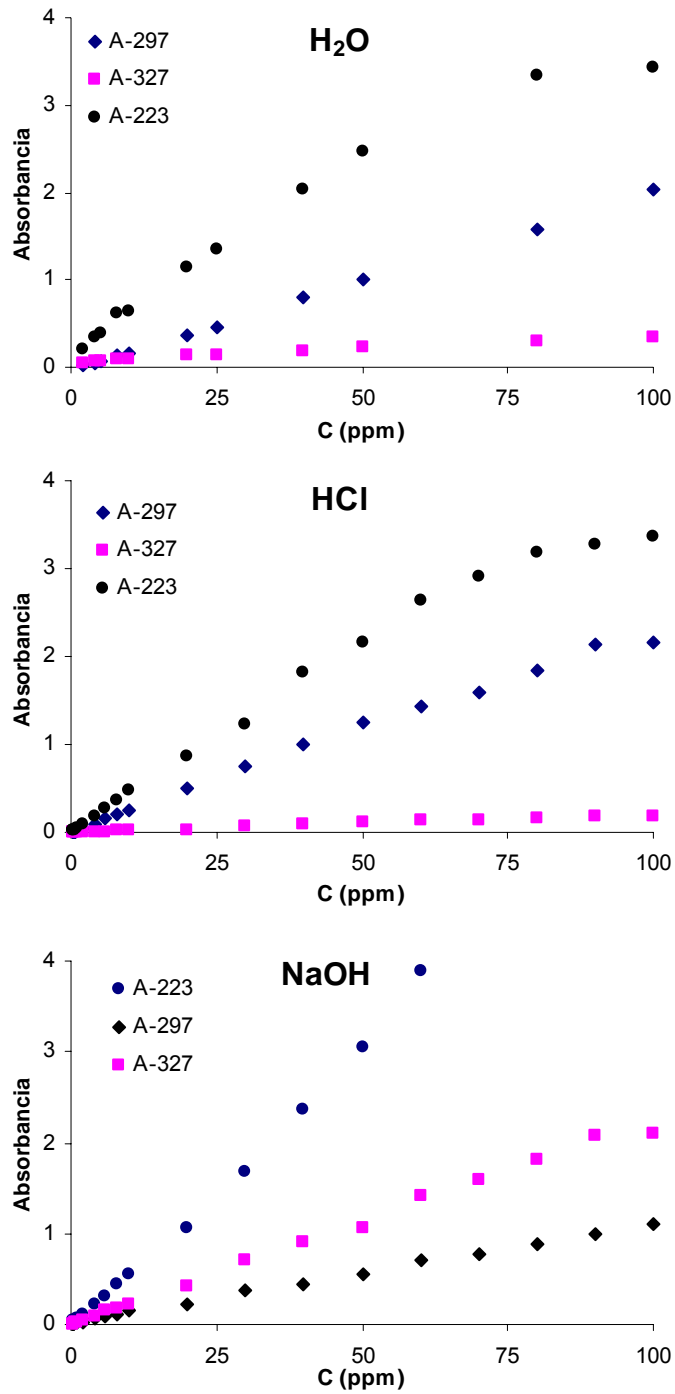


Fig. IV.4. Rectas de calibración en los tres medios y longitudes de onda seleccionadas.



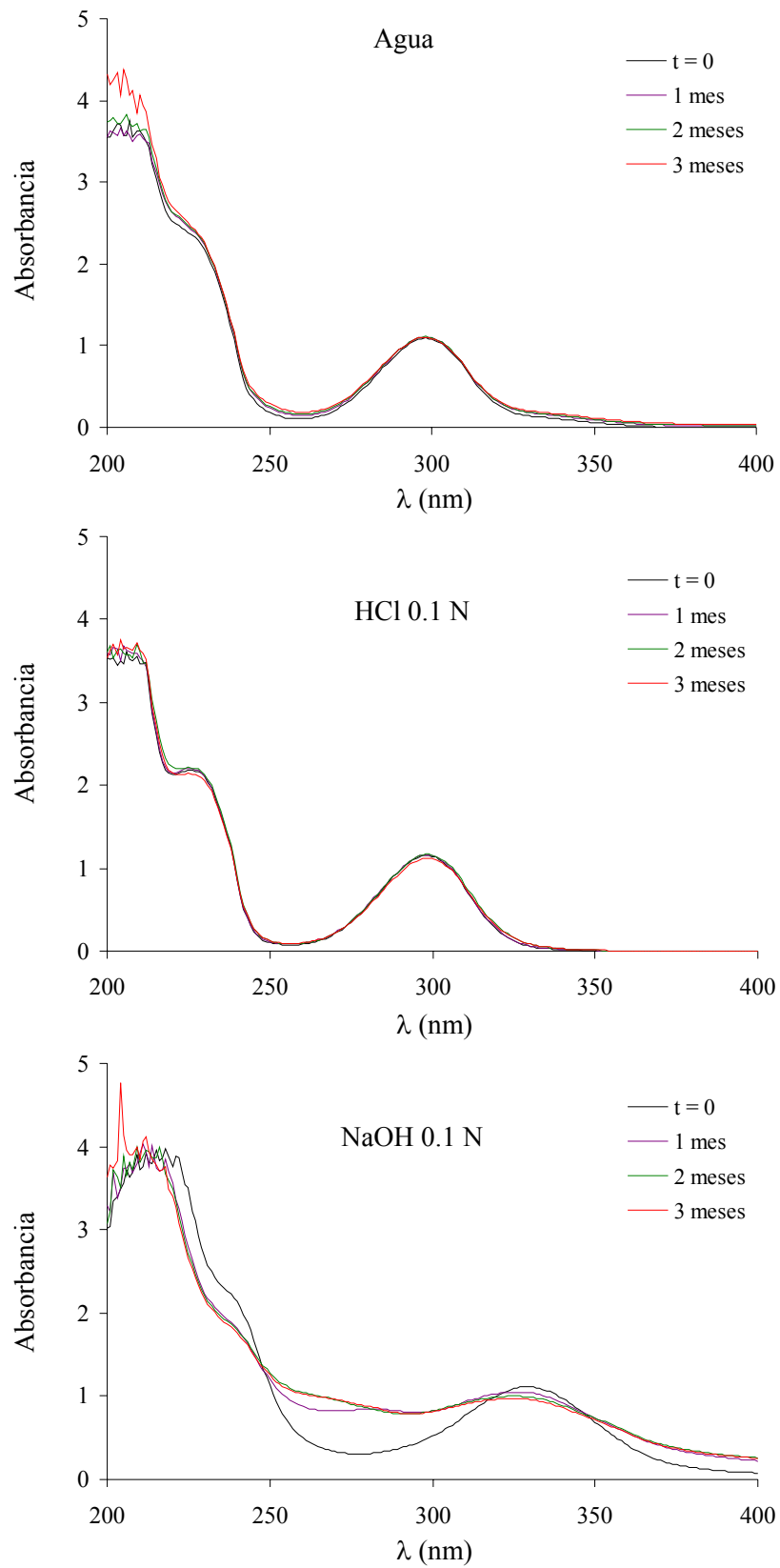
### **IV.1.1.3. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD**

#### **IV.1.1.3.1. Espectroscopía de Ultravioleta**

En la Figura IV.5. se presentan los barridos espectrales de las soluciones de 5-ASA sometidas a ensayos de estabilidad en agua, HCl 0.1 N y NaOH 0.1 N. En agua y medio ácido, no se observan cambios significativos con el paso del tiempo; aparece un máximo principal de absorción a 297 nm, distinguiéndose un segundo máximo a 223 nm.

El comportamiento en medio básico es sustancialmente distinto. Con el paso del tiempo se observa un descenso del máximo de absorbancia a 327 nm, acompañado de un aumento en la zona de 270 nm. El segundo máximo que aparecía en torno a 223 nm está presente en los barridos iniciales, tendiendo a desaparecer con el tiempo.

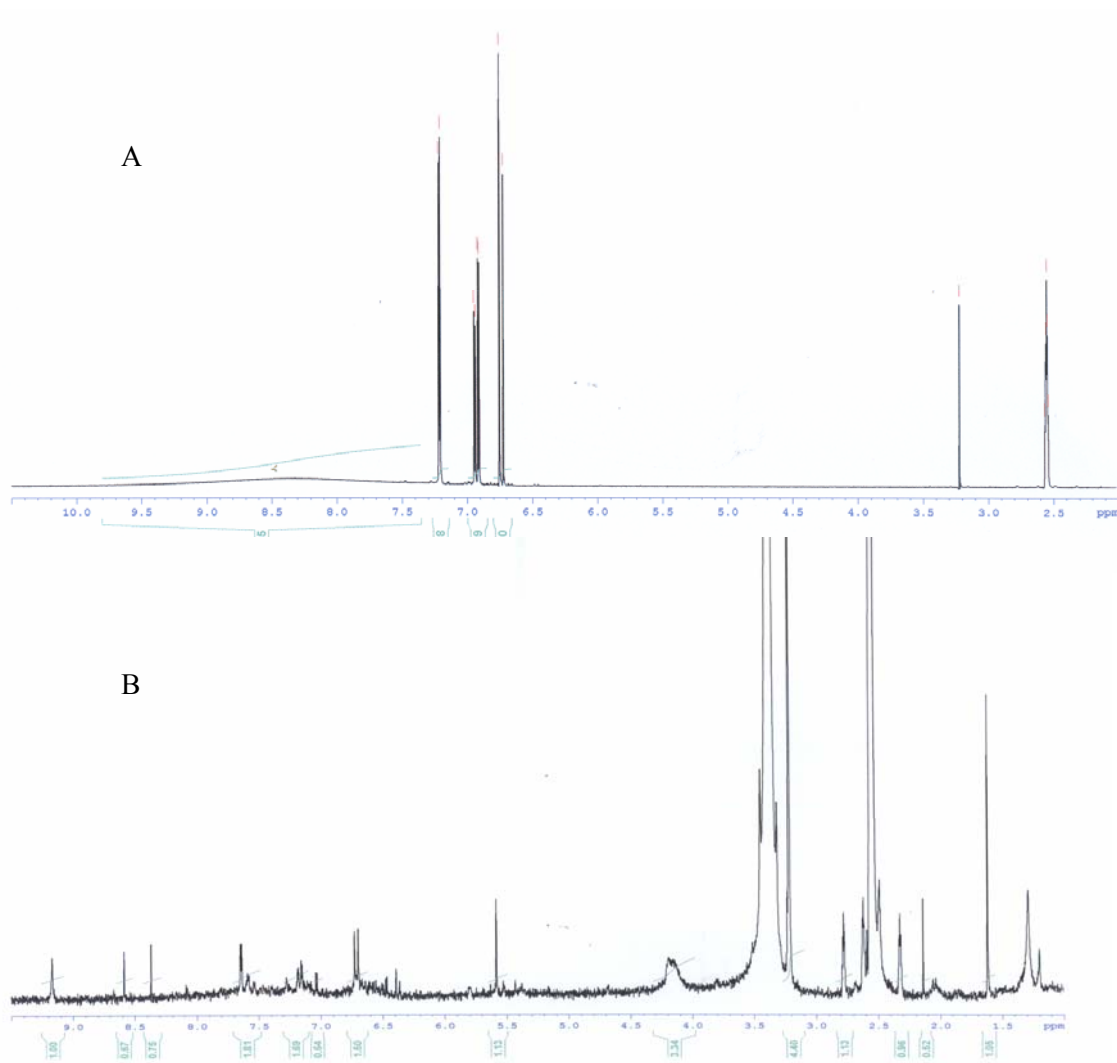
A la vista de los cambios observados en los barridos espectrales de las soluciones a pH básico, se procedió a completar el estudio de estabilidad, precipitando el fármaco en soluciones básicas (NaOH 0.1 N y tampón de pH 6.8), así como en agua y HCl 0.1 N, a efectos comparativos, estudiando los sólidos obtenidos con resonancia magnética nuclear (apartado siguiente).



**Fig. IV.5.** Barridos espectrales a distintos tiempos de la solución de 5-ASA en los tres medios estudiados.

#### IV.1.1.3.2. Resonancia Magnética Nuclear

La Figura IV.6a. presenta el espectro unidimensional de  $^1\text{H}$ -RMN de la muestra de 5-ASA. Las muestras disueltas y precipitadas en agua, HCl 0.1 N y tampón fosfato pH 6.8 no mostraron diferencias significativas respecto al espectro original, en el que se observan las bandas de resonancia de los protones asociados a los grupos -OH, -NH<sub>2</sub>, y -COOH, así como las bandas correspondientes a los protones del anillo aromático en correspondencia con lo descrito en bibliografía (Dash y Brittain, 1998).



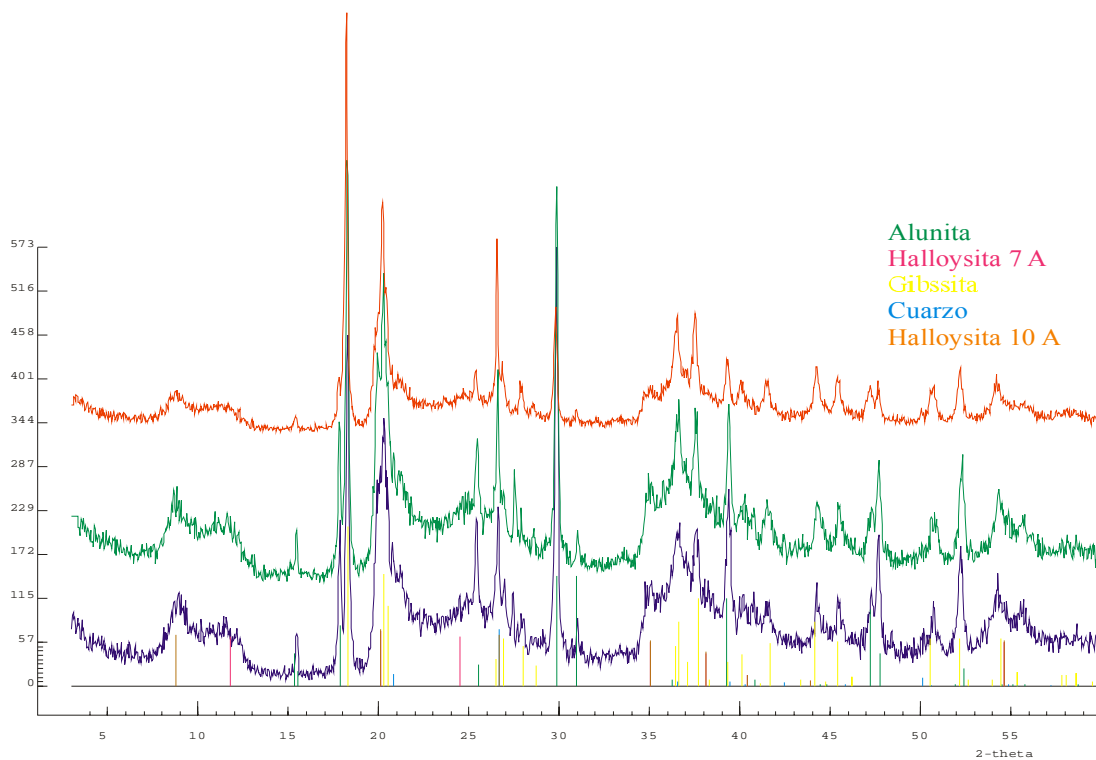
**Fig. IV.6.** Espectro  $^1\text{H}$ -RMN del 5-ASA: A) fármaco sin tratar, B) fármaco precipitado en una solución de NaOH 0.1 N.

En la muestra precipitada en NaOH 0.1 N, si se observaron cambios (Figura IV.6B.), asociados a la polimerización de la molécula del fármaco por oxidación (Jensen et al., 1992).

## IV.1.2. HALLOYSITA

### IV.1.2.1. DIFRACCIÓN DE RAYOS X

La Figura VI.7. presenta los difractogramas llevados a cabo a las tres fracciones granulométricas seleccionadas. La muestra es rica en Halloysita, siendo una mezcla de la forma hidratada (10 Å) y deshidratada (7 Å). Las fases minoritarias son gibbsita ( $\text{Al}(\text{OH})_3$ ), cuarzo y alunita ( $\text{KAl}(\text{OH})_6(\text{SO}_4)_2$ ). No hay diferencias asociadas a la selección granulométrica.

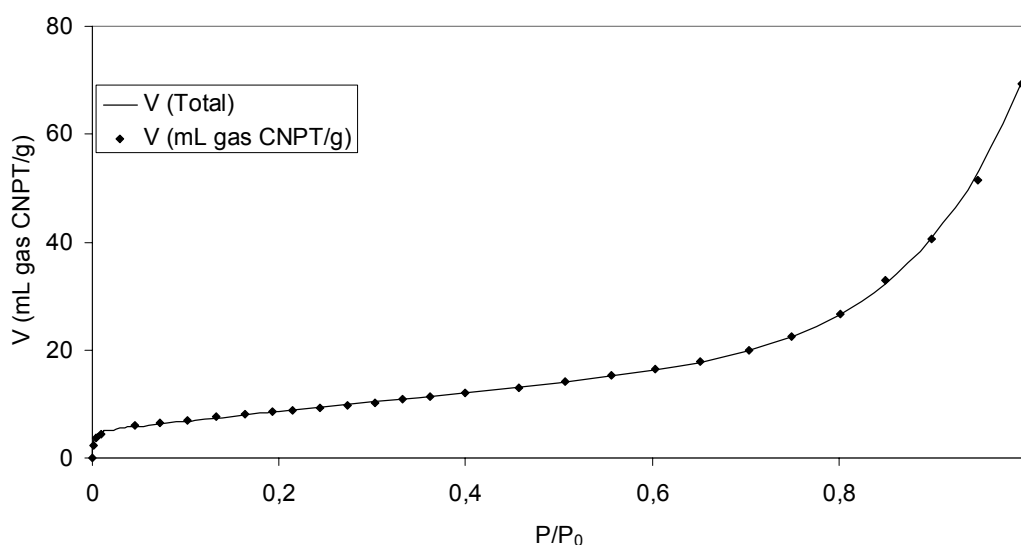


**Fig. IV.7.** Patrones de difracción de tres fracciones granulométricas de HLC: > 250 μm (rojo), 125-250 μm (verde), < 125 μm (azul).

Como se discutió en la introducción, es frecuente que la halloysita aparezca en forma de mezclas conteniendo tanto la forma deshidratada (7 Å), como la hidratada, con un espaciado basal de 10 Å, correspondiente a el de la forma deshidrata (7 Å) más el espacio ocupado por una monocapa de moléculas de agua ( $\approx 3$  Å).

#### IV.1.2.2. ADSORCIÓN DE NITRÓGENO

La isoterma de adsorción de nitrógeno a 77K por HLC se representa en la Figura IV.8.



**Fig. IV.8.** Isooterma de adsorción de nitrógeno por HLC (77 K).

La interpretación correcta de las isotermas de adsorción se suele realizar a partir de ecuaciones matemáticas que definen el proceso y que derivan directamente de un modelo físico del sistema de adsorción-desorción que se ha postulado como hipótesis de trabajo a partir de los resultados de observaciones experimentales previas. Naturalmente cualquier ecuación propuesta debe definir la isoterma de equilibrio de adsorción-desorción en su totalidad, lo que no suele ocurrir en la mayoría de los casos.

La primera ecuación de una isoterma digna de mención es la denominada ecuación empírica de Freundlich (Freundlich, 1926), aunque pronto adquirieron mayor

importancia las ecuaciones de Langmuir (Langmuir, 1918), Eucken (Eucken, 1914) y la de Polanyi (Polanyi, 1914, 1916), surgidas durante la Primera Guerra Mundial.

La ecuación de Langmuir es el resultado de un planteamiento cinético que supone que la adsorción evoluciona hacia la formación, sobre una superficie homogénea, de una sola monocapa localizada de moléculas adsorbidas, entre las que no existen interacciones laterales significativas (Langmuir, 1916, 1918). Pero no considera la adsorción en monocapa localizada sobre superficies energéticamente heterogéneas y/o en multicapa, procesos que son mucho más numerosos. Por ello, pronto se buscaron otras ecuaciones más generales.

Entre los intentos de encontrar un modelo adecuado para describir las isotermas resultantes de los procesos de adsorción en multicapa se debe señalar la ecuación de BET (Brunauer, Emmett y Teller) (Brunauer et al., 1938), que, en general, de manera sistemática se desvía negativamente en la zona de presiones muy bajas y positivamente en la de altas presiones (debido al llenado de los microporos). Con el objeto de corregir estas desviaciones, pronto surgieron nuevas ecuaciones derivadas de la misma, la mayoría de las cuales no encontraron suficiente aceptación. Incluso el propio Brunauer y otros, propusieron en 1940 la ecuación conocida como de BDDT (Brunauer, Deming, Deming y Teller) (Faust y Aly, 1987; Sing et al., 1985).

Tanto la teoría de Langmuir como la de BET consideran que el sólido adsorbente tiene un “área superficial” definida, la cual constituye un parámetro esencial en la caracterización macroscópica de los adsorbentes (especialmente de los macroporos). Sin embargo, en los sólidos microporosos se asume que el parámetro esencial para su caracterización es el “volumen de poros”. Esta última idea se puede considerar el punto de partida para llegar a la denominada “teoría del llenado del volumen de microporos” propuesta por Dubinin y Radushkevich que condujo a la ecuación semiempírica que lleva el nombre de estos dos investigadores (Dubinin y Radushkevich, 1947; Dubinin, 1952, 1975).

De entre las ecuaciones citadas, se puede afirmar que las más utilizadas, aun en la actualidad, son las de BET y de Dubinin-Radushkevich (DR), las cuales permiten determinar la capacidad de adsorción del adsorbente, pero:

- no suministran información acerca de la energía de los enlaces adsorbente-adsorbido;
- no permiten definir la isoterma experimental completa (no ajustan los datos experimentales obtenidos en todo el intervalo de presiones relativas de equilibrio), lo que, obviamente, restringe grandemente la validez de los modelos.

La utilización de las ecuaciones de BET y de DR (programadas en el equipo utilizado en nuestros ensayos) ha permitido calcular lo siguiente: Volumen de microporos, volumen de mesoporos y superficie accesible al nitrógeno ( $S_{BET}$ ).

Ecuación de BET:

$$\theta = \frac{n^s}{n_m^s} = \frac{B \cdot P}{[1 - (P/P_0)][1 + (B-1) \cdot (P/P_0)]} = \frac{B \cdot P \cdot P_0}{(P_0 - P)[P_0 + (B-1) \cdot P]} \quad (IV.1)$$

$$\frac{P/P_0}{\theta [1 - (P/P_0)]} = \frac{1}{B} + \frac{B-1}{B} \frac{P}{P_0} \quad (IV.2)$$

ecuaciones en las que  $P_0$  es la presión de saturación del gas adsorbible (nitrógeno) a la temperatura de trabajo y  $B$  una constante relacionada con la energía de la unión adsorbente-adsorbido. En la práctica, las ecuaciones (IV.1) y (IV.2) se pueden utilizar también expresadas en función de  $(P/P_0)$ .

Ecuación de Dubinin-Radushkevich (DR):

$$\theta = \frac{n^s}{n_0^s} = \exp \left[ -B \left( RT \cdot \ln \frac{P_0}{P} \right)^2 \right] \quad (IV.3)$$

Ecuación en la que  $P$  = Presión de gas,  $P_0$  = Presión de saturación del gas, a la temperatura de trabajo y  $B$  = Constante relacionada con la energía de adsorción.

Mediante estas ecuaciones, y a partir de la isoterma experimental, se obtuvieron los valores de la Tabla IV.II.:

**Tabla IV.II.** Valores de volúmenes de poros y superficie específica de HLC.

| Parámetro                       | Valor  |
|---------------------------------|--|
| Volumen de microporos           | 0,011 cm <sup>3</sup> /g (Volumen adsorbido a $P/P^0 = 0,1$ , expresado como líquido)  |
| Volumen de mesoporos            | 0,069 cm <sup>3</sup> /g (Volumen adsorbido a $P/P^0 = 0,95$ menos Volumen adsorbido a $P/P^0 = 0,1$ , expresado como líquido) |
| Superficie BET ( $S_{BET}$ )    | 32,5 m <sup>2</sup> /g      R=0,9998   |
| Volumen de microporos ( $W_0$ ) | 0,018 cm <sup>3</sup> /g (obtenido por aplicación de la ecuación DR)   |

Como es bien sabido, las ecuaciones de BET y de DR sólo ajustan los resultados experimentales de la isoterma correspondientes a un determinado intervalo de valores (bajos) de  $P/P_0$ . Con el objeto de intentar el ajuste completo de dicha isoterma se ha considerado que en los procesos de adsorción de gases por sólidos, en principio se pueden presentar diversas situaciones de las moléculas de adsorbido “A”, en cada una de las cuales la energía de retención de dichas moléculas tiene un valor determinado que varía, y disminuye, desde la situación en la que la molécula de adsorbido se encuentra en el interior de un microporo de diámetro prácticamente igual a su tamaño (con lo que todo el perímetro de la molécula se encuentra en contacto con la superficie del sólido) hasta la correspondiente a la de condensación del gas en una situación que “prácticamente” corresponde a un equilibrio gas/líquido. Cada una de las situaciones sería el resultado de un proceso sencillo de adsorción-desorción representable por una ecuación estequiométrica sencilla (especialmente si las moléculas de adsorbible actúan de manera independiente). En la práctica, bajo un punto de vista energético, se puede suponer que el proceso global es el resultado de no más de dos procesos sencillos de adsorción/desorción y de uno final de condensación (en la fase adsorbida) del gas adsorbible. Por ello, generalmente, se



pueden considerar tres situaciones (o procesos sencillos) energéticamente diferenciadas, que podrían corresponder a:

- Adsorción en el interior de los microporos.
- Adsorción en el interior de los mesoporos.
- Condensación del gas adsorbido (en los macroporos, en la superficie y/o en el espacio interparticular).

Suponiendo que los mencionados procesos sencillos de adsorción/desorción son de órdenes igual a la unidad respecto de la presión (P) y de los centros activos responsables de la adsorción; y que el de condensación corresponde a un equilibrio gas/sólido, la ecuación que define la isoterma experimental se puede escribir en la forma:

$$n^s = \frac{n_{m(1)}^s \cdot K_{ci(1)} \cdot P}{1 + K_{ci(1)} \cdot P} + \frac{n_{m(2)}^s \cdot K_{ci(2)} \cdot P}{1 + K_{ci(2)} \cdot P} + A \cdot P^m \quad (IV.4)$$

o bien como:

$$V = \frac{V_{m(1)} \cdot K_{ci(1)} \cdot P}{1 + K_{ci(1)} \cdot P} + \frac{V_{m(2)} \cdot K_{ci(2)} \cdot P}{1 + K_{ci(2)} \cdot P} + A \cdot P^m \quad (IV.5)$$

o como:

$$V = \frac{V_{m(1)} \cdot K_{ci(1)} \cdot (P/P_0)}{1 + K_{ci(1)} \cdot (P/P_0)} + \frac{V_{m(2)} \cdot K_{ci(2)} \cdot (P/P_0)}{1 + K_{ci(2)} \cdot (P/P_0)} + A \cdot (P/P_0)^m \quad (IV.6)$$

en la que,  $n^s$  es el número de moles de gas adsorbidos por unidad de masa de adsorbente,  $n_m^s$  es la capacidad de adsorción (moles de gas adsorbidos por unidad de masa de adsorbente extrapolados a  $P = \infty$ ),  $K_{ci}$  es la constante cinética de equilibrio ( $k_a / k_d$ ),  $A$  ( $K_{c/v}$ ) es la constante cinética de equilibrio del proceso de condensación,

m es un factor exponencial, P la presión del gas en equilibrio, P<sub>0</sub> la presión inicial de saturación del gas, V el volumen de gas (CNPT) adsorbido por unidad de masa de adsorbente y V<sub>m</sub> la capacidad de adsorción = volumen de gas (CNPT) adsorbido por unidad de masa de adsorbente, extrapolado a P = ∞.

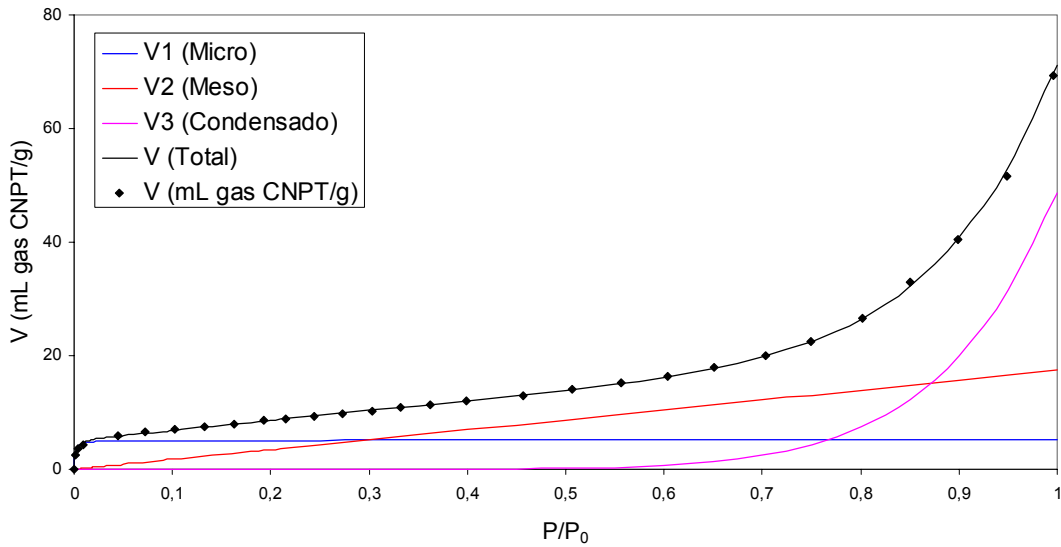
El ajuste de los resultados experimentales de equilibrio (V vs. P/P<sub>0</sub>) a la ecuación (IV.6) ha permitido calcular los siguientes valores (Tabla IV.III):

**Tabla IV.III.** Valores de los parámetros calculados a partir de la ecuación (IV.6).

| Parámetro                   | P/P <sub>0</sub> = ∞    |                         | P/P <sub>0</sub> = 1 |                         |
|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|
|                             | Gas (mL/g)              | Líquido (mL/g)          | Gas (mL/g)           | Líquido (mL/g)          |
| V <sub>microporos</sub>     | 5,13                    | 7,94 · 10 <sup>-3</sup> | 5,13                 | 7,93 · 10 <sup>-3</sup> |
| K <sub>ci(microporos)</sub> | 873,29                  |                         |                      |                         |
| V <sub>mesoporos</sub>      | 8350,96                 | 12,92                   | 17,40                | 2,69 · 10 <sup>-2</sup> |
| K <sub>ci(mesoporos)</sub>  | 2,09 · 10 <sup>-3</sup> |                         |                      |                         |
| K <sub>c/v</sub>            | 48,71                   |                         |                      |                         |
| m                           | 8,44                    |                         |                      |                         |
| R <sup>2</sup>              | 0,9998                  |                         |                      |                         |

A partir de estos valores, y mediante la ecuación (IV.6) se han calculado las isotermas postuladas de adsorción en los microporos, en los mesoporos y de condensación del gas; las cuales aparecen representadas en la Figura IV.9.

En consecuencia, puede decirse que HLC es un material muy poco microporoso, e incluso poco mesoporoso, siendo fundamentalmente macroporoso, en correspondencia con los resultados observados con otras halloysitas (Churchman et al., 1995). La microporosidad es atribuible al interior de los tubos del material, mientras que la mesoporosidad se corresponde con defectos en la superficie de los tubos (Joussein, 2005). Los resultados son comparables a los obtenidos por porosimetría de mercurio, que reveló la presencia fundamentalmente de poros de tamaño en torno a 8000 nm, con una segunda moda mucho menor en torno a 60 nm (Viseras et al., 2008).



**Fig. IV.9.** Isothermas de adsorción de nitrógeno de HLC, calculadas a partir de la ecuación IV.6.

Es evidente que la técnica de intrusión de mercurio se aleja mucho de la correcta caracterización porosimétrica alcanzada con el nitrógeno. En este sentido, las isothermas de adsorción de nitrógeno (Figura IV.9.) reflejan claramente que del volumen total, la mayor parte del N<sub>2</sub> se adsorbe por condensación en los macroporos, en la superficie y/o en el espacio interparticular.

#### IV.1.2.3. CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO

La Tabla IV.IV. presenta las cantidades individuales de cationes de intercambio, así como la capacidad total, correspondiente a la capacidad de intercambio catiónico (CEC). De acuerdo con nuestros resultados, la capacidad de intercambio catiónico de HLC se sitúa en torno a 20 meq/100 g, correspondiente sobretudo a cationes bivalentes (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>). Este valor es coherente con los encontrados por otros autores para muestras de halloysita de diferentes localizaciones (Joussein, 2005).

**Tabla IV.IV.** Cationes de intercambio presentes en HLC (promedio ± desviación estandar; n = 3) .

|            | Na <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | Ca <sup>2+</sup> | Mg <sup>2+</sup> | CEC   |
|------------|-----------------|----------------|------------------|------------------|-------|
| meq /100 g | 2.35 ± 0.47     | 0.32 ± 0.03    | 12.01 ± 0.39     | 5.71± 0.25       | 20.39 |

## IV.2. PRODUCTOS DE INTERACCIÓN 5-ASA-HLC

### VI.2.1. MODELO PARA EL AJUSTE DE DATOS DE RETENCIÓN Y LIBERACIÓN

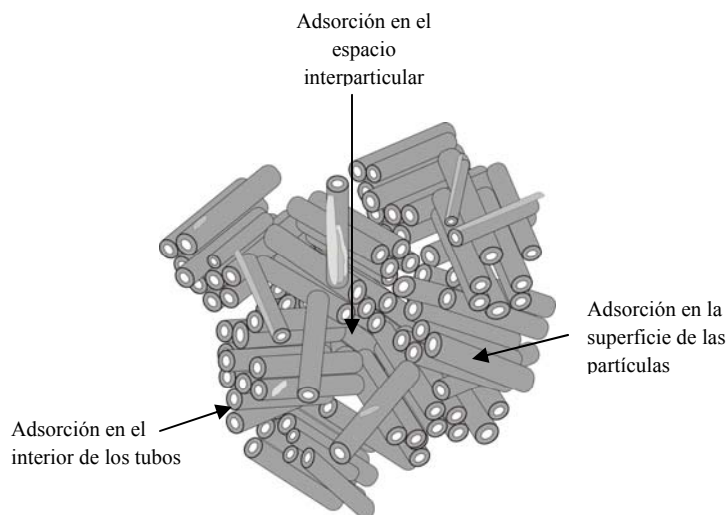
#### IV.2.1.1. HIPÓTESIS DE PARTIDA

Los resultados experimentales obtenidos en los ensayos de retención del fármaco por el soporte arcilloso, así como su posterior liberación, han sido analizados en su conjunto mediante un modelo postulado a tal efecto.

El modelo parte de la hipótesis de que el proceso global de retención (**adsorción**) neta es el resultado de uno o más de los siguientes procesos sencillos:

- Adsorción del fármaco en la superficie externa de las partículas de arcilla, consideradas éstas como indeformables a lo largo de todo el proceso.
- Adsorción en el espacio interparticular, en el interior de macroporos, y/o tubos de las partículas de diámetro suficientemente grande (para que puedan entrar las especies adsorbidas).
- Precipitación del fármaco en la superficie de la arcilla, lo que da lugar a la aparición de la “multicapa”.

La Figura IV.10. representa de forma esquemática los tres tipos posibles de retención de las moléculas de fármaco en la arcilla. Como se observa, HLC presenta canales estructurales; pero, aparte de ello, es bien conocido que en los sólidos adsorbentes se presentan también poros debidos a causas texturales, defectos estructurales, empaquetamiento de micropartículas, etc. Todo esto da lugar a la formación de poros, generalmente meso y, especialmente, macroporos de tamaño suficiente como para que pueda penetrar en ellos el adsorbido.



**Fig. IV.10.** Esquema de los tubos de HLC con los lugares de retención del 5-ASA.

La razón de postular este modelo viene avalado por una parte por la propia textura de la halloysita y por los resultados obtenidos con anterioridad en procesos parecidos por otros autores, cuya estrecha colaboración en el desarrollo de esta Tesis ha sido del todo imprescindible (Valenzuela et al., 2002a,b, 2003, 2004a,b, 2007; Navarrete Guijosa et al., 2003; Navarrete Casas et al., 2006a,b, 2007).

De acuerdo con lo descrito por los autores antes citados, en las isothermas de equilibrio de adsorción ( $n^s$  vs.  $C$  ó  $n^s$  vs.  $C/C_0$ ) el primero de los procesos sencillos de adsorción neta anteriormente aludidos suele ser especialmente significativo a muy bajas concentraciones (absolutas y relativas) de soluto (fármaco) en disolución en equilibrio con el adsorbente. A concentraciones muy elevadas se puede manifestar el tercero de los procesos sencillos mencionados, responsable de un último tramo exponencial de la isoterma de equilibrio. A concentraciones intermedias se pueden presentar simultáneamente dos, o los tres procesos sencillos mencionados.

En las isothermas cinéticas ( $C$  vs.  $t$ ) de adsorción el primero de los procesos sencillos mencionados (mucho más rápido que el segundo) se observa más claramente a tiempos muy bajos (tramo inicial de la isoterma); a tiempos más elevados puede manifestarse el segundo de los procesos sencillos citados (mucho más lento, que el anterior puesto que viene influido en mayor medida por la difusión), mientras que el

tercero no se suele observar, a menos que se utilicen disoluciones de concentraciones muy elevadas de fármaco.

Naturalmente, el proceso global de liberación neta, entendida como **desorción** de lo adsorbido previamente, debe ser consecuencia de las fases adsorbidas que se hubieran producido en los diferentes procesos sencillos de adsorción anteriormente mencionados. La liberación del adsorbido constituyente de la tercera fase (de precipitación) se produce como consecuencia de un proceso similar al de disolución del fármaco puro, y suele ser muy rápida. De las dos fases resultantes de los procesos sencillos de adsorción, el fármaco situado sobre la superficie más externas de las partículas de arcilla pasan mucho más rápidamente a la disolución que aquel otro fármaco que se encuentra adsorbido en el espacio interparticular (o en poros y/o canales suficientemente anchos), cuya salida requiere de un proceso de difusión hasta alcanzar la interfase superficie externa/disolución, proceso que, obviamente, es previo y mucho más lento que el que se produce al atravesar la interfase sólido/líquido.

### III.2.1.2. MODELO MATEMÁTICO

A partir de las hipótesis anteriores se pueden postular las correspondientes ecuaciones de las leyes cinéticas y de equilibrio que rigen cada uno de los procesos sencillos aludidos y, en consecuencia, de los procesos globales de retención neta por adsorción y de liberación neta por desorción del fármaco adsorbido.

Para cada uno de los dos procesos sencillos de adsorción-desorción postulados se puede considerar la ley cinética:

$$-\frac{dC}{dt} = k_a \cdot C^n \cdot (1 - \theta) - k_d \cdot \theta \quad (\text{IV.7})$$

donde C es la concentración de fármaco en la fase disolución a tiempo t,  $k_a$  la constante o velocidad específica de adsorción,  $k_d$  la constante o velocidad específica

de desorción,  $n$  el orden parcial del proceso respecto de  $C$  y  $\theta$  la fracción de cubrimiento, que viene dada por:

$$\theta = n^s / n_m^s$$

donde  $n^s$  son los moles de fármaco por unidad de masa y  $n_m^s$  la capacidad de retención del adsorbente expresada en moles de fármaco adsorbido en el equilibrio por la unidad de masa de adsorbente, en las condiciones de trabajo.

La gran mayoría de los trabajos que estudian sistemas sólido adsorbente/disolución de adsorbible concluyen que el valor de  $n$  para cada uno de los procesos sencillos de adsorción/desorción es igual a la unidad (Valenzuela et al., 2002a,b, 2003, 2004a,b, 2007; Navarrete Guijosa et al., 2003; Álvarez Puebla et al., 2004a,b, 2006; Navarrete Casas et al., 2006a,b, 2007), por lo que la ecuación (IV.7) puede escribirse como:

$$-\frac{dC}{dt} = k_a \cdot C \cdot (1 - \theta) - k_d \cdot \theta \quad (\text{IV.8})$$

En cuanto al último de los procesos sencillos mencionados (precipitación), su ley cinética se puede expresar como:

$$-\frac{dC}{dt} = k_p \cdot C^m - k_{ds} \cdot n^s \quad (\text{IV.9})$$

donde  $k_p$  es la velocidad específica de precipitación,  $k_{ds}$  la velocidad específica de disolución y  $m$  un factor exponencial.

### III.2.1.2.1. Modelización del Proceso de Retención

#### III.2.1.2.1.1. Cinética de Retención (Isotermas C vs. t)

##### III.2.1.2.1.1.1. Procesos sencillos de adsorción/desorción

Si se supone que el proceso de adsorción/desorción evoluciona hacia una situación de equilibrio (para el que se considera  $\theta = 1$ ), la integración de la ecuación (IV.8) conduce a la (IV.10), que define las isotermas cinéticas (C vs. t):

$$C = C_0 - \frac{k_a \cdot t}{a \cdot (k_a \cdot t - 1)} \quad (\text{IV.10})$$

donde  $C_0$  es la concentración inicial de fármaco en la fase disolución y  $a$  es un parámetro característico del sistema sólido adsorbente/disolución objeto de estudio, que viene dado por:

$$a = \frac{V}{1000 \cdot m \cdot n_m^s} \quad (\text{IV.11})$$

donde  $V$  es el volumen de disolución,  $m$  la masa de adsorbente sólido, y  $n_m^s$ , como indicábamos antes, la capacidad límite de adsorción de la unidad de masa de adsorbente en las condiciones de trabajo.

Si en el proceso global concurren los dos procesos sencillos de adsorción/desorción antes postulados, la ley cinética correspondiente sería:

$$C = C_0 - \sum_{i=1}^{i=2} \frac{k_{a(i)} \cdot t}{a_i \cdot (k_{a(i)} \cdot t - 1)} \quad (\text{IV.12})$$



III.2.1.2.1.1.2. Proceso sencillo de precipitación (adsorción en “multicapa”)

Respecto del tercer proceso sencillo que hemos postulado, la integración de la ecuación (IV.9) conduce a:

$$C = [C_0^{1-m} - (1-m) \cdot k_p \cdot t]^{\frac{1}{1-m}} \quad (IV.13)$$

III.2.1.2.1.1.3. Influencia de la difusión en la cinética del proceso de adsorción/desorción.

Por la propia naturaleza de los procesos que transcurren en la interfase sólido/líquido, la cinética de los mismos viene condicionada en gran parte por la difusión, puesto que tanto en la retención como en la liberación intervienen etapas difusivas; las correspondientes a la retención (o adsorción) se resumen en la Figura IV.11. Lógicamente, en la liberación, la difusión será debida a un gradiente de concentración de signo contrario.

| Disolución                  | Interfase          | Superficie exterior del sólido | Superficie interior de los poros |
|-----------------------------|--------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| t = 0<br>C = C <sub>0</sub> | C = C <sub>0</sub> | θ = 0                          |                                  |
| t = t<br>C = C <sub>0</sub> | C < C <sub>0</sub> | θ > 0<br>θ >> 0                | θ > 0                            |
| →                           | →                  | →                              |                                  |

Fig. IV.11. Etapas de difusión en un proceso de sólo retención por adsorción.

Por lo anterior, los resultados cinéticos (C, t) se suelen utilizar como punto de partida para obtener información acerca de la influencia de la difusión en los procesos antes aludidos.

Para el cálculo de los coeficientes de difusión se parte de la ecuación de la segunda ley de Fick (Fick, 1885; Crank, 1993):

$$\frac{dC}{dt} = D \cdot \left( \frac{d^2C}{dx^2} \right) \quad (\text{IV.14})$$

donde  $x$  es la distancia que recorre la especie que se difunde (fármaco retenido en nuestro caso) en el medio correspondiente,  $D$  es el coeficiente de difusión y  $C$  es la concentración de fármaco alcanzada en un punto del poro situado a una distancia  $x$  de la entrada del mismo, al cabo de un tiempo  $t$ .

El coeficiente de difusión,  $D$ , aumenta con la temperatura hasta un valor límite  $D_0$  (para  $t = \infty$ ), que se suele denominar “factor de frecuencia”.  $D$  y  $D_0$  están relacionados entre sí mediante una ley de tipo Arrhenius:

$$D = D_0 \cdot e^{\frac{-E}{R \cdot T}} \quad (\text{IV.15})$$

en la que  $E$  representa la energía de activación del proceso de difusión.

La integración de la ecuación (IV.14) conduce a expresiones diversas, dependiendo de la naturaleza del sistema a través del cual tiene lugar la difusión y de las condiciones previas fijadas a la hora de efectuar la integración (Crank, 1993). Dichas ecuaciones suelen ser de notable complejidad; y, además, no se suelen ajustar totalmente a las características reales del sistema objeto de estudio. Por ello, frecuentemente se emplean ecuaciones “aproximadas” que resultan de la integración de la citada ecuación (IV.14) para sólidos de formas relativamente sencillas como son láminas, cilindros o esferas (Jost, 1970; Crank, 1993).

En la práctica, un sólido adsorbente, como es nuestra arcilla, está constituido por partículas de formas y/o tamaños diversos, lo que hace difícil la elección de un modelo adecuado. En tal caso, es frecuente suponer que las partículas son aproximadamente esferas de radio equivalente igual al radio medio del conjunto de dichas partículas.

Si se supone un sistema hipotético en el que se considera también que D es el mismo en todos los “poros”, que la fase líquida se mantiene homogénea (bien agitada) de manera que la accesibilidad del líquido a todos los poros es igual, la integración de la ecuación diferencial de la segunda ley de Fick (IV.14) conduce a la expresión:

$$\frac{n_t^s}{n_e^s} = 1 - \sum_{n=0}^{n=\infty} a_n \cdot \exp\left(\frac{-b_n \cdot t \cdot D}{r^2}\right) \quad (\text{IV.16})$$

donde  $n_t^s$  es el número de moles de fármaco retenidos por unidad de masa de adsorbente a tiempo t,  $n_e^s$  es el número de moles de fármaco retenidos por unidad de masa de adsorbente en el equilibrio ( $t \geq t_e$ ),  $a_n$  y  $b_n$  son parámetros con un número infinito de valores discretos determinados por n (entre 0 y  $\infty$ ), D es el coeficiente de difusión y r el espesor de la lámina o radio de la esfera a través de la cual tiene lugar la difusión.

Y en el caso de que las partículas de adsorbente tengan forma esférica de radio r, la ecuación (IV.16), se transforma (Crank, 1993) en la siguiente:

$$\frac{n_t^s}{n_e^s} = 1 - \left(\frac{6}{\pi^2}\right) \cdot \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \cdot \exp\left(-\frac{n^2 \cdot t}{\tau}\right) \quad (\text{IV.17})$$

siendo

$$\tau = \frac{r^2}{\pi^2 \cdot D} \quad (\text{IV.18})$$

La resolución de la ecuación (IV.17) se puede hacer de diversas formas. Tres de ellas bien conocidas, y ampliamente utilizadas, son las de Banerjee (Banerjee et al., 1997), Carman-Haul (Carman y Haul, 1954) y Aharoni (Aharoni y Tompkins, 1970; Aharoni y Ungarish, 1976, 1977a,b; Aharoni et al. 1979, Aharoni y Suzin, 1982a,b,c,; Aharoni, 1984), las cuales conducen a coeficientes de difusión (D) cuantitativamente diferentes pero del mismo orden de magnitud. Banerjee considera únicamente el primer término de la sumatoria de la ecuación (IV.17), despreciando el

resto de los términos. Carman y Haul calculan un valor de D a tiempos de difusión pequeños, suponiendo que las partículas son esferas de diámetro medio  $\phi$  (lo que implica que la difusión tiene lugar en dirección radial). Por último, Aharoni considera válido el cálculo de un valor medio del coeficiente de difusión, para tiempos intermedios, suponiendo que, en el caso más general, la representación de  $Z = [1/(d\theta/dt)] = f(t)$  define una línea de forma sigmoidea. Según la forma de esta línea se puede deducir que a tiempos pequeños ( $0 \leq t \leq t_p$ ), cualquier ecuación de difusión se puede reducir a la de una parábola tipo Bangham (Bangham y Burt, 1924; Bangham y Sever, 1925), a otra exponencial (tipo Langmuir) para tiempos grandes ( $t_p < t < \infty$ ), y a una tercera de tipo Elovich (Aharoni y Tompkins, 1970; Aharoni, 1984) para tiempos intermedios.

Dada la naturaleza del trabajo que hemos realizado, y la limitación de los resultados experimentales de que disponemos (número y condiciones de los experimentos), no hemos considerado pertinente realizar los cálculos de coeficientes de difusión y otros relacionados con los mismos.

Se debe tener en cuenta que todo lo dicho acerca de la influencia de la difusión para los procesos de retención puede ser aplicado tanto a los procesos de adsorción neta como a los de desorción neta (y en consecuencia a los de “liberación” del fármaco hacia la fase líquida).

### III.2.1.2.1.2. Equilibrio de Retención (Isotermas $n^s$ vs. $C$ )

#### III.2.1.2.1.2.1. Procesos sencillos de adsorción/desorción

De la ecuación (IV.8) se deduce fácilmente que para un proceso de adsorción/desorción sencillo de las características anteriormente mencionadas, en el equilibrio:

$$n^s = \frac{n_m^s \cdot K_{ci} \cdot C}{1 + K_{ci} \cdot C} \quad (\text{IV.19})$$

ecuación coincidente con la de Langmuir (Langmuir, 1918), en la que  $n^s$  es la cantidad adsorbida por unidad de masa de adsorbente,  $n_m^s$  es la capacidad de retención en la monocapa,  $K_{ci}$  es la constante cinética de equilibrio que viene dada por  $(k_a/k_d)$  y  $C$  es la concentración de fármaco en la disolución en equilibrio con el adsorbente.

Naturalmente, en caso de concurrencia de los dos procesos sencillos de adsorción/desorción anteriormente mencionados:

$$n^s = \sum_{i=1}^{i=2} \frac{n_m^{s(i)} \cdot K_{ci(i)} \cdot C}{1 + K_{ci(i)} \cdot C} \quad (IV.20)$$

#### III.2.1.2.1.2.2. Proceso sencillo de precipitación (adsorción en “multicapa”)

A la vista de la ecuación (IV.9) se deduce que para el proceso sencillo de precipitación:

$$n^s = K_{p/ds} \cdot C^m \quad (IV.21)$$

#### III.2.1.2.1.2.3. Proceso global de retención

En el caso de que el proceso global sea el resultante de los tres procesos sencillos que se vienen considerando, la ley de equilibrio se puede expresar mediante la ecuación:

$$n^s = \sum_{i=1}^{i=2} \frac{n_m^{s(i)} \cdot K_{Ci(i)} \cdot C}{1 + K_{Ci(i)} \cdot C} + K_{p/ds} \cdot C^m \quad (IV.22)$$

### III.2.1.2.2. Modelización del Proceso de Liberación

#### III.2.1.2.2.1. Aspectos teóricos

En consonancia con los planteamientos hechos anteriormente la liberación de un fármaco retenido en un sólido es un proceso de interfase (sólido/líquido) que se puede considerar como de desorción neta y, en consecuencia, inverso al de adsorción neta que se ha expuesto antes. De acuerdo con el modelo de retención/liberación postulado, en el proceso global pueden intervenir hasta tres procesos sencillos de liberación a través de la interfase sólido/líquido. Todos esos procesos sencillos de liberación son de interfase y culminan con el paso del fármaco desde la correspondiente fase sólida (unido a la arcilla) a la líquida en contacto con la misma (medio de disolución), procesos que están regidos en gran medida por difusión debida a gradiente de concentración. Tales procesos sencillos pueden resumirse de la manera siguiente:

- Liberación del fármaco precipitado (o adsorbido en multicapa) en la superficie del adsorbente, si lo hubiera. Dada la naturaleza de esta “fase adsorbida”, como ya se ha dicho, el proceso suele ser rápido, de velocidad muy parecida a la de disolución del fármaco en el medio de liberación.
- Desorción del adsorbido retenido en la superficie externa de las partículas de adsorbente. Proceso que, generalmente, suele ser rápido (aunque menos que el anterior), debido a que, al igual que en el anterior, la influencia de la difusión (a través de la interfase sólido/líquido) es muy limitada.
- Desorción del adsorbido que se encuentra en el espacio interparticular (o bien en el interior de canales y/o de los poros de mayor diámetro de las partículas); proceso que entraña una etapa altamente significativa de difusión en el interior del sólido hasta alcanzar la interfase sólido/disolución (etapa difusiva que se considera la principal condicionante de la cinética de este proceso sencillo), a través de la cual pasa a la fase líquida. Precisamente por esta causa, este proceso sencillo es siempre significativamente más lento que los anteriores.

De esos tres procesos sencillos, en la práctica de la liberación sólo se suelen encontrar los dos últimos, debido a la naturaleza, composición y características de preparación del sólido que contiene el adsorbido. Procesos que, independientemente de que intervenga o no la difusión en el interior del sólido, son procesos de interfase que tienden al equilibrio, por lo que las correspondientes leyes cinéticas son las inversas de las consideradas para la adsorción neta; ecuación (IV.8).

Según lo expresado anteriormente, cabe suponer que los procesos sencillos de liberación neta responden a la siguiente ley cinética:

$$\frac{dC}{dt} = -k_a \cdot C \cdot (1 - \theta) + k_d \cdot \theta \quad (\text{IV.23})$$

ecuación cuya integración conduce a:

$$C_t = C_e \left[ 1 - \exp\left(\frac{-k_d t}{C_e}\right) \right] \quad (\text{IV.24})$$

en la que,  $C_t$  es la concentración de fármaco en el medio (fase de disolución) transcurrido un tiempo  $t$  de liberación,  $C_e$  es la concentración de fármaco en el equilibrio en el medio (fase líquida o de disolución), y  $k_d$  es la velocidad específica de liberación (o desorción).

Muy frecuentemente la ecuación (IV.24) se escribe de la forma:

$$L = \frac{C_t}{C_e} = 1 - \exp\left(\frac{-k_d \cdot t}{C_e}\right) = 1 - \exp\left(\frac{-k_d \cdot t}{L_e}\right) \quad (\text{IV.25})$$

siendo  $L$  la fracción de fármaco liberado a la fase disolución.

Si en el proceso global de liberación concurren dos procesos sencillos (1 y 2) **simultáneos** de desorción neta, la ecuación que define el proceso se puede escribir:

$$L = \frac{C_{e(1)}}{C_{\infty}} \left[ 1 - \exp \left( \frac{-k_{d(1)} \cdot t}{C_{e(1)}} \right) \right] + \frac{C_{e(2)}}{C_{\infty}} \left[ 1 - \exp \left( \frac{-k_{d(2)} \cdot t}{C_{e(2)}} \right) \right] \quad (\text{IV.26})$$

en la que  $C_{\infty} = C_{e(1)} + C_{e(2)}$ . Y si el proceso se refiere a la cantidad total liberada en el equilibrio:  $100 = L_{\infty} = L_{e(1)} + L_{e(2)}$

Y si en el citado proceso global intervienen dos procesos sencillos (1 y 2) **sucesivos** de desorción neta:

$$L = \frac{C_{e(1)}}{C_{\infty}} \left[ 1 - \exp \left( \frac{-k_{d(1)} t}{C_{e(1)}} \right) \right] + \frac{C_{e(2)}}{C_{\infty}} - \frac{(C_{e(2)} - C_i)}{C_{\infty}} \exp \left( \frac{-k_{d(2)} (t - t_i)}{C_{e(2)}} \right) \quad (\text{IV.27})$$



## **IV.2.2. RETENCIÓN DE 5-ASA POR HLC (PUBLICACIÓN 1)**

### **IV.2.2.1. AUTORES Y TÍTULO**

Viseras, M.T., Aguzzi, C., Cerezo, P., Viseras, C. y Valenzuela, C. Equilibrium and Kinetics of 5-Aminosalicylic acid adsorption by Halloysite, *Microporous and Mesoporous Materials* 108, 112–116, 2008.

### **IV.2.2.2. RESUMEN**

El trabajo presentó los resultados correspondientes a los aspectos de equilibrio, cinéticos y termodinámicos de la adsorción de 5-ASA por HLC. El proceso global de adsorción fue explicado de acuerdo con el modelo descrito en el apartado anterior como el resultado de dos procesos separados: una rápida adsorción (con valores de velocidad específica entre 10 y 12.3 s<sup>-1</sup>) en la superficie externa de HLC ( $\Delta H = 7.59$  kJ/g), seguida de una adsorción lenta (velocidades específicas entre 0.2 y 0.4 s<sup>-1</sup>) dentro de los poros de HLC ( $\Delta H = 42.28$  kJ/g).

### **IV.2.2.3. DISCUSIÓN**

Como se ha dicho en el Capítulo II de esta memoria, el objetivo fundamental de la Tesis lo constituye el estudio de la liberación del 5-ASA previamente retenido en una halloysita natural (HLC), lo que se ha denominado producto de interacción. Es obvio que la facilidad de liberación de dicho principio activo viene condicionada por causas diversas, tales como la naturaleza y magnitud de las interacciones entre el 5-ASA y los centros activos de adsorción del sólido, la textura del mismo, así como la solubilidad del 5-ASA en la fase líquida en contacto con el sólido y la temperatura. En consecuencia se ha considerado de interés conocer previamente todo lo posible acerca de la influencia de las causas citadas. Para obtener la mayor información posible al respecto, se ha estimado necesario estudiar el proceso de retención del 5-ASA en disolución acuosa por HLC (lo que, como decíamos en la metodología, se ha efectuado a las temperaturas de 30, 35, 40 y 45 °C,  $\pm 0,1$ ), prestando atención tanto a

los aspectos cinéticos como a los de equilibrio, así como a la caracterización de la fase sólida o producto de interacción (5-ASA-HLC) resultante. Los resultados obtenidos en tales investigaciones se consideran de gran importancia para intentar explicar adecuadamente los encontrados al estudiar el proceso de liberación hacia el medio de disolución (fase líquida) del 5-ASA retenido por el sólido. En concreto, y por cuanto respecta a la retención del fármaco por el soporte se han obtenido los siguientes resultados:

### *Isotermas C vs. t*

Los resultados encontrados en los experimentos de cinética de retención se han incluido en la Tabla IV.V., se han representado en la forma C vs t en la Figura 1 del trabajo (Publicación 1), en la que las líneas corresponden a las que resultan del ajuste de los resultados experimentales al modelo postulado.

**Tabla IV.V.** Adsorción de 5-ASA en disolución acuosa por halloisita HLC

| t (horas) | C (ppm)   |           |           |           |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|           | T = 30° C | T = 35° C | T = 40° C | T = 45° C |
| 0,00      | 225,00    | 225,00    | 225,00    | 225,00    |
| 0,16      | 211,26    | 211,66    | 212,09    | 212,92    |
| 0,33      | 206,86    | 208,00    | 208,80    | 209,63    |
| 0,50      | 206,03    | 206,70    | 207,20    | 207,68    |
| 1,00      | 203,50    | 203,08    | 203,78    | 204,31    |
| 1,50      | 201,81    | 201,90    | 202,00    | 202,10    |
| 2,00      | 200,27    | 200,00    | 200,37    | 201,30    |
| 2,50      | 199,45    | 199,20    | 199,81    | 199,88    |
| 3,00      | 198,27    | 197,90    | 198,60    | 199,39    |
| 4,00      | 196,28    | 196,98    | 197,44    | 197,97    |
| 5,00      | 195,05    | 195,40    | 196,59    | 196,78    |
| 6,00      | 194,24    | 195,02    | 195,69    | 196,12    |
| 7,00      | 193,33    | 193,72    | 194,47    | 195,63    |
| 9,00      | 192,01    | 192,50    | 193,34    | 194,93    |
| 13,00     | 190,20    | 191,20    | 191,96    | 193,52    |
| 15,00     | 189,62    | 190,20    | 191,95    | 193,00    |
| 17,00     | 189,03    | 189,69    | 191,60    | 193,00    |
| 19,00     | 188,35    | 189,50    | 191,39    | 192,87    |
| 21,00     | 188,06    | 189,40    | 190,79    | 192,74    |
| 23,00     | 188,03    | 189,10    | 190,90    | 192,62    |

Con el único objeto de comprobar, en lo posible, que en el proceso global de retención intervienen los dos procesos sencillos de adsorción que se han postulado, se ha procedido, en primer lugar al ajuste de los resultados experimentales ( $C, t$ ) a la ecuación (IV.10) que implica la intervención de uno solo de los procesos sencillos de adsorción/desorción mencionados. Los resultados encontrados (con valores de  $R^2$  que varían entre 0,9392 y 0,9760) muestran mala correlación entre los resultados experimentales y la mejor isoterma  $C = f(t)$  definida por los mismos. Sin embargo, cuando se ajustan los resultados experimentales a la ecuación (IV.12) se llega a resultados que consideramos adecuados para una buena correlación; dicho resultados de ajuste se incluyen en la Tabla IV.VI.

Tabla IV.VI. Valores de los parámetros de la ecuación (IV.12). Sistema: 5-ASA en disolución acuosa/HLC.

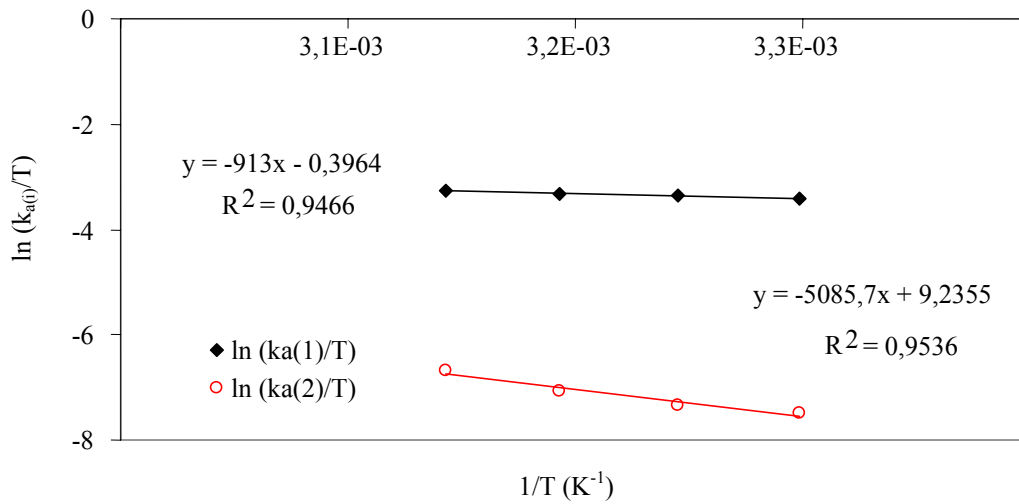
| T (°C) | $k_{a(1)} (h^{-1})$ | $a_{(1)} \cdot 10^2$ | $k_{a(2)} (h^{-1})$ | $a_{(2)} \cdot 10^2$ | $R^2$  |
|--------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|--------|
| 30     | - 10,040            | 4,972                | - 0,170             | 4,607                | 0,9992 |
| 35     | - 10,813            | 4,992                | - 0,201             | 5,115                | 0,9994 |
| 40     | - 11,179            | 5,317                | - 0,267             | 5,544                | 0,9994 |
| 45     | - 12,270            | 6,081                | -0,398              | 5,561                | 0,9993 |

A la vista de la Tabla IV.VI. se puede sugerir que, como se había postulado, en el proceso global de adsorción neta parecen intervenir dos procesos sencillos de adsorción/desorción; uno más rápido (que, en principio se puede asignar a la adsorción del 5-ASA en la superficie más externa del sólido) y otro mucho más lento, asignable a la adsorción del 5-ASA en el interior de los tubos y/o macroporos (intra e interparticulares) de HLC. En ambos, como es normal, la velocidad específica del proceso ( $k_{a(i)}$ ) aumenta con la temperatura.

A título de ejemplo, en la publicación 1 (Figura 2) se incluye la isoterma  $C$  vs.  $t$  correspondiente al experimento de adsorción realizado a 30° C. En ella, junto con los resultados experimentales se incluyen las isotermas de los dos procesos sencillos, así como del proceso global de adsorción neta. A la vista de la figura quizás alguien pudiera pensar, en principio, que en el equilibrio, el denominado “proceso uno” (el más rápido) condujera a una mayor cantidad ( $n^s$ ) de 5-ASA adsorbida por unidad de masa de adsorbente, que aquella a la que conduce el “proceso dos”. Sin embargo,

ello no es así, pues cuando se calculan los valores de la concentración de equilibrio se observa (en el sistema que hemos estudiado) que los valores calculados para las concentraciones límites (ideales) de equilibrio son prácticamente iguales en los dos “procesos sencillos” (y algo inferiores en el caso del “segundo”). El que los valores de las concentraciones límites ideales sean “iguales” sugiere que, posiblemente los valores de  $n_{m(i)}^s$  de ambos procesos sencillos sean del mismo orden de magnitud, pero no que lo sean también los valores de  $n^s$  experimentales para todos los valores de  $C/C_0$  de la isoterma de equilibrio; pues a la vista de la figura (y de los correspondientes valores de  $k_{a(i)}$ ) es muy probable que el proceso de equilibrio venga influido por condicionamientos cinéticos, de manera que, en la práctica, para un mismo valor de  $C/C_0$  el de  $n^s$  experimental sea mucho más bajo para el “proceso dos”.

De acuerdo con lo previsto por la teoría del estado de transición en régimen permanente, a partir de los valores de  $k_{a(i)}$  se han calculado los de las correspondientes funciones termodinámicas de activación, para lo cual dichos valores se han representado en la forma  $\ln(k_{a(i)}/T)$  vs  $(1/T)$ , representación que aparece en la Figura IV.12. Dichas funciones termodinámicas de activación toman los valores que se indican en la Tabla 2 de la publicación 1. A la vista de los resultados, se puede deducir que el proceso de formación del “complejo activado” a través del cual se produce la adsorción transcurre en régimen endotérmico y endoentrópico, como cabía esperar; asimismo se aprecia que la facilidad de formación, y estabilidad relativa del citado “complejo activado” aumenta con la temperatura. Las diferencias entre los valores de  $\Delta H_2^*$  y  $\Delta S_2^*$ , respecto a los del “proceso uno (más rápido)” son coherentes con la hipótesis de difusión del adsorbido (en el “proceso dos”) al interior de los poros y/o canales del adsorbente.



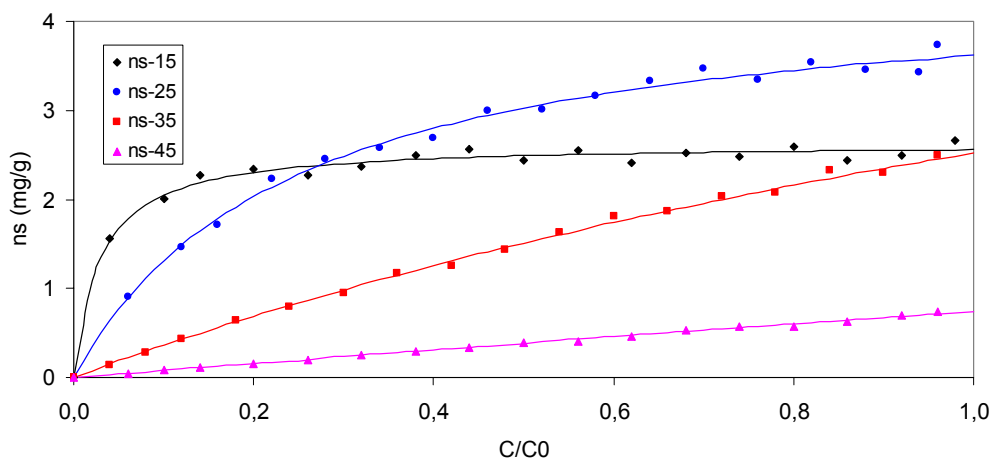
**Fig. IV.12.** Variación con la temperatura de las velocidades específicas de los procesos “sencillos” de adsorción. Sistema HLC/disolución acuosa de 5-ASA.

#### *Isotermas $n^s$ vs. $C/C_0$*

Los experimentos de equilibrio de adsorción de 5-ASA en disolución acuosa por HLC, a las temperaturas de 15, 25, 35 y 45 °C ( $\pm 0,1$  °C, en todos los casos) han conducido a los resultados que se indican en la Tabla IV.VIII. Dichos resultados han sido representados, de manera conjunta, en la Figura IV.13.

**Tabla IV.VIII.** Valores de  $n^s$  y  $C/C_0$  para cada una de las temperaturas de los ensayos de equilibrio.

| $C/C_0$ | $n^s$ (15 °C) | $C/C_0$ | $n^s$ (25 °C) | $C/C_0$ | $n^s$ (35 °C) | $C/C_0$ | $n^s$ (45 °C) |
|---------|---------------|---------|---------------|---------|---------------|---------|---------------|
| 0       | 0             | 0       | 0             | 0       | 0             | 0       | 0             |
| 0,04    | 1,563         | 0,06    | 0,911         | 0,04    | 0,141         | 0,06    | 0,048         |
| 0,10    | 2,004         | 0,12    | 1,459         | 0,08    | 0,283         | 0,1     | 0,077         |
| 0,14    | 2,272         | 0,16    | 1,717         | 0,12    | 0,434         | 0,14    | 0,114         |
| 0,20    | 2,347         | 0,22    | 2,225         | 0,18    | 0,646         | 0,2     | 0,149         |
| 0,26    | 2,275         | 0,28    | 2,458         | 0,24    | 0,790         | 0,26    | 0,198         |
| 0,32    | 2,367         | 0,34    | 2,572         | 0,30    | 0,943         | 0,32    | 0,252         |
| 0,38    | 2,495         | 0,40    | 2,688         | 0,36    | 1,172         | 0,38    | 0,2927        |
| 0,44    | 2,569         | 0,46    | 3,003         | 0,42    | 1,256         | 0,44    | 0,331         |
| 0,50    | 2,438         | 0,52    | 3,005         | 0,48    | 1,43          | 0,5     | 0,39          |
| 0,56    | 2,553         | 0,58    | 3,17          | 0,54    | 1,636         | 0,56    | 0,41          |
| 0,62    | 2,414         | 0,64    | 3,325         | 0,60    | 1,811         | 0,62    | 0,462         |
| 0,68    | 2,525         | 0,70    | 3,472         | 0,66    | 1,873         | 0,68    | 0,535         |
| 0,74    | 2,482         | 0,76    | 3,34          | 0,72    | 2,04          | 0,74    | 0,57          |
| 0,80    | 2,591         | 0,82    | 3,538         | 0,78    | 2,078         | 0,8     | 0,578         |
| 0,86    | 2,444         | 0,88    | 3,454         | 0,84    | 2,324         | 0,86    | 0,6318        |
| 0,92    | 2,5           | 0,94    | 3,431         | 0,90    | 2,299         | 0,92    | 0,701         |
| 0,98    | 2,658         | 0,96    | 3,732         | 0,96    | 2,501         | 0,96    | 0,744         |

**Fig. IV.13.** Isotermas de equilibrio de adsorción a distintas temperaturas. Sistema HLC/disolución acuosa de 5-ASA.

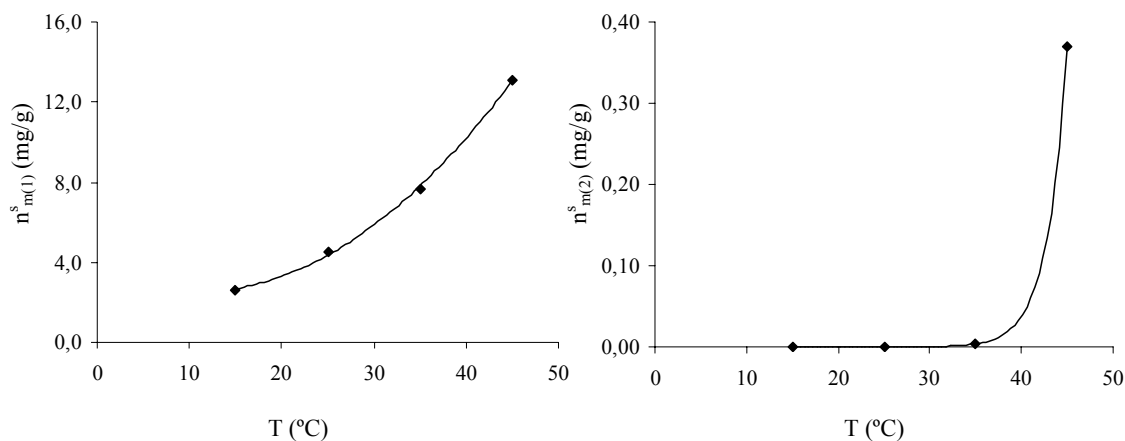
A primera vista, la disposición relativa de las isotermas de equilibrio representadas en la Figura IV.13, no sugieren ninguna pauta razonable de la variación con la temperatura por parte del sistema objeto de estudio. No obstante, teniendo en cuenta que el equilibrio debe ser consecuente con la cinética del proceso, se optó por estudiar cada una de la isotermas mediante el modelo de desorción postulado, lo cual

nos suministró una información razonable, y una secuencia “lógica” de la variación de los valores de los parámetros “constantes” de la ecuación (IV.20).

El correspondiente ajuste de los resultados experimentales a la ecuación (IV.20) ha conducido a los valores (de los distintos parámetros de la ecuación) que se indican en la Tabla IV.IX., en la que se observa que los valores de la capacidad de adsorción ( $n_{m(i)}^s$ ) son mucho menores para el “segundo proceso sencillo” que para el primero; y que, en ambos aumentan con la temperatura, de manera aproximadamente exponencial (Figura IV.14.), lo que sugiere que en una situación límite ideal, los centros activos del adsorbente accesibles al adsorbido aumentan con la temperatura.

**Tabla IV.IX.** Ajuste de los resultados experimentales de adsorción de 5-ASA en disolución acuosa por HLC a la ecuación (IV.20). Valores de los parámetros “constantes” de dicha ecuación.

| T (°C) | $n_{m(1)}^s$ (mg/g) | $K_{ci(1)}$           | $n_{m(2)}^s$ (mg/g)   | $K_{ci(2)}$           | $R^2$  |
|--------|---------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------|
| 15     | 2,631               | $3,396 \cdot 10^{-1}$ | $4,268 \cdot 10^{-7}$ | $4,057 \cdot 10^{-4}$ | 0,9879 |
| 25     | 4,493               | $4,024 \cdot 10^{-2}$ | $4,047 \cdot 10^{-5}$ | $4,970 \cdot 10^{-4}$ | 0,9936 |
| 35     | 7,671               | $4,768 \cdot 10^{-3}$ | $3,837 \cdot 10^{-3}$ | $6,088 \cdot 10^{-4}$ | 0,9977 |
| 45     | 13,100              | $5,649 \cdot 10^{-4}$ | $3,693 \cdot 10^{-1}$ | $7,458 \cdot 10^{-4}$ | 0,9973 |

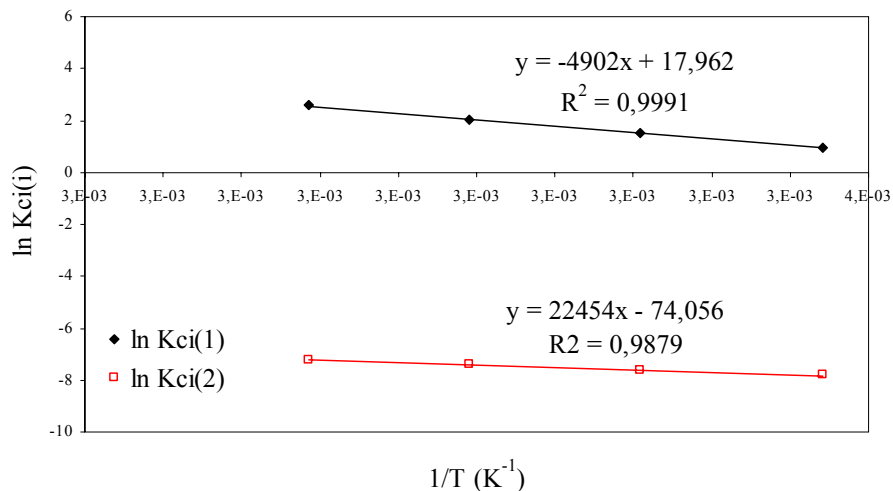


**Fig. IV.14.** Variación de  $n_{m(i)}^s$  vs. T. Sistema HLC/disolución acuosa de 5-ASA.

El que los valores de  $n_{m(1)}^s$  sean muy superiores a los de  $n_{m(2)}^s$  no parece coherente con lo dicho anteriormente al analizar las isotermas cinéticas (C vs. t) experimentales. Si embargo no se debe olvidar que  $n^s$  (y también  $n_m^s$ ) dependen no sólo de la naturaleza del sistema que se estudia sino también de las condiciones en que ello se hace (especialmente las de temperatura y concentración de adsorbible en

la fase líquida); sin descartar que (en el caso que nos ocupa) la mayor influencia de la difusión en el proceso “dos” haga que los resultados experimentales considerados de equilibrio en realidad no sean tales (sino de “equilibrio aparente”), hipótesis que parece coherente con el hecho de que las diferencias entre  $n_{m(1)}^s$  y  $n_{m(2)}^s$  se vayan mitigando a medida que aumenta la temperatura, puesto que ello favorece la difusión (véase la ecuación IV.15).

En cuanto a los valores de  $K_{ci(1)}$  (“proceso sencillo uno”) se refiere (véase la Tabla IV.IX.), se aprecia que decrecen a medida que aumenta la temperatura, lo que sugiere que el mismo transcurre en régimen exotérmico (véase la Figura IV.15.). Sin embargo, los valores de  $K_{ci(2)}$  aumentan con la temperatura, como corresponde a los procesos endotérmicos; a 45 °C el valor de  $K_{ci(2)}$  supera al de  $K_{ci(1)}$ . Esta diferencia de comportamiento es compatible con la asignación del “proceso dos” a la adsorción del 5-ASA en el interior de los tubos de HLC, y con el condicionamiento primordial de este último por la difusión.



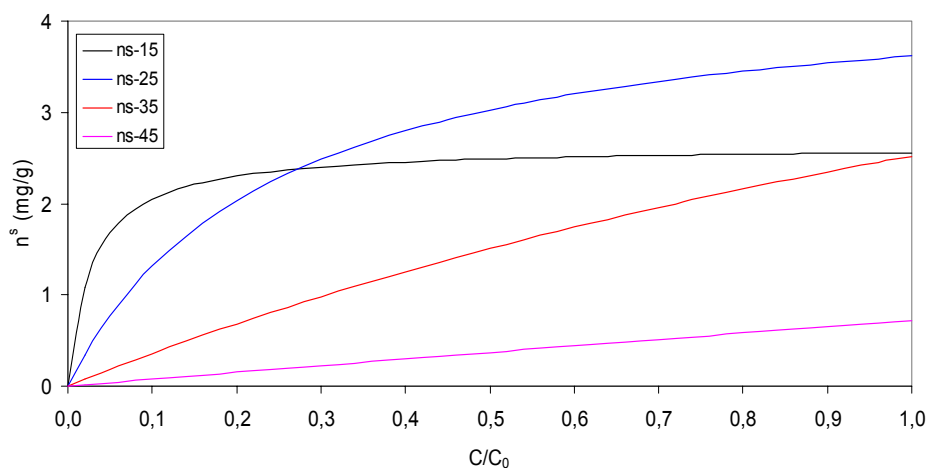
**Fig. IV.15.** Sistema 5-ASA en disolución acuosa / HLC. Variación de  $K_{ci(i)}$  vs. T.

A la vista de los valores de  $n_{m(i)}^s$  y de  $K_{ci(i)}$  ya a priori se puede sugerir que (en las condiciones en que se ha operado) la contribución del “proceso dos” al proceso global es poco significativo en la práctica, de manera que la isoterma global debe ser muy parecida a la del “proceso sencillo uno” (como en realidad ocurre). Por otra parte, el hecho de que los valores de  $n_{m(1)}^s$  aumenten considerablemente con la

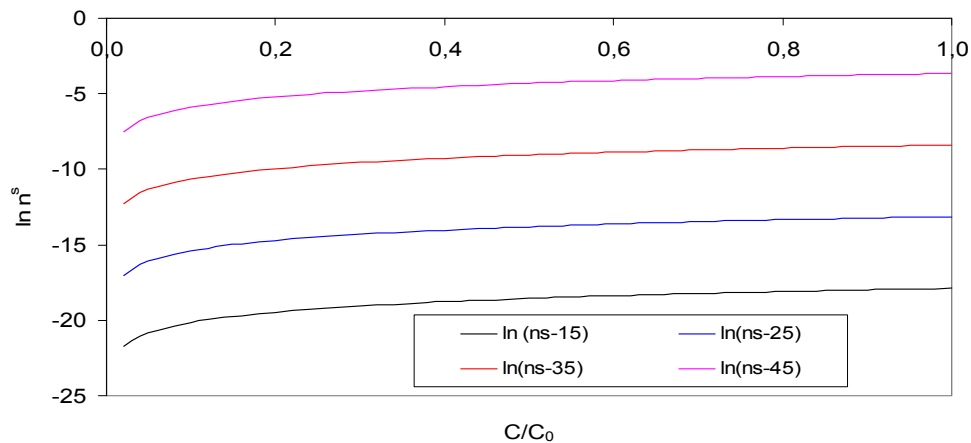


temperatura, y que los de  $K_{ci(1)}$  disminuyan exponencialmente con la misma justifican tanto la diferencia de forma de las isothermas experimentales de equilibrio ( $n^s$  vs.  $C/C_0$ ) como la secuencia de ordenación de las mismas.

La utilización de los valores que se incluyen en la Tabla IV.IX, así como la citada ecuación (IV.20) ha permitido dibujar las líneas continuas (isothermas) de la Figura IV.13., así como las que aparecen en las Figuras IV.16. y IV.17. (en esta última, asignada al proceso “dos”, se han representado los valores de  $\ln n^s$  vs.  $C/C_0$ , pues la enorme diferencia de los valores de  $n^s$  calculados para las distintas temperaturas hace inútil la de  $n^s$  vs.  $C/C_0$ ; para  $C/C_0 = 0,02$  los valores calculados de  $n^s$  son, aproximadamente, de  $3,55 \cdot 10^{-10}$ , para  $T = 15 \text{ }^\circ\text{C}$  y de  $5,56 \cdot 10^{-4}$  para  $T = 45 \text{ }^\circ\text{C}$  ).



**Fig. IV.16.** Isothermas de equilibrio calculadas para el proceso sencillo “uno” de adsorción. Sistema HLC/disolución acuosa de 5-ASA.



**Fig. IV.17.** Isothermas de equilibrio calculadas para el proceso sencillo “dos” de adsorción. Sistema HLC/ disolución acuosa de 5-ASA.

En consecuencia, con una aproximación razonable, los resultados experimentales se puedan analizar, sin temor a errores considerables, como debidos a un solo proceso sencillo. Cuando se hace así se obtienen, para los parámetros de ajuste a la ecuación (IV.19), los valores que se incluyen en la Tabla IV.X., en la que se puede apreciar que los valores de  $n_m^s$  son (al menos a las tres temperaturas más bajas) muy próximos a los valores de la suma de los  $n_{m(i)}^s$  encontrados al considerar los dos procesos sencillos; y que, asimismo, los de  $R^2$  son idénticos a los de la tabla anterior. Si no se dispusiera de los resultados de la cinética de adsorción (ya expuestos antes) ni de liberación del adsorbido (lo que se tratará en apartados posteriores), y los resultados de equilibrio se analizaran sin esa información, lógicamente se postularía que el proceso de adsorción transcurre según el proceso sencillo definido por la ecuación (IV.19), ya que, como se ha visto, en las condiciones en que se ha trabajado, el denominado “proceso dos” queda, prácticamente enmascarado” por el denominado “proceso uno” (todo esta reflexión está recogida en la Publicación 1).

**Tabla IV.X.** Ajuste de los resultados experimentales de adsorción de 5-ASA en disolución acuosa por HLC. Valores de los parámetros de la ecuación (IV.19).

| T (°C) | $n_{m(1)}^s$ (mg/g) | $K_{ci(1)}$ | $R^2$  |
|--------|---------------------|-------------|--------|
| 15     | 2,617               | 36,935      | 0,9879 |
| 25     | 4,521               | 4,057       | 0,9936 |
| 35     | 8,231               | 0,449       | 0,9977 |
| 45     | 51,631              | 0,015       | 0,9973 |

Si se dispusiera de los valores de la constante termodinámica de equilibrio ( $K \neq K_{ci}$ ), siempre y cuando  $\Delta H^0$  y  $\Delta S^0$  se mantuvieran constantes dentro del intervalo de temperaturas de trabajo, se podrían calcular los valores “normales” de la entalpía de adsorción ( $\Delta H^0$ ) y de la entropía de adsorción ( $\Delta S^0$ ), referidas a cada uno de los procesos sencillos considerados. Para ello bastaría representar  $\ln K$  vs.  $(1/T)$  y, a partir de las pendientes y ordenadas en el origen de las líneas rectas que se definen se podrían calcular fácilmente los valores de las funciones termodinámicas mencionadas; dado que (Díaz Peña y Roig Muntaner, 1975):

$$K = \exp(-\Delta G^0 / RT) = \exp(\Delta S^0 / R) \cdot \exp(-\Delta H^0 / RT) \quad (IV.23)$$

$$\ln K = \frac{\Delta S^0}{R} - \frac{\Delta H^0}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (IV.24)$$

Los valores de  $K$  se podrían calcular por el método de Gaines-Thomas (Gaines y Thomas, 1953) modificado para los procesos de adsorción (Valenzuela et al., 2002, 2004, 2007). Lo laborioso del proceso y el limitado interés que estos resultados tendrían para el objetivo final de nuestro trabajo (fundamentalmente el estudio del proceso de liberación) nos ha llevado a omitir tales cálculos.

Obviamente, los valores de  $K_{ci}$  carecen de valor termodinámico. Sin embargo, a menudo se utilizan (como los de  $K$ ), para obtener, con fines comparativos, una información de carácter cualitativo de los valores de  $\Delta H^0$  y menos frecuentemente los de  $\Delta S^0$  (Publicación 1, Valenzuela et al., 2002, 2004). Como se puede observar en nuestro caso, las representaciones de  $\ln K_{ci(i)}$  vs  $1/T$  definen líneas rectas (véase la Figura IV.15.) de las que se podrían calcular fácilmente esos “valores cualitativos y orientativos” de  $\Delta H^0$ .

# Equilibrium and kinetics of 5-aminosalicylic acid adsorption by halloysite

M.T. Viseras<sup>a</sup>, C. Aguzzi<sup>a</sup>, P. Cerezo<sup>a</sup>, C. Viseras<sup>a,\*</sup>, C. Valenzuela<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Campus Universitario de Cartuja s/n, E-18071 Granada, Spain

<sup>b</sup> Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Campus Universitario de Cartuja s/n, E-18071 Granada, Spain

Received 7 November 2006; received in revised form 14 March 2007; accepted 15 March 2007

Available online 31 March 2007

## Abstract

This paper investigates equilibrium, kinetics and thermodynamic aspects of the adsorption of 5-amino salicylic acid [5-ASA], an anti-inflammatory agent, onto halloysite, a mesoporous polymorph of kaolin appearing as hollow nanotubes with diameters typically smaller than 100 nm and lengths ranging from 500 nm to over 1  $\mu\text{m}$ . Kinetic and equilibrium studies were performed in aqueous medium at different temperatures and drug concentrations. The amounts of 5-ASA retained by the clay was evaluated by UV spectroscopy. Mathematical treatment of the data was performed following Valenzuela et al. [C. Valenzuela-Calahorra, A. Navarrete-Guijosa, M. Stitou, E. Cuerda-Correa, Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects 224 (2003) 135–147], and thermodynamic parameters were then calculated by using the Eyring equation. The overall adsorption process of 5-ASA onto halloysite was explained as the result of two separate processes. Initial rapid adsorption of 5-ASA (specific adsorption rates between 10.0 and 12.3  $\text{s}^{-1}$ ) on the external halloysite surface ( $\Delta H = 7.59 \text{ kJ/g}$ ) was followed by slow adsorption (specific adsorption rates between 0.2 and 0.4  $\text{s}^{-1}$ ) of the drug inside the phyllosilicate pores ( $\Delta H = 42.28 \text{ kJ/g}$ ). Adsorption experiments showed that promising delivery systems may be designed by supporting 5-ASA onto halloysite.

© 2007 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** 5-Aminosalicylic acid; Halloysite; Adsorption; Equilibrium; Kinetics

## 1. Introduction

Entrapping of drug molecules in micro- and nanoparticulate systems is a helpful strategy for protecting drugs against chemical and enzymatic degradation, enhancing aqueous solubility, reducing dissolution rate and/or targeting drug release. Among the possible entrapping nanomaterials, clay minerals provide spontaneous submicron dispersions in aqueous media, resulting in low cost and biocompatible systems, with large surface area and high inclusion capacity [2]. In particular, halloysite, a polymorph of kaolin with a hollow microtubular structure [3], has been recently proposed as a natural vehicle for microencapsulation and controlled

release of both hydrophilic and lipophilic drugs [4,5]. Moreover, the adsorption of macromolecules of opposite charge, including proteins, clays and poly-ions, has been proposed for the preparation of immobilisation vehicles, characterised by their capacity to guarantee the biological activity of immobilised enzymes [6,7].

5-Aminosalicylic acid [5-ASA] is an anti-inflammatory drug used in the treatment of ulcerative colitis and Crohn's disease, which are recurrent, idiopathic inflammatory disorders involving the mucosa and sub-mucosa of the colon, for whose treatment it is important to deliver the drug to the large intestine [7,8]. However, 5-ASA is rapidly absorbed in the small intestine, and there is little localization of the drug in the colon [9]. Consequently, there have been several approaches to obtaining colon targeted drug delivery systems with 5-ASA [10–15].

\* Corresponding author. Tel.: +34 58 249551; fax: +34 58 248958.  
E-mail address: [cviseras@platon.ugr.es](mailto:cviseras@platon.ugr.es) (C. Viseras).

With the aim to develop a modified release system based on drug–clay chemical interactions, the kinetics and equilibrium features of the system must be examined to determine the nature and degree of the interactions between the clay surface and the drug molecules [16–18]. In this work, the equilibrium and kinetic results of halloysite/5-ASA water systems were investigated, as a necessary study prior to development of the interaction products useful in the preparation of colon targeted release systems.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

5-ASA (analytical grade) was purchased from Sigma Aldrich (Madrid, S). The physico-chemical properties of 5-ASA are shown in Table 1 [19]

Non-commercial halloysite from Spain (HLC) was milled (Ika®-Werke mill M20, GMBH & Co. KG, G) and sieved (125–250 µm). After sieving, samples were oven dried at 60 °C until constant weight was reached (mass variation in 24 h less than 0.01%), in order to remove hydration water without modifying the composition of the active surface sites.

### 2.2. Sorption studies

#### 2.2.1. Kinetic studies

Sorption kinetic experiments were carried out by suspending 5 g (Ab204-s, Mettler-Toledo®, USA;  $d = 0.1$  mg) of HLC in 500 mL of drug aqueous solution ( $C_0$ , 225 ppm). Suspensions were mixed for 24 h in a Sotax® dissolution system (AT7, Barcelona, S) equipped with USP apparatus II. Assays were performed at 100 rpm and four different temperatures (30°, 35°, 40° and 45 °C ± 0.5 °C). At fixed times, samples were withdrawn by means of a peristaltic pump (Sotax, Barcelona, S) and residual drug concentration ( $C$ ) was determined by UV spectroscopy at 297 nm (Perkin Elmer®, Lambda 25). The retained drug concentrations were calculated as the difference between initial ( $C_0$ ) and residual ( $C$ ) drug concentrations. Kinetic isotherms were obtained by plotting the retained drug concentration (mg/L) vs time.

Table 1  
Physico-chemical properties of 5-ASA

|   |   |
|---|---|
| Formulae  | $C_7H_7NO_3$  |
| Molecular weight ( $g\ mol^{-1}$ )                        | 153.14  |
| Melting point (°C)  | 280°  |
| Dissociation constants (pKa, 25 °C)                       | 3.0 (–COOH)<br>6.0 (–NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )<br>13.9 (–OH) |
| Solubility in water (mg/ml)                               |   |
| 25 °C   | 0.844   |
| 37 °C   | 1.41  |
| Non-hygroscopic (under ordinary environmental conditions) |   |
| White to pink crystals                                    |   |

#### 2.2.2. Equilibrium studies

Equilibrium studies were performed as follow: 0.250 g of halloysite and 25 mL of 5-ASA aqueous solution with increasing initial concentrations ( $C_0$ ) from 0–200 ppm were placed in Pyrex™ glass 25 mL flasks. The flasks were shaken in a thermostatted bath (150 rpm) at different temperatures (25°, 35° and 45° ± 0,1 °C) for a week. This period of time was long enough to ensure that equilibrium was reached between adsorbed 5-ASA and 5-ASA in solution. After shaking, the equilibrium concentration ( $C$ ) of 5-ASA in supernatant liquid was determined by UV spectroscopy at 297 nm. The difference between the initial ( $C_0$ ) and final ( $C$ ) drug concentrations was assumed to be due to adsorption of drug by the clay, allowing calculation of the amount of 5-ASA retained per gram of adsorbent. Blanks containing no 5-ASA were used for each series of experiments and three replicates were analyzed at each concentration of 5-ASA.

## 3. Results

### 3.1. Sorption kinetic studies

The kinetic isotherms of the adsorption of 5-ASA onto HLC at different temperatures are shown in Fig. 1. In Fig. 2, individual and overall isotherms “ $C$  vs  $t$ ” at 30 °C are given, as an example of the obtained results. As observed, the first process (rapid adsorption) leads to a greater amount of 5-ASA adsorbed at the equilibrium than the second one.

### 3.2. Sorption equilibrium studies

The equilibrium isotherm of 5-ASA and halloysite is plotted as  $n^s$  vs  $C/C_0$  in Fig. 3. Such an isotherm is satisfactorily defined in the range  $0 \leq C/C_0 \leq 1$ . A global observation of the figure suggests that the equilibrium isotherms might be included in the S-type of the Giles classification [20], indicating a low relative affinity of HLC for 5-ASA

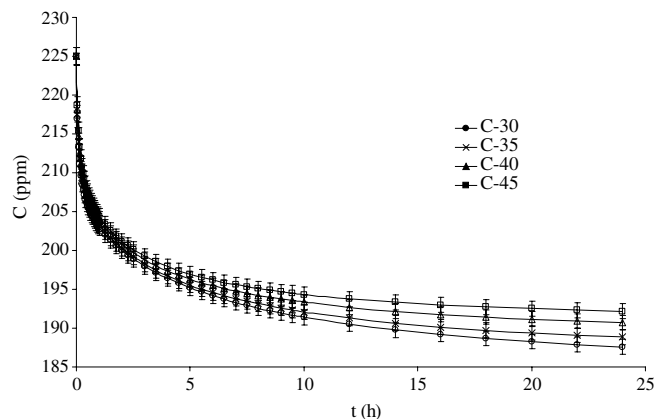


Fig. 1. Kinetic isotherms of 5-ASA and HLC at different temperatures.

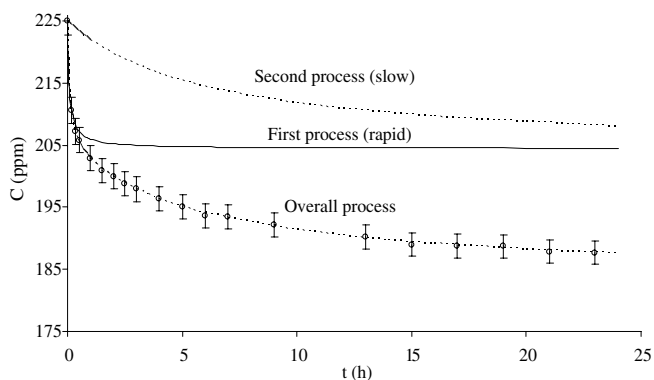


Fig. 2. Individual and overall kinetic isotherms of 5-ASA and HLC at 30 °C.

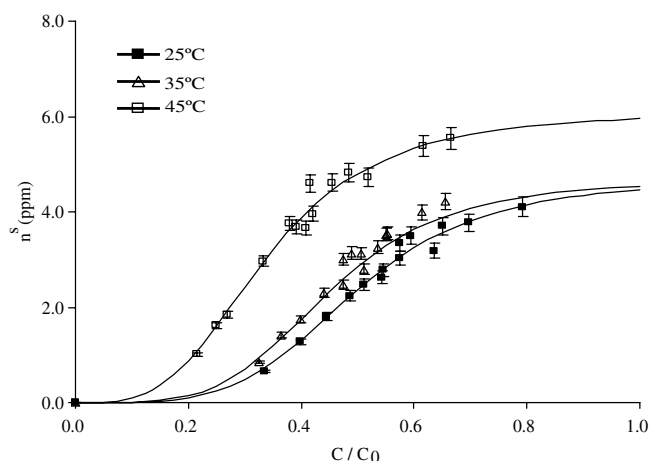


Fig. 3. Equilibrium isotherms of 5-ASA and HLC at different temperatures.

and vice versa. However, all these assertions require clarification and justification.

## 4. Discussion

### 4.1. Sorption kinetic studies

In calculating the specific adsorption rate, the overall process of adsorption, by which the 5-ASA in solution (adsorbable solute;  $A_{(dis)}$ ) is retained by the clay (solid sorbent;  $S_{(s)}$ ) to obtain the corresponding solid interaction product ( $S - A_{(s)}$ ), could be considered the result of two separate processes:

1. Rapid adsorption of 5-ASA on the external surface of individual HLC particles or aggregates.
2. Slow adsorption of 5-ASA inside the pores of HLC particles (intraparticular) or aggregates (interparticular).

The processes may be considered reversible adsorption-desorption steps, defined as



Obeying the following kinetic law:

$$-\frac{dC}{dt} = k_a \cdot C^n \cdot (1 - \theta) - k_d \cdot \theta \quad (2)$$

where  $C$  is the sorbate concentration in solution,  $k_a$  the specific adsorption rate,  $k_d$  the specific desorption rate,  $\theta$  the fraction of surface active sites in the sorbent occupied by the sorbate, and  $n$  the partial reaction order in  $C$ .

Assuming that  $\theta = 1$  at equilibrium, for each single processes with partial order  $n = 1$  in  $C$ , integration of the kinetic law (Eq. (2)) yields

$$C = C_0 - \frac{k_a \cdot t}{a \cdot (k_a \cdot t - 1)} \quad (3)$$

where  $C_0$  is the initial sorbate concentration in solution,  $t$  is the time, and “ $a$ ” is a constant for the experimental system concerned, given by

$$a = \frac{V}{1000 \cdot m \cdot n_m^s} \quad (4)$$

where  $V$  is the volume of drug solution,  $m$  the mass of solid sorbent, and  $n_m^s$  is the retention capacity of the clay (ppm/g) at equilibrium, as calculated following Valenzuela et al. [1].

If the two separate processes happen simultaneously, the resulting equation would be

$$C = C_0 - \sum_{i=1}^{i=2} \frac{k_{a(i)} \cdot t}{a_{(i)} \cdot (k_{a(i)} \cdot t - 1)} \quad (5)$$

Finally, a third adsorption process is possible, which would occur when the active sites in the external and inter or intraparticular HLC surfaces is occupied by drug molecules. Precipitation of new molecules would occur over the first monolayer, with energies on the order of those presented in the crystallized drug. The corresponding kinetic law would be

$$-\frac{dC}{dt} = k_1 \cdot C^m - k_2 \cdot \theta \quad (6)$$

where  $k_1$  and  $k_2$  are the specific adsorption and desorption rates, respectively,  $C$  is the sorbate concentration in solution,  $m$  the partial reaction order in  $C$ , and  $\theta$  the fraction of surface active sites in the sorbent occupied by the sorbate.

In the case of a process with partial order  $m = 1$  in  $C$ , the kinetic law (6) becomes

$$\log[a - b \cdot C] = -b \cdot t \quad (7)$$

where

$$C = \frac{a - e^{-c \cdot t}}{b} \quad (8)$$

where  $a$ ,  $b$  and  $c$ , are constant given respectively by

$$a = \frac{V}{1000 \cdot m \cdot n_m^s} \quad (4)$$

Table 2  
Specific adsorption rate ( $k_a$ ) and thermodynamic functions for the 5-ASA/HLC interaction

| $T$ (K) | $k_a$ ( $s^{-1}$ ) |                  | $\Delta H$ (kJ/g) |                  | $\Delta S$ (kJ/K g) |                  | $\Delta G$ (kJ/g) |                  | $R^2$   |         |
|---------|--------------------|------------------|-------------------|------------------|---------------------|------------------|-------------------|------------------|---------|---------|
|         | $k_{a1}$           | $k_{a2}$         | $\Delta H_1$      | $\Delta H_2$     | $\Delta S_1$        | $\Delta S_2$     | $\Delta G_1$      | $\Delta G_2$     | $R_1^2$ | $R_2^2$ |
| 303     | $-10.04 \pm 0.20$  | $-0.17 \pm 0.00$ | $7.59 \pm 0.05$   | $42.28 \pm 0.13$ | $-0.20 \pm 0.00$    | $-0.12 \pm 0.00$ | $68.19 \pm 0.32$  | $78.64 \pm 0.57$ | 0.9466  | 0.9536  |
| 308     | $-10.81 \pm 0.22$  | $-0.20 \pm 0.00$ |                   |                  |                     |                  | $69.19 \pm 0.38$  | $79.24 \pm 0.58$ |         |         |
| 313     | $-11.18 \pm 0.14$  | $-0.27 \pm 0.01$ |                   |                  |                     |                  | $70.19 \pm 0.41$  | $79.84 \pm 0.60$ |         |         |
| 318     | $-12.27 \pm 0.23$  | $-0.40 \pm 0.02$ |                   |                  |                     |                  | $71.19 \pm 0.32$  | $80.44 \pm 0.61$ |         |         |

$$b = k_1 + \frac{k_1 \cdot C_e^m}{\theta_e} \cdot a \quad (9)$$

$$c = 2.3026 \cdot b \quad (10)$$

However, this last process would only be relevant at high drug concentrations. In the initial phase (and at low drug concentrations, as is our case) the contribution of this process is not significant.

#### 4.1.1. Specific rate constant and thermodynamic activation functions

Eq. (3) is used to calculate the specific adsorption constant of the single processes 1 ( $k_{a1}$ ), and 2 ( $k_{a2}$ ) (Table 2). These values were then used to derive the thermodynamic activation functions ( $\Delta H$  and  $\Delta S$ ) of each process (Table 2). To this end, the following equation based on Eyring's theory of the transition state was used, following [1]:

$$\ln \frac{k}{T} = \ln \frac{R}{N \cdot h} + \frac{\Delta S^*}{R} - \frac{\Delta H^*}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (11)$$

( $R$  = gas constant,  $N$  = Avogadro's number,  $h$  = Planck's constant, and  $T$  = temp (K)).

In order to determine the  $\Delta H$  and the  $\Delta S$  values, the Eyring equation was linearized by plotting  $\ln(k/T)$  vs ( $1/T$ ). The calculated values are given in Table 2, which also includes  $\Delta G$  (activation energy) values (calculated from the expression  $\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$ ).

As expected, the  $\Delta H$  of both processes was positive indicating that they are endothermic. Moreover, the negative  $\Delta S$  values showed that in all cases, order in the system increased with the formation of the interaction product between the drug and the clay.

#### 4.2. Sorption equilibrium studies

Based on Eq. (2) for each single process with partial order  $n = 1$  in  $C$ , at the equilibrium

$$\theta = \frac{n^s}{n_m^s} = \frac{K \cdot C}{K \cdot C + 1} \quad (12)$$

where

$\theta$  fraction of surface active sites in the sorbent occupied by the sorbate

$n^s$  amount of solute (ppm) retained per gram of adsorbent

$n_m^s$  retention capacity of halloysite (ppm/g)

$K$  kinetic equilibrium constant ( $k_a/k_d$ )

$C$  molar concentration of 5-ASA in solution at the equilibrium.

And if the two separate processes took place simultaneously

$$\theta = \theta_1 + \theta_2 \quad (13)$$

where

$$\theta = \frac{n^s}{n_m^s} = \theta_1 + \theta_2 = \sum_{i=1}^{i=2} \frac{K_{(i)} \cdot C}{K_{(i)} \cdot C + 1} \quad (14)$$

and

$$n^s = n_1^s + n_2^s = \sum_{i=1}^{i=2} \frac{K_{(i)} \cdot n_m^s(i) \cdot C}{K_{(i)} \cdot C + 1} \quad (15)$$

On the other hand, if the third single process were relevant, equilibrium becomes

$$\theta = \frac{n^s}{n_m^s} = B \cdot C^m \quad (16)$$

where

$$n^s = n_m^s \cdot B \cdot C^m = A \cdot C^m \quad (17)$$

As mentioned above, this third process is only relevant at high drug concentrations, when Eq. (17) should be taken account. However, in the initial phase (and at low drug concentrations) the contribution of this process is not significant.

Eq. (15) was used to fit the experimental data. The parameters obtained are shown in Table 3 ( $n_m^s$  and  $K_{ci}$ ). According to these results, equilibrium isotherms seem to fit to a single adsorption-desorption process. However, the kinetic results (Fig. 2) show that two separate processes are involved in the equilibrium. This discrepancy may be explained on the basis of the differences in amount of drug retained after a long time, as occurs when equilibrium is reached. The first process (rapid) masks the second (slower), because of the higher amount of 5-ASA adsorbed on the surface of the clay.

Table 3  
Fitting parameters of Eq. (15), standard average adsorption enthalpy ( $\Delta H^\circ$ ) and entropy ( $\Delta S^\circ$ ) for the 5-ASA/HLC interaction

| $T$ (K) | $n_m^s$ (ppm/g) | $K_{ci}$ | $R^2$  | $\Delta H^\circ$ (kJ/g) | $\Delta S^\circ$ (kJ/K g) |
|---------|-----------------|----------|--------|-------------------------|---------------------------|
| 298     | $4.68 \pm 0.09$ | 0.0482   | 0.9929 |                         |                           |
| 308     | $4.95 \pm 0.10$ | 0.0584   | 0.9901 | $0.245 \pm 0.00$        | $0.46 \pm 0.01$           |
| 318     | $6.11 \pm 0.12$ | 0.0741   | 0.9969 |                         |                           |

On the other hand, the analytical fitting of the regression line obtained by plotting  $\ln K$  vs  $(1/T)$  allowed calculation of the standard average adsorption enthalpy ( $\Delta H^\circ$ ) and entropy ( $\Delta S^\circ$ ) for the studied process over the working temperature range (25–45 °C). The resulting values are shown in Table 3. According to these results, the equilibrium process is endothermic and endoentropic.

## 5. Conclusions

According to the sorption studies we can conclude that:

1. Interaction between 5ASA and HLC occurs as a combination of two separate processes. The first of these is rapid adsorption of the drug at the external surface of the clay mineral particles, while the second is adsorption occurring inside the HLC pores and aggregates, and is therefore slower.
2. The thermodynamic functions of the two steps indicate that formation of the 5ASA/HLC interaction product fits to endothermic ( $\Delta H_1 = 7.59$ ;  $\Delta H_2 = 42.28$ ) and exoentropic ( $\Delta S_1 = -0.20$ ;  $\Delta S_2 = -0.12$ ) processes.
3. The equilibrium isotherms might be included in the S-type in the Giles classification, suggesting a low relative affinity of HLC for 5-ASA and vice versa.
4. In equilibrium, only one, slow, endothermic ( $\Delta H^\circ = 0.245$  kJ/g) and endoentropic ( $\Delta S^\circ = 0.46$  kJ/K g) process is observed, as a result of the long time involved for completion of the experiments.

On the basis of these results, development of delivery systems based on HLC/5-ASA interaction seems a promising approach.

## References

- [1] C. Valenzuela-Calahorra, A. Navarrete-Guijosa, M. Stitou, E. Cuerda-Correa, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 224 (2003) 135–147.
- [2] C. Aguzzi, P. Cerezo, C. Viseras, C. Caramella, *Appl. Clay Sci.* 36 (2007) 22–36.
- [3] T.F. Bates, F.A. Hildebrand, A. Swinefor, *Am. Miner.* 35 (1950) 463–484.
- [4] S.R. Levis, P.B. Deasy, *Int. J. Pharm.* 253 (2003) 145–157.
- [5] R.S. Byrne, P.B. Deasy, *J. Microencapsul.* 22 (4) (2005) 423–437.
- [6] Y. Lvov, K. Ariga, I. Ichinose, T. Kunitake, *Thin Solid Films* 284/285 (1996) 797–801.
- [7] A.K. Dash, H.G. Brittain, in: H.G. Brittain (Ed.), *Analytical Profiles of Drugs Substances and Excipients*, vol. 25, Academic Press, New Jersey, 1998, pp. 209–242.
- [8] S.B. Hanauer, in: M. Peppercorn (Ed.), *The Management of Inflammatory Bowel Disease: New Medical and Surgical Approaches*, Marcel Dekker, Philadelphia, 1990, pp. 65–91.
- [9] M.C.M. Rijk, A.V. Schaik, J.H.M.V. Tongeren, *Scand. J. Gastroenterol.* 23 (1998) 107–112.
- [10] E. Schacht, A. Gevaert, E. Refaie-Kenawy, K. Molly, W. Verstraete, P. Adriaensens, R. Carleer, J. Gelan, *J. Control. Release* 39 (1996) 327–338.
- [11] V.K. Gupta, T.E. Beckert, J.C. Price, *Int. J. Pharm.* 213 (2001) 83–91.
- [12] V.K. Gupta, M.W. Assmus, T.E. Beckert, J.C. Price, *Int. J. Pharm.* 213 (2001) 93–102.
- [13] H. Tozaki, T. Odoriba, N. Okada, T. Fujita, A. Terabe, T. Suzuki, S. Okabe, S. Muranishi, A. Yamamoto, *J. Control. Release* 82 (2002) 51–61.
- [14] R. Wiwattanapatapee, L. Lomlim, K. Saramunee, *J. Control. Release* 88 (2003) 1–9.
- [15] M.K. Chourasia, S.K. Jain, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 6 (1) (2003) 33–66.
- [16] C. Valenzuela-Calahorra, E. Cuerda-Correa, A. Navarrete-Guijosa, E.G. Pradas, *J. Colloid Interf. Sci.* 248 (2002) 33–40.
- [17] C. Valenzuela-Calahorra, E. Cuerda-Correa, A. Navarrete-Guijosa, E.G. Pradas, *J. Colloid Interf. Sci.* 250 (2002) 67–73.
- [18] C. Valenzuela-Calahorra, A. Navarrete-Guijosa, M. Stitou, E. Cuerda-Correa, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 237 (2004) 7–13.
- [19] W. Lund, in: W. Lund (Ed.), *The Pharmaceutical Codex, Principles and Practice of Pharmaceutics*, 25th ed., The Pharmaceutical Press, London, 1994, pp. 946–947.
- [20] C. Hinz, *Geoderma* 99 (2001) 225–243.



## **IV.2.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE INTERACCIÓN (PUBLICACIÓN 2)**

### **IV.2.3.1. AUTORES Y TÍTULO**

Viseras, M.T., Aguzzi, C., Cerezo, P., Cultrone, G. y Viseras, C. Supramolecular structure of 5-aminosalicylic acid/halloysite composites, *Journal of Microencapsulation*, aceptado en Junio de 2008.

### **IV.2.3.2. RESUMEN**

En este trabajo se caracterizan los preparados obtenidos por interacción del 5-ASA con HLC. Incluye la determinación mediante FESEM de la textura de los materiales de partida y de los productos de interacción, los resultados de porosimetría de mercurio, de difracción de rayos X, así como los análisis termogravimétricos. Con esta información se caracterizan los cambios inducidos por la interacción entre el fármaco y el soporte, relativos a textura, estructura e hidratación. Mediante espectroscopia de infrarrojos se estudiaron los grupos funcionales implicados en la interacción. Por último, mediante HREM con XEDS acoplado se evaluó la posición del fármaco en el interior y exterior de los tubos de HLC, postulando su reparto en consonancia con los resultados de retención expuestos en el apartado anterior.

### **IV.2.3.3. DISCUSIÓN**

En la publicación 1 se había postulado que la adsorción del 5-ASA por parte de HLC tenía lugar como resultado de dos procesos: uno rápido en la superficie externa de las partículas, y un lento en el interior de los tubos y macroporos (defectos en la superficie de los tubos) de HLC. No obstante, existía cierta controversia entre los resultados cinéticos y de equilibrio, dado que las isothermas de equilibrio podían ajustarse a un solo proceso de adsorción-desorción, mientras que las isothermas cinéticas claramente separaban los dos procesos mencionados. Se había planteado la hipótesis de que en el equilibrio, el proceso rápido (superficie de las partículas)

enmascarase el lento (interior de los tubos). Uno de los objetivos de la publicación 2 fue corroborar esta hipótesis. Asimismo, se planteó la caracterización al estado sólido de los productos de interacción, como parte de la necesaria caracterización preformulativa de estos preparados.

### ***Caracterización al estado sólido***

Se llevó a cabo una caracterización textural de las materias primas (HLC y 5-ASA) y de los productos de interacción con ellas preparados. Las microfotografías de FESEM (Figura 2 de la Publicación 2), permitieron determinar la forma y tamaño de las partículas y agregados de cada una de las muestras, así como conocer el tamaño real de los tubos de HLC, que ronda los 600-800 nm de longitud y 100 nm de diámetro externo.

La porosimetría de mercurio reveló (Figura 3 de la publicación 2) una distribución bimodal de los poros, tanto de la muestra de HLC como de los productos de interacción con 5-ASA, con una moda principal en torno a 10  $\mu\text{m}$ , y una segunda moda de mucha menor entidad, en torno a 0.06  $\mu\text{m}$ . Estos resultados se han complementado, creemos de manera suficiente, con los obtenidos mediante adsorción de nitrógeno.

Continuando con la caracterización preformulativa de las materias primas y sus productos de interacción, se presentan los resultados correspondientes a difracción de rayos X en muestras de polvo. En ellos (Figura 4 de la Publicación 2) se observa que la halloysita es una muestra parcialmente hidratada, sin que se observen cambios en la mezcla física con el fármaco, mientras que en el producto de interacción, desaparece el pico correspondiente al espaciado basal de 10 Å. Este hecho era de esperar, dado que tras la interacción mediante dispersión del sólido en una solución de fármaco, se separó el producto resultante y se desecó a 60 °C, temperatura suficiente, de acuerdo con la bibliografía (Joussein, 2005), para deshidratar la halloysita.

Parece claro, además que la retención del fármaco en HLC no tiene lugar por intercambio iónico con los cationes presentes en la interlámina, dado que no existen cambios en el espaciado basal del producto de interacción respecto a la halloysita de partida. Nuestra hipótesis de adsorción en la superficie de las partículas y posible entrada en los tubos es, por tanto, coherente con estos resultados de difracción de rayos X.

La termogravimetría llevada a cabo a las muestras corrobora la deshidratación de los productos de interacción. Las curvas termogravimétricas (Figura 5 de la publicación 2) revelan una brusca pérdida de peso del fármaco a 280 °C, correspondiendo con su degradación por combustión, mientras que la arcilla y el producto de interacción muestran una primera pérdida gradual de peso (menor en el producto de interacción, que en HLC o la mezcla física, dado que ha sido deshidratado, como hemos discutido) en torno a 100 °C, seguida de una segunda pérdida de peso casi coincidente con la degradación del fármaco, en la que junto a ella, tiene lugar la pérdida de agua coordinada (-OH) de HLC.

Para concluir la caracterización preformulativa, se determinaron los grupos implicados en la interacción 5-ASA-HLC mediante espectroscopia de infrarrojos (Figura 6 de la publicación 2), poniendo de manifiesto que el grupo funcional implicado por parte del fármaco es al menos el -COOH. No fue posible determinar la implicación del grupo -NH<sub>2</sub> del fármaco por coincidir sus bandas características con las correspondientes a la deformación H-O-H de HLC.

### ***Posición del fármaco retenido***

La determinación de la posición de fármaco adsorbido resultaba de gran interés para nosotros, dado que nuestro modelo de retención y liberación supone la existencia de dos procesos: uno ligado a la adsorción en la superficie de las partículas, y otro correspondiente a la entrada de la molécula de fármaco en los poros y tubos de HLC. Mediante una técnica de tinción usada en microscopía electrónica para la determinación de aminoácidos, se planteó la posibilidad de determinar la posición

del fármaco (a través de su grupo amino) en el entorno de las partículas de HLC. Así, una vez tintadas las muestras, se procedió a su visualización mediante HREM y con ayuda de un XEDS a la determinación cualitativa de la posición del fármaco en los productos de interacción. La comparación entre mezclas físicas y productos de interacción 5-ASA-HLC, permitió corroborar nuestra hipótesis de adsorción tanto en la superficie como en el interior de los tubos de HLC (Figuras 7 y 8 de la publicación 2).

**Cesar Viseras Iborra**

---

**De:** Oya Alpar [oya.alpar@pharmacy.ac.uk]  
**Enviado el:** lunes, 30 de junio de 2008 17:16  
**Para:** Cesar Viseras Iborra  
**Asunto:** RE: re: Journal of Microencapsulation MS 02/279

Ms. Ref. No.: MS 02/279

**Title: "SUPRAMOLECULAR STRUCTURE OF 5-AMINOSALYCILIC ACID/HALLOYSITE COMPOSITES"**

Journal of Microencapsulation

Dear César Viseras Iborra,

I am pleased to confirm that your paper "**SUPRAMOLECULAR STRUCTURE OF 5-AMINOSALYCILIC ACID/HALLOYSITE COMPOSITES**" has been accepted, following revisions, (30th June 2008) for publication in the Journal of Microencapsulation.

Thank you for submitting your work to this journal.

With kind regards,

Prof. Oya Alpar  
Editor-in-Chief  
Journal of Microencapsulation

30/06/2008

**SUPRAMOLECULAR STRUCTURE OF 5-AMINOSALYCILIC  
ACID/HALLOYSITE COMPOSITES**

Maria-Teresa Viseras<sup>1</sup>, Carola Aguzzi<sup>1</sup>, Pilar Cerezo<sup>1</sup>, Giuseppe Cultrone<sup>2</sup>, Cesar Viseras<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy,  
University of Granada. Campus Universitario de Cartuja s/n, E-18071, Granada, Spain.

<sup>2</sup>Department of Mineralogy and Petrology, University of Granada. Campus  
Universitario de Ciencias s/n, Granada, Spain.

Correspondence to: César Viseras Iborra

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

Facultad de Farmacia. Universidad de Granada

Campus Universitario de Cartuja, s/n

18071 Granada, Spain

Phone: +34-58-249551

Fax: -34-58-248958

e-mail: [cviseras@ugr.es](mailto:cviseras@ugr.es)

## **ABSTRACT**

This paper assesses the supramolecular structure of nanocomposites prepared by including the anti-inflammatory drug 5-aminosalicylic acid in halloysite nanotubes. Halloysite tubes have submicron individual lengths with outer diameters around 0.1  $\mu\text{m}$ , as observed by FESEM. The mercury intrusion plots showed bimodal profiles with pore dimensions around 10 and 0.06  $\mu\text{m}$ . X-Ray diffraction and thermogravimetric results revealed changes in the hydration form of the clay after the interaction. The groups associated to the interaction were studied by FTIR. The location of the drug in the composites was determined after uranium staining of its amino groups by X-EDS microanalysis coupled with HREM. The drug was located both inside and on the surface of the halloysite nanotubes. These results confirm the occurrence of two concomitant interaction mechanisms: rapid adsorption of 5-ASA at the external halloysite surface followed by slow adsorption of the drug inside the tubes.

**Keywords:** 5-aminosalicylic acid, halloysite, composite, supramolecular structure.

## 1. INTRODUCTION

Trapping of drug molecules in micro and mesoporous materials based on clays or silica is a helpful procedure for reducing dissolution rate and/or targeting drug release (Aguzzi et al., 2007). In particular, a hollow tubular polymorph of kaolinite, known as halloysite has been proposed for drug encapsulation (Levis and Deasy, 2003; Byrne and Deasy, 2005), and is also considered for delivering proteins and genetic matter (Veerabadran et al., 2007).

A previous study published on the retention of the anti-inflammatory agent 5-amino salicylic acid (5-ASA), onto a Spanish halloysite (HLC) concluded that adsorption was the result of two separate single endothermic and exothermic processes: an initial rapid adsorption of 5-ASA on the external halloysite surface followed by a slow adsorption of the drug inside the phyllosilicate pores (Viseras et al., 2008). Our study provided information concerning the retention capacity of the mentioned solid, the kinetics of the process, the factors conditioning the equilibrium and the thermodynamic functions. In agreement with Valenzuela et al. (Valenzuela et al., 2002a,b), both the kinetic and the equilibrium studies must be complementary and, in general, equations describing the adsorption isotherms come from the kinetic laws governing the different partial processes which determine the global process. However, some discrepancies were found between equilibrium and kinetic isotherms. Equilibrium isotherms may fit a single adsorption-desorption process, whereas kinetic isotherms clearly separate two processes. It was hypothesized that in the equilibrium isotherms, the first (rapid) process masked the (slower) second. To corroborate this hypothesis and increase the understanding of the adsorption mechanisms in 5-ASA/HLC composites, it would be necessary to characterise the supramolecular structure of the obtained 5-ASA/HLC



composites. With this aim, samples were examined by FESEM (Field Emission Scanning Electron Microscopy) and mercury porosimetry for texture characterization. Then, solid state characterization was carried out by X-ray diffraction, thermogravimetric analysis and FTIR. To correctly resolve the structure of the composites (localisation of retained 5-ASA molecules), samples were stained by drop deposition with a uranyl acetate solution. This is described as a stain able to specifically bind with positively charged amino groups (Lombardi et al. 1971; Hayat 1970), allowing selective fixation of 5-ASA molecules (Figure 1). The uranyl-stained samples were examined by HREM (High Resolution Electron Microscopy) to get more details about the structure of the composites. Complementary X-EDS (X-ray energy-dispersive spectroscopy) microanalysis was performed on selected micrograph areas, to determine uranium localisation and assess the supramolecular structure of the 5-ASA/HLC composites.

## **2. MATERIALS AND METHODS**

### *2.1. Materials*

5-ASA (analytical grade) was purchased from Sigma Aldrich (Madrid, Spain).

Halloysite (HLC) was a non-commercial sample from Spain. It was milled (Ika<sup>®</sup>-Werke mill M20, GMBH & Co. KG, G) and sieved (125-250  $\mu\text{m}$ ) before use in order to eliminate coarse particles and aggregates.

### *2.2. Preparation of drug/clay composite and physical blend*

5-ASA/HLC composites were prepared as described by Viseras et al. (2008). Briefly, 5 g of HLC were suspended in 500 mL of 5-ASA aqueous solution ( $C_0$ , 225 mg/L) by using a Sotax<sup>®</sup> dissolution system (AT7, Barcelona, Spain) equipped with the USP apparatus II. Assays were performed at 100 rpm and 40°C for 24 h. This period was

long enough to ensure that equilibrium was reached between the adsorbed 5-ASA and that in solution. The equilibrium concentration (C) of 5-ASA in solution was determined by UV spectroscopy at 297 nm (Perkin Elmer<sup>®</sup>, Lambda 25, Madrid, Spain). The difference between the initial (C<sub>0</sub>) and final (C) drug concentrations was assumed to be due to adsorption of the drug by the clay and the amount of 5-ASA retained was calculated, resulting in 4 mg/g dried clay. 5-ASA/halloysite adsorbates were recovered by filtration and dried in oven at 60°C to remove residual humidity. Physical blends with the same w/w ratio as the composites were prepared by mixing drug and clay powders in a mortar. All samples were stored at room temperature before any characterization was performed.

### *2.3. Characterization*

#### *2.3.1. Field Emission Scanning Electron Microscopy*

Samples mounted on aluminium SEM stubs and covered by a carbon film were examined using a LEO GEMINI-1530 Field Emission Scanning Electron Microscopy (FESEM).

#### *2.3.2. Mercury Porosimetry*

The porous structure of the samples was determined by mercury porosimetry using a Porosimeter Micromeritics 9310 Autopore III with associated software. The measurements were performed on powder samples using a 5 cm<sup>3</sup> penetrometer (sample weight 250 mg). Samples were dried to constant weight using a vacuum oven set at 80 °C and removed just prior to analysis. As widely described in the literature, this treatment may completely remove both pore and interlayer water of halloysite samples, without reorganization of the inner structure of the material (Grim, 1968; Joussein et al., 2005, 2006). Intrusion pressures between 0.5 and 60000 psi (414 MPa) were used,

corresponding to pore diameters between 360 and 0.006  $\mu\text{m}$ . The low and high pressure analyses were done automatically, both using the equilibrium mode with a time interval of 10 s.

### *2.3.3. X-ray diffraction studies*

X-ray analyses were carried out in powder samples by using a Philips<sup>®</sup> PW1710 diffractometer, equipped with automatic slit.  $\text{CuK}\alpha$  radiation, 3-40°  $2\theta$  exploration range, 6°  $2\theta$   $\text{min}^{-1}$  scanning speed, 40 KV voltage, 1 X 10<sup>3</sup> sensitivity, 40 MA intensity, 2s time constant were the instrumental conditions.

### *2.3.4. Thermogravimetric analysis*

Thermogravimetric analysis (TGA) was performed on 10-20 mg samples using a SHIMADZU mod. TGA-50H equipment working over the temperature range 30-500°C at 10°C/min heating rate.

### *2.3.5. Infrared spectroscopy studies*

The infrared spectra of the samples were recorded with a Perkin-Elmer model 1600 FTIR spectrophotometer using KBr disc method. Samples were milled, mixed with KBr powder (1:100 w/w ratio) and pressed using a hydraulic press at 15 tons for 5 min. Discs were placed in the sample holder and scanned from 4000 to 400  $\text{cm}^{-1}$ .

### *2.3.6. High Resolution Transmission Electron Microscopy (HREM) coupled with X-ray energy-dispersive spectroscopy (X-EDS)*

Samples were dehydrated by replacing water with pure ethanol, embedded for 2 hours in a mixture of ethanol and epoxy resin for microscopy (EMbed 812, EMS Ltd., UK) and then included for 24 hours in pure resin. Subsequently, polymerization was performed by heating the samples at 37°C for 24 hours and then at 70°C for 24 hours. The polymerized blocks of the embedded samples were cut into ultrathin slices (900 Å

thickness) using a Reichert UltraCut S<sup>®</sup> Ultramicrotome (Reichert Analytical Instruments, Ltd., USA), and placed on 300-mesh TEM copper grids (Neyco, France). To increase image contrast, samples were stained by deposition of uranyl acetate 2% (w/v) aqueous solution onto the grids for 1 minute. The excess of the staining agent was absorbed onto a filter paper and then grids were covered with a carbon film. The stained samples were analysed using a STEM PHILIPS CM20 coupled with an X-ray Energy Dispersive Spectrometer (EDAX, Japan).

### **3. RESULTS AND DISCUSSION**

#### *3.1. FESEM*

Figure 2 shows selected FESEM microphotographs. As can be seen, pure crystalline 5-ASA (Fig. 2A) appears as individual needle shaped crystals with heterogeneous size distribution. In figure 2B, a detail of 5-ASA crystals is included, showing typical dimensions of approximately 10-100  $\mu\text{m}$  by 1-3  $\mu\text{m}$ , with irregularities in the crystal surfaces and occasionally concave shapes. Figures 2C and D show micrographs of halloysite, where high microtubular content (2C) with the presence of occasional rounded aggregates (2D) are observed. Halloysite tubes have submicron (600-800 nm) individual lengths with outer diameters around 0.1  $\mu\text{m}$  (2D). It is important to remark that all clay particles observed are completely rolled, without splitting or unrolling tubules, indicating that halloysite tubules were completely formed and no residual kaolinite crystals were present in the sample. Figures 2E and 2F show micrographs of 5-ASA/HLC composites. Only a few superficial isolated tubules (2E) are found, most of them making up aggregates in which it is hard to distinguish the individual constituent tubules (2F).

#### *3.2. Mercury porosimetry*

The cumulative intrusion plots of HLC and 5-ASA/HLC composite (Figure 3A) show a gradual initial increase in intrusion volume, corresponding to the filling of the coarse pores between particles and/or aggregates, followed by a rapid increase in intrusion due to the filling of inter-particles pores in the range 30-0.5  $\mu\text{m}$ , and then a further increase in intrusion volume in the range 0.05-0.01  $\mu\text{m}$ , that may correspond to filling of the tubule lumens within halloysite particles. The calculated specific surface area of the samples was approximately 45  $\text{m}^2/\text{g}$  for HLC and 44  $\text{m}^2/\text{g}$  for the composite. The differential intrusion plots (Figure 3B) show bimodal profiles with pore sizes around 8  $\mu\text{m}$  (HLC) and 13  $\mu\text{m}$  (composite), and a second pore mode at 0.06  $\mu\text{m}$  in both cases. These pore sizes are in agreement with the particle/aggregates sizes and tubule diameters observed in the FESEM microphotographs.

### 3.3. X-Ray powder diffraction (XRPD) studies

Plots of XRPD patterns for halloysite, physical blend and composite with 5-ASA are shown in Figure 4. The basal spacing reflections of the clay indicate the presence of the hydrated (peak around  $9^\circ 2\theta$ , corresponding to a 001 basal spacing of 10  $\text{\AA}$ ) and dehydrated (peak around  $12^\circ 2\theta$ , which translates to a 001 basal spacing of 7  $\text{\AA}$ ) forms of halloysite. Thus the sample can be described as a partially hydrated form of halloysite. In the physical blend no changes are observed, whereas in the composite the peak corresponding to the hydrated form disappears, remaining only a sharp reflection peak around  $12^\circ 2\theta$ , corresponding to the dehydrated form. The disappearance of the 10  $\text{\AA}$  peak was not surprising because the composite was dried to remove residual humidity. Thus in the composite the clay was fully dehydrated, as confirmed by the presence of a peak around  $24^\circ 2\theta$ , corresponding to a 002 basal spacing of 3.5  $\text{\AA}$ .

### 3.4. Thermogravimetry

On heating, halloysite undergoes a two-step dehydration process in the range 20-400 °C (Fig. 5). In the first step halloysite undergoes a weight lost around 5 %. The lost of this hydration water, taking place at low temperature, is complete at 200 °C and it is followed by a second step of dehydration in which halloysite loses the coordinated water. This second step coincides with the degradation of 5-ASA. The physical blend undergoes a hydration weight lost quite similar to that of the clay, followed by a second lost corresponding to the degradation of the drug and the lost of coordinated water in the clay. In the composite the amount of hydration water was reduced (around 2 % weight lost in the first step) in agreement with the presence of dehydrated form of the clay observed in the XRPD patterns.

### 3.5. FTIR

Molecular interaction between 5-ASA and HLC was investigated using FTIR spectroscopy (Figure 6). Halloysite spectrum presents an H-O-H deformation band at 1635  $\text{cm}^{-1}$ , and adsorption bands in the range 1200-900  $\text{cm}^{-1}$  corresponding to Si-O-Si and/or Si-O-Al stretching region. The Si-O stretching region comprises three absorption bands at 1113  $\text{cm}^{-1}$ , 1030  $\text{cm}^{-1}$ , and 1008  $\text{cm}^{-1}$ . Finally, the Al-OH stretching band appears at 938  $\text{cm}^{-1}$  (Tari et al., 1999). The spectrum of 5-ASA showed bands corresponding to C = C stretch of the aromatic group and N-H bond scissoring at 1619  $\text{cm}^{-1}$ . There were also two strong intensity bands corresponding to a C-C stretching mode at 1490  $\text{cm}^{-1}$  and to O-H deformation of the hydroxyl groups at 1355  $\text{cm}^{-1}$  (Dash and Brittain, 1998).

By comparing the spectra of the composite and the corresponding physical blend, and taking into account the previous discussed spectra of the single species, it was possible to obtain some information about the chemical groups involved in the interaction

between the drug molecule and the clay. In particular, the disappearance of the band of 5-ASA corresponding to COOH groups at  $1335\text{ cm}^{-1}$  in the composite spectrum, suggested their implication in the interaction of 5-ASA and HLC. Unfortunately, the superposition of the bands corresponding to the N-H scissoring bond in the drug molecule and the H-O-H deformation band in the clay, did not allow determining the possible implication of the amino groups in the interaction.

### 3.6. *HREM and XEDS*

Figures 7 and 8 show HREM microphotographs of thin sections obtained from the samples and XEDS spectra of selected areas. In the XEDS analysis, peaks deriving from the clay constituents (O, Al and Si) as well as from the TEM grids used to support the specimens (Cu and C) were detected in all cases. Figure 7A shows a microphotograph of 5-ASA/HLC composite in a region with precipitation of the staining agent. When this happened, it was hard to visualize the constituents of the complex in terms of fine morphology and size (Baalousha et al., 2005; Merroun et al., 2006). The arrows in Figure 7A show the areas selected for XEDS analysis (one dark, one blank). Figure 8A illustrates the XEDS spectrum of the dark stain area, corresponding to precipitated crystals of uranyl acetate, and Figure 8B shows the spectrum obtained from the blank. As can be seen, a high intensity U peak was detected in 8A, whereas no uranium was revealed in the case of the blank (8B).

In those regions of the thin sections where no precipitation occurred, as it is shown in microphotographs 7B and 7C (corresponding to physical blend and composite, respectively), it was possible to exactly resolve the uranyl acetate allocation. In both cases X-EDS analysis was performed on the edges and interior of the oriented halloysite tubules. In the case of physical blend, no uranium was detected in the XEDS spectrum

obtained neither from the surface (Figure 8C) nor from the interior (Figure 8D) of the HLC tubules. On the other hand, in the composite, the staining agent was detected both at the surface and inside of the tubules (Figures 8E and 8F, respectively). Thus, the method was able to qualitatively inform about the drug distribution in the composite, even if determination of the quantitative partitioning between adsorption on the surface and inside the pores was not possible.

#### **4. CONCLUSIONS**

Accordingly to the results, 5-ASA molecules are effectively entrapped by halloysite in the prepared composites. FESEM microphotographs allowed to evaluate the textural changes associated to the interaction of the drug with the phyllosilicate tubules. Mercury intrusion happened both in the interparticle space and into the clay tubules, with pore sizes in agreement with the measured tubules diameters. FTIR allowed confirming the interaction between the clay and the drug. Finally, HREM microscopy coupled with XEDS analysis of stained samples allowed to distinguish the location of the drug at the surface, but also inside of the halloysite nanotubules. These results corroborate the hypothesis of two different processes in the interaction of the drug with the clay.

#### **ACKNOWLEDGMENTS**

This work has been supported by the DGICYT project MAT 2006-05231.



## REFERENCES

- Aguzzi C, Cerezo P, Viseras C, Caramella C. 2007. Use of clays as drug delivery system. *Appl. Clay Sci.* 36:22-36.
- Baalaousha M, Motelica-Heino M, Galaup S, Coustumer P. 2005. Supramolecular structure of humic acids by TEM with improved sample preparation and staining. *Microsc. Res. Techniq.* 66:299-306.
- Byrne RS, Deasy PB. 2005. Use of porous aluminosilicate pellets for drug delivery. *J. Microencapsul.* 22:423-437.
- Dash KA, Brittain HG. 1998. Mesalamine. In: Brittain HG, editor. *Analytical Profiles of drugs Substances and Excipients*. Vol. 25. London: Academic Press. pp. 209-242.
- Grim RE. 1968. Dehydration, rehydration, and the changes taking place on heating. In: Grim RE, editor. *Clay Mineralogy* 2<sup>nd</sup> edition. New York: Mac Graw Hill. pp. 278-352.
- Hayat MA. 1970. *Principles and Techniques of Electron Microscopy*. New York: John Wiley & Sons.
- Joussein E, Petit S, Churchman J, Theng B, Righi D, Delvaux B. 2005. Halloysite clay minerals-a review. *Clay Min.* 40: 383-426.
- Joussein E, Petit S, Fialips CI, Vieillard P, Righi D. 2006. Difference in the dehydration–rehydration behavior of halloysites: new evidence and interpretations. *Clay. Clay Miner.* 54: 473–485.
- Levis SR, Deasy PB. 2003. Use of coated microtubular halloysite for the sustained release of diltiazem hydrochloride and propranolol hydrochloride. *Int. J. Pharm.* 253:145-157.
- Lombardi L, Prenna G, Okolicsanyi L, Gautier A. 1971. Electron staining with uranyl acetate: possible role of free amino groups. *J. Histochem. Cytochem.* 19:161-168.

Merroun M, Nedelkova M, Rossberg A, Hennig C, Selenska-Pobell S. 2006. Interaction mechanisms of bacterial strains isolated from extreme habitats with uranium. *Radiochim. Acta* 94:723-729.

Tari G, Bobos I, Gomes CSF, Ferreira MF. 1999. Modification of surface charge properties during Kaolinite to Halloysite-7Å Transformation. *J. Colloid Interf. Sci.* 210: 360-366.

Valenzuela-Calahorro C, Cuerda-Correa E, Navarrete-Guijosa A, Gonzalez Pradas E. 2002a. Application of a single model to study the adsorption kinetics of prednisolone on six carbonaceous materials. *J. Colloid Interf. Sci.* 248: 33-40.

Valenzuela-Calahorro C, Cuerda-Correa E, Navarrete-Guijosa A, Gonzalez Pradas E. 2002b. Application of a single model to study the adsorption equilibrium of prednisolone on six carbonaceous materials. *J. Colloid Interf. Sci.* 250: 67-73.

Veerabadran, NG, Price, RR, Lvov, YM. 2007. Clay nanotubes for encapsulation and sustained release of drugs. *NANO* 2:115-120.

Viseras MT, Aguzzi C, Cerezo P, Viseras C, Valenzuela C. 2008. Equilibrium and kinetics of 5-aminosalicylic acid adsorption by halloysite. *Micropor. Mesopor. Mat.* 108:112-116.

## FIGURE CAPTIONS

Figure 1. Molecular structure of 5-ASA.

Figure 2. FSEM microphotographs of the studied samples: 5-ASA (A, B); HLC (C, D); 5-ASA/HLC composite (E, F). Magnifications: A (2000 x), B (12000 x), C (50000 x), D (79720 x), E (40000 x) and F (200000 x).

Figure 3. Mercury intrusion plots of the studied samples: Cumulative (A) and differential (B) curves.

Figure 4. XRPD patterns of the studied samples.

Figure 5. TGA curves of the studied samples.

Figure 6. FT-IR spectra of the studied samples.

Figure 7. HREM microphotographs of uranyl acetate stained 5-ASA/HLC: (A) detail of uranyl deposits, (B) physical blends, (C) composite. Magnifications: A (34000 x), B (78000 x) and C (175000 x).

Figure 8. XEDS spectra of: (A) uranyl deposits, (B) blank, (C) surface of halloysite tubules in physical blends, (D) interior of halloysite tubules in physical blends, (E) surface of halloysite tubules in composites, (F) interior of halloysite tubules in composites.

Figure 1.

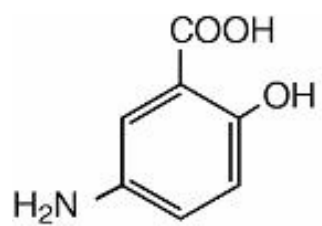


Figure 2.

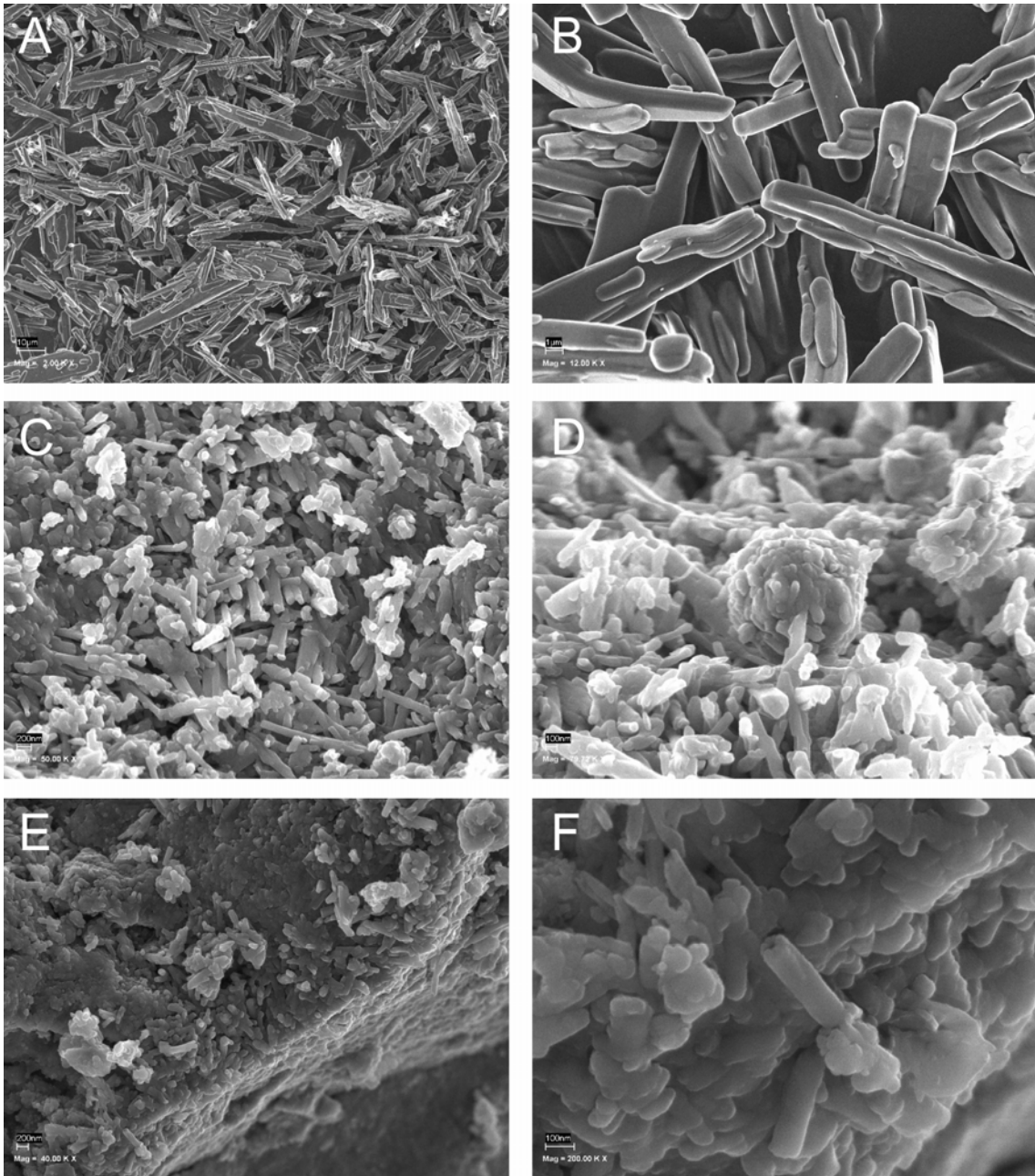


Figure 3.

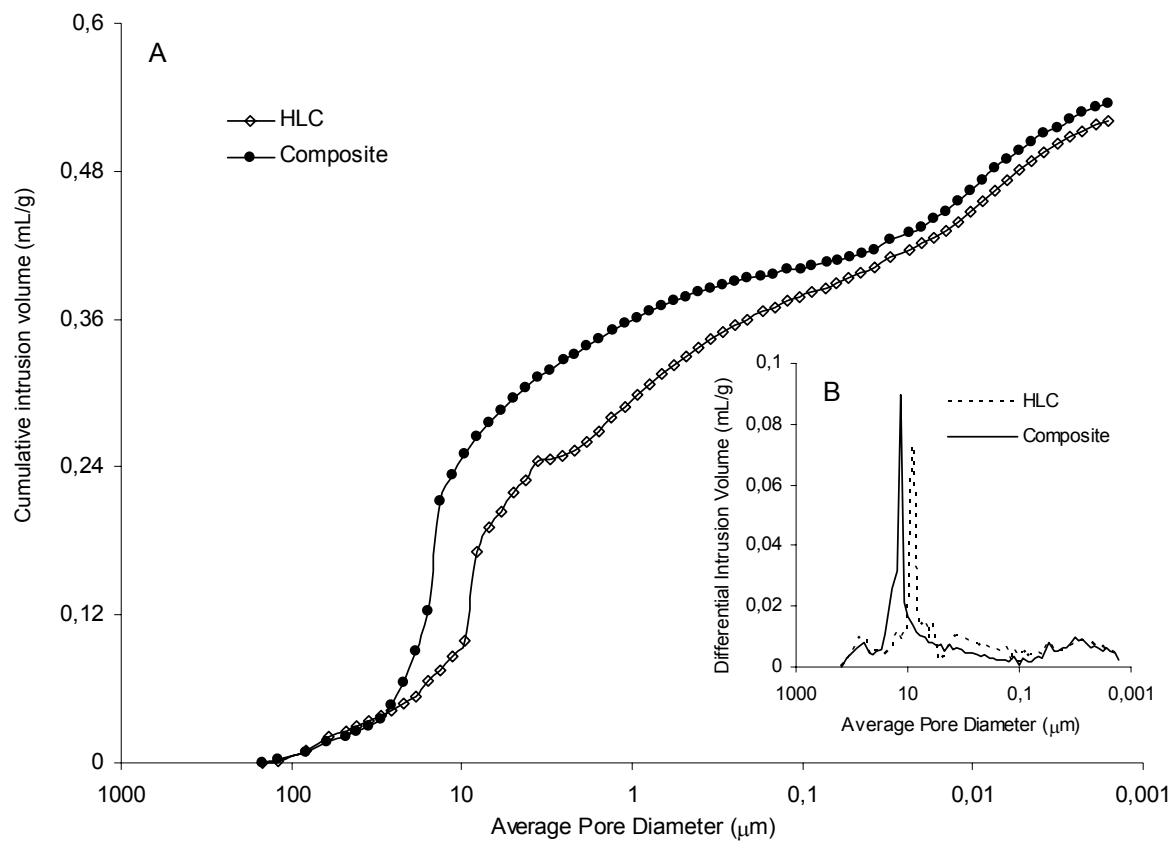


Figure 4.

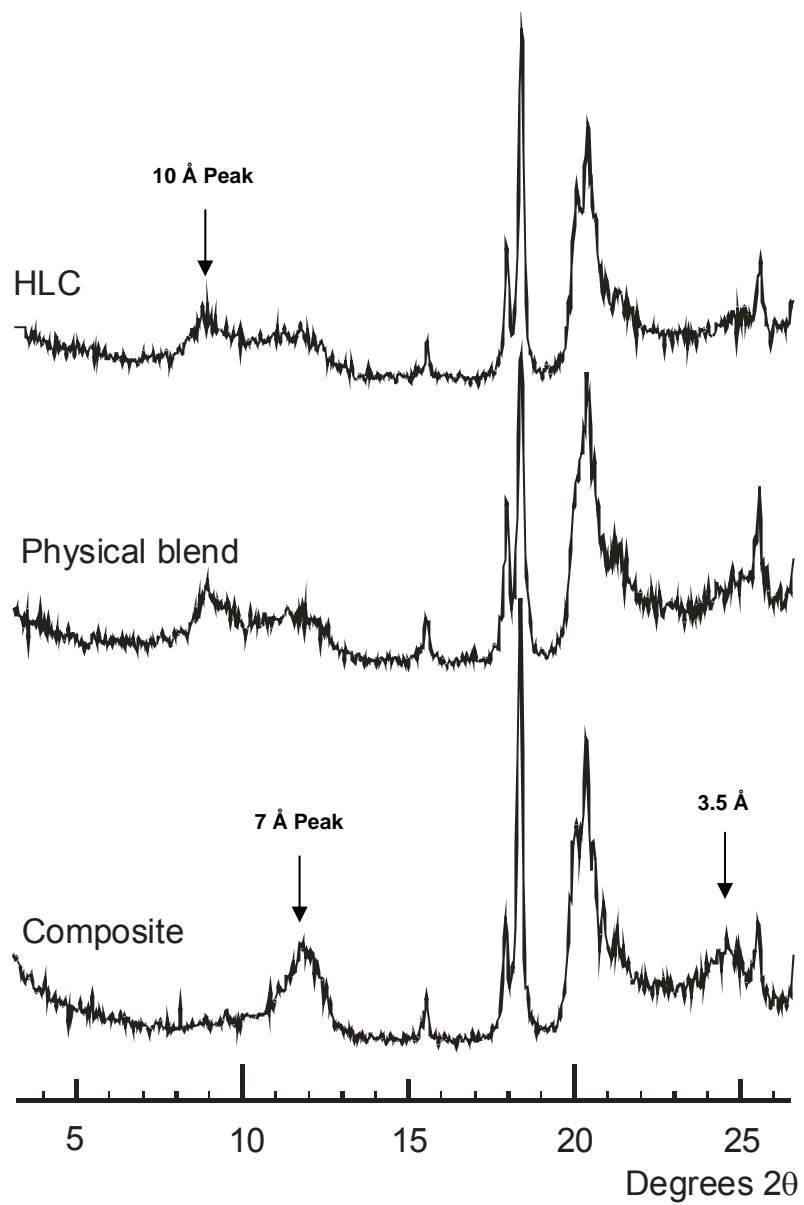


Figure 5.

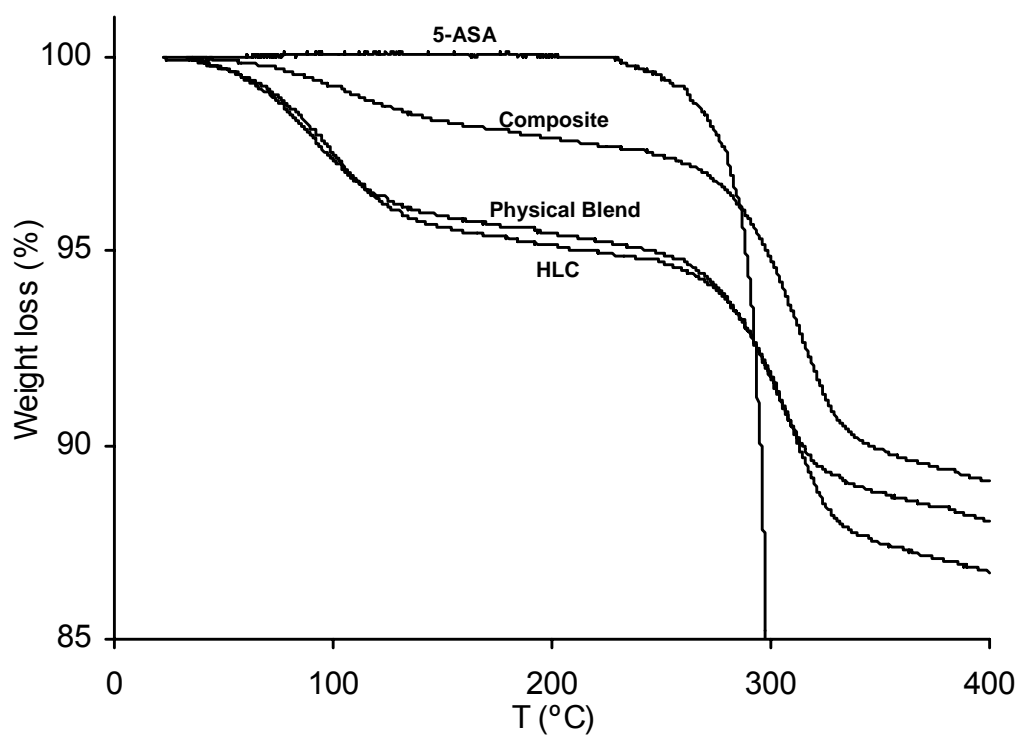




Figure 6.

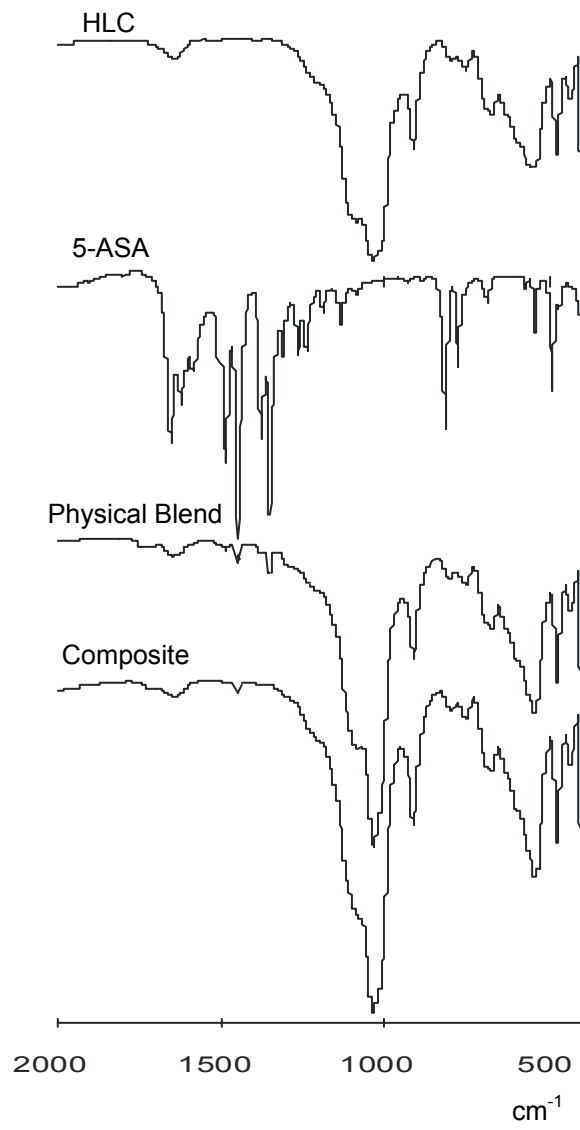


Figure 7.

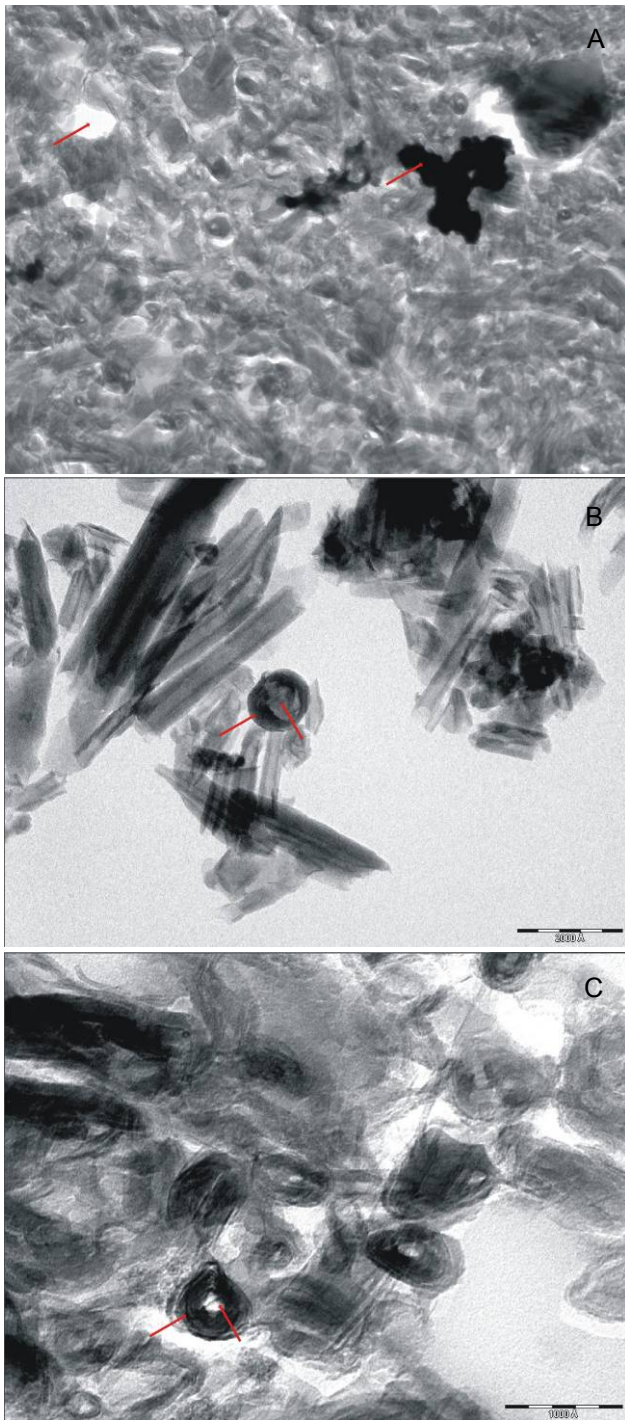
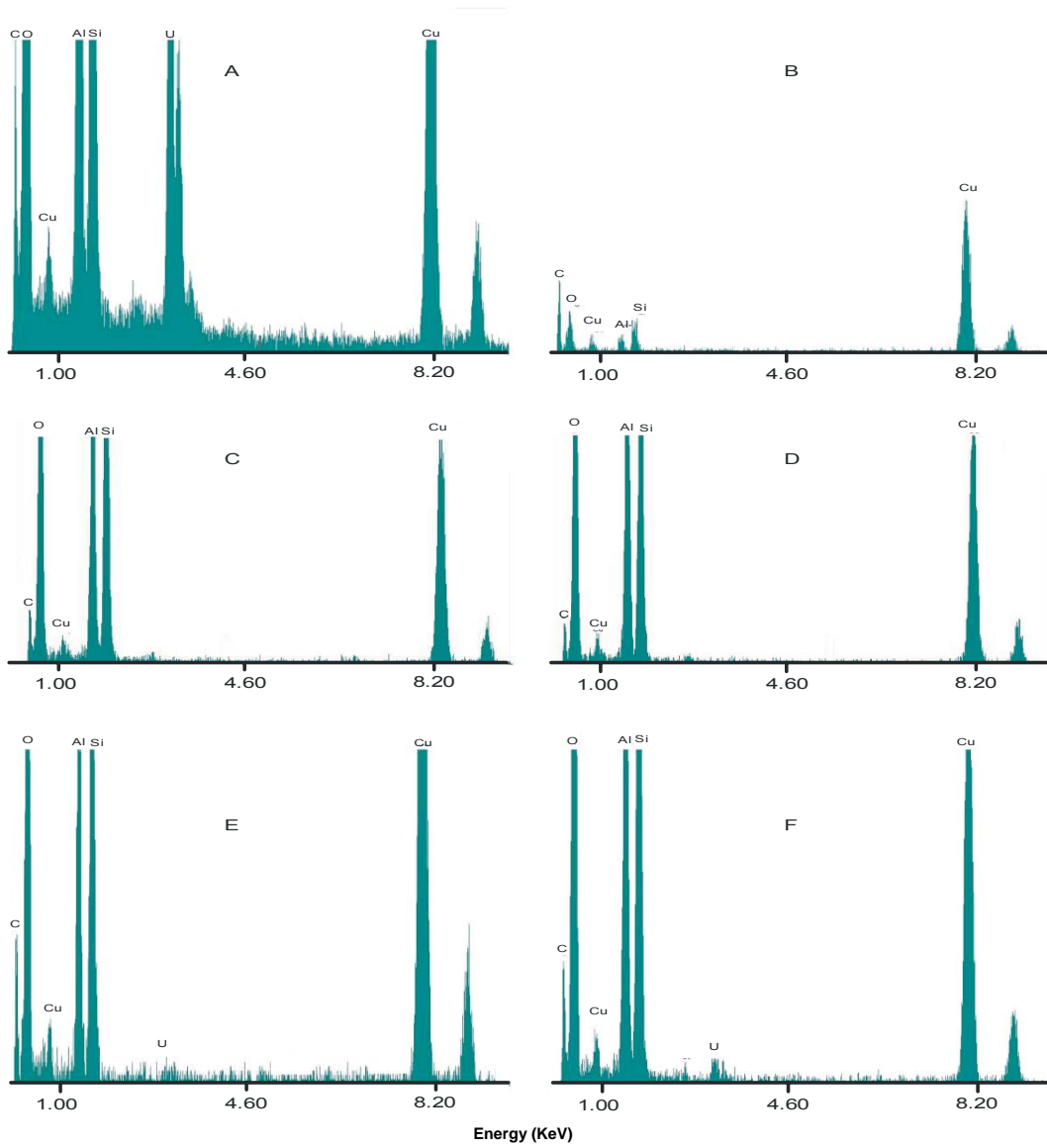


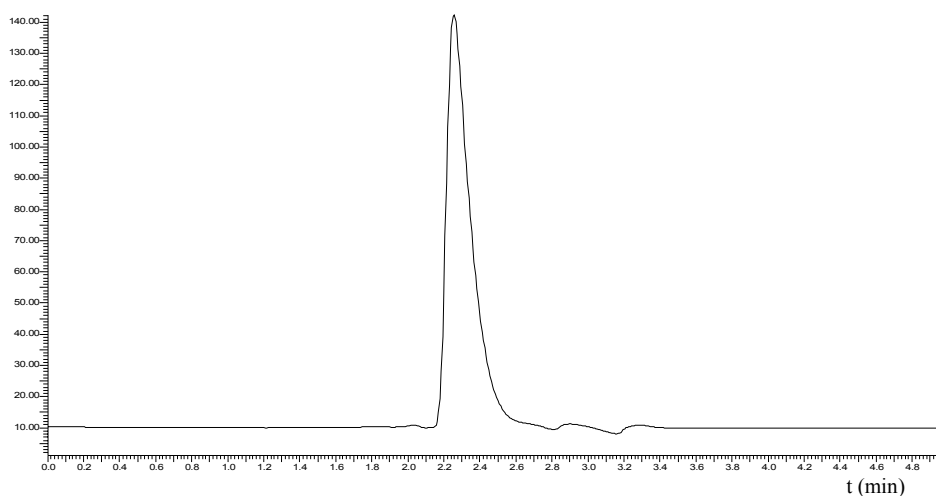
Figure 8.



## IV.2.4. LIBERACIÓN DE 5-ASA DESDE LOS PRODUCTOS DE INTERACCIÓN

### IV.2.4.1. ANÁLISIS DEL FÁRMACO

A manera de ejemplo, la Figura IV.18. presenta el cromatograma típico de una solución estándar de 5-ASA (50 µg/mL) en tampón fosfato pH 6.8.



**Fig. IV.18.** Cromatograma de una solución de 5-ASA (50 µg/mL) en tampón fosfato pH 6.8.; tiempo de retención 2,4 minutos.

En la Tabla IV.XI., quedan recogidas las características analíticas del método HPLC usado para el análisis de 5-ASA en los tres medios de disolución.

**Tabla IV.XI.** Características analíticas del método de determinación de 5-ASA en los tres medios de disolución.

| Medios           | Linealidad     |                    | LD<br>(µg/mL) | LC<br>(µg/mL) | Repetibilidad<br>(S <sub>R</sub> %) |                | Eficiencia<br>(N) | K'   | T        | Exactitud<br>(% recuperación) |
|------------------|----------------|--------------------|---------------|---------------|-------------------------------------|----------------|-------------------|------|----------|-------------------------------|
|                  | R <sub>2</sub> | "Log-log<br>slope" |               |               | A                                   | t <sub>R</sub> |                   |      |          |                               |
| Agua             | 0.9997         | 1 (0.007)          | < 1           | < 1           | 2.19                                | 0.08           | 7742              | 0.24 | 1.1      | 97.8 (0.15)                   |
| HCl 0.1 N        | 0.9999         | 0.96<br>(0.003)    | < 1           | < 1           | 0.22                                | 0.08           | 9537              | 0.09 | 0.9<br>1 | 98.3 (0.08)                   |
| Tampón pH<br>6.8 | 0.9999         | 0.98<br>(0.007)    | < 1           | < 1           | 0.82                                | 0.08           | 8275              | 0.11 | 0.8<br>6 | 99.2 (0.11)                   |

() desviación estándar, n = 6.

Respecto a la linealidad, la respuesta ha sido lineal ( $R^2 > 0,999$ ) en los tres medios y en el intervalo 5 - 100  $\mu\text{g/mL}$  (se han analizado 5 concentraciones, 3 réplicas de cada una). La pendiente de las rectas obtenidas al representar el logaritmo de la concentración en ordenadas y el logaritmo del área de los picos en abscisas (“log-log slope”) ha cumplido los criterios previstos por las líneas guía ICH (intervalo 0.95-1.05), con una desviación estándar relativa ( $S_R$ ) no superior al 1 %.

Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) han sido inferiores a 1  $\mu\text{g/mL}$ .

La repetibilidad del área del pico ( $A$ ) y del tiempo de retención ( $t_R$ ), expresada como desviación estándar relativa ( $S_R$ ) fue calculada efectuando 9 determinaciones (3 concentraciones, 3 réplicas cada una) de soluciones de 5-ASA de concentración conocida en cada uno de los medios de disolución, en el intervalo de linealidad del método, siendo siempre ambas inferiores al 1 % (en todos los medios de ensayo).

La eficiencia de la columna y el factor de cola fueron satisfactorios en los tres medios considerados.

Por último, la exactitud del método fue determinada añadiendo volúmenes conocidos (50, 100 y 200  $\mu\text{L}$ ) de soluciones de 5-ASA de concentración conocida (100  $\mu\text{g/mL}$ ) en cada uno de los medios usados como blanco a un volumen de medio para llevar a 1 mL final. La recuperación (relación entre lo añadido y medido en %) fue satisfactoria ( $> 97\%$ ) en todas las muestras analizadas.

#### **IV.2.4.2. AJUSTE DE DATOS DE LIBERACIÓN**

En una primera fase se llevó a cabo el ajuste de los datos de liberación en agua de los preparados obtenidos a 30 °C (5-ASA-HLC-30), empleando distintos modelos, con objeto de comparar la bondad del ajuste con cada uno.

Una vez realizada esta comparativa, se ajustaron el resto de curvas de liberación con el modelo propuesto en esta memoria, por ser el que demostró mayor capacidad para ajustarse a los datos experimentales.

Los ensayos realizados (véase apartado III.2.2.4.1.) se hicieron partiendo de un volumen de medio de disolución igual a 700 mL, así como (en el caso de cambio de pH) partiendo de 525 mL de HCL 0.1 N, para posteriormente llevar a 700 mL (añadiendo 175 mL de Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0.2 M, transcurridas 2 horas). Esta última metódica se corresponde con la propuesta por farmacopea para los ensayos con cambio de pH, destinados a formas farmacéuticas gastrorresistentes (EP 6.0, 2008). No obstante, debemos hacer una reflexión al respecto; la adición de volumen al medio de disolución con objeto de cambiar el pH tiene un triple efecto sobre el proceso de liberación: uno debido a la dilución (de la sustancia que se ha liberado), otro debido al cambio de pH, y un tercero producido por la variación de la fuerza iónica del medio.

Con el claro objetivo de evaluar el efecto de la dilución en los ensayos de cambio de pH, en el sistema 5-ASA-HLC-30/Agua se han programado dos tipos de experimentos: uno con volumen de agua constante (700 mL) y otro que se inicia con 525 mL de agua para añadir posteriormente (al cabo de dos horas) 175 mL de agua; de esta manera se ha pretendido obtener información acerca de la influencia del grado de dilución en el proceso de liberación.

#### **IV.2.4.2.1. Estudio Comparativo**

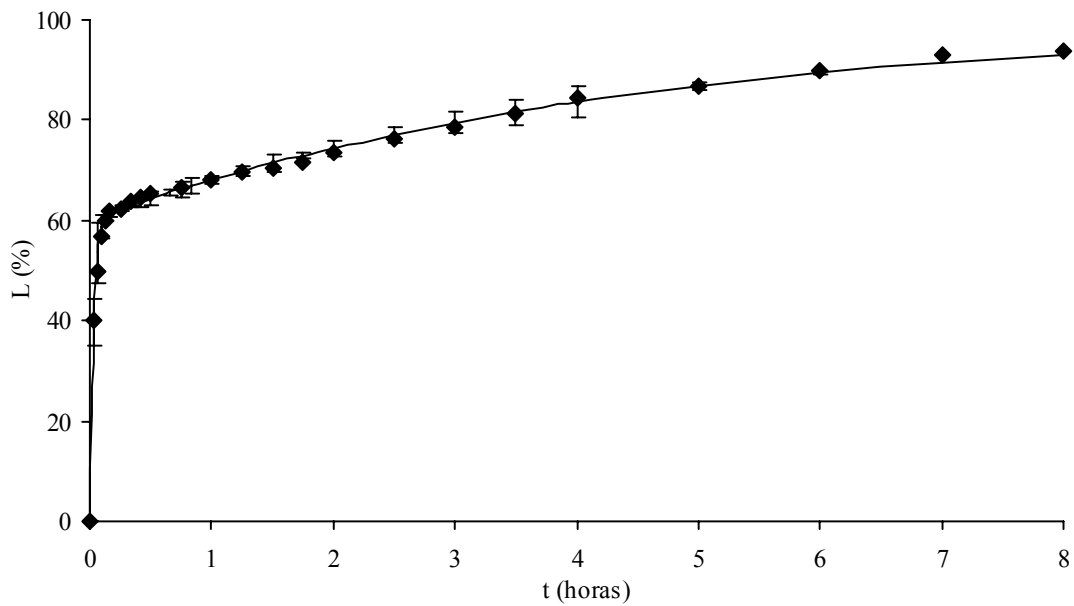
##### *IV.2.4.2.1.1. Sistema 5-ASA-HLC-30/Agua. Volumen: 700 mL*

Los resultados experimentales del proceso de liberación aparecen indicados en la Tabla IV.XI.

**Tabla IV.XI.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Volumen: 700 mL.

| <b>t (h)</b> | <b>L (%)</b> |
|--------------|--------------|
| 0,000        | 0,000        |
| 0,033        | 40,195       |
| 0,066        | 49,810       |
| 0,100        | 56,925       |
| 0,133        | 60,010       |
| 0,160        | 62,040       |
| 0,250        | 62,365       |
| 0,330        | 63,970       |
| 0,416        | 64,755       |
| 0,500        | 65,385       |
| 0,750        | 66,620       |
| 1,000        | 68,260       |
| 1,250        | 69,645       |
| 1,500        | 70,345       |
| 1,750        | 71,675       |
| 2,000        | 73,455       |
| 2,500        | 76,110       |
| 3,000        | 78,635       |
| 3,500        | 81,455       |
| 4,000        | 84,550       |
| 5,000        | 86,685       |
| 6,000        | 89,735       |
| 7,000        | 93,185       |
| 8,000        | 93,870       |

L (%): tanto por ciento liberado (promedio, n = 2).



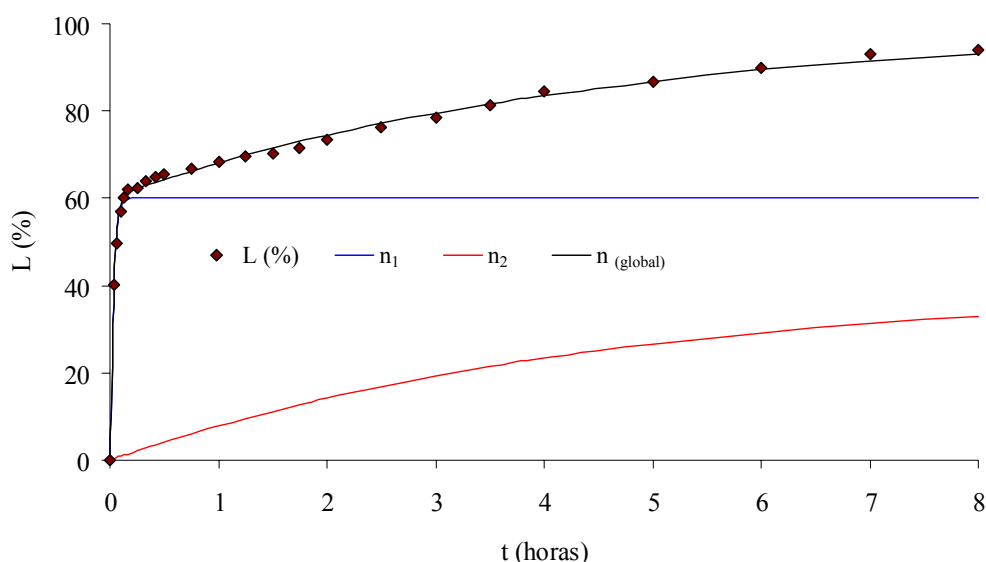
**Fig. IV.18.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Volumen: 700 mL (promedio  $\pm$  d.s.; n = 2).

Dichos resultados aparecen representados (en la forma L vs. t) en la Figura IV.18., en la que se observa un punto de inflexión (que se considera significativo) para un valor de tiempo de alrededor de entre un cuarto y media hora; punto de inflexión que sugiere la contribución de más de un proceso sencillo de desorción al proceso global de liberación. Esto no debe extrañar si se tiene en cuenta que en el proceso de retención se han puesto de manifiesto dos procesos sencillos diferenciados; uno de adsorción en la superficie de las partículas y otro, regido por difusión, en los espacios interparticulares, canales y, en su caso, en el interior de macroporos de diámetro suficientemente grande. Esta hipótesis parece confirmarse cuando se procede al ajuste de los resultados experimentales a las ecuaciones (IV.25), que considera que en el proceso global interviene sólo uno de los dos procesos sencillos mencionados, y (IV.26) que considera los dos. En el primer caso (que supone un solo proceso sencillo de desorción de orden  $n=1$  respecto de C, el valor encontrado para  $R^2 = 0,8323$ ) el ajuste no se ha considerado satisfactorio. Sin embargo el valor  $R^2 = 0,9980$  encontrado en el segundo caso (intervienen dos procesos sencillos simultáneos de desorción) nos ha llevado a considerar que entre los mencionados datos experimentales y los calculados existe una buena correlación.



## IV.2.4.2.1.1.1. Ajuste de los datos al modelo postulado (ecuación (IV.26))

Como se acaba de indicar la hipótesis resultante de suponer la contribución de dos procesos sencillos, diferenciados energéticamente, al proceso global de liberación [ecuación (IV.26) que está referida a la cantidad total liberada en el equilibrio; es decir:  $L_{\infty} = 100 \%$ ] permite definir de manera satisfactoria los resultados experimentales, como se puede observar a la vista de la Figura IV.19., en la que se han representado las curvas (L vs. t) calculadas para cada uno de los procesos sencillos (el más rápido en línea azul y el más lento en rojo) y para el proceso global (línea negra).



**Fig. IV.19.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Ajuste al modelo cinético postulado. Ecuación (IV.26). Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Volumen: 700 mL.

Conviene tener en cuenta que, como ya indicado al estudiar el proceso de retención, el denominado “proceso dos” viene sumamente influido por la difusión, lo que condiciona grandemente la cinética. De manera que, es sumamente probable, por no decir “seguro” que, en las condiciones experimentales en las que se ha operado, y dentro del intervalo de tiempo en el que se han obtenido los resultados, una gran parte del fármaco retenido permanezca en el interior de los tubos de HLC. Sin embargo, dado que la ecuación (IV.26) está referida a la cantidad total liberada en el

equilibrio, a los efectos prácticos de ajuste de los resultados (descripción del comportamiento del sistema) ello carece de significación.

Los valores encontrados para los diferentes parámetros de ajuste (considerando que en el equilibrio se ha liberado la totalidad del fármaco “liberable” en las condiciones de trabajo) son los siguientes:

| $C_{e(1)}$ (%) | $k_{d(1)}$ ( $h^{-1}$ ) | $C_{e(2)}$ (%) | $k_{d(2)}$ ( $h^{-1}$ ) | $R^2$  |
|----------------|-------------------------|----------------|-------------------------|--------|
| 60,191         | 1929,816                | 39,809         | 8,786                   | 0,9980 |

En el sistema estudiado por nosotros, y en las condiciones en que se ha operado, el proceso sencillo más rápido (línea azul, que prácticamente se completa para un valor de  $t$  de alrededor de 0,2 horas) se asigna a la desorción de las moléculas de 5-ASA adsorbidas en la superficie más externa de las partículas de HLC. Se considera que la línea roja define el comportamiento del proceso sencillo más lento, cuya menor velocidad es debida a su fuerte condicionamiento por el proceso de difusión (controlado por el gradiente de concentración) desde el interior de los tubos de HLC a la interfase sólido/líquido. En consecuencia, a partir del momento señalado ( $\approx 0,2$  horas) se puede considerar que la liberación del fármaco se debe únicamente al proceso difusivo de liberación (línea roja).

La suma de los dos procesos sencillos de desorción mencionados define el proceso global (línea negra que se correlaciona satisfactoriamente con los resultados experimentales). Si se tienen en cuenta los resultados encontrados al estudiar el proceso de retención, el hecho de que se haya encontrado que  $C_{e(2)}$  sea inferior (del orden de  $2/3$ ) sugiere que sólo se ha liberado parte del fármaco retenido en los tubos del silicato, lo que es coherente con la mayor energía de adsorción del mismo, respecto del que se encuentra unido a los centros activos de la superficie más externa de las partículas de HLC.

Aunque la propia curva de liberación (Figuras IV.18. y IV.19.) y el valor encontrado para  $R^2$  (0.9980) podría conducir a considerar satisfactorio el modelo postulado, parece necesario contrastar su bondad con el comportamiento de otros modelos

habitualmente empleados para el ajuste de cinéticas de liberación. Por ello, los resultados de la Tabla IV.XI. han sido ajustados también usando las ecuaciones correspondientes a algunos de tales modelos. En todos los casos se dibuja, junto con los resultados experimentales una línea continua negra que corresponde al ajuste de los mismos al modelo cinético postulado y que representa la ecuación (IV.26) y, por supuesto, la línea de ajuste correspondiente al modelo que se ensaya.

IV.2.4.2.1.1.2. Ajuste de los datos a la ecuación de Higuchi

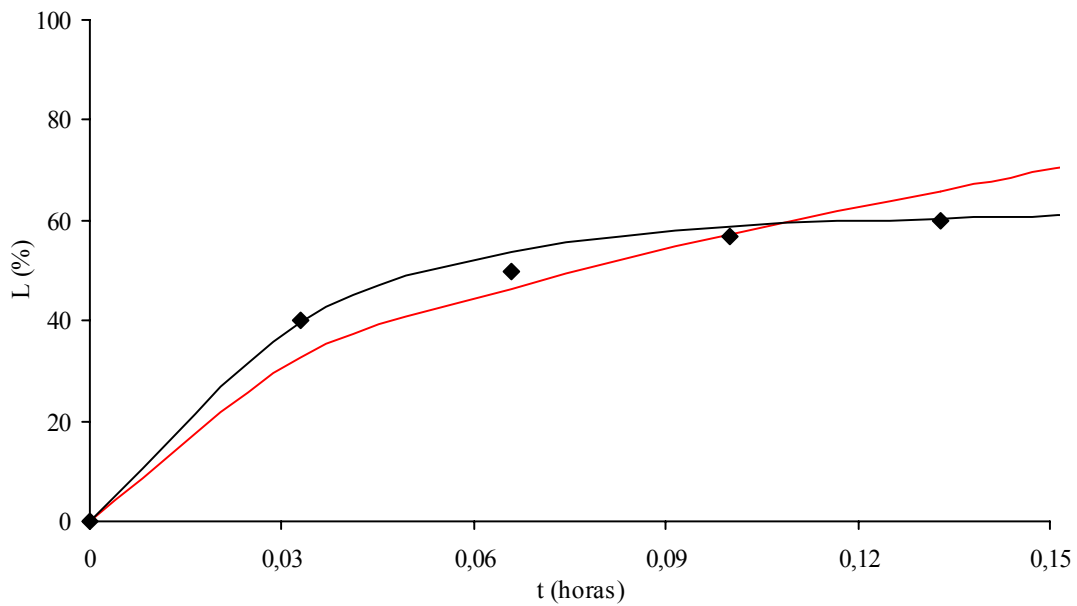
Takeru Higuchi dice textualmente en uno de sus trabajos que: “Normalmente, los cálculos difusionales son extremadamente complejos y conducen a expresiones complicadas” (Higuchi, 1961); lo que (como él mismo dice) le induce a buscar una ecuación más sencilla y útil. Con tal propósito, basándose siempre en la premisa de que el proceso de liberación viene condicionado exclusivamente por la difusión, llega a proponer una ecuación que en su forma simplificada, podemos escribir como:

$$Q = K_H \cdot t^{1/2} \quad (I.36)$$

La correlación entre el conjunto de valores experimentales encontrados por nosotros ( $t \leq 8$  horas) a la ecuación (I.36) es muy mala. Incluso no parece aceptable la correlación con dicha ecuación de unos pocos de los resultados experimentales, los de  $L < 60\%$  ( $t \leq 0,133$  horas). El correspondiente ajuste ha conducido a los siguientes resultados:

| $K_H$   | $R^2$  |
|---------|--------|
| 180,676 | 0,9577 |

(Cuando se ajusta la totalidad de los resultados,  $t \leq 8$  horas, se encuentra  $K_H = 55,59$ ).



**Fig. IV.20.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Ajuste al modelo de Higuchi ( $L < 60\%$ ). Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Volumen: 700 mL.

En la Figura IV.20. se han representado los resultados experimentales correspondientes a  $t \leq 0,133$  horas ( $L < 60\%$ ), así como una línea continua (de color rojo) resultante del ajuste de los mismos a la ecuación de Higuchi (I.36). Como se puede observar (que además es lo habitual) a valores bajos de  $t$  la línea calculada se desvía negativamente de los resultados ajustados, mientras que a valores de  $t$  más elevados lo hace positivamente. A la vista de ello se puede concluir que (al menos en el caso que nos ocupa) la ecuación de Higuchi no es adecuada para describir el comportamiento de liberación del sistema estudiado.

En realidad, el que la ecuación de Higuchi no resulte de utilidad en este caso (ni en la mayoría) hace pensar si las simplificaciones introducidas en las ecuaciones difusivas utilizadas por él fueron las adecuadas. Esta pregunta surge considerando lo siguiente:

Cuando se estudian los procesos de difusión debida a gradiente de concentración se considera que estos se rigen por la segunda ley de Fick. La integración de dicha ecuación, dependiendo de la naturaleza del sistema y de las condiciones de trabajo, conduce a ecuaciones muy diferentes y todas ellas de considerable complejidad (Jost, 1970; Crank, 1993).

Aunque, por lo anterior, frecuentemente la ecuación integrada se simplifica teniendo en cuenta las mencionadas condiciones de trabajo, dicha simplificación no puede alterar la validez de la ecuación de partida para describir el comportamiento del sistema objeto de estudio.

De entre las múltiples simplificaciones que se han realizado de las ecuaciones integradas (de la que define la segunda ley de Fick) es bien conocida la propuesta por Bangham y colaboradores (Bangham y Burt, 1924; Bangham y Sever, 1925), quienes consideran que a tiempos pequeños (inferiores a un valor pequeño  $t_p$ :  $0 < t < t_p$ ) cualquier ecuación de difusión se puede reducir a la de una parábola definida por la ecuación (IV.28):

$$\frac{n_t^s}{n_\infty} = K_s \cdot \left(\frac{t}{\tau}\right)^{1/2} = K \cdot t^{1/2} \quad (\text{IV.28})$$

que, como se puede observar es idéntica a la ecuación (I.36) de Higuchi.

En consecuencia de lo anterior, cabe pensar razonablemente que el modelo propuesto por Higuchi y descrito por la ecuación (I.36) sólo resultará adecuado, (y ello de manera aproximada) en el caso de un proceso regido únicamente por difusión debida al gradiente de concentración y sólo cuando el sistema está en el inicio; es decir, al principio de la evolución (a tiempos y/o cantidades  $L$  sumamente bajas). El aplicarla hasta  $L \leq 60$  % probablemente haya que considerarlo excesivo. Prácticamente esta misma objeción la hacen Korsmeyer y colaboradores (Korsmeyer et al., 1985).

#### IV.2.4.2.1.1.3. Ajuste de los datos a la ecuación de Peppas

Peppas y colaboradores hacen una revisión de los aspectos difusivos que llevaron a Higuchi a proponer su ecuación, y aunque, en principio, les parece aceptable que dicha ecuación tenga validez siempre que se aplique a resultados experimentales cuyos valores sean  $L = M_t / M_\infty < 0,60$  (en tanto por uno), indican que “*En muchas de las situaciones experimentales, incluyendo el caso de liberación de fármacos de sistemas poliméricos hinchables, ....., el mecanismo de difusión del fármaco se*

desvía de la ecuación “Fickiana” (resultante de la integración de la ecuación de la segunda ley de Fick) y sigue un comportamiento “no-Fickiano” (anómalo). En estos casos, proponen utilizar una “ecuación general” que es en realidad una extensión de la ecuación propuesta por Higuchi.

Esa “ecuación general” a la que hacen referencia Peppas y colaboradores es la siguiente:

$$L = \frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n \quad (\text{I.38})$$

Ecuación que uno de los autores considera que es una ecuación semiempírica, propuesta sin justificación físico-química alguna. Lógicamente, al introducir un segundo parámetro variable (n), la ecuación (I.38) debe ajustar los resultados experimentales de liberación mucho mejor que la ecuación de Higuchi; y así ocurre en la práctica; lo que la ha llevado a alcanzar una considerable aceptación. No obstante, no se debe olvidar que la ecuación (I.38) es “semiempírica” (aunque quizás sea más correcto decir “empírica”), con todo lo que ello implica si se desea profundizar en el estudio del proceso a fin de obtener información complementaria, como por ejemplo de tipo termodinámico.

El ajuste de los resultados experimentales de liberación (para  $L < 60\%$ ) a la ecuación de Peppas conduce a los valores de k y n que (junto con el correspondiente  $R^2$ ) se indican a continuación:

| k       | n    | $R^2$  |
|---------|------|--------|
| 109,096 | 0,29 | 0,9993 |

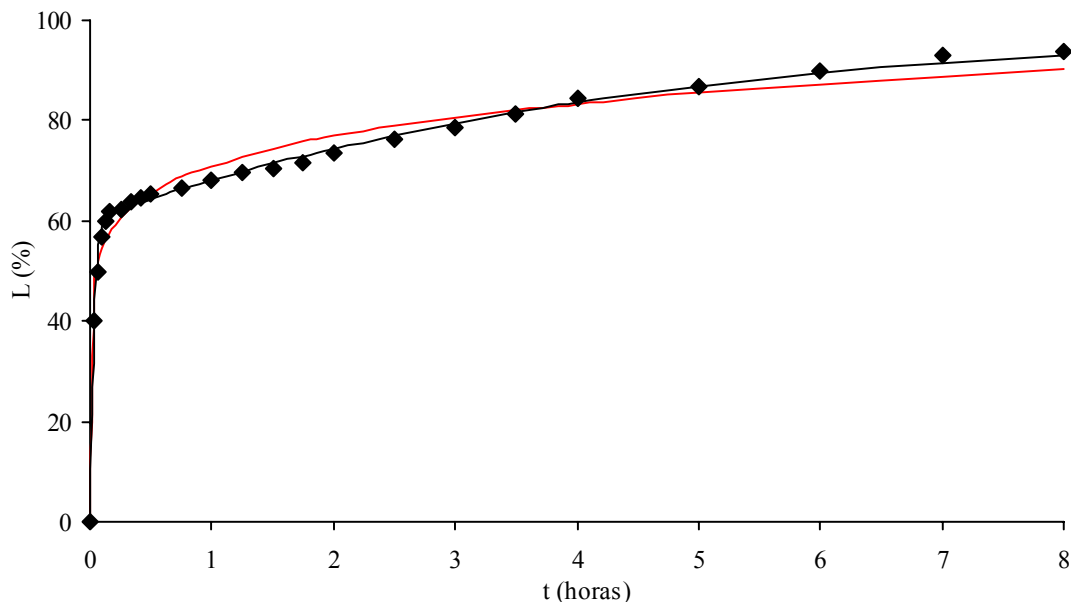
De acuerdo con la explicación dada por los propios autores, valores de  $n < 0.5$  (como en el caso que nos ocupa), se asocian a la presencia de poros en la matriz, y la consiguiente difusión simultánea a través de la matriz y a través de los poros llenos de medio de disolución (todo ello para matrices poliméricas, que son substancialmente distintas a nuestro soporte en el que no hay hinchamiento, por lo que sólo hay difusión a través de los poros, y el valor de n es mucho menor de 0.5).

Por otra parte, de acuerdo con la Figura I.1.5., sistemas constituidos por cilindros no hinchables (geometría que de alguna manera podría asemejarse a nuestro caso), presentarán valores del exponente  $n$  menores de lo inicialmente esperado.

No obstante, creemos conveniente hacer el ajuste de la totalidad de los resultados experimentales de liberación con la ecuación de Peppas, obteniendo los valores de  $k$  y  $n$  que (junto con el correspondiente  $R^2$ ) se indican a continuación:

| $k$    | $n$   | $R^2$  |
|--------|-------|--------|
| 70,997 | 0,115 | 0,9787 |

Ya a la vista del valor de  $R^2$  se aprecia (como cabía esperar) un mejor ajuste de los resultados experimentales que en el modelo de Higuchi. Obviamente, ello permite afirmar que el modelo de Peppas conduce a una mejor descripción del comportamiento del sistema de liberación en agua del 5-ASA retenido en HLC, en las condiciones experimentales en las que hemos operado.



**Fig. IV.21.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Ajuste al modelo de Peppas. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Volumen: 700 mL.

No obstante, en la Figura IV.21. se ponen de manifiesto desviaciones significativas de dichos resultados respecto de la curva teórica de Peppas resultante del ajuste.

IV.2.4.2.1.1.4. Ajuste de los datos a la ecuación de orden cero

A la vista de la Figura IV.18. se puede concluir que el ajuste de los resultados experimentales a la ecuación cinética postulada para un proceso sencillo de orden cero (I.7) carece de interés en este caso. Para  $t = 0$  ha de ser  $L = 0$  (y la correspondiente ecuación:  $(L = k t)$ ; pues si se considerase una ordenada en el origen  $(L = L_0 + k t)$ , caso en que la ecuación ajusta algo mejor los resultados correspondientes a los valores de tiempo más elevados, la propia ecuación no tiene sentido físico-químico (supondría que antes de empezar la liberación, ya había fármaco disuelto en el medio). En cualquier caso, ninguna de las dos ecuaciones ajusta en absoluto los resultados experimentales.

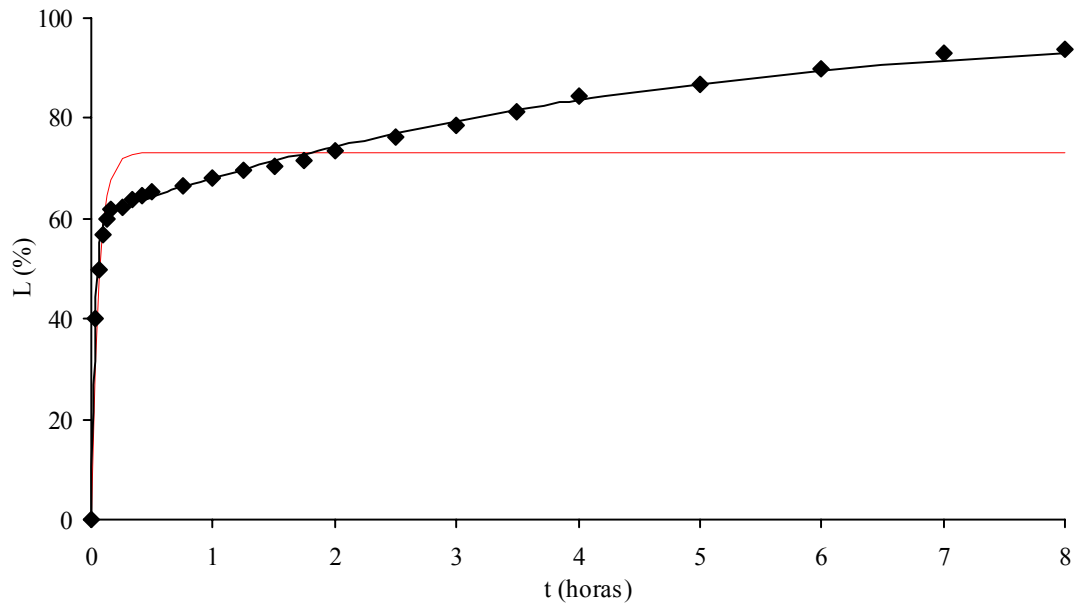
IV.2.4.2.1.1.5. Ajuste de los datos a la ecuación de orden uno

Si se supone que el proceso global de liberación es de orden parcial, respecto de  $C$  y de  $n^s$ , iguales a la unidad, la correspondiente ley cinética viene dada por la ecuación (I.13), que recordamos es igual a la (IV.25). El ajuste de los resultados experimentales a dicha ecuación ha permitido calcular, para los parámetros de esa ecuación, los valores que se indican a continuación:

| $C_e$  | $k_{d(t)}$ | $R^2$  |
|--------|------------|--------|
| 73,143 | 1182,974   | 0,8323 |

A la vista de valor de  $R^2$  se pone de manifiesto la escasa correlación existente entre resultados experimentales y calculados, como se puede observar en la Figura IV.22.





**Fig. IV.22.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Ajuste al modelo de un solo proceso de cinética de orden uno. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Volumen: 700 mL.

Lo cual sugiere que, muy probablemente, el proceso global de liberación incluye más de un proceso sencillo, según se apuntó ya al hacer referencia a la Figura IV.18., al principio de este apartado.

#### IV.2.4.2.1.1.6. Ajuste de los datos a la ecuación de Weibull

La ecuación de Weibull (I.65) se escribe a menudo en la forma:

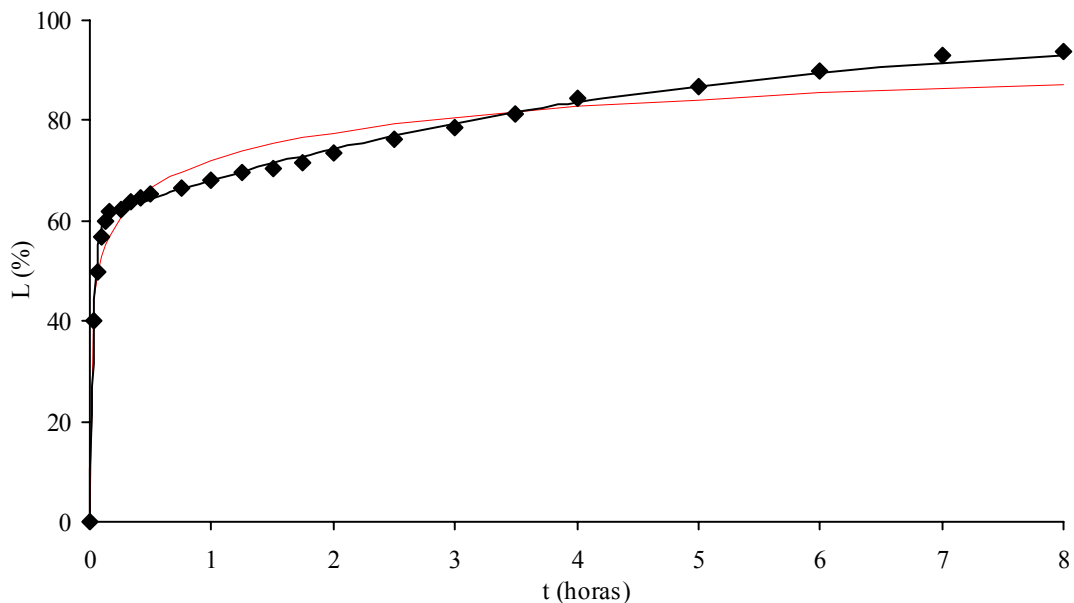
$$m = 1 - \exp\left[-\frac{(t-T_i)^b}{a}\right] \quad (\text{I.65})$$

en la que  $a$  y  $b$  son constantes propias del sistema. Hay que recordar que ésta es una forma aproximada de la ecuación general deducida por Weibull para el estudio estadístico de “poblaciones” diversas (ecuaciones (I.62), (I.63) y (I.64)). Inevitablemente, la aproximación que conduce a (I.65) limita, en menor o mayor medida, la bondad de los posibles ajustes, pudiendo llegar, incluso, a errores (o diferencias de correlación) significativas.

En la Figura IV.23. aparecen representados los resultados experimentales de liberación junto a la línea (roja) definida por la ecuación (I.65). Los parámetros de ajuste encontrados son los siguientes:

| $L_e$ | $b$   | $a$ (h) | $R^2$  |
|-------|-------|---------|--------|
| 100   | 0,229 | 0,783   | 0,9625 |

A la vista de estos resultados y, especialmente, de la Figura IV.23., prácticamente se puede decir lo mismo que en el caso del modelo de Peppas; que, al menos bajo un punto de vista cualitativo, el modelo de Weibull describe de manera “razonable” el proceso de liberación en agua del 5-ASA retenido en HLC, en las condiciones experimentales en las que hemos operado, si bien el grado de correlación entre resultados experimentales y calculados es algo mejor usando el modelo de Peppas.



**Fig. IV.23.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Ajuste al modelo de Weibull. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Volumen: 700 mL.

El valor del parámetro  $b$  ( $<1$ ) es característico de una curva con efecto “burst” inicial, correspondiendo a la liberación del fármaco retenido en la superficie de las partículas.

Respecto de la relación lineal entre el parámetro b de Weibull y n de Peppas propuesta por Kosmidis y colaboradores (véase apartado I.1.3.2.1.), de acuerdo con nuestros resultados parece más adecuado el valor de n obtenido con la totalidad de los datos experimentales de liberación ( $n = 0.115$ ).

#### IV.2.4.2.1.1.7. Ajuste de los datos a la ecuación de Hixson-Crowell

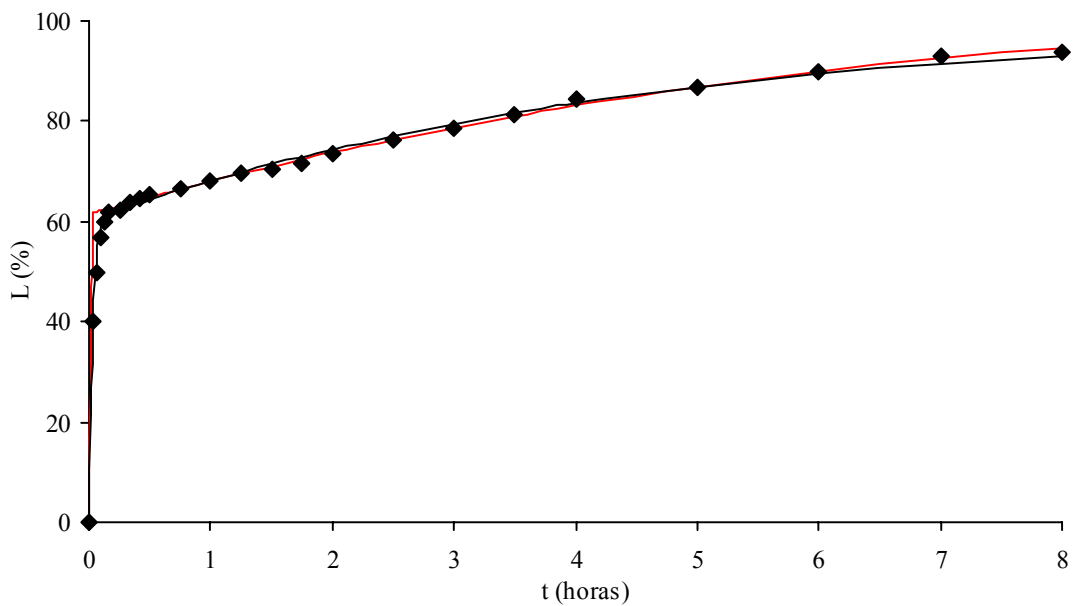
Como discutimos en la introducción de esta memoria, en 1931, A. W. Hixson y J. H. Crowell proponen “... una ley nueva (la ley de la raíz cúbica) de consideraciones teóricas en las que la velocidad de disolución de un sólido en un líquido se expresa en función de la superficie y concentración”, de la que proponen asimismo diferentes aproximaciones. Una de ellas, correspondiente al caso 2 (véase apartado I.1.3.1.3.) que define el proceso de disolución de una partícula de una población monodispersa de partículas (todas las partículas dispersas en un líquido son del mismo tamaño) y (adaptada a la terminología que venimos utilizando), se puede escribir en la forma:

$$k_d t = (Q_0^{1/3} - Q^{1/3}) \quad (I.24)$$

donde  $Q_0 = L_e$  es la concentración del medio de disolución en el equilibrio y  $k_d$  la constante o velocidad específica de disolución.

Los resultados experimentales y la línea de ajuste de los mismos a la ecuación anterior aparecen representados en la Figura IV.24. Los valores encontrados en dicho ajuste para  $L_e$  ( $Q_0$ ) y  $k_d$  son los siguientes:

| $L_e$ (%) | $k_d$ | $R^2$  |
|-----------|-------|--------|
| 38,484    | 0,203 | 0,9957 |



**Fig. IV.24.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Ajuste al modelo de Hixson-Crowell. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Volumen: 700 mL.

Si se atiende al valor de  $R^2$  indicado, se puede decir que, de todos los modelos ensayados (a excepción del modelo de desorción propuesto en esta Tesis) es éste el que mejor describe el proceso estudiado. Sin embargo eso no es cierto, pues para el cálculo de los parámetros antes indicados se han despreciado todos los valores experimentales correspondientes a tiempos inferiores a 0,16 horas y sólo se han ajustado aquellos otros en los que  $t \geq 0,16$  horas y de  $L \geq 62,04\%$ . Cuando se opera usando todos los datos, la correlación encontrada para el modelo de la “raíz cúbica” es mucho peor ( $R^2 = 0,8188$ ), correspondiendo las máximas desviaciones a los valores de  $t$  más bajos ( $L < 62\%$ ). En consecuencia, a la hora de describir el comportamiento del sistema objeto de estudio, la bondad real de este método no es la que cabe deducir a la vista de la figura IV.24. y de los valores de  $L_e$ ,  $k_d$  y  $R^2$  expresados.

En realidad, no es extraño que la ecuación de Hixson-Crowell no ajuste correctamente toda la población de datos experimentales obtenidos por nosotros. En el desarrollo de la ecuación original los autores suponen que el proceso global viene condicionado por un solo proceso de disolución de una población monodispersa de partículas, proceso que transcurre de forma irreversible; así como que la

concentración de la fase disolución permanece constante. Basta comparar estas premisas con “nuestro sistema”, donde el fármaco retenido se encuentra inicialmente en la superficie y en el interior de los poros y/o tubos del sólido y en el que la concentración del mismo en el medio de disolución va aumentando en función del tiempo, para comprender que la correlación entre los resultados experimentales y la curva calculada mediante la ecuación de Hixson-Crowell no sea excesivamente buena.

#### IV.2.4.2.1.1.8. Ajuste de los datos a la ecuación de Peppas y Sahlin

Con el objetivo de conseguir un mejor ajuste de los resultados experimentales de liberación, Peppas y Sahlin proponen en 1989 un modelo que considera que en el proceso global de liberación del fármaco retenido por el sólido intervienen dos procesos más sencillos: uno “Fickiano (debido fundamentalmente a difusión) y otro de relajación de la matriz del sólido (que en su caso es polimérico). Dicha ecuación la expresan en la forma:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = L = k_1 \cdot t^m + k_2 \cdot t^{2m} \quad (I.49)$$

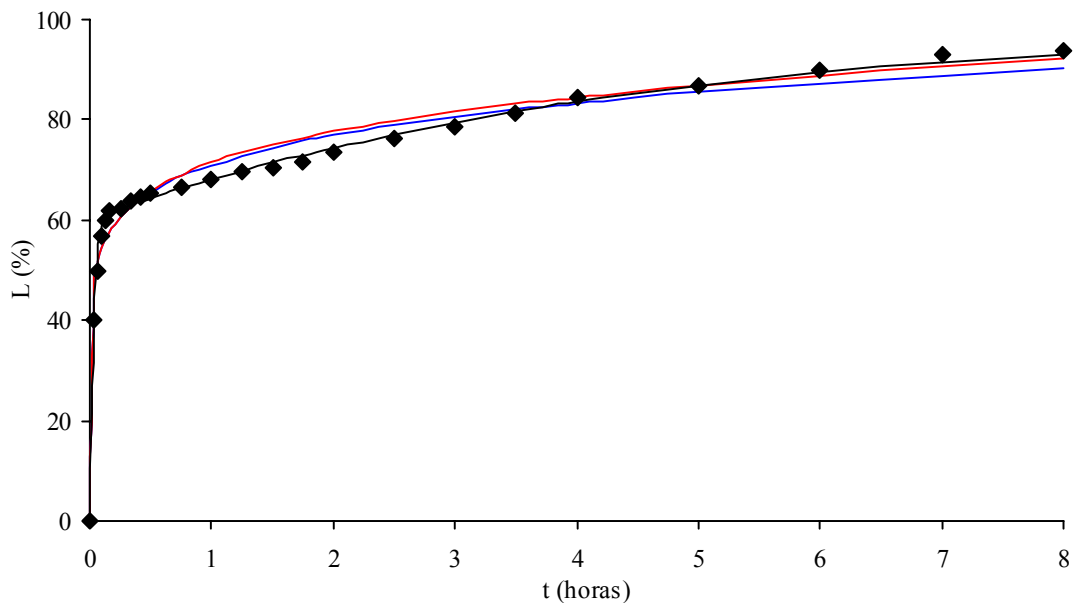
en la que  $k_1$ ,  $k_2$  y  $m$  son constantes.

El ajuste de los resultados experimentales obtenidos por nosotros a la ecuación de Peppas y Sahlin ha permitido calcular (para los parámetros de la misma) los valores siguientes, dependiendo de que ajustemos sólo parte ( $L < 60\%$ ) o la totalidad de los datos:

|          | $k_1$  | $m$   | $k_2$   | $R^2$  |
|----------|--------|-------|---------|--------|
| L < 60 % | 63,010 | 0,098 | 166,893 | 0,9994 |
| L 100 %  | 47,769 | 0,087 | 23,102  | 0,9797 |

La representación de los resultados experimentales y de la línea (roja) resultante del ajuste aparece en la Figura IV.25., en la que también se ha incluido (con fines

comparativos) la línea (azul) correspondiente al ajuste a la ecuación de Peppas (antes discutida).



**Fig. IV.25.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Ajuste a los modelos de Peppas (azul) y de Peppas y Sahlin (roja). Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Volumen: 700 mL.

Si se comparan los valores de  $R^2$  encontrados para los ajustes de los resultados a las ecuaciones de Peppas ( $R^2 = 0,9787$ ) y de Peppas y Sahlin ( $R^2 = 0,9797$ ), ambas empíricas o semiempíricas, se podría decir que el ajuste es algo mejor en el segundo caso; sin embargo la diferencia es despreciable. En cuanto a las diferencias resultantes del empleo de una u otra ecuación (a la vista de la Figura IV.25) parece que la primera de ellas se desvía más (de los resultados que ajusta) en la zona de valores altos de  $t$ , mientras que la segunda se desvía más para valores bajos de  $t$ ; a valores intermedios de  $t$  las desviaciones de ambas son semejantes. No obstante, siendo un sistema no hinchable, era de esperar la similitud encontrada en el ajuste con cualquiera de las dos ecuaciones.

Por último, respecto de los valores de  $n$  y  $m$  obtenidos, son del todo explicables, dado que no se trata de una matriz hinchada y la difusión tiene lugar a través de los poros, lo que reduce el valor del exponente por debajo de 0,5.

## IV.2.4.2.1.2. Comparación de modelos

En el apartado anterior se han analizado las bondades de diferentes modelos propuestos para describir el proceso global de liberación en medio acuoso de una especie química (5-ASA) retenida en un sólido (HLC). Como resumen de aquello (sin olvidar todo lo dicho) quizás resulte de utilidad comparar los valores de  $R^2$  correspondientes a los diferentes ajustes de la totalidad de los resultados experimentales; así como los valores de  $R^2_{\text{ajustado}}$  y del parámetro AIC, por su mayor capacidad comparativa (véase apartado I.1.4.). Los valores obtenidos para los citados parámetros estadísticos se incluyen en la tabla IV.XII.

**Tabla IV.XII.** Valores de parámetros estadísticos correspondientes a los ajustes de la totalidad (o parte) de los resultados experimentales de liberación a las ecuaciones de los modelos que se indican.

| Modelo  | $R^2$           | $R^2_{\text{ajustado}}$ | AIC             |
|---|-----------------|-------------------------|-----------------|
| Higuchi ( $L \leq 60\%$ )                             | 0,9577          | 0,9577                  | 331,57          |
| Peppas ( $L \leq 60\%$ / totalidad de datos)          | 0,9993 / 0,9787 | 0,9993 / 0,9777         | 118,20 / 134,60 |
| Orden $n=1$   | 0,8323          | 0,8247                  | 187,26          |
| Weibull   | 0,9625          | 0,9608                  | 135,31          |
| Raíz cúbica ( $t \geq 0,16$ h / totalidad de datos)   | 0,9957 / 0,8188 | 0,9955 / 0,8106         | 159,51          |
| Peppas y Sahlin ( $L \leq 60\%$ / totalidad de datos) | 0,9994 / 0,9797 | 0,9993 / 0,9778         | 118,91 / 133,30 |
| Modelo postulado                                      | 0,9980          | 0,9978                  | 88,38           |

Los valores de la Tabla IV.XII. son lo suficientemente explícitos como para sugerir que el modelo (de los ensayados) que mejor correlación establece con los resultados experimentales es el propuesto en esta Tesis. Y esto se confirma cuando se revisan las Figuras IV.19. a IV.25., en las que junto con los resultados experimentales se dibuja una línea continua negra que corresponde al ajuste de los mismos al modelo cinético postulado y que representa la ecuación (IV.26).

Por otra parte, a la hora de estudiar el sistema 5-ASA retenido en HLC/Agua, no parecen ser de utilidad los modelos de Higuchi, de orden cero, de orden uno, ni

quizás (para la totalidad de los resultados) el de la “raíz cúbica”. Por otra parte, nos parece que la utilización de otros modelos empíricos debe restringirse en lo posible, empleándolos únicamente en casos en que no se pueda llegar a uno con sentido físico-químico y coherencia físico-matemática (de la ecuación representativa de ese modelo).

En nuestra opinión:

- una ecuación empírica sólo ajusta los resultados;
- si los parámetros de la misma carecen de sentido físico-químico no suministran ninguna información acerca del proceso objeto de estudio;
- para proponer una ecuación empírica no es necesario conocer el mecanismo del proceso, ni siquiera la naturaleza del mismo.

Como ejemplo de lo último, y referido al caso que nos ocupa, a la vista de la Figura IV.18. se puede apreciar que la forma de la curva de liberación es muy parecida, cualitativamente, a una isoterma de adsorción  $n^s$  vs.  $C$ , con “escalón” indicativo de que hay dos procesos sencillos. En principio, a la vista de la forma de la citada curva, cabe pensar en la posibilidad de que se ajuste a una ecuación empírica “derivada” de alguna, o varias, de las ecuaciones que ajustan las isotermas de equilibrio ( $n^s$  vs.  $C$ ), convenientemente transformadas (sustituyendo  $C$  por  $t$ ; y otros términos). Así, por ejemplo, la curva de la Figura IV.18. quizás se podría ajustar a ecuaciones empíricas derivadas de las ecuaciones de Langmuir (Langmuir, 1918) y de Freundlich (Freundlich, 1926). En el primer caso, podemos plantear a partir de la ecuación de Langmuir la siguiente ecuación:

$$L = \frac{L_{e(t)} \cdot k_{(t)} \cdot t}{1 + k_{(t)} \cdot t} \quad (\text{IV.29})$$

y si se considera la existencia de dos procesos sencillo simultáneos, obtendremos la siguiente ecuación empírica de tres parámetros:



$$L = \frac{L_{e(1)} \cdot k_{(1)} \cdot t}{1 + k_{(1)} \cdot t} + \frac{(100 - L_{e(1)}) \cdot k_{(2)} \cdot t}{1 + k_{(2)} \cdot t} \quad (\text{IV.30})$$

referida a la cantidad total liberada, considerada como  $L_e = L_{e(1)} + L_{e(2)} = 100\%$ .

Cada uno de los términos del segundo miembro de dicha ecuación resulta de sustituir en la de equilibrio de Langmuir,  $n_e^s$  por  $L_e$ ,  $K$  por  $k$  y  $C$  por  $t$ . Naturalmente en la ecuación empírica que resulta (IV.30)  $k$  es una constante sin significado físico-químico.

El ajuste de los resultados experimentales ( $L$ ,  $t$ ) a la ecuación empírica (IV.30) ha conducido a los siguientes resultados:

| $L_{e(1)}$ (%) | $L_{e(2)}$ (%) | $k_{(1)}$ | $k_{(2)}$ | $R^2$  |
|----------------|----------------|-----------|-----------|--------|
| 62,683         | 37,317         | 60,519    | 0,275     | 0,9897 |

Si se compara el valor de  $R^2$  encontrado para este ajuste con los que aparecen en la Tabla IV.XII., se observa que, esta ecuación empírica, postulada aquí por nosotros, ajusta los resultados experimentales mejor que cualquiera de las otras tomadas de la bibliografía, sin que por ello se pueda considerar más adecuada para describir el proceso; ya que, como la mayoría de las ecuaciones empíricas, las constantes que aparecen en la misma carecen de significado físico-químico relacionado con el proceso objeto de estudio. Y no por eso pretendemos que esta ecuación empírica pueda ser considerada válida para el estudio de los procesos de liberación de fármacos.

Si se parte de la ecuación de Freundlich ( $n^s = K_F \cdot C^n$ ), y se procede de manera semejante a la indicada en el caso anterior, para un solo proceso sencillo se obtiene la ecuación empírica:

$$L = k \cdot t^n \quad (\text{IV.31})$$

que coincide con la ecuación de Peppas (I.38). Y si se supone la existencia de dos procesos sencillos, conduce a:

$$L = k_1 \cdot t^{n_1} + k_2 \cdot t^{n_2} \quad (\text{IV.32})$$

ecuación que, si se hace  $2n_2 = n_1$ , coincide con la Peppas-Sahlin (I.49).

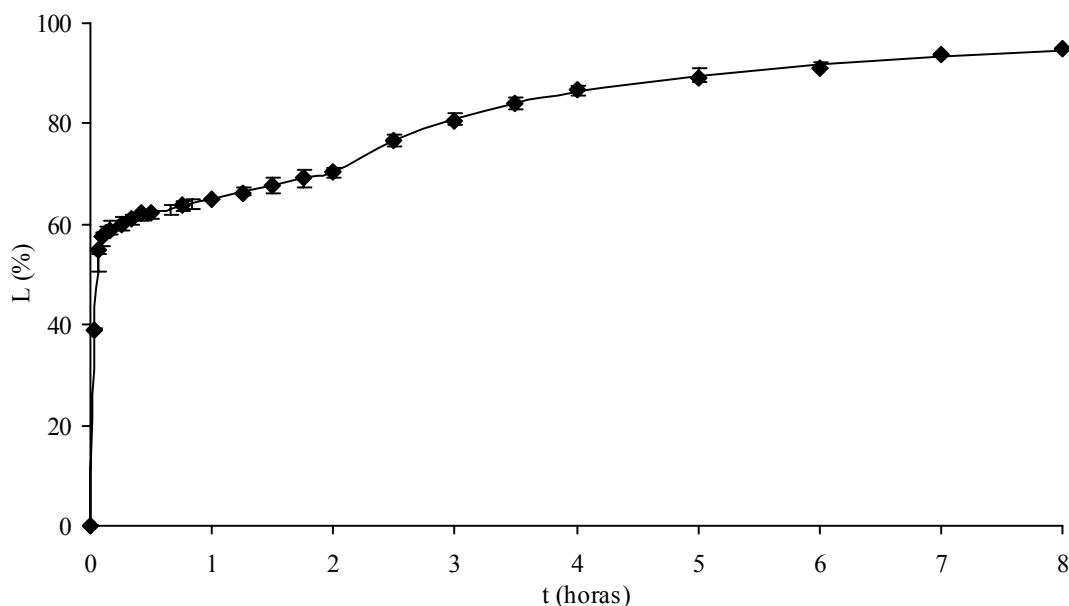
Por otra parte, es bien sabido que (como suele decir un profesor de esta Facultad a sus alumnos) en Ciencia no hay verdades absolutas ni inmutables y que cualquier modelo propuesto para describir un sistema, o su comportamiento, es algo provisional y susceptible de variación tan pronto como surjan razones para ello, u otro modelo que los describa mejor. Dice asimismo que cualquier modelo, incluso el que mejor describa un sistema, probablemente no corresponde “a la verdad”; pero si el modelo no describe esa realidad es obvio que no es correcto y debe ser rechazado. De acuerdo con esto se puede decir que probablemente ninguno de los modelos ensayados por nosotros describa de manera veraz toda la realidad del sistema estudiado y su comportamiento: pero es obvio que (aunque sea de manera provisional) el que mejor lo describe es el que supone que en el proceso global de liberación intervienen dos procesos sencillos de desorción controlados por difusión: uno, más rápido, de liberación del adsorbido unido a la superficie más externa de las partículas de sólido, y otro, más lento (por una mayor contribución de los condicionamientos difusivos) de liberación del fármaco que se encuentra en el espacio intraparticular o (en su caso) en el interior de grandes macroporos o tubos de las partículas de HLC. Este modelo tiene fundamento físico-químico, pues las ecuaciones finales a las que llega son consecuencia (de la integración) de ecuaciones diferenciales planteadas según lo establecido por la “cinética formal” para procesos reversibles de adsorción/desorción de órdenes parciales iguales a la unidad respecto de la concentración de fármaco disuelto y retenido por el sólido adsorbente; es decir, no se trata de ecuaciones empíricas.

En consecuencia de todo lo anterior (y a fin de no alargar innecesariamente el análisis y discusión de los resultados experimentales), nos parece oportuno utilizar, en lo sucesivo, únicamente el mencionado modelo de “desorción”.

#### IV.2.4.2.2. Ajuste de las curvas de liberación con el modelo seleccionado

##### IV.2.4.2.2.1. Sistema 5-ASA-HLC-30/Agua. Volumen: 525 mL (0-2 h), 700 mL (2-8 h)

Como ya se ha dicho antes, con el objetivo de poner de manifiesto la influencia del volumen inicial de medio de disolución y de una dilución posterior (añadido de un volumen adicional de agua a las dos horas de iniciarse el proceso), sobre la cinética de liberación del 5-ASA desde los productos de interacción, se ha realizado el experimento cuyos resultados aparecen en la Tabla IV.XIII. y representados (en la forma L vs. t) en la Figura IV.26.



**Fig. IV.26.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Volumen: 525 mL (0-2 h), 700 mL (2-8 h) (promedio  $\pm$  d.s.;  $n = 2$ ).

A primera vista, en esta figura se observa un punto de inflexión muy marcado para un valor de tiempo de dos horas, que se puede asignar fácilmente al efecto de dilución del medio en contacto con el sólido disperso. No obstante, si se amplía la

figura se aprecia también un punto de inflexión (mucho menos acentuado que el anterior) que, como ya se ha dicho en el apartado anterior, para  $V_{\text{constante}} = 700 \text{ mL}$ , sugiere que en el proceso de liberación intervienen más de un proceso sencillo de desorción.

**Tabla IV.XIII.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua.

| $V_{\text{agua}} \text{ (mL)}$ | $t \text{ (h)}$ | $L \text{ (\%)}$ |
|--------------------------------|-----------------|------------------|
| 525                            | 0,000           | 0,000            |
|                                | 0,033           | 39,001           |
|                                | 0,066           | 54,762           |
|                                | 0,100           | 57,643           |
|                                | 0,133           | 58,241           |
|                                | 0,160           | 58,731           |
|                                | 0,250           | 59,762           |
|                                | 0,330           | 61,093           |
|                                | 0,416           | 62,074           |
|                                | 0,500           | 62,342           |
|                                | 0,750           | 63,650           |
|                                | 1,000           | 64,900           |
|                                | 1,250           | 66,021           |
|                                | 1,500           | 67,693           |
|                                | 1,750           | 69,422           |
|                                | 2,000           | 70,294           |
| 700                            | 2,500           | 76,701           |
|                                | 3,000           | 80,730           |
|                                | 3,500           | 84,242           |
|                                | 4,000           | 86,910           |
|                                | 5,000           | 89,171           |
|                                | 6,000           | 91,071           |
|                                | 7,000           | 93,613           |
|                                | 8,000           | 94,920           |

L (%): tanto por ciento liberado (promedio,  $n = 2$ ).

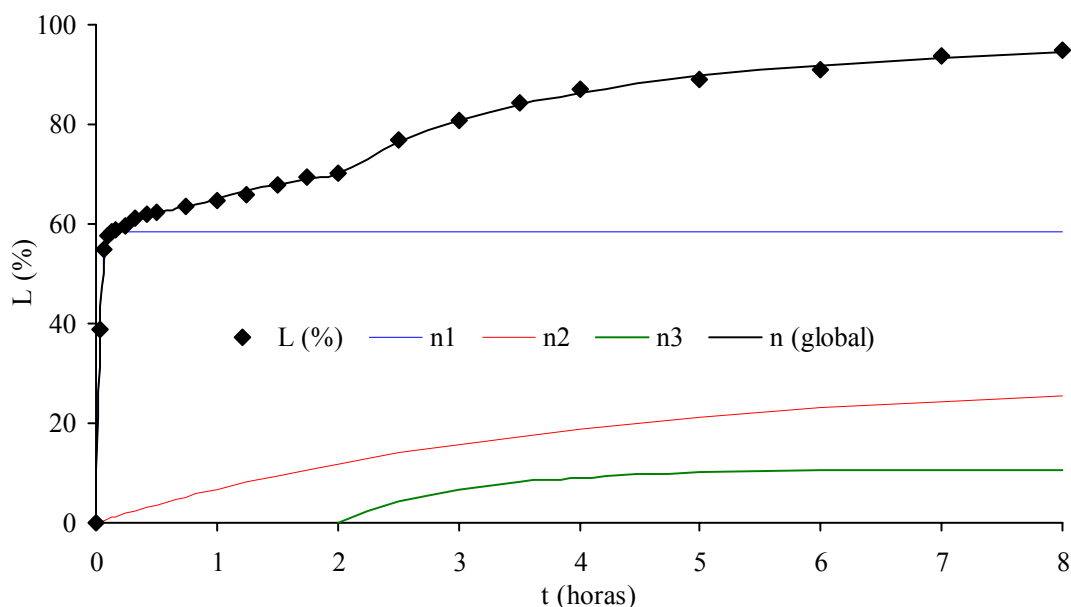
Buscando una mayor claridad, se analizarán separadamente los tramos de la curva de liberación (L vs. t) correspondientes a  $t \leq 2$  horas y a  $t \geq 2$  horas.

Tramo inicial de la curva L vs. t ( $t \leq 2$  horas)

Teniendo en cuenta todo lo dicho en el apartado IV.2.4.2.1.1. (Sistema 5-ASA-HLC/Agua  $V = 700$  mL), los resultados experimentales de liberación correspondientes a  $t \leq 2$  horas han sido ajustados a la ecuación (IV.26), encontrando para los parámetros de la misma los valores siguientes:

| $C_{e(1)}$ (%) | $k_{d(1)}$ ( $h^{-1}$ ) | $C_{e(2)}$ (%) | $k_{d(2)}$ ( $h^{-1}$ ) | $R^2$  |
|----------------|-------------------------|----------------|-------------------------|--------|
| 58,384         | 1936,578                | 28,898         | 7,638                   | 0,9995 |

El valor encontrado para  $k_{d(1)}$  es prácticamente el mismo que en el caso anterior ( $V = 700$  mL), lo que no debe extrañar, si se tiene en cuenta que este “primer proceso” es muy rápido y se completa a un valor de  $t$  muy bajo (inferior a una 0,2 horas), lo que sugiere una gran afinidad del disolvente (agua) por el fármaco retenido, lo que hace que la liberación del fármaco unido a la superficie más externa del adsorbente sea muy fácil y rápida. El valor de  $k_{d(2)}$  encontrado ahora es algo inferior al del experimento anterior (con  $V = 700$  mL) lo que es coherente con el menor volumen de agua que se ha puesto en el segundo caso. Por esta misma razón, los valores de  $C_{e(1)}$  y de  $C_{e(2)}$  son inferiores a los encontrados para el experimento anterior.



**Fig. IV.27.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Ajuste al modelo postulado. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Volumen: 525 mL (0-2 h), 700 mL (2-8 h).

Las curvas L vs. t calculadas para cada uno de los procesos sencillos de desorción postulados aparecen representadas (línea azul: proceso rápido; línea roja: proceso lento) en la Figura IV.27. La línea negra corresponde a la suma de las dos curvas anteriores y define el proceso global.

Tramo final de la curva ( $t \geq 2$  horas)

A la hora de ajustar los resultados experimentales correspondientes a  $t \geq 2$  horas se ha de tener en cuenta que el denominado “proceso sencillo rápido” (correspondiente a la extracción del fármaco unido a los centros activos de la superficie más externa de HLC) ya no tiene vigencia, por lo que el proceso global debe venir condicionado por un solo proceso sencillo de desorción influido de manera considerable por la difusión (“proceso sencillo más lento”) definido por la ecuación:

$$L = 1 - \exp\left(\frac{-k_d \cdot t}{L_e}\right) \quad (\text{IV.25})$$

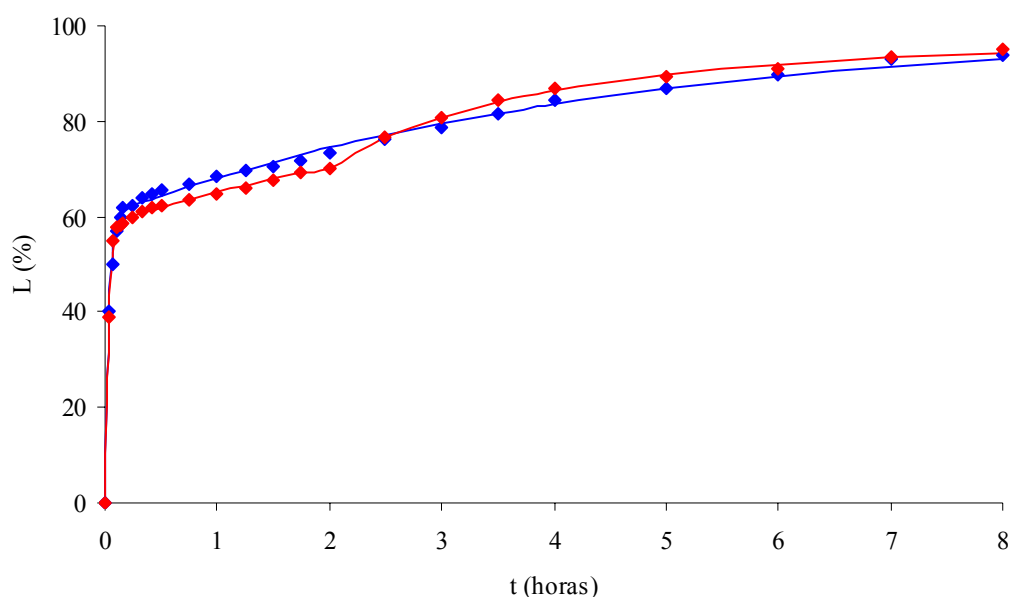
Como así ocurre en la realidad.

El correspondiente ajuste de los resultados experimentales ha permitido calcular, para el “tercer proceso sencillo” (línea verde de la Figura IV.27.) los valores de  $C_{e(3)}$  y  $k_{d(3)}$  que se indican:

| $C_{e(3)}$ | $k_{d(3)}$ | $R^2$  |
|------------|------------|--------|
| 10,589     | 10,665     | 0,9860 |

Debido al efecto de dilución (y al consiguiente incremento del gradiente de concentración) la difusión del fármaco hacia el medio de disolución se acelera, razón por la cual  $k_{d(3)}$  toma un valor más elevado que  $k_{d(2)}$ . La suma de los valores encontrados para la adición  $C_{e(1)} + C_{e(2)} + C_{e(3)}$  fue del 97,87 %.

Con fines comparativos se han representado las curvas de liberación de 5-ASA en agua partiendo de 700 mL (línea azul) y cuando el volumen inicial es de 525 mL y al cabo de dos horas se añaden 175 mL (línea roja) (Figura IV.28.). Se aprecia que a tiempos inferiores a dos horas (y hasta unas 2,5 horas) la cantidad liberada es, como cabía esperar, mayor en el primer caso (debido al mayor volumen de agua, y gradiente de concentración más alto). Sin embargo, a tiempos más elevados (cuando ya el volumen de agua es de 700 mL en ambos casos) las dos curvas son prácticamente coincidentes (se considera que las pequeñas diferencias observadas carecen de significación; podrían deberse a errores experimentales acumulados).



**Fig. IV.28.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: Agua. Línea azul: 700 mL. Línea roja: 525 mL (0-2 h), 700 mL (2-8 h). Los puntos representan los datos experimentales y las líneas el ajuste.

#### IV.2.4.2.2.2. Sistemas 5-ASA-HLC/HCl 0,1 N. Volumen: 700 mL

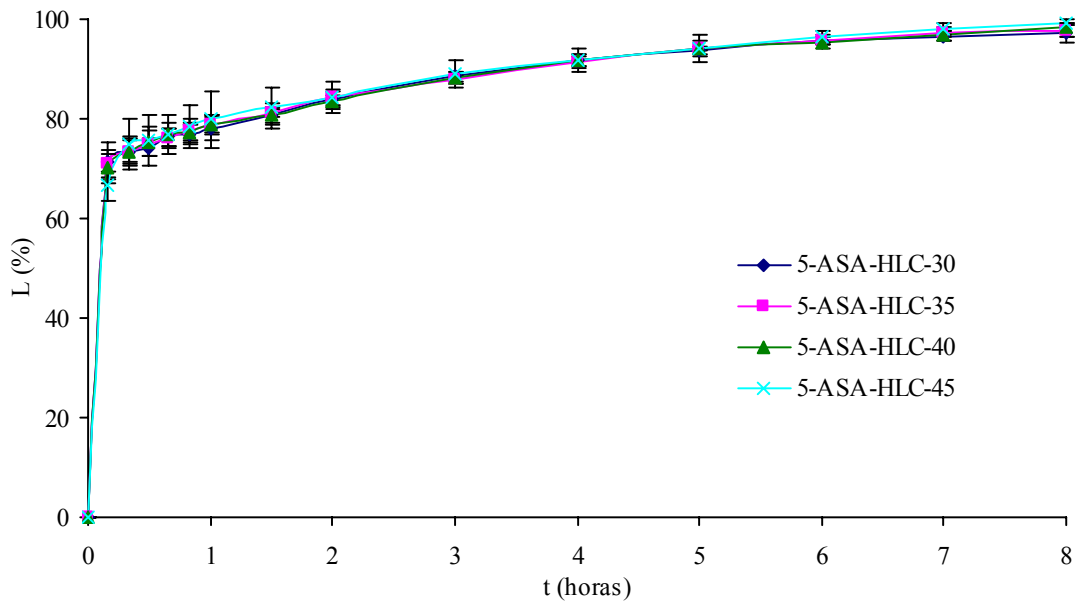
La liberación de 5-ASA retenido en HLC, cuando el medio era una disolución acuosa 0,1 N de HCl, se ha realizado con cuatro diferentes preparados, dependiendo de la temperatura de obtención (30, 35, 40 y 45 °C  $\pm$ 0,1 °C). Con ello se ha pretendido obtener información acerca de la posible diferencia (si la hubiera) de la magnitud de la interacción entre el 5-ASA adsorbido y los centros activos de HLC utilizada como adsorbente. Los resultados obtenidos (Tabla IV.XIV.), representados en la Figura

IV.29. sugieren que, aparentemente, no hay variaciones significativas de comportamiento entre las cuatro muestras.

**Tabla IV.XIV.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Medio de disolución: HCl 0,1 N.

| t (h) | L (%)        |              |              |              |
|-------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|       | 5-ASA-HLC-30 | 5-ASA-HLC-35 | 5-ASA-HLC-40 | 5-ASA-HLC-45 |
| 0,000 | 0,000        | 0,000        | 0,000        | 0,000        |
| 0,160 | 71,438       | 71,136       | 70,003       | 66,600       |
| 0,330 | 73,510       | 73,415       | 73,523       | 74,857       |
| 0,500 | 74,197       | 75,073       | 75,468       | 75,740       |
| 0,660 | 76,333       | 76,116       | 76,878       | 76,860       |
| 0,830 | 77,003       | 77,612       | 77,413       | 78,558       |
| 1,000 | 78,130       | 78,634       | 78,944       | 79,843       |
| 1,500 | 80,980       | 81,268       | 80,735       | 82,238       |
| 2,000 | 83,830       | 84,158       | 83,702       | 84,327       |
| 3,000 | 88,475       | 87,975       | 88,205       | 89,125       |
| 4,000 | 91,678       | 91,553       | 91,778       | 91,828       |
| 5,000 | 93,673       | 94,108       | 94,030       | 94,110       |
| 6,000 | 95,690       | 95,715       | 95,418       | 96,448       |
| 7,000 | 96,533       | 97,070       | 97,020       | 98,148       |
| 8,000 | 97,170       | 97,720       | 98,315       | 99,350       |

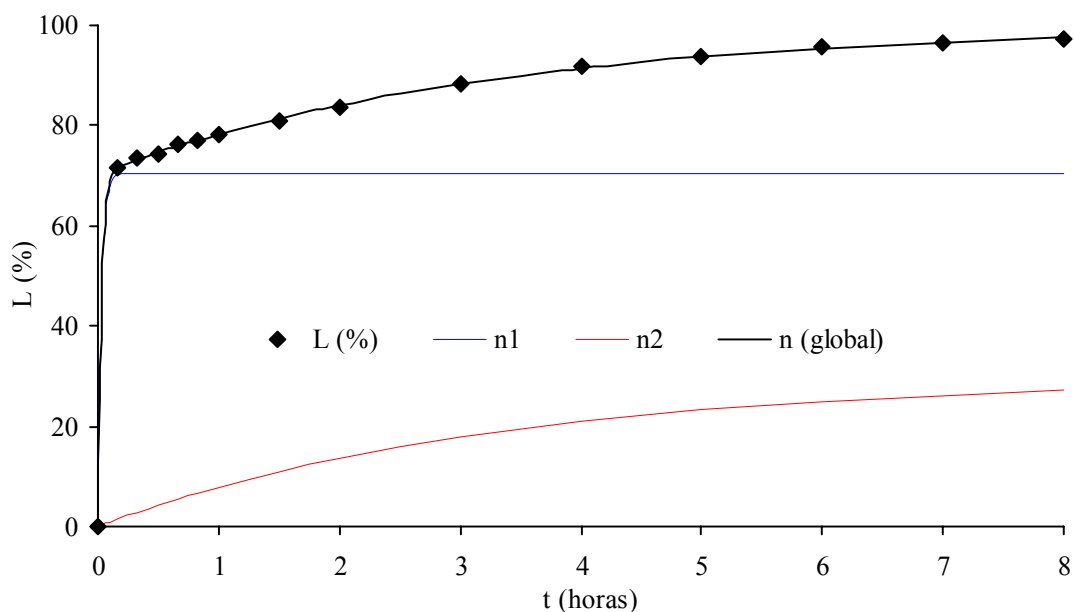
L (%): tanto por ciento liberado (promedio, n = 6).



**Fig. IV.29.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Medio de disolución: HCl 0,1 N. Volumen: 700 mL; promedio  $\pm$  d.s.; n = 6.



Los resultados experimentales (L vs. t) de todas, y cada una, de las curvas se ajustan satisfactoriamente a la ecuación (IV.26) correspondiente al modelo postulado. Las líneas continuas que aparecen en la Figura IV.29. corresponden a las curvas de ajuste globales calculadas. En la Figura IV.30. se representan, a título de ejemplo, las curvas global y particulares de los procesos de liberación postulados aplicados a los datos del producto de interacción 5-ASA-HLC-30.



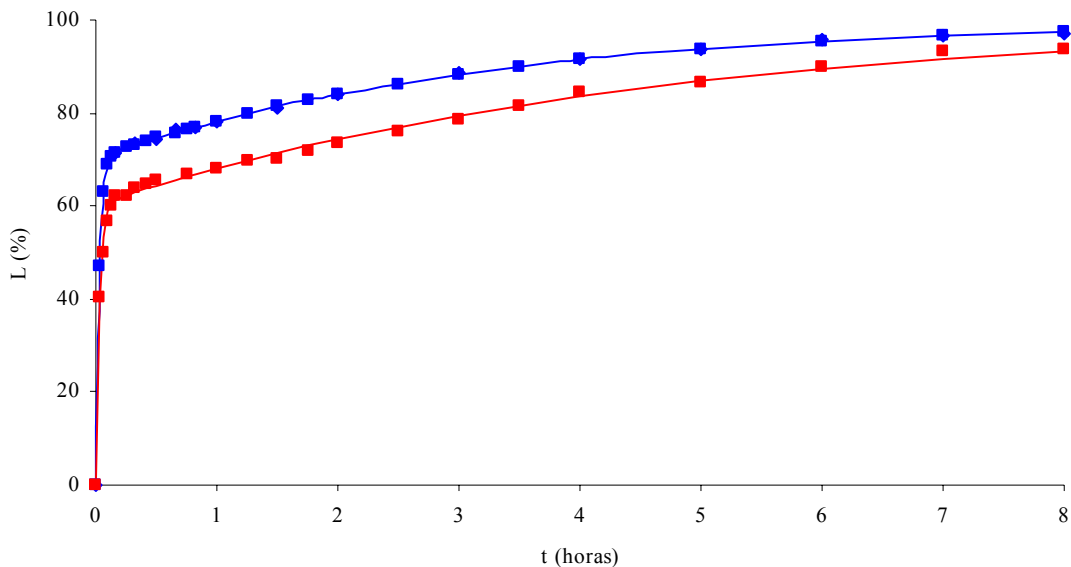
**Fig. IV. 30.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Ajuste al modelo postulado. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: HCl 0,1 N. Volumen: 700 mL.

Cuando se ajustan a la ecuación (IV.26) se obtienen, para los diferentes parámetros de la ecuación los valores que se indican a continuación:

| Muestra      | $C_{e(1)}$ (%) | $C_{e(2)}$ (%) | $k_{d(1)}$ ( $h^{-1}$ ) | $k_{d(2)}$ ( $h^{-1}$ ) | $R^2$  |
|--------------|----------------|----------------|-------------------------|-------------------------|--------|
| 5-ASA-HLC-30 | 70,346         | 29,654         | 2.345,596               | 9,183                   | 0,9999 |
| 5-ASA-HLC-35 | 70,578         | 29,422         | 1.926,514               | 9,308                   | 0,9999 |
| 5-ASA-HLC-40 | 71,014         | 28,986         | 1.497,539               | 9,015                   | 0,9998 |
| 5-ASA-HLC-45 | 71,806         | 28,194         | 1.078,307               | 9,005                   | 0,9996 |

El hecho de que tanto  $k_{d(1)}$  como  $k_{d(2)}$  disminuyan con el incremento de la temperatura a que fueron preparadas las muestras sugiere que la interacción fármaco-HLC aumenta ligeramente con la temperatura a que se llevó a cabo la retención.

Por otra parte, al comparar los resultados de liberación desde 5-ASA-HLC-30 en agua y clorhídrico (Figura IV.31.), se aprecia que la liberación se produce en mayor cantidad en medio ácido que en agua. En principio, si se tiene en cuenta el carácter ácido débil del 5-ASA ( $pK_a$ , 25 °C: 3.0 (-COOH), 6.0 (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 13.9 (-OH)) se podría haber pensado lo contrario, pues en medio ácido estará menos dissociado que en agua y, por consiguiente será menos soluble. Sin embargo, la introducción de un electrolito (clorhídrico, ácido fuerte) incrementa la fuerza iónica del medio, lo que incrementa la solubilidad del 5-ASA (electrolito débil). Esta pueden ser las causas de que tanto las velocidades específicas como  $C_{e(1)}$  sean superiores en el caso de que el medio esté constituido por HCl 0,1 N, lo que es coherente con una mayor solubilidad del 5-ASA en este medio (respecto del agua).



**Fig. IV.31.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Comparación entre medios de disolución. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medios de disolución: HCl 0,1 N (línea azul) y agua (línea roja). Volumen: 700 mL.

#### IV.2.4.2.2.3. Sistemas 5-ASA-HLC/tampón pH 6.8. Volumen: 700 mL

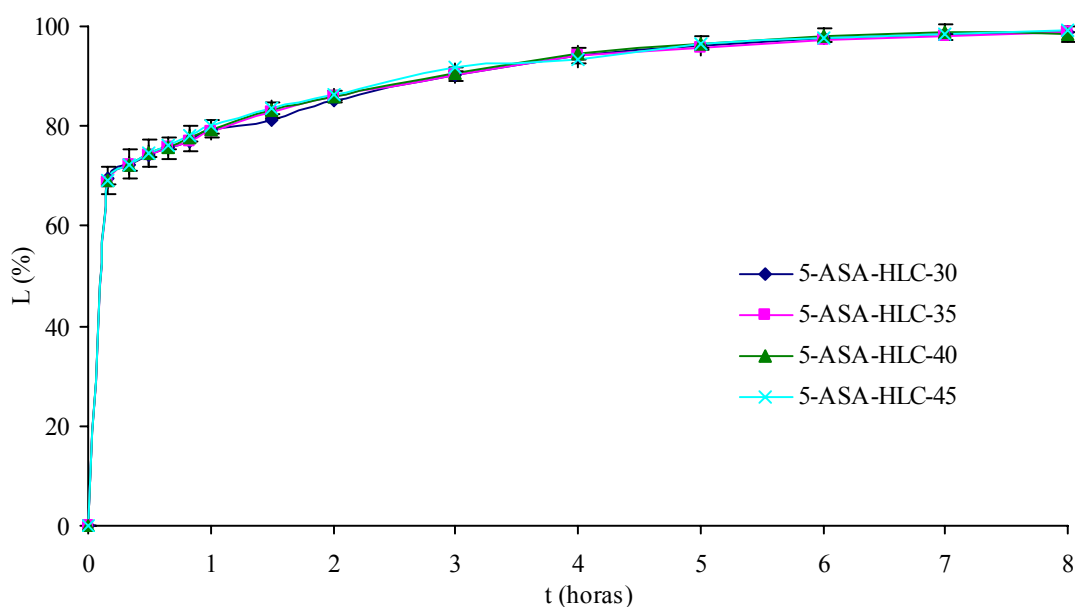
De manera semejante a lo expuesto en el apartado anterior (HCl 0,1 N) y por las mismas razones allí indicadas, la liberación de 5-ASA retenido en HLC en un medio constituido por una disolución acuosa de pH = 6.8, se ha realizado con las mismas cuatro diferentes muestras de partida. Los resultados obtenidos en los correspondientes experimentos se resumen en la Tabla IV.XV. y se representan en la

Figura IV.32. (las líneas continuas son las resultantes del ajuste global), en la que se puede observar que, aparentemente, no hay variaciones significativas de comportamiento entre los cuatro productos de interacción.

**Tabla IV.XV.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Medio de disolución: tampón pH 6.8.

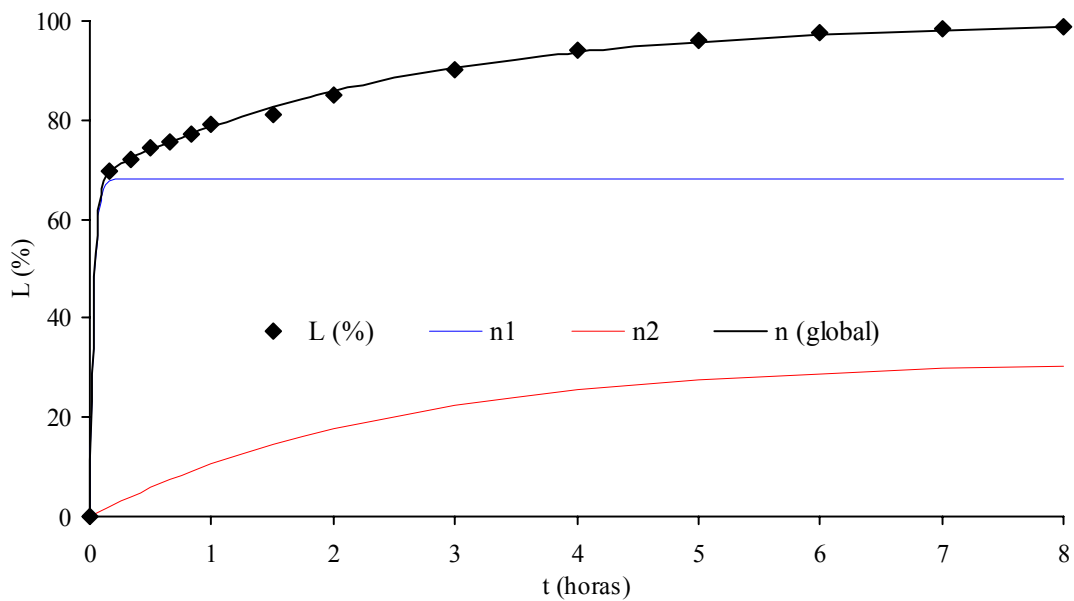
| t (h) | L (%)        |              |              |              |
|-------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|       | 5-ASA-HLC-30 | 5-ASA-HLC-35 | 5-ASA-HLC-40 | 5-ASA-HLC-45 |
| 0,000 | 0,000        | 0,000        | 0,000        | 0,000        |
| 0,160 | 69,617       | 68,642       | 69,197       | 68,968       |
| 0,330 | 72,224       | 72,426       | 72,343       | 72,406       |
| 0,500 | 74,228       | 74,160       | 74,565       | 74,626       |
| 0,660 | 75,685       | 75,832       | 75,746       | 76,228       |
| 0,830 | 77,023       | 76,910       | 77,554       | 78,165       |
| 1,000 | 79,108       | 78,732       | 79,418       | 79,887       |
| 1,500 | 81,198       | 82,708       | 83,032       | 83,755       |
| 2,000 | 84,983       | 85,788       | 86,010       | 86,175       |
| 3,000 | 90,076       | 90,400       | 90,430       | 91,703       |
| 4,000 | 94,000       | 94,178       | 94,636       | 93,350       |
| 5,000 | 96,138       | 95,608       | 96,676       | 96,325       |
| 6,000 | 97,586       | 97,324       | 98,210       | 97,555       |
| 7,000 | 98,345       | 98,100       | 98,757       | 98,603       |
| 8,000 | 98,820       | 98,962       | 98,496       | 99,050       |

L (%): tanto por ciento liberado (promedio, n = 6).



**Fig. IV.32.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Medio de disolución: tampón pH 6.8. Volumen: 700 mL; promedio  $\pm$  d.s.; n = 6.

Como se puede apreciar en la Figura IV.32., también en este caso los resultados experimentales (L vs. t) de todos, y cada uno, de los experimentos de esta serie se ajustan satisfactoriamente a la ecuación (IV.26), correspondiente al modelo postulado. Las líneas continuas que aparecen en la Figura IV.32. corresponden a las curvas globales calculadas. En la Figura IV.33. se representan, a título de ejemplo, las curvas global y particulares de los procesos de desorción postulados para el producto de interacción obtenido a 30 °C.



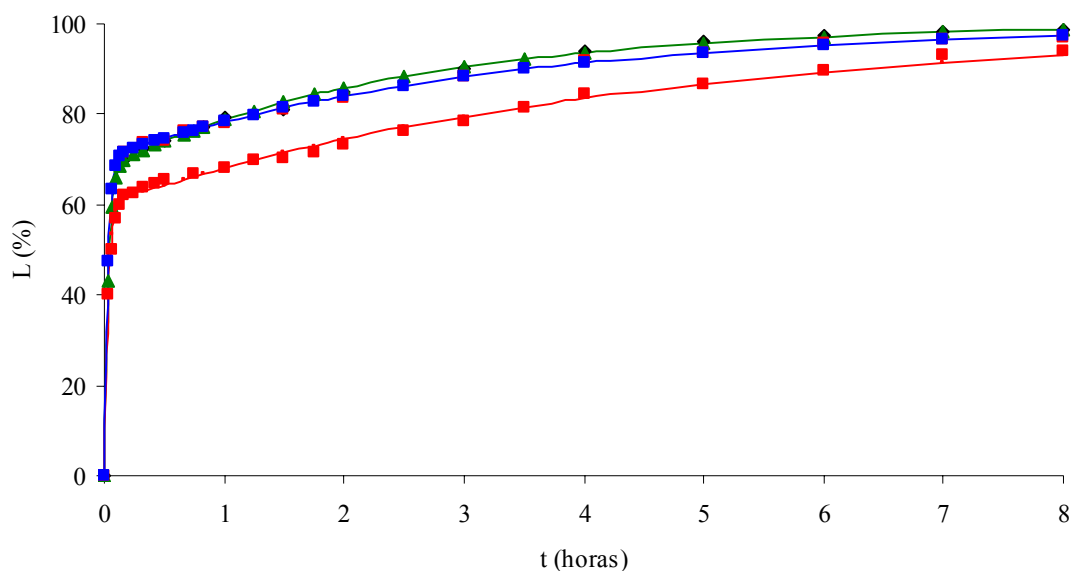
**Fig. IV.33.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: tampón pH 6.8. Volumen: 700 mL.

Los valores encontrados para los distintos parámetros de la ecuación se indican a continuación:

| Muestra      | $C_{e(1)}$ (%) | $C_{e(2)}$ (%) | $k_{d(1)}$ ( $h^{-1}$ ) | $k_{d(2)}$ ( $h^{-1}$ ) | $R^2$  |
|--------------|----------------|----------------|-------------------------|-------------------------|--------|
| 5-ASA-HLC-30 | 68,228         | 2024,215       | 31,772                  | 12,790                  | 0,9998 |
| 5-ASA-HLC-35 | 68,379         | 1581,822       | 31,621                  | 12,635                  | 1,0000 |
| 5-ASA-HLC-40 | 68,113         | 1789,176       | 31,887                  | 13,606                  | 0,9998 |
| 5-ASA-HLC-45 | 68,432         | 1607,766       | 31,568                  | 13,735                  | 0,9999 |

Cuando se comparan los resultados de liberación de 5-ASA retenido en HLC (a 30 °C) en tampón pH 6.8, con los encontrados para agua y HCl 0,1 N (Figura IV.34.), se

aprecia que la curvas en tampón pH 6.8 (línea verde) y HCl 0.1 N (línea azul) son muy similares, y en ambos casos superiores a la que aparece en agua (línea roja). Esta observación avala la hipótesis de que el mayor grado de liberación (respecto del agua) a los otros dos medios se debe, probablemente, a las mayores fuerzas iónicas de ellos (respecto del agua).



**Fig. IV.34.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medios de disolución: tampón pH 6.8 (línea verde), HCl 0.1 N (línea azul) y agua (línea roja). Volumen: 700 mL.

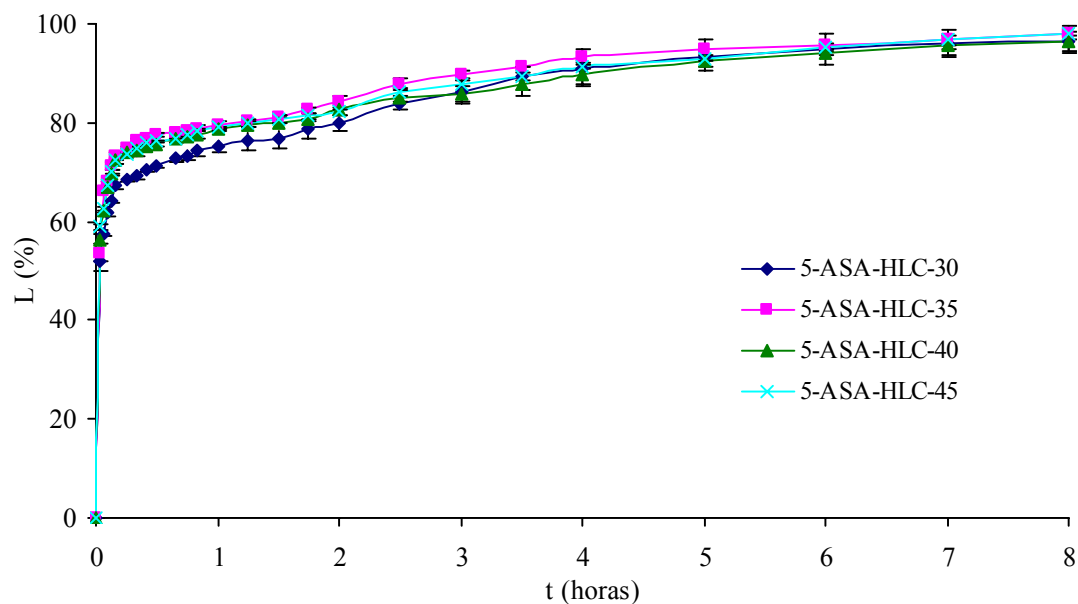
#### IV.2.4.2.2.4. Sistemas 5-ASA-HLC/disolución con cambio de pH. Volumen: 525 mL (0-2 h), 700 mL (2-8 h)

Los resultados experimentales obtenidos se encuentran en la Tabla IV.XVI y se representan en la Figura IV.35., en la que se aprecia que las curvas obtenidas para las diferentes temperaturas de interacción son prácticamente coincidentes, siendo algo más baja la de la muestra 5-ASA-HLC-30, al menos en el tramo inicial. Para esta ligera desviación no cabe una explicación lógica, salvo posibles errores experimentales. Probablemente esa sea, asimismo, la causa de las diferencias existentes en la secuencia de variación de los valores encontrados para los distintos parámetros de la ecuación (IV.26), valores que se muestran más adelante.

**Tabla IV.XVI.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Medio de disolución: disolución acuosa con cambio de pH.

| V (mL)<br>(pH) | t (h)  | L (%)        |              |              |              |
|----------------|--------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                |        | 5-ASA-HLC-30 | 5-ASA-HLC-35 | 5-ASA-HLC-40 | 5-ASA-HLC-45 |
| 525<br>(≈ 1)   | 0,000  | 0,000        | 0,000        | 0,000        | 0,000        |
|                | 0,033  | 52,053       | 53,678       | 56,383       | 58,988       |
|                | 0,066  | 57,593       | 66,280       | 62,298       | 62,538       |
|                | 0,100  | 61,910       | 68,190       | 66,978       | 67,300       |
|                | 0,133  | 64,280       | 71,225       | 69,868       | 70,003       |
|                | 0,160  | 67,245       | 73,235       | 72,420       | 72,258       |
|                | 0,250  | 68,558       | 74,988       | 73,930       | 73,430       |
|                | 0,330  | 69,170       | 76,343       | 74,513       | 74,708       |
|                | 0,416  | 70,560       | 76,910       | 75,010       | 75,865       |
|                | 0,500  | 71,353       | 77,462       | 75,495       | 76,308       |
|                | 0,660  | 72,725       | 77,923       | 76,830       | 76,890       |
|                | 0,750  | 73,388       | 78,380       | 77,220       | 77,750       |
|                | 0,830  | 74,225       | 78,839       | 77,583       | 78,485       |
|                | 1,000  | 75,290       | 79,493       | 78,695       | 79,045       |
|                | 1,250  | 76,200       | 80,268       | 79,643       | 79,770       |
|                | 1,500  | 76,650       | 81,175       | 80,103       | 80,728       |
|                | 1,750  | 78,585       | 82,628       | 80,795       | 81,475       |
| 2,000          | 79,725 | 84,120       | 82,778       | 82,193       |              |
| 2,500          | 83,858 | 87,830       | 85,048       | 86,038       |              |
| 3,000          | 86,338 | 89,835       | 85,783       | 87,945       |              |
| 3,500          | 89,565 | 91,380       | 87,673       | 89,398       |              |
| 700<br>(6,8)   | 4,000  | 91,113       | 93,412       | 89,850       | 91,260       |
|                | 5,000  | 93,300       | 94,769       | 92,528       | 93,093       |
|                | 6,000  | 94,967       | 95,756       | 94,168       | 95,468       |
|                | 7,000  | 96,190       | 96,924       | 95,608       | 96,663       |
|                | 8,000  | 96,410       | 98,068       | 96,453       | 97,910       |

L (%): tanto por ciento liberado (promedio, n = 4).



**Fig. IV.35.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Medio de disolución: disolución acuosa con cambio de pH. Volumen: 525 mL (0-2 h), 700 mL (2-8 h); promedio  $\pm$  d.s.; n = 6.

Para el análisis de las curvas de liberación experimentales se ha procedido igual que se hizo en el apartado (IV.2.4.2.2.1.), estudiando separadamente los tramos de la curva de liberación correspondientes a  $t \leq 2$  horas y a  $t \geq 2$  horas.

#### Tramo inicial de la curva ( $t \leq 2$ horas)

Como ya se dijo antes, respecto a los experimentos en agua con dilución transcurridas las dos primeras horas, los primeros tramos ( $0 \leq t \leq 2$  horas) de las curvas de la Figura IV.35. se pueden considerar representativos de procesos de desorción en cada uno de los cuales intervienen dos procesos sencillos. Los correspondientes ajustes a la ecuación (IV.26) han permitido calcular, para los distintos parámetros de la misma, los siguientes valores:

| Muestra      | $C_{e(1)}$ (%) | $C_{e(2)}$ (%) | $k_{d(1)}$ ( $h^{-1}$ ) | $k_{d(2)}$ ( $h^{-1}$ ) | $R^2$  |
|--------------|----------------|----------------|-------------------------|-------------------------|--------|
| 5-ASA-HLC-30 | 61,820         | 17,620         | 3265,578                | 26,759                  | 0,9977 |
| 5-ASA-HLC-35 | 71,008         | 13,248         | 2906,274                | 15,272                  | 0,9985 |
| 5-ASA-HLC-40 | 67,684         | 14,169         | 3500,893                | 23,155                  | 0,9974 |
| 5-ASA-HLC-45 | 66,690         | 14,802         | 4099,564                | 30,439                  | 0,9982 |

A la vista de los  $R^2$  se pueden considerar satisfactorios los ajustes de los resultados experimentales a la ecuación (IV.26). Respecto a la anomalía (en las secuencias de variación) de los valores de los parámetros correspondientes al ajuste de la curva correspondiente al producto de interacción 5-ASA-HLC-30, ya se ha dicho antes que podrían ser debidos a errores experimentales.

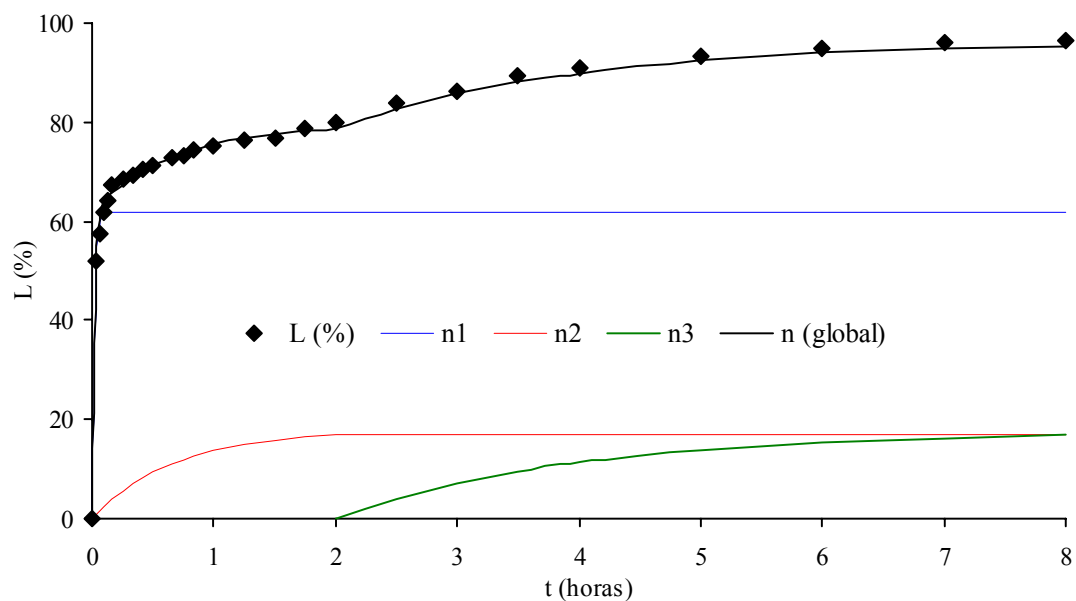
Tramo final de la curva ( $t \geq 2$  horas)

Como también se dijo antes, se considera que este último tramo de las curvas representa un proceso de liberación en el que sólo interviene un proceso sencillo de desorción. En este caso las diferencias entre las diferentes curvas se van haciendo menores al aumentar  $t$ , tendiendo a converger. El correspondiente ajuste de los resultados experimentales ha conducido a los siguientes valores:

| Muestra      | $C_{e(3)}$ (%) | $k_{d(3)}$ ( $h^{-1}$ ) | $R^2$  |
|--------------|----------------|-------------------------|--------|
| 5-ASA-HLC-30 | 17,574         | 9,035                   | 0,9981 |
| 5-ASA-HLC-35 | 14,011         | 7,140                   | 0,9924 |
| 5-ASA-HLC-40 | 18,972         | 4,229                   | 0,9929 |
| 5-ASA-HLC-45 | 17,158         | 6,430                   | 0,9925 |

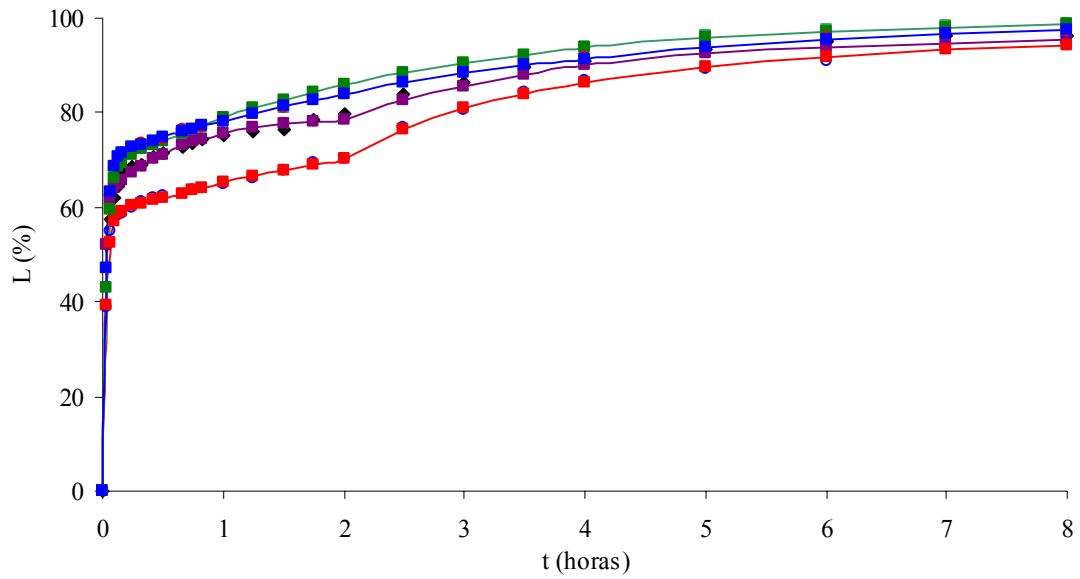
El escaso número de valores experimentales ajustados no es ajeno, probablemente, a que los valores de cada uno de los parámetros calculados no sigan una tendencia clara. En cualquier caso, se consideran satisfactorios los ajustes realizados. Como muestra de ello, y a título de ejemplo, se muestra la Figura IV.36., en la que se incluyen las líneas representativas de los tres procesos individuales antes mencionados y la correspondiente al proceso global.





**Fig. IV.36.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medio de disolución: disolución acuosa con cambio de pH. Volumen: 525 mL (0-2 h), 700 mL (2-8 h).

Por último, se ha considerado que podría ser instructivo mostrar la Figura IV.37, en la que se aprecia que (al igual que cuando se opera a volumen constante de 700 mL) la curva experimental se encuentra por encima de la correspondiente a un medio acuoso (solo agua) y que, ambas curvas tienden a converger a valores altos de  $t$ . Asimismo, en la Figura IV.37. se han incluido las curvas de liberación en HCl 0,1 N y en tampón pH 6.8 (en ambos casos operando con un volumen constante de medio de disolución de 700 mL); estas curvas, al principio van por encima de la obtenida a pH y volumen variables (lógico, si se tiene en cuenta el menor volumen de medio de disolución), tendiendo a converger cuando ya se han alcanzado los 700 mL de volumen de medio, convergencia que se aproxima tanto más cuanto mayor es el tiempo.



**Fig. IV.37.** Liberación de 5-ASA retenido en HLC. Sólido disperso: 5-ASA-HLC-30. Medios de disolución: tampón pH 6.8 (línea verde), HCl 0.1 N (línea azul), cambio de pH (línea violeta) y agua con dilución a las 2 horas (línea roja).



## **V. CONCLUSIONES**



## I. ÁCIDO 5-AMINO SALICÍLICO

1. Sólido cristalino, de elevada pureza, soluble en agua y soluciones acuosas de HCl 0.1 N y NaOH 0.1 N, con máximos de absorción en todos los medios a las longitudes de onda de 223, 297 y 327 nm. Funde con descomposición a 280 °C.

2. Las soluciones del fármaco en agua y HCl 0.1 N son estables, sin que presenten cambios en los barridos espectrofotométricos, transcurridos 4 meses desde su disolución. En cambio, las soluciones del fármaco en NaOH 0.1 N presentan cambios en los barridos espectrofotométricos, con desplazamiento y descenso del pico a 297 nm, acompañado de un aumento en la zona de 270 nm, así como desaparición del pico en torno a 223 nm.

3. La disolución y precipitación del fármaco por evaporación del disolvente en agua, HCl 0.1 N y tampón fosfato pH 6.8, no indujo cambios significativos en el espectro de <sup>1</sup>H-RMN, respecto del fármaco original. En cambio, la disolución y precipitación del fármaco por evaporación del disolvente en NaOH 0.1 N produjo cambios en el espectro de <sup>1</sup>H-RMN, asociados a la degradación oxidativa de la molécula de fármaco.

## II. HALLOYSITA

4. La muestra usada como materia prima inactiva es una mezcla natural de halloysita hidratada y deshidratada, con presencia de otras fases minerales en pequeña proporción (cuarzo, gibbsita y alunita).

5. Constituida fundamentalmente por partículas de forma tubular de 600-800 nm de longitud y 100 nm de diámetro externo, que aparecen sueltas o formando agregados en haces.

6. Distribución porosimétrica bimodal con una moda principal en torno a 10 μm, y una segunda moda de mucha menor entidad, en torno a 0.06 μm. Material poco

microporoso y mesoporoso. La microporosidad es atribuible al interior de los tubos del material, la mesoporosidad se corresponde con defectos en la superficie de los tubos, y la macroporosidad a la superficie de las partículas y espacio interparticular.

7. La capacidad de intercambio catiónico (20 meq/100 g) y tipo de cationes son coherentes con lo encontrado por otros autores para muestras del mismo tipo.

### III. RETENCIÓN DEL FÁRMACO POR EL SOPORTE

8. La retención de 5-ASA en disolución acuosa por HLC parece transcurrir mediante un proceso global controlado por difusión en el que intervienen dos procesos sencillos de adsorción neta; ambos procesos son reversibles y de orden uno respecto de la concentración de 5-ASA en la disolución y en la fase adsorbida. Uno, rápido, que conduce a la unión del fármaco a los centros activos de la superficie más externa del soporte; y otro, mucho más lento, que da lugar a la retención del fármaco en el interior de los tubos del silicato.

9. En ambos procesos sencillos de adsorción, la capacidad de retención aumenta con la temperatura, de manera aparentemente exponencial. El primero de dichos procesos sencillos (el más rápido y significativo en la práctica) transcurre en régimen exotérmico, mientras que el segundo es endotérmico.

10. Aunque en el límite de tiempo necesario para que ambos procesos sencillos alcancen el equilibrio las concentraciones correspondientes serían muy parecidas, en las condiciones en que se ha operado, los resultados experimentales “de equilibrio” vienen condicionados (inevitablemente) por la cinética, hasta el extremo de que en las isotermas de equilibrio (ns vs.  $C/C_0$ ) la contribución del segundo “proceso sencillo” (endotérmico) es irrelevante si se compara con la del primero (exotérmico) que, en la práctica es el condicionante primordial del proceso global.

11. La temperatura a la que se realiza la retención no parecen afectar de forma sustancial a la cantidad retenida. No obstante, en una situación límite ideal, los centros activos del soporte accesibles al fármaco aumentan con la temperatura

#### IV. CARACTERÍSTICAS DE LOS PRODUCTOS DE INTERACCIÓN 5-ASA-HLC

12. La interacción del fármaco con el soporte no modifica la estructura química de ninguno de los componentes. Los productos de interacción presentan un patrón de rayos X en el que no aparecen picos del fármaco, y los de la arcilla muestran la desaparición de la forma hidratada, por efecto de la operación de desecación llevada a cabo durante la elaboración de los preparados. La textura de los productos de interacción es similar a la de la arcilla, así como su comportamiento térmico. Los resultados de difracción de rayos X permiten descartar la interacción por intercambio iónico entre los dos componentes de los preparados.

13. La microscopía HREM acoplada a XEDS permitió determinar la posición del fármaco en los productos de interacción, corroborando la hipótesis postulada en base a las isotermas de adsorción, de retención del fármaco de acuerdo a dos procesos, que se corresponden con adsorción en la superficie de las partículas (primer proceso) y en el interior de los tubos de HLC (segundo proceso).

#### VI. LIBERACIÓN DEL FÁRMACO DESDE LOS PREPARADOS

14. El método analítico utilizado para la determinación del fármaco en los medios de liberación presentaba buenas características de sensibilidad, repetibilidad y exactitud.

15. La temperatura a la que se lleva a cabo la retención del fármaco por HLC no induce cambios significativos en los perfiles de las curvas de liberación. No obstante, el hecho de que tanto  $k_{d(1)}$  como  $k_{d(2)}$  disminuyan con el incremento de la temperatura a que fueron preparadas las muestras sugiere que la interacción 5-ASA-HLC aumenta ligeramente con la temperatura a que se llevó a cabo la retención.



16. En todos los casos, la liberación de 5-ASA retenido en HLC transcurre mediante un proceso global bifásico controlado por difusión en el que intervienen dos “procesos sencillos” de liberación neta.

17. La ley cinética de cada uno de los procesos sencillos de liberación neta mencionados corresponde a un proceso reversible de orden uno respecto de la concentración de 5-ASA en el medio de disolución y en el sólido disperso.

18. La velocidad de liberación viene condicionada por las características del sistema disperso en el que se estudia:

- aumenta con la cantidad relativa de producto de interacción 5-ASA-HLC;
- aumenta con el volumen del medio de disolución (pues se favorece el aumento del gradiente de concentración que controla el proceso difusivo);
- aumenta con la fuerza iónica del medio de disolución, mientras que la influencia del pH del medio parece ser poco significativa.

## VI. COMPARATIVA ENTRE MODELOS DE AJUSTE DE CURVAS DE LIBERACIÓN

19. El modelo postulado ajusta las curvas de liberación de forma adecuada, presentando además sentido físico-químico y coherencia físico-matemática.

20. Del resto de modelos usados para el ajuste de los datos de liberación obtenidos, no parecen ser de utilidad los modelos de Higuchi, de orden cero, de orden uno, ni quizás (para la totalidad de los resultados) el de la “raíz cúbica”. Los modelos de Peppas y de Peppas y Sahlin presentan valores de  $R^2$  adecuados, sólo cuando se ajusta la primera parte de la curva de liberación.

21. De acuerdo con los valores de  $R^2_{ajustado}$ , el modelo postulado es el que mejor ajusta, de los ensayados, la **totalidad** de los datos experimentales obtenidos. Los modelos de Peppas y de Peppas y Sahlin también presentan valores de  $R^2_{ajustado}$

adecuados ( $> 0.999$ ), siempre y cuando se usen para el ajuste de la primera parte de los datos experimentales ( $L < 60 \%$ ). El modelo de Hixson-Crowell presenta, asimismo, un valor que podría entenderse como adecuado ( $R^2_{\text{ajustado}} > 0.990$ ) cuando se emplea para la segunda parte de los datos experimentales ( $t \geq 0.16 \text{ h}$ ).

22. El parámetro AIC, por su parte, muestra claramente la bondad del ajuste logrado con el modelo postulado, con un valor netamente inferior a cualquiera de los otros modelos usados en la comparativa.



## **V. BIBLIOGRAFÍA**



- Adamo, P., Violante, P., Wilson, M.J. *Tubular and spheroidal halloysite in pyroclastic deposits in the area of the Roccamonfina volcano (southern Italy)*. Geoderma, 99: 295-316, 2001.
- Adams, E., Coosmans, D., Smeyers-Verbeke, J., Massart, D.L. *Nonlinear mixed effects models for the evaluation of dissolution profiles*. Int. J. Pharm., 240: 37-53, 2002.
- Adkin, D.A., Kenyon, C.J., Lerner, E.I., Landau, I., Strauss, E., Caron, D., Panshasi, A., Rubinstein, I.R., Wilding, I.R. *The use of scintigraphy to provide "proof of concept" for novel polysaccharide preparation designed for colonic drug delivery*. Pharm. Res., 14: 103-107, 1997.
- Aguzzi, C. *Empleo de Filosilicatos para la liberación modificada de fármacos de acción sistémica y local. Desarrollo de formulaciones semisólidas conteniendo tetraciclinas para el tratamiento de la periodontitis*. Tesis Doctoral. Universidad de Parma, 2005.
- Aguzzi, C., Cerezo, P., Viseras, C., Caramella, C. *Use of clays as drug delivery systems: Possibilities and limitations*. App.Clay Sci., 36: 22-36, 2007.
- Aharoni, C., Tompkins, F.C. *Kinetics of adsorption and desorption and the Elovich equation*. Adv. Catalysis, 21: 1-8, 1970.
- Aharoni, C., Ungarish, M. J. *Kinetics of activated chemisorption. Part 1. The non-elowichian part of the isotherm*. Chem. Soc. Faraday Trans., 72: 400-408, 1976.
- Aharoni, C., Ungarish, M. J. *Kinetics of activated chemisorption. Part 2. Theoretical models*. Chem. Soc. Faraday Trans., 73: 456-464, 1977a.
- Aharoni, C., Ungarish, M. J. *Kinetics of activated chemisorption. Part 3. Amount and distribution of adsorbate at varying temperatures and pressures*. Chem. Soc. Faraday Trans., 73: 1943-1950, 1977b.
- Aharoni, C., Sidemans, M., Hoffer, E. *Adsorption of phosphate ions by collodin-coated alumina*. J. Chem. Techn. Biotechnol., 29: 404-412, 1979.
- Aharoni, C., Suzin, Y. J. *Application of the Elovich equation to the kinetics of occlusion. Part 1. Homogeneous microporosity*. Chem. Soc. Faraday Trans., 78: 2313-2320, 1982a.
- Aharoni, C., Suzin, Y. *Application of the Elovich equation to the kinetic of occlusion. Part 2. Analysis of experimental data from the literature*. J. Chem. Soc. Faraday Trans., 78: 2321-2327, 1982b.
- Aharoni, C., Suzin, Y. *Application of the Elovich equation to the kinetic of occlusion. Part 3. Heterogeneous microporosity*. J. Chem. Soc. Faraday Trans., 78: 2329-2336, 1982c.
- Aharoni, C. *Kinetics of adsorption: the S-shaped z-t plot = Cinétique de l'adsorption: le tracé de la courbe z-t en forme de sigmoïde*. Adsorpt. Sci. Technol., 1: 1-29, 1984.
- Aiedeh, K., Taha, M.O. *Synthesis of chitosan succinate and chitosan phthalate and their evaluation as suggested matrices in orally administered, colon specific drug delivery system*. Arch. Pharm. (Weinheim), 332: 103-107, 1999.
- Albin, G., Horbett, T.A., Ratner, B.D. *Glucose sensitive membranes for controlled delivery of insulin: Insulin transport studies*. J. Control. Release, 2: 153-164, 1985.
- Alexander, L.T., Faust, G., Hendricks, S.B., Insley, H. *Relationship of the clay minerals Halloysite and Endellite*. Am. Mineral., 28: 1-18, 1943.

- Alfrey, E.F., Gurnee, E.F., Lloyd, W.G. *Diffusion in glassy polymers*. J. Polym. Sci. Part C, 12: 249-261, 1966.
- Alhaique, F., Rossi, C. *Forme Farmaceutiche a rilascio modificato*. En: Principi di Tecnologie Farmaceutiche, 1° Edición, Casa Editrice Ambrosiana (C.E.A.), Milano, Italia, cap.10, pp. 541-612, 2004.
- Alvarez-Puebla, R.A., Valenzuela-Calahorro, C., Garrido, J.J. *Cu(II) retention on a humic substance*. J. Colloid Interf. Sci., 270: 47-55, 2004a.
- Alvarez-Puebla, R.A., Valenzuela-Calahorro, C., Garrido, J.J. *Modeling the adsorption and precipitation processes of Cu(II) on humin*. J. Colloid Interf. Sci., 277: 55-61, 2004b.
- Alvarez-Puebla, R.A., Aroca, R.F., Valenzuela-Calahorro, C., Garrido, J.J. *Retention of cobalt on a humin derived from brown coal*. J. Hazard. Mater., 135: 122-128, 2006.
- Anderson, R.E., Olaison, G., Tysk, C., Ekborn, A. *Appendectomy and protection against ulcerative colitis*. N. Engl. J. Med., 344: 808-814, 2001.
- Anderson, R.E., Olaison, G., Tysk, C., Ekborn, A. *Appendectomy is followed by increased risk of Crohn's disease*. Gastroenterology, 124: 40-46, 2003.
- Andres, P.G., Friedmann, L.S. *Epidemiology and the natural course of inflammatory bowel disease*. Gastroenterol. Clin. North Am., 28: 255-281, 1999.
- Antal, I., Zelko, R., Roczey, N., Plachy, J., Racz, I. *Dissolution and diffuse reflectance characteristics of coated theophylline particles*. Int. J. Pharm., 155: 83-89, 1997.
- Antenucci, R.N., Palmer, J.K. *Enzymatic degradation of  $\alpha$ -cyclodextrins by bacteroides of the human colon*. J. Agric. Food Chem., 32: 1316-1321, 1984.
- Aomine, S., Wada, K. *Differential weathering of volcanic ash and pumice, resulting in formation of hydrated halloysite*. Am. Mineralogist, 47: 1024-1048, 1962.
- Arabi, S.F., Madsen, G., Dyrstad, K., Sande, S.A., Gaffner, C. *Development of pectin matrix tablets for colonic delivery of model drug ropivacaine*. Eur. J. Pharm. Sci., 10: 43-52, 2000.
- Ardizzone, S., Bianchi, G. *Biologic therapy for inflammatory bowel disease*. Drugs, 65: 2253-2268, 2005.
- Arifin, D.Y., Lee, L.Y., Wang, C-H. *Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems*. Adv. Drug Dev. Rev., 58: 1274-1325, 2006.
- Asano, J., Suisha, F., Takada, M., Kawasaki, N., Miyazaki, S. *Effect of pulsed output ultrasound on the transdermal absorption of indomethacin from an ointment in rats*. Biol. Pharm. Bull. 20(3): 288-291, 1997.
- Ashford, M., Fell, J.T., Attwood, D., Sharma, H.L., Woodhead, P.J. *An in vivo investigation into the suitability of pH-dependent polymers for colonic targeting*. Int. J. Pharm., 95: 193-199, 1993.
- Ashford, M., Fell, J.T. *Targeting drugs to the colon: delivery systems for oral administration*. J. Drug Target., 2: 241-258, 1994.
- Ashford, M., Fell, J., Attwood, D., Sharma, H.L., Woodhead, P.J. *Studies on pectin formulation for colonic drug delivery*. J. Control. Release, 30: 225-232, 1994.

- Ashford, M. *Biodisponibilidad: factores fisicoquímicos y de la forma farmacéutica*. En: La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas, 2<sup>a</sup> Edición, (GEA Ed.), Elsevier, Madrid, cap. 17, pp. 235-253, 2004.
- Askenasy, P.E., Dixon, J.B., McKee, T.R. *Spheroidal halloysite in Guatemala soil*. Soil Sci. Soc. Am. Proc., 37: 799-803, 1973.
- Atreya, R., Mudter, J., Finotto, S., Müllberg, J., Jostock, T., Wirtz, S., Schütz, M., Bartsch, B., Holtmann, M., Becker, C., Strand, D., Czaja, J., Schlaak, J.F., Lehr, H.A., Autschbach, F., Schürmann, G., Nishimoto, N., Yoshizaki, K., Ito, H., Kishimoto, T., Galle, P.R., Rose-John, S., Neurath, M.F. *Blockade of interleukin 6 trans signaling suppresses T-cells resistance against apoptosis in chronic intestinal inflammation: evidence in Crohn's disease and experimental colitis in vivo*. Nat. Med., 6: 583-588, 2000.
- Aulton, M.E. *Disolución y solubilidad*. En: La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas. 2<sup>o</sup> Edición, (GEA Ed.), Elsevier, Madrid, cap. 2, pp. 15-32, 2004.
- Ayres, J.W., Lindstrom, F.T. *Diffusion model for drug release from suspensions. I: Theoretical considerations*. J. Pharm. Sci., 66: 654-662, 1977.
- Azad Khan, A.K., Howes, D.T., Piris, J., Truelove, S.C. *Optimum dose of sulphasalazine for maintenance treatment in ulcerative colitis*. Gut, 21: 232-240, 1980.
- Bach, J.F. *The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases*. N. Engl. J. Med., 347: 911-920, 2002.
- Bae, Y.H. En: Controlled Drug Delivery: Challenges and Strategies, (K. Park, Ed.), Am. Chem. Soc., Washington DC, pp. 147, 1997.
- Baert, F., Noman, M., Vermeire, S., Van Assche, G., D' Haens, G., Carbonez, A., Rutgeerts, P. *Influence of immunogenicity on the long term efficacy of infliximab in Crohn's disease*. N. Engl. J. Med., 348: 601-608, 2003.
- Bailey, S.W. *Summary of recommendation of AIPEA Nomenclature Committee, Clays*. Clay Miner., 28: 73-78, 1980a.
- Bailey, S.W. *Structures of layer silicates*. En: Crystal Structures of Clay Minerals and their X-ray Identification, (G.W. Brindley & G. Brown, Eds.), Mineralogical Society, London, Monograph 5, pp.1-123, 1980b.
- Baker, R.W., Lonsdale, H.S. *Controlled release: mechanisms and rates*. In: Controlled Release of Biologically Active Agents. (A.C. Taquary, R.E. Lacey, Eds.) Plenum Press, New York, pp. 15-71, 1974.
- Banerjee, K., Cheremisinoff, P., Cheng, S. L. *Adsorption kinetics of o-xylene by flyash*. Wat. Res.; 31: 249-261, 1997.
- Bangham, D.H., Burt, F.P. *The behaviour of gases in contact with glass surfaces*. Proc. Royal Soc., 105: 481-488, 1924.
- Bangham, D.H., Sever, W. *Experimental Investigation of the dynamics equation of the Process of gas-sorption*. Phil. Mag., 49: 935-938, 1925.



- Bantel, H., Berg, C., Vieth, M., Stolte, M., Kruis, W., Schulze-Osthoff, K. *Mesalazine inhibits activation of transcription factor NF- $\kappa$ B in inflamed mucosa of patients with ulcerative colitis*. *Am. J. Gastroenterol.*, 95: 3452-3457, 2000.
- Baron, J.H. *Inflammatory bowel disease up to 1932*. *Mt. Sinai. J. Med.*, 67: 174-189, 2000.
- Baronnet, A. *Minéralogie*, Dunod, Paris, pp 159-169, 1988.
- Baskaran, S., Bolan, N.S., Rahman, N.A., Tillman, R.W. *Pesticides sorption by allophanic and non-allophanic soils of New Zealand*. *NZ. J. Agr. Res.*, 39: 297-310, 1996.
- Bates, T.F., Hildebrand, F.A., Swineford, A. *Morphology and structure of endellite an halloysite*. *Am. Mineral.*, 35: 463-484, 1950.
- Batthey, M.H. *Mineralogy for students*, Longman Harlow, pp. 268-277, 1990.
- Batycky, R.P., Hanes, J., Langer, R., Edwards, D.A. *A theoretical model of erosion and macromolecular drug release from biodegrading microspheres*. *J. Pharm. Sci.*, 86: 1464-1477, 1997.
- Bayless, T.M., Tokayer, A.Z., Polito, J.M., Quaskey, S.A., Mellits, E.D., Harris, M.L. *Crohn's disease: concordance for site and clinical type in affected family members-potential hereditary influences*. *Gastroenterology*, 111: 573-579, 1996.
- Berg, D.J., Zhang, J., Weinstock, J.V., Ismail, H.F., Earle, K.A., Alila, H., Pamukcu, R., Moore, S., Lynch, R.G. *Rapid development of colitis in NSAID-treated IL-10-deficient mice*. *Gastroenterology*, 123: 1527-1542, 2002.
- Berrebi, D., Maudinas, R., Hugot, J.P., Chamaillard, M., Chareyre, F., De Lagausie, P., Yang, C., Desreumaux, P., Giovannini, M., Cezard, J.P., Zouali, H., Emilie, D., Peuchmaur, M. *Card15 gene overexpression in mononuclear and epithelial cells of the inflamed Crohn's disease colon*. *Gut*, 52: 840-846, 2003.
- Berthier, P. *Analyse de l'halloysite*. *Ann. Chim. Phys.*, 32: 332-335, 1826.
- Bettini, R., Colombo, P., Massimo, G., Catellani, P.L., Vitali, T. *Swelling and drug release in hydrogel matrices: polymer viscosity and matrix porosity effects*. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2: 213-219, 1994.
- Bettini, R., Catellani, P.L., Santi, P., Massimo, G., Peppas, N.A., Colombo, P. *Translocation of drug particles in HPCM matrix gel layer: effect of drug solubility and influence on release rate*. *J. Control. Release*, 70: 383-391, 2001.
- Bhanja, R.S., Pal, T.K. *In-vitro release kinetics of salbutamol sulphate microcapsules coated with both Eudragit RS 100 and Eudragit RL 100*. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 20: 375-386, 1994.
- Binder, V. *Genetic epidemiology in inflammatory bowel disease*. *Dig. Dis.*, 16: 351-355, 1998.
- Bondesen, S., Rasmussen, S.N., Rask-Madsen, J., Nielsen, O.H., Lauritzen, K., Binder, V., Hansen, S.H., Hvidberg, E.F. *5-Aminosalicylic acid in the treatment of inflammatory bowel disease*. *Acta Med. Scand.*, 221: 227-230, 1987.
- Bonen, D.K., Cho, J.H. *The genetics of inflammatory bowel disease*. *Gastroenterology*, 124(2): 521-536, 2003.

- Bonferoni, M.C., Rosi, S., Ferrari, F., Bertoni, M., Bolhuis, G.K., Caramella, C. *On the employment of  $\lambda$  carrageenan in a matrix system. III. Optimization of  $\lambda$  carrageenan-HPMC hydrophilic matrix.* J. Control. Release, 51: 231–239, 1998.
- Borgquist, P., Körner, A., Piculell, L., Larsson, A., Axelsson, A. *A model for the drug release from a polymer matrix tablet-effects of swelling and dissolution.* J. Control. Release. 113: 216-225, 2006.
- Both, H., Torp-Pedersen, K., Kreiner, S., Hendriksen, C., Binder, V. *Clinical appearance at diagnosis of ulcerative colitis and Crohn's disease in a regional patient group.* Scand. J. Gastroenterol., 18: 987-991, 1983.
- Bouma, G., Strober, W. *The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease.* Nature Rev., 3: 521-533, 2003.
- Bridger, S., Lee, J.C., Bjarnason, I., Jones, J.E., Macpherson, A.J. *In sibling with similar genetic susceptibility for inflammatory bowel disease, smokers tend to develop Crohn's disease and non-smokers develop ulcerative colitis.* Gut, 51(1): 21-25, 2002.
- Brindley, G.W., Robinson, K. *X-ray studies of halloysite and metahalloysite, I. The structure of metahalloysite.* Mineral. Mag., 28: 393-407, 1948.
- Brindley, G.W., Goodyear, J. *X-ray studies of halloysite and metahalloysite, II. The transition of halloysite to metahalloysite in relation to relative humidity.* Mineral. Mag., 28: 407-422, 1948.
- Brindley, G.W., Robinson, K., Goodyear, J. *X-ray studies of halloysite and metahalloysite, III. Effect of temperature and pressure on the transition from halloysite to metahalloysite.* Mineral. Mag., 28: 423-428, 1948.
- Brochard, F., De Gennes, P. G. *Kinetics of polymers dissolution.* Physicochemical Hydrodynamics, 4: 313-322, 1983.
- Brondsted, H., Hovgaard, L., Simonsen, L. *Dextran hydrogels for colon specific drug delivery III. In vitro and in vivo degradation study.* STP Pharma. Sci., 5: 60-64, 1995.
- Brondsted, H., Andersen, C., Hovgaard, L. *Cross-linked dextran-a new capsule material for colon targeting of drug.* J. Control. Release, 53: 7-13, 1998.
- Brooke, D. *Dissolution profile of log-normal powders: Exact expression.* J. Pharm. Sci., 62: 795-798, 1973.
- Brooke, D., Washkuhn, R.J. *Zero-order drug delivery systems: Theory and preliminary testing.* J. Pharm. Sci., 66: 159-162, 1977.
- Brown, J.P., McGarraugh, G.V., Parkinson, T.M., Wingard Jr., R.E., *Onderbodonk AB. A polymeric drug for treatment of inflammatory bowel disease.* J. Med. Chem., 26: 1300-1307, 1983.
- Browne, J.E., Feldkamp, J.R., White, J.L., Hem, S.L. *Characterisation and absorptive properties of pharmaceutical grade clays.* J. Pharm. Sci., 69: 816-823, 1980.
- Brunauer, S., Emmet, P.H., Teller, E. *Adsorption of gases in multimolecular layer.* J. Am. Chem. Soc., 60: 309-319, 1938.
- Brunner, L., Tolloczko, S. *Über die Auflösungs geschwindigkeit Fester Körper.* Z. Phys. Chem., 35: 283-290, 1900.
- Brunner, E. *Reaktionsgeschwindigkeit in heterogenen Systemen.* Z. Phys. Chem., 43: 56-102, 1904.

- Burakoff, R., Barish, C.F., Riff, D., Pruitt, R., Chey, W.Y., Farraye, F.A., Shafran, I., Katz, S., Krone, C.L., Vander Vliet, M., Stevens, C., Sherman, M.L., Jacobson, E., Bleday, R. *A phase I/2A trial of STA 5326, an oral interleukine-12/23 inhibitor, in patients with active moderate to severe Crohn's disease*. *Inflamm. Bowel Dis.*, 12: 558-565, 2006.
- Bussemer, T., Otto, I., Bodmeier, R. *Pulsatile drug-delivery systems*. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 18: 433-458, 2001.
- Byrne, R.S., Deasy, P.B. *Use of porous aluminosilicate pellets for drug delivery*. *J. Microencapsul.*, 22: 423-437, 2005.
- Cabrera, M., Luna, J.A., Grau, R.J.A. *Modeling of dissolution-diffusion controlled drug release from planar polymeric systems with finite dissolution rate and arbitrary drug loading*. *J. Membr. Sci.*, 280: 693-704, 2006.
- Campieri, M., Gionchetti, P., Belluzzi, A., Brignola, C., Tampieri, M., Iannone, P., Miglioli, M., Barbara, L. *Optimum dosage of 5-aminosalicylic acid as rectal enemas in patients with active ulcerative colitis*. *Gut*, 32: 929-931, 1991.
- Carman, P.C., Haul, R. *Measurement of diffusion coefficients*. *Proc. Roy. Soc.*, 222: 109-118, 1954.
- Carr, R.M., Chih, H. *Complexes of halloysite with organic compounds*. *Clay Minerals*, 9: 153-166, 1971.
- Carstensen, J.T., Musa, N.M. *Dissolution rate patterns of log-normally distributed powders*. *J. Pharm. Sci.*, 61: 223-227, 1972.
- Carstensen, J.T., Patel, M. *Dissolution patterns of polydisperse powders: Oxalic acid dihydrate*. *J. Pharm. Sci.*, 64: 1770-1776, 1975.
- Cendrowska, I., Drewnowska, M., Grzeszkiewicz, A., Butkiewicz, K. *Investigation of the stability of 5-aminosalicylic acid in tablets and suppositories by high-performance liquid chromatography*. *J. Chromatogr.*, 509: 195-199, 1990.
- Cerezo, P. *Mecanismos y cinéticas de adsorción-liberación de fármacos en soporte arcilloso. Contribución al estudio de complejos Timolol Maleato con esmectitas, paligorskitas y sepiolitas*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 2003.
- Chandrasekaran, S., Paul, D.R. *Dissolution controlled transport from dispersed matrixes*. *J. Pharm. Sci.*, 71: 1399-1402, 1982.
- Chang, R.K., Price, J.C., Whithworth, C.W. *Control of drug release rates through the use of mixtures of polycaprolactone and cellulose propionate polymers*. *Pharm. Tech.*, 10: 24-33, 1986.
- Charlier, A., Leclerc, B., Couarraze, G. *Release of mifepristone from biodegradable matrices: experimental and theoretical evaluations*. *Int. J. Pharm.* 200: 115-120, 2000.
- Chien, Y.W. *Microsealed drug delivery systems: fabrication and performance*. En: *Methods in Enzymology*, (K.J. Widder., R. Green. Eds.), Academic Press, New York, pp. 461-470, 1985.
- Chien, Y.W. *Fundamentals of rate-controlled drug delivery*. En: *Novel Drug Delivery Systems*, 2nd Ed., Dekker, New York, pp. 43-138, 1992.
- Chien, Y.W., Lin, S. *Drug delivery: controlled release*. En: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, vol. 1, pp. 1082-1103, 2006. <http://dx.doi.org/10.1081/E-EPT-100001051>

- Chiu, H.C., Hsiue, G.H., Lee, Y.P., Huang, L.W. *Synthesis and characterization of pH-sensitive dextran hydrogels as a potential colon-specific drug delivery system*. J. Biomater. Sci. Polym. Ed., 10: 591-608, 1999.
- Cho, I.H., Nicolae, D.L., Ramos, R., Fields, C.T., Rabenau, K., Corradino, S., Brant, S.R., Espinosa, R., LeBeau, M., Hanauer, S.B., Bodzin, J., Bonen, D.K. *Linkage and linkage disequilibrium in chromosome band Ip36 in American Chaldeans with inflammatory bowel disease*. Hum. Mol. Genet., 9: 1425-1432, 2000.
- Christensen, F.N., Hansen, F.Y., Bechgaard, H. *Physical interpretation of parameters in the Rosin-Rammler-Sperling-Weibull distribution for drug release from controlled release dosage forms*. J. Pharm. Pharmacol., 32: 580-582, 1980.
- Chukhrov, F.V., Zvyagin, B.B., Ermilova, L.P., Gorshkov, A.I., Rudnitskaya, E.S. *The relation between chrysocolla, medmontite, and copper-halloysite*. En: Proceedings of the International Clay Conference 1969, Tokyo, (L. Heller, Ed.), University Press, Jerusalem, Israel, pp. 141-150, 1969.
- Churchman, G.J., Theng, B.K.G. *Interactions of halloysite with amides: Mineralogical factors affecting complex formations*. Clay Minerals, 19: 161-175, 1984.
- Churchman, G.J., Whitton, J.S., Claridge, G.G.C., Theng, B.K.G. *Intercalation method using formamide for differentiating halloysite from kaolinite*. Clay. Clay Miner., 32: 241-248, 1984.
- Churchman, G.J. *Relevance of different intercalation tests for distinguishing halloysite from kaolinite in soils*. Clay. Clay Miner., 38: 591-599, 1990.
- Churchman, G.J., Davy, T.J., Aylmore, L.A.G., Gilkes, R.J., Self, P.G. *Characteristics of fine pores in some halloysites*. Clay Minerals, 30: 89-98, 1995.
- Cobby, J., Mayersohn, M., Walker, G.C. *Influence of shape factors on kinetics of drug release from matrix tablets. I. Theoretical*. J. Pharm. Sci., 63: 725-732, 1974.
- Colombel, J.F., Lemman, M., Cassagnou, M., Bouhnik, Y., Duclos, B., Dupas, J.L., Notteghem, B., Mary, J.Y. *A controlled trial comparing ciprofloxacin with mesalazine for the treatment of active Crohn's disease. Groupe d'études thérapeutiques des affections inflammatoires digestives (GETAID)*. Am. J. Gastroenterol., 94: 674-678, 1999.
- Colombo, P., Catellani, P.L., Peppas, N.A., Maggi, L., Conte, U. *Swelling characteristics of hydrophilic matrices for controlled release. New dimensionless number to describe the swelling and release behavior*. Int. J. Pharm., 88: 99-109, 1992.
- Colombo, P., Bettini, R., Santi, P., Ascentiis, A.D., Peppas, N.A. *Analysis of the swelling and release mechanism from drug delivery systems with emphasis on drug solubility and water transport*. J. Control. Release, 39: 231-237, 1996.
- Colombo, P., Bettini, R., Catellani, P.L., Santi, P., Peppas, N.A. *Drug volume fraction profile in the gel phase and drug release kinetics in hydroxypropylmethyl cellulose matrices containing a soluble drug*. Eur. J. Pharm. Sci., 9: 33-40, 1999.
- Conte, U., Colombo, P., Gazzaniga, A., Sangalli, M.E., La Manna, A. *Swelling-activated drug delivery systems*. Biomaterials, 9: 489-493, 1988.

- Conte, U., Maggi, L., La Manna, A. *Compressed barrier layers for constant drug release from swellable matrix tablets*. S.T.P. Pharma. Sci., 4: 107-113, 1994.
- Cooney, D.O. *Effect of geometry on the dissolution of pharmaceutical tablets and other solids: Surface detachment kinetics controlling*. AIChE. J., 18: 446-449, 1972.
- Costa, P., Ferreira, D.C., Sousa Lobo, J.M. *Nitroglicerina em sistemas de libertação transdérmica - Determinação da velocidade de libertação*. Rev. Port. Farm., 46: 4-8, 1996.
- Costa, P. *An alternative method to the evaluation of similarity factor in dissolution testing*. Int. J. Pharm., 220: 77-83, 2001.
- Costa, P., Sousa, J.M. *Modeling and comparison of dissolution profiles*. Eur. J. Pharm. Sci., 13: 123-133, 2001a.
- Costa, P., Sousa Lobo, J.M. *Influence of dissolution medium agitation on release profiles of sustained-release tablets*. Drug Dev. Ind. Pharm., 27: 811-817, 2001b.
- Costa, P., Sousa Lobo, J.M. *Divisability of diltiazem matrix sustained release tablets*. Pharm. Dev. Technol., 6: 343-351, 2001c.
- Costa, F.O., Sousa, J.J.S., Pais, A.A.C.C., Formosinho, S.J. *Comparison of dissolution profiles of ibuprofen pellets*. J. Control. Release, 89: 199-212, 2003.
- Courtney, M.G., Nunes, D.P., Bergin, C.F., O'Driscoll, M., Trimble, V., Keeling, P.W., Weir, D.G. *Randomised comparison of olsalazine and mesalazine in prevention of relapses in ulcerative colitis*. Lancet, 339: 1279-1281, 1992.
- Crank, J. *Diffusion in a plane sheet*. En: The Mathematics of Diffusion, 2º Edición, Oxford University Press, Oxford, UK, pp. 47-49, 1975.
- Crank, J. Free and moving boundary problems, Clarendon Press, Oxford, UK, 1984.
- Crank, J. The Mathematics of Diffusion, Clarendon Press, Oxford, UK, 1993.
- Crohn, B.B., Ginzburg, L., Oppenheimer, G.D. *Regional ileitis, a pathological and clinical entity*. JAMA, 99: 1923-1929, 1932.
- Cummings, J.H., Milojevic, S., Harding, M., Coward, W.A., Gibson, G.R., Botham, R.L., Wing, S.G., Wraight, E.P., Stockham, M.A., Allwood, M.C., Newton, J.M. *In vivo studies of amylase-and ethylcellulose-coated [<sup>13</sup>C] glucose microspheres as a model for drug delivery to the colon*. J. Control. Release, 40: 121-131, 1996.
- Dalziel, T.K. *Thomas Kennedy Dalziel 1861-1924. Chronic interstitial enteritis*. Dis. Colon Rectum, 32: 1076-1078, 1989.
- Dana, J.D. System of Mineralogy. 6<sup>th</sup> Edition, (Wiley & Sons, Eds.), Nueva York, 1914.
- Danckwerts, P.V. *Significance of liquid-film coefficients in gas absorption*. Ind. Eng. Chem., 43: 1460-1467, 1951.
- Danese, S., Sans, M., Fiocchi, C. *Inflammatory bowel disease: the role of environmental factors*. Autoimmun. Rev., 3(5): 394-400, 2004.
- Dash, A.K., Brittain, H.G. *Mesalamine*. En: Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients. (G. Brittain. Ed.), Academic Press, London, UK, vol.25, pp 209-242, 1998.

- De Oliveira, M.T.G., Petit, S., Grauby, O., Formoso, M.L.L., Trescases, J.J. *Characterization and distribution of halloysitic clay minerals in weathered basalts (southern Parana basin, Brasil)*. Anais da Academia brasileira de Ciencias, 69: 179-192, 1997.
- De Souza Santos, P., De Souza Santos, H., Brindley, G.W. *Mineralogical studies of kaolinite-halloysite clays: part IV. A platy mineral with structural swelling and shrinking characteristics*. Am. Mineralogist, 51: 1640-1648, 1964.
- De Souza Santos, P., De Souza Santos, H., Brindley, G.W. *Mineralogical studies of kaolinite-halloysite clays: part IV. A platy mineral with structural swelling and shrinking characteristics*. Am. Mineralogist, 51: 1640-1648, 1966.
- Dejmek, M., Ward, C.A. *A statistical rate theory study of interface concentration during crystal growth dissolution*. J. Chem. Phys. 108: 8698-8704, 1998.
- Del Pozo, A. *Conferencia Cercle Gilkinet*. En: Etude Biogalenique de l'influence de certains facteurs technologiques sur l'absorption de l'acide acétylsalicylique. (Armoiry, P., Tesis Doctoral), Université de Clermont-Ferrand, pp.2, 1971 (conferencia de 1967).
- Desai, S.J., Simonelli, A.P., Higuchi, W.I. *Investigation of factors influencing release of solid drug dispersed in inert matrix*. J. Pharm. Sci., 54: 1459-1464, 1965.
- Desai, S.J., Singh, P., Simonelli, A.P., Higuchi, W.I. *Investigation of factors influencing release of solid drug dispersed in inert matrix. II. Quantitation of procedures*. J. Pharm. Sci., 55: 1224-1229, 1966a.
- Desai, S.J., Singh, P., Simonelli, A.P., Higuchi, W.I. *Investigation of factors influencing release of solid drug dispersed in inert matrix. III. Quantitative studies involving the polyethylene plastic matrix*. J. Pharm. Sci., 55: 1230-1234, 1966b.
- Desai, S.J., Singh, P., Simonelli, A.P., Higuchi, W.I. *Investigation of factors influencing release of solid drugs dispersed in inert matrices. IV. Some studies involving the polyvinyl chloride matrix*. J. Pharm. Sci., 55: 1235-1239, 1966c.
- Díaz Peña, M., Roig Muntaner, A. *Química Física*, Alhambra, Madrid, vol. II, 1975.
- Digenis, G.A., Sandefer, E. *Gamma scintigraphy and neutron activation techniques in vivo assessment of orally administered dosage forms*. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst., 7(4): 309-336, 1991.
- Ding, X., Alani, A.W.G., Robinson, J.R. *Extended-release and targeted drug delivery system*. En: The Science and Practice of Pharmacy, 21<sup>st</sup> Edition, (D.B. Troy, Ed.), Remington, Lippincott Williams & Wilkins, USA, cap. 47, pp. 939-964, 2002.
- Dissanayake, A.S., Truelove, S.C. *A controlled therapeutic trial of long-term maintenance treatment of ulcerative colitis with sulphasalazine (Salazopyrin)*. Gut, 14(12): 923-926, 1973.
- Dixon, J.B., McKee, T.R. *Internal and external morphology of tubular and spheroidal halloysite particules*. Clay. Clay Miner., 22: 127-137, 1974.
- Dixon, J.B. *Kaolin and serpentine group minerals*. En: Minerals in Soils Environments, (J.B. Dixon & S.B. Weed, Eds.) Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA, pp. 367-403, 1977.

- Do, D.Q., Rowe, R.C., York, P. *Modelling drug dissolution from controlled release products using genetic programming*. Int. J. Pharm., 351: 194-200, 2008.
- Dokoumetzidis, A., Macheras, P. *A population growth model of dissolution*. Pharm. Res., 14: 1122-1126, 1997.
- Dokoumetzidis, A., Papadopoulou, V., Valsami, G., Macheras, P. *Development of a reaction-limited model of dissolution: Application to official dissolution tests experiments*. Int. J. Pharm., 355: 114-125, 2008.
- Doménech, J., Escribano, E. *Preparados orales de cesión modificada: cinética* En: Biofarmacia y Farmacocinética. (J. Doménech, J. Martínez, J.M. Plá, Eds.) Síntesis, Madrid, vol. II, cap. 15, pp. 317-347, 1998.
- Dong, L.C., Hoffman, A.S. *Thermally reversible hydrogels. III: Immobilization of enzymes for feedback reaction control*. J.Control. Release, 4: 223-227, 1986.
- Dubinin, M.M. Usp. Khim. 21: 513, 1952.
- Dubinin, M.M. *Adsorption and Porosity*. Military Technical Academy, Warsaw, 1975.
- Dubinin, M.M., Radushkevich, L.W. Compt. Rend. Acad. Sci., URSS, 55: 327-331, 1947.
- Duchmann, R., May, E., Heike, M., Knolle, P., Neurath, M., Meyer zum Büschenfelde K.H. *T cell specificity and cross reactivity towards enterobacteria, bacteroides, bifidobacterium and antigens resident intestinal flora in humans*. Gut, 44(6): 812-818, 1999.
- Duen, R.H., Barmada, M.M., Zhang, L., Davis, S., Preston, R.A., Chensny, L.J., Brown, J.L., Ehrlich, G.D., Weeks, D.E., Aston, C.E. *Linkage and association between inflammatory bowel disease and locus on chromosome 12*. Am. J. Hum. Genet., 63(1): 95-100, 1998.
- Eigler, A., Sinha, B., Hartmann, G., Endres, S. *Taming TNF: strategies to restrain this proinflammatory cytokine*. Immunol. Today, 18(10): 487-492, 1997.
- El-Arini, S.K., Leuenberger, H. *Modeling of drug release from polymer matrices: effect of drug loading*. Int. J. Pharm. Sci., 121: 141-148, 1995.
- El-Arini, S.K., Leuenberger, H. *Dissolution properties of praziquantel-PVP systems*. Pharm. Acta Helv., 73: 89-94, 1998.
- Elkoshi, Z. *On the variability of dissolution data*. Pharm. Res., 14:1355-1362, 1997.
- Enscore, D.J., Hopfenberg, H.B., Stannett V.T. *Effect of particle size on the mechanism controlling n-hexane sorption in glassy polystyrene microspheres*. Polymer, 18: 793-800, 1977.
- EP 6.0. European Pharmacopoeia Sixth Edition. Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe, Strasbourg, France, 2008.
- Eucken, A. Verh. Deutsch. Phys. Ges., 16: 345-362, 1914.
- Evans, D.F., Pye, G., Bramley, R., Clark, A.G., Dyson, T.J., Hardcastle, J.D. *Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects*. Gut, 29: 1035-1041, 1988.
- Fallingborg, J., Christensen, L.A., Ingerman-Nielsen, M., Jacobsen, B.A., Abildgaard, K., Rasmussen, H.H. *pH-profile and regional transit times of the normal gut measured by a radiotelemetry device*. Aliment. Pharmacol. Ther., 3: 605-613, 1989.

- Faust, S.D., Aly, O.M. Adsorption processes for water treatment, Butterworth-Heinemann, Boston, USA, pp. 14-22, 1987.
- FDA, Oral Extended (Controlled) Release Dosage Forms In Vivo Bioequivalence and In Vitro Dissolution testing, September 1993
- Feagan, B.G., McDonald, J.W., Rochon, J., Laupacis, A., Fedorak, R.N., Kinnear, D., Saibil, F., Groll, A., Archambault, A., Gillies, R. *Low-dose cyclosporine for the treatment of Crohn's disease. The canadian Crohn's relapse prevention trial investigators.* N. Engl. J. Med., 330: 1846-1851, 1994.
- Fedorak, R.N., Madsen, K.L. *Probiotics and the management of inflammatory bowel disease.* Inflamm. Bowel Dis., 10: 286-299, 2004.
- Feener, E.P., King, G.L. *The biochemical and physiological characteristics of receptors.* Adv. Drug Deliv. Rev., 29:197-213, 1998.
- Feil, H., Bae, Y.H., Feijen, J., Kim, S.W. *Mutual influence of pH and temperature on the swelling of ionizable and thermosensitive hydrogels.* Macromolecules, 25: 5528-5530, 1992.
- Fernandez-Hervas, M.J., Fell, J.T. *Pectin/chitosan mixtures as coating for colonic-specific drug delivery: an in vitro evaluation.* Int. J. Pharm., 169: 115-119, 1998.
- Fick, A. Ann. Phys., 170: 59, 1885.
- Fishel-Ghodsian, F., Brown, L., Mathiowitz, E., Brandenburg, D., Langer, R. *Enzymatically controlled drug delivery.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 85: 2403-2406, 1988.
- Flourie, B., Molis, C., Achour, L., Dupas, H., Hatat, C., Rambaud, J.C. *Fate of  $\beta$ -cyclodextrin in the human intestine.* J. Nutr., 123: 676-680, 1993.
- Ford, J.L., Rubinstein, M.H., Hogan, J.E. *Formulation of sustained release promethazine hydrochloride tablets using hydroxypropyl-methylcellulose matrices.* Int. J. Pharm., 24: 327-338, 1985a.
- Ford, J.L., Rubinstein, M.H., Hogan, J.E. *Propranolol hydrochloride and aminophylline release from matrix tablets containing hydroxypropylmethylcellulose.* Int. J. Pharm., 24: 339-350, 1985b.
- Ford, J.L., Rubinstein, M.H., McCaul, F., Hogan, J., Edgar, P.J. *Importance of drug type, tablet shape and added diluents on drug release kinetics from hydroxypropylmethylcellulose matrix tablets.* Int. J. Pharm., 40: 223-234, 1987.
- Ford, J.L., Mitchell, K., Rowe, P., Armstrong, D.J., Elliott, P.N.C., Rostron, C., Hogan, J.E. *Mathematical modelling of drug release from hydroxypropylmethylcellulose matrices: Effect of temperature.* Int. J. Pharm., 71: 95-104, 1991.
- Franchimont, D.P., Louis, E., Croes, F., Belaiche, J. *Clinical pattern of corticosteroid dependent Crohn's disease.* Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 10: 821-825, 1998.
- Frenning, G., Strømme, M. *Drug release modeled by dissolution, diffusion, and immobilization.* Int. J. Pharm., 250: 137-145, 2003.
- Frenning, G., Brohede, U., Strømme, M. *Finite element analysis of the release of slowly dissolving drugs from cylindrical matrix systems.* J. Control. Release, 107: 320-329, 2005.
- Freundlich, H. Colloid and capillary chemistry, 3<sup>rd</sup> Edition, Methuen, London, UK, 1926.



- Friedman, S., Rubin, P.H., Bodian, C., Goldstein, E., Harpaz, N., Present, D.H. *Screening and surveillance colonoscopy in chronic Crohn's colitis*. Gastroenterology, 120: 820-826, 2001.
- Friend, D.R. *Colon-specific drug delivery*. Adv. Drug Deliv. Rev., 7: 149-199, 1991.
- Friend, D.R. *New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease*. Adv. Drug Dev.Rev., 57: 247-265, 2005.
- Fukui, E., Miyamura, N., Kobayashi, M. *An in vitro investigation of the suitability of press-coated tablets with hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate (HPMCAS) and hydrophobic additives in the outer shell for colon targeting*. J. Control. Release, 70: 97-107, 2001.
- Fuss, I.J., Neurath, M., Boirivant, M., Klein, J.S., De la Motte, C., Strong, S.A., Fiocchi, C., Strober, W. *Disparate CD4+ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of IFN-gamma whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5*. J. Immunol., 157: 1261-1270, 1996.
- Gaines, G.L., Thomas, H.C. *Adsorption studies on clay minerals. II. A formulation of the thermodynamics of exchange adsorption*. J. Chem. Phys., 21: 714-718, 1953.
- Gao, P., Nixon, P.R., Skoug, J.W. *Diffusion in HPMC Gels. II. Prediction of drug release rates from hydrophilic matrix extended-release dosage forms*. Pharm. Res., 12: 965-971, 1995.
- Garretto, M., Riddel, R.H., Winans, C.S. *Treatment of chronic ulcerative colitis with poly-ASA: a new non-absorbable carrier for release of 5-aminosalicylate in the colon*. Gastroenterology, 84: 1162-1164, 1983.
- Ghosh, S., Armitage, E., Wilson, D., Minor, P.D., Afzal, M.A. *Detection of persistent measles virus infection in Crohn's disease: current status of experimental work*. Gut, 48: 748-752, 2001.
- Gibaldi, M., Feldman, S. *Establishment of sink conditions in dissolution rate determinations-theoretical considerations and application to nondisintegrating dosage forms*. J. Pharm. Sci., 56: 1238-1242, 1967.
- Gibaldi, M., Perrier, D. *Pharmacokinetics, Drugs and the Pharmaceutical Sciences*. 2º Edición, Marcel Dekker Inc., New York, USA, vol. 15, pp. 482-494, 1982.
- Girardin, S.E., Hugot, J.P., Sansonetti, P.J. *Lessons from Nod2 studies: towards a link between Crohn's disease and bacterial sensing*. Trends Immunol., 24: 652-658, 2003.
- Gliko-Kabir, I., Yagen, B., Baluom, M., Rubinstein, A. *Phosphated cross-linked guar for colon-specific drug delivery*. J. Control. Release, 63: 129-134, 2000.
- Godet, P.G., May, G.R., Sutherland, L.R. *Meta-analysis of the role of oral contraceptive agents in inflammatory bowel disease*. Gut, 37: 668-673, 1995.
- Gohel, M.C., Panchal, M.K., Jogani, V.V. *Novel mathematical method for quantitative expression of deviation from the Higuchi model*. AAPS. Pharm. Sci. Tech., vol. 1, artículo 31, 2000. En: <http://www.pharmscitech.com>
- Gómez Carrasco, M.C. *Estudio galénico de formas farmacéuticas de administración oral y acción prolongada obtenidas a base de granulados con disgregabilidad diferida*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1973.

- González, J.M. *Las arcillas como minerales industriales: caolines, bentonitas y arcillas especiales*. En: <http://www.unizar.es/acz/AcademicosNumerarios>, 2000.
- Gonzalez, R., De Medina, F., Martinez-Augustin, O., Nieto, A., Galvez, J., Risco, S., Zarzuelo, A. *Anti-inflammatory effect of diosmectite in hapten-induced colitis in the rat*. *British J. Pharmacol.* 141(6): 951-960, 2004.
- Gopferich, A., Langer, R. *Modelling of polymer erosion*. *Macromolecules*, 26: 4105-4112, 1993.
- Gorbach, S.L. *Intestinal flora*. *Gastroenterology*, 60: 1110-1129, 1971.
- Green, P.G. *Iontophoretic delivery of peptide drugs*. *J. Control. Release*, 41: 33-48, 1996.
- Greenberg, G.R., Feaga, B.G., Martin, F., Sutherland, L.R., Thomson, A.B., Williams, C.N., Nilsson, L.G., Persson, T. *Oral budesonide for active Crohn's disease*. *Canadian Inflammatory Bowel Disease Study Group*. *N. Engl. J. Med.*, 331: 836-841, 1994.
- Grim, R.E. *Structure of the clays minerals*. En: *Clay Mineralogy*, 2<sup>o</sup> Edition, (K.O. Emery, A.E. Engel, K. Krauskopf, B. Murray, R. Siever, Eds.), McGraw-Hill International Series in the Earth and Planetary Sciences, New York, USA, cap. 4, pp.70-77, 1968.
- Gu, J.M., Robinson, J.R., Leung, S.H. *Binding of acrylic polymers to mucin/epithelial surfaces: structure-properties relationships*. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 5: 21-67, 1988.
- Guggenheim, S., Eggleton, R.A. *Crystal chemistry, classification, and identification of modulated layer silicates. Hydrous phyllosilicates*. En: *Hydrous Phyllosilicates (exclusive of micas)*, (S.W. Bailey, Ed.), *Reviews in Mineralogy*, Mineralogical Society of America, Chelsea, USA, vol. 19, pp. 675-725, 1988.
- Guggenheim, S., Martin, R.T. *Definition of clay mineral: joint report of the AIPEA nomenclature and CMS nomenclature committees*. *Clay. Clay Miner.*, 43: 255-256, 1995.
- Gupta, V.S., Beckert, T.E., Price, J.C. *A novel pH-and time-based multi-unit potential colonic drug delivery system. I. Development*. *Int. J. Pharm.*, 213: 83-91, 2001a.
- Gupta, V.S., Assmus, M.W., Beckert, T.E., Price, J.C. *A novel pH-and time-based multi-unit potential colonic drug delivery system. II. Optimization of multiple response variables*. *Int. J. Pharm.*, 213: 93-102, 2001b.
- Gurny, R., Doelker, E., Peppas, N.A. *Modelling of sustained release of water-soluble drugs from porous, hydrophobic polymers*. *Biomaterials*, 3: 27-32, 1982.
- Gutierrez, O., Pipaon, C., Inohara, N., Fontalba, A., Ogura, Y., Prosper, F., Nunez, G., Fernandez-Luna, J.L. *Induction of Nod2 in myelomonocytic and intestinal epithelial cells via nuclear factor-kappa B activation*. *J. Biol. Chem.*, 277: 41701-41705, 2002.
- Ha, S.N., Lee, H.C. *Cosmetic composition for preventing the skin aging and whitening the skin, containing natural mixture having plentiful inorganic substances including selenium*. Industrial report, Korea Research Institute of Chemical Technology, South Korea, 2003.
- Hanauer, S.B., Feagan, B.G., Lichtenstein, G.R., Mayer, L.F., Schreiber, S., Colombel, J.F., Rachmilewitz, D., Wolf, D.C., Olson, A., Bao, W., Rutgeerts, P. ACCENT I Study Group. *Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial*. *Lancet*, 359: 1541-1549, 2002.

- Hanauer, S.B., Wagne, C.L., Bala, M., Mayer, L., Travers, S., Diamond, R.H., Olson, A., Bao, W., Rutgeerts, P. *Incidence and importance of antibody response to infliximab after maintenance or episodic treatment I Crohn's disease*. Clin. Gastroenterol. Hepatol., 2: 542-553, 2004.
- Hanauer, S.B., Sandborn, W.J., Rutgeerts, P., Fedorak, R.N., Lukas, M., MacIntosh, D., Panaccione, R., Wolf, D., Pollack, P. *Human antitumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC-I trial*. Gastroenterology, 130: 323-333, 2006.
- Harboe, E., Johansen, M., Larsen, C. *Macromolecular prodrugs: VI. Coupling of the highly lipophilic agent naproxen to dextran and in vitro characterization of the conjugates*. Farmaci. Sci. Ed., 16: 73-85, 1988.
- Harland, R.S., Gazzaniga, A., Sangalli, E., Colombo, P., Peppas, N.A. *Drug/Polymer matrix swelling and dissolution*. Pharm. Res., 5: 488-494, 1988.
- Hart, A., Kamm, M.A. *Review article: mechanism of initiation and perpetuation of gut inflammation by stress*. Aliment. Pharmacol. Ther., 16: 2017-2028, 2002.
- Hart, R.D., Gilkes, R.J., Siradz, S., Singh, B. *The nature of soil kaolins from Indonesia and Western Australia*. Clay. Clay Miner., 50: 198-207, 2002.
- Hayashi, S., Okada, N., Kohyama, N., Ossaka, J. *Particle morphology and iron content of halloysite*. J. Clay Sci. Society of Japan, 27: 162-169, 1987.
- He, J., Zhong, C., Mi, J. *Modeling of drug release from bioerodible polymer matrices*. Drug Deliv., 12: 251-259, 2005.
- Hehre, E.J., Sery, T.W. *Dextran-splitting anaerobic bacteria from the human intestine*. J. Bacteriol., 63: 424-426, 1952.
- Heller, J., Trescony, P.V. *Controlled drug release by polymer dissolution. II: Enzyme-mediated delivery device*. J. Pharm. Sci., 68: 919-921, 1979.
- Heller, J., Baker, R.W. *Theory and practice of controlled drug delivery from bioerodible polymers*. In: Controlled Release of Bioactive Materials, (R.W. Baker, Ed.), Academic Press, New York, USA, pp. 1-18, 1980.
- Heller, J., Pengburn, S.H. *A triggered bioerodible naltrex-one delivery system*. Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., 13: 35-36, 1986.
- Heller, J., Chang, A.C., Rood, G., Grodsky, G.M. *Release of insulin from pH-sensitive poly(ortho esters)*. J. Control. Release, 13: 295-302, 1990.
- Hendricks, S.B., Jefferson, M.E. *Structures of kaolin and talc-pyrophyllite hydrates and their bearing on water sorption of the clays*. Am. Mineral., 23: 863-875, 1938.
- Higuchi, T. *Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspensions*. J. Pharm. Sci., 50: 874-875, 1961.
- Higuchi, T. *Mechanism of sustained action mediation. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices*. J. Pharm. Sci., 52: 1145-1149, 1963.
- Hippius, M., Smolenski, U., Uhlemann, C., Schreiber, U., Hoffmann, A. *In vitro investigations of drug release and penetration--enhancing effect of ultrasound on transmembrane transport of flufenamic acid*. Exp.Toxicol.Pathol., 50: 450-452, 1998a.

- Hippius, M., Uhlemann, C., Smolenski, U., Schreiber, U., Reissig, S., Hoffmann, A. *In vitro investigations of drug release and penetration--enhancing effect of ultrasound on transmembrane transport of flufenamic acid*. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, 36: 107-111, 1998b.
- Hisamatsu, T., Suzuki, M., Reinecker, H.C., Nadeau, W.J., McCormick, B.A., Podolsky, D.K. *CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells*. *Gastroenterology*, 124: 993-1000, 2003.
- Hixson, A.W., Crowell, J.H. *Dependence of reaction velocity upon surface and agitation*. *Ind. Eng. Chem.*, 23: 923-931, 1931.
- Hoffman, A.S., Afrasiabi, A., Dong, L.C. *Thermally reversible hydrogels. II: Delivery and selective removal of substances from aqueous solutions*. *J. Control. Release*, 4: 213-222, 1986.
- Hofmann, U., Endell, K., Wilm, D. *Rontgenographische und kolloidchemische Untersuchungen uber Ton*. *Angew Chem.*, 47: 539-547, 1934.
- Honjo, G., Kitamura, N., Mihama, K. *A study of clay minerals by means of single-crystal electron diffraction diagrams – the structure of tubular kaolin*. *Clay Miner. Bull.*, 2: 133-141, 1954.
- Hopfenberg H.B., Frisch, H.L. *Transport of organic micromolecules in amorphous polymers*. *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.*, 7: 405-409, 1969.
- Hopfenberg, H.B. In: *Controlled Release Polymeric Formulations*. (D.R. Paul, F.W. Harris, Eds.), ACS Symposium Series 33, American Chemical Society, Washington DC, USA, pp. 26-31, 1976.
- Hopkins, D.J., Horan, E., Bunon, I.L., Clamp, S.E., De Dombal, F.T., Goligher, J.C. *Ocular disorders in a series of 332 patients with Crohn's disease*. *Br. J. Ophthalmol.*, 58: 732-737, 1974.
- Horbett, T.A., Ratner, B.D., Kost, J., Singh, M. *A bioresponsive membrane for insulin delivery*. In: *Recent Advances in Drug Delivery Systems*. (J.M. Anderson, S.W. Kim, Eds.), Plenum Press, New York, USA, pp. 209-220, 1984.
- Hovgaard, L., Brondsted, H. *Current applications of polysaccharides in colon targeting*. *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.*, 13: 185-223, 1996.
- Hu, Z., Kimura, G., Mawatari, S., Shimokawa, T., Yoshikawa, Y., Takada, K. *New preparation method of intestinal pressure-controlled colon delivery capsules by coating machine and evaluation in beagle dogs*. *J. Control. Release*, 56: 293-302, 1998.
- Hughes, T.J.R. *The finite element method: linear static and dynamic finite element analysis*. Dover Publications, Mineola, New York, USA, 2000.
- Hugot, J.P., Chamaillard, M., Zouali, H., Lesage, S., Cézard, J.P., Belaiche, J., Almer, S., Tysk, C., O'Morain, C.A., Gassull, M., Binder, V., Finkel, Y., Cortot, A., Modigliani, R., Laurent-Puig, P., Gower-Rousseau, C., Macry, J., Colombel, J.F., Sahbatou, M., Thomas, G. *Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease*. *Nature*, 411: 599-603, 2001.
- Hurlbut, C.S., Klein, C. *Manual de Mineralogía de Dana*, Reverté, Barcelona, pp. 418-431, 1991.
- Hurst, A.F. *Ulcerative colitis*. *Guy's Hosp. Rep.*, 71: 26-41, 1909.
- Hurst, R.D., Molinari, M., Chung, T.P., Rubin, M., Michelassi, F. *Prospective study of the features, indications, and surgical treatment in 513 consecutive patients affected by Crohn's disease*. *Surgery*, 122: 661-667, 1997.

- Hsieh, D.S.T., Langer, R. *Zero-order drug delivery systems with magnetic control*. En: Controlled Release Delivery Systems. (T.J. Roseman, S.Z. Mansdorf, Eds.) Marcel Dekker Inc., New York, USA, 1983.
- ICH, International conference on harmonization of technical requirements for the registration of pharmaceuticals for human use. Línea guía: *Validation of analytical procedures*. Ginebra (CH), 1995.
- Inohara, N., Ogura, Y., Nunez, G. *Nods: a family of cytosolic proteins that regulate the host response to pathogens*. *Curr. Opin. Microbiol.*, 5: 76-80, 2002.
- Ireland, A., Priddle, J.D., Jewel, D.P. *Acetylation of 5-aminosalicylic acid by human colonic epithelial cells*. *Gastroenterology*, 90: 1471-1478, 1986.
- Ishihara, K., Shinohara, I. *Photoinduced permeation control of proteins using amphiphilic azoaromatic polymer membrane*. *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.*, 22: 515-518, 1984.
- Jain, S., Jain, N.K. *Preparation, characterization and pharmaceutical potential of engineered erythrocytes*. *Pharmazie*, 1: 5-14, 1998.
- Jensen, J., Cornett, C., Olsen, C.E., Tjornelund, J., Honore Hansen, S.H. *Identification of major degradation products of 5-aminosalicylic acid formed in aqueous solutions and in pharmaceuticals*. *Int. J. Pharm.*, 88: 177-187, 1992.
- Jeong, S.Y., Kim, S.W., Eenink, M.J.D., Feijen, J. *Self-regulating insulin delivery systems. I. Synthesis and characterization of glycosylated insulin*. *J. Control. Release*, 1: 57-66, 1984.
- Jeong, B., Bae, Y.H., Lee, D.S., Kim, S.W. *Biodegradable block copolymers as injectable drug-delivery systems*. *Nature*, 388: 860-862, 1997.
- Jeong, Y., Ohno, T., Hu, Z., Yoshikawa, Y., Shibata, N., Nagata, S., Takada, K. *Evaluation of intestinal pressure-controlled colon delivery capsules prepared by a dipping method*. *J. Control. Release*, 71: 175-182, 2001.
- Jewel, D.P., Truelove, S.C. *Azathioprine in ulcerative colitis: final report on a controlled therapeutic trial*. *Br. Med. J.*, 4: 627-630, 1974.
- Ji, X., Chen, D., Wei, T., Lu, X., Wang, Y., Shi, J. *Determination of dissolution kinetics of  $K_2SO_4$  crystal with ion selective electrode*. *Chem. Eng. Sci.*, 56: 7017-7024, 2001.
- Jørgensen, K., Christensen, F.N. *Shape modeling of dissolution profiles by non-integer kinetic orders*. *Int. J. Pharm.*, 143: 223-232, 1996.
- Jost, W. *Diffusion in Solids, Liquids, Gases*, Sixth Printing, Academic Press Inc., New York, USA, 1970.
- Joussein, E., Petit, S., Churchman, J., Theng, B., Righi, D., Delvaux, B. *Halloysite clays minerals- a review*. *Clays Minerals*, 40: 383-426, 2005.
- Jun, H.W., Lai, J.W. *Preparation and in vitro dissolution tests of egg albumin microcapsules of nitrofurantoin*. *Int. J. Pharm.*, 16: 65-77, 1983.
- Katsuma, M., Watanabe, S., Kawai, H., Takemura, S., Masuda, Y., Fukui, M. *Studies on lactulose formulations for colon-specific drug delivery*. *Int. J. Pharm.*, 249: 33-43, 2002.

- Katzhendler, I., Hofman, A., Goldberger, A., Friedman, M. *Modeling of drug release from erodible tablets*. J. Pharm. Sci. 86: 110-115, 1997.
- Kelly, H.M., Deasy, P.B., Ziaka, E., Claffey, N. *Formulation and preliminary in vivo dog studies of a novel drug delivery system for the treatment of periodontitis*. Int. J. Pharm., 274: 167-183, 2004.
- Kenyon, C.J., Nardi, R.V., Wong, D., Hooper, G., Wilding, I.R., Friend, D.R. *Colonic delivery of dexamethasone: a pharmacoscintigraphic evaluation*. Aliment. Pharmacol. Ther., 11: 205-213, 1997.
- Kii, S., Dam-Johansen, K., *Controlled drug delivery from swellable hydroxypropylmethylcellulose matrices: model-based analysis of observed radial front movements*. J. Control. Release, 90: 1-21, 2003.
- Kim, S.W., Jeong, S.Y., Sato, S., Mc Rea, J.C., Feijan, J. *Self-regulation insulin delivery system-a chemical approach*. En: Recent Advances in Drug Delivery Systems. (J.M. Anderson, S.W. Kim, Eds.), Plenum Press, New York, USA, pp.123, 1983.
- Kim, S.W., Jacobs, H.A. *Self-regulated insulin-delivery: artificial pancreas*. Drug Dev. Ind. Pharm., 20: 575-580, 1994.
- Kim, C-J. *Drug release from compressed hydrophilic POLYOX-WSR tablets*. J. Pharm. Sci., 84: 303-306, 1995.
- Kim, H., Fassihi, R. *Application of binary polymer system in drug release rate modulation. 2. Influence of formulation variables and hydrodynamic conditions on release kinetics*. J. Pharm. Sci., 86: 323-328, 1997.
- Kimura, M., Djilali, N., Dost, S. *Convective transport and interface kinetics in liquid phase epitaxy*. J. Cryst. Growth, 143: 334-348, 1994.
- Kinget, R., Kalala, W., Veervoort, L., Van Den Mooter, G. *Colonic drug delivery*. J. Drug Target., 6: 129-149, 1998.
- Kirk, A.P., Lennard-Jones, J.E. *Controlled trial of azathioprine in chronic ulcerative colitis*. Br. Med. J., (Clin. Res. Ed.), 284: 1291-1292, 1982.
- Kirsner, J.B. *Historical aspects of inflammatory bowel disease*. J. Clin. Gastroenterol., 10: 286-297, 1988.
- Kitazawa, S., Johno, I., Ito, Y., Teramura, S., Okada, J. *Effects of hardness on the desintegration time and the dissolution rate of uncoated caffeine tablets*. J. Pharm. Pharmacol., 27: 765-770, 1975.
- Kitazawa, S., Johno, I., Ito, Y., Tokuzo, M., Okada, J. *Interpretation of dissolution rate data from in vivo testing of compressed tablets*. J. Pharm. Pharmacol., 29: 453-459, 1977.
- Klotz, U. *Clinical pharmacokinetics of sulphasalazine, its metabolites and other prodrugs for 5-aminosalicylic acid*. Clin. Pharmacokinetic., 10: 285-302, 1985.
- Koester, L.S., Ortega, G.G., Mayorga, P., Bassani, V.L. *Mathematical evaluation of in vitro release profiles of hydroxypropylmethylcellulose matrix tablets containing carbamazepine associated to  $\beta$ -cyclodextrin*. Eur. J. Pharm. Biopharm., 58: 177-179, 2004.
- Kohyama, N., Fukushima, K., Fukami, A. *Observation of the hydrated form of tubular halloysite by an electron microscope equipped with an environmental cell*. Clay. Clay Miner., 26: 25-40, 1978.

- Kohyama, N., Fukushima, K., Fukami. *Interlayer hydrates and complexes of clays minerals observed by electron microscopy using by environmental cell*. En: Proceeding of the 7<sup>th</sup> International Clay Conference 1981. (H. Van Olphen, F. Veniale, Eds.), Developments in Sedimentology, Elsevier, Amsterdam, Holland, vol.35, pp. 373-384, 1982.
- Koizumi, T., Panomsuk, S.P. *Release of medicaments from spherical matrices containing drug in suspension: Theoretical aspects*. Int. J. Pharm., 116: 45-49, 1995.
- Kopelman, R. *Fractal reaction kinetics*. Science, 241:1620-1626, 1988.
- Korsmeyer, R.W., Peppas, N.A. *Effect of the morphology of hydrophilic polymeric matrices on the diffusion and release of water soluble drugs*. J. Membr. Sci., 9: 211-227, 1981.
- Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E.M., Buri, P., Peppas, N.A. *Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers*. Int. J. Pharm., 15: 25-35, 1983.
- Korsmeyer, R.W., Peppas, N.A. *Macromolecular and modeling aspects of swelling-controlled system*. En: Controlled Release Delivery System, (T.J. Roseman, S.Z. Mansdorf, Eds.), Dekker, New York, USA, pp. 77-90, 1983.
- Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., Peppas, A. *Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers*. Int. J. Pharm., 60: 110-111, 1985.
- Kosmidis, K., Rinaki, E., Argyrakis, P., Macheras, P. *Analysis of Case II drug transport with radial and axial release from cylinders*. Int. J. Pharm., 254: 183-188, 2003a.
- Kosmidis, K., Argyrakis, P., Macheras, P. *A reappraisal of drug release laws using Monte Carlo simulations: the prevalence of the Weibull function*. Pharm. Res., 20: 988-995, 2003b.
- Kosmidis, K., Argyrakis, P., Macheras, P. *Fractal kinetics in drug release from finite fractal matrices*. J. Chem. Phys., 119: 6373-6377, 2003c.
- Kosmidis, K., Macheras, P. *Monte Carlo simulation of drug release from matrices with periodic layers of high and low diffusivity*. Int. J. Pharm., 354: 111-116, 2008.
- Kost, J., Wolfrum, J., Langer, R. *Magnetically enhanced insulin release in diabetics rats*. J. Biomed. Mater. Res., 21: 1367-1373, 1987.
- Kost, J., Leong, K., Langer, R. *Ultrasound-Enhanced Polymer Degradation and Release of Incorporated Substances*. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 86: 7663-7666, 1989.
- Kost, J. *Ultrasound for controlled delivery of therapeutics*. Clin. Mater., 13: 155-161, 1993.
- Koza, J.R. *Introduction to genetic program mming-Advances in genetic programming*. MIT Press, Cambridge, UK, cap. 2,1994.
- Koza, J.R. *Future work and practical applications of genetic programming-Handbook of evolutionary computation*. Institute of Physiscs Publishing/ Oxford University Press, Bristol, UK/New York, pp. 1-6, 1997.
- Koza, J.R. *Genetic Programming on the programming of computers by means of natural selection*. Sixth printing, MIT Press, Cambridge, Massachusetts, London, UK, 1998.
- Kramer, M., Netea, M.G., De Jong, D.J., Kullberg, B.J., Adema, G.J. *Impared dendritic cell function in Crohn's disease patients with NOD2 3020insC mutation*. J. Leukoc. Biol., 79: 860-866, 2006.

- Krishnaiah, Y.S.R., Satyanarayana, V., Rama Prasad, Y.V., Rao, N.S. *Gamma scintigraphic studies on guar gum matrix tablets for colonic drug delivery in healthy volunteers*. J. Control. Release, 55: 245-252, 1998.
- Krishnaiah, Y.S.R., Satyanarayana, V., Rama Prasad, Y.V. *Studies of guar gum compression-coated 5-aminosalicylic acid tablets for colonic drug delivery*. Drug Dev. Ind. Pharm., 25: 651-657, 1999.
- Krishnaiah, Y.S.R., Satyanarayana, V., Dinesh Kumar, B., Karthikeyan, R.S. *In vitro drug release studies on guar gum-based colon targeted oral drug delivery systems of 5-fluorouracil*. Eur. J. Pharm. Sci., 16: 185-192, 2002.
- Krishnaiah, Y.S.R., Satyanarayana, V., Dinesh Kumar, B., Karthikeyan, R.S., Bhaskar, P. *In vivo pharmacokinetics in human volunteers: oral administered guar gum-based colon targeted 5-fluorouracil tablets*. Eur. J. Pharm. Sci., 19: 355-362, 2003a.
- Krishnaiah, Y.S.R., Veer Raju, P., Dinesh Kumar, B., Satyanarayana, V., Karthikeyan, R.S., Bashkar, P. *Pharmacokinetic evaluation of guar gum-based colon-targeted drug delivery systems of mebendazole in healthy volunteers*. J. Control. Release, 88: 95-103, 2003b.
- Kumar, V., Banker, G.S. En: Modern Pharmaceutics 4<sup>th</sup> ed. (Banker, G.S., Rhodes, C.T., Eds.), Marcel Dekker, New York, USA, pp. 529, 2002.
- Kunze, G.W., Bradley, W.F. *Occurrence of a tabular halloysite in a Texas soil*. En: Proceeding of the 12<sup>th</sup> National Conference on Clays and Clays Minerals, Pergamon Press, Oxford, UK, vol. 19, pp. 523-528, 1964.
- Kuu, W.Y., Yalkowsar, S.H. *Multiple-hole approach to zero-order release*. J. Pharm. Sci., 74: 926-933, 1985.
- Kwon, I.C., Bae, Y.H., Kim, S.W. *Electrically credible polymer gel for controlled release of drugs*. Nature, 354: 291-293, 1991.
- Lagaly, G. *Pesticide-clay interaction and formulation*. Appl. Clay Sci., 18: 205-209, 2001.
- Lai, T.Y-F., Carstensen, J.T. *Effect of shape factor on cube root dissolution behavior*. Int. J. Pharm., 1: 33-40, 1978.
- Lala, S., Ogura, Y., Osborne, C., Hor, S.Y., Bromfield, A., Davies, S., Ogunbiyi, O., Nunez, G., Keshav, S. *Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells*. Gastroenterology, 125: 47-57, 2003.
- Langenbucher, F. *Linearization of dissolution rate curves by the Weibull distribution*. J. Pharm. Pharmacol., 24: 979-981, 1972.
- Langenbucher, F. *Parametric representation of dissolution-rate curves by the RRSBW distribution*. Pharm. Ind., 38: 472-477, 1976.
- Langer, R.S., Peppas, N.A. *Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems*. Biomaterials, 2: 201-214, 1981.
- Langer, R. *New methods of drug delivery*. Science. 249: 1527-1533, 1990.
- Langmuir, I. *The constitution and fundamental properties of solids and liquids*. J. Am. Chem. Soc., 38: 2221-2295, 1916.



- Langmuir, I. *The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum*. J. Amer. Chem. Soc., 40: 1361-1403, 1918.
- Lansky, P., Weiss, M. *Does the dose-solubility ratio affect the mean dissolution time of drugs?* Pharm. Res., 16: 1470-1476, 1999.
- Lansky, P., Weiss, M. *Classification of dissolution profiles in terms of fractional dissolution rate and a novel measure of heterogeneity*. J. Pharm. Sci., 92: 1632-1647, 2003.
- Lapidus, H., Lordi, N.G. *Some factors affecting the release of a water-soluble drug from a compressed hydrophilic matrix*. J. Pharm. Sci., 55: 840-843, 1966.
- Lapidus, H., Lordi, N.G. *Drug release from compressed hydrophilic matrices*. J. Pharm. Sci., 57: 1292-1301, 1968.
- Lapidus, A., Bangstad, M., Astrom, M., Muhrbeck, O. *The prevalence of gallstone disease in a defined cohort of patients with Crohn's disease*. Am. J. Gastroenterol., 94: 1261-1266, 1999.
- Larobina, D., Mensitieri, G., Kipper, M.J., Narasimhan, B. *Mechanistic understanding of degradation in bioerodible polymers for drug delivery*. AIChE. J., 48: 2960-2970, 2002.
- Lashner, B.A., Savina, P.M., Garetto, M., Kotale, A.N., Bushby, M.B., Blum, M.R., Winans, C.S. *Release of 5-aminosalicylic acid (5-ASA) from BW73Y: in vitro and in vivo studies in humans*. Gastroenterology, 86: 1154-1162, 1985.
- Lauritsen, K., Laursen, L.S., Rask-Madsen, J. *Clinical pharmacokinetics of drugs used in the treatment of gastrointestinal diseases (Part II)*. Clin. Pharmacokinetic., 19: 94-125, 1990.
- Lauroba, J., Doménech, J. *La liberación como factor limitativo de la absorción gastrointestinal*. En: Biofarmacia y Farmacocinética, (J. Doménech, J. Martínez, J.M. Plá, Eds.), Síntesis, Madrid, vol. II, cap. 12, pp. 241-274, 1998.
- Le Hir, A. En: Pharmacie galénique 7<sup>a</sup> Ed., (Le Hir, ed.), Masson, Paris, 1997.
- Lebwohl, M., Lebwohl, O. *Cutaneous manifestations of inflammatory bowel disease*. Inflamm. Bowel Dis., 4: 142-148, 1998.
- Lee, P.I. *Diffusional release of a solute from a polymeric matrix approximate analytical solutions*. J. Membrane Sci. 7: 255-275, 1980.
- Lee, P.I. *Kinetics of drug release from hydrogels matrices*. J. Control. Release, 2: 277-288, 1985.
- Lee, P. I., Peppas, N. A. *Prediction of polymer dissolution in swellable controlled release systems*. J. Control. Release, 6: 207-215, 1987.
- Lee, V.H.L., Mukherjee, S.K. *Drug delivery-oral colon-specific*. En: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, (J. Swarbrick, J.C. Boylan, Eds.), Marcel Dekker, New York, USA, pp. 871-885, 2002.
- Lee, S., Raw, A., Yu, L. *Dissolution Testing*. En: Biopharmaceutics Applications in Drug Development. (Krishna, Rajesh, Yu, Lawrence, Eds.), Springer, US, pp. 47-74, 2008. En <http://springerlink.metapress.com>
- Leiper, K., Morris, A.I., Rhodes, J.M. *Open label trial of oral clarithromycin in active Crohn's disease*. Aliment. Pharmacol. Ther., 14: 801-806, 2000.

- Lemann, M., Chamiot- Prieur, C., Mesnard, B., Halphen, M., Messing, B., Rambaud, J.C., Gendre, J.P., Colombel, J.F., Modigliani, R. *Methotrexate for the treatment of refractory Crohn's disease*. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 10: 309-314, 1996.
- Leopold, C.S. *Coated dosage forms for colon-specific drug delivery*. *Pharm. Sci. Tech. Today*, 2: 197-204, 1999.
- Leopold, C., Eikeler, D. *Basic coating polymers for the colon-specific drug delivery in inflammatory bowel disease*. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26: 1239-1246, 2000.
- Levis, S.R., Deasy, P.B. *Characterization of halloysite for use as a microtubular drug delivery system*. *Int. J. Pharm.*, 243: 125-134, 2002.
- Levis, S.R., Deasy, P.B. *Use of coated microtubular halloysite for the sustained release of diltiazem hydrochloride and propranolol hydrochloride*. *Int. J. Pharm.*, 253: 145-157, 2003.
- Li, J., Moran, T., Swanson, E., Julian, C., Harris, J., Bonen, D.K., Hedl, M., Nicolae, D.L., Abraham, C., Cho, J.H. *Regulation of IL-8 and IL-1 beta expression in Crohn's disease associated NOD2/CARD15 mutations*. *Hum. Mol. Genet.*, 13: 1715-1725, 2004.
- Lichtenstein, G.R., Yan, S., Bala, M., Hanauer, S. *Remission in patients with Crohn's disease is associated with improvement in employment and quality of life and a decrease in hospitalization and surgeries*. *Am. J. Gastroenterol.*, 99: 91-96, 2004.
- Lichtiger, S., Present, D.H. *Preliminary report: Cyclosporin in treatment of severe active ulcerative colitis*. *Lancet*, 336: 16-19, 1990.
- Lin, S.Y., Yang, J.C. *In vitro dissolution behaviour of some sustained-release theophylline dosage forms*. *Pharm. Acta. Helv.*, 64: 236-240, 1989.
- Lin, H., Rosenberger, F., Alexander, J.I.D., Nadarajah, A. *Convective-diffusive transport in protein crystal growth*. *J. Cryst. Growth*, 151: 153-162, 1995.
- Lin, C.W., Cham, T.M. *Effect of particle size on the available surface area of nifedipine from nifedipine-polyethylene glycol 6000 solid dispersions*. *Int. J. Pharm.*, 127: 261-272, 1996.
- Lindner, W.D., Lippold, B.C. *Drug release from hydrocolloid embeddings with high or low susceptibility to hydrodynamics stress*. *Pharm. Res.*, 12: 1781-1785, 1995.
- Lindstrom, F.T., Ayres, J.W. *Diffusion model for drug release from suspensions. II: Release to a perfect sink*. *J. Pharm. Sci.*, 66: 662-668, 1977.
- Lisciandrano, D., Ranzi, T., Carrassi, A., Sardella, A., Campanini, M.C., Velio, P., Bianchi, P.A. *Prevalence of oral lesions in inflammatory bowel disease*. *Am. J. Gastroenterol.*, 91: 7-10, 1996.
- Liu, L.S., Kost, J., Emanuele, A.D., Langer, R. *Experimental approach to elucidate the mechanism of ultrasound-enhanced polymer erosion and release of incorporated substances*. *Macromolecules*, 25: 123-128, 1992.
- Loftus, E.V. Jr., Silverstein, M.D., Sandbom, W.J., Tremaine, W.J., Harmsen, W.S., Zinsmeister, A.R. *Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota, 1940-1993: incidence, prevalence, and survival*. *Gastroenterology*, 114: 1161-1168, 1998.
- López-Galindo, A., Viseras, C., Cerezo, P. *Compositional, technical and safety specifications of clays to be used as pharmaceutical and cosmetic products*. *Appl. Clay Sci.*, 36: 51-63, 2007.

- Lorenzo-Lamosa, M.L., Remunan-López, C., Vila-Jato, J.L., Alonso, M.J. *Design of microencapsulated chitosan microspheres for colonic drug delivery*. J. Control. Release, 52: 109-118, 1998.
- Losi, E., Bettini, R., Santi, P., Sonvico, F., Colombo, G., Lofthus, K., Colombo, P., Peppas, N.A. *Assemblage of novel release modules for the development of adaptable drug delivery systems*. J. Control. Release, 11: 212-218, 2006.
- Lu, Z.R., Shiah, J.G., Sakuma, S., Kopeckova, P., Kopecek, J. *Design of novel bioconjugates for targeted drug delivery*. J. Control. Release, 78: 165-173, 2002.
- MacDermott, R.P. *Progress in understanding the mechanism of action of 5-aminosalicylic acid*. Am. J. Gastroenterol., 95: 3343-3345, 2000.
- MacDonald, T.T. *Effector and regulatory lymphoid cells and cytokines in mucosal sites*. Curr. Top. Microbiol. Immunol., 236: 113-135, 1999.
- MacEwan, D.M.C. *Halloysite-organic complexes*. Nature, 157: 159-160, 1946.
- Macheras, P., Dokoumetzides, A. *On the heterogeneity of drug dissolution and release*. Pharm. Res., 17: 108-112, 2000.
- Mack, D.R., Young, R., Kaufman, S.S., Ramey, L., Vanderhoof, J.A. *Methotrexate in patients with Crohn's disease after 6-mercaptopurine*. J. Pediatr., 132: 830-835, 1998.
- MacLeod, G.S., Fell, J.T., Collet, J.H., Sharma, H.L., Smith, A.M. *Selective drug delivery to the colon using pectin-chitosan: hidroxypropyl methylcellulose film coated tablets*. Int. J. Pharm., 187: 251-257, 1999a.
- MacLeod, G.S., Fell, J.T., Collet, J.H. *An in vitro investigation into the potential for bimodal drug release from pectin/chitosan HPMC-coated tablets*. Int. J. Pharm., 188: 11-18, 1999b.
- Mannon, P.J., Fuss, I.J., Mayer, L., Elson, C.O., Sandborn, W.J., Present, D., Dolin, B., Goodman, N., Groden, C., Hornung, R.L., Quezado, M., Yang, Z., Neurath, M.F., Salfeld, J., Veldman, G.M., Schwertschlag, U., Strober, W. *Antiinterleukin-12 antibody for active Crohn's disease*. N. Engl. J. Med., 351: 2069-2079, 2004.
- Marín Boscá, M.T. *Comprimidos de liberación controlada de teofilina a base de matrices: estudio experimental in vitro e in vivo*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1987.
- Marks, D.J., Harbord, M.W., MacAllister, R., Rahman, F.Z., Young, J., Al-Lazikani, B., Lees, W., Novelli, M., Bloom, S., Segal, A.W. *Defective acute inflammation in Crohn's disease: a clinical investigation*. Lancet, 367: 668-678, 2006.
- Marshall, J.K., Irvine, E.J. *Rectal aminosalicylates therapy for distal ulcerative colitis: a meta-analysis*. Aliment. Pharmacol. Ther., 9: 293-300 1995.
- Martin, A. N. *Diffusion and dissolution*. En: Physical Pharmacy, 4<sup>th</sup> Edition, (G. H. Mundorff. Ed.), Lea & Febiger, Malvern, Philadelphia, USA, cap. 13, pp. 324-361, 1993.
- Martín-Ramos, J.D. *XPOWDER. Programa para análisis cualitativo, cuantitativo y de perfiles de difracción de rayos X*. Macla, 4/5: 35-44, 2006.

- Maubru, M., Restle, S., Perron, B. *Cosmetic compositions comprising a methacrylic acid copolymer, insoluble mineral particles and a cationic or amphoteric polymers*. Industrial report, L'oreal, France, 2004.
- Mayberry, J., Mann, R. *Inflammatory bowel disease in rural sub-Saharan Africa: rarity of diagnosis in patients attending mission hospitals*. *Digestion*, 44: 172-176, 1989.
- McLeod, A.D., Friend, D.R., Tozer, T.N. *Synthesis and chemical stability of glucocorticoid-dextran esters: potential prodrugs for colon-specific delivery*. *Int. J. Pharm.*, 92: 105-114, 1993.
- McLeod, A.D., Friend, D.R., Tozer, T.N. *Glucocorticoid-dextran conjugate as potential prodrug for colon-specific delivery: hydrolysis in rat gastrointestinal tract contents*. *J. Pharm. Sci.*, 83: 1284-1288, 1994.
- Mehmel, M. *Ueber die Struktur von Halloysit und Metahalloysit*. *Z. Krist.*, 90: 35-43, 1935.
- Mendeloff, A.I., Calkuns, B.M. *The epidemiology of idiopathic inflammatory bowel disease*. En: *Inflammatory Bowel Disease*, 4<sup>th</sup> Ed., (J.B. Kirsner, R.G. Shorter, Eds.), Lea and Febiger, Philadelphia, USA, pp. 31-68, 1995.
- Michaels, A.S. *Device for Delivering Drug to Biological Environment*. US Patent 4,180,073, Dec. 25, 1979.
- Milojevic, S., Newton, J.M., Cummings, J.H., Gibson, G.R., Botham, R.L., Ring, S.G., Stockham, M., Allwood, M.C. *Amylose as a coating for drug delivery to the colon: preparation and in vitro evaluation using 5-aminosalicylic acid pellets*. *J. Control. Release*, 38: 75-84, 1996a.
- Milojevic, S., Newton, J.M., Cummings, J.H., Gibson, G.R., Botham, R.L., Ring, S.G., Stockham, M., Allwood, M.C. *Amylose as a coating for drug delivery to the colon: preparation and in vitro evaluation using glucose pellets*. *J. Control. Release*, 38: 85-94, 1996b.
- Milovski, A.V., Kónonov, O.V. *Mineralogia* (Micherski, B.A. trad.), Mir, Moscú, Rusia, pp 163-197, 1988.
- Minato, H., Utada, M. *Mode of occurrence and mineralogy of halloysite from Iki, Japan*. En: *Proceedings of the International Clay Conference 1969*, Tokyo, (L. Heller, Ed.), University Press, Jerusalem, Israel, pp. 393-402, 1969.
- Misiewicz, J.J., Lennard-Jones, J.E., Connell, A.M., Baron, J.H., Avery Jones, F. *Controlled trial of sulphasalazine in maintenance therapy of ulcerative colitis*. *Lancet*, 1: 185-188, 1965.
- Miyazaki, S., Yokouchi, C., Takada, M. *External control of drug release: controlled release of insulin from a hydrophilic polymer implant by ultrasound irradiation in diabetic rats*. *J. Pharm. Pharmacol.*, 40: 716-717, 1988.
- Moës, A.J. *Gastroretentive dosage forms*. *Crit. Rev. Ther. Drug. Carr. Syst.*, 10: 143-195, 1993.
- Moghimi, S.M. *Exploiting bone marrow microvascular structure for drug delivery and future therapies*. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 17: 61-73, 1995.
- Moghimi, S.M., Bonnemain, B. *Subcutaneous and intravenous delivery of diagnostic agents to the lymphatic systems: applications in lymphoscintigraphy and indirect lymphography*. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 37: 295-312, 1999.

- Morimoto, Y., Fujimoto, S. *Albumin microspheres as drug carriers*. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 2: 19-63, 1985.
- Muller, J.P., Calas, G. *Tracing kaolinites through their defect centres: Kaolinites paragenesis in a laterite (Cameroon)*. Econ. Geol., 84: 694-707, 1989.
- Mulye, N.V., Turco, S.J. *Use of dicalcium phosphate dihydrate for sustained release of highly water soluble drugs*. Drug Dev. Ind. Pharm., 20: 2621-2632, 1994.
- Mulye, N.V., Turco, S.J. *A simple model based on first order kinetics to explain release of highly water soluble drugs from porous dicalcium phosphate dehydrate matrices*. Drug Dev. Ind. Pharm., 21: 943-953, 1995.
- Mulye, N.V., Turco, S.J. *An examination of assumptions underlying the first-order kinetic model for release of water-soluble drugs from dicalcium phosphate dihydrate matrices*. Drug Dev. Ind. Pharm., 22: 673-679, 1996.
- Munjeri, O., Collet, J.H., Fell, J.T. *Hydrogel beads based on amidated for colon-specific drug delivery: the role of chitosan in modifying drug release*. J. Control. Release, 46: 273-278, 1997.
- Munkholm, P. *Crohn's disease-occurrence, course and prognosis. An epidemiologic cohort-study*. Dan. Med. Bull., 44: 287-302, 1997.
- Muraoka, M., Hu, Z., Shimokawa, T., Sekino, S., Kurogoshi, R., Kuboi, Y., Yoshikawa, Y., Takada, K. *Evaluation of intestinal pressure-controlled colon delivery capsule containing caffeine as a model drug in human volunteers*. J. Control. Release, 52: 119-129, 1998.
- Nagasawa, K., Miyazaki, S. *Mineralogical properties of halloysite as related to its genesis*. En: Proceedings of the International Clay Conference 1975, (S.W. Bailey, Ed.), Applied Publishing Ltd, Wilmette, USA, pp. 257-265, 1976.
- Nagasawa, K., Noro, H. *Mineralogical properties of halloysites of weathering origin*. En: Proceeding of the International Seminar on Laterite, Tokyo, pp. 215- 221, 1985.
- Nagasawa, K., Noro, H. *Mineralogical properties of halloysites of weathering origin*. Chem. Geol., 60: 145-149, 1987.
- Narasimhan, B., Peppas, N.A. *Disentanglement and reptation during dissolution of rubbery polymers*. J. Polym. Sci. Part B: Polym Physics, 34: 947-961, 1996a.
- Narasimhan, B., Peppas, N.A. *On the importance of chain reptation in models of dissolution of glassy polymers*. Macromolecules, 29: 3283-3291, 1996b.
- Narasimhan, B., Peppas, N.A. *Molecular analysis of drug delivery systems controlled by dissolution of the polymer carrier*. J. Pharm. Sci., 86: 297-304, 1997.
- Navarrete Casas, R., García Rodríguez, A., Rey Bueno, F., Espinola Lara, A., Valenzuela Calahorro, C., Navarrete Guijosa, A. *Interactions of xanthenes with activated carbon: I. Kinetics of the adsorption process*. Appl. Surf. Sci., 252: 6022-6025, 2006a.
- Navarrete Casas, R., García Rodríguez, A., Rey Bueno, F., Espinola Lara, A., Valenzuela Calahorro, C., Navarrete Guijosa, A. *Interactions of xanthenes with activated carbon: II. The adsorption equilibrium*. Appl. Surf. Sci., 252: 6026-6030, 2006b.

- Navarrete-Casas, R., Navarrete-Guijosa, A., Valenzuela-Calahorro, C., López-González, J.D., García-Rodríguez, A. *Study of lithium ion exchange by two synthetic zeolites: Kinetics and equilibrium*. J. Colloid Interf. Sci., 306: 345-353, 2007.
- Navarrete-Guijosa, A., Navarrete-Casas, R., Valenzuela-Calahorro, C., López-González, J. D., García-Rodríguez, A. *Lithium adsorption by acid and sodium amberlite*. J. Colloid Interf. Sci., 264: 60-66, 2003.
- Nernst, W. *Theorie der Reaktionsgeschwindigkeit in heterogenen Systemen*. Z. Phys. Chem., 47: 52-55, 1904.
- Neuber, U., Bender, H. *Acrylate Sealants*. Industrial report, Germany, 2004.
- Niebergall, P.J., Milosovich, G., Goyan, J.E. *Dissolution rate studies. II. Dissolution of particles under conditions of rapid agitation*. J. Pharm. Sci., 52: 236-241, 1963.
- Noro, H., Yamada, K., Suzuki, K. *An application of electron probe microanalysis for clays minerals*. Kobutsugaku Zasshi, 21: 401-415, 1981.
- Noro, H. *Hexagonal platy halloysite in a altered tuff bed, Komaki city, Aichi prefecture, Central Japan*. Clay Minerals, 21: 401-415, 1986.
- Norrish, K. *An unusual fibrous halloysite*. En: Clays Control the Environment-Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Clay Conference 1993, (G.J. Churchman, R.W. Fitzpatrick, R.A. Eggleton, Eds.), Adelaide, Australia, pp. 275-284, 1995.
- Noyes, A.A., Whitney, W.R. *The rate of solution of solid substances in their own solutions*. J. Am. Chem. Soc., 19: 930-934, 1897a.
- Noyes, A.A., Whitney, W. R. *On the rate of solution of solids in their own solutions*. Z. Phys. Chem., Stoechiometrie und Verwandtschaftslehre, 23: 689-694, 1897b.
- Obaidat, A.A., Park, K. *Characterization of glucose dependent gel-sol phase transition of the polymeric glucose-concanavalin A hydrogel system*. Pharm. Res., 13: 989-995, 1996.
- Ogura, Y., Bonen, D.K., Inohara, N., Nicolae, D.L, Chen, F.F., Ramos, R., Britton, H., Moran, T., Karaliuskas, R., Duerr, R.H., Achkar, J.P., Brant, S.R., Bayless, T.M., Kirschner, B.S., Hanauer, S.B., Nuñez, G., Cho, J.H. *A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease*. Nature, 411: 603-606, 2001a.
- Ogura, Y., Inohara, N., Benito, A., Chen, F.F., Yamaoka, S., Nunez, G. *Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB*. J. Biol. Chem., 276: 4812-4818, 2001b.
- Papadopoulou, V., Kosmidis, K., Vlachou, M., Macheras, P. *On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms*. Int. J. Pharm., 309: 44-50, 2006.
- Papanu, J. S., Soane, D. S., Bell, A.T., Hess, D.W. *Transport models for swelling and dissolution of thin polymer films*. J. Appl. Polym. Sci., 38: 859-885, 1989.
- Parham, W.E. *Formation of halloysite from feldspar: low temperature artificial weathering versus natural weathering*. Clay. Clay Miner., 17: 13-22, 1969.
- Patel, M., Carstensen, J.T. *Nonsink dissolution rate equations*. J. Pharm. Sci., 64: 1651-1656, 1975.

- Paul, D.R., McSpadden, S.K. *Diffusional release of a solute from a polymeric matrix*. J. Membrane Sci., 1: 33-48, 1976.
- Pedersen, P.V., Brown, K.F. *Size distribution effects in multiparticulate dissolution*. J. Pharm. Sci., 64: 1981-1986, 1975.
- Pedersen, P.V. *New method for characterizing dissolution properties of drug powders*. J. Pharm. Sci., 66: 761-766, 1977.
- Pedersen, P.V., Myrick, J.W. *Versatile kinetic approach to analysis of dissolution data*. J. Pharm. Sci., 67: 1450-1455, 1978.
- Peltekova, V.D., Wintle, R.F., Rubin, L.A., Amos, C.I., Huang, Q., Gu, X., Newman, B., Van Oene, M., Cescon, D., Greenberg, G., Griffiths, A.M., St George-Hyslop, P.H., Siminovitch, K.A. *Functional variants of OCTN cation transporter genes are associated with Crohn disease*. Nat. Genet., 36: 471-475, 2004.
- Peppas, N.A., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P. *Modelling of drug diffusion through swellable polymeric systems*. J. Membr. Sci., 7: 241-253, 1980.
- Peppas, N.A., Franson, N.M. *The swelling interface number as a criterion for prediction of diffusional solute release mechanism in swellable polymers*. J. Polym. Sci. Polym. Phys., 21: 983-997, 1983.
- Peppas, N.A. *Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers*. Pharm. Acta Helv., 60: 110-111, 1985.
- Peppas, N.A., Sahlin, J.J. *A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation*. Int. J. Pharm., 57: 169-172, 1989.
- Peppas, N.A., Wu, J.C., Von Meerwall, E.D. *Mathematical modeling and experimental characterization of polymer dissolution*. Macromolecules, 27: 5626-5638, 1994.
- Peracchia, M.T., Gref, R., Minamitake, Y., Domb, A., Lotan, N., Langer, R. *PEG-coated nanospheres from amphiphilic diblock and multiblock copolymers: investigation of their drug encapsulation and release characteristics*. J. Control. Release, 46: 223-231, 1997.
- Pillay, V., Fassihi, R. *In vitro release modulation from crosslinked pellets for site-specific drug delivery to the gastrointestinal tract I. Comparison of pH-responsive drug release and associated kinetics*. J. Control. Release, 59: 229-242, 1999.
- Pitt, C.G., Hendren, R.W., Schindler, A., Woodward, S.C. *The enzymatic surface erosion of aliphatic polyesters*. J. Control. Release, 1: 3-14, 1984.
- Pitt, C.G., Gu, Z-W., Hendren, R. W., Thompson, J., Waniet, M.C. *Triggered drug delivery systems*. J. Control. Release, 2: 363-374, 1985.
- Polanyi, M. *Über die adsorption vom standpunkt des dritten wämesatzes*. Verh. Deutsch. Phys. Ges., 16: 1012-1016, 1914.
- Polanyi, M. *Adsorption von gasen (Dämpfen) durch ein festes nicht flüchtiges adsorberis*. Verh. Deutsch. Phys. Ges., 18: 55-, 1916.
- Polito, J.M.D., Rees, R.C., Childs, B., Mendeloff, A.I., Harris, M.L., Bayless, T.M. *Preliminary evidence for genetic anticipation in Crohn's disease*. Lancet, 347: 798-800, 1996.
- Pothisiri, P., Carstensen, J.T. *Nonsink dissolution rate equation*. J. Pharm. Sci., 62: 1468-1470, 1973.

- Pozzi, F., Furlani, P., Gazzangia, A., Davis, S.S., Wilding, I.R. *The time-clock system: a new dosage form for fast and complete release of drug after a predetermined period of time*. J. Control. Release, 31: 99-108, 1994.
- Prantera, C., Zannoni, F., Scribano, M.L., Berto, E., Andreoli, A., Kohn, A., Luzi, C. *An antibiotic regimen for the treatment of active Crohn's disease: a randomized, controlled clinical trial of metronidazol plus ciprofloxacin*. Am. J. Gastroenterol., 91: 328-332, 1996.
- Price, R.R., Gabert, B.P., Lvov, Y. *In vitro release characteristics of tetracycline HCl, khellin and nicotinamide adenine dinucleotide from halloysite; a cylindrical mineral*. J. Microencapsul., 18(6): 713-722, 2001.
- Prista, L.N., Alves, A.C., Morgado, R.M. En: Técnica Farmacêutica e Farmacia Galénica. 5th Edition. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Portugal, vol. I, pp. 453-454, 1995.
- Prothero, D.R., Schwab, F. An Introduction to Sedimentary Rocks and Stratigraphy. Sedimentary Geology, (W.H. Freedman and company Eds.), Nueva York, USA, pp 103-119, 1996.
- Quantin, P., Herbillon, A.J., Janot, C., Sieffermann, G. *L'halloysite blanche riche en fer de Vate (Vanuatu) – Hypothèse d'un édifice interstratifié halloysite-hisengérite*. Clay Minerals, 19: 629-643, 1984.
- Quantin, P., Gautheyrou, J., Lorenzoni, P. *Halloysite formation through in situ weathering of volcanic glass from trachytic pumices, Vico's volcano, Italy*. Clay Minerals, 23: 423-437, 1988.
- Quesada Nieto, E. *Estudio galénico de formas farmacéuticas de administración oral y acción prolongada obtenidas a base de recubrimientos*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1973.
- Quinton, J.F., Sendid, B., Reumaux, D., Duthilleul, P., Cortot, A., Grandbastien, B., Charrier, G., Targan, S.R., Colombel, J.F., Poulain, D. *Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role*. Gut, 42: 788-791, 1998.
- Radu, F.A., Bause, M., Knabner, P., Lee, G.W., Friess, W.C. *Modeling of drug release from collagen matrices*. J. Pharm. Sci., 91: 964-972, 2002.
- Raman, C., Berkland, C., Kim, K., Pack, D.W. *Modelling small-molecule release from PLG microspheres: effects of polymer degradation and nonuniform drug distribution*. J. Control. Release, 103: 149-158, 2005.
- Rama Prasad, Y.V., Krishnaiah, Y.S.R., Satyanarayana, V. *Trends in colonic drug delivery: a review*. Indian Drugs, 33: 1-10, 1996.
- Rama Prasad, Y.V., Krishnaiah, Y.S., Satyanarayana, V. *In vitro evaluation of guar gum as a carrier for colon-specific drug delivery*. J. Control. Release, 51: 281-287, 1998.
- Rao, S.S., Holdsworth, C.D., Read, N.W. *Symptoms and stool patterns in patients with ulcerative colitis*. Gut, 29: 342-345, 1988.
- Rautureau, M., Caillère, S., Hénin, S. *Utilisation de l'argile au cours des âges*. En: Les Argiles, 2<sup>a</sup> Edición, Séptima, pp. 9-11, 2004.
- RAE, Diccionario de la Real Academia Española, 22 Edición, 2008.



- Reddy, S.N., Bazzocchi, G., Chan, S., Akashi, K., Villanueva-Meyer, J., Yanni, G., Mena, I., Snape, W.J. Jr. *Colonic motility and transit in health and ulcerative colitis*. Gastroenterology, 101: 1289-1297, 1991.
- Reddy, S.M., Sinha, V.R., Reddy, D.S. *Novel oral colon-specific drug delivery systems for pharmacotherapy of peptide and nonpeptide drugs*. Drugs Today, 35: 537-580, 1999.
- Reif, S., Klein, I., Lubin, F., Farbstein, M., Hallak, A., Gilat, T. *Preillness dietary factors in inflammatory bowel disease*. Gut, 40: 754-760, 1997.
- Rekhi, G.S., Nellore, R.V., Hussain, A.S., Tillman, L.G., Malinowski, H.J., Augsburger, L.L. *Identification of critical formulation and processing variables for metoprolol tartrate extended-release (ER) matrix tablets*. J. Control. Release, 59: 327-342, 1999.
- RFE, Real Farmacopea Española, 3º Edición, Ministerio de Sanidad y Consumo, Agencia Española del Medicamento, 2005.
- Rhine, W.D., Hsieh, D.S.T., Langer, R. *Polymers for sustained macromolecules release: procedures to fabricate reproducible delivery systems and control release kinetics*. J. Pharm. Sci., 69: 265-270, 1980.
- Ribeiro, M.B., Greenstein, A.J., Sachar, D.B., Barth, J., Balasubramanian, S., Harpaz, N., Heimann, T.M., Aufses, A.H. Jr. *Colorectal adenocarcinoma in Crohn's disease*. Ann. Surg., 223: 186-193, 1996.
- Riegler, G., Arimoli, A., Esposito, P., Iorio, R., Carratù, R. *Clinical evolution in an outpatient series with indeterminate colitis*. Dis. Colon Rectum, 40: 437-439, 1997.
- Ringsdorf, H. *Synthetic polymeric drugs*. En: Polymeric Delivery Systems. (R.J. Kostelnik. Ed.) Gordon and Brech, New York, USA, 1978.
- Ritger, P.L., Peppas, N.A. *A simple equation for description of solute release. I. Fickian and non-Fickian release from non-swallowable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs*. J. Control. Release, 5: 23-36, 1987a.
- Ritger, P.L., Peppas, N.A. *A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swellable devices*. J. Control. Release, 5: 37-42, 1987b.
- Ritschel, W.A. *Targeting in the gastrointestinal tract: new approaches*. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol., 13: 313-336, 1991.
- Robertson, I.D.M., Eggleton, R.A. *Weathering of granitic muscovite to kaolinite and halloysite and plagioclase-derived kaolinite to halloysite*. Clay. Clay Miner., 39: 113-126, 1991.
- Robinson, J.R. En: Sustained and Controlled Release Drug Delivery System, Marcel Dekker Inc., New York, USA, 1978.
- Rochat, M.H., Verain, A. *Role actuelle de l'excipient en formulation*. Ann. Pharm. Franc., 41 (6): 499-506, 1983.
- Rogerson, A. Cummings, J., Willmott, N., Florence, A.T. *The distribution of doxorubicin in mice following administration in niosomes*. J. Pharm. Pharmacol., 40: 337-342, 1988.
- Romagnani, S. *T-cells subset (Th<sub>1</sub> versus Th<sub>2</sub>)*. Ann. Allergy Asthma Immunol., 85: 9-18, 2000.

- Rosenfeld, E.L., Lukomskaya, I.S. *The splitting of dextran and isomaltose by animal tissues*. Clin. Chim. Acta, 2: 105-113, 1957.
- Rosenstiel, P., Fantini, M., Brautigam, K., Kuhbacher, T., Waetzig, G.H., Seegert, D., Schreiber, S. *TNF-alpha and IFN-gamma regulate the expression of the NO2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells*. Gastroenterology, 124: 1001-1009, 2003.
- Ross, C.S., Kerr, P.F. *Halloysite and allophone*. U.S. Geol. Surv., Profess. Paper, 185G: 135-148, 1934.
- Ross, G.J., Kodama, H., Wang, C., Gray, J.T., Lafreniere, L.B. *Halloysite from a strongly weathered soil at mont Jacques Cartier, Quebec*. Soil Sci. Soc. Am. J., 47: 327-332, 1983.
- Rubin, D.T., Hanauer, S.B. *Smoking and inflammatory bowel disease*. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 12: 855-862, 2000.
- Rubinstein, A. *Microbially controlled drug delivery to the colon*. Biopharm. Drug Dispos., 11: 465-475, 1990.
- Rubinstein, A., Nakar, D., Sintov, A. *Chondroitin sulphate: a potential biodegradable carrier for colon-specific drug delivery*. Int. J. Pharm., 84: 141-150, 1992a.
- Rubinstein, A., Nakar, D., Sintov, A. *Colonic drug delivery: enhanced release of indomethacin from cross-linked chondroitin matrix in rat cecal content*. Pharm. Res., 10: 258-263, 1992b.
- Rubinstein, A., Radai, R., Ezra, M., Pathak, S., Rokem, J.S. *In vitro evaluation of calcium pectinate: a potential colon-specific drug delivery carrier*. Pharm. Res., 10: 258-263, 1993.
- Rubinstein, A., Friend, D.R. *Specific delivery to the gastrointestinal tract*. En: Polymeric Site-Specific Pharmacotherapy, (A.J. Domb, Eds.), J. Wiley and Sons, Chichester, UK, pp. 149-199, 1994.
- Rubinstein, A. *Approaches and opportunities in colon-specific drug delivery*. Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst., 12: 101-149, 1995.
- Rubinstein, A., Gliko-Kabir, I. *Synthesis and swelling dependent enzymatic degradation of borax modified guar gum for colonic delivery purpose*. STP Pharm. Sci., 5: 41-46, 1995.
- Rubinstein, A., Radai, R. *In vitro and in vivo analysis of colon specificity of calcium pectinate formulations*. Eur. J. Pharm. Biopharm., 41: 291-295, 1995.
- Rubinstein, A. *Colonic drug delivery*. Drug Discov. Today: Tech., 2: 33-37, 2005.
- Ruemmele, F.M., Targan, S.R., Levy, G., Dubinsky, M., Braun, J., Seidman, E.G. *Diagnostic accuracy of serological assay un pediatric inflammatory bowel disease*. Gastroenterology, 115: 822-829, 1998.
- Rutgeerts, P., Feagan, B.G., Lichtenstein, G.R., Mayer, L.F., Schreiber, S., Colombel, J.F., Rachmilewitz, D., Wolf, D.C., Olson, A., Bao, W., Hanauer, S.B. *Comparison of schedule and episodic treatment strategies of infliximab in Crohn's disease*. Gastroenterology, 126: 402-413, 2004.
- Rutgeerts, P., Sandborn, W.J., Feagan, B.G., Reinisch, W., Olson, A., Johanns, J., Travers, S., Rachmilewitz, D., Hanauer, S.B., Lichtenstein, G.R., De Villiers, W.J., Present, D., Sands, B.E., Colombel, J.F. *Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis*. N. Engl. J. Med., 353: 2462-2476, 2005.

- Saigusa, M., Shoji, S., Kato, T. *Origin and nature of halloysite in and soils from Towada tephra, Japan*. Geoderma, 20: 115-129, 1978.
- Salomon, J.L., Doelker, E. *Formulation des comprimés à libération prolongée*. Pharm. Acta Helv., 55: 174-182, 1980.
- Sands, B.E., Anderson, F.H., Bernstein, C.N., Chey, W.Y., Feagan, B.G., Fedorak, R.N., Kamm, M.A., Korzenik, J.R., Lashner, B.A., Onken, J.E., Rachmilewitz, D., Rutgeerts, P., Wild, G., Wolf, D.C., Marsters, P.A., Travers, S.B., Blank, M.A., Van Deventer, S.J. *Infliximab maintenance therapy for fistulizing Crohn's disease*. N. Engl. J. Med., 350: 876-885, 2004.
- Sangalli, M.E., Giunchedi, P., Maggi, L., Conte, U., Gazzaniga, A. *Inert monolithic device with a central hole for constant drug release*. Eur. J. Pharm. Biopharm., 40: 370-373, 1994.
- Sarasija, S., Hota, A. *Colon-specific drug delivery system*. Indian J. Pharm. Sci., 62: 1-8, 2000.
- Sartor, R.B. *Current concepts of the etiology and pathogenesis of ulcerative colitis and Crohn's disease*. Gastroenterol. Clin. North Am., 24: 475-507, 1995.
- Sartor, R.B. *Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics and prebiotics*. Gastroenterology, 126: 1620-1633, 2004.
- Sasaki, H., Yamamura, K., Mukai, T., Nishida, K., Nakamura, J., Nakashima, M., Ichikawa, M. *Enhancement of ocular drug penetration*. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 16(1): 85-146, 1999.
- Sathe, P.M., Venitz, J. *Comparison of neural network and multiple linear regression as dissolution predictors*. Drug Dev. Ind. Pharm., 29: 349-355, 2003.
- Satsangi, J., Grootcholten, C., Holt, H., Jewell, D.P. *Clinical patterns of family inflammatory bowel disease*. Gut, 38: 738-741, 1996.
- Scallon, B.J., Moore, M.A., Trinh, H., Knight, D.M., Ghayeb, J. *Chimeric anti-TNF-alpha monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane TNF-alpha and activates immune effector functions*. Cytokine, 7: 251-259, 1995.
- Schacht, E., Gevaert, A., Kenawy, E.R., Molly, K., Vestraete, W., Adrianensens, P., Garleer, R., Gelan, J. *Polymers for colon specific drug delivery*. J. Control. Release, 39: 327-338, 1996.
- Scheline, R.R. *Metabolism of foreign compounds by gastrointestinal microorganisms*. Pharmacol. Rev., 24: 451-523, 1973.
- Schreiner, T., Schaefer, U.F., Loth, H. *Immediare drug release from solid oral dosage forms*. J. Pharm. Sci., 94: 120-133, 2005.
- Schroeter, L.C., Tingstad, J.E., Knoechel, E.L., Wagner, J.G. *Specificity of the relationship between rate of dissolution and disintegration time of compressed tablets*. J. Pharm. Sci., 51: 865-874, 1962.
- Schwartz, B.J., Simonelli, A.P., Higuchi, W.I. *Drug release from wax matrices. I. Analysis of data with first-order kinetics and with the diffusion controlled model*. J. Pharm. Sci., 57: 274-277, 1968a.
- Schwartz, B.J., Simonelli, A.P., Higuchi, W.I. *Drug release from wax matrices .II. Application of a mixture theory to the sulfanilamide-wax system*. J. Pharm. Sci., 57: 278-282, 1968b.
- Seki, T., Kawaguchi, T., Endoh, H., Ishikawa, K., Juni, K., Nakano, M. *Controlled release of 3,5-diester prodrugs of 5-fluoro-2-deoxy-yuridine from poly-L-lactic acid microspheres*. J. Pharm. Sci. 79: 985-987, 1980.

- Semdé, R., Amighi, K., Pierre, D., Devleeschouwer, M.J., Moes, A.J. *Leaching of pectin from mixed pectin/insoluble polymer films intended for colonic drug delivery*. Int. J. Pharm., 174: 233-241, 1998.
- Semdé, R., Amighi, K., Devleeschouwer, M.J., Moes, A.J. *Effect of pectinolytic enzymes on the theophylline release from pellets coated with water insoluble polymers containing pectin HM or calcium pectinate*. Int. J. Pharm., 197: 169-179, 2000a.
- Semdé, R., Amighi, K., Devleeschouwer, M.J., Moes, A.J. *Studies of pectin HM/ Eudragit<sup>®</sup>RL/ Eudragit NE film coating formulations intended for colonic drug delivery*. Int. J. Pharm., 197: 181-192, 2000b.
- Sery, T.W., Hehre, E.J. *Degradation of dextrans by enzymes of intestinal bacteria*. J. Bacteriol., 71: 373-380, 1956.
- Sezaki, H., Hashida, M. *Macromolecule-drug conjugates in targeted cancer chemotherapy*. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1: 1-38, 1984.
- Shivananda, S., Horddijk, M.L., Ten Kate, F.J., Probert, C.S., Mayberry, J.F. *Differential diagnosis of inflammatory bowel disease. A comparison of various diagnostic classifications*. Scand. J. Gastroenterol., 26: 167-173, 1991.
- Shivananda, S., Lennard-Jones, J., Logan, R., Fear, N., Price, A., Carpenter, L., Van Blankenstein, M. *Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD)*. Gut, 39: 690-697, 1996.
- Shukla, A.J., Price, J.C. *Effect of drug (core) particle size on the dissolution of theophylline from microspheres made from low molecular weight cellulose acetate propionate*. Pharm. Res., 6: 418-421, 1989.
- Shukla, A.J., Price, J.C. *Effect of drug loading and molecular weight of cellulose acetate propionate on the release characteristics of theophylline microspheres*. Pharm. Res., 8: 1369-1400, 1991.
- Shun, Y.L., Ayres, J.W. *Calcium alginate beads as core carriers of 5-aminosalicylic acid*. Pharm. Res., 9: 714-790, 1992.
- Siepmann, J., Podual, K., Sriwongjanya, M., Peppas, N.A., Bodmeier, R. *A new model describing the swelling and drugs release kinetics from hydroxypropyl methylcellulose tablets*. J. Pharm. Sci., 88: 65-72, 1999a.
- Siepmann, J., Kranz, H., Bodmeier, R., Peppas, N.A. *HPMC-Matrices for controlled drug delivery: a new model combining diffusion, swelling, and dissolution mechanisms and predicting the release kinetics*. Pharm. Res., 16: 1748-1756, 1999b.
- Siepmann, J., Peppas, N.A. *Hydrophilic matrices for controlled drug delivery: an improved mathematical model to predict the resulting drug release kinetics (the "sequential layer" model)*. Pharm. Res., 17: 1290-1298, 2000.
- Siepmann, J., Peppas, N.A. *Modeling of drug release delivery systems base don hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)*. Adv. Drug Deliver. Rev., 48, 139-157, 2001.

- Siepmann, J., Göpferich, A. *Mathematical modeling of bioerodible, polymeric drug delivery systems*. Adv. Drug Deliver. Rev., 48: 229-247, 2001.
- Siepmann, J., Streubel, A., Peppas, N.A. *Understanding and predicting drug delivery from hydrophilic matrix tablets using the "sequential layer" model*. Pharm. Res., 3: 306-314, 2002a.
- Siepmann, J., Faisant, N., Benoit, J. *A new mathematical model quantifying drug release from bioerodible microparticles using Monte Carlo simulations*. Pharm. Res., 19: 1885-1893, 2002b.
- Siepmann, J., Faisant, N., Akiki, J., Richard, J., Benoit, J.P. *Effect of the size of biodegradable microparticles on drug release: experiment and theory*. J. Control. Release, 96: 123-134, 2004.
- Siepmann, J., Elkharraz, K., Siepmann, F., Klose, D. *How autocatalysis accelerates drug release from PLGA-based microparticles: a quantitative treatment*. Biomacromolecules, 6: 2312-2319, 2005.
- Siew, L.F., Basit, A.W., Newton, J.M. *The potential of organic based amylose ethylcellulose film coatings as oral colon-specific drug delivery systems*. AAPS Pharm. Sci. Tech., vol. 1, Artículo 22, 2000a. (www.pharmascitech.com),
- Siew, L.F., Basit, A.W., Newton, J.M. *The properties of amylose-ethylcellulose films cast from organic based solvents as potential coatings for colonic drug delivery*. Eur. J. Pharm. Sci., 11: 133-139, 2000b.
- Simon, G.I., Gorbach, S.L. *The human intestinal microflora*. Dig. Dis. Sci., 31: 147S-162S, 1986.
- Simonsen, L., Hovgaard, L., Mortensen, P.B., Brondsted, H. *Dextran hydrogels for colon-specific drug delivery: V. Degradation in human intestinal incubation models*. Eur. J. Pharm. Sci., 3: 329-337, 1995.
- Sinclair, G.W., Peppas, N.A. *Analysis of non-fickian transport in polymer using simplified exponential expressions*. J. Membrane Sci., 17: 329-331, 1984.
- Sing, K.S.W., Everett, D.H., Haul, R.A.W., Moscow, L., Pierotti, R.A., Rouquerol, J., Siemieniewska, T. *Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity*. Pure Appl. Chem. 57: 603-619, 1985.
- Sing, P., Maibach, H.I. *Iontophoresis in drug delivery: basic principles and applications*. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst., 11: 161-213, 1994.
- Singer, A., Zarei, M., Lange, F.M., Stahr, K. *Halloysite characteristics and formation in the northern Golan Heights*. Geoderma, 123: 279-295, 2004.
- Sinha, V.R., Kumria, R. *Colonic drug delivery: prodrug approach*. Pharm. Res., 18: 557-564, 2001a.
- Sinha, V.R., Kumria, R. *Polisaccharides in colon-specific drug delivery*. Int. J. Pharm., 224: 19-38, 2001b.
- Sinha, V.R., Kumria, R. *Microbially triggerered drug delivery to the colon*. Eur. J. Pharm. Sci., 18: 3-18, 2003.
- Skelly, J.P., Almidon, W.H., Barr, L.Z., Benet, J.E., Carter, J.R., Robinson, V.P., Shah y Yacobi, A. *in vitro and in vivo testing and correlation for oral controlled/modified-release dosage forms*. Pharm. Res., 7: 975-982, 1990.

- Skoug, J.W., Mikelsons, M.V., Vigneron, C.N., Stemm, N.L. *Qualitative evaluation of the mechanism of release of matrix sustained release dosage forms by measurement of polymer release*. J. Control. Release, 27: 227-245, 1993.
- Small, R.E., Schraa, C.C. *Chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical applications of mesalamine for the treatment of inflammatory bowel disease*. Pharmacotherapy, 14: 385-398, 1994.
- Smith, A.W. *Biofilms and antibiotic therapy: Is there a role for combating bacterial resistance by the use of novel drug delivery systems?* Adv. Drug Deliver. Rev., 57: 1539-1550, 2005.
- Socias Manzano, M.S. *Estudio galénico de formas farmacéuticas de administración oral y acción prolongada obtenidas a base de matrices inertes o de resinas de intercambio iónico*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1973.
- Soma, M., Churchman, G.J., Theng, B.K.G. *X-ray photoelectron spectroscopic analysis of halloysites with different composition and particle morphology*. Clay Minerals, 27: 413-421, 1992.
- Sonnenberg, A. *Geographical and temporal variations of sugar and margarine consumption in relation to Crohn's disease*. Digestion, 41: 161-171, 1988.
- Sonnenberg, A. *Occupational distribution of inflammatory bowel disease among German employees*. Gut, 31: 1037-1040, 1990.
- Sopori, M. *Effects of cigarette smoke on the immune system*. Nat. Rev. Immunol., 2: 372-377, 2002.
- Steiger-Trippi, K. *L'importance de la Recherche Galénique*. Gal. Acta, 15: 263-287, 1962.
- Steinman, L. *A brief history of T<sub>H</sub>17, the first major revision in the T<sub>H</sub>1/T<sub>H</sub>2 hypothesis of T-cell mediated tissue damage*. Nat. Med., 13: 139-145, 2007.
- Stoll, M., Corneliussen, B., Costello, C.M., Waetzig, G.H., Mellgard, B., Koch, W.A., Rosenstiel, P., Albrecht, M., Croucher, P.J., Seegert, D., Nikolaus, S., Hampe, J., Lengauer, T., Pierrou, S., Foelsch, U.R., Mathew, C.G., Lagerstrom-Fermer, M., Schreiber, S. *Genetic variation in DLG5 is associated with inflammatory bowel disease*. Nat. Genet., 36: 476-480, 2004.
- Stolpe, N.B., Kuzila, M.S. *Relative mobility of atrazine, 2,4-D and dicamba in volcanic soils of south-central Chile*. Soil Sci., 167: 338-345, 2002.
- Streubel, A., Siepmann, J., Peppas, N.A., Bodmeier, R. *Bimodal drug release achieved with multi-layer matrix tablets: transport mechanisms and device design*. J. Control. Release, 69: 455-468, 2000.
- Strober, W., Ludviksson, B.R., Fuss, I.J. *The pathogenesis of mucosal inflammation in murine models of inflammatory bowel disease and Crohn disease*. Ann. Intern. Med., 128: 848-856, 1998.
- Strong, S., Fazio, V.W. *The surgical management of Crohn's disease*. En: Inflammatory Bowel Disease, (J.B. Kirsner, Ed.), WB Saunders, Philadelphia, USA, pp. 658-709, 2000.
- Stuck, A.E., Minder, C.E., Frey, F.J. *Risk of infectious complications in patients taking glucocorticosteroids*. Rev. Infect. Dis., 11: 954-956, 1989.
- Sudo, T., Ossaka, J. *Hydrated halloysite from Japan*. Jpn. J. Geol. Geogr., 22: 215-229, 1952.
- Sunagawa, I., Tsukamoto, K., Maiwa, K., Onuma, K. *Growth and perfection of crystals from aqueous solution: case studies on barium nitrate and KAlum*. Prog. Cryst. Growth Charact. Mater., 30: 153-190, 1995.

- Sung, K.C., Nixon, P.R., Skoug, J.W., Ju, T.R., Gao, P., Topp, E.M., Patel, M.V. *Effect of formulation variables on drug and polymer release from HPMC-based matrix tablets*. Int. J. Pharm., 142: 53-60, 1996.
- Sutton, C.L., Yang, H., Li, Z., Rotter, J.I., Targan, S.R., Braun, J. *Familial expression of anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies in affected and unaffected relatives of patients with Crohn's disease*. Gut, 46: 58-63, 2000.
- Takada, T., Ikeda, C., Imagawa, N., Niwa, K., Takada, K. *Development of a colon delivery capsule and the pharmacological activity of recombinant human granulocyte stimulating factor (rhG-CFS) in beagle dogs*. J. Pharm. Pharmacol., 47: 474-478, 1995.
- Takaya, T., Sawada, K., Suzuki, H., Funaoka, A., Matsuda, K., Takada, K. *Application of colon delivery capsule to 5-aminosalicylic acid and evaluation of the pharmacokinetic profile after oral administration to beagle dogs*. J. Drug Target., 4: 271-276, 1995.
- Talukdar, M.M., Kinget, R. *Comparative study on xanthan gum and hydroxypropylmethylcellulose as matrices for controlled-release drug delivery. II. Drug diffusion in hydrated matrices*. Int. J. Pharm. 151: 99-107, 1997.
- Targan, S.R., Hanauer, S.B., Van Deventer, S.J., Mayer, L., Present, D.H., Braakman, T., DeWoody, K.L., Schaible, T.F., Rutgeerts, P.J. *A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's disease CA2 study group*. N. Engl. J. Med., 337: 1029-1035, 1997.
- Tari, G., Bobos, I.I., Gomes, C.S.F., Ferreira, J.M.F. *Modification of surface charge properties during kaolinite to halloysite-7Å transformation*. J. Colloid Interf. Sci., 210: 360-366, 1999.
- Tazaki, K. *Analytical electron microscopic studies of halloysite formation processes: morphology and composition of halloysite*. En: Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Clay Conference, (H. Van Olphen & F. Veniale, Eds.), Developments in Sedimentology, Elsevier, vol.35, pp. 573-584, 1982.
- Teahon, K., Smethurst, P., Levi, A.J., Menzies, I.S., Bjarnason, I. *Intestinal permeability in patients with Crohn's disease and their first degree relatives*. Gut, 33: 320-323, 1992.
- Theng, B.K.G. *The Chemistry of Clay-Organic Reactions*, Adam Hilger, London, UK, 1974.
- Theng, B.K.G., Churchman, G.J., Whitton, J.S., Claridge, G.G.C. *Comparison of intercalation methods for differentiating halloysite from kaolinite*. Clay. Clay Miner., 32: 249-258, 1984.
- Theng, B.K.G., Wells, N. *Assessing the capacity of some New Zealand clays for decolourizing vegetable oil and butter*. Appl. Clay Sci., 9: 321-326, 1995.
- Thiele, K., Bierhaus, A., Autschbach, F., Hofmann, M., Stremmel, W., Thiele, H., Ziegler, R., Nawroth, P.P. *Cell specific effects of glucocorticoid treatment on the NF-kappaBp65/IkappaBalpha system in patients with Crohn's disease*. Gut, 45: 693-704, 1999.
- Thomas, G.A., Swift, G.L., Green, J.T., Newcombe, R.G., Braniff-Mathews, C., Rhodes, J., Wilkinson, S., Strohmeyer, G., Kreuzpainter, G. *Controlled trial of antituberculous chemotherapy in Crohn's disease: a five year follow up study*. Gut, 42: 497-500, 1998.
- Thombre, A.G., Himmelstein, K.J. *A simultaneous transport-reaction model for controlled drug delivery from catalyzed bioerodible polymer matrices*. AIChE. J., 31: 759-766, 1985.

- Tojo, K. *Intrinsic release rate from matrix-type drug delivery systems*. J. Pharm. Sci., 74: 685-687, 1985.
- Tolls, J. *Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review*. Environ. Sci. Technol., 35: 3397-3406, 2001.
- Touitou, E., Donbrow, M. *Deviation of dissolution behavior of benzoic-acid from theoretical predictions with lowering of temperature-limitations as a model dissolution substance*. Int. J. Pharm., 9: 97-106, 1981.
- Tozaki, H., Komoike, J., Tada, C., Maruyama, T., Terabe, A., Suzuki, T., Yamamoto, A., Muranishi, S. *Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: improvement of insulin absorption from the rat colon*. J. Pharm. Sci., 86: 1016-1021, 1997.
- Tozaki, H., Fujita, T., Terabe, T., Suzuki, T., Tanaka, C., Okabe, S., Muranishi, S., Yamamoto, A. *Colon specific delivery of R68070, a new thromboxane synthase inhibitor, using chitosan capsules: therapeutic effects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced ulcerative colitis in rats*. Life Sci., 64: 1155-1162, 1999.
- Travis, S.P., Tysk, C., De Silva, H.J., Sandbert-Gertzen, Jewell, D.P., Jarnerot, G. *Optimum dose of olsalazine for maintaining remission in ulcerative colitis*. Gut, 35: 1282-1286, 1994.
- Truelove, S.C. *Ulcerative colitis provoked by milk*. Br. Med. J., 1: 154-160, 1961.
- Tu, Y.O., Ouano, A.C. *Model for the kinematics of polymers dissolution*. IBM J. Res. Develop., 21: 131-142, 1977.
- Tyle, P., Agrawala, P. *Drug delivery by phonophoresis*. Pharm. Res., 6: 355-361, 1989.
- Ueda, S., Ibuki, R., Kawamuza, A., Murata, S., Takahashi, T., Kimuza, S., Hata, T. *Development of a novel drug delivery system, time-controlled explosion system (TES)*. J. Drug Target., 2: 133-140, 1994.
- USP 31. Unites States Pharmacopoeia 31 and National Formulary 26. Pharmacopoeial Convention, Rockville, USA, 2008.
- Urayama, S., Chang, E.B. *Mechanism and treatment of diarrhea in inflammatory bowel diseases*. Inflamm. Bowel Dis., 3: 114-131, 1997.
- Valenzuela Calahorro, C. Química General, Universidad de Salamanca, Salamanca, 1995.
- Valenzuela- Calahorro, C., Cuerda-Correa, E., Navarrete-Guijosa, A., Gonzalez Pradas, E. *Application of a single model to study the adsorption kinetics of prednisolone on six carbonaceous materials*. J. Colloid Interf. Sci., 248: 33-40, 2002a.
- Valenzuela-Calahorro, C., Cuerda-Correa, E., Navarrete-Guijosa, A., Gonzalez-Pradas, E. *Application of a single model to study the adsorption equilibrium of prednisolone on six carbonaceous materials*. J. Colloid Interf. Sci., 250: 67-73, 2002b.
- Valenzuela-Calahorro, C., Navarrete-Guijosa, A., Stitou, M., Cuerda-Correa, E.M. *Retention of progesterone by four carbonaceous materials: study of the adsorption kinetics*. Colloid. Surface. A., 224: 135-147, 2003.



- Valenzuela-Calahorro, C., Navarrete-Guijosa, A., Stitou, M., Cuerda-Correa, E.M. *Retention of progesterone by four carbonaceous materials: Study of the adsorption equilibrium*. Colloid. Surface. A., 237: 7-13, 2004a.
- Valenzuela-Calahorro, C., Navarrete-Guijosa, A., Stitou, M., Cuerda-Correa, E.M. *Retention of progesterone by an activated carbon: Study of the adsorption kinetics*. Adsorption, 10: 19-28, 2004b.
- Valenzuela-Calahorro, C., Navarrete-Guijosa, A., Stitou, M., Cuerda-Correa, E.M. *A comparative study of the adsorption equilibrium of progesterone by a carbon black and a commercial activated carbon*. Appl. Surf. Sci., 253: 5274-5280, 2007.
- Vandamme, Th.F., Lenourry, A., Charreau, C., Chaumeil, J-C. *The use of polisaccharides to target drugs to the colon*. Carbohydr. Polym., 48: 219-231, 2002.
- Vandelli, M.A., Leo, E., Forni, F., Bernabi, M.T. *In vitro evaluation of potential colonic delivery system that releases drug after a controlled lag-time*. Eur. J. Pharm. Biopharm., 43: 148-151, 1996.
- Van Den Mooter, G., Maris, B., Samyn, C., Augustijns, P., Kinget, R. *Use of azo-polymers for colon-specific drug delivery*. J. Pharm. Sci., 86: 1321-1327, 1997.
- Van Heel, D.A., Ghosh, S., Butler, M., Hunt, K.A., Lundberg, A.M., Ahmad, T., McGovern, D.P., Onnie, C., Negoro, K., Goldthorpe, S., Foxwell, B.M., Mathew, C.G., Forbes, A., Jewell, D.P., Playford, R.J. *Muramyl dipeptide and toll-like receptor sensitivity in NOD2-associated Crohn's disease*. Lancet, 365: 1794-1796, 2005.
- Van Vooren, L., Krikilion, G., Rosier, J., De Spiegeleer, B. *A novel bending point criterion for dissolution profile interpretation*. Drug Dev. Ind. Pharm., 27: 855-892, 2001.
- Varelas, C.G., Dixon, D.G., Steiner, C. *Zero-order release from biphasic polymer hydrogels*. J. Control. Release, 34: 185-192, 1995.
- Varma, M.J.S., Kaushal, A.M., Garg, S. *Influence of microenvironmental pH on the gel layer behavior and release of basic drug from various hydrophilic matrices*. J. Control. Release, 103: 499-510, 2005.
- Vassallo, M., Camilleri, M., Phillips, S.F., Brown, M.L., Chapman, N.J., Thomforde, G.M. *Transit through the proximal colon influences stool weight in the irritable bowel syndrome*. Gastroenterology, 102: 102-108, 1992.
- Veerabadran, N.G., Price, R.R., Lvov, Y.M. *Clay nanotubes for encapsulation and sustained release of drugs*. NANO, 2:115-120, 2007.
- Vergnaud, J.M. *Controlled drug release of oral dosage forms*, Ellis Horwood Limited, Chichester, UK, 1993.
- Vermeire, S., Noman, M., Van Assche, G., Baert, F., D'Haens, G., Rutgeerts, P. *Effectiveness of concomitant immunosuppressive therapy in suppressing the formation of antibodies to infliximab in Crohn's disease*. Gut, 56: 1226-1231, 2007.
- Vervoort, L., Kinget, R. *In vitro degradation by colonic bacteria of inulin HP incorporated in Eudragit films*. Int. J. Pharm., 129: 185-190, 1996.

- Vervoort, L., Rambant, P., Van Der Mooter, G., Augustijns, P., Kinget, R. *Inulin hydrogels II. In vitro degradation study*. Int. J. Pharm., 172: 137-145, 1998.
- Vilivalam, V.D., Illum, L., Iqbal, K. *Starch capsules: an alternative system for oral drug delivery*. Pharm. Sci. Technol. Today, 3: 64-69, 2000.
- Viseras, C. *Caracterización de distintos materiales de origen mineral para su empleo en la elaboración de medicamentos: Esmectitas, paligorskitas, sepiolitas*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1997.
- Viseras, C., Aguzzi, C., Cerezo, P., López-Galindo, A. *Use of clay minerals in semisolid health care and therapeutic products*. Appl. Clay Sci., 36: 37-50, 2007.
- Viseras, M.T., Aguzzi, C., Cerezo, P., Cultrone, G., Viseras, C. *Supramolecular structure of 5-aminosalicylic acid/halloysite composites*. J. Microencapsul., Aceptado (Junio 2008).
- Von der Ohe, M.R., Camilleri, M., Kvols, L.K., Thomforde, G.M. *Motor dysfunction of the small bowel and colon in patients with the carcinoid syndrome and diarrhea*. New Engl. J. Med., 329: 1073-1078, 1993.
- Vrentas, J. S., Jarzebski, C.M., Duda, J.L., Deborah, A. *Number for diffusion in polymer solvent systems*. AIChE. J., 21: 894-901, 1975.
- Wada, S.I., Mizota, C. *Iron-rich halloysite (10Å) with crumpled lamellar morphology from Hokkaido, Japan*. Clay. Clay Miner., 30: 315-317, 1982.
- Wagner, J.G. *Sustained action oral medication II. The kinetics of release of drugs to fluid in vitro*. Drug Std., 27: 178-186, 1959.
- Wagner, J.G. *Interpretation of percent dissolved-time plots derived from in vitro testing of conventional tablets and capsules*. J. Pharm. Sci., 58: 1253-1257, 1969.
- Wakefield, A.J., Pittilo, R.M., Sim, R., Cosby, S.L., Stephenson, J.R., Dhillon, A.P., Pounder, R.E. *Evidence of persistent measles virus infection in Crohn's disease*. J. Med. Virol., 39 (4): 345-353, 1993.
- Wakerly, Z., Fell, J.T., Attwood, D., Parkins, D. *Pectin/ethylcellulose film coating formulations for colonic drug delivery*. Pharm. Res., 13: 1210-1212, 1996.
- Wakerly, Z., Fell, J., Attwood, D., Parkins, D. *Studies on amidated pectins as potential carriers in colonic drug delivery*. J. Pharm. Pharmacol., 49: 622-625, 1997.
- Wang, T.T., Kwei, T.K., Frisch, H.L. *Diffusion in glassy polymers, III*. J. Polym. Sci., A2, 7(12): 2019-2028, 1969.
- Watts, P.J., Illum, L. *Colonic drug delivery*. Drug Dev. Ind. Pharm., 23: 893-913, 1997.
- Weaver, C.E. *Clays, Muds and Shales*, Elsevier, Amsterdam, Holland, pp. 819, 1989.
- Wehkamp, J., Salzman, N.H., Porter, E., Nuding, S., Weichenthal, M., Petras, R.E., Shen, B., Schaeffeler, E., Schwab, M., Linzmeier, R., Feathers, R.W., Chu, H., Lima, H. Jr., Fellermann, K., Ganz, T., Stange, E.F., Bevins, C.L. *Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102(50): 18129-18134, 2005.
- Weibull, W. *A statistical distribution function of wide applicability*. J. Appl. Mechanics, 18: 293-297, 1951.

- Wilderman, M. *Über die Geschwindigkeit molekularer und chemischer Reaktionen in heterogenen Systemen. Erster Teil.* Z. Phys. Chem., 66: 445–495, 1909.
- Wilding, I.R., Davis, S.S., O'Hagan, D.T. *Targeting of drugs and vaccines to the gut.* Pharmacol. Ther. 62: 97-124, 1994.
- Wilding, I.R., Kenyon, C.J., Hooper, G. *Gastrointestinal spread of oral prolonged-release mesalazine microgranules (Pentasa) dosed as either tablets or sachet.* Aliment. Pharmacol. Ther., 14: 163-169, 2000.
- Wilks, S. Lectures on Pathological Anatomy, (Longmans & Roberts Eds.), Londres, UK, pp.472, 1859.
- Wills-Karp, M., Santeliz, J., Karp, C.L. *The germless theory of allergic disease: revisiting the hygiene hypothesis.* Nat. Rev. Immunol., 1: 69-75, 2001.
- Wilson, C.G., Washington, C., Washington, N. *The stomach: its role in oral drug delivery.* En: Physiological Pharmaceutics, (C.G. Wilson, N. Washington, Eds.), Ellis Horwood Limited, Chichester, UK, pp. 47-70, 1989.
- Wilson, I.R. *Kaolin and halloysite deposits of China.* Clay Minerals, 39: 1-15, 2004.
- Winter, T.A., Dalton, H.R., Merret, N.M., Campbell, A., Jewell, D.P. *Cyclosporin A retention enemas in refractory distal ulcerative colitis and "pouchitis".* Scand. J. Gastroenterol., 28: 701-704, 1993.
- Wiwattanapatapee, R., Lomlim, L., Saramunee, K. *Dendrimer conjugates for colonic delivery of 5-aminosalicylic acid.* J. Control. Release, 88: 1-9, 2003.
- Wolfram, D.L., Lippold, B.C. *Drug release from hydrocolloid embeddings with high or low susceptibility to hydrodynamic stress.* Pharm. Res., 12 (11): 1781-1785, 1995.
- Wong, D., Larrabee, S., Clifford, K., Tremblay, J., Friend, D.R. *USP dissolution apparatus III (reciprocating cylinder) for screening of guar-based colonic delivery formulations.* J. Control. Release, 47: 173-179, 1997.
- Wu, X.Y., Zhou, Y. *Finite element analysis of diffusional drug release from complex matrix systems: II. Factors influencing release kinetics.* J. Control. Release, 51: 57-71, 1998.
- Wu, X.Y., Zhou, Y. *Studies of diffusional release of a dispersed solute from polymeric matrixes by finite element method.* J. Pharm. Sci. 88: 1050-1057, 1999.
- Wright, R., Truelove, S.C. *A controlled therapeutic trial of various diets in ulcerative colitis.* Br. Med. J., 2: 138-141, 1965.
- Yang, L., Chu, J., Fix, J. *Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation.* Int. J. Pharm., 235: 1-15, 2002.
- Yang, L., Watanabe, S., Li, J., Chu, J.S., Katsuma, M., Yokohama, S., Fix, J.A. *Effect of colonic lactulose availability on the timing of drug release onset in vivo from a unique colon-specific delivery system (CODES<sup>TM</sup>).* Pharm. Res., 20: 429-434, 2003.
- Yano, H., Hirayama, F., Arima, H., Uekama, K. *Prednisolone-appended  $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$ -cyclodextrins: substitution at secondary hydroxyl groups and in vitro hydrolysis behavior.* J. Pharm. Sci., 90: 493-503, 2001a.

- Yano, H., Hirayama, F., Arima, H., Uekama, K. *Prednisolone-appended  $\alpha$ - $\beta$ - and  $\gamma$ -cyclodextrins: alleviation of systemic side effect of prednisolone after intracolonic administration in 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis rats*. J. Pharm. Sci., 90: 2103-2112, 2001b.
- Yano, H., Hirayama, F., Kamada, M., Arima, H., Uekama, K. *Colon-specific delivery of prednisolone-appended  $\alpha$ -cyclodextrin conjugate: alleviation of systemic side effect after oral administration*. J. Control. Release, 79: 103-112, 2002.
- Yokoyama, M. *Block copolymers as drug carriers*. Crit. Rev. Ther. Drug. Carrier Syst., 9: 213-248, 1992.
- Yu, D.K., Morrill, B., Eichmeier, L.S., Lanman, R.C., Lanman, M.B., Giesing, D.H., Weir, S.J. *Pharmacokinetics of 5-aminosalicylic acid from controlled-release capsules in man*. Eur. J. Clin. Pharmacol., 48: 273-277, 1995.
- Zhang, M., Yang, Z., Chow, L.L., Wang, C.H. *Simulation of drug release from biodegradable polymeric microspheres with bulk and surface erosions*. J. Pharm. Sci., 92: 2040-2056, 2003.
- Zhang, Y. *Antiwear composite lubricating greases for machinery parts*. Industrial report, China, 2004.
- Zhou, Y., Wu, X.Y. *Finite element analysis of diffusional drug release from complex matrix systems: I. Complex geometries and composite structures*. J. Control. Release, 49: 277-288, 1997.
- Zhou, Y., Wu, X.Y. *Theoretical analyses of dispersed-drug release from planar matrices with boundary layer in a finite medium*. J. Control. Release, 84: 1-13, 2002.
- Zhou, Y., Chu, J.S., Chu, T., Wu, X.Y. *Modeling of dispersed-drug release from two-dimensional matrix tablets*. Biomaterials, 26: 945-952, 2005.
- Zienkiewicz, O.C., Taylor, R.L. *The finite element method, The Basis*, 5<sup>th</sup> Edition, Butterworth-Heinemann, Oxford, UK, vol. 1, 2000.
- Zygourakis, K. *Development and temporal evolution of erosion fronts in bioerodible controlled release devices*. Chem. Eng. Sci., 45: 2395-2366, 1990.
- Zygourakis, K., Markenscoff, P.A. *Computer-aided design of bioerodible devices with optimal release characteristics: a cellular automata approach*. Biomaterials, 17: 125-135, 1996.



**ANEXO I**



## **A.I. ENFERMEDAD INFLAMATORIA CRÓNICA DEL INTESTINO**

### **A.I.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS**

Si bien el epónimo “enfermedad de Crohn” tuvo aceptación generalizada en el curso de los últimos años, se conocen comunicaciones clinicopatológicas de procesos similares que datan de por lo menos dos siglos. Morgagni describió un cuadro de inflamación intestinal idéntico al asociado con la enfermedad de Crohn en 1761 (Kirsner, 1988). Una vez que Koch identificase el bacilo de la tuberculosis en 1882 fue posible individualizar pacientes con una enfermedad ileocecal similar a la tuberculosis intestinal pero no asociada con su bacilo. Estos casos fueron comunicados desde finales del siglo XIX hasta principios del siglo XX por distintos investigadores tales como Fenwick, Dalziel, Weiner, Moschowitz, Wilensky, Goldfarb y Suissman (Kirsner, 1988; Dalziel, 1989; Baron, 2000). Los trabajos señeros de Crohn, Ginzburg y Oppenheimer publicados en 1932 llamaron la atención acerca de la “ileítis terminal” como una entidad clínica distintiva y crónica (Crohn et al., 1932). Poco tiempo después se determinó que este término era incorrecto debido a la observación de numerosos casos en los que el proceso patológico también comprometía el colon. Además, los pacientes interpretaban el vocablo “terminal” con una connotación ominosa errónea. Por ello, se le dieron distintos nombres tales como, “enteritis regional” o “enterocolitis granulomatosa” hasta que se adoptó el término “enfermedad de Crohn” con el fin de abarcar las diversas presentaciones clínicas de esta entidad clinicopatológica. En realidad, podría haberse llamado perfectamente enfermedad “de Ginzburg” o “de Oppenheimer”, pero recibió el nombre de enfermedad de Crohn debido a una prioridad alfabética en la mención de estos tres investigadores. Por otra parte, en el caso de la colitis ulcerosa, Samuel Wilks, identificó por primera vez esta enfermedad como una entidad clínica independiente de la disentería bacilar (Wilks, 1859) aunque la primera descripción completa de la colitis ulcerosa haya sido la del Sir Arthur Hurst, quien también



describió las imágenes sigmoideoscópicas y estableció una diferenciación neta con la disentería bacilar (Hurst, 1909).

### **A.I.2. EPIDEMIOLOGÍA**

En el caso de la enfermedad de Crohn, las tasas de incidencia más elevadas en Europa y Norteamérica, se asocian con latitudes más boreales. Estimaciones recientes de la incidencia de enfermedad de Crohn en todo el territorio europeo confirmaron la observación previa de un gradiente de incidencia de norte a sur, pero con una menor diferencia entre las regiones que la documentada con anterioridad, tal vez por un aumento de las tasas de incidencia en el sur y la estabilización de incidencias en el norte (Shivananda et al., 1996), al igual que ha ocurrido con la colitis ulcerosa (Mendeloff y Calkuns, 1995). La enfermedad de Crohn se considera muy rara en una gran parte de Sudamérica y África (Mayberry y Mann, 1989) con excepción de Sudáfrica, sin embargo, es posible que las estimaciones de la incidencia provenientes de las naciones con menos recursos económicos estén viciadas por el menor acceso a la asistencia médica. Esta limitación dificulta la diferenciación entre factores genéticos y ambientales. Para la colitis ulcerosa, las áreas de incidencia elevada comprenden Reino Unido, los Estados Unidos, el Norte de Europa y Australia y las de baja incidencia, Asia, Japón y América del Sur. En Estados Unidos los judíos son más propensos a la colitis ulcerosa que el resto de la población mientras que la incidencia es reducida entre los norteamericanos negros (Mendeloff y Calkuns, 1995).

Los estudios realizados en diversos países del mundo en distintas épocas del año indican que el riesgo de enfermedad de Crohn es ligeramente mayor entre las mujeres (Loftus et al., 1998). Es posible que esta diferencia se deba a factores hormonales o diferencias del estilo de vida, y se contrapone con la incidencia casi idéntica en ambos sexos o algo superior entre los hombres de la colitis ulcerosa. En estudios poblacionales recientes se indicó que la edad media en el momento del diagnóstico de la enfermedad de Crohn es de alrededor de 30 años (Munklhom, 1997; Loftus et al., 1998) y entre los 20 a 40 años en el caso de colitis ulcerosa,

aunque ambas patologías pueden manifestarse a cualquier edad a partir de la infancia temprana. Sin embargo, algunos estudios han revelado un segundo pico de incidencia en una fase más avanzada de la vida, por lo general en el curso de la séptima década (Andres y Friedmann, 1999).

### **A.I.3. ETIOLOGÍA**

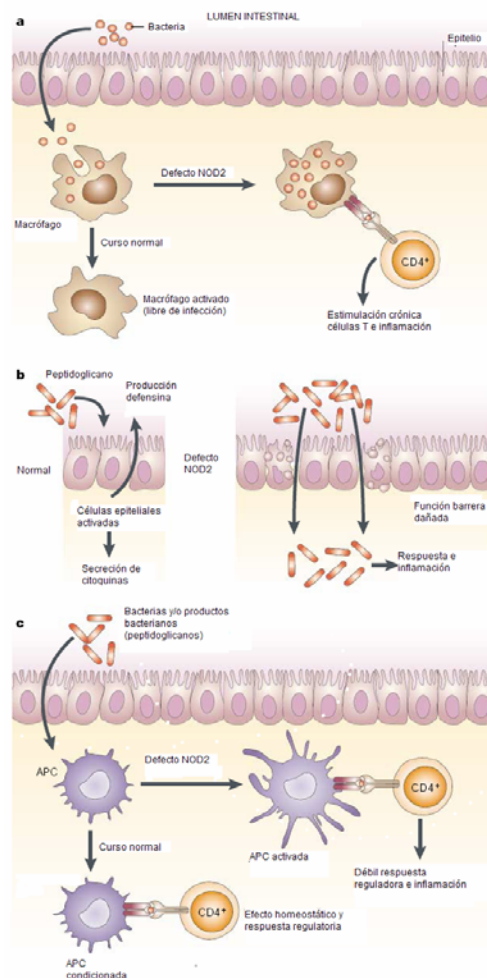
La etiología de estas enfermedades continúa siendo desconocida, sin embargo, se propone como una respuesta inmunitaria descontrolada frente a un estímulo (no identificado actualmente) que se desarrolla en un individuo genéticamente predispuesto. Los factores implicados en esta respuesta serían factores genéticos y ambientales.

#### **A.I.3.1. FACTORES GENÉTICOS**

La presunción de una predisposición genética de la EII comenzó con la observación de que los parientes de los pacientes afectados corrían un riesgo muy aumentado de padecer EII. El riesgo relativo entre los parientes de primer grado es 14 a 15 veces mayor que el de la población en general (Binder, 1998). Se han observado también diferencias según el origen étnico y racial, de tal manera que es mayor la incidencia en judíos y en la raza blanca más que en la negra y la asiática (Sartor, 1995). En estudios realizados en gemelos monocigotos y dicigotos, la incidencia es mayor en los primeros, fundamentalmente en el caso de la enfermedad de Crohn, donde la tasa de concordancia es de hasta un 67% y de sólo un 13 a un 20% para la colitis ulcerosa (Satsangi et al., 1996). Aunque diversos estudios han puesto de manifiesto que la influencia de los factores genéticos es mayor en la enfermedad de Crohn que en la colitis ulcerosa, ninguno de los dos trastornos se hereda como un rasgo mendeliano simple, sino que ambos son trastornos genéticos complejos (Bayless et al., 1996; Polito et al., 1996; Satsangi et al., 1996). El estudio de la base genética de la EII se lleva a cabo con dos métodos complementarios. El primero de ellos es la determinación de nexos mediante el estudio del genoma. Este método se basa en la búsqueda de segmentos cromosómicos compartidos entre los miembros de la familia

afectados, lo que permite investigar segmentos cromosómicos relevantes mediante el uso de marcadores regularmente dispersos. El segundo enfoque es la evaluación de la asociación de genes candidatos con la enfermedad. Este método se basa en evaluar la magnitud del efecto de un gen dado sobre el fenotipo resultante. Por lo tanto, el enfoque global del estudio genético implica llevar a cabo un “screening” amplio mediante la determinación de nexos en el genoma, estrechar la localización cromosómica hasta regiones cada vez más pequeñas e identificar alelos específicos de un gen candidato evaluando la asociación con la enfermedad. De estos estudios, se confirmó la existencia de un locus en el cromosoma 16 (llamado IBD1) ligado a la enfermedad de Crohn que señala la presencia de un gen denominado NOD2/CARD 15 (“intracelular nucleotide oligomeration domain 2/caspase recruitment domain 15”) para este trastorno en esa región (Hugot et al., 2001; Ogura et al., 2001a). NOD2 media la respuesta inmune innata a los patógenos microbianos que conducen a la activación de NF- $\kappa$ B (factor que promueve la liberación de citocinas proinflamatorias (Inohara et al., 2002). Este gen se expresa principalmente en las células inmunitarias de la línea monocítica (monocitos, macrófagos y células dendríticas), se presentan en niveles bajos en los granulocitos y algunos linfocitos (Ogura et al., 2001b; Gutierrez et al., 2002) tanto de la lámina propia intestinal como de sangre periférica (Berrebi et al., 2003). Se expresa en bajas cantidades en células epiteliales, sobre todo en células de Paneth (células epiteliales intestinales con funciones de defensa frente a patógenos entéricos) siendo fuertemente inducida por estímulos inflamatorios, incluidos algunos componentes bacterianos (Lala et al., 2003; Rosenstiel et al., 2003). Los posibles mecanismos de la enfermedad de Crohn causado por mutaciones NOD2 aparecen recogidos en la Figura A.I.1., en la que se observa como la función defectuosa de los macrófagos conduce a la persistente infección intracelular de macrófagos y a la estimulación crónica de las células T (mecanismo a); la respuesta defectuosa de las células epiteliales lleva consigo, la pérdida de la función barrera y el aumento a la exposición a la microflora de la mucosa (mecanismo b); el acondicionamiento defectuoso de las células presentadoras de antígeno (APCs) conduce a la inapropiada activación de APCs y a la ruptura del efecto homeostático y regulador de las células (mecanismo c). Además del *locus* IBD1, se documentó la presencia menos sistemática de un *locus* en el

cromosoma 12 (IBD2) en miembros de familias con enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa (Duen et al., 1998), asociándose fundamentalmente IBD2 a los de colitis ulcerosa (Bonen y Cho, 2003). Otros *locus* que es posible que estén ligados con la EII comprenden regiones en los cromosomas 1p, 1q ,3p ,3q ,6p y 7 (Cho et al., 2000). Aunque la región 6p no se asocia con tanta firmeza como IBD1 o IBD2 a la EII, reviste interés en la medida en que es el sitio de localización de los genes para el antígeno leucocitario humano (HLA) y el TNF. Recientemente, se han localizado dos nuevos genes asociados con la enfermedad de Crohn, uno de ellos se encuentra localizado en el cromosoma 5 y otro en el 10 (Peltekova et al., 2004; Stoll et al., 2004), estos genes podrían ser importantes en la permeabilidad epitelial, de tal manera, que un fallo en su función llevaría consigo, una exposición inapropiada del sistema inmunitario de la mucosa a productos bacterianos.

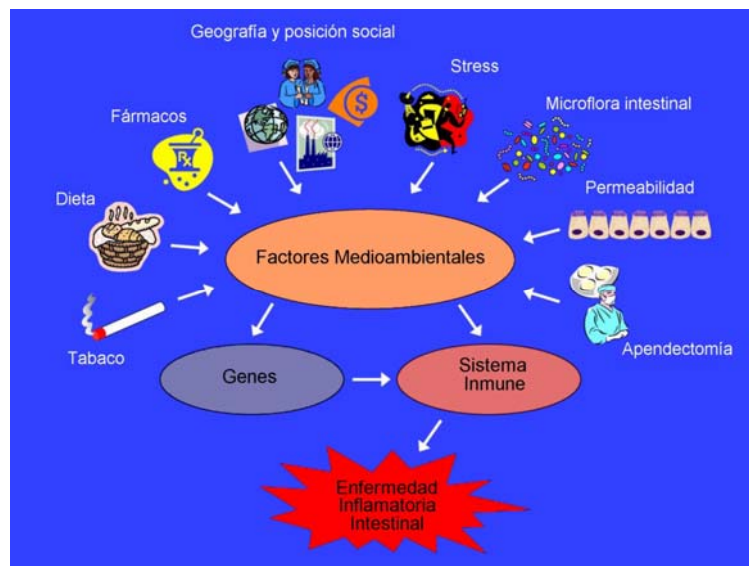


**Fig. A.I.1.** Posibles mecanismos de la enfermedad de Crohn causados por mutaciones NOD2 (modificado de Bouma y Strober, 2003).

### A.I.3.2. FACTORES AMBIENTALES

La incidencia creciente de EII durante la segunda mitad del siglo XX sugiere con firmeza la participación de factores ambientales en la expresión de estas patologías. Según la denominada “hipótesis de la higiene” se ha producido un cambio fundamental desde un estilo de vida “sucio” con una alta exposición a microorganismos, a un estilo de vida “limpio” con una baja exposición a éstos (Wills-Karp et al., 2001). De tal manera que la mejora en la higiene y la sanidad así como, el uso extendido de antibióticos, han conducido a un descenso progresivo de las enfermedades infecciosas aunque a expensas de un aumento paralelo de las enfermedades alérgicas y autoinmunes, incluidas la EII, como resultado de un desarrollo reducido del sistema inmunitario en edades tempranas (Bach, 2002).

En la Figura A.I.2. se representa una serie de factores ambientales que modifican la expresión de genes en individuos susceptibles y modula el efecto a nivel del sistema inmunitario intestinal (Danese et al., 2004). Estos factores son: tabaco, dieta, fármacos, status económico y social, stress, microorganismos, permeabilidad intestinal y apendectomía.



**Fig. A.I.2.** Factores de impacto medioambiental en la patogénesis de la enfermedad inflamatoria intestinal.

### *Tabaco*

El tabaco es un importante factor de riesgo para la enfermedad de Crohn, se asocia con un mayor riesgo de intervención quirúrgica por la enfermedad y recidiva después de la resección intestinal (Rubin y Hanauer, 2000). Por el contrario, la colitis ulcerosa es en esencia una enfermedad de exfumadores y el dejar de fumar aumenta el riesgo de desarrollar esta patología (Bridger et al., 2002). No se sabe con certeza por qué el tabaquismo se asocia con la enfermedad de Crohn y no con la colitis ulcerosa, aunque se ha comprobado que el tabaco afecta tanto a la inmunidad sistémica como a la de la mucosa intestinal, alterando numerosas funciones inmunológicas tanto innatas como adquiridas (Sopori, 2002).

### *Factores dietéticos*

El consumo elevado de azúcar refinado se asoció con la enfermedad de Crohn pero no con la colitis ulcerosa (Sonenberg, 1988), a su vez la elevada ingesta de grasa se relacionó con la colitis ulcerosa, mientras que el consumo de frutas, vegetales y fibra parece disminuir el riesgo de EII (Reif et al., 1997). Por otra parte, algunos estudios (Truelove 1961; Wright y Truelove, 1965) consideraron la relación de la leche con la colitis ulcerosa, sin embargo, las evidencias son escasas e incluso, en estudios epidemiológicos se observó que la leche materna protege contra la EII (Sonenberg, 1990), presuntamente al contribuir con la programación temprana de las respuestas inmunes en el tracto gastrointestinal en vías de desarrollo.

### *Fármacos*

Anticonceptivos orales y antiinflamatorios no esteroideos (AINES) son los dos fármacos principales que se han relacionado con la EII. En el caso de los anticonceptivos orales, ha generado controversia la peor evolución clínica de la EII en las mujeres que los utilizan, aunque a dosis bajas no afectan a la actividad clínica de la enfermedad. Sin embargo, considerando el estado de hipercoagulación presente en la EII activa, el uso concomitante de anticonceptivos orales podría agravar el riesgo de procesos tromboembólicos (Godet et al., 1995). Por otra parte, la situación es menos ambigua en el caso de AINES, ya que su uso está claramente asociado con un mayor riesgo de EII. Los pacientes de EII en remisión clínica pueden recaer tras

la administración de estos fármacos, el mecanismo parece estar relacionado con un bloqueo de las prostaglandinas protectoras y alteración de la reactividad inmune de la mucosa intestinal (Berg et al., 2002).

#### *Status económico y social*

Actualmente la relación entre el status económico y social y la EII, no está clara, algunas teorías apuntan a la vida sedentaria (característica de los grupos socioeconómicos más elevados) y al tiempo de contacto prolongado entre los antígenos de la comida con la pared intestinal como causa de la reacción inflamatoria.

#### *Stress*

Son desconocidos los mecanismos específicos que expliquen la exacerbación de la enfermedad inducida por stress, aunque probablemente esté implicada una compleja interacción entre factores nerviosos, endocrinos e inmunes (Hart y Kamm, 2002).

#### *Factores microbianos*

Se ha tratado de establecer durante años una relación entre un agente infeccioso específico y la EII aunque sin obtener resultados concluyentes. Sin embargo, en la última década, se le ha atribuido a la flora intestinal comensal un papel cada vez más importante. Se han propuestos como agentes infecciosos específicos, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia tracomatis*, *Escherichia coli* o *Mycobacterium tuberculosis*. En el caso de este último se ha estudiado su relación con la enfermedad de Crohn, puesto que se trata del agente causante de la enfermedad de Johne, una ileítis crónica en rumiantes que se asemeja a la enfermedad de Crohn, sin embargo se ha puesto de manifiesto una falta de efecto terapéutico de la terapia antituberculosa en pacientes de Crohn (Thomas et al., 1998). Por otra parte, la presencia de partículas semejantes a paramixovirus en granulomas endoteliales de enfermos de Crohn, sugirieron que esta patología podría ser debida a una vasculitis crónica causada por la persistencia del virus del sarampión en la mucosa (Wakefield et al., 1993). Sin embargo, el descenso progresivo de la infección por el virus del sarampión en las últimas décadas con el incremento de la enfermedad de Crohn en el mismo periodo,

habla en contra de un papel etiológico del virus del sarampión en enfermedad de Crohn. Además, la hipótesis de que la vacunación del sarampión puede ser un factor de riesgo para la enfermedad de Crohn tampoco ha sido confirmada por los estudios realizados al respecto (Ghosh et al., 2001). Por otra parte, la falta de respuesta “anormal” a bacterias intestinales “normales” en la EII no está clara, pero el descubrimiento reciente de que la EII está asociada con mutaciones del gen NOD2, cuyo producto son proteínas reconocedoras de bacterias, apunta a una relación entre la inflamación intestinal y el reconocimiento bacteriano (Girardin et al., 2003). Por tanto, la asociación entre la microflora intestinal y el desarrollo de la EII ha conducido a la abundancia de estudios que investigan el potencial terapéutico de la alteración de bacterias lumbales con el uso de probióticos (Fedorak y Madsen, 2004; Sartor, 2004).

#### *Permeabilidad intestinal*

A pesar de no tratarse de un factor ambiental en sí mismo, el aumento de la permeabilidad intestinal se ha descrito en pacientes con enfermedad de Crohn, postulándose como un factor que predispone a la patogenia (Teahon et al., 1992).

#### *Apendectomía*

La apendectomía reduce el riesgo de desarrollar colitis ulcerosa (Anderson et al., 2001), mientras que por el contrario aumenta el riesgo en el caso de enfermedad de Crohn (Anderson et al., 2003).

### **A.I.4. PATOGENIA**

#### **A.I.4.1. FACTORES DESENCADENANTES**

La presencia de una inflamación fisiológica de bajo grado en una mucosa intestinal sana representa un estado de preparación para combatir agentes que pueden ser nocivos, pero una respuesta más energética sería inapropiada si se dirige contra la flora comensal del tracto gastrointestinal. La inflamación se controla mediante un proceso activo denominado tolerancia inmune. A la tolerancia la median en parte subgrupos

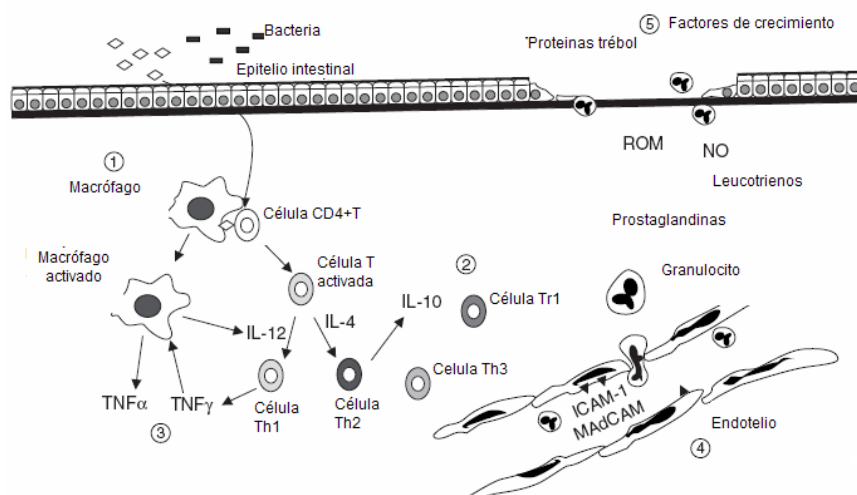


de células T helper CD4+ generadas en la mucosa intestinal. Hay dos poblaciones específicas de células T reguladoras, las T helper reguladoras 1 (Th1) y las T helper 3 (Th3), que desempeñan una función similar en el mantenimiento de la mucosa intestinal (MacDonald, 1999). Las células Th1 se caracterizan por la producción de citocinas IL-2 e interferón  $\gamma$ . Las respuestas de la población Th1 sustentan la inmunidad celular y una respuesta de hipersensibilidad retardada. Por el contrario, las células T helper 2 (Th2) evocan respuestas inmunes humorales y la producción de anticuerpos y elaboran IL-4, IL-5, IL-10 y citocinas (Romagnani, 2000). Las evidencias recolectadas en el ser humano, sugieren que en la EII tiene lugar una respuesta exagerada de las células T mucosas en la flora bacteriana entérica normal (Duchmann et al., 1999). En la enfermedad de Crohn las células T CD4+ se asocian con un perfil de citocinas característico de las células Th1, mientras que en la colitis ulcerosa el perfil de citocinas se asemeja al asociado con una respuesta Th2, aunque sin la expresión IL-4 (Fuss et al., 1996; Strober et al., 1998). La persistencia de la respuesta inmune en la EII podría obedecer a varias causas. Así, deficiencias de la barrera intestinal podrían permitir una exposición continua de los linfocitos de la lámina propia a los estímulos antigénicos lumbales. Por otra parte, la reacción inflamatoria exagerada persistente podría ser consecuencia de una respuesta inmune ineficiente a un estímulo presente en forma constante; es posible también que sea consecuencia de un estado programado de respuesta excesiva a un estímulo sostenido. Esta teoría está avalada por la observación de un proceso de apoptosis defectuoso en las células T mucosas de pacientes con enfermedad de Crohn, lo que podría explicar el carácter persistente de la inflamación en la EII, dado que la muerte celular programada de los linfocitos representa un mecanismo normal de atenuación de la respuesta inmune (Atreya et al., 2000).

#### **A.I.4.2. AMPLIFICACIÓN Y REACCIÓN TISULAR**

La inflamación de la mucosa asociada con EII es desencadenada por un antígeno (de origen presuntamente bacteriano), según se describe a continuación: **(1)** Las células presentadoras de antígeno, incluidos los macrófagos, procesan el antígeno y lo presentan en el contexto de una molécula clase II del complejo mayor de

histocompatibilidad a células T CD4+, lo que determina la activación y la diferenciación de estas células; (2) en Th1, Th2, Th3 o T reguladoras (Tr1). La interleucina-10 (IL10) producida por las células Th2 y Tr1 y el factor de crecimiento transformador (TGF) liberado en el nivel local por las células Th3 regula menos la inflamación. La citocina IL-4 derivada de las T, conduce a la diferenciación de Th2, mientras que la citocina IL-12 derivada de los macrófagos, promueve la diferenciación de las células T en Th1; (3) Los macrófagos son estimulados por el interferón gamma (IFN $\gamma$ ) producido por las células Th1, lo que conduce a una mayor liberación de IL-12 y la liberación de factor necrosis tumoral (TNF) y otras citocinas proinflamatorias; (4) Los granulocitos y las células mononucleares son reclutados hacia la mucosa en forma perfectamente coordinada mediante la expresión de integrinas en los leucocitos y las moléculas de adherencia, como la molécula de adherencia celular adresina (MadCAM ) y la molécula de adherencia intercelular-1(ICAM-1). Una vez presentes en la mucosa, estas células liberan sustancias que ejercen efectos nocivos directos y proinflamatorios, como prostaglandinas, leucotrienos, proteasas, metabolitos oxigenados reactivos (MOR) y óxido nítrico (NO). Por último puede tener lugar la curación de la mucosa mediante un proceso de restauración y reparación (5). Todo este proceso está representado en la Figura A.I.3.



**Fig. A.I.3.** Proceso de amplificación y reacción tisular (Ardizzone y Bianchi, 2005)

### **A.I.4.3. INMUNOPATOGENÉESIS**

Tradicionalmente, la enfermedad de Crohn ha sido considerada prototipo de respuesta Th1, mediada por la IL-12/interferon- $\gamma$  y factor de necrosis tumoral (TNF). De hecho las terapias anti-TNF y anti-IL12 para tratar esta patología han fortalecido esta hipótesis (Targan et al., 1997; Mannon et al., 2004; Hanauer et al., 2006). Por otra parte, se ha propuesto que la colitis ulcerosa sigue la respuesta típica de la Th2, aunque no se ha soportado en evidencias definitivas, más bien fue una hipótesis por exclusión que sirvió para acentuar las diferencias con la enfermedad de Crohn. Sin embargo, estos conceptos fisiopatológicos están cambiando rápidamente como resultado de los avances recientes en la patogénesis del daño intestinal. Uno de los mayores avances fue la reciente descripción de un tercer tipo de efector de respuesta inmunológica, denominado interleucina-23/interleucina-17 (Steinman, 2007). Por otra parte, la reciente identificación del gen NOD2/CARD15 y la relación que existe entre la mutación de este gen con la etiología de la EII, como ya vimos anteriormente, ha puesto de manifiesto la posibilidad de que la EII se deba a una inmunodeficiencia en lugar de una excesiva respuesta inmunológica como se pensaba hasta ahora, existen algunas evidencias que sustentan esta hipótesis. En primer lugar, la señal defectuosa a nivel de monocitos provocada por la mutación del NOD2 provoca una disminución en la secreción de interleukina-8 (Li et al., 2004; Van Heel et al., 2005), lo que reduce la respuesta inflamatoria aguda en enfermos de Crohn (Marks et al., 2006). De tal manera que puede conducir a un defecto frente a la invasión de bacterias y perpetuar la respuesta inflamatoria crónica en la pared intestinal. En segundo lugar, las células dendríticas quizás sean las más afectadas por el defecto en la señal (Kramer et al., 2006), lo que llevaría consigo una supresión en la secreción de IL-10 y por tanto manifestaciones proinflamatorias descontroladas. En tercer lugar, se ha demostrado que NOD2 actúa como un factor antibacteriano en las células epiteliales (Hisamatsu et al., 2003), de tal manera que un defecto en la señal NOD2 llevaría al aumento en la colonización/penetración de la barrera intestinal por bacterias y sus productos. Finalmente, es posible que el punto crítico de la desregularización tenga lugar en las células de Paneth (células epiteliales intestinales con funciones de defensa frente a patógenos entéricos al segregar

sustancias antibacterianas denominadas defensinas). En estudios recientes con pacientes de Crohn que portaban mutaciones del gen NOD2, se observó que presentaban una disminución en la expresión de las defensinas 5 y 6 (Wehkamp et al., 2005). Todos estos descubrimientos, ofrecen nuevas oportunidades en el tratamiento de estas patologías, así se está probando un inhibidor oral de la interleucina-12/interleucina-23 en enfermos de Crohn (Burakoff et al., 2006).

## **A.I.5. CLINICA**

### **A.I.5.1. MANIFESTACIONES INTESTINALES**

La enfermedad de Crohn se localiza preferentemente en el segmento distal del intestino delgado y el segmento proximal del intestino grueso. La presentación clínica puede ser solapada y muy variable. Los factores responsables de esta variabilidad comprenden la localización del proceso inflamatorio en el tracto gastrointestinal, la intensidad de la inflamación y la presencia o ausencia de complicaciones intestinales y extraintestinales específicas. Así, la enfermedad íleal a menudo asociada con el compromiso del ciego, puede presentarse en forma solapada. Se presenta también la enfermedad colónica que además de afectar el íleon y el colon derecho, puede afectar en mayor medida el colon derecho o extenderse en dirección distal hasta comprometer la mayor parte o la totalidad del colon (colitis extensiva o total). En algunos casos la enfermedad se presenta como una proctitis y otra presentación frecuente es la enfermedad perianal. Por otra parte, las fístulas son manifestaciones frecuentes de la naturaleza transmural de la enfermedad de Crohn, así como las estrecheces representan otra complicación clásica de esta enfermedad. Cabe destacar, la diarrea como el síntoma más frecuente entre los enfermos de Crohn, el aumento de la frecuencia y la disminución de las deposiciones son consecuencia de alteraciones de la función mucosa y la motilidad intestinal (Urayama y Chang, 1997). Otros síntomas que suelen aparecer en enfermos de Crohn son: dolor abdominal (es un síntoma más frecuente y persistente que en la colitis ulcerosa), pérdida de peso y desnutrición, estos últimos trastornos contribuyen con el cuadro de debilidad, irritabilidad, malestar general y fatiga fácil asociada tan a

menudo. Asimismo, la anorexia, náuseas y vómitos pueden contribuir con la pérdida de peso. La anemia afecta a un tercio de los pacientes con enfermedad de Crohn. Por último, la fiebre asociada con la enfermedad activa por lo general es de bajo grado.

En el caso de la colitis ulcerosa, los síntomas principales comprenden: diarrea, sangrado rectal, aumento de la secreción mucosa y dolor abdominal. El cuadro sintomático difiere según la magnitud de la enfermedad (Both et al., 1983), pero en general la severidad de los síntomas se correlaciona con la gravedad de la enfermedad. Destaca la presencia de proctorragia hemorrágica (inflamación limitada al recto) manifestándose con la eliminación de sangre fresca, ya sea de manera independiente de las deposiciones o en forma de estrías en la superficie de una deposición normal o dura (Rao et al., 1988).

#### **A.I.5.2. MANIFESTACIONES EXTRAINTESTINALES**

##### *Manifestaciones musculoesqueléticas*

Los trastornos artrósicos representan una de las manifestaciones extraintestinales más frecuente, observándose con mayor frecuencia en pacientes con enfermedad de Crohn que en pacientes con colitis ulcerosa. El hipocratismo de los dedos es un hallazgo frecuente pero no reviste importancia clínica.

##### *Manifestaciones cutáneas*

Las lesiones cutáneas asociadas con más frecuencia a la EII son piodermitis gangrenosa y eritema nudoso. Ninguno de estos trastornos se asocia de manera específica con EII y el hallazgo de cualquiera de ellos no es específico para ninguna de las dos formas mayores de EII (Lebwohl y Lebwohl, 1998). Otra manifestación frecuente en enfermos de Crohn y de colitis ulcerosa es la estomatitis ulcerosa (Lisciandrano et al., 1996).

##### *Manifestaciones oculares*

Se estima que las lesiones oculares afectan a un 6% de todos los pacientes con enfermedad de Crohn (Hopkins et al., 1974). La episcleritis, un trastorno más frecuente en esta afección que en la colitis ulcerosa, se caracteriza por la congestión de

la esclerótica y la conjuntiva, y no reduce la agudeza visual. Los episodios de episcleritis por lo general se asocian con exacerbaciones de la enfermedad intestinal. La escleritis compromete las capas oculares más profundas y también suele asociarse con una enfermedad intestinal activa, pero si no se trata puede provocar secuelas a largo plazo. La uveítis por lo general se presenta con cefalea, visión borrosa, fotofobia e iridospasmos. La agudeza visual se encuentra preservada, salvo que la inflamación afecte el segmento posterior.

#### *Manifestaciones hepatobiliares, renales y genitourinarias*

Los cálculos vesiculares pueden detectarse en más del 25% de los pacientes con enfermedad de Crohn de ambos sexos, y esta incidencia representa un riesgo relativo de litiasis vesicular 1,8 veces mayor que el de la población en general (Lapidus et al., 1999). Por otra parte, la formación de cálculos de ácido úrico y oxalato es un hallazgo frecuente en pacientes con enfermedad de Crohn.

### **A.I.6. DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico requiere una evaluación global de la presentación clínica y la confirmación mediante estudios radiológicos y endoscópicos, así como el examen de la materia fecal, el aspecto sigmoidoscópico o colonoscópico y la evaluación histológica de las muestras de biopsia rectal y colónica.

En los casos en los que EII se limita al colon, la distinción diagnóstica principal es la diferenciación entre enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa. Esta diferenciación adquiere cada vez mayor importancia en la selección de las modalidades terapéuticas quirúrgicas y médicas. Los pacientes con manifestaciones de ambas enfermedades se clasifican dentro de la categoría de colitis indeterminada, un término confuso que se aplica en forma diversa en las distintas instituciones médicas. Hasta un 10% de todos los pacientes de EII se incluyen dentro de la categoría diagnóstica de colitis indeterminada. Si los resultados del examen histológico se interpretan sin tener presentes las manifestaciones clínicas hay una alta probabilidad de arribar el diagnóstico de colitis indeterminada (Shivananda et al., 1991; Riegler et al., 1997).

Por lo tanto, para hacer un adecuado diagnóstico diferencial es necesario considerar la totalidad del cuadro clínico del paciente, de tal manera que los rasgos que permiten establecer un diagnóstico diferencial son: enfermedad del intestino delgado, lesiones predominantes en el colon derecho, indemnidad del recto, fistulización (con la excepción de las fístulas rectovaginales en la colitis ulcerosa), complicaciones perianales importantes y granulomas, hallazgos que orientan con firmeza al diagnóstico de enfermedad de Crohn. En la Tabla A.I.I. se recogen características diferenciales entre la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa.

Por otra parte, dado que los factores determinantes ambientales y genéticos que conducen al fenotipo clónico de la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa no se conocen con certeza, en la actualidad se investigan marcadores inmunes que permitan diferenciar ambos trastornos (Quinton et al., 1998; Ruemmele et al., 1998; Sutton et al., 2000).

**Tabla A.I.I.** Diferenciación entre la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa.

| Características            | Enfermedad de Crohn  | Colitis ulcerosa                                    |
|----------------------------|--|---|
| Dolor abdominal            | Síntoma frecuente e importante                               | De tipo cólico asociado a evacuaciones intestinales |
| Diarrea                    | Pastosa, puede estar ausente                                 | Líquida con sangre y pus                            |
| Enfermedad perianal        | Frecuente  | Rara  |
| Recurrencia potsoperatoria | Sí   | No  |
| Fumador actual             | Frecuente  | Raro  |
| Antiguo fumador            | Raro   | Frecuente   |
| Distribución               | Puede afectar cualquier segmento del tracto gastrointestinal | Compromiso contiguo del colon desde el recto        |
| Colitis continua           | Rara   | Frecuente   |
| Simetría de la inflamación | Excéntrica   | Circunferencial                                     |
| Fístulas y estrecheces     | Frecuentes   | Raras   |

**ANEXO II**





**Tabla A.II.I.** Datos de adsorción de N<sub>2</sub> (gas) a 77K por HLC.

| P/P <sub>0</sub>      | V <sub>gas</sub> (mL CNPT/g) |
|-----------------------|------------------------------|
| 0                     | 0                            |
| $7,080 \cdot 10^{-4}$ | 2,3996                       |
| $3,950 \cdot 10^{-3}$ | 3,6243                       |
| $9,420 \cdot 10^{-3}$ | 4,3615                       |
| $4,507 \cdot 10^{-2}$ | 5,9577                       |
| $7,240 \cdot 10^{-2}$ | 6,5274                       |
| $1,023 \cdot 10^{-1}$ | 7,0627                       |
| $1,330 \cdot 10^{-1}$ | 7,5691                       |
| $1,633 \cdot 10^{-1}$ | 8,0500                       |
| $1,935 \cdot 10^{-1}$ | 8,5268                       |
| $2,151 \cdot 10^{-1}$ | 8,8912                       |
| $2,436 \cdot 10^{-1}$ | 9,3498                       |
| $2,732 \cdot 10^{-1}$ | 9,8248                       |
| $3,029 \cdot 10^{-1}$ | 10,3087                      |
| $3,326 \cdot 10^{-1}$ | 10,8002                      |
| $3,624 \cdot 10^{-1}$ | 11,3044                      |
| $3,993 \cdot 10^{-1}$ | 11,9495                      |
| $4,570 \cdot 10^{-1}$ | 13,0293                      |
| $5,065 \cdot 10^{-1}$ | 14,0730                      |
| $5,559 \cdot 10^{-1}$ | 15,2110                      |
| $6,037 \cdot 10^{-1}$ | 16,4484                      |
| $6,508 \cdot 10^{-1}$ | 17,8805                      |
| $7,038 \cdot 10^{-1}$ | 19,9625                      |
| $7,499 \cdot 10^{-1}$ | 22,3909                      |
| $8,013 \cdot 10^{-1}$ | 26,6395                      |
| $8,505 \cdot 10^{-1}$ | 32,9419                      |
| $8,991 \cdot 10^{-1}$ | 40,5596                      |
| $9,491 \cdot 10^{-1}$ | 51,5660                      |
| $9,954 \cdot 10^{-1}$ | 69,3314                      |

**Tabla A.II.II.** Valores de absorbancia de los ensayos de cinética de adsorción.

| t(h) | Absorbancia    |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                |
|------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|      | 30°C           |                |                | 35°C           |                |                | 40°C           |                |                | 45°C           |                |                |
|      | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> |
| 0    | 0.419          | 0.419          | 0.419          | 0.415          | 0.416          | 0.419          | 0.421          | 0.417          | 0.420          | 0.461          | 0.423          | 0.423          |
| 0.16 | 0.393          | 0.389          | 0.391          | 0.398          | 0.389          | 0.390          | 0.401          | 0.391          | 0.392          | 0.396          | 0.397          | 0.399          |
| 0.33 | 0.385          | 0.383          | 0.384          | 0.393          | 0.383          | 0.382          | 0.394          | 0.384          | 0.384          | 0.387          | 0.390          | 0.392          |
| 0.5  | 0.383          | 0.380          | 0.381          | 0.390          | 0.381          | 0.379          | 0.391          | 0.381          | 0.380          | 0.384          | 0.386          | 0.388          |
| 1    | 0.380          | 0.374          | 0.376          | 0.385          | 0.376          | 0.373          | 0.386          | 0.376          | 0.375          | 0.380          | 0.381          | 0.382          |
| 1.5  | 0.376          | 0.370          | 0.372          | 0.381          | 0.372          | 0.369          | 0.382          | 0.372          | 0.371          | 0.376          | 0.377          | 0.380          |
| 2    | 0.374          | 0.367          | 0.369          | 0.378          | 0.368          | 0.366          | 0.380          | 0.369          | 0.369          | 0.373          | 0.374          | 0.376          |
| 2.5  | 0.371          | 0.365          | 0.367          | 0.376          | 0.366          | 0.364          | 0.378          | 0.367          | 0.367          | 0.3708         | 0.373          | 0.375          |
| 3    | 0.370          | 0.363          | 0.365          | 0.375          | 0.364          | 0.362          | 0.377          | 0.365          | 0.365          | 0.369          | 0.371          | 0.373          |
| 4    | 0.367          | 0.360          | 0.362          | 0.372          | 0.361          | 0.359          | 0.375          | 0.363          | 0.363          | 0.367          | 0.369          | 0.371          |
| 5    | 0.365          | 0.358          | 0.360          | 0.370          | 0.360          | 0.357          | 0.373          | 0.361          | 0.362          | 0.366          | 0.367          | 0.370          |
| 6    | 0.362          | 0.355          | 0.357          | 0.367          | 0.355          | 0.354          | 0.371          | 0.360          | 0.361          | 0.364          | 0.365          | 0.369          |
| 7    | 0.359          | 0.352          | 0.354          | 0.365          | 0.353          | 0.352          | 0.369          | 0.358          | 0.360          | 0.362          | 0.364          | 0.368          |
| 9    | 0.357          | 0.349          | 0.352          | 0.364          | 0.352          | 0.351          | 0.367          | 0.357          | 0.359          | 0.362          | 0.363          | 0.368          |
| 13   | 0.355          | 0.348          | 0.350          | 0.362          | 0.351          | 0.350          | 0.366          | 0.356          | 0.358          | 0.361          | 0.363          | 0.368          |
| 15   | 0.354          | 0.346          | 0.349          | 0.361          | 0.350          | 0.350          | 0.366          | 0.356          | 0.358          | 0.360          | 0.363          | 0.368          |
| 17   | 0.353          | 0.345          | 0.348          | 0.361          | 0.349          | 0.349          | 0.365          | 0.355          | 0.357          | 0.360          | 0.363          | 0.368          |
| 19   | 0.353          | 0.344          | 0.347          | 0.360          | 0.348          | 0.349          | 0.365          | 0.355          | 0.358          | 0.360          | 0.363          | 0.368          |
| 21   | 0.352          | 0.343          | 0.347          | 0.359          | 0.348          | 0.349          | 0.364          | 0.355          | 0.357          | 0.360          | 0.364          | 0.368          |
| 23   | 0.351          | 0.342          | 0.346          | 0.358          | 0.347          | 0.349          | 0.364          | 0.355          | 0.357          | 0.360          | 0.363          | 0.368          |

**Tabla A.II.III.** Valores de absorbancia de los ensayos de equilibrio (promedio, n = 3).

| C <sub>0</sub> (ppm) | f.d. | Absorbancia |       |       |       |
|----------------------|------|-------------|-------|-------|-------|
|                      |      | 15 °C       | 25°C  | 35°C  | 45°C  |
| 0                    | -    | 0           | 0     | 0     | 0     |
| 10                   | -    | 0.144       | 0.173 | 0.138 | 0.140 |
| 20                   | -    | 0.356       | 0.390 | 0.345 | 0.351 |
| 30                   | -    | 0.549       | 0.595 | 0.546 | 0.489 |
| 40                   | -    | 0.782       | 0.818 | 0.769 | 0.759 |
| 50                   | 1:5  | 0.200       | 0.201 | 0.202 | 0.203 |
| 55                   | 1:5  | 0.226       | 0.231 | 0.220 | 0.170 |
| 60                   | 1:5  | 0.244       | 0.241 | 0.230 | 0.224 |
| 65                   | 1:5  | 0.281       | 0.244 | 0.260 | 0.263 |
| 70                   | 1:5  | 0.297       | 0.245 | 0.282 | 0.232 |
| 80                   | 1:5  | 0.353       | 0.326 | 0.358 | 0.355 |
| 90                   | 1:10 | 0.173       | 0.179 | 0.197 | 0.16  |
| 100                  | 1:5  | 0.459       | 0.394 | 0.434 | 0.409 |
| 150                  | 1:10 | 0.326       | 0.302 | 0.232 | 0.323 |
| 200                  | 1:20 | 0.195       | 0.214 | 0.183 | 0.200 |

f.d.: factor de dilución.

**Tabla A.II.IV.** Valores de área de pico de 5-ASA. Ensayo de liberación en medio ácido (HCl 0,1 N).

| t (h) | 30°C           |                |                |                |                |                | 35°C           |                |                |                |                |                |
|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|       | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>5</sub> | A <sub>6</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>5</sub> | A <sub>6</sub> |
| 0     | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              |
| 0.16  | 62,704         | 63,671         | 58,432         | 64,583         | 66,190         | 62,054         | 65,412         | 67,881         | 67,682         | 70,628         | 67,397         | 65,509         |
| 0.33  | 62,760         | 65,118         | 63,642         | 64,590         | 67,194         | 63,902         | 66,120         | 68,140         | 69,584         | 70,743         | 69,777         | 66,838         |
| 0.50  | 64,550         | 65,734         | 64,638         | 64,993         | 67,654         | 64,185         | 66,647         | 68,776         | 71,095         | 71,742         | 69,908         | 69,713         |
| 0.66  | 62,122         | 66,605         | 67,843         | 66,976         | 68,078         | 65,254         | 69,747         | 73,243         | 71,341         | 72,510         | 71,731         | 70,363         |
| 0.83  | 65,526         | 67,009         | 68,055         | 67,662         | 69,266         | 66,337         | 70,158         | 76,612         | 73,128         | 73,053         | 71,731         | 71,873         |
| 1     | 67,520         | 68,000         | 68,288         | 71,174         | 70,256         | 66,365         | 72,297         | 74,889         | 74,039         | 73,581         | 74,241         | 71,938         |
| 1.5   | 69,020         | 69,077         | 69,919         | 71,840         | 72,901         | 70,408         | 76,357         | 75,878         | 75,797         | 75,203         | 75,008         | 75,073         |
| 2     | 71,742         | 71,627         | 72,531         | 73,022         | 75,475         | 73,360         | 78,691         | 79,177         | 78,112         | 76,759         | 76,976         | 77,955         |
| 3     | 75,781         | 76,351         | 76,739         | 75,996         | 77,873         | 76,377         | 79,688         | 80,743         | 79,905         | 79,582         | 80,109         | 81,118         |
| 4     | 78,129         | 78,129         | 78,108         | 77,001         | 79,676         | 79,010         | 81,632         | 83,233         | 82,299         | 82,529         | 82,091         | 82,967         |
| 5     | 80,279         | 80,856         | 81,187         | 80,208         | 80,843         | 80,391         | 84,204         | 83,327         | 83,695         | 83,708         | 83,531         | 83,343         |
| 6     | 81,375         | 81,692         | 82,351         | 80,775         | 81,239         | 82,586         | 84,905         | 84,308         | 84,079         | 84,700         | 84,971         | 83,502         |
| 7     | 81,651         | 82,698         | 82,923         | 83,182         | 81,402         | 82,685         | 85,042         | 85,731         | 85,779         | 85,866         | 85,817         | 84,643         |
| 8     | 81,686         | 83,009         | 83,340         | 85,129         | 81,939         | 84,009         | 84,962         | 86,561         | 86,806         | 86,633         | 86,382         | 84,947         |

Tabla A.II.IV. Continuación.

| t (h) | 40°C           |                |                |                |                |                | 45°C           |                |                |                |                |                |
|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|       | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>5</sub> | A <sub>6</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>5</sub> | A <sub>6</sub> |
| 0     | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              |
| 0.16  | 84,301         | 88,845         | 92,264         | 87,835         | 84,092         | 86,321         | 91,292         | 87,974         | 91,826         | 89,415         | 96,581         | 93,234         |
| 0.33  | 85,217         | 90,619         | 92,423         | 90,540         | 87,651         | 88,543         | 94,377         | 90,121         | 104,878        | 94,527         | 100,917        | 95,101         |
| 0.50  | 86,622         | 92,781         | 93,132         | 93,035         | 90,442         | 90,367         | 100,160        | 91,280         | 106,696        | 98,022         | 101,907        | 97,454         |
| 0.66  | 90,078         | 94,893         | 94,561         | 93,514         | 91,060         | 92,120         | 100,375        | 94,870         | 106,855        | 99,085         | 103,899        | 101,321        |
| 0.83  | 92,997         | 98,690         | 94,631         | 95,091         | 92,685         | 93,798         | 102,984        | 96,381         | 108,888        | 104,039        | 106,539        | 104,231        |
| 1     | 94,840         | 99,098         | 95,990         | 96,279         | 95,656         | 95,103         | 103,948        | 96,551         | 112,910        | 105,939        | 110,362        | 108,687        |
| 1.5   | 99,252         | 100,035        | 99,208         | 96,668         | 96,793         | 97,899         | 107,622        | 102,754        | 113,466        | 106,154        | 113,378        | 110,256        |
| 2     | 101,713        | 101,479        | 99,877         | 98,894         | 100,172        | 99,987         | 111,375        | 111,501        | 116,772        | 109,467        | 117,464        | 112,983        |
| 3     | 103,446        | 106,063        | 106,683        | 105,531        | 106,074        | 102,190        | 117,147        | 115,806        | 118,340        | 113,686        | 122,152        | 119,213        |
| 4     | 105,249        | 107,717        | 107,922        | 107,837        | 106,313        | 105,654        | 117,306        | 117,238        | 119,317        | 118,187        | 123,472        | 120,598        |
| 5     | 105,667        | 109,062        | 109,361        | 108,376        | 108,137        | 109,124        | 121,479        | 122,599        | 120,555        | 118,425        | 126,829        | 122,753        |
| 6     | 107,739        | 109,760        | 111,859        | 109,634        | 109,144        | 110,032        | 124,280        | 126,825        | 125,610        | 124,883        | 128,400        | 125,129        |
| 7     | 109,771        | 111,473        | 113,398        | 111,620        | 109,722        | 111,348        | 125,289        | 128,779        | 126,985        | 126,523        | 128,582        | 127,958        |
| 8     | 110,856        | 112,340        | 114,467        | 112,149        | 110,101        | 112,257        | 128,442        | 128,916        | 128,598        | 128,129        | 128,650        | 129,798        |

**Tabla A.II.V.** Valores de área de pico de 5-ASA. Ensayo de liberación en tampón (pH 6.8).

| t (h) | 30°C           |                |                |                |                |                | 35°C           |                |                |                |                |                |
|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|       | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>5</sub> | A <sub>6</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>5</sub> | A <sub>6</sub> |
| 0     | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              |
| 0.16  | 85,140         | 84,522         | 84,140         | 86,024         | 85,526         | 82,139         | 57,606         | 56,651         | 58,756         | 57,830         | 58,598         | 57,056         |
| 0.33  | 85,513         | 88,112         | 89,785         | 88,133         | 85,565         | 84,912         | 65,756         | 67,828         | 67,044         | 68,048         | 65,132         | 67,839         |
| 0.50  | 86,422         | 89,852         | 90,140         | 89,909         | 86,575         | 86,154         | 70,816         | 71,400         | 71,893         | 70,942         | 70,815         | 70,493         |
| 0.66  | 88,552         | 90,938         | 90,395         | 90,298         | 88,839         | 87,063         | 73,880         | 73,796         | 74,221         | 74,020         | 74,654         | 74,007         |
| 0.83  | 89,539         | 92,145         | 91,626         | 91,475         | 90,071         | 88,882         | 74,206         | 74,046         | 76,108         | 74,462         | 75,997         | 74,266         |
| 1     | 90,581         | 93,131         | 92,480         | 92,574         | 90,548         | 89,392         | 75,642         | 76,626         | 77,618         | 78,883         | 77,867         | 76,803         |
| 1.5   | 97,158         | 96,655         | 95,385         | 97,014         | 94,067         | 95,203         | 78,581         | 80,298         | 79,020         | 80,768         | 80,495         | 80,784         |
| 2     | 101,028        | 101,652        | 98,900         | 101,298        | 98,940         | 99,950         | 81,805         | 83,395         | 83,711         | 84,538         | 85,043         | 84,790         |
| 3     | 105,320        | 107,092        | 103,148        | 106,826        | 105,700        | 106,338        | 83,683         | 85,590         | 85,330         | 86,440         | 86,737         | 86,609         |
| 4     | 110,355        | 112,189        | 105,843        | 110,933        | 111,739        | 109,155        | 86,472         | 87,427         | 88,335         | 88,175         | 89,491         | 88,562         |
| 5     | 113,049        | 113,508        | 111,033        | 114,374        | 113,681        | 113,612        | 87,432         | 88,420         | 88,610         | 88,625         | 89,608         | 90,649         |
| 6     | 115,744        | 114,217        | 113,517        | 114,407        | 114,425        | 117,350        | 88,334         | 89,739         | 90,012         | 89,643         | 90,192         | 90,732         |
| 7     | 115,811        | 116,023        | 115,037        | 117,116        | 116,745        | 117,650        | 89,921         | 90,557         | 90,505         | 90,702         | 90,359         | 90,774         |
| 8     | 116,410        | 117,540        | 116,955        | 117,915        | 117,522        | 117,905        | 89,996         | 90,816         | 90,670         | 90,785         | 90,793         | 90,807         |

Tabla A.II.V. Continuación.

| t (h) | 40°C           |                |                |                |                |                | 45°C           |                |                |                |                |                |
|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|       | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>5</sub> | A <sub>6</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>5</sub> | A <sub>6</sub> |
| 0     | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              |
| 0.16  | 80,456         | 80,400         | 85,673         | 84,759         | 90,335         | 85,789         | 87,494         | 88,928         | 88,307         | 89,362         | 89,839         | 89,419         |
| 0.33  | 84,168         | 86,006         | 88,879         | 88,774         | 90,435         | 87,154         | 92,968         | 92,871         | 96,559         | 94,981         | 93,655         | 93,859         |
| 0.50  | 87,713         | 86,450         | 91,305         | 90,141         | 92,123         | 91,467         | 95,362         | 95,653         | 97,305         | 97,718         | 96,167         | 95,848         |
| 0.66  | 91,026         | 90,413         | 96,002         | 90,453         | 92,479         | 93,101         | 96,902         | 99,478         | 99,614         | 98,822         | 98,916         | 99,471         |
| 0.83  | 91,935         | 93,743         | 97,582         | 92,766         | 95,501         | 94,398         | 97,980         | 100,887        | 101,579        | 101,840        | 100,528        | 101,555        |
| 1     | 94,572         | 94,842         | 99,564         | 95,780         | 96,012         | 96,589         | 100,635        | 103,681        | 103,249        | 105,988        | 102,507        | 103,982        |
| 1.5   | 98,849         | 100,924        | 100,799        | 98,770         | 99,267         | 100,012        | 103,100        | 106,783        | 106,540        | 108,270        | 106,026        | 105,995        |
| 2     | 104,821        | 102,578        | 101,189        | 99,782         | 101,211        | 102,536        | 105,565        | 109,068        | 108,447        | 110,626        | 108,183        | 109,026        |
| 3     | 106,217        | 103,721        | 107,087        | 104,230        | 107,333        | 105,375        | 111,904        | 112,845        | 113,408        | 115,178        | 113,788        | 114,472        |
| 4     | 108,167        | 108,050        | 108,111        | 108,033        | 108,477        | 108,479        | 116,526        | 116,208        | 117,729        | 120,368        | 118,279        | 118,581        |
| 5     | 109,530        | 109,283        | 112,508        | 109,868        | 109,877        | 110,010        | 119,252        | 118,670        | 119,979        | 121,926        | 120,009        | 120,984        |
| 6     | 113,762        | 111,758        | 116,515        | 111,625        | 110,944        | 112,598        | 121,171        | 122,637        | 122,382        | 123,485        | 122,308        | 122,974        |
| 7     | 114,737        | 115,310        | 117,026        | 113,438        | 114,166        | 115,621        | 124,229        | 123,845        | 124,217        | 125,902        | 125,010        | 124,382        |
| 8     | 117,585        | 115,776        | 117,416        | 113,916        | 116,465        | 116,984        | 125,520        | 125,135        | 125,484        | 127,190        | 125,555        | 125,555        |



**Tabla A.II.VI.** Valores de área de pico de 5-ASA. Ensayo de liberación con cambio de pH.

| t (h) | 35°C           |                |                |                | 35°C           |                |                |                | 40°C           |                |                |                | 45°C           |                |                |                |
|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|       | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>4</sub> |
| 0     | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              |
| 0.033 | 64,475         | 64,446         | 64,689         | 64,398         | 158,832        | 149,743        | 139,903        | 140,700        | 89,817         | 89,838         | 88,524         | 90,999         | 156,003        | 155,948        | 154,260        | 157,748        |
| 0.066 | 70,380         | 69,354         | 69,075         | 69,902         | 178,479        | 178,269        | 178,266        | 178,098        | 97,764         | 97,147         | 98,357         | 97,078         | 163,969        | 164,230        | 165,159        | 164,436        |
| 0.1   | 74,042         | 73,982         | 74,132         | 72,686         | 183,643        | 182,224        | 182,981        | 183,043        | 103,849        | 103,785        | 103,629        | 103,735        | 175,083        | 175,464        | 174,437        | 178,192        |
| 0.133 | 75,453         | 76,328         | 75,644         | 76,274         | 191,733        | 192,347        | 188,311        | 189,349        | 108,020        | 108,039        | 107,714        | 106,453        | 181,714        | 181,342        | 183,214        | 182,666        |
| 0.16  | 79,302         | 78,731         | 78,854         | 77,891         | 193,430        | 196,917        | 193,690        | 197,473        | 111,452        | 111,174        | 111,853        | 109,197        | 187,104        | 185,722        | 188,604        | 188,997        |
| 0.25  | 80,171         | 80,274         | 79,227         | 80,012         | 199,780        | 199,571        | 199,314        | 200,083        | 113,063        | 112,899        | 112,934        | 112,729        | 190,276        | 189,173        | 191,347        | 190,806        |
| 0.33  | 81,105         | 80,685         | 79,694         | 80,245         | 203,734        | 204,362        | 200,886        | 203,087        | 112,548        | 112,425        | 114,146        | 115,565        | 192,351        | 191,576        | 194,376        | 195,471        |
| 0.416 | 81,946         | 82,041         | 81,084         | 82,096         | 204,447        | 204,313        | 204,275        | 204,613        | 114,488        | 114,321        | 114,357        | 114,147        | 195,714        | 195,242        | 196,927        | 196,923        |
| 0.5   | 82,983         | 82,845         | 82,148         | 82,152         | 205,332        | 207,085        | 205,208        | 205,451        | 114,673        | 115,098        | 114,463        | 115,631        | 196,644        | 196,336        | 197,524        | 198,517        |
| 0.66  | 83,488         | 83,321         | 84,611         | 83,834         | 207,324        | 207,384        | 205,920        | 206,977        | 115,399        | 116,823        | 117,151        | 117,521        | 198,981        | 197,717        | 198,836        | 199,041        |
| 0.75  | 83,712         | 84,331         | 85,628         | 84,058         | 208,061        | 207,925        | 207,885        | 208,233        | 117,405        | 117,232        | 117,270        | 117,049        | 199,363        | 200,977        | 200,696        | 201,730        |
| 0.83  | 84,086         | 85,584         | 86,067         | 85,123         | 209,143        | 207,949        | 211,176        | 208,348        | 116,666        | 118,562        | 117,824        | 117,810        | 201,724        | 202,167        | 202,222        | 203,658        |
| 1     | 84,945         | 86,079         | 87,644         | 86,170         | 211,652        | 209,522        | 209,138        | 212,738        | 118,805        | 120,076        | 119,247        | 118,598        | 203,226        | 203,857        | 203,820        | 204,205        |
| 1.25  | 85,104         | 86,893         | 88,530         | 87,711         | 212,561        | 212,298        | 212,036        | 213,772        | 120,257        | 121,459        | 120,117        | 119,885        | 204,920        | 205,666        | 205,251        | 206,180        |
| 1.5   | 85,385         | 87,248         | 88,763         | 88,524         | 214,553        | 214,976        | 214,615        | 215,446        | 121,405        | 121,604        | 120,684        | 120,450        | 207,162        | 207,522        | 208,352        | 208,108        |
| 1.75  | 86,954         | 90,642         | 89,939         | 89,618         | 217,701        | 216,819        | 219,821        | 219,533        | 121,789        | 122,948        | 121,646        | 121,408        | 209,904        | 208,831        | 209,950        | 209,584        |
| 2     | 88,776         | 91,427         | 90,238         | 90,972         | 221,783        | 219,571        | 226,379        | 220,813        | 127,174        | 124,936        | 122,964        | 123,167        | 212,409        | 210,759        | 210,975        | 210,965        |
| 2.5   | 75,448         | 76,441         | 75,545         | 74,250         | 192,383        | 190,450        | 194,962        | 195,171        | 105,113        | 103,238        | 103,885        | 102,652        | 183,876        | 184,761        | 182,829        | 185,708        |
| 3     | 79,393         | 78,161         | 76,564         | 75,596         | 196,427        | 199,477        | 196,474        | 197,664        | 107,705        | 103,911        | 102,858        | 103,770        | 185,979        | 188,871        | 187,733        | 190,448        |
| 3.5   | 82,797         | 80,937         | 78,570         | 77,867         | 200,683        | 200,712        | 200,798        | 201,016        | 109,727        | 106,866        | 103,314        | 106,965        | 189,747        | 191,632        | 191,079        | 192,652        |
| 4     | 83,775         | 83,519         | 79,573         | 78,321         | 202,874        | 203,054        | 209,573        | 205,026        | 113,038        | 108,737        | 106,235        | 108,802        | 194,265        | 194,580        | 195,110        | 196,644        |
| 5     | 83,977         | 83,746         | 83,738         | 80,810         | 205,237        | 204,757        | 213,652        | 208,438        | 115,311        | 109,536        | 111,404        | 112,784        | 198,950        | 197,445        | 199,931        | 199,513        |
| 6     | 84,277         | 84,084         | 84,207         | 85,108         | 207,237        | 206,290        | 216,934        | 210,038        | 116,544        | 110,711        | 113,161        | 116,104        | 203,051        | 201,576        | 206,206        | 204,752        |
| 7     | 84,277         | 85,053         | 84,118         | 88,197         | 211,812        | 209,654        | 218,789        | 210,187        | 116,613        | 112,160        | 115,374        | 118,945        | 205,196        | 206,019        | 208,825        | 205,479        |
| 8     | 84,204         | 86,002         | 84,272         | 87,881         | 213,642        | 212,251        | 219,116        | 215,179        | 116,738        | 113,256        | 116,812        | 120,143        | 209,339        | 207,493        | 210,030        | 209,034        |

**Tabla A.II.VII.** Valores de área de pico de 5-ASA. Sistema 5-ASA-HLC-30. Medio: agua (700 mL).

| t (h) | 30°C           |                |
|-------|----------------|----------------|
|       | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> |
| 0     | 0              | 0              |
| 0.033 | 8,403          | 6,508          |
| 0.066 | 10,222         | 7,894          |
| 0.1   | 10,423         | 9,982          |
| 0.133 | 11,167         | 10,278         |
| 0.16  | 11,667         | 10,463         |
| 0.25  | 11,717         | 10,521         |
| 0.33  | 11,951         | 10,817         |
| 0.416 | 12,183         | 10,852         |
| 0.5   | 12,333         | 10,915         |
| 0.75  | 12,454         | 11,198         |
| 1     | 12,857         | 11,348         |
| 1.25  | 13,086         | 11,578         |
| 1.5   | 13,135         | 11,756         |
| 1.75  | 13,366         | 11,967         |
| 2     | 13,779         | 12,152         |
| 2.5   | 14,091         | 12,712         |
| 3     | 14,628         | 13,020         |
| 3.5   | 15,119         | 13,467         |
| 4     | 15,724         | 13,895         |
| 5     | 16,155         | 14,177         |
| 6     | 16,754         | 14,605         |
| 7     | 17,067         | 15,409         |
| 8     | 17,115         | 15,584         |

**Tabla A.II.VIII.** Valores del área del pico de 5-ASA. Sistema 5-ASA-HLC-30. Medio: agua (525 + 175 mL).

| t (h) | 30°C                |                     |
|-------|---------------------|---------------------|
|       | A <sub>1</sub> (mV) | A <sub>2</sub> (mV) |
| 0     | 0                   | 0                   |
| 0.033 | 7,174               | 7,652               |
| 0.066 | 10,312              | 10,642              |
| 0.1   | 10,828              | 11,250              |
| 0.133 | 10,853              | 11,468              |
| 0.16  | 11,016              | 11,490              |
| 0.25  | 11,204              | 11,704              |
| 0.33  | 11,407              | 12,023              |
| 0.416 | 11,576              | 12,235              |
| 0.5   | 11,614              | 12,304              |
| 0.75  | 11,886              | 12,540              |
| 1     | 12,108              | 12,806              |
| 1.25  | 12,318              | 13,035              |
| 1.5   | 12,521              | 13,491              |
| 1.75  | 12,933              | 13,745              |
| 2     | 13,209              | 13,800              |
| 2.5   | 10,272              | 10,751              |
| 3     | 10,773              | 11,424              |
| 3.5   | 11,277              | 11,939              |
| 4     | 11,639              | 12,356              |
| 5     | 11,961              | 12,688              |
| 6     | 12,207              | 12,996              |
| 7     | 12,593              | 13,346              |
| 8     | 12,712              | 13,612              |