

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica



**DISEÑO DE FORMAS FARMACÉUTICAS
LÍQUIDAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA
PARA EL TRATAMIENTO DEL DOLOR**

TESIS DOCTORAL

Gema López Ginés
Granada, Enero de 2008

DRA. D^a M^a ADOLFINA RUIZ MARTÍNEZ, DRA. D^a VISITACIÓN GALLARDO LARA y DRA. D^a M^a ENCARNACIÓN MORALES HERNÁNDEZ, PROFESORAS DEL DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA:

CERTIFICAMOS:

Que el trabajo de investigación que se presenta en la siguiente Memoria, titulado **“Diseño de formas farmacéuticas líquidas de liberación modificada para el tratamiento del dolor”**, ha sido realizado bajo nuestra dirección por la Lda. D^a Gema López Ginés y constituye su Tesis Doctoral.

Con esta fecha, autorizamos su presentación ante la Comisión de Doctorado de la Universidad de Granada.

Granada, a veintitrés de Noviembre de 2007.

Dra. M^a Adolfin Ruíz Martínez

Dra. Visitación Gallardo Lara

Dra. M^a Encarnación Morales Hernández

La Doctoranda

Gema López Ginés

*"Cuanto más alto coloque el hombre su meta, tanto más
crecerá".*

Johann Christoph Friedrich Schiller

*A mi padre, farmacéutico de
profesión, para que sienta como propios
cada uno de mis logros personales.*

Esta Tesis Doctoral es el fruto, no sólo de la dedicación y el trabajo de la doctoranda, sino también del esfuerzo y colaboración de numerosas personas. Aunque estas líneas no puedan compensar todo lo que cada una de ellas ha aportado a esta etapa de mi vida, espero que al menos sirvan para expresar mi más sincero agradecimiento.

A mis directoras de tesis, Dra. D^a Adolfinia Ruiz Martínez, Dra. D^a Visitación Gallardo Lara y Dra. D^a M^a Encarnación Morales Hernández. No siempre se tiene la suerte de contar con tres personas de tanta valía respaldando tu trabajo, razón por la que me siento muy afortunada. A las Dras. Ruiz y Gallardo no sólo tengo que agradecerles sus buenos consejos y sus enriquecedoras aportaciones a cada párrafo de esta memoria, sino más aún su cálida acogida en el grupo de investigación y el haberme dado la oportunidad de disfrutar de un período de aprendizaje que me ha hecho crecer como persona. A la Dra. Morales le debo el haberme inculcado la minuciosidad y el afán por el buen hacer diario. Con su dedicación absoluta a pesar de sus muchas otras ocupaciones, su cercanía y cariño, ha sido para mí el estímulo necesario para finalizar este trabajo.

A mis compañer@s del grupo de investigación, doctorandos y profesores, con los que tantas horas de laboratorio he compartido. No puedo nombrarlos a todos ahora, pero sí quiero que sepan que gracias a ellos he aprendido a trabajar en equipo y he adquirido herramientas que favorecerán mi desempeño eficiente como profesional. .

A Marga, Amparo y Eva. Con ellas comencé este camino y sin su presencia no hubiera sido capaz de terminarlo. Han sido para mí inyecciones de optimismo. Hemos compartido muchos buenos y malos

momentos que quedan en mi recuerdo y sólo espero que nuestra amistad se siga fortaleciendo con el paso de los años.

A los miembros del Departamento de Física Aplicada de la Facultad de Ciencias de Granada; Dres. D. Ángel Delgado y D. Juan de Dios García, así como a los doctorandos, por acercarme al hasta ese momento “desconocido” mundo de la reología.

Al Dr. D. Federico Lara Villoslada, miembro de Puleva Biotech, por su amabilidad al colaborar con nosotros en los estudios de cesión en monocapa con células intestinales, que son objeto de esta memoria, agradeciéndole de modo particular su disponibilidad para revisar los resultados y sus valiosas observaciones y correcciones.

No debo olvidarme de la persona que ha posibilitado la continuidad de mi vida universitaria, D^a Concepción Pérez García, titular de la Farmacia Perpetuo Socorro. Gracias a su complicidad he podido compaginar trabajo y doctorado, siendo sin duda su colaboración crucial para la realización de esta memoria.

Cuando se lleva a cabo la Tesis Doctoral, normalmente se realiza como actividad extralaboral y ello significa menos tiempo y dedicación a la familia. A ellos, a mis padres, quienes me infundieron la ética y el rigor que guían mi transitar por la vida, les tengo que agradecer su apoyo incondicional. Siempre a mi lado, respetando mis decisiones, a veces difíciles para ellos. Os llevo en mi corazón y si no fuera por vuestra presencia no sería capaz de soportar dificultades y desencantos. A mi hermana Fabi, eres un pilar en mi vida.

A mi familia de Tenerife, porque vuestro cariño llega a la península a pesar de la distancia.

A Sergio, tú conoces mis fortalezas, pero también mis debilidades, y sin embargo te quedas conmigo. Gracias por tu paciencia, por tus cuidados, parte de ti también queda plasmada en este trabajo.

Y finalmente, a todos aquellos que no hayáis visto vuestro nombre escrito en estas líneas, pero que sabéis que de una u otra manera habéis estado presentes durante estos años de mi vida.

I. PARTE TEÓRICA

INTRODUCCIÓN	1
I. SUSPENSIONES FARMACÉUTICAS	6
I.1. Componentes de una suspensión farmacéutica	11
I.1.1. Agentes humectantes	13
I.1.2. Componentes que permiten el control de la estabilidad y de la sedimentación	14
I.1.3. Factores que afectan las propiedades de flujo	20
I.1.4. Reguladores del pH	27
I.1.5. Otros componentes	28
II. VECTORIZACIÓN DE FÁRMACOS	29
II.1. Empleo de polímeros en liberación controlada	32
II.2. Microencapsulación	35
III. ESTABILIDAD FÍSICA DE LAS SUSPENSIONES	60
III.1. Sedimentación	61
III.2. Reología	65
III.2.1. Consideraciones generales	68
III.2.2. Comportamiento reológico de los materiales	69
III.2.2.a. Sólidos elásticos	69
III.2.2.b. Líquidos viscosos	70

INDICE

I.V. DOLOR	91
I.V.1. Tipos de dolor	91
I.V.1.1. Dolor agudo	92
I.V.1.2. Dolor crónico	93
I.V.2. Abordaje terapéutico del dolor con opioides	95
I.V.3. Mecanismo de acción de los opioides	99
I.V.4. Clasificación de los opioides	102
I.V.5. Morfina	107
I.V.5.1. Acciones farmacológicas	107
I.V.5.2. Desarrollo de tolerancia	111
I.V.5.3. Características farmacocinéticas	112
I.V.5.4. Reacciones adversas e interacciones	116
I.V.6. Tramadol	117
I.V.7. Paracetamol	119
I.V.8. Combinación tramadol/paracetamol	121
II. OBJETIVO Y PLAN DE TRABAJO	123
III. MATERIAL Y MÉTODOS	127
III.1. MATERIAL	
III.1.1. Clorhidrato de morfina	127
III.1.2. Tramadol	129
III.1.3. Paracetamol	131
III.1.4. Etilcelulosa	132

III.1.5. Otros materiales utilizados.....	137
--	-----

III.2. MÉTODOS EXPERIMENTALES

III.2.1. Estudio microfotográfico.....	143
III.2.2. Espectroscopia de infrarrojos.....	143
III.2.3. Análisis calorimétrico.....	145
III.2.4. Ensayos de sedimentación.....	145
III.2.5. Estudio del comportamiento reológico.....	147
III.2.6. Medidas de pH.....	148
III.2.7. Estudio de la cesión de fármaco.....	148
III.2.8. Estudios de citotoxicidad y cesión en una monocapa de células intestinales.....	150
III.2.9. Métodos analíticos.....	153

I.V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....155

I.V.1. MÉTODO DE PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS MICROPARTÍCULAS

IV.1.1. Síntesis de pseudolátex y de pseudolátex con fármaco.....	155
I.V.1.2. Caracterización microfotográfica de las micropartículas.....	159
I.V.1.3. Rendimiento de la encapsulación.....	167
I.V.1.4. Espectrofotometría de infrarrojos.....	173
I.V.1.5. Análisis calorimétrico.....	178

I.V.2. DISEÑO Y ELABORACIÓN DE LA FÓRMULA FINAL.....183

INDICE

I.V.3. ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE LAS FÓRMULAS	188
I.V.3.1. Medidas de pH.....	189
I.V.3.2. Sedimentación.....	190
I.V.3.3. Caracterización reológica.....	196
A. Viscosimetría.....	197
B. Oscilometría.....	206
C. Fluencia-Recuperación.....	209
I.V.4. ESTUDIO DE CESIÓN DEL FÁRMACO	212
I.V.4.1. Selección de membrana.....	213
I.V.4.2. Estudio de cesión.....	216
I.V.4.3. Cinética de cesión.....	230
I.V.4.4. Parámetros modelo independientes: EF(%) y MDT.....	234
I.V.5. MECANISMO DE LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO DESDE LAS MICROPARTÍCULAS	238
I.V.6. ESTUDIO DE CITOTOXICIDAD Y CESIÓN EN UNA MONOCAPA DE CÉLULAS INTESTINALES	241
V. CONCLUSIONES	249
BIBLIOGRAFÍA	257
APÉNDICES	
APÉNDICE I. Validación del método analítico.....	1

APÉNDICE II.....13

APÉNDICE II.1. Comparación de los perfiles de liberación de clorhidrato de morfina y clorhidrato de tramadol desde las micropartículas de etilcelulosa.

APÉNDICE II.2. Comparación de los perfiles de liberación de clorhidrato de morfina y clorhidrato de tramadol desde las fórmulas con los distintos viscosizantes

APÉNDICE III. Ajuste de cinéticas de cesión de las fórmulas y determinación de MDT Y EF(%).....23

INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos básicos que el tratamiento del dolor crónico debe conseguir es disminuir la limitación de la actividad que éste ocasiona y así favorecer la reincorporación laboral y social (Casals y Samper, 2004). El dolor crónico es una experiencia agotadora unida a un sufrimiento psicológico con síntomas de ansiedad y depresión que condicionan y aumentan la percepción dolorosa. Además no es un problema aislado. Es una de las causas de incapacidad más frecuentes y una de las afecciones más comunes por las que el paciente solicita consejo y ayuda a los profesionales sanitarios. Se ha llegado a afirmar que casi un tercio de la población de los países industrializados sufre dolor crónico, siendo la mayor parte de los enfermos que lo padecen personas de edad avanzada. La especial importancia y prevalencia de este problema en la vejez se debe a que se asocia a enfermedades crónicas, que se agravan con la edad. Entre un 50-80% de la población mayor de 65 años presenta dolor asociado con trastornos del sueño, disminución y/o pérdida de las funciones físicas y sociales e incremento de los gastos derivados de la utilización de los servicios de salud (Franco y Seoane de Lucas, 2001).

Otro grupo de población que se somete frecuentemente a procedimientos dolorosos sin la analgesia adecuada son los niños, sobre todo los que requieren cuidados intensivos y son sometidos de forma repetida a intervenciones invasivas. Tradicionalmente, se pensaba que la incapacidad de los niños para verbalizar sus sentimientos y expresar su dolor era sinónimo de incapacidad para experimentarlo y recordarlo. En la actualidad, sin embargo, existen datos suficientes para afirmar que el niño, desde su nacimiento, es capaz de percibir el dolor (Vidal y col., 2005).

Como vemos, el dolor crónico constituye un tema central en las ciencias de la salud contemporáneas ya que no sólo produce sufrimiento, sino también un importante coste económico y social. Es por esto que es de gran importancia disponer de alternativas que permitan controlar el dolor con los mínimos riesgos, incrementando a su vez la capacidad funcional. Como la resolución completa del dolor es improbable, es importante alcanzar un nivel aceptable de analgesia que tolere el paciente e incremente su calidad de vida.

Según la escalera terapéutica elaborada por la OMS en 1990 los opiáceos son una indicación clara para el tratamiento del dolor crónico de intensidad moderada a severa de cualquier etiología, donde la morfina es el fármaco prototipo y el más representativo. Asimismo,

pese a sus beneficios, no podemos olvidarnos de su efectos adversos (náuseas, vómitos, somnolencia y confusión, miosis, retención urinaria, estreñimiento, depresión respiratoria, tolerancia y dependencia), consecuencia directa de su propia acción farmacológica. Es por esto que en la actualidad surge el interés por los opiáceos débiles, existiendo numerosas revisiones y estudios en la literatura en los que se describen respuestas favorables al empleo de los mismos. El tramadol es un analgésico que se sitúa, por su potencia analgésica, en el segundo escalón. Tiene un doble mecanismo de acción, opioide y no opioide, lo que le permite combinar en un solo fármaco los efectos analgésicos de los opioides con los de los inhibidores de la recaptación neuronal de noradrenalina y serotonina (Casals y Samper, 2004). Comparado con la morfina, muestra menos potencia analgésica pero también menos efectos secundarios, siendo una de sus ventajas su baja adicción y tolerancia, por lo que lo consideramos un medicamento de elección en el tratamiento del dolor crónico.

Habitualmente, el tratamiento se realiza mediante monoterapia, pero en muchos casos la combinación de fármacos que actúan por distintas vías facilita el tratamiento y el cumplimiento del mismo, sobre todo en pacientes ancianos, en cuadros de dolor crónico, de tratamientos de larga duración o en pacientes que toman diversas

medicaciones para otras enfermedades. Así, podemos encontrar numerosos trabajos en los que se argumenta que la combinación de bajas dosis de opioides que no serían efectivas en sí mismas, con un analgésico no opiáceo consigue un compuesto analgésico eficaz y seguro y desmonta antiguas creencias de que las combinaciones no tenían efecto aditivo o éste era superado por un incremento en los efectos secundarios (Schnitzer, 2003; Mcquay y col., 2003; Eun Young L. y col., 2006).

Cuando usamos tramadol, una nueva perspectiva se ha abierto en su combinación con AINEs, especialmente paracetamol, ya que se ha demostrado que tanto en el dolor agudo como en el crónico la combinación tramadol/paracetamol tiene propiedades sinérgicas, aumentando la eficacia analgésica sin aumentar los efectos secundarios. De hecho, la combinación de tramadol más paracetamol oral es más efectiva que cuando estos compuestos en dosis equivalentes se administran solos (Edwards y col, 2002). Aunque en el pasado las combinaciones de AINEs con opioides fueron controvertidas en base a cuestionar la eficacia de la combinación, el incremento de la toxicidad o de los costes, los últimos estudios y la práctica clínica ilustran que la combinación tramadol/paracetamol es claramente superior a sus administraciones individuales, que se prolonga la duración de acción y

que en lugar de incrementarse los efectos secundarios producidos por dosis plenas de éstos fármacos, éstos disminuyen (Bennett, RM. y col., 2003).

Por otra parte, la vía de administración oral ha sido, tradicionalmente, la más empleada para el manejo de los distintos procesos dolorosos, sobre todo con aquellos opioides caracterizados por unos niveles aceptables de absorción intestinal, pues existe una serie de factores (comodidad, posibilidad de autoadministración, mayor grado de independencia del paciente, etc.) que favorecen esta elección (Diaz y col. 2004).

Actualmente, los sistemas de liberación controlada se presentan como los más apropiados en el tratamiento del dolor crónico, ya que aseguran niveles plasmáticos constantes, sin picos ni acumulación de fármaco (Casals y Samper, 2004). Su diseño y elaboración suelen ir asociados al empleo de materiales poliméricos como vehículos transportadores del principio activo. En este trabajo, partimos de una suspensión coloidal desarrollada por nuestro grupo de investigación (Morales y col., 2004), siendo el vehículo transportador del principio activo un pseudolátex de etilcelulosa, de manera que el fármaco queda microencapsulado por las partículas poliméricas que forman el pseudolátex. Esta suspensión constituye la base de una forma

farmacéutica líquida de liberación prolongada para vía oral, lo que supone una gran ventaja para pacientes con dificultad en la deglución o en la digestión, como los niños o ancianos.

Como queda comprobado en trabajos previos (Morales y col., 2004), las partículas del pseudolátex son capaces de microencapsular morfina. Nuestro objetivo es comprobar si otros fármacos indicados en el tratamiento del dolor crónico, como es el caso del tramadol o la combinación tramadol/paracetamol, son igualmente susceptibles de ser microencapsulados, de manera que podamos compararlos entre sí. Así, en ambos casos, una vez conseguida una adecuada microencapsulación del fármaco, nuestro objetivo será diseñar una forma farmacéutica final estable, duradera en el tiempo y de adecuadas características organolépticas.

I.- SUSPENSIONES FARMACÉUTICAS

Se pueden dar muchas razones para justificar la necesidad o el interés por seleccionar una suspensión como forma de dosificación de fármacos. Así, parece interesante comenzar esta memoria haciendo una breve descripción del sistema que va a constituir la base de nuestro trabajo.

Una **suspensión** puede definirse como una dispersión de sólido en líquido, en la que el tamaño de partícula (o su valor medio) exceda en general a las dimensiones coloidales que normalmente (Hunter, 1993) se fijan entre 1 nm y 1 μm . Por tanto, toda suspensión está formada por dos partes: fase externa que se denomina fase dispersante o fase continua y por la fase interna, también llamada fase dispersa o discontinua. La fase externa es líquida o semisólida y la interna está constituida por las partículas insolubles en el medio utilizado.

Cuando la fase interna está formada por uno o más componentes útiles desde un punto de vista farmacéutico y/o farmacológicamente activos, reciben el nombre de **suspensiones farmacéuticas** y deben reunir una serie de requisitos en su preparación que no son de obligado cumplimiento para otros sistemas coloidales:

- No deben contener ningún componente tóxico o peligroso.
- Deben ser estables o fácilmente redispersables después de un período más o menos largo de almacenamiento.
- Es importante que sean químicamente estables, puesto que el principio activo no puede ser alterado por el medio dispersante, la luz, el transporte, etc.
- Deben presentar, en algunos casos, buen sabor, color e incluso olor agradable.

- Durante su manipulación y almacenamiento tienen que estar preservadas del posible desarrollo de virus, bacterias o cualquier agente infeccioso.

Muchos autores consideran tres tipos de suspensiones farmacéuticas (Swarbrick y Boylan, 1996; Nash, 1988; Rhodes, 1979): de administración oral o simplemente *suspensiones orales*, de aplicación externa (*suspensiones tópicas*) e *inyectables o parenterales*.

Las características más significativas de las suspensiones aparecen descritas en la Tabla 1:

<i>Tipo de suspensión</i>	<i>Concentración de sólidos (%)</i>	<i>Tamaño de partícula (µg)</i>	<i>Medio de suspensión</i>	<i>Otras propiedades</i>
Oral	2,5-5	≈1	Agua, viscosizantes, edulcorantes, conservantes...	Debe ser fácilmente redispersable.
Tópica	≥20	≈1	Arcillas, polímeros, emulsiones O/A o A/O, conservantes.	Comportamiento reológico normalmente no newtoniano.
Parenteral	0,5-5	0,5-1	Disolventes, conservantes, tampones.	Baja viscosidad para evitar la obstrucción de la jeringa; vehículo estéril.

Tabla 1. Características principales de suspensiones farmacéuticas

Todos estos sistemas presentan numerosas ventajas como formas de dosificación, que justifican la necesidad o el interés por seleccionarlos como formas de elección para algunos compuestos terapéuticos.

Lo más importante concierne a que existen sustancias activas que son insolubles en agua o soluciones acuosas a la concentración necesaria. En este caso tenemos por ejemplo la hidrocortisona, neomicina (*Morefield y col. 1987*) para aplicación oftálmica...; en otros casos, el principio activo es soluble pero para ser administrado por vía oral presenta características organolépticas desagradables. Por ejemplo, el cloranfenicol tiene sabor amargo; pero si se administra en forma de base es insoluble, desapareciendo el sabor amargo; en este caso es más razonable administrarlo en forma de suspensión (*Ansel y Popovich, 1990; Offner y col. 1988*). En otras ocasiones son útiles las suspensiones líquidas cuando es necesario administrar medicamentos por vía oral a pacientes, en concreto niños y ancianos, en los que las fórmulas sólidas plantean dificultades de deglución y hacen problemáticos los ajustes de dosis que con frecuencia requieren (*Collet, 1990; American Medical Association, 1983*). Por otro lado las suspensiones son recomendables cuando incluyen determinados principios activos que son químicamente inestables cuando están en

forma soluble (pueden fácilmente hidrolizarse: este es el caso, por ejemplo de las sales de oxitetraciclina cálcica (*Ansel y Popovich, 1990*).

En los últimos años, se ha venido desarrollando un importante campo de aplicación de estas suspensiones, el de los sistemas de liberación controlada y/o sostenida, debido a:

- El efecto terapéutico es mantenido sin fluctuaciones, durante largos períodos de tiempo.
- Disminuye la probabilidad de que un paciente se olvide del tratamiento.
- La velocidad de liberación de principio activo puede ser controlada a través de las características del vehículo.

Existen muchos métodos para la obtención de formulaciones de liberación controlada como son: adsorción de principios activos en partículas poliméricas (*Goodman y Banker, 1970; Rhodes y col., 1970; Chukwu y col., 1992*), principios activos recubiertos por una película de polímero (*FMC Corporation. Aquacoat 1980; Bodmeier y Paeratakul, 1990; Steuernagel, 1989*). Se puede lograr un control del principio activo cambiando el espesor de la película (dispersión y/o adsorción de principios activos en suspensiones de partículas coloidales (*Ruiz y col., 1994; Vera y col., 1997*).

I. 1.- COMPONENTES DE UNA SUSPENSIÓN FARMACÉUTICA

En la época actual, la industria farmacéutica exige a las suspensiones determinadas condiciones que deben cumplir para asegurar una estabilidad terapéutica y farmacotécnica, una disponibilidad biológica controlada y una presentación aceptable, que hagan a la suspensión atractiva al paciente. Esto implica no considerar solamente los aspectos fisicoquímicos de los principios activos que configuran su actividad terapéutica, sino también los demás componentes integrantes de la fórmula incluyendo los modificadores de pH, isotonzantes, antioxidantes, secuestrantes, humectantes, modificadores del sabor, color, olor, etc. (*Nash, 1996; Reynolds, 1989; Zatz, 1985*).

Hasta conseguir una formulación definitiva, las suspensiones farmacéuticas presentan una gran complejidad en su elaboración y se tienen enormes problemas para escoger los aditivos correctos. Por otra parte, también se debe prestar especial atención a la hora de seleccionar los conservantes adecuados, para evitar el crecimiento bacteriano, descomposición u oxidación del principio activo sin alterar ninguna característica importante del sistema.

No obstante, en la preparación de las suspensiones orales deben de considerarse en particular el principio activo insoluble y el vehículo. Dentro de las características que se tendrán en cuenta en el principio activo insoluble están:

- Concentración y densidad del polvo.
- Facilidad de humectación (liefobia o liefilia).
- Dimensión y distribución del tamaño de las partículas.
- Grado de floculación. Características eléctricas de las partículas.
- Formas cristalinas. Modificación de los cristales.
- Caracteres organolépticos.
- Condiciones requeridas para su estabilidad, incluyendo incompatibilidades con otros componentes de la suspensión.

Con respecto al vehículo utilizado, lo más común es que sea agua destilada o desionizada, o una disolución hidroglicérica o hidroxigliceroalcohólica, (siempre con alto contenido acuoso). Son muy escasas las suspensiones con vehículos no acuosos (*Guyon y col., 1992*) y se usan, principalmente, para uso tópico.

Dependiendo de la vía de administración, y también de los requerimientos fisicoquímicos de la suspensión, en unos casos u otros la composición final de la suspensión diferirá, pero generalmente los

componentes usados en las suspensiones farmacéuticas incluirán además del vehículo acuoso y del principio activo: agentes humectantes, componentes que permiten el control de la estabilidad y de la sedimentación, reguladores de pH, saborizantes, etc.

I. 1. 1. - Agentes humectantes

La humectación de las partículas consiste en reemplazar el aire en contacto con la superficie del sólido, por un líquido. La humectación es muy importante porque muchos fármacos son hidrofóbicos y, cuando se dispersan en agua, tienden a moverse hacia la superficie de la preparación separándose ambas fases. Por esta razón, se debe disminuir la energía libre superficial para reducir el ángulo de contacto del agua con ellos.

Con estos fines son muy usados los tensioactivos (*Rieger, 1988; Lerk y col., 1976; Liao y Zatz, 1980*); su concentración en el sistema debe ser bien evaluada, ya que poca cantidad de los mismos no consigue los fines deseados y, un exceso, puede permitir la formación de espumas y características organolépticas desagradables. Además, puede incrementar la posibilidad de formación de “caking”, puesto que las partículas recubiertas de agente humectante se resisten a formar agregados, llegando incluso a formar un sedimento denso y compacto. Como regla general, el balance hidrófilo-lipófilo (HLB) de

tensioactivos no iónicos usado para ayudar a la humectación de las partículas debe estar entre 7 y 10.

Como ejemplos típicos de tensioactivos añadidos a suspensiones farmacéuticas tenemos el laurilsulfatosódico (LSNa), bromuro de cetiltrimetil amonio (FTBA), Tweens, Spans,... También se suelen usar polímeros hidrófilos, glicerina, propilenglicol y etanol (*Higuchi y col., 1989*).

I. 1. 2.- Componentes que permiten el control de la estabilidad y de la sedimentación

Como todos los sistemas dispersos, las suspensiones son termodinámicamente inestables, ya que las partículas sólidas de la fase interna tienden a agregarse y sedimentar; llegándose, finalmente, a la separación de las fases, visible por la aparición de un sedimento en el fondo del envase. Obviamente, este fenómeno no es deseable, puesto que se prefiere una suspensión de aspecto uniforme. Así pues, la determinación de una buena estabilidad y sedimentación es una de las principales tareas a la hora de su formulación .

Cuando las partículas en suspensión forman agregados sueltos, de estructura abierta, se dice que la suspensión está floculada; si por el contrario, las partículas permanecen separadas, la suspensión se dice que está defloclada (*Faulí, 1993*). En la tabla 2, se resumen las

diferencias entre las partículas defloculadas y las floculadas. Las primeras forman un sedimento compacto y difícil de redispersar; este proceso se llama cementación. Por el contrario, las partículas floculadas forman un sedimento voluminoso de fácil redispersión.

<i>PROPIEDAD</i>	<i>FLOCULADAS</i>	<i>DEFLOCULADAS</i>
<i>Velocidad de sedimentación</i>	Rápida	Lenta
<i>Sobrenadante</i>	Claro	Turbio
<i>Sedimento</i>	Voluminoso	Compacto
<i>Redispersión</i>	Fácil	Difícil

Tabla 2. Propiedades de las partículas floculadas y defloculadas (Zatz, 1988)

En farmacia, se procura obtener suspensiones floculadas porque se homogeneizan con mayor facilidad y ofrecen más fiabilidad en su dosificación. Así pues, existen numerosos compuestos que nos permiten un mejor control de la estabilidad y de la sedimentación de las partículas, entre las que cabe mencionar la acción de los agentes defloculantes y floculantes:

A) Agentes defloculantes y dispersantes:

Las partículas del sólido en suspensión tienen características eléctricas superficiales que dificultan o impiden su dispersión

homogénea en la fase líquida o que provocan sedimentos compactos que no se redispersan por agitación. Los agentes defloculantes van a favorecer la rotura de estos agregados y flóculos.

Los agentes defloculantes presentan un mecanismo de acción variable; algunos de ellos, como las sales orgánicas del ácido sulfónico, actúan impartiendo una carga eléctrica en la superficie de las partículas o incrementando la carga eléctrica de las mismas, sin alterar la tensión interfásica sólido-líquido. Sin embargo, la mayoría son tóxicos para uso interno, excepto las lecitinas y sus derivados (*Nash, 1988*).

En otros casos, el control del grado de dispersión se realiza por un mecanismo independiente de la carga eléctrica, recubriendo las partículas con polímeros no iónicos cuyas cadenas se hidratan en contacto con el medio acuoso. Este proceso se llama estabilización entálpica, porque la repulsión entre las partículas se basa en cambios desfavorables de la entalpía del sistema (*Florence y Attwood, 1988*). De esta forma actúan los copolímeros de alcohol polivinílico-acetato de polivinilo, que actúan como dispersantes en suspensiones de hidróxido de aluminio.

B) Agentes flocculantes:

La floculación, como hemos dicho, es un proceso que permite a las partículas sedimentar formando flóculos voluminosos, esponjosos y

fáciles de redispersar, propiedad de gran interés en las suspensiones farmacéuticas. Se pueden definir como aquellas sustancias que son capaces de modificar el potencial zeta (ζ), haciendo más fácilmente redispersable el sedimento obtenido.

Uno de los métodos para conseguir una floculación controlada consiste en la adición de electrolitos o tensioactivos de carga opuesta a las partículas del principio activo, ya que la repulsión disminuye y el potencial zeta se reduce suficientemente, de tal forma que las fuerzas de Van Der Waals atraen a las partículas y se produce la floculación, una agregación débil y reversible. De la concentración de iones presentes depende entonces el grado de floculación que adquieran las partículas suspendidas.

En las suspensiones floculadas, las partículas al permanecer unidas entre sí forman una especie de retículo donde el líquido rodea a cada partícula y a la vez es ocluido por la red de partículas interconectadas.

Una de las posibles vías de lograr este comportamiento de floculación es usando sales inorgánicas en solución. Generalmente, cambiando su concentración, será modificado el potencial zeta, así como el espesor de la doble capa. Como consecuencia, la energía potencial de interacción entre las partículas puede cambiar de un

sistema esencialmente estable al de una suspensión rápidamente coagulada.

Sin embargo, ésta no es la mejor vía para controlar la estabilidad. Las cantidades de sales necesarias pueden ser muy altas si la carga de la superficie de la partícula es moderada, y pueden aparecer otros efectos indeseables cuando se usan polielectrolitos. Se han realizado ensayos recientes observando el efecto que producen los electrolitos inorgánicos en la estabilidad de las suspensiones farmacéuticas cuando se utilizan soluciones de sales monovalentes como NaCl, KCl, etc. La floculación es mejor con iones de mayor carga, como pueden ser sales de calcio o aluminio (*Delgado y col., 1990; Gallardo y col. 1994*). Igualmente se han hecho algunos ensayos para controlar la estabilidad de las suspensiones farmacéuticas por medio de electrolitos más complejos, como aminoácidos (*Gallardo y col., 1996*).

Actualmente, se usan mucho los polímeros para controlar la estabilidad. Pueden interaccionar con las partículas dispersas, dando lugar a la formación de complejos polímero-partícula. Como es sabido, dependiendo de las propiedades de las cadenas de los polímeros y de su concentración en solución, la estabilidad polimérica puede ser usada para la estabilización de la suspensión, impidiendo el contacto

partícula-partícula, o controlando la formación de agregados (*Hunter, 1993; Nash, 1988; Gosgrove, 1987*).

Existe una amplia gama de polímeros sintéticos para usarlos como controladores de la estabilidad. Los Carbopoles (*Goodrich, 1981*) son los que se usan más frecuentemente. Son polímeros de ácido poliacrílico mezclados con alil sacarosa. Se presentan como un polvo blanco, insoluble en agua y sus dispersiones en medio acuoso se llevan a cabo a pH ácido (pH 2 cuando la concentración de Carbopol 934 es 0,2% P/V), debido a su contenido en grupos de ácido carboxílico. Si el pH varía hasta la neutralidad, la disociación de estos grupos aumenta la repulsión electrostática entre las partes aniónicas de las cadenas poliméricas, dando lugar a moléculas extendidas, rígidas y a estructuras de gel transparente en el medio de dispersión. Estos sistemas son muy sensibles a los cambios de pH y a los de concentración electrolítica; de ahí, que el neutralizante base debe ser bien escogido para permitir la formación de sales que son solubles en el disolvente usado. Muchos sistemas pueden ser estabilizados o floculados usando Carbopol (*Delgado, 1990; Berney y Deasy, 1979; Ruiz y col., 1987*), pero debemos tomar algunas precauciones, principalmente en lo concerniente a las posibles interacciones entre el principio activo y el polímero. Por ejemplo, principios activos catiónicos como son los

clorhidratos de prometazina o difenhidramina precipitan cuando se ponen en contacto con el Carbopol cargado negativamente (*Boyland y col., 1983*).

Otro agente floculante es el anhídrido silícico coloidal, que tiene la particular ventaja de formar geles también en soluciones apolares, de ahí que se use para estabilizar suspensiones farmacéuticas no-acuosas.

La Sílice es un ejemplo de la gran variedad de sustancias que pueden ser denominadas “protectores coloidales” (*Swarbrik y Boyland, 1996*) y la lista también incluye derivados celulósicos, arcillas, resinas naturales o polímeros. Estos coloides son adsorbidos en la superficie de las partículas insolubles aumentando el poder de hidratación de la capa formada alrededor de ellos (*Hiestand, 1972*). En función de su concentración pueden ser utilizados como protectores (<1%) o bien como agentes viscosizantes o espesantes (>1%).

I. 1. 3.- Factores que afectan a las propiedades de flujo

En las condiciones experimentales más elementales, la viscosidad de una suspensión depende de la concentración, forma y siempre del potencial zeta de las partículas (*Macosko, 1994; Delgado y col., 1987; Zurita y col., 1994*).

Si bien la viscosidad de una suspensión está dada de una manera directa por la proporción en que se encuentra la fase dispersada con

relación al volumen total, son pocas las fórmulas que no incluyen algún agente que aumente la viscosidad del medio. Con estas modificaciones se reducen los movimientos de las partículas y la frecuencia de colisiones entre ellas, con lo cual también disminuye la posibilidad de formar agregados que sedimentarían más rápidamente dando lugar a depósitos difíciles de redispersar. Pero la viscosidad de una suspensión no puede aumentarse todo lo que se quiera puesto que podría dejar de ser utilizable, desde un punto de vista práctico, al impedirse el flujo natural del medicamento desde su envase. Esto obliga a adecuar las condiciones reológicas del vehículo a las características del principio activo.

En consecuencia, los agentes modificadores de la viscosidad utilizados en la preparación de suspensiones orales deben reunir algunos requisitos generales, entre los que pueden mencionarse:

- Ser solubles en agua, o hincharse en su presencia, es decir poseer propiedades fuertemente hidrofílicas, formando mucílagos en medio acuoso.
- Las propiedades reológicas que imparten a la suspensión no deben cambiar significativamente durante la vida de la formulación.
- Deben ser compatibles con el resto de componentes de la fórmula.

- No poseer por sí mismos actividad terapéutica, tóxica ni irritante.

Teniendo presentes las condiciones citadas, existe una gran cantidad de productos que se utilizan con esta finalidad y a los que el farmacéutico puede recurrir para resolver los problemas que, en algunos casos, pueden surgir en la formulación de suspensiones. La elección del agente espesante adecuado exige un estudio exhaustivo de la naturaleza del principio activo y de las condiciones requeridas en el producto terminado.

Todos ellos actúan incrementando la viscosidad, se adsorben sobre la superficie de las partículas dificultando la sedimentación y el crecimiento cristalino. Estos compuestos no sólo aumentan la viscosidad, sino que son capaces de retardar la sedimentación, de ahí que se deba seleccionar el más apropiado a la concentración más adecuada. Habrá que tener en cuenta la compatibilidad química con el fármaco, pH del medio, reproducibilidad de resultados, bajo costo, etc.

Los agentes más comúnmente utilizados pueden incluirse en los siguientes grupos:

A) Derivados celulósicos:

Se obtienen a partir de la α -celulosa por modificación química del grupo hidroxilo de la molécula. Tales modificaciones le dan

características de viscosizantes bien definidas y propiedades físicas y químicas estables. Su precio es relativamente bajo por lo que han desplazado a otros productos naturales, como las gomas.

Todos los geles obtenidos de la celulosa poseen dos propiedades en común y que es necesario recordar para una correcta elaboración de una suspensión (Zatz, 1985):

- Pueden aceptar electrolitos a concentraciones moderadamente bajas sin alterar significativamente su estabilidad (la celulosa microcristalina es una excepción, ya que puede flocular en presencia de pequeñas cantidades de sales).
- Pueden contaminarse fácilmente por microorganismos, dando lugar a pérdidas de viscosidad por despolimerización, cambios de color, o descomposición química. De ahí que se necesiten usar componentes que inhiban el crecimiento de microorganismos.

Los derivados semisintéticos de la celulosa, metil-,etil-,propilcelulosa, pueden proporcionar distintos grados de viscosidad y su comportamiento reológico es típicamente pseudoplástico, además de ser compatibles con la mayoría de los principios activos. Uno de los más usados es la carboximetilcelulosa, aunque existe una gran variedad de derivados de la celulosa comercializados: Avicel RC 591[®], Aquateric[®], Aquacoat[®], etc.

B) Arcillas:

Son sustancias capaces de hincharse en presencia de agua y formar mucílagos o geles dotados de propiedades tixotrópicas. Esta capacidad de absorber agua, aumentar su volumen y formar geles espesos tixotrópicos, se debe a la estructura cristalina que poseen, igualmente responsable de la gran sensibilidad que presentan estas sustancias frente a los electrolitos.

Su dispersión en agua requiere una elevada agitación y son más estables a pH alcalino, mientras que el alcohol y los electrolitos reducen su viscosidad.

Los más utilizados son la bentonita, hectorita, atapulgita, silicato de aluminio y magnesio, caolín y dióxidos de silicio. Se emplean solos o junto a otros agentes espesantes a concentraciones en torno al 1%, originando suspensiones con buenas características organolépticas.

C) Gomas:

Las gomas naturales son también usadas frecuentemente como coloides protectores (a bajas concentraciones, <0,1%) o espesantes (concentraciones superiores a 0,1%). Son solubles en agua y la mayor parte de ellas aparecen cargadas negativamente, por lo que son incompatibles con drogas catiónicas. Tradicionalmente, se ha usado

agar, alginatos, goma guar o goma xántica, tanto en el ámbito farmacéutico como en el alimentario (*Nash, 1988; Dickinson, 1992*).

Las moléculas de estos polisacáridos, en solución acuosa, se presentan como estructuras individuales de aproximadamente 1 μm de longitud y estabilizadas por repulsión electrostática entre los trisacáridos cargados negativamente. Cuando se aplica la suficiente fuerza de deformación el gel se rompe, disminuyendo la viscosidad y el comportamiento elástico.

Son muy susceptibles a la contaminación microbiana, lo que se traduce en un cambio de las propiedades organolépticas a corto plazo. Este grave inconveniente es el responsable de que estén siendo desplazados por los derivados celulósicos o poliméricos. Se ha comprobado que la Goma Xántica presenta menos inconvenientes tecnológicos, por ejemplo, es más resistente a las bacterias, es soluble tanto en agua caliente como fría y la viscosidad que proporciona a las suspensiones es independiente del pH y de la temperatura (*Zatz y col., 1988*).

D) Polímeros:

La corriente actual se inclina por reemplazar los productos naturales (como gomas o arcillas) por polímeros y no sólo por sus numerosas ventajas tecnológicas, sino también por su bajo coste

económico. La mayoría son de naturaleza hidrofílica y, en general, muestran cierta tendencia a formar agregados cuando se dispersan en agua. Por esto, se hace necesario incorporarlos a la solución despacio y bajo agitación constante, obteniendo una suspensión homogénea y opalescente.

Los polímeros que se utilizan con más frecuencia son:

- Carbopol (ácidos poliacrílicos) fabricados por BF Goodrich (*Goodrich, 1981*) bajo la denominación de Carbopol 907, 934, 934P, 940, 941, 1342,... Las dispersiones ácidas de Carbopol deben ser neutralizadas para generar alrededor de las cadenas poliméricas grupos carboxilo cargados negativamente. En soluciones neutras son pseudoplásticos, lo que hace que se utilicen en la elaboración de cremas y lociones, que pueden aplicarse sobre la piel con esfuerzo de deformación.

- Polivinilpirrolidona (PVP). Son solubles en agua fría y en muchos disolventes orgánicos, sin presentar altas viscosidades. Suelen emplearse como coloides protectores.

- Polivinilalcohol (PVA). Es soluble en agua caliente y en mezclas hidroalcohólicas. Al igual que el anterior, se utiliza como coloide protector debido a que puede formar complejos con el principio activo disperso. Mediante la formación de puentes entre las cadenas

lineales por acetilación, por ejemplo, por adición de glutaraldehído, pueden obtenerse hidrogeles transparentes (Doelker, 1985). A menudo, existe el riesgo de que restos de la reacción permanezcan en el sistema, con los posibles efectos tóxicos. Estos inconvenientes desaparecen cuando se usan métodos físicos en vez de químicos o fisico-químicos, como la radiación γ . Sin embargo, tanto un método como otro resulta bastante complicado, por lo que raramente se usan para controlar las propiedades de flujo de las suspensiones.

- Polietilenglicoles (PEG 200, 300, 400,...). Pueden ser usados a pH ácidos y a diferentes concentraciones. Estos polímeros también se emplean como plastificantes o lubricantes.

I. 1. 4.- Reguladores del pH

Lo ideal sería que una suspensión farmacéutica fuese estable en un amplio rango de pH, pero la realidad es otra. Por razones de estabilidad muchos principios activos requieren un pH determinado que es necesario establecer y mantener. En consecuencia, los diferentes componentes de la suspensión deben ser seleccionados sin perder de vista el pH óptimo.

Podemos recurrir a tampones para fijar el pH, siempre y cuando éste no sea potencialmente tóxico o bien altere la estabilidad física o

química del resto de los componentes de la suspensión, especialmente si son cationes polivalentes (calcio o aluminio), como es el caso de los citratos o fosfatos tan frecuentemente utilizados. Éste es el motivo por el que se recomienda hacer un estudio electroforético y de estabilidad preliminar, con la intención de evitar efectos indeseables.

I. 1. 5.- Otros componentes

Hay una serie de aditivos de uso habitual en suspensiones farmacéuticas que puede ser necesarios añadir antes de que esté lista para su administración al paciente: colorantes, saborizantes, conservantes, antiespumantes, etc. Es usual que cada país tenga una lista de productos aprobados para su uso como colorantes o correctores del sabor, considerando que deben ser atóxicos y químicamente inertes (*De la Luz Reyes-Vega y col., 1996*).

A menudo, los más importante son los conservantes, que se adicionan para prevenir el crecimiento de agentes microbianos en la suspensión. Los conservantes son necesarios muchas veces como componentes de la suspensión, ya que algunos compuestos como los saborizantes constituyen un excelente medio de cultivo para el crecimiento de microorganismos. Otra fuente de contaminación es el uso de productos naturales (como gomas y arcillas) para controlar la

estabilidad de la suspensión. Hay una gran variedad de conservantes aceptados para inhibir el crecimiento bacteriano en administración de suspensiones orales, como los parabenes, alcoholes, glicerina, propilenglicol, benzoatos y sorbatos. Son usados generalmente en concentraciones alrededor del 0,1-0,5%.

II.- VECTORIZACIÓN DE FÁRMACOS

De forma general podemos señalar que, un principio activo contenido en una forma farmacéutica convencional se distribuye a través del organismo dependiendo de sus características fisicoquímicas. Así, una concentración suficiente en el órgano deseado, puede requerir altas dosis, con la posible aparición de efectos no deseados (*Puisieux, 1985; Banerjee y Robinson, 1991*). De hecho, desde un punto de vista histórico, el desarrollo de nuevos métodos de dosificación ha ido encaminado a mejorar la efectividad de los fármacos y a evitar, en la medida de lo posible, los efectos adversos.

Por estas razones, se han ido desarrollando en los últimos años sistemas de liberación de fármaco, donde el principio activo suele ir asociado a otros compuestos o es administrado con la ayuda de dispositivos o procesos, de tal forma que la velocidad de liberación, el lugar donde debe ser administrado o ambos puedan ser controlados

(*Robinson y Manger, 1991; Goldman, 1982*). Idealmente, un sistema de liberación controlada de fármacos debe ser capaz de suministrar selectivamente el fármaco al órgano o tejido requerido.

Las ventajas de estos sistemas y sus aplicaciones han sido ampliamente estudiadas en los últimos años (*Storm y Grommelin, 1997*):

- Protege al principio activo, evitando su inactivación debido a factores químicos, enzimáticos o inmunológicos desde su administración al lugar de acción (*Ruíz y col., 2000*).

- Mayor aceptación por el paciente, puesto que son necesarias menos dosis.

- Incrementa la especificidad de acción, con lo que se evita el transporte de sustancias activas a tejidos no-administrables. Se consigue una mayor seguridad y concentraciones eficaces y constantes de fármaco en el lugar de acción.

- Reduce la aparición de metabolitos tóxicos.

- Disminuyen los efectos indeseables en el tracto gastrointestinal.

Por otra parte, pueden mencionarse algunas desventajas, aunque de escasa relevancia frente a las ventajas que ofrecen estos sistemas:

- Posible toxicidad o biocompatibilidad insuficiente entre el fármaco y el vehículo (*Rihova, 1996*).

- Dolor cuando el dispositivo es colocado en el organismo o durante la presencia del mismo.

- Elevado coste de algunos sistemas.

Existen muchos sistemas de liberación de fármacos. Hemos establecido una sencilla clasificación de acuerdo con el mecanismo a través del cual la liberación del fármaco es controlada (*Vila-Jato y col., 1971; Abukhallaf y Soliman, 1996; Narasimhan y Peppas, 1997*):

1.- La liberación tiene lugar a través de un proceso de difusión pasiva. En estos grupos encontramos sistemas reservorio (en los que una membrana controla el proceso) y sistemas matriciales.

2.- El proceso se debe a la reacción química que se produce entre el transportador del fármaco y la solución externa (en la interfase), de tal forma que se produce una bioerosión del polímero o bien las uniones covalentes del principio activo y el transportador se rompen.

3.- La solución externa penetra en el vector (normalmente, polimérico) y disuelve el fármaco. Entonces, éste puede salir al medio externo a través de orificios “*laser-drilled*”.

4.- Sistemas en los que la liberación del fármaco está modulada por un factor externo, como un campo eléctrico o magnético.

II. 1.- Empleo de polímeros en liberación controlada

En la actualidad, tanto el diseño como la elaboración de medicamentos de acción controlada y/o sostenida suelen ir asociados al empleo de materiales poliméricos como excipientes, aunque no son los únicos.

Los polímeros naturales y sintéticos (biodegradables o no) han sido propuestos y examinados como sistemas de liberación de fármacos (*Coavreur, 1985; Vanderhoff y El-Aasser, 1989; Lamas y col., 1998*). Fue Speiser (*Speiser y Rirenbach, 1977*) el primero que preparó cápsulas esféricas hechas de material polimérico capaces de vehiculizar un principio activo. El método se basó en la polimerización micelar de monómeros tales como acrilamina o metil-metacrilato. Desde estos primeros ensayos, han crecido casi exponencialmente el número de monómeros usados en este campo, así como las rutas de polimerización empleadas.

La poliacrilamida o polimetilmetacrilato tiene el inconveniente importante de no ser biodegradable. Su estabilidad en fluidos biológicos no solamente retrasa la liberación del principio activo, puede

también inducir la acumulación de material tóxico, particularmente a nivel hepático. De ahí, que se han realizado esfuerzos importantes para el descubrimiento de polímeros biodegradables, el polialquilcianocrilato ha sido usado durante muchos años en cirugía como adhesivo de tejidos y hemostático. El polímero puede ser preparado de forma rápida y fácil por polimerización aniónica, y además, dependiendo de la longitud de la cadena alquil (de uno a siete átomos de carbono), es diferente la velocidad de degradación, esto permite el diseño de sistemas con varias velocidades de liberación.

Desde el principio de los años setenta (*Doelker, 1985*) ha sido de gran interés el uso de polímeros de ácido láctico. Los copolímeros de ácido láctico/glicólico, son los más prometedores transportadores de fármacos que existen porque son biodegradables en el organismo. Son degradados en forma de monómeros por desesterificación hidrolítica y, finalmente, dispersados en el organismo.

Más tarde, se investigaron con gran interés gran número de polímeros dispersos (*Vanderhoff y El-Aasser, 1989*) llamados pseudolátex. Como es sabido, un látex (o látex verdadero) está hecho por polimerización de un monómero, normalmente emulsionado en un medio acuoso en presencia (en algunos casos, no siempre) de un tensioactivo aniónico o catiónico. En el caso de los pseudolátex, la ruta

de preparación comienza por disolver un polímero ya existente, como la etilcelulosa, en un disolvente conveniente y emulsificar los monómeros en agua usando un emulgente, por ejemplo laurilsulfato sódico.

Para uso farmacéutico, se prefieren pseudolátex a base de celulosa, ya que han sido aprobados para uso interno. Dos de los más usados son el Aquacoat® y el Aquateric® (ambos registrados por FMC Corp., USA), de gran utilidad en formas farmacéuticas de liberación controlada.

Estos polímeros poseen las características de un látex verdadero en cuanto a estabilidad coloidal, uniformidad en el tamaño de partícula, propiedades filmógenas, etc. Además, presentan la ventaja de estar libres de monómeros residuales debido a que se obtienen a partir de polímeros ya formados, por eso pueden utilizarse en el organismo sin riesgo de toxicidad (*Banker y Rhodes, 1990; Croswell y Becker, 1974*).

Las dispersiones acuosas de etilcelulosa se caracterizan por tener un elevado contenido en sólidos, baja viscosidad, un aspecto blanquecino y lechoso con el olor típico de la etilcelulosa. Es importante destacar la principal aplicación farmacéutica de estas dispersiones: la formación de películas. Estas películas se originan cuando se evapora el disolvente, debido a un aumento en la viscosidad

y a una mayor proximidad entre las cadenas de polímero, que se alinean formando la película cohesiva.

Mencionaremos, finalmente, el considerable número de trabajos dirigidos al uso de polímeros naturales como la albúmina, caseína o gelatina (*Couvreur, 1985*). Las partículas de albúmina han sido ensayadas satisfactoriamente como vehículos de fármacos (*Kramer, 1974; Dilova y Shishkova, 1993*). También han dado resultados prometedores microesferas de gelatina (*Esposito y col., 1996*) en liberación controlada, por ejemplo, en la hormona del crecimiento (*Disilvio y col., 1994*) o quimioterapia de tumores sólidos (*Narajani y Rao, 1996*).

II. 2.- Microencapsulación

La microencapsulación de medicamentos, desde el punto de vista tecnológico, podría definirse como el proceso de recubrimiento de medicamentos, bajo la forma de moléculas, partículas sólidas o glóbulos líquidos, con materiales de distinta naturaleza, para dar lugar a partículas de tamaño micrométrico. El producto resultante de este proceso tecnológico recibe la denominación de “micropartículas”, “microcápsulas” o “microesferas”, sistemas que se diferencian en su morfología y estructura interna, si bien todos ellos presentan como

característica común su tamaño de partícula, el cual es siempre inferior a 1mm. Cuando las partículas poseen un tamaño inferior a 1 μ m, el producto resultante del proceso de microencapsulación recibe la denominación de “nanoesferas” o “nanopartículas”.

Un hecho destacable del proceso de microencapsulación radica en que su aplicación no se limita únicamente al campo de los medicamentos o sustancias biológicas, sino que se extiende a campos tan diversos como la agricultura, la cosmética y la alimentación. De hecho, el origen de la microencapsulación data del año 1931, en el que se publicó un trabajo que describía la formación de microcápsulas de gelatina según un procedimiento que ya en aquel momento recibió la denominación de “coacervación”. Esta técnica fue objeto de múltiples variaciones durante los años 40 y su aplicación más importante fue dirigida a la encapsulación de colorantes para la elaboración del papel de calco. Dicho papel consistía, en aquel entonces, en una fina película de microcápsulas adherida a una hoja de papel, de tal modo que la presión ejercida por el bolígrafo sobre el papel provocaba la fractura de las microcápsulas y la consiguiente liberación del marcador, dejando patente la impresión en la hoja de copia. Años más tarde, la microencapsulación encontró aplicaciones interesantes en el campo de la alimentación, por ejemplo para la encapsulación de aromas,

vitaminas, etc., y de la agricultura, especialmente para la encapsulación de pesticidas y fertilizantes.

La idea de microencapsular medicamentos no surgió hasta mediados de la década de los años 50, cuando una compañía farmacéutica (Smith Kline y French) introdujo esta tecnología con la finalidad de conseguir una liberación sostenida o prolongada de los fármacos. Precisamente con esta intención y la de prevenir la irritación gástrica fue microencapsulada la aspirina, la cual aparece citada en la bibliografía como uno de los primeros medicamentos microencapsulados. A pesar de la aplicación tardía de la microencapsulación al campo de los medicamentos, lo cierto es que su difusión fue muy rápida, llegando a ser en un corto período de tiempo una tecnología ampliamente extendida en la industria farmacéutica. El interés actual que suscita la microencapsulación en el campo farmacéutico se refleja claramente en el basto número de libros monográficos que abordan esta temática (*Benitas, 1996; Deasey, 1984; Donbrow, 1992; Kondo, 1979; Nixon, 1976*).

El producto resultante de la microencapsulación ha recibido diferentes denominaciones que atienden a su morfología y estructura interna, existiendo como factor común el tamaño micrométrico. Las microesferas se diferencian de las micropartículas por la forma esférica

de las primeras. Además, las microesferas y micropartículas pueden presentar una estructura de tipo capsular o matricial. En el primer caso, el principio activo se encuentra incluido en una especie de reservorio, que puede ser de naturaleza líquida o sólida, el cual se haya envuelto por una fina película del material de recubrimiento. En el segundo caso, el principio activo se encuentra altamente disperso, bajo la forma de diminutas partículas o de moléculas, en el material de recubrimiento.

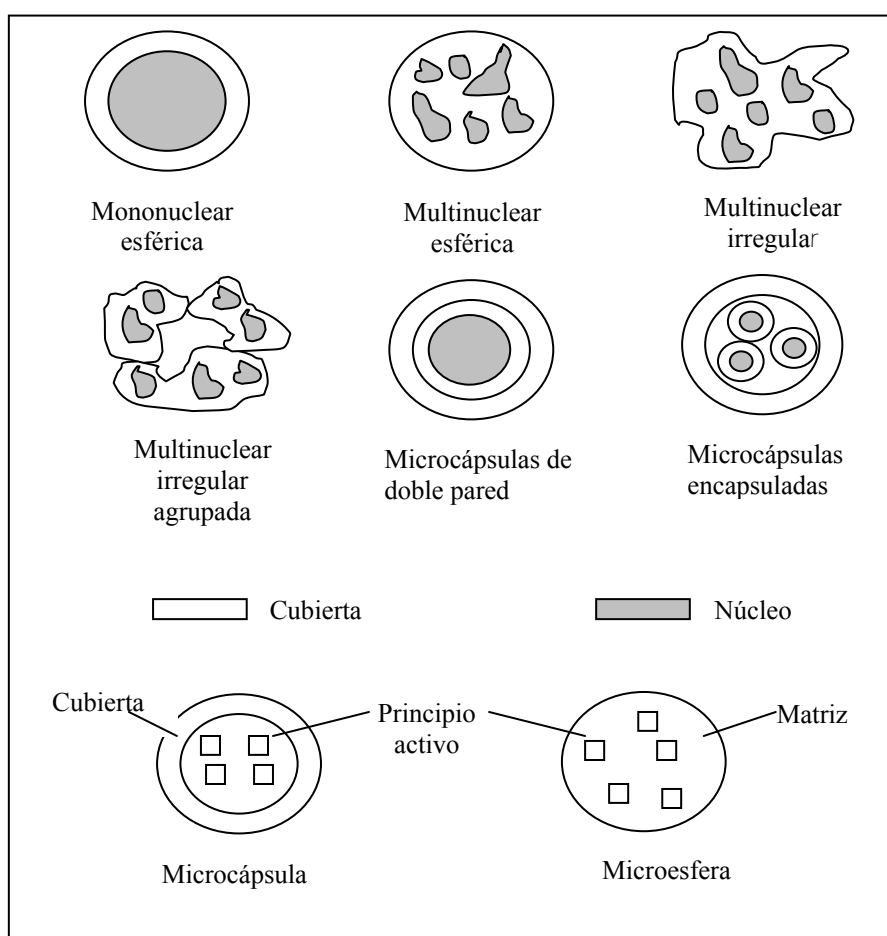


Figura 1. Estructuras típicas de microcápsulas y microesferas.

Dependiendo del método de microencapsulación que se emplee, se obtendrán microcápsulas con una u otra estructura (Figura 1), aunque el tipo más comúnmente obtenido son esferas con un sólo núcleo.

Tanto las micropartículas como las microcápsulas pueden constituir por sí mismas una forma farmacéutica o bien pueden ser acondicionadas en una forma farmacéutica secundaria. De este modo, las micropartículas pueden administrarse bajo la forma de suspensión o incluídas en una cápsula o en un comprimido, estando la forma farmacéutica final condicionada por la vía de administración. La mayoría de las microcápsulas presentes hoy día en el mercado están destinadas a administración oral; no obstante, existe un número en previsible crecimiento de microcápsulas administrables por vía parenteral.

Hay muchas razones que justifican la microencapsulación de fármacos:

- Asegurar una protección del principio activo frente a los agentes atmosféricos que comportarían su degradación. Es el caso de las vitaminas A y K, que son sensibles a la luz.
- Enmascarar características organolépticas desagradables de ciertos principios activos como tetraciclinas, cisteína, ampicilina... La

microencapsulación permite también modificar los caracteres organolépticos de principios activos.

- Reducir el efecto directo irritante causado por algunos medicamentos en la mucosa gástrica; se ha visto que preparaciones de liberación controlada de ácido acetilsalicílico reducen significativamente el daño gástrico en comparación con formulaciones convencionales.

- Modificar el estado físico, la microencapsulación permite transformar líquidos o gases en sólidos, de granulometría controlada, lo que facilita su manipulación, almacenamiento y transporte.

- Modificar la solubilidad de un fármaco. Por ejemplo, un principio activo soluble en medio acuoso puede transformarse en insoluble, o viceversa.

- Modificar la densidad de un principio activo para evitar su sedimentación en una suspensión.

- Proteger principios activos incompatibles entre sí.

- Prevenir la evaporación de productos volátiles, tales como esencias y aromas.

- Conseguir una liberación sostenida o controlada del principio activo a partir de la forma farmacéutica. Esta es, en la actualidad, la aplicación más frecuente de la microencapsulación. Así, en las últimas

décadas se han llevado a cabo enormes progresos tanto en el desarrollo de nuevas tecnologías como en el de sus aplicaciones, hecho que demuestra el increíble número de patentes al respecto (*Kowalski y col., 1984; Vogel y col., 1988; Okubo y Yoshimura, 1996; Tada y col., 1991; Goto y col., 1990*).

Como observamos en la Figura 2, con las formas de dosificación convencionales las concentraciones de fármaco experimentan una serie de fluctuaciones, aunque tienden a un *plateau*, debido a la acumulación exponencial que se produce cuando se administran dosis repetidamente a intervalos de tiempo. Con las formas que portan el principio activo microencapsulado, se pretende alcanzar antes el estado estable (gracias a que una porción de la dosis va en forma de liberación no sostenida) y evitar las oscilaciones del perfil plasmático alcanzando el *plateau* rápidamente y manteniéndolo durante más tiempo. De esta forma, se conseguiría una reducción en el número de dosis y, en consecuencia, de los efectos no deseados.

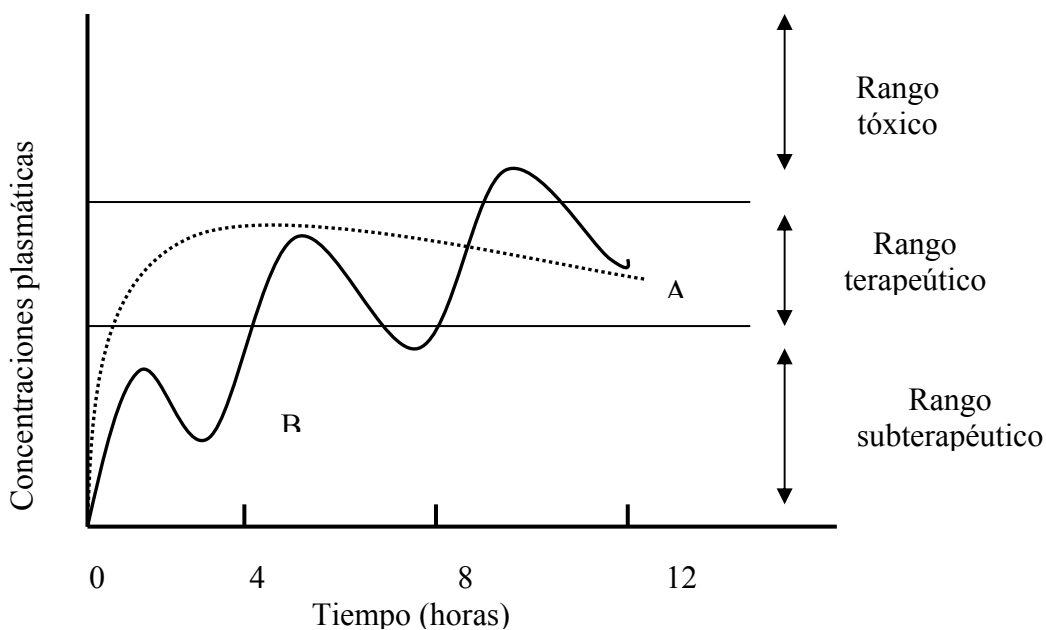


Figura 2. Concentraciones plasmáticas frente a tiempo para un producto microencapsulado de liberación controlada (A) y una forma farmacéutica convencional (B) tras repetidas dosis orales.

Muchos principios activos son metabolizados durante la absorción gastrointestinal o debido a un efecto de primer paso. En este sentido, la vida media es muy importante ya que si es corta el paciente requiere dosis más frecuentes para mantener un nivel terapéutico adecuado. Esto supondría administrar cantidades muy elevadas de fármaco en formas de dosificación convencionales, con la consiguiente aparición de efectos adversos. Estos dos inconvenientes se podrían solventar mediante formas de liberación sostenida. Este punto es de

interés para nosotros puesto que la morfina experimenta un fenómeno de primer paso a nivel hepático y, además, presenta una vida media corta (aproximadamente 4 horas).

Propiedades de los componentes de las microcápsulas

Núcleo

El núcleo de las microcápsulas puede estar constituido por una fase líquida o por una fase sólida.

Núcleos líquidos

Los núcleos líquidos pueden estar compuestos de una sustancia polar o apolar que corresponde al principio activo o que actúa de vehículo para disolver o suspender el fármaco. Las propiedades de estos líquidos influirán en la liberación del principio activo y condicionarán la elección del material de la cubierta y del proceso de microencapsulación a seguir.

En general, el tamaño de las micropartículas resultantes vendrá determinado, en este caso, por los factores tecnológicos del proceso utilizado.

Núcleos sólidos

Los núcleos sólidos se emplean más frecuentemente que los líquidos. Para poderlos microencapsular se deben conocer perfectamente características tales como tamaño, forma y densidad del

principio activo, factores que determinarán el proceso a emplear de microencapsulación.

Cubierta

La variedad de materiales que pueden emplearse en microencapsulación se va ampliando gradualmente en la medida que surgen nuevos biomateriales y se perfilan nuevas aplicaciones de la microencapsulación. De un modo general, los materiales capaces de constituirse en micropartículas se clasifican en tres categorías: grasas, proteínas y polímeros.

» Grasas

La cera de carnauba, el alcohol estearílico, el ácido esteárico y los gelucires[®] son grasas que funden a una determinada temperatura y son erosionables por acción de las lipasas que existen a nivel gástrico.

» Proteínas

La gelatina fue el primer material utilizado en microencapsulación y sigue siendo, en la actualidad, un material con un importante potencial. La albúmina es otro ejemplo de proteína que se aplica en microencapsulación.

» Polímeros

Debido a su gran versatilidad, ésta es la familia de materiales más utilizada en microencapsulación. Dentro de esta gran familia

podemos distinguir entre polímeros naturales, semisintéticos y sintéticos. Los polímeros naturales son principalmente de naturaleza polisacáridica, de origen animal y vegetal; destacan el alginato, el dextrano, la goma arábiga (goma acacia) y el quitosano. Los polímeros semisintéticos engloban los derivados celulósicos, de los cuales existen una amplia variedad en el mercado con diferentes características de solubilidad; la etilcelulosa y el acetobutirato de celulosa, por ejemplo, son polímeros insolubles, mientras que el acetofalato de celulosa presenta una solubilidad dependiente del pH, ofreciendo de este modo amplias posibilidades para controlar la liberación del material encapsulado. Por último, los poliésteres son polímeros de carácter biodegradable, lo que permite su administración por una vía parenteral. Dentro de ellos los más conocidos son la poliepsilon-caprolactona, el poli (ácido láctico), y los copolímeros del ácido láctico y del ácido glicólico. Estos polímeros son hidrófobos, mientras que sus productos de degradación, el ácido láctico y el ácido glicólico son hidrófilos y fácilmente eliminables del organismo por filtración glomerular.

La elección del polímero se debe realizar teniendo en cuenta su toxicidad así como su solubilidad según la vía de administración y el lugar de absorción del principio activo. Los polímeros utilizados para microencapsular deben cumplir requisitos tales como permitir la

formación de una buena película cohesiva, ser químicamente compatible y no reaccionar con el material que forma el núcleo (Faulí, 1993).

La técnica de microencapsulación empleada dependerá de las características del núcleo y del polímero que forme parte de la cubierta.

Disolventes

La selección del disolvente está determinada no sólo por consideraciones de solubilidad del polímero y del principio activo sino también por consideraciones de seguridad, aspectos económicos y de toxicidad.

Plastificantes

Se entiende por plastificante una sustancia que cuando se adiciona al polímero modifica sus fuerzas de interacción y mejora la formación de la película aumentando su resistencia mecánica y haciéndola más flexible.

Entre las moléculas más empleadas como plastificantes cabe citar los derivados glicólicos (propilenglicol...), ésteres de ácidos grasos (monoestearato de butilo, aceite de ricino) o derivados del ácido ftálico (dibutilftalato).

Tensioactivos

Se añaden a las sustancias de la cubierta para ayudar a humedecer y difundir la solución de recubrimiento, solubilizar algunos de sus componentes o modificar la permeabilidad del recubrimiento.

Otras sustancias

También se emplean otras sustancias tales como:

- Agentes formadores de canales, que aumentan la permeabilidad de películas hidrófobas.
- Agentes impermeabilizantes, para disminuir la permeabilidad de las cubiertas.
- Agentes reticulantes, que disminuyen la movilidad del polímero y, en consecuencia, la difusión en su seno.

Métodos de microencapsulación:

Existen varios métodos adecuados para preparar microesferas y se escoge uno u otro en función de factores como la naturaleza del material que las constituye, el principio activo que queramos encapsular, la carga requerida o el modo en que debe liberarse. No podemos olvidar que, para que un sistema de este tipo sea útil desde un punto de vista terapéutico, tiene que ser capaz de vehiculizar una carga suficiente hasta su lugar de acción y, entonces, liberarla de acuerdo con

el perfil establecido. En este sentido, algunos fármacos pueden ser incorporados con éxito durante el proceso de síntesis, lo que, normalmente, se traduce en una carga más elevada y en una cesión más lenta (*Juni y Nakano, 1987*).

Actualmente, el número de métodos de microencapsulación patentados asciende a varios centenares y es previsible que siga aumentando. Sin embargo, la mayoría de los métodos que hoy se desarrollan a nivel industrial pueden agruparse en las categorías que se presentan en la tabla 3.

MÉTODO	MEDICAMENTO	TAMAÑO DE PARTÍCULA
<i>Coacervación (separación de fases)</i>	Sólido-líquido	1-1000 μm
<i>Polimerización interfacial</i>	Sólido-líquido	1-1000 μm
<i>Extracción y evaporación disolvente</i>	Sólido-líquido	0,1-1000 μm
<i>Atomización y atomización- congelación</i>	Sólido-líquido	1-1000 μm
<i>Suspensión en aire</i>	Sólido	50-5000 μm
<i>Gelificación iónica</i>	Sólido	>1000 μm

Tabla 3. Método de microencapsulación.

» **Coacervación o separación de fases**

Bajo la denominación de “coacervación” o “separación” de fases se agrupa una serie de técnicas de microencapsulación que se basan en la inducción por algún procedimiento a la desolvatación del polímero que, a continuación, se deposita en forma de gotículas de coacervado alrededor del medicamento que se va a encapsular. Se obtienen dos fases líquidas, una rica (coacervado) y otra pobre en coloides (sobrenadante). La coacervación es una etapa intermedia entre disolución y precipitado; es decir, conlleva una desolvatación parcial en contraposición a la desolvatación exhaustiva asociada al proceso de precipitación. Cualquier factor que induzca la desolvatación del polímero producirá el fenómeno de coacervación. Entre los procedimientos inductores de la coacervación se puede destacar un cambio en la temperatura, una modificación del pH y la adición de un “no solvente”, una sal o un polímero incompatible.

El proceso de microencapsulación por coacervación consta de las siguientes etapas:

- Dispersión mediante agitación adecuada del compuesto que se va a encapsular (líquido o partículas sólidas) en una solución del polímero/s formador/es de cubierta.

- Inducción de la coacervación por alguno de los procedimientos señalados. Se observa que el sistema sufre una opalescencia y, al microscopio óptico, las gotículas de coacervado presentan una apariencia semejante a la de una emulsión.

- Deposición (adsorción) de las gotículas de coacervado alrededor de los núcleos que va a encapsular. El sobrenadante, en principio turbio, se va clarificando a medida que transcurre el proceso de coacervación. La deposición continuada de la cubierta es promovida por una reducción de la energía libre interfacial del sistema, debido a una disminución del área superficial durante la coalescencia de las gotículas líquidas poliméricas.

- Coalescencia de las gotículas de coacervado para formar una cubierta continua alrededor de los núcleos.

- Endurecimiento de la cubierta de coacervado, sometiendo al sistema a un enfriamiento y añadiendo (de manera opcional) un agente reticulante. Finalmente, las microcápsulas (estructura de tipo reservorio) obtenidas son aisladas por centrifugación o filtración.

Existen diferentes tipos de coacervación, que quedan reflejados en la tabla 4:

<i>EN FASE ACUOSA</i>	<i>EN FASE ORGÁNICA</i>
- <i>Simple</i>	- Inducida por un cambio de temperatura.
- <i>Compleja</i>	- Inducida por la adición de un “no solvente”. - Inducida por la adición de un polímero incompatible.

Tabla 4. Tipos de coacervación.

» **Polimerización interfacial**

Este proceso se produce en el seno de una emulsión en cuya interfaz se desarrolla un proceso de polimerización, lo que da lugar a la formación de las microcápsulas. Este método es muy utilizado en otros ámbitos; sin embargo, en el campo de los medicamentos o materiales biológicos, su interés ha sido muy escaso.

» **Extracción –evaporación del disolvente**

Puesto que este es el método empleado en el presente trabajo para la obtención de las micropartículas de etilcelulosa, resulta interesante detenernos en él para explicarlo de una forma más minuciosa.

Esta denominación incluye todos los procesos en los que tiene lugar la eliminación del solvente en el que está disuelto el polímero, ya sea por evaporación o por extracción de éste. En todos los casos

previamente tiene que formarse una emulsión. Dependiendo de la naturaleza de la fase continua de la emulsión que se forme se clasificarán en evaporación/extracción del solvente en fase acuosa o en fase oleosa.

a) En fase acuosa:

Método de la emulsión o/a: En este método la fase orgánica que contiene el polímero y el principio activo se emulsifica en una fase acuosa que contiene un tensioactivo. Posteriormente, las gotas orgánicas emulsificadas que contienen el polímero y el principio activo son endurecidas como microesferas por eliminación del solvente orgánico. En la figura 3 aparece representado el esquema de preparación de este método:

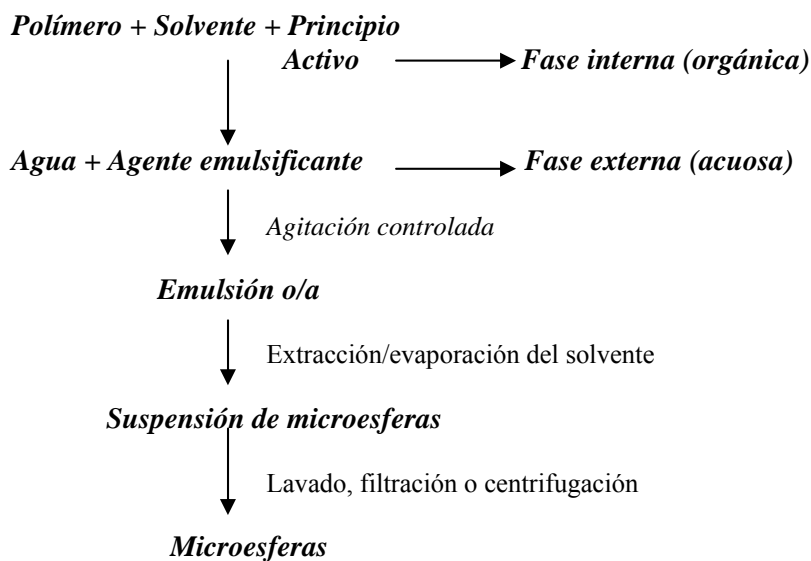


Figura 3. Método de la emulsión o/a

Ventajas del método o/a:

- Es ampliamente usado en la encapsulación de principios activos liposolubles, debido a que se logra una eficiente incorporación de los mismos.
- Amplio rango de tamaños (desde grandes hasta pequeños) esencialmente controlados por la velocidad y las condiciones de agitación.
- Las microesferas tendrán propiedades superficiales hidrofílicas, lo que permite su redispersión sin agregación.

Desventajas del método o/a:

- La incorporación de principios activos solubles en agua es muy baja debido a la repartición del principio activo en la fase acuosa externa de la emulsión.

Método de la emulsión agua en aceite en agua (a/o/a):

También se conoce como método de la emulsión múltiple. Es una modificación del método o/a. Se utiliza para encapsular principios activos solubles en agua y se ha probado que es muy eficiente para encapsular este tipo de sustancia. En este método el principio activo se disuelve en agua (fase acuosa) y el polímero se disuelve en un solvente orgánico (fase orgánica). Ambas fases se mezclan obteniéndose la

emulsión a/o, la que se adiciona lentamente sobre un medio acuoso que contiene un emulsificante como el alcohol polivinílico. Luego el solvente orgánico es eliminado y se obtienen las microesferas.

b) En fase oleosa:

Método de la emulsión o/o: Este método es otra modificación de la emulsión o/a y la fase continua estará formada por un líquido orgánico como un aceite mineral y se forma la emulsión o/o. Se usa para encapsular eficazmente principios activos solubles en agua. En la figura 4 aparece representado este método:

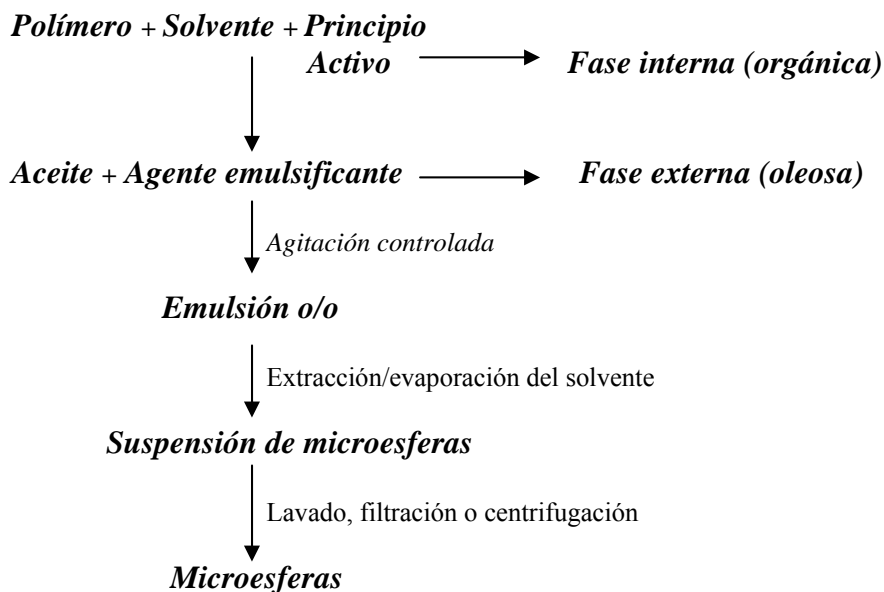


Figura 4. Método de la emulsión o/o.

Desventajas del método o/o:

- Se hace difícil la obtención de microesferas pequeñas (menores de 50 μm).
- Las microesferas tienden a agregarse cuando se redispersan en vehículos acuosos debido a la naturaleza hidrófoba de su superficie y la ausencia de un estabilizador hidrofílico.

c) Otros métodos de multifase. Más recientemente se han estudiado los siguientes:

- Emulsión a/o/a/o.
- Emulsión a/o/o.
- Emulsión a/o/o/o.

Existen varios trabajos que hablan de inclusión de antagonistas opiáceos en partículas poliméricas de ácido poliláctico (*Woodland y col., 1973; Yolles y col., 1975; Schwope y col., 1975; Schwope y col., 1976*). Estas investigaciones demuestran que estas partículas pueden vehicular una gran cantidad de fármaco para después liberarlo lentamente de acuerdo con una cinética de orden cero y con una duración de acción de entre 20 y 70 días, dependiendo de la formulación usada. Efectivamente, Thies (*Thies, 1976*) y Mason y

colaboradores, (*Mason y col., 1976*) llevaron a cabo, además de estudios de liberación *in vitro*, ensayos *in vivo* en los que se vio que microcápsulas de un tamaño menor a 300 μm presentaban una carga de principio activo entre 50-75% y eran capaces de mantener el efecto antagonista durante 14 días.

Por otro lado, Gurny y colaboradores (*Grurni y col., 1991*), utilizaron como polímero la etilcelulosa para encapsular clorhidrato de noreleagine. Para ello, incorporaron el fármaco en solución acuosa al látex y bajo agitación continua añadieron metanol para que se formase un coágulo. El sobrenadante fue retirado y los coágulos desecados a 37°C durante 24 horas. Con esto se consiguió un dispositivo que se implantó en el cerebro de ratas, obteniéndose un notable descenso en la velocidad de liberación *in vitro*.

En 1970, Khanna y colaboradores (*Khanna y col., 1970*) aportaron la primera aplicación de la suspensión-polimerización en la producción de formas farmacéuticas de liberación sostenida en las que el fármaco fue embutido durante la polimerización. Desde entonces, se ha ido evolucionando en este campo y, en la actualidad, este proceso está bien establecido (*Couvreur, 1988; Couvreur y col., 1995; Crommelin y col., 1995; Douglas y col., 1997*). De acuerdo con este proceso, la fase polimérica es emulsionada en la acuosa, que contiene

emulgente o tensioactivo, dando lugar a una emulsión de fase externa acuosa. Las moléculas de emulgente forman micelas en cuyo interior hidrofóbico se aloja gran parte del monómero disponible, causando el hinchamiento de las mismas. Los radicales iniciadores generados en el medio acuoso, en nuestro caso por calentamiento, difunden hasta estas micelas y tiene lugar la polimerización. A medida que estos monómeros son consumidos, se ven reemplazados por los remanentes que entran en las micelas como gotas emulsionadas. El resultado de este proceso es la dispersión coloidal conocida como látex.

» **Atomización y atomización-congelación**

Estos dos métodos de microencapsulación, que transcurren en una etapa única, presentan la ventaja de su extraordinaria rapidez y sencillez, lo que los convierte en muy útiles para la producción industrial de micropartículas.

Atomización

El principio activo se disuelve o dispersa en una solución del polímero en un disolvente adecuado y la mezcla se pulveriza en una cámara en cuyo interior circula aire caliente (150-200 °C) capaz de suministrar la temperatura de vaporización necesaria para eliminar el

disolvente del material de la cubierta, con lo que se obtiene el producto microencapsulado.

Atomización-congelación

Este procedimiento se diferencia del anterior en que, en lugar de atomizar el material formador de la cubierta disuelto, éste es sometido a un proceso de fusión, pulverizándose a continuación (a una temperatura suficientemente elevada) la masa fundida en una cámara en la que circula una corriente de aire frío (20 °C) o un gas previamente enfriado. El principio activo va incorporado en la masa fundida, disuelto o dispersado en la misma. Los materiales utilizados para formar la cubierta son productos de bajo punto de fusión entre los que destacan las ceras, las grasas y los ácidos grasos. Es una técnica muy adecuada para la encapsulación de compuestos termolábiles.

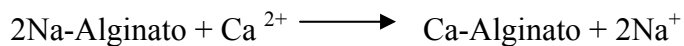
» Atomización y atomización-congelación

Se trata de un procedimiento de microencapsulación físico o mecánico que se limita únicamente al recubrimiento de partículas sólidas de fármaco con un material determinado, lo que da lugar a estructuras tipo reservorio. El proceso transcurre en unos aparatos denominados "aparatos de recubrimiento en lecho fluido", de los cuales el más difundido es el sistema Wurster.

» Gelificación iónica

En esta técnica la formación de la cubierta de las micropartículas tiene lugar por una reacción de gelificación iónica entre un polisacárido y un ión de carga opuesta.

Generalmente se recurre a la gelificación del alginato sódico (polianión) con cloruro cálcico (catión). El método consiste en suspender el compuesto que se va a encapsular en una solución acuosa de alginato sódico, adicionando la mezcla, mediante goteo, sobre una solución acuosa de Cl_2Ca que se encuentra sometida a una velocidad de agitación adecuada. Al entrar la gota de alginato sódico en contacto con Ca^{2+} , se produce la gelificación instantánea de la misma, obteniéndose una membrana o cubierta de alginato cálcico que es insoluble en agua pero permeable. La reacción que tiene lugar es:



III.- ESTABILIDAD FÍSICA DE LAS SUSPENSIONES.-

La naturaleza de la interfase entre las partículas de polímero y la fase acuosa determina propiedades tan importantes como la estabilización/inestabilización, reología y el movimiento de partículas en un campo eléctrico. No obstante, debemos distinguir:

- Área de *interfase* entre el *medio acuoso* y el *aire* que, aun siendo pequeña, controla importantes propiedades, tales como la formación de espuma y la humectación durante la formulación y aplicación, al igual que la estabilidad de los látex.
- El área de *interfase* entre la *fase acuosa* y las *partículas de polímero* es mayor debido al pequeño tamaño de las partículas y la proporcionalidad inversa del área superficial específica.

El estado de las dispersiones coloidales se caracteriza por el exceso de energía libre, G, del sistema:

$$dG = \gamma \times dS$$

siendo γ la tensión interfacial y S el área de superficie específica.

En tal situación, el sistema tiende a reducir ese exceso de energía libre mediante la agregación de sus partículas. Por eso, desde una perspectiva termodinámica, las dispersiones coloidales de pequeño tamaño son más inestables.

En los últimos años, los látex poliméricos han tenido considerable importancia como sistema modelo en la investigación de varios fenómenos coloidales y, en particular, en el estudio de las fuerzas de interacción entre las partículas. En dispersiones muy diluidas las partículas pueden moverse libremente en el medio, en virtud del movimiento Browniano. Sin embargo, en dispersiones concentradas la distancia de separación entre ellas disminuye, de manera que entran en juego las fuerzas repulsivas. El movimiento de las partículas es más restringido y las características estructurales de estos sistemas se hacen patentes (*Buscall y col., 1981*).

III. 1.- Sedimentación.-

Con el fin de controlar la estabilidad de la suspensión, el farmacéutico debe conocer los factores físicos que afectan a la velocidad de sedimentación de las partículas en condiciones ideales y no ideales. La sedimentación es consecuencia de la acción de la gravedad sobre la fase dispersa y la diferencia de densidad entre las dos fases que constituyen el sistema.

El movimiento Browniano puede ejercer un efecto significativo, además de la ausencia o presencia de floculación en el sistema. La

velocidad de sedimentación de las partículas esféricas está regida por la ley de Stokes, que se expresa:

$$v = \frac{[2r^2 (\rho_1 - \rho_2) g]}{2\eta}$$

siendo v la velocidad final (cm/seg), r el radio de las partículas (cm), ρ_1 y ρ_2 las densidades de la fase dispersa y del medio de dispersión (g/cm^3) respectivamente, g la aceleración debida a la gravedad (980.7 cm/seg^2) y η la viscosidad de la fase externa (poises). Esta ley sólo se cumple si el movimiento descendente de las partículas no es lo suficientemente rápido como para causar turbulencia.

La formación de cremas en alguno de estos sistemas es un proceso de sedimentación que es conveniente evitar, desde un punto de vista farmacéutico, porque puede llevar a errores en la dosificación, causar mala apariencia y, además, facilitar la coalescencia y la agregación (debido a la proximidad de las partículas), aunque es un proceso reversible mediante agitación. Una manera que disminuya la velocidad de formación de cremas y aumente la estabilidad del sistema, es incrementando la viscosidad, por ejemplo con la incorporación de un emulgente (*Delgado y col., 1997*).

El potencial Zeta es una medida que indica la carga aparente de la partícula en el medio disperso. Cuando su valor es relativamente alto, las fuerzas repulsivas superan a las atractivas. De acuerdo con esto, las partículas se mantienen como entidades individuales en el seno de la dispersión, decimos que están “defloculadas”. No obstante, aún cuando esos sistemas son altamente estables, la acción de la gravedad provoca que las partículas caigan individualmente en el fondo del recipiente. Las más pequeñas ocupan los espacios que van dejando las grandes entre sí, originando un empaquetamiento compacto, poco voluminoso y difícil de redispersar que recibe el nombre de “caking”.

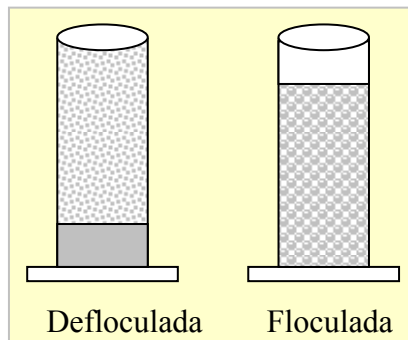


Figura 5. Suspensión floculada y defloculada.

La **floculación controlada** es la formación intencionada de aglomerados sueltos de partículas mediante enlaces débiles. Esto puede conseguirse adicionando iones de carga opuesta en signo al potencial

Zeta. En consecuencia, la carga activa aparente de las partículas va disminuyendo progresivamente. A una cierta concentración de iones añadidos, las fuerzas de repulsión serán menores que las de atracción y éstas comienzan a predominar. Bajo estas circunstancias, las partículas se unen estrechamente formando unos aglomerados llamados “flóculos”.

Estos sistemas floculados sedimentan rápidamente originando un sedimento voluminoso, poco coherente y fácilmente redispersable. La estructura del sedimento permite que, con una ligera agitación, se rompa distribuyéndose de manera uniforme. Aunque puedan parecer menos homogéneos en reposo, se redispersa con suma facilidad y su dosificación es uniforme a diferencia de otras suspensiones.

En los látex, el movimiento Browniano se compensa con la convección térmica, por lo que las pequeñas partículas no tienden a sedimentar. Sin embargo, en la práctica, la mayoría de las dispersiones contienen algunas partículas de tamaño grosero que formarán un sedimento débil tras unos meses, aunque si su tamaño es mayor a una micra, el sedimento aparecerá a las pocas horas. De cualquier forma, se dice que un látex presenta una “buena estabilidad coloidal” cuando, durante su preparación y uso, la agregación de las partículas es pequeña o inexistente (*Vanderhoff y El-Aasser, 1988*). La vida de un látex está

limitada por la tendencia de las partículas a aglomerarse, incluso bajo condiciones de almacenamiento controladas. Si la temperatura de almacenamiento supera los 30°C aparece una aglomeración temprana y, a veces, se forma una película en la superficie debido a la evaporación del agua.

III. 2.- Reología.-

Aunque últimamente los principios fundamentales de la reología se están utilizando para el estudio de pinturas, pastas moldeables, materiales de pavimentación de carreteras, cosméticos y otros productos de uso diario, no debemos olvidar la importancia de su aplicación en la industria farmacéutica. La reología tiene especial interés en formulación y análisis de ciertos productos farmacéuticos como emulsiones, pastas, supositorios y revestimiento de comprimidos. Es indispensable que los fabricantes de cremas, pastas y lociones medicinales y cosméticas estén capacitados para elaborar productos de una determinada consistencia y suavidad, así como para que estas propiedades puedan alcanzarse de nuevo en cualquier otro proceso de fabricación. De esta manera, si se estudian las características físicas individuales de un producto, mediante los métodos analíticos

reológicos, se dispondrá de información valiosa para una formulación más correcta de un preparado farmacéutico.

En las suspensiones farmacéuticas, los principios de la reología pueden aplicarse al estudio de los siguientes efectos: de qué forma influye la viscosidad de la suspensión sobre la sedimentación de sus partículas; de qué manera varían las propiedades de flujo de la suspensión cuando se agita el recipiente y cuando el preparado se vierte de un frasco; y, por último, en las lociones se estudian las cualidades de extensión cuando han de ser aplicadas a la superficie afectada. Indudablemente, todas las consideraciones reológicas son de gran interés para la preparación y fabricación de suspensiones.

El efecto de cizalla que tiene lugar en una suspensión en reposo es debido a la sedimentación de las partículas en suspensión, pero las fuerzas que se manifiestan aquí son tan pequeñas que pueden despreciarse. Sin embargo, cuando el recipiente se agita y el producto se vierte desde un frasco, el efecto de cizalla se produce en muy alto grado. Por esto, el agente suspensor ideal debería mostrar una viscosidad alta durante el reposo o almacenamiento del preparado y una viscosidad baja para una gran velocidad o grado de cizallamiento, es decir, que debería fluir libremente durante la agitación, así como al verterlo.

Concretamente, en este trabajo, resulta interesante el estudio reológico para cuantificar fenómenos relacionados con la estabilidad física –sedimentación, redispersión- ya que nos permite conocer la estructura interna de los sistemas.

Las suspensiones, especialmente las suspensiones coloidales, pueden presentar una gran variedad de fenómenos reológicos conocidos, siendo la forma de las partículas, su concentración y su tamaño junto con las fuerzas interparticulares lo que determina la microestructura responsable de dicho comportamiento (*Napper, 1983; Buscall y col., 1990*).

El comportamiento reológico de los látex poliméricos es viscoelástico (*Goodwin y col., 1980; Goodwin y Smith, 1974*), con un componente elástico que se va haciendo más dominante a medida que la fuerza de interacción aumenta. Por todo ello, es importante explicar las propiedades reológicas (viscoelásticas) en relación a las fuerzas de interacción.

A continuación se van a tratar algunos aspectos teóricos esenciales para poder, después, interpretar los resultados obtenidos en los ensayos.

III.2.1.- CONSIDERACIONES GENERALES.-

• TENSION O ESFUERZO

Se denomina tensión a la fuerza que produce la deformación (F), o la fuerza igual y opuesta que produce la recuperación del sólido deformado, dividida por el área (A) sobre la que se aplica la fuerza (F).

$$\sigma = \frac{F}{A}$$

• DEFORMACIÓN

» En sólidos:

Es la modificación relativa de la forma de un cuerpo sólido como consecuencia de la aplicación de un esfuerzo:

- Deformación en tensión
- Curvatura o flexión, torsión, compresión y corte.

Para un sólido elástico ideal, la tensión es directamente proporcional a la deformación:

$$\frac{F}{A} = E \left(\frac{L_s - L_o}{L_o} \right)$$

La anterior ecuación, llamada Ley de Hooke, se estudiará más adelante.

» En líquidos:

Los líquidos no pueden ser deformados, en sentido estricto. Sin embargo, sí pueden moverse unas capas sobre otras en la misma dirección, a distintas velocidades. Así, se mantiene un gradiente de velocidad (dv/dt) por un tiempo indefinido. A esto se conoce como “velocidad de deformación”:

$$\dot{\gamma} = \frac{dV_x}{d\gamma} = \frac{d\gamma}{dt}$$

III.2.2.- COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE LOS MATERIALES.-

III.2.2.a.- SÓLIDOS ELÁSTICOS

La elasticidad es una propiedad mecánica de los sólidos que obedece a la Ley de Hooke –antes indicada-, según la cual el esfuerzo es directamente proporcional a la deformación. Decimos que un cuerpo tiene un comportamiento elástico cuando se deforma bajo la acción de fuerzas externas y recupera su forma cuando éstas cesan.

$$\frac{F}{A} = E \left(\frac{L_s - L_o}{L_o} \right)$$

La deformación o elongación (γ) está representada en la ecuación como la diferencia de longitudes con respecto a la longitud original del mismo valor que cuando cesa la tensión.

De forma simplificada se podría escribir:

$$\sigma = E \times \gamma$$

La constante de proporcionalidad (E) se define como “módulo de Young” o módulo de elasticidad. Es una medida de la rigidez, dureza o resistencia de la elongación. Existe también un módulo de corte o rigidez y un módulo de compresión o volumen.

Dado que la deformación carece de dimensiones, el módulo de Young tiene las mismas dimensiones que la tensión.

III.2.2.b.- LÍQUIDOS VISCOSOS.-

» FLUIDOS NEWTONIANOS

Los líquidos se caracterizan por presentar un comportamiento viscoso ya que, cuando aplicamos una fuerza externa, se deforman y dicha deformación continúa mientras la fuerza sigue presente sin que haya recuperación total.

Las tensiones de compresión son las únicas que pueden soportar los líquidos y de las cuales pueden recuperarse. Todas las otras

tensiones producen una deformación infinita si se aplican durante el tiempo suficiente, de manera que los módulos elástico y de deslizamiento de los líquidos son cero.

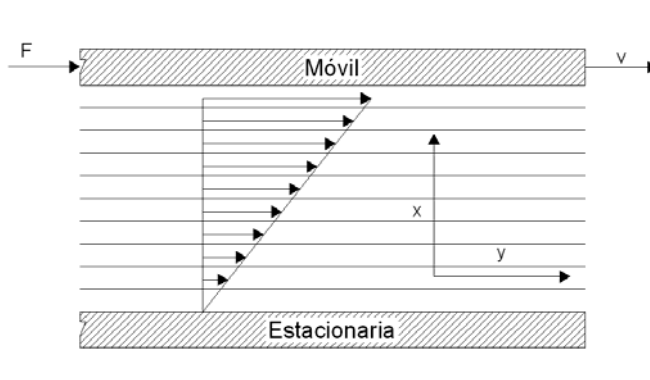


Figura. 6. Flujo laminar de un líquido contenido entre dos placas paralelas.

El esquema anterior (Figura 6) representa un líquido que estuviera contenido entre dos placas paralelas grandes como dividido en una pila de capas paralelas muy delgadas.

Se aplica deslizamiento al líquido con una fuerza F mientras se mantiene estacionaria la placa inferior. Las velocidades de las capas líquidas están representadas por las flechas que apuntan en la dirección del flujo (dirección y). Cada capa es empujada hacia delante por la que se mueve por encima de ella, pero es frenada por la capa que se encuentra por debajo. Así, la velocidad de las capas líquidas aumenta en la dirección x , perpendicular a la dirección del flujo y .

Lo que distingue a un líquido de otro es la velocidad a la cual aumenta la deformación con el tiempo. Esto se denomina “velocidad de deformación” ($d\gamma/dt$). Es un gradiente de velocidad, es decir, la tasa a la cual varía la velocidad v con la distancia x perpendicular a la dirección del flujo.

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} = \frac{dV}{dx}$$

Los fluidos viscosos pueden obedecer, o no, a la Ley de Newton; esta ley de fluidez indica que el esfuerzo (σ) es directamente proporcional a la velocidad de deformación o gradiente de velocidad ($d\gamma/dt$). La constante de proporcionalidad se denomina viscosidad (η), mientras que su recíproca se llama fluidez. La viscosidad es la resistencia al movimiento relativo de capas adyacentes de líquido.

$$\sigma = \frac{F}{A} = \eta \times \frac{d\gamma}{dt}$$

Las curvas de flujo o curvas de consistencia de los líquidos newtonianos son líneas rectas que pasan por el origen. La viscosidad es la pendiente de dichas rectas o la tangente del ángulo que forman con el eje horizontal. Sin embargo, dentro de los fluidos viscosos podemos distinguir entre newtonianos y no-newtonianos, como se muestra en la figura 7.

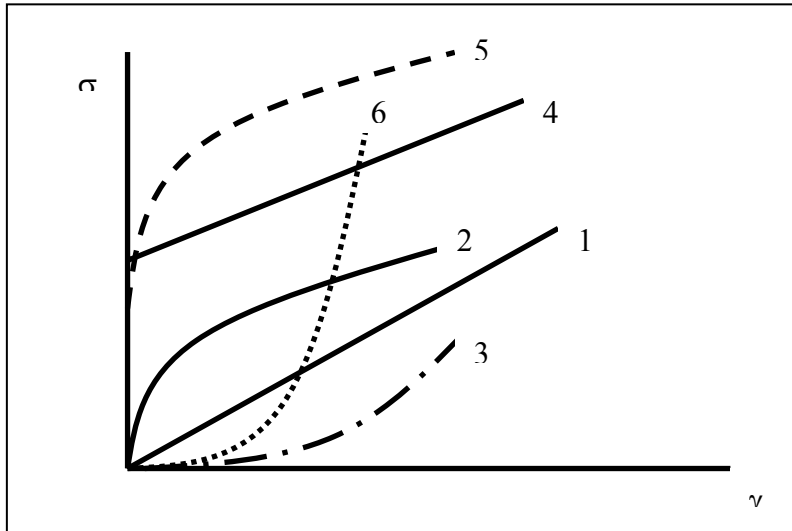


Figura 7. Reograma de los distintos tipos de fluidos: (1) newtoniano, (2) pseudoplástico fluidificante, (3) espesante, (4) plástico ideal Bingham, (5) plástico no ideal y (6) dilatante.

»COMPORTAMIENTO NO-NEWTONIANO INDEPENDIENTE DEL TIEMPO

Es probable que el farmacéutico utilice, con más frecuencia, sustancias no newtonianas que líquidos puros, y de aquí que deba conocer y disponer de los métodos adecuados para el estudio de aquellas sustancias complejas. Por cuerpos no-newtonianos se entienden todas aquellas sustancias en las cuales no se cumple la ecuación del flujo de Newton. En este grupo se encuentran todas las dispersiones heterogéneas de sólidos y líquidos tales como: las

disoluciones coloidales, las emulsiones, las suspensiones líquidas, los ungüentos y otros preparados similares.

Para clasificar este tipo de materiales, recurrimos a un parámetro adimensional denominado número de Deborah (D), que es el cociente entre el tiempo de relajación del sistema (t_r) y el tiempo de experimentación (t_e), (*Wilkinson, 1960*).

$$D = \frac{t_r}{t_e}$$

Según este parámetro, los sistemas se ajustan a:

- $D \gg 1$: deformación elástica \rightarrow Comportamiento sólido
- $D \ll 1$: deformación viscosa \rightarrow Comportamiento líquidos
- $D = 0$: respuesta viscoelástica

» Plástico ideal o de Bingham

Cuando las suspensiones de partículas que tienden a aglomerarse o adherirse unas a otras están tan concentradas que se forman puentes continuos de partículas por todo el volumen de la suspensión, con la formación de retículos tridimensionales, adquieren límites elásticos aparentes. Esto quiere decir que estas “pastas” no fluyen a valores de esfuerzo bajo sino que sufren deformación reversible, como los sólidos elásticos; sin embargo, cuando se excede un valor característico de esfuerzo, llamado “límite elástico aparente” o

“esfuerzo umbral” (σ_0) los enlaces se rompen y fluyen como si fueran líquidos (*Ree y Eyring, 1958; Davis, 1969*).

El modelo más simple para describir este tipo de materiales es el resultado de suponer un comportamiento elástico (hookeniano) a esfuerzos por debajo del esfuerzo umbral y un comportamiento newtoniano por encima de éste. Es el denominado “modelo de Bingham” o “plástico ideal”, que representa el modelo matemático más simple.

$$\sigma = \sigma_0 + U \frac{d\gamma}{dt} \longrightarrow U = \text{viscosidad plástica}$$



Figura 8. Reograma de plástico ideal: Se observa la disminución de viscosidad con el aumento de la velocidad de deformación.

A los materiales plásticos también se les denomina cuerpos de Bingham o semisólidos. Este comportamiento físico puede ser interpretado, desde un punto de vista microscópico, como si las partículas coloidales o moléculas de polímero formasen flóculos, de tal manera que se hace necesario un esfuerzo inicial para separarlas en contra de las fuerzas de cohesión electrostáticas o de Van der Waals. Este cambio se debe a que cuando las suspensiones de partículas que tienden a aglomerarse o adherirse unas a otras están tan concentradas que se forman puentes continuos de las mismas por todo el volumen de la suspensión, con la formación de retículos tridimensionales, adquieren límites elásticos reales. De modo que el esfuerzo umbral sirve para caracterizar la reología de cremas y suspensiones puesto que es una medida del grado de floculación.

Son ejemplos de materiales plásticos las pinturas oleosas, barro, masa de pan, pasta dentífrica, grasas, algunas suspensiones acuosas, etc.

» Plástico no ideal: Casson, Herschel-Bulkley...

Existen distintos tipos de comportamientos plásticos no ideales y se han propuesto diversas ecuaciones empíricas que intentan cuantificar este estado. El modelo más sencillo que se puede utilizar es el de Herschel-Bulkley (*Makosco, 1994; Hunter, 1989*).

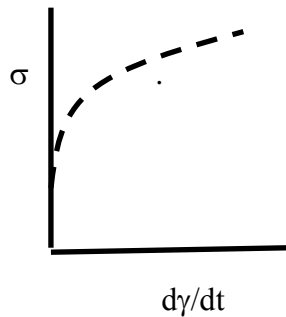


Figura 9. Reograma de un plástico no ideal

Este fenómeno se explica porque, normalmente, la ruptura de las fuerzas de cohesión es progresiva aunque el resultado es, en cualquier caso, una disminución de la viscosidad conforme se aumenta la velocidad de deformación (Figura 9).

» Materiales pseudoplásticos

La pseudoplasticidad define el comportamiento de fluidificación en respuesta a la agitación; es decir, que los sistemas pseudoplásticos se hacen más fluidos cuanto más vigorosamente se los agita (Figura 10). Si se aplican pequeños valores de velocidad de deformación se comportan como newtonianos; sin embargo, el aumento de los mismos produce una disminución en la viscosidad sin poder señalar un valor de esfuerzo umbral.

Se trata de un comportamiento de flujo no newtoniano debido a que la viscosidad no es constante - a temperatura y composición

constantes- como lo requiere la ley de Newton de flujo viscoso, sino que decrece con el aumento de velocidad de deformación.

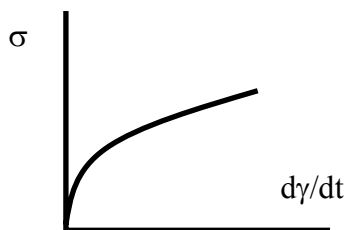


Figura 10. Reograma de un material pseudoplástico

Las causas del flujo pseudoplástico son la ruptura progresiva de la estructura del medio líquido por el aumento del esfuerzo que se aplica y la reconstrucción de la estructura por movimiento browniano.

Los sistemas formados por polímeros en solución disponen estas estructuras al azar -enrolladas, enredadas,...- al aplicar un esfuerzo éstas tienden a desenredarse y alinearse en dirección del flujo. Por tanto, la viscosidad de la solución -su resistencia al flujo- disminuye.

Podemos encuadrar en este apartado a aquellos materiales denominados **viscosizantes**, en los que se da un espesamiento por deslizamiento o un aumento de la viscosidad al aumentar el deslizamiento. Pueden incluirse numerosos productos farmacéuticos

como gomas naturales y artificiales, tales como las dispersiones líquidas de goma tragacanto, alginato sódico, metilcelulosa y carboximetilcelulosa.

Se pueden considerar líquidos de pequeña viscosidad que tienden a solidificar cuando son agitados. Podemos justificar este aumento de viscosidad debido a una disminución de la película de disolvente al incrementar el esfuerzo.

El comportamiento **dilatante** es el caso extremo del viscosizante en el que, al aplicar esfuerzos elevados, tiene lugar la expulsión de la fase líquida y, por tanto, un aumento de viscosidad - tiende a infinito-. Es un comportamiento poco común; suele presentarse a altas concentraciones de sólidos en suspensión y habitualmente es reversible. Se pueden citar como ejemplos pinturas, tintas, pastas de almidón concentradas, etc.

» COMPORTAMIENTO NO-NEWTONIANO DEPENDIENTE DEL TIEMPO

Los comportamientos pseudoplástico y plástico surgen por la competencia entre la disolución de las uniones de las macromoléculas o la ruptura de las uniones de Van der Waals entre partículas dispersas por el esfuerzo aplicado y el restablecimiento de distintas uniones por

movimiento Browniano. En estos casos, los sistemas se adaptan a los cambios de esfuerzo de forma “instantánea”.

Sin embargo, hay sistemas en los que la velocidad de restablecimiento de las uniones por movimiento browniano es menor que la velocidad de ruptura por el esfuerzo; entonces, la viscosidad aparente disminuye aún cuando el sistema se encuentre bajo agitación constante, ya que el tamaño de los agregados de partículas o la extensión de los enredos macromoleculares se reduce progresivamente. Además, la viscosidad aparente a un esfuerzo determinado es menor si el sistema se ha agitado recientemente a altas velocidades que si esa velocidad de deformación se ha alcanzado con bajos esfuerzos o a partir del reposo.

Por tanto, la viscosidad aparente depende no sólo de la temperatura, la composición y la velocidad de deformación o esfuerzo, sino también de sus antecedentes de agitación y del tiempo que han estado sometidos al mismo. Esto se debe a que la estructura interna del sistema, que determina la viscosidad, se modifica a una velocidad que es observable en el período de tiempo de medida.

Los materiales que presentan las características anteriores se llaman **tixotrópicos** o que muestran tixotropía. Este fenómeno puede definirse como una disminución reversible, dependiente del tiempo, de

la viscosidad aparente a una velocidad de deformación constante. Si este material se deja en reposo durante el tiempo suficiente, después de haberlo sometido a un ciclo de agitación, el movimiento browniano reconstruye su estructura y restablece su alta consistencia original.

Como regla, se puede afirmar que un material tixotrópico es una dispersión que muestra una transformación isotérmica gel/sol/gel—teniendo en cuenta que el gel es un sistema coloidal que posee un esfuerzo umbral, mientras que un sol es un sistema coloidal que no lo posee—.

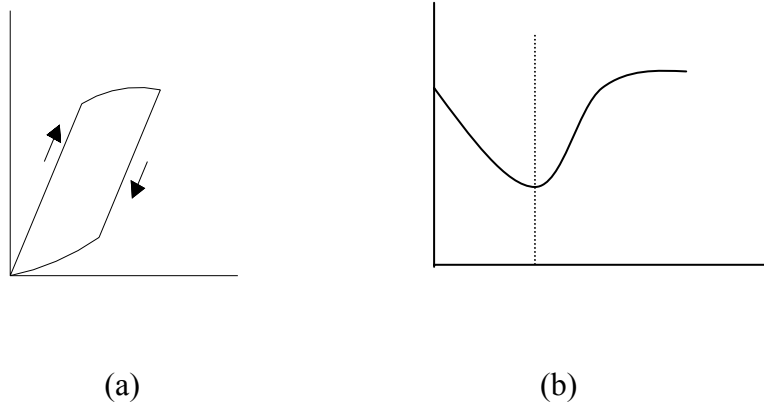


Figura 11. (a) Ciclo de histéresis, que tiene lugar porque la carga y la descarga siguen caminos distintos, puesto que se produce un cambio de estructura (gel-sol). (b) Viscosidad frente a tiempo a una velocidad de deformación constante.

La tixotropía se puede superponer al comportamiento de flujo plástico, no-newtoniano. Las ramas “superior” e “inferior” de una curva de flujo ilustran el fenómeno de histéresis y, el área que delimitan, se

llama ciclo de histéresis (Figura 11a). Su tamaño es una medida del grado de ruptura tixotrópica de la estructura del sistema.

La tixotropía es particularmente útil en la formación de emulsiones y suspensiones farmacéuticas. De acuerdo con la ecuación de Stokes, las altas viscosidades retardan la sedimentación, ya que son magnitudes inversamente proporcionales, mientras que los límites plásticos aparentes la impiden; al no haber flujo por debajo de las tensiones límite, la viscosidad aparente, con pequeños esfuerzos, se hace infinita. Cuando se desea verter parte de la suspensión o emulsión de su recipiente se agita a valores de esfuerzo muy superiores a los límites plásticos. La agitación destruye temporalmente la estructura tixotrópica y consigue reducir el límite plástico a cero disminuyendo la viscosidad aparente. Cuando se deja el frasco en reposo, la viscosidad vuelve a aumentar lentamente y el límite plástico se restablece a medida que la estructura va siendo reconstruida por el movimiento browniano.

El fenómeno contrario se conoce como **antitixotropía** o **tixotropía negativa**; es el aumento, dependiente del tiempo, de la viscosidad a una velocidad de deformación dada. Este comportamiento no es muy usual en suspensiones coloidales. Ocurre con más frecuencia en sistemas poliméricos cuando se someten a una velocidad de

deformación elevada, de modo que se induce el entrecruzamiento entre las cadenas de polímero.

En algunos sistemas se puede producir un fenómeno relacionado con la tixotropía, llamado **reopexia**. Se trata del aumento de la viscosidad aparente o la aparición de un límite plástico aparente por agitación suave. Es decir, que la agitación moderada y rítmica puede acelerar la reconstrucción de la estructura o el restablecimiento de las uniones entre partículas por el movimiento Browniano. Así, las velocidades de deformación bajas aceleran la reaparición de viscosidades aparentes altas o el comienzo de la gelificación de los soles tixotrópicos.

En materiales cuya reestructuración depende del tiempo es importante mantener las condiciones experimentales para que los resultados sean reproducibles. El mejor método consiste en preparar la muestra sometiéndola a esfuerzos elevados durante un tiempo suficiente para que quede destruida toda la estructura. Posteriormente, se deja en reposo un tiempo fijo para que recupere de nuevo parte de su estructura antes de empezar a medir. De esta manera, se parte siempre del mismo grado de estructuración.

Como hemos visto, dentro de la categoría de fluidos viscosos se pueden distinguir varios tipos, que se nombran a continuación de forma esquemática:

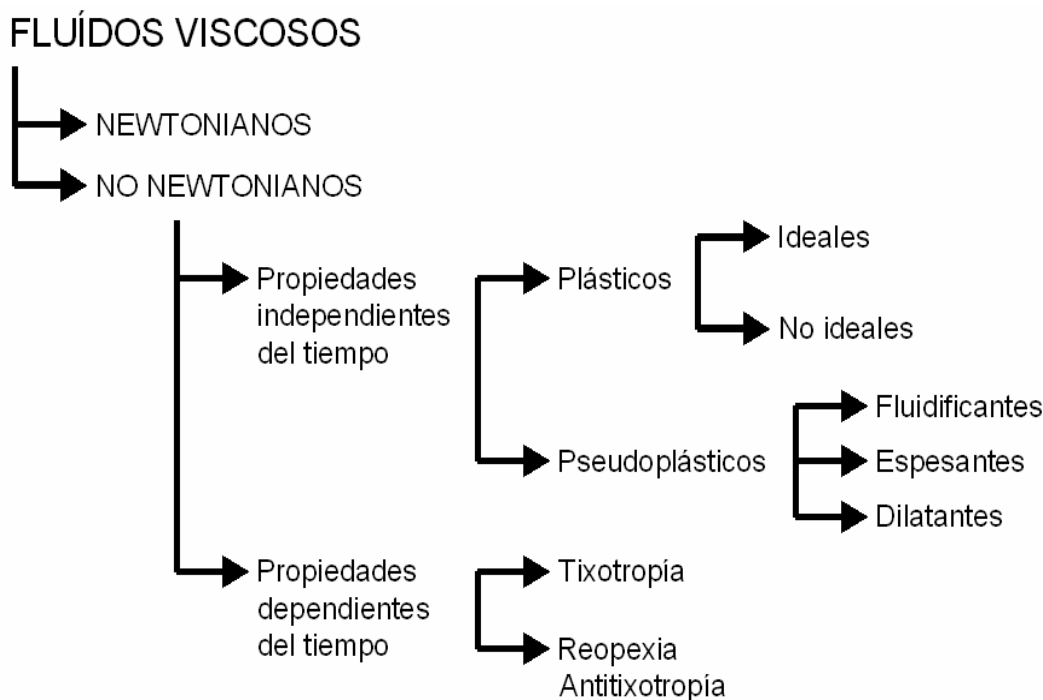


Figura 12. Distintos tipos de fluidos viscosos

III.2.2.c.- MATERIALES VISCOELÁSTICOS.-

A finales del siglo XIX, los científicos observaron que algunos materiales dependían del tiempo en su respuesta elástica ya que, cuando se les sometía a un esfuerzo, se producía una deformación instantánea, como la esperada para un sólido elástico, seguida de una deformación continua. Los materiales viscoelásticos (*Ferry, 1980*), por tanto, se

caracterizan por mostrar un flujo viscoso combinado con deformación elástica cuando se los somete a un esfuerzo. Presentan esta propiedad todos los materiales poliméricos y muchos sistemas dispersos (suspensiones coloidales y emulsiones).

Este fenómeno se puede medir por relajación del esfuerzo. Cuando un líquido polimérico se somete a una deformación, el esfuerzo se relaja de forma exponencial. Un líquido puramente viscoso sujeto a la misma deformación se relajaría instantáneamente a cero en cuanto la deformación se hace constante. Un sólido elástico, en cambio, recupera en el acto su estado inicial al cesar el esfuerzo.

Los fluidos viscoelásticos muestran fenómenos de flujo peculiares, que los distingue de los materiales puramente viscosos. Cuando, por ejemplo, un material de este tipo se agita con una varilla el fluido asciende por la misma; sin embargo, en un líquido viscoso tendería a formarse un vórtice. Cuando un disco rota en un fluido viscoelástico, el flujo es contrario al de un fluido newtoniano. Además, puede mostrar un efecto sifón, en el cual el sifón continúa extrayendo líquido aún cuando el extremo del tubo se separa una cierta distancia por encima de la superficie libre del líquido.

Cuando un material viscoelástico se somete a un esfuerzo constante, a la deformación instantánea propia de los sólidos elásticos le sigue una deformación continua o “fluencia” (“creep”).

El cambio de deformación en función del tiempo a un esfuerzo constante se mide con una función conocida como “función fluencia” (“compliance”). Dicha función, $J(t)$, es la deformación que sufre un material al someterlo a un esfuerzo constante de amplitud unidad (Walters, 1980).

$$J(t) = \frac{\gamma(t)}{\sigma_0}$$

$\sigma_0 = \text{constante}$

Si sometemos al material viscoelástico a una pequeña deformación constante, el esfuerzo para mantenerla sufrirá una variación con el tiempo. Este cambio se mide con la “función de relajación”. Esta función, $G(t)$, se puede considerar como el esfuerzo necesario para mantener una deformación constante en el tiempo de amplitud unidad.

$$G(t) = \frac{\sigma(t)}{\gamma_0}$$

Las anteriores funciones permiten caracterizar completamente las propiedades viscoelásticas de un material.

» $J(t)$ se utiliza cuando tenemos un reómetro que permite controlar el esfuerzo aplicado, de manera que podemos mantener el esfuerzo constante y obtener experimentalmente esta función.

» $G(t)$ se puede obtener cuando disponemos de un reómetro a deformación controlada, manteniendo la deformación constante.

III.2.2.c. a)- MODELOS VISCOELÁSTICOS LINEALES.-

Los sólidos elásticos perfectos sufren una deformación instantánea cuando los sometemos a un esfuerzo y su recuperación también tiene lugar de forma inmediata cuando éste cesa. Su análogo mecánico es un resorte helicoidal, conocido como cuerpo de Hooke o elemento hookeniano. Por otra parte, un líquido newtoniano cumple la ley de Newton y su deformación es creciente linealmente con el tiempo e irre recuperable, el cuerpo o elemento de Newton es un amortiguador. Ambos se consideran elementos básicos a la hora de representar el comportamiento viscoelástico lineal, puesto que las ecuaciones reológicas generales permiten el establecimiento de una analogía

mecánica a través de la asociación en paralelo y en serie de muelles y amortiguadores.

Asimismo, se han diseñado diferentes modelos mecánicos que resultan muy útiles para entender los distintos comportamientos reológicos viscoelásticos como son el modelo de Kelvin-Voigt, de Maxwell, de Kelvin-Voigt generalizado y de Maxwell generalizado (Makosco, 1994).

Dentro de ellos nos centraremos en el **modelo de Kelvin-Voigt generalizado**, puesto que el reómetro que utilizamos es de esfuerzo controlado y, por tanto, es el que más nos ayuda a explicar los resultados obtenidos en este trabajo. Estos experimentos, que nos permiten calcular las curvas de fluencia obtenidas experimentalmente, se conocen con el nombre de fluencia o creep. Normalmente, se acompañan de otro experimento en el que se suprime el esfuerzo midiendo, entonces, la recuperación (deformación de recuperación en función del tiempo), llamado recuperación o recovery. Como se observa en la figura 13, en la curva típica resultante de una fluencia-recuperación para un sistema viscoelástico lineal, podemos distinguir varias zonas:

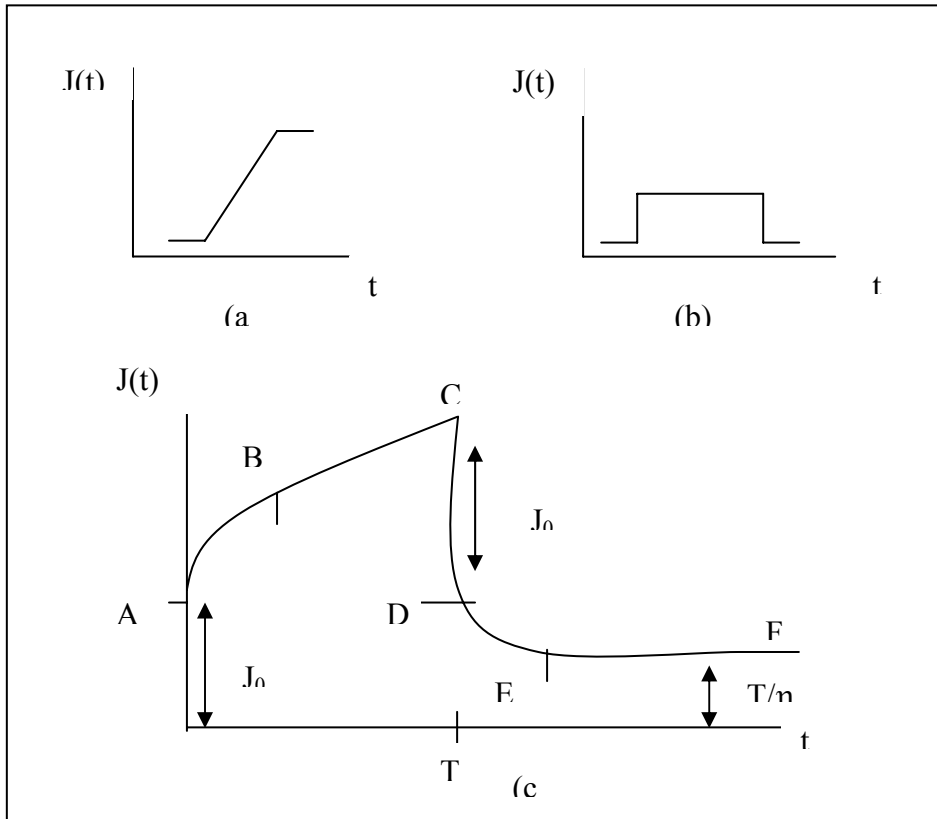


Figura 13. Creep – recovery

- Del origen a A: Muestra la deformación instantánea debida a la estructura primaria del sistema. Por lo tanto, indica si el material es más o menos elástico.

- De A a B: Es la región de elasticidad retardada, fruto de la ruptura y reconstrucción de los puentes entre las partículas con tiempos que dependen de las fuerzas de los distintos enlaces. Entre B y C tenemos la zona de flujo viscoso, que es irre recuperable. Ya se ha producido la ruptura de los enlaces de baja energía, de modo que la

muestra puede fluir como un fluido newtoniano, de ahí que la curva se vuelva lineal.

- Con la región comprendida entre C y D, comienza la recuperación o recovery. En primer lugar se produce una recuperación instantánea.

- De D a E: Aparece la zona de recuperación lenta, consecuencia de la elasticidad retardada del sistema.

- Por último, entre E y F existe una zona de deformación no recuperable y achacable al flujo viscoso que se ha producido.

IV.- DOLOR.-

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) definió en 1979 el dolor como: "una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a una lesión tisular real o potencial, o descrita en términos de dicho daño". Esta definición pone de manifiesto la superación de una concepción lineal del dolor, ya que éste es entendido como una experiencia adversa y afectiva compleja, que está determinada tanto por las respuestas biológicas a los estímulos nociceptivos como por el significado de esos estímulos para cada sujeto. En definitiva, se trata de aceptar los aspectos subjetivos del dolor, entendiéndolos como una experiencia codificada y memorizada por el individuo, que va más allá de una mera transmisión de impulsos sensoriales. Ello nos lleva a considerar el dolor como una experiencia subjetiva de gran complejidad en la que actúan numerosos factores: biológicos, psicológicos y sociales.

IV.1.- Tipos de dolor

Desde un punto de vista clínico, el dolor representa el síntoma principal de muchos procesos patológicos, por lo que el conocimiento de las diversas modalidades del dolor tiene especial importancia para elaborar un diagnóstico etiológico correcto y aplicar una terapéutica adecuada. El dolor se ha clasificado atendiendo a diversos criterios, aunque uno de los más utilizados se basa en su duración:

IV.1.1.- Dolor agudo

Conceptualmente, se define como el que aparece tras una lesión tisular causada por un estímulo nociceptivo y que a menudo tiene un significado funcional de alarma para el organismo, avisando de la agresión contra el mismo. Suele ser temporal y, por tanto, estar ligado al tiempo, desapareciendo o disminuyendo al cesar la causa que lo ha originado. Se trata de una sensación dolorosa de corta duración, que puede ser transitoria y fugaz después de un traumatismo moderado o de alguna otra causa.

A su vez, el dolor agudo se puede dividir en dos fases sucesivas. Una primera sensación dolorosa, que se manifiesta inmediatamente y que con frecuencia cesa en poco tiempo: se le conoce como dolor primario o dolor rápido. Este dolor instantáneo, especialmente si es de origen somático, tiene un gran valor topográfico, pues va a permitir localizar inmediatamente y con total precisión el origen exacto de la agresión.

En relativamente poco tiempo, a esta primera sensación localizada le sigue una segunda fase, conocida como dolor secundario o dolor lento.

En cualquier caso, tanto la percepción como la respuesta al dolor pueden ser completamente distintas de uno a otro individuo, según las características fisiológicas y psicológicas de cada sujeto. Aun siendo una respuesta individual, el dolor agudo prácticamente siempre se asocia a una liberación de catecolaminas y, por consiguiente, a las alteraciones cardiovasculares y respiratorias, así como una notable depresión del sistema inmunitario, al margen del sufrimiento añadido de quien lo padece. En este dolor prevalecen las alteraciones orgánicas sobre las psíquicas, ya que es difícil que surja un cuadro grave de la esfera psíquica, si se conocen las causas y la duración del dolor.

Como principio racional, el dolor agudo debe ser observado, estudiado y conservado mientras cumpla una misión diagnóstica, pero una vez finalizada ésta, hay que contrarrestar el síndrome álgico antes de que surjan complicaciones o se cronifique el dolor.

IV.1.2.- Dolor crónico

Mientras que el dolor agudo responde a una lesión tisular inmediata, el crónico es aquel que persiste después de una lesión y se califica de inútil, indicando un fracaso del organismo y, por tanto, careciendo de misión protectora. Se considera como una experiencia

aversiva que es codificada y memorizada por el individuo, lo que puede justificar que se mantenga en ausencia de lesión.

Este tipo de dolor contribuye a deteriorar física, pero sobre todo psíquicamente, al paciente. El dolor llega a adueñarse del sujeto y le desestructura la personalidad, amenazando su equilibrio psicológico y, por tanto, su vida social, familiar y laboral. Su empeoramiento con el paso del tiempo suele ir unido a la falta de efectividad de los tratamientos, lo que empobrece y deteriora más aún el psiquismo del paciente.

Las causas para que un dolor se cronifique no están del todo clarificadas, conociéndose solamente algunos factores favorecedores: fisiopatológicos (plasticidad del sistema nervioso), psicológicos y conductuales. A diferencia del dolor agudo, donde un estímulo nociceptivo activa los receptores periféricos y estos impulsos son conducidos a la corteza cerebral a través de unas vías específicas, en el dolor crónico los estímulos son modificados por múltiples factores desde su ingreso en el asta posterior de la médula.

En referencia al tiempo, se habla de dolor crónico ante todo cuadro álgico que persiste por encima de los tres meses, aunque algunos críticos lo cifran en seis meses para asignarle una cronicidad.

IV.2.- Abordaje terapéutico del dolor con opioides

Independientemente de que el dolor sea agudo o crónico, los opioides han sido el tratamiento básico para el mismo, y este hecho no es nuevo sino que se remonta a la antigüedad, ya que el opio fue el primer analgésico que usó el ser humano (*Murillo, 1997*). Este hecho es debido a la potencia analgésica de estos compuestos en casi todos los tipos de dolor, especialmente en el dolor agudo y en el dolor crónico de origen oncológico. Sin embargo, los trabajos de investigación que se llevaron a cabo especialmente con morfina y meperidina en las décadas de los 50 y 60 y que se realizaron habitualmente usando la vía intravenosa y en modelos de dolor postoperatorio, resaltaron de tal manera los efectos adversos de estos fármacos que en muchos lugares del mundo se llegó incluso a la prohibición y al desuso debido al perfil de efectos adversos, principalmente depresión respiratoria, y a la creencia generalizada de la posibilidad de que los pacientes se hicieran adictos comparando estos fármacos con las drogas de uso ilegal.

No ha sido hasta hace pocos años que muchos de estos mitos se han desmontado poniendo en evidencia la potencia y seguridad que la mayoría de los opioides han demostrado, especialmente en el dolor crónico intenso.

Para producir sus efectos los opioides activan tres clases de receptores, μ , δ , κ , además se han descrito también diversos subreceptores para explicar gran parte de las complejas acciones que ejercen a otros niveles. Igualmente se han descrito péptidos opioides endógenos que interactúan con estos receptores y que han sido clasificados como endorfinas, dinorfinas, encefalinas y endomorfina. La activación de los receptores opioides actuando por complejos mecanismos enzimáticos o modulando respuestas indirectas como los del sistema NMDA entre otros, provocan una multitud de efectos de los cuales es la analgesia el que nos interesa en estos momentos

Desde el punto de vista del tratamiento del dolor podemos clasificar los opioides en débiles (cuyos prototipos son la codeína y el tramadol) y potentes, de los cuales los de uso actual son morfina, fentanilo y buprenorfina.

En 1982, la Organización Mundial de la Salud (OMS), diseñó un plan terapéutico del dolor basado en la Escalera Analgésica, que en su inicio contaba con tres escalones correspondientes a tres tipos de analgésicos, por su potencia de acción. Estaba fundamentada en la intensidad del dolor, más que en el estadio de la enfermedad y proponía indicar los opioides débiles una vez que se había intentado un tratamiento sin éxito con AINEs y los opioides potentes una vez que la

combinación de AINEs y opioides débiles no hubiera sido efectiva. Este concepto que ha sido útil en el pasado, puede haberse quedado anticuado en la actualidad una vez demostrada la seguridad y eficacia de los opioides débiles y potentes y la llegada al mercado de nuevas y más seguras vías de administración como la vía transdérmica y transmucosa para administración de buprenorfina o fentanilo. El nuevo concepto propuesto se basa más en la indicación del analgésico adecuado en base a la intensidad del dolor y no tanto a su origen o duración del mismo y propone un intercambio más rápido en la indicación de los analgésicos (independientemente de sus características farmacológicas y primando su potencia analgésica) con el objeto de controlar el dolor lo antes posible y evitar el sufrimiento innecesario y prolongado de los paciente.

Así, en 2002 se propuso sustituir el concepto de “escalera analgésica” por el de “ascensor analgésico” (Figura 14), el cual simula al paciente dentro de un ascensor cuyo suelo son los coadyuvantes analgésicos y que dispone de 4 botones para pulsar según el grado de dolor sea leve, moderado, severo o insoportable. Si el paciente aprieta el botón de leve, se bajará a un piso donde dispone de analgésicos no opiáceos (paracetamol, metamizol, ibuprofeno...). Si pulsa el botón de moderado, se bajará en un piso donde encontrará tramadol o codeína

habitualmente combinado con paracetamol o AINEs. Si el paciente toca el botón de grave, dispondrá de opiáceos potentes y si pulsa el botón de insoportable se bajará en un piso con unidades especializadas de tratamiento del dolor, donde será tratado con bloqueos nerviosos u opioides por vía intratecal. Este sistema nos traslada, a diferencia del de la escalera, al concepto de inmediatez en la respuesta y, en la ida y vuelta de los analgésicos, así como de la importancia de la evaluación continuada.

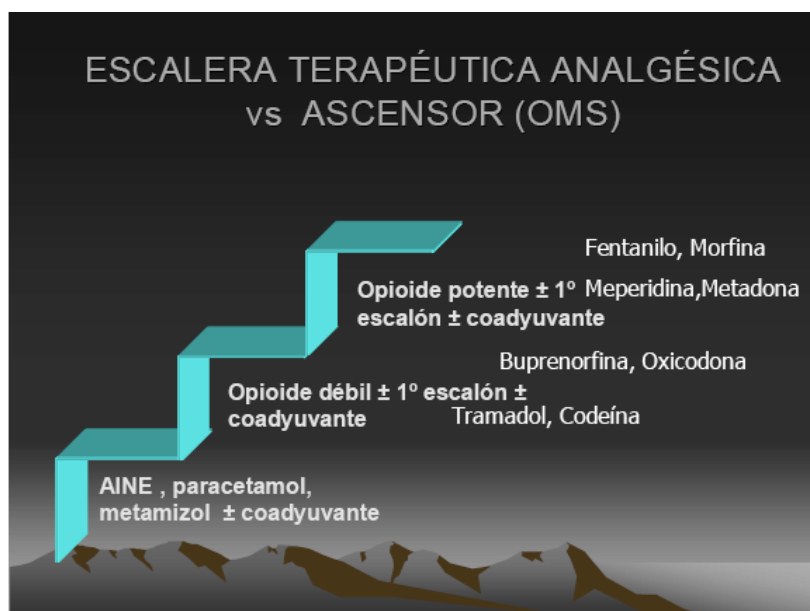


Figura 14. Escalera Analgésica vs Ascensor (OMS)

IV.3.- Mecanismo de acción de los opioides

Los opiáceos ejercen sus acciones farmacológicas a través de la ocupación y posterior activación de los receptores correspondientes (receptores opioides) (Tabla 5). Esta interacción opiáceo-receptor

ocasiona una alteración configuracional de la proteína del receptor, que desencadena la puesta en marcha de toda una serie de procesos bioquímicos responsables de los cambios biológicos que aparecen tras la administración de un opiáceo. Estos procesos biológicos consisten en una hiperpolarización de la membrana celular, secundaria a un aumento en la conductancia del ion K^+ , y en una inhibición de la liberación de neurotransmisores, como consecuencia de una alteración de los canales de Ca^{2+} . Estos dos mecanismos bioquímicos diferentes, responsables del efecto inhibitorio de los opiáceos a nivel celular, han favorecido la hipótesis de una localización presináptica y postsináptica de los receptores opioides, ya que se ha comprobado que las alteraciones del canal de K^+ se inducen por activación de receptores postsinápticos, mientras que la alteración de los canales de Ca^{2+} tienen lugar a nivel presináptico.

Los efectos de los agentes opiáceos, así como de los péptidos endógenos, sobre las neuronas dianas no son directos, sino que se producen a través de cascadas bioquímicas de mensajeros intracelulares. A estos mensajeros intracelulares pertenecientes a las proteínas G, que están unidas a las membranas, segundos mensajeros, como el AMPc o como el Ca^{2+} intracelular y proteínas fosforilizadoras; y añadiendo o quitando grupos fosfatos de todos los tipos de proteínas

neuronales, alteran su función y son las responsables del amplio espectro de respuestas biológicas que se producen en la neurona. En la actualidad, se conoce que la regulación de la unión neurotransmisor-receptor y los procesos de segundos mensajeros comentados forman sólo una pequeña parte de los mecanismos responsables de la respuesta neuronal.

En lo referente a la respuesta celular, las acciones de los opiáceos son, fundamentalmente, inhibitorias, como consecuencia de los eventos bioquímicos comentados (hiperpolarización debida a las modificaciones producidas, tanto en los canales de Ca^{2+} , como en los de K^{+} , o bien por la disminución de la liberación de neurotransmisores). Este efecto inhibitorio puede explicar el efecto analgésico, la producción de depresión del centro respiratorio, el estreñimiento, etc. Sin embargo otros efectos como la euforia, la liberación de prolactina, las náuseas o los vómitos, que son claramente excitadores, se producen como consecuencia de la inhibición de los circuitos inhibitorios. No obstante, algunas acciones de los opioides, muy limitadas, son consecuencia de estimulación directa (Álamo y col., 2004).

Receptor μ	Receptor δ	Receptor κ
Analgesia	Analgesia	Analgesia

supraespinal	supraespinal	supraespinal
Analgesia espinal	Analgesia espinal	Analgesia espinal
Depresión respiratoria	Depresión respiratoria	
Euforia		Disforia
Dependencia	Dependencia	Alucinaciones
Tolerancia	Tolerancia	Tolerancia
Náuseas y vómitos	Náuseas y vómitos	Náuseas y vómitos
Sedación		Sedación
Rigidez muscular		
Miosis		Miosis
Bradicardia	Hipotensión	Hipotensión
↓Motilidad gastrointestinal		
Inhibición diuresis		Aumento diuresis
Liberación prolactina		Inhibición centro apetito
Liberación ACTH	Liberación GH	
Inhibición LH	Inhibición LH	Liberación ACTH
Inhibición testosterona	Inhibición testosterona	Inhibición ADH

Tabla 5. Principales efectos del estímulo de los receptores opioides.

IV.4.- Clasificación de los opioides

Existen diferentes criterios para clasificar a este grupo de fármacos, en función de su origen, potencia analgésica, interacción con receptores específicos, etc.

IV.4.1- En función del origen

La clasificación más clásica es la basada en el origen de los opioides. Así, los opioides pueden ser alcaloides naturales del opio, como la morfina, y codeína, derivados semisintéticos (obtenidos por modificación de la morfina o la tebaína principalmente) o sintéticos, como el fentanilo.

Alcaloides naturales

Morfina y codeína son los principales alcaloides con propiedades analgésicas que pueden extraerse directamente del opio o de la paja de adormidera. La morfina, el principal alcaloide contenido en el opio, es el prototipo de los opiáceos naturales y de muchos opioides. Ejerce una fuerte acción analgésica que se utiliza como parámetro de referencia.

Alcaloides semisintéticos

Los alcaloides semisintéticos se obtienen mediante modificaciones químicas relativamente sencillas de opiáceos naturales como la morfina, codeína o tebaína. Aunque la codeína es un alcaloide natural que se obtiene del opio y de la paja de adormidera, en su mayor parte se fabrica por semisíntesis (por mutilación de morfina). La codeína, a su vez, es la sustancia inicial para la obtención de otros alcaloides semisintéticos, como la hidrocodeína y la hidrocodona.

La tebaína no se utiliza como tal para fines terapéuticos, pero es un importante alcaloide inicial para la fabricación de varios otros opioides, como la oxicodona, la oximorfona, la etorfina y la buprenorfina. También es la sustancia inicial para la síntesis de los derivados “nal-”, a saber: la naloxona, la naltrexona, la nalorfina y la nalbufina; algunos de ellos se utilizan para el tratamiento del envenenamiento y la adicción por opiáceos.

Opioides sintéticos

Como la mayor parte de los opioides, estos compuestos se utilizan sobre todo, pero no exclusivamente, para el tratamiento del dolor. Según sus propiedades farmacológicas (rapidez de inicio de la acción, potencia y duración de los efectos, etc), pueden utilizarse, entre otras aplicaciones, en el tratamiento de dolores crónicos de mayor o menor intensidad o como inductores de la anestesia general. La metadona, por ejemplo, se utiliza también para la desintoxicación y el mantenimiento de personas adictas a la heroína u otros opioides, en vista de su propiedad de prevenir o paliar los síntomas agudos del síndrome de abstinencia asociados a drogas como la morfina.

IV.4.2- En función de su potencia analgésica

Con independencia de su estructura, la clasificación que tiene mayor valor práctico se basa en la capacidad de actuar sobre uno u otro tipo de receptor opioide y en la eficacia analgésica de cada producto o potencia de su acción analgésica, que ha sido una clasificación muy utilizada, en especial desde que se instauró la clásica escalera analgésica de la OMS.

Así, se habla de fármacos analgésicos mayores o potentes, entre los que se encuentra morfina, metadona, buprenorfina (aunque sea un agonista parcial), petidina, fentanilo, remifentanilo, alfentanilo, sufentanilo (que estarían constituidos por sustancias especialmente útiles en el tratamiento de dolores intensos o en anestesia quirúrgica), y de opioides débiles o menores como la codeína, dihidrocodeína, dextropropoxifeno y tramadol (que se emplearían en el abordaje del dolor leve a moderado, solos o asociados junto a los antiinflamatorios no esteroideos, AINEs).

IV.4.3- En función de la relación fármaco-receptor

Por último, se propuso una clasificación basada en la relación fármaco-receptor, que tal vez sea la de mayor relevancia tanto desde el punto de vista farmacológico como clínico, y que se caracteriza por la

actividad y afinidad de estos agentes frente a los receptores opioides. En esta clasificación se contempla la afinidad (capacidad de fijarse sobre el receptor), la actividad intrínseca (capacidad de estimular en mayor o menor medida al receptor), así como el espectro del opioide sobre los tres principales tipos de receptores (μ , δ , κ). Desde un punto de vista clínico, los opioides se clasifican en función de sus efectos comparados con los de la morfina: afinidad similar (agonista), competitiva (antagonista) o mixta (agonista/antagonista) para los mismos lugares receptores (los denominados receptores opioides) en el sistema nervioso central y periférico.

- Los agonistas puros son los opioides que se comportan como agonistas puros o totales sobre receptores opioides μ , mostrando la máxima actividad intrínseca (p.ej., morfina). Estos agentes también pueden ejercer efectos sobre otros receptores opioides, por ejemplo δ o κ , pero la característica primordial es su acción máxima sobre el receptor μ .
- Los agonistas-antagonistas mixtos son los agentes capaces de actuar sobre más de un tipo de receptor opioide. Sobre el receptor μ lo hacen como agonistas parciales o incluso como antagonistas, pero nunca como agonistas puros. Suelen ser agentes que sobre el receptor κ se comportan como

agonistas (p.ej., pentazocina, que es el único comercializado en España). A dosis elevadas, el estímulo de estos receptores suele producir disforia e incluso alucinaciones, por lo que la dependencia a estos agentes, aunque factible, raramente se acompaña de incremento de dosis.

- Los agonistas parciales comprenderían a los opioides que poseen afinidad por los receptores μ , pero exhiben una actividad extrínseca inferior a la de los agonistas puros. Administrados solos, se comportan como agonistas, pero en presencia de un agonista puro pueden comportarse como antagonistas (p.ej., buprenorfina).
- Los antagonistas puros son los opioides que tienen afinidad por los receptores opioides, en especial por el receptor μ , pero carecen de actividad intrínseca (p.ej., naloxona).

IV.5.- MORFINA

Por último, vamos a centrarnos en el estudio de los analgésicos opiáceos y, más concretamente, en la morfina y el tramadol, como principios activos objeto de nuestra memoria.

La morfina sigue siendo el fármaco prototipo y el que más se utiliza para fines terapéuticos.

IV.5.1.- Acciones farmacológicas

IV.5.1.a.- Efectos generales

En la especie humana puede producir sedación y estupor o bien síntomas de bienestar y euforia. El resultado final depende con frecuencia de las circunstancias y ambiente: situación previa de dolor e insomnio, experiencias anteriores (con o sin adicción), etc. La euforia puede ir seguida de indiferencia y reducción de los impulsos y apetitos internos. Dosis crecientes pueden provocar sueño profundo y coma. Dosis muy altas llegan a provocar episodios críticos, con aparición de ritmos rápidos de alto voltaje, paroxísticos, que se acompañan de convulsiones.

IV.5.1.b.- Analgesia

Es su propiedad terapéutica más importante y sirve para aliviar o suprimir dolores de gran intensidad, cualquiera que sea su localización. La analgesia es consecuencia de la acción de la morfina sobre los receptores (principalmente μ) situados a diversos niveles del

sistema nervioso central, tanto sobre el sistema aferente que vehicula la información nociceptiva como sobre el sistema eferente que la controla.

IV.5.1.c.- Depresión respiratoria

La morfina actúa directamente sobre receptores μ y δ , situados en neuronas de los núcleos bulbo-protuberanciales que participan en la función del centro respiratorio. En el hombre deprime especialmente el ritmo respiratorio, enlenteciéndolo hasta llegar a producir apnea con dosis muy altas, o favorece la instauración de ritmos anormales. Además, provoca una pérdida de sensibilidad del centro respiratorio al CO_2 , manteniendo en cambio la sensibilidad a la hipoxia, pudiendo aparecer acidosis respiratoria.

Determinadas enfermedades que requieren un mayor esfuerzo respiratorio de los músculos intercostales (enfisema, obesidad, cifoescoliosis, etc.) potencian la acción depresora. El grado de depresión dependerá tanto de la dosis como de la vía; es máxima por vía intravenosa e intraventricular y mínima si la administración es oral o epidural.

Como la mayoría de los opiáceos, la morfina deprime la tos por afectar a las neuronas respiratorias que integran los movimientos

convulsivos de la tos, y produce un cierto grado de broncoconstricción, en parte por acción vagal y en parte por liberación de histamina.

IV.5.1.d.- Acciones neuroendocrinas

Tanto el hipotálamo como la hipófisis en todas sus partes contienen representación de las tres familias de péptidos opioides. La morfina puede modificar la secreción hipofisaria por actuar tanto a nivel hipotalámico como hipofisario. Estimula la secreción de ACTH, somatotropina, prolactina, β -MSH y hormona antidiurética, e inhibe la secreción de TSH, LH y FSH. No obstante, a las dosis empleadas normalmente en clínica, estas acciones endocrinas no suelen tener especial importancia.

IV.5.1.e.- Otras acciones centrales

- La morfina en la especie humana suele producir hipotermia de origen hipotalámico.

- Miosis de gran intensidad por acción desinhibidora sobre el núcleo de Eddinger-Westphal perteneciente al oculomotor.

- Induce con frecuencia náuseas y vómitos, sobre todo tras la primera administración y si el sujeto está en posición erecta.

- En ocasiones y dependiendo de la dosis, puede producir hipertonia muscular de origen central.

IV.5.1.f.- Efectos cardiovasculares

Son complejos porque intervienen factores neurógenos, cardíacos y vasculares, así como el estado fisiológico de la persona (si la ventilación pulmonar está asegurada, la función cardiovascular resiste mucho a la acción de la morfina). Puede producir bradicardia, más apreciable si la administración es intravenosa; induce también hipotensión por acción sobre el centro vasomotor así como por vasodilatación arterial y venosa. Sólo a dosis muy elevadas o en situaciones de shock, puede perjudicar seriamente la función cardiovascular. Parte de su acción a este nivel puede deberse a la liberación de histamina.

IV.5.1.g.- Efectos gastrointestinales y urinarios

Además de las náuseas y vómitos señalados, la morfina provoca un aumento del tono miógeno en el tracto gastrointestinal, incluidos los esfínteres, y una inhibición de la actividad neurógena que repercute en

una depresión de la motilidad gastrointestinal. Como consecuencia aparece retraso en el vaciamiento gástrico, estreñimiento y aumento de la depresión en vías biliares con hipertonía del esfínter de Oddi. En estos efectos intervienen una acción central y otra periférica.

Induce con frecuencia retención urinaria debido a una inhibición de la respuesta refleja de la micción.

IV.5.2.- Desarrollo de tolerancia

Los opiáceos desarrollan tolerancia a muchos de sus efectos con mucha rapidez; se manifiesta por el acortamiento en la duración de la acción o por una disminución en la intensidad de la respuesta, lo que obliga a aumentar la dosis. La velocidad con que se desarrolla no es homogénea, sino que varía según el efecto que se considere. En general, se desarrolla más fácilmente a las acciones depresoras (analgesia, depresión respiratoria, euforia, sedación, hipotensión) y en menor grado a la miosis y a la acción gastrointestinal. La rapidez con que aparece la tolerancia es tanto mayor cuanto más intensamente actúa el opiáceo.

La naturaleza de esta tolerancia es farmacodinámica y depende del tipo de receptor opioide activado; pero en la tolerancia no se suelen apreciar cambios en el número o afinidad de los receptores, por lo que

el fenómeno parece depender de mecanismos intracelulares que modifican o tratan de equilibrar la alteración inducida en la célula tras la activación del receptor: es un fenómeno post-receptor.

Existe tolerancia cruzada entre los opiáceos que activan un mismo receptor opioide; por tanto, si una acción es inducida por la activación de cualquiera de dos receptores y se desarrolla tolerancia al agonista de uno de ellos, aún se podrá obtener el efecto mediante el uso del agonista del otro tipo de receptor.

IV.5.3.- Características farmacocinéticas

• Absorción

Es preciso considerarlas atendiendo a las múltiples vías de administración. Por vía parenteral (i.m.), que es la habitual en dolores agudos intensos, el tiempo máximo de absorción (t_{max}), es de 10-20 minutos y por vía oral, reservada a los dolores crónicos, es de 15-60 minutos. Destaca el abundante fenómeno de primer paso hepático, por lo que la biodisponibilidad es muy variable en función de cada sujeto y su estado hepático.

Por vía espinal alcanza elevadas concentraciones en líquido cefalorraquídeo que se mantienen durante varias horas, si bien pasa también a la circulación general en concentraciones suficientes como

para producir efectos sistémicos. También puede absorberse por vía sublingual (usada sólo en situaciones muy terminales) y rectal.

Los opiáceos se absorben fácilmente por el tracto gastrointestinal, también por la mucosa nasal y del pulmón y mediante la inyección subcutánea o intramuscular. Con la mayoría de los opiáceos, incluso con la morfina, el efecto de una dosis dada es menor por vía oral que parenteral, debido a un significativo metabolismo inicial en el hígado. La forma de la curva tiempo-efecto también varía según la ruta de administración, de modo que la duración de la acción es algo más larga cuando la administración es oral.

Cuando la morfina y la mayoría de sus análogos se dan de forma intravenosa, actúan rápidamente. Sin embargo, los compuestos más liposolubles tienen una acción que se inicia algo más rápidamente tras la administración subcutánea, debido a las diferencias en la velocidad de absorción, no obstante, la duración de la acción muestra poca variación.

- **Distribución**

En los adultos y jóvenes la vida media plasmática de este fármaco es de 2.5 a 3 horas aproximadamente (*Stanski y col., 1978*) y puede ser mayor en los ancianos. Además, por vía oral puede

prolongarse notablemente. Pasa bien la barrera placentaria y con dificultad la hematoencefálica.

Cuando las concentraciones terapéuticas de la morfina están presentes en el plasma, aproximadamente un tercio de la droga está unida a proteínas (*Toque y col., 1980; Hanks, 1991*). La morfina libre sale rápidamente de la sangre y se acumula en los tejidos parenquimatosos del riñón, pulmón, hígado y bazo. El músculo esquelético tendrá un nivel algo menor de morfina, pero debido a su masa representa la fracción principal de fármaco en el organismo. La morfina no persiste en los tejidos y 24 horas después de la última dosis las concentraciones titulares son muy bajas.

- **Metabolización**

Su eliminación es casi exclusivamente por metabolización en el hígado: glucuronización en C3, N-desalquilación, N-oxidación y conjugación con grupos sulfato y metilo. La edad y la enfermedad hepática reducen la velocidad de metabolización y alargan la vida media.

El modo principal de desintoxicación es su conjugación con el ácido glucurónico, de manera que tras su administración intravenosa las concentraciones de morfina libre en los tejidos disminuyen

progresivamente, en tanto que las de morfina conjugada (morfina-3-monoglucurónico, morfina-6-monoglucurónico y morfina-3, 6-diglucurónico) aumentan y luego disminuyen más lentamente.

- **Excreción**

Pequeñas cantidades de morfina libre y cantidades mayores de conjugada se encuentran en la orina y representan la mayor parte de la droga administrada. Aunque trazas de morfina son detectables en la orina durante más de 48 horas, el 90% de la excreción total se produce durante el primer día. La principal vía de eliminación de los metabolitos es la filtración glomerular. Aproximadamente del 7 al 10% aparece eventualmente en las heces, y proviene casi exclusivamente de la bilis como morfina conjugada. La circulación enterohepática de la morfina y de sus glucurónicos existe y explica probablemente la presencia de pequeñas cantidades de morfina en la orina durante varios días después de la última dosis.

IV.5.4.- Reacciones adversas e interacciones

Se deducen claramente de sus acciones farmacológicas. En el empleo cotidiano con fines terapéuticos destacan las náuseas y vómitos, mayores cuando el enfermo está en posición de pie o ambulatoria. Aparece inicialmente en el 50% de los pacientes, pero se crea tolerancia

con rapidez. La miosis, el estreñimiento y la retención urinaria son también frecuentes, a ellos no se produce tolerancia y pueden requerir medidas coadyuvantes. La depresión respiratoria varía según las circunstancias y está sometida a la acción potenciadora de neurolépticos, anestésicos y otros fármacos depresores. También los inhibidores de la MAO potencian la acción depresora de los opiáceos. Se tendrá especial cuidado en enfermos con patología respiratoria, hepática y ancianos (por la menor metabolización). Puede también producir hipertensión endocraneal e hipotensión postural.

Por sobredosificación aparece estupor que evoluciona hacia el coma, depresión respiratoria que llega a la apnea y alteraciones metabólicas secundarias (acidosis respiratoria). Su tratamiento requiere el empleo de naloxona, que tiene además valor diagnóstico, a la dosis de 0.4 mg por vía i.v., que se puede repetir varias veces a intervalos cortos. Hay que vigilar posibles signos cardiovasculares de rebote (hipertensión, taquicardia), o la aparición de un síndrome de abstinencia en un drogadicto. Son necesarias otras medidas de apoyo respiratorio, electrolítico. Además, hay que considerar el cuadro psicológico y sociológico por el que se ha llegado a la sobredosificación.

Si no se dispone de naloxona, se emplea la nalorfina a la dosis de 3-5 mg a intervalos cortos hasta un total de 40 mg. La nalorfina no sirve para antagonizar la sobredosificación producida por los agonistas-antagonistas mixtos.

IV.6.-TRAMADOL

El tramadol es un analgésico que se sitúa por su potencia analgésica en el segundo escalón.

Es una fenilpiperidina ciclohexano, con cierta similitud estructural a la codeína, y como ésta, tiene una débil-moderada afinidad por los receptores opioides, más por los μ que por los δ o κ . Pero además tiene una acción central sobre las vías inhibitorias descendentes, que se basa en la inhibición de la recaptación de serotonina y noradrenalina.

El tramadol es una mezcla racémica de sus dos enantiómeros, positivo y negativo, cada enantiómero presenta una potencia diferente para unirse a los receptores μ y para inhibir la recaptación de aminas (*Ide, 2006*). Cuando se combinan provocan una acción complementaria y sinérgica en relación al efecto antiálgico. En cambio, los enantiómeros ejercen efectos opuestos en relación a la depresión respiratoria o a la actividad anticinésica gastrointestinal, por lo que la

combinación produce, en conjunto, menor depresión respiratoria y anticinésica que otros opioides. Se ha comparado con diferentes analgésicos tanto del 1^{er} escalón como del 2^o y del 3^{er} escalón. Comparado con la morfina muestra menor potencia analgésica y menores efectos secundarios, siendo una de sus ventajas su baja adicción y tolerancia, por lo que lo consideramos un medicamento de elección en el tratamiento del dolor crónico.

IV.6.1- Características farmacocinéticas

El tramadol se absorbe bien por vía digestiva, siendo su biodisponibilidad del 70% y su unión a proteínas del 4% (poca posibilidad de interacción). Pasa a través de la barrera placentaria.

Comienza su acción a los 20 minutos. Se metaboliza en su mayoría vía hepática por desmetilación-conjugación, dando metabolitos activos, uno de ellos el o-desmetiltramadol, con una semivida superior a la del tramadol. Esta desmetilación requiere la acción del citocromo CYP2D6 por lo que está sometida a polimorfismos genéticos. Su eliminación es mayoritariamente por vía renal (90%) y por heces en un 10%.

IV.7.- PARACETAMOL

Conocido como acetaminofén (Acetaminophen), el paracetamol tiene propiedades analgésicas y antipiréticas pero sin apenas efecto antiinflamatorio. Se desconoce el mecanismo exacto de la acción del paracetamol aunque se sabe que actúa a nivel central. Se cree que aumenta el umbral del dolor inhibiendo las ciclooxigenasas en el sistema nervioso central, enzimas que participan en la síntesis de las prostaglandinas. Sin embargo el paracetamol no inhibe las prostaglandinas en los tejidos periféricos, razón por la cual carece de actividad antiinflamatoria. El paracetamol también parece inhibir la síntesis y/o los efectos de varios mediadores químicos que sensibilizan los receptores del dolor a los estímulos mecánicos o químicos.

Los efectos antipiréticos del paracetamol tienen lugar bloqueando el pirógeno endógeno en el centro hipotalámico regulador de la temperatura inhibiendo la síntesis de las prostaglandinas. El calor es disipado por vasodilatación, aumento del flujo sanguíneo periférico y sudoración.

IV.7.1.- Características farmacocinéticas

Después de la administración oral el paracetamol se absorbe rápida y completamente por el tracto digestivo. Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan a los 30-60 minutos, aunque no están

del todo relacionadas con los máximos efectos analgésicos. El paracetamol se une a las proteínas del plasma en un 25%. Aproximadamente una cuarta parte de la dosis experimenta en el hígado un metabolismo de primer paso. También es metabolizada en el hígado la mayor parte de la dosis terapéutica, produciéndose conjugados glucurónicos y sulfatos, que son posteriormente eliminados en la orina. Entre un 10-15% de la dosis experimenta un metabolismo oxidativo mediante las isoenzimas del citocromo P450, siendo posteriormente conjugado con cisteína y ácido mercaptúrico. Después de una sobredosis, en presencia de malnutrición, o de alcoholismo existe una depleción hepática de los glucurónidos y sulfatos por lo que el paracetamol experimenta el metabolismo oxidativo que es el más tóxico, a través del sistema enzimático CYP2E1 y CYP1A2. También puede ocurrir este metabolito cuando el paracetamol se administra con inductores hepáticos.

La semi-vida de eliminación del paracetamol es de 2-4 horas en los pacientes con la función hepática normal, siendo prácticamente indetectable en el plasma 8 horas después de su administración. En los pacientes con disfunción hepática la semi-vida aumenta sustancialmente.

IV.7.2.- Combinación tramadol/paracetamol

Se ha demostrado que tanto en el dolor agudo como en el crónico la combinación tramadol/paracetamol tiene propiedades sinérgicas, aumentando la eficacia analgésica sin aumentar los efectos secundarios. Este es el motivo por el que actualmente, podemos encontrar presentaciones que combinan bajas dosis de opioides que no serían efectivas en sí mismas, con un analgésico no opiáceo, consiguiéndose un compuesto eficaz y seguro.

La combinación tramadol/paracetamol permite el tratamiento sintomático del dolor moderado a intenso, agudo y crónico, con una relación eficacia/ efectos indeseables muy alta, permitiendo reducir las dosis de tramadol necesarias para obtener una analgesia equivalente y disminuyendo, por tanto, los efectos adversos, facilitando el cumplimiento del tratamiento y convirtiéndose por ello en un fármaco que juega un papel muy importante en el tratamiento del dolor.

II. OBJETO Y PLAN DE TRABAJO

La producción de suspensiones farmacéuticas a escala industrial requiere determinadas consideraciones tanto en el diseño como en la estabilidad física del sistema. Sabemos que una suspensión es un sistema termodinámicamente inestable, por tanto, desde un punto de vista galénico, interesa diseñar una suspensión que no sedimente fácilmente y que se pueda reconstruir con facilidad mediante una ligera agitación. Además, interesa que la redispersión originada por dicha agitación dé lugar a un producto homogéneo. En resumen, es necesario que la suspensión sea físicamente estable.

Por tanto, la elaboración de la formulación definitiva resulta enormemente compleja y hay que poner especial atención en la elección de aditivos, controlar el pH, cuidar el olor, sabor, etc. Dependiendo de la vía de administración y de las propiedades fisicoquímicas, variará la composición final de la fórmula.

El objetivo definitivo de esta memoria es la puesta a punto de dos formas farmacéuticas líquidas de administración oral que permitan la liberación sostenida del fármaco, clorhidrato de morfina y tramadol/paracetamol respectivamente. Partimos de una suspensión

coloidal desarrollada previamente por nuestro grupo (Morales y col., 2004), siendo el vehículo transportador del fármaco un pseudolátex de etilcelulosa, de manera que el principio activo queda microencapsulado por las partículas poliméricas.

Para llevar a cabo este objetivo, nuestro planteamiento puede resumirse del siguiente modo:

1.- Preparación y caracterización de las micropartículas:

Una vez sintetizado, el pseudolátex es sometido a una exhaustiva caracterización que asegure su homogeneidad y su reproducibilidad en el laboratorio. Además, nos interesa conocer la capacidad de incorporación del fármaco por las micropartículas. Con esta finalidad recurrimos a diversas técnicas:

- Caracterización microfotográfica.
- Rendimiento de la encapsulación
- Espectroscopía de infrarrojos
- Análisis calorimétrico.

2.- Diseño de la fórmula definitiva:

Debemos conseguir un preparado final estable en el que se disponga de fármaco libre a partir del complejo fármaco-polímero y que pueda administrarse como forma farmacéutica líquida oral.

El objetivo es mejorar la estabilidad de la suspensión, contrarrestando así la inestabilidad física del sistema, factor que conduce a la pérdida de uniformidad en la dosificación de la forma farmacéutica.

3.- Ensayos de estabilidad: sedimentación y estudios reológicos.

El comportamiento ideal que buscamos es pseudoplástico porque presenta viscosidades altas a bajas velocidades de deformación (almacenamiento) y viscosidades bajas a elevadas velocidades de deformación (agitar y verter). Para conseguirlo recurrimos a viscosizantes tixotrópicos.

4.- Ensayos de liberación “in vitro”.

Usaremos células tipo Franz para estudiar el paso del principio activo desde la fórmula farmacéutica hasta un medio receptor a pH intestinal.

5.- Mecanismo por el que las micropartículas liberan el principio activo.

Resulta interesante determinar cómo el fármaco sale de las partículas poliméricas después de la administración oral y cómo es liberado al tracto gastrointestinal. Para ello empleamos la ecuación de Peppas y col. (Peppas y col., 1989).

6.- Estudios de citotoxicidad y cesión en una monocapa de células intestinales.

Las células Caco-II han sido ampliamente aceptadas como un potente modelo “in vitro” para realizar un primer screening de la absorción del principio activo en el intestino.

III.- MATERIAL Y MÉTODOS

III.1.- MATERIAL

III.1.1.- CLORHIDRATO DE MORFINA

El clorhidrato de morfina utilizado ha sido suministrado por Alcaliber, S.A. (Madrid, España) y cumple los requisitos de la Farmacopea Europea.

Han sido propuestas más de veinte estructuras para la morfina, pero la que, actualmente se acepta es la propuesta por Gulland y Robinson en 1925. Esta estructura fue confirmada en 1956 por Gates y Tschudi que consiguieron la síntesis total de esta molécula.

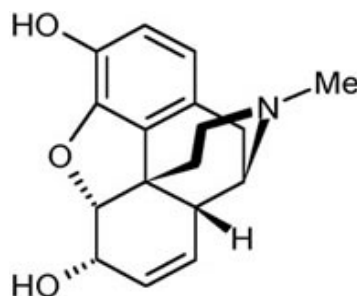


Figura 15. Estructura química de la morfina.

Fórmula molecular: C₁₇H₁₉NO₃, ClH, H₂O

III.1.1.a.- DESCRIPCIÓN DEL CLORHIDRATO DE MORFINA

» Características organolépticas

Se presenta como polvo cristalino blanco o casi blanco. Es inodoro y se caracteriza por tener un ligero sabor amargo.

Suele encontrarse cristalizado con tres moléculas de agua. La sal trihidratada pierde el agua de cristalización a 100°C y, normalmente, pasa a ser amarillenta.

» Propiedades físicas del clorhidrato de morfina

• Solubilidad

Un gramo de clorhidrato de morfina se disuelve en 17,5 ml de agua hirviendo, 52 ml de alcohol y 6 ml de alcohol de 60°C. Además es poco soluble en glicerol e insoluble en cloroformo y éter. Una parte es soluble en 24 partes de agua, 100 partes de alcohol y 10 partes de glicerina.

Las soluciones acuosas presentan un pH de aproximadamente 5, pudiendo esterilizarse al autoclave, calentando a una temperatura de 98-100°C durante 30 minutos o por filtración con adición de un conservante.

Peso molecular: 357,8 g/mol (forma trihidratada)

• Intervalo de fusión

La morfina funde a 254-256, 4°C con descomposición, mientras que el clorhidrato de morfina lo hace aproximadamente a 200°C.

• Intervalo de pH y constante de disociación

pH≈5

pKa: 8,0- 9,0 a 20°C

III.1.2.- TRAMADOL

El clorhidrato de tramadol utilizado ha sido suministrado por Fluka Biochemica, (Suiza) y cumple los requisitos de la Farmacopea Europea.

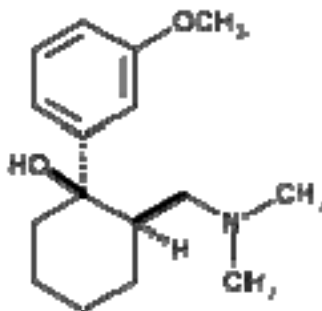


Figura 16. Estructura química del tramadol

Fórmula molecular: C₁₆H₂₆ClNO₂

III.1.2.a.- DESCRIPCIÓN DEL CLORHIDRATO DE TRAMADOL

» **Definición**

Hydrocloruro de (1RS, 2RS)-2[(dimetilamino)metil]-1-(3-metoxifenil)ciclohexanol.

» **Características organolépticas**

El clorhidrato de tramadol se presenta como un polvo cristalino blanco.

» **Propiedades físicas**

• **Solubilidad**

Fácilmente soluble en agua y en metanol, muy poco soluble en acetona.

Peso molecular: 299,8 g/mol

• **Intervalo de fusión**

El clorhidrato de tramadol funde entre 180 y 184°C.

• **Detección**

Mediante espectrofotometría de absorción en el ultravioleta a 270 nm.

• **Conservación**

Protegido de la luz.

III.1.3.- PARACETAMOL

El paracetamol utilizado ha sido suministrado por Guinama, (Valencia, España) y cumple los requisitos de la Farmacopea Europea.

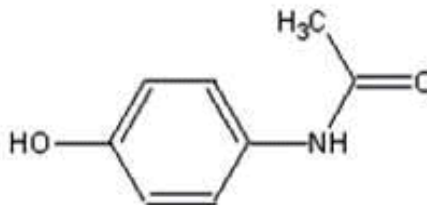


Figura 17. Estructura química del paracetamol

Fórmula molecular: C₈H₉NO₂

III.1.3.a.- DESCRIPCIÓN DEL PARACETAMOL

» Definición

N-(4-Hidroxifenil)acetamida

» Características organolépticas

El paracetamol se presenta como un polvo cristalino blanco.

» Propiedades físicas

• Solubilidad

Bastante soluble en agua, fácilmente soluble en etanol al 96 por ciento y muy poco soluble en cloruro de metileno

Peso molecular: 151,2 g/mol

- **Intervalo de fusión**

El paracetamol funde entre 168 y 172°C.

- **Detección**

Mediante espectrofotometría de absorción en el ultravioleta a 245 nm.

- **Conservación**

Conservar en envases impermeables, resistentes a la luz y almacenar a temperatura ambiente controlada.

III.1.4.- ETILCELULOSA

Los polímeros de éteres de celulosa tienen gran aplicación en la actualidad, que abarca desde productos termoplásticos solubles en medios orgánicos hasta aditivos alimenticios solubles en agua. Aunque en la industria farmacéutica se usan todo tipo de polímeros, los más usados son los de celulosa. Este interés creciente por estos látex, ha hecho que nos centremos en la elaboración de un pseudolátex a partir de polímeros de etilcelulosa (Rekhi y Jambherkar, 1995).

La diferencia en las propiedades físicas de los productos de etilcelulosa reside, en su mayoría, en las variaciones del grado de eterificación. La sustitución de etoxilos de productos comerciales varía desde 2.2 hasta 2.6 grupos etoxilo por unidad de glucosa anhidra. Esto

corresponde a un contenido en etoxilos del 44.5 a más del 49% (Greminger, 1978).

Los productos de etilcelulosa son, además, producidos con distinto grado de viscosidad, de modo que la viscosidad aumenta a medida que lo hace la longitud de la molécula de polímero (Rekhi y Jambherkar, 1995).

La etilcelulosa utilizada es la 9004-57-3 suministrada por ICN Ohio (USA).

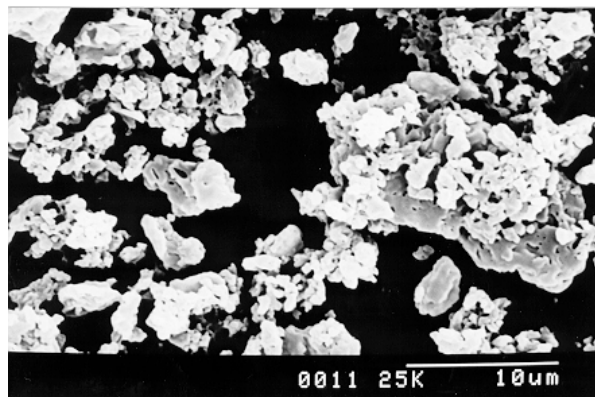


Figura 18. Microfotografía de etilcelulosa.

III.1.4.a- PROPIEDADES GENERALES DE LA ETILCELULOSA

• Solubilidad

La etilcelulosa es soluble en una gran cantidad de disolventes: ésteres, hidrocarburos aromáticos, alcoholes, cetonas y disolventes

clorados. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que es más soluble en disolventes que tengan casi la misma energía de cohesión, densidad o solubilidad que ella. Es insoluble en agua, glicerina y propilenglicol. El parámetro de solubilidad varía con el grado de sustitución (DS), como puede observarse en la tabla 4 (Burell, 1975):

<i>DS</i>	<i>% P/P en etoxilos</i>	<i>Solubilidad en disolventes</i>		
		Poco hidrogenados	Moderadamente	Altamente hidrogenados
2,28-2,38	45,5-46,8	0	17,4-22,1	19,4-23,3
2,42-2,53	47,5-49,0	16,6-22,7	15,1-22,1	19,4-29,7
> 2,53	> 50,0	17,4-19,4	16,0-20,1	19,4-23,3

Tabla 6. Solubilidad de la etilcelulosa según el grado de sustitución

Las soluciones de etilcelulosa en hidrocarburos aromáticos están dotadas de una gran viscosidad. Por otro lado, disolventes como el metanol y el etanol dan lugar a soluciones de más baja viscosidad y cuyas películas presentan escasa aplicación práctica. Las mezclas de hidrocarburos aromáticos con metanol o etanol proporcionan soluciones de menor viscosidad que las obtenidas a partir de un solo

disolvente, sin embargo sus películas están dotadas de una buena resistencia.

Los ésteres alifáticos de bajo peso molecular y cetonas originan soluciones de baja viscosidad y forman películas de buena fuerza y extensibilidad. Pero es preferible, en la mayoría de los casos, usar estos disolventes con una pequeña cantidad de alcoholes de menor peso molecular debido a la poca viscosidad obtenida de tales mezclas.

La cantidad de alcohol requerida para obtener una solución con una viscosidad mínima para una determinada concentración de etilcelulosa es proporcional al número de grupos hidroxilos que quedan sin sustituir (Rekhi y Jambherkar, 1995).

- **Temperatura de fusión**

Es la temperatura a la cual una película colocada sobre una barra de metal caliente comienza a ablandarse. Esta propiedad es importante porque da idea del grado de resistencia de las películas a las altas temperaturas de secado o a las del proceso de sellado por calentamiento en envases blister.

Esta temperatura de ablandamiento en el caso de etilcelulosa es de 140 °C. Además, está relacionada con el grado de sustitución del

polímero, estando el mínimo a un DS de 2,55 (48% de contenido en etoxilos) (Rekhi y Jambherkar, 1995).

- **Estabilidad**

La etilcelulosa es el más estable de los derivados de la celulosa. Es resistente a álcalis (tanto diluidos como concentrados), pero sensible a los ácidos. No es higroscópica, tampoco le afecta la luz ultravioleta ni la visible y no se ve alterada por las altas temperaturas.

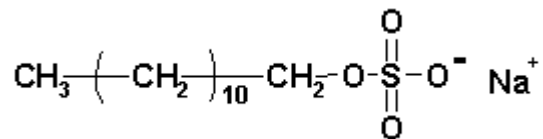
No obstante, si las soluciones de etilcelulosa no se estabilizan, en presencia de luz solar, ultravioleta o altas temperaturas pueden sufrir degradación oxidativa. Por lo tanto, suelen añadirse estabilizadores del calor (como octifenol e hidroxibutiladofenol) y de la luz (2,4-dihidroxibenzofenona). Generalmente, se utilizan combinaciones de 1-2% de antioxidante más 0.5-1% de absorbente de ultravioleta. En formulaciones pigmentadas no es necesario adicionar estabilizadores de la luz.

A las formulaciones de etilcelulosa, también debería añadirse aceptores de ácidos tipo epoxi, sobre todo, cuando contengan componentes como resinas cloradas y plastificantes (Rekhi y Jambherkar, 1995).

III.1.5.- OTROS MATERIALES UTILIZADOS

A.- Lauril sulfato sódico

Fórmula estructural:



Es soluble en agua, dando opalescencia a la solución, parcialmente soluble en alcohol y, prácticamente, insoluble en cloroformo y éter. Su HLB es de aproximadamente 40.

En lo referente a su estabilidad, es estable a pH 7 y, cuando el pH disminuye por debajo de 4 sufre hidrólisis, que se acelera a pH < 2.5.

Es incompatible con materiales catiónicos y ácidos de pH < 2.5.

Tiene propiedades bacteriostáticas con Gram positivos, pero no es efectivo con los Gram negativos. Es capaz de potenciar la actividad fungicida de algunos compuestos, por ejemplo el sulfatiazol.

Sus aplicaciones son: emulsionante aniónico, humectante en dentífricos, detergente en champús, limpiador tónico y solubilizante a concentraciones por debajo de su concentración micelar crítica (CMC = $8.2 \cdot 10^{-3}$).

B.- n-Decano

Es un hidrocarburo alifático saturado:



Este compuesto se utiliza en las formulaciones como disolvente adicional ya que permite aumentar la estabilidad del sistema. Estos aditivos se suelen emplear en proporciones que van del 0.2 al 12% y, preferentemente, de 0.4 a 6% por peso de la fase polimérica.

Además, será relativamente insoluble en agua, tendrá un peso molecular no demasiado grande (preferentemente de 110 a 500), y puede incluirse tanto en el medio acuoso como en la fase polimérica, antes de su mezcla. Los n-alcanos, como el n-decano suelen incorporarse a la fase polimérica (en la preparación de pseudolátex).

Actúa inhibiendo la sedimentación, por lo que debe ser inerte y no volátil bajo las condiciones en las que se lleva a cabo la retirada de disolvente (Vanderhoff y col., 1979).

C. Goma Xántica (E-415)

La goma xántica ha sido suministrada por SBI System Bio-Industries, S.A (Barcelona, España). Es un polisacárido aniónico de alto peso molecular producido por la fermentación de un cultivo de

carbohidratos de *Xanthomonas campestris*, purificada luego por la recuperación con alcohol isopropílico, secada y molida. Contiene D-glucosa y D-manosa como las unidades de hexosa dominantes, junto con ácido D-glucurónico y se prepara con sal sodio, potasio o calcio (Real Farmacopea Española 2005, 3ª Ed.).

Se presenta como polvo blanco o amarillento que fluye fácilmente, es soluble en agua (formando una disolución muy viscosa) y, prácticamente, insoluble en disolventes orgánicos.

D. Carbopol® 934-P

El carbopol ha sido suministrado por Quimidroga S.A. (Barcelona, España). Se presenta como un polvo blanco, sedoso, ácido higroscópico, con olor característico. Es un polímero sintético de alto peso molecular del ácido acrílico combinado con alil éteres de sacarosa o con alil éteres de pentaeritritol. Contiene no menos de un 56,0% y no más de un 68,0% de grupos carboxílicos, calculados con respecto a la sustancia desecada.

E. Carboximetilcelulosa sódica 110-200 + Avicel

La carboximetilcelulosa sódica ha sido suministrada por Labor Tecnic (Barcelona, España). Es la sal sódica de una celulosa

parcialmente O- (carboximetilada). Se encuentra en diferentes grados de polimerización, que determina la viscosidad de sus soluciones. Se presenta en forma de polvo granuloso blanco o casi blanco, higroscópico tras su desecación, inodoro o casi inodoro, y con sabor mucilaginoso suave. Fácilmente dispersable en agua, originando disoluciones coloidales. Una disolución acuosa coloidal al 1% tiene un pH de 6,0 – 8,0. Se trata de un agente viscosizante, empleado como suspensor de polvos insolubles en preparaciones acuosas, tanto para su utilización oral y parenteral como para su aplicación tópica. Concentraciones elevadas, del 4 – 6%, consiguen un grado de viscosidad medio útil en la elaboración de geles y pastas, que se emplean como bases de formulación.

F. Sulfito de sodio anhidro

Es un polvo blanco, fácilmente soluble en agua y muy poco soluble en alcohol. Lo utilizamos en la preparación de la fórmula como conservante y antioxidante y ha sido suministrado por Montplet & Esteban S.A. (Barcelona, España).

G. Kathon CG

El kathon CG (Cosmetic Grade) es un preservativo (biocida) resultante de la mezcla de dos isotiazolinonas y ha sido suministrado por ISISA, (Barcelona, España). Su composición es: 1,5% de ingrediente activo, 1,125% de MI (2 metil 4 isotiazolin 3 ona), 0,375% de MCI (5 cloro-2 metil 4 isotiazolin 3 ona), 23% de estabilizadores (cloruro y nitrato de magnesio) y 75,5% de agua. Es un gran agente antimicrobiano con actividad ante bacterias Gram positivas y Gram negativas, así como hongos y levaduras, propiedades difíciles de conseguir con otros productos similares, (Conde-Salazar y col., 1998).

H. Dow Corning 245

Suministrado por Dow Corning S.A., Parc Industrial (Barcelona, España). Es un polidimetilcicloxilano que actúa dispersando y previniendo la formación de burbujas reduciendo la tensión superficial de las mismas. Es un agente antiespumante.

I. Cloruro Cálcico

Se presenta como un polvo cristalino blanco o gránulos, higroscópico, inodoro y con un sabor amargo, salino y ardiente. Ha sido suministrado por Guinama S.L.U (Valencia, España). A una

humedad relativa del 10-30% es higroscópico y deliquescente con una humedad mayor. Cada gramo de cloruro de calcio dihidratado representa aproximadamente 6,8 mmol de calcio y 13,6 mmol de cloruro. Unos 3,67 g de cloruro de calcio dihidrato equivalen aproximadamente a 1g de calcio.

J. Agua

El agua utilizada en la preparación del pseudolátex fue destilada y desionizada en un lecho mixto de intercambio iónico en cuya salida existe un filtro de 0.2 μm (Milli-Q Reagent Water System, Milipore, USA).

K. Reactivos

Tanto los disolventes orgánicos utilizados en la preparación del látex, como el resto de los reactivos son de calidad analítica y han sido suministrados por Panreac (España).

III.2.- MÉTODOS EXPERIMENTALES

III.2.1.- Estudio microfotográfico

La caracterización del tamaño y forma de las partículas, así como la determinación de sus características de superficie, se ha realizado mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).

Las muestras fueron examinadas por microscopio de barrido, Hitachi S-5-10, usando metalización de oro. La técnica se realiza en dos operaciones seguidas, con una orientación angular entre ellas de 30° para mejorar la visualización.

III.2.2.- Espectroscopía de infrarrojos

La espectroscopía de infrarrojos está ampliamente reconocida como un potente método en la caracterización de una amplia variedad de materiales como polímeros, sustancias biológicas y semiconductores.

La radiación infrarroja se encuentra localizada en el espectro electromagnético entre la zona del visible y la zona de microondas. Una molécula orgánica absorbe y convierte la radiación infrarroja entre 4000 cm^{-1} y 400 cm^{-1} (zona de gran interés en Química Orgánica) en energía de vibración molecular. Esta absorción es cuantificable y el

espectro aparece en forma de bandas porque un cambio simple de energía vibracional es acompañado por diversos cambios de energía rotacional. Las posiciones de las bandas en el espectro de infrarrojos se suelen presentar en función del número de ondas (κ), y las intensidades de las bandas pueden expresarse como transmitancia (T) o absorbancia (A).

Para la obtención del espectro se utilizó un espectrofotómetro de infrarrojos (Nicolet 20 SXB, USA), con una resolución de 2 cm^{-1} . La técnica implica la división de una radiación que contiene todas las longitudes de onda (en nuestro caso: $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$) en dos rayos. Uno tiene un camino óptico fijo y el otro variable (mediante un espejo móvil). La superposición de ambos rayos dará lugar a un patrón de interferencias que por transformada de Fourier se convierte en un punto en el dominio de la frecuencia. La transformación de Fourier a sucesivos puntos a lo largo de esta variación da lugar a un espectro de infrarrojos completo. El paso de esta radiación a través de una muestra expone al compuesto a una banda amplia de energías, generándose un completo espectro de infrarrojos.

III.2.3.- Análisis calorimétrico

El análisis térmico permite caracterizar y diferenciar entre distintos compuestos, además, podemos determinar varios efectos térmicos de forma rápida, sencilla y sin disolventes. De esta forma, se consigue la caracterización definitiva de una sustancia con pocos miligramos (presencia o no de aditivos, polimorfismo, etc.).

Esta técnica mide el flujo de calor o, lo que es lo mismo, el calor absorbido por el material a analizar. Este análisis de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) se ha realizado en un dispositivo Mettler FP85, en un rango de temperatura de 50 a 300° C, tomando medidas a intervalos de 5° C/ minuto. El peso de las muestras se encuentra comprendido entre 5-6 mg.

III.2.4.- Ensayos de sedimentación

El método de la probeta es el más simple y el más utilizado por numerosos autores (Matthews y Rodees, 1970; Tunçel y Gürek, 1992; Sellés, 1995). Fundamentalmente consiste en observar la altura del sedimento en función del tiempo. En nuestro caso el estudio se llevó a cabo durante 30 días.

Se han utilizado para los ensayos probetas de 100 ml con un diámetro inferior a 1.4 mm, para que no se produzca el frenado de la

sedimentación (Rigamonti y Rugginenti, 1969) debido a una relación diámetro/altura demasiado pequeña. Para medir el volumen de sedimentación utilizamos las marcas de calibrado de las probetas.

Teniendo en cuenta que la altura del sedimento (o el volumen del mismo) *per se* es una cifra sin apenas significado, puesto que carece de valor de referencia, se utilizará la relación $F=H_u/H_o$ propuesta por Robinson, Wadd y Kammavmeyer (Puisieux y Frances, 1973) como valor adecuado para cuantificar la floculación (F). Siendo H_u la altura aparente de los sólidos después de sedimentar y H_o la altura total de la suspensión antes de sedimentar.



Figura 19. Ensayo de sedimentación. Método de la probeta.

III.2.5.- Estudio del comportamiento reológico

El reómetro utilizado es el Bolhim CS 25 (figura 20), que permite controlar el esfuerzo cortante al que se somete la muestra, aplica una fuerza de torsión y mide el desplazamiento resultante.

Consta de un motor que origina la fuerza de torsión y un sensor de la posición angular, situado en el eje, que detecta el movimiento del sistema de medida. El software convierte automáticamente los valores aplicados de fuerza de torsión y las lecturas del sensor en esfuerzos cortantes y deformaciones respectivamente. A través de la monitorización del cambio de la deformación en función del tiempo se obtiene la velocidad de deformación.

La geometría de medida elegida fue de cilindros coaxiales y el portamuestras una célula CSS25 con 25 mm de diámetro y una capacidad de 2.5 ml. De este modo, podemos trabajar con materiales de baja viscosidad, ya que su gran área superficial les confiere una gran sensibilidad y permite obtener resultado precisos para bajas viscosidades y pequeñas velocidades de deformación. La elevada masa e inercia de este sistema puede dar problemas en medidas a altas frecuencias.



Figura 20. Reómetro Bolhim CS 25

III.2.6.- Medidas de pH

Para medir el pH utilizamos un pH Crison, mod. PH/mv-meter digit 501. En todos los casos se toma el valor indicado en el aparato después de someter la muestra a una agitación moderada, puesto que no podemos olvidar que el contenido en sólidos puede afectar el valor del pH.

III.2.7.- Estudio de la cesión de fármaco

Para los estudios de cesión de fármacos, una de las metodologías más empleadas consiste en la utilización de células tipo Franz (Franz, 1975). En este trabajo, se han utilizado células de Franz (FDC-400) de 1 cm de diámetro, suministradas por la firma Vidra-Fox (Barcelona, España).

El equipo de celdas de difusión de Franz tiene dos compartimentos: uno dador y otro receptor, que se separan mediante una membrana sintética. Debe trabajarse con un tipo de membrana que minimice al máximo la resistencia al paso del fármaco, con objeto de determinar con fiabilidad la influencia de la suspensión en la cesión del mismo. En el compartimento dador, se coloca una muestra representativa de la formulación en estudio con ayuda de una pipeta volumétrica y en el receptor una solución que permita solubilizar la sustancia que difunde. En nuestro caso, se trata de tampón Sorensen a pH 6.4 para reproducir el pH intestinal.

Se toman luego alícuotas del compartimento receptor, (400 μ l), a diferentes tiempos durante un período establecido y el volumen extraído se repone con solución receptora. A continuación se mide el principio activo mediante el método analítico adecuado. De esta manera se obtienen cinéticas de difusión, a partir de las cuales se puede predecir la velocidad de cesión del activo de las distintas formulaciones.

Se han realizado los ensayos para las formulaciones con goma xantán al 1%, carbopol al 1% y carboximetilcelulosa sódica y avicel al 1%, haciéndose 4 replicados de cada uno de ellos, lo que resulta

aconsejable debido a la gran dispersión de los resultados que puede generar este tipo de estudios.



(A)

(B)

Figura 21. (A) Célula tipo Franz, detalle de los compartimentos donador y receptor separados por membrana de cesión. (B) Dispositivo empleado en el estudio de cesión de fármaco.

III.2.8.- Estudios de citotoxicidad y cesión en monocapa de células intestinales.

▲ Estudio de citotoxicidad

El objetivo del estudio de citotoxicidad es medir la proliferación en células adheridas. Para ello en una placa de 96 pocillos se añaden

100.000 células , enterocitos (Caco-II), por pocillo en medio de cultivo sin FBS y se incuban durante unas 24 horas.

En cada pocillo se añade la muestra a la concentración objeto de estudio y el FBS correspondiente y se incuba durante unas 8 horas. A continuación se elimina el sobrenadante y se añaden 100 µl de 4% de paraformaldehído en PBS 1X que se mantiene durante 30 minutos a temperatura ambiente para fijar las células.

A continuación se lava 3 veces por inmersión con agua bidestilada.

Se añaden 100 µl de una solución de 0,1% de cristal violeta en agua para teñir las células y vuelve a incubarse durante 20 minutos, tras lo que lavamos 3 veces con agua bidestilada y dejamos secar a 37°C.

Finalmente añadimos HCl 0,1M y cuantificamos en el lector de ELISA a 630 nm tras 5 minutos de incubación.

▲ Estudio de cesión en monocapa de células intestinales.

Se utilizó un modelo *in vitro* de epitelio intestinal, consistente en una placa de 24 pocillos, en cada uno de los cuales hay una monocapa de células Caco-2 en cultivo polarizado de 14 días sobre filtros de policarbonato de 0.4 µm de diámetro de poro. El medio de cultivo utilizado para este tipo de células tiene la siguiente

composición: DMEM alto en glucosa, 10% de suero fetal bovino, 0.3% de glutamina y 1% de una mezcla de aminoácidos no esenciales (PAA Laboratories). Estas placas fueron proporcionadas por AdvancedIII (Caco-Ready™).

En cada uno de los pocillos existen dos zonas:

- Zona apical, equivalente a la zona del lumen intestinal, donde se coloca la sustancia a analizar disuelta en 500 ml del siguiente tampón de transporte a pH=7.4 (NaHCO₃ 26mM, CaCl₂ 1.8mM, MgCl₂ 1.2mM, KCl 4.7mM, NaCl 127mM, Glutamina 1mM, HEPES 20 nM).
- Zona basolateral, equivalente a la capa serosa, donde se recoge el producto final que ha atravesado la monocapa de células Caco-2 después de la incubación. En esta parte se pone 1 ml del tampón de transporte.

Para comprobar la integridad de la monocapa de células se mide la resistencia eléctrica transepitelial (RET) entre las zonas apical y basolateral, que debe ser superior a 1000 ohmios/cm². Así mismo, tras el experimento se comprueba la integridad de la monocapa mediante la adición, en la zona apical de cada pocillo, de azul de tripán disuelto en el tampón de transporte (0.0005%) que en

condiciones normales no atraviesa la monocapa. Tras 1 hora de incubación se mide la absorbancia a 595 nm en la zona basolateral, para comprobar si el colorante ha pasado la monocapa.

III.2.9.- Métodos analíticos

La concentración de morfina, tramadol y paracetamol se determina mediante espectrofotometría-UV a 285, 270 y 245 nm (λ_{\max}), respectivamente. El método ha sido previamente validado y verificada su exactitud, precisión y linealidad (Ver Anexo I).

Se prepararon diluciones de clorhidrato de morfina a partir de la solución madre (500 $\mu\text{g/ml}$) con un tampón Sorensen a pH 6.4 para conseguir las siguientes concentraciones: 15.62, 31.25, 62.5, 125.0, 250.0 y 375.0 $\mu\text{g/ml}$.

De igual modo se procedió con el tramadol, preparando diluciones a partir de una solución madre (200 $\mu\text{g/ml}$) con un tampón Sorensen a pH 6.4 para conseguir las siguientes concentraciones: 50, 100, 125, 150, 175 y 200 $\mu\text{g/ml}$.

Para el paracetamol partimos de una solución madre (40 $\mu\text{g/ml}$) y preparamos diluciones con un tampón Sorensen a pH 6.4 para conseguir las siguientes concentraciones: 10,15,20,30,35,40 $\mu\text{g/ml}$.

Hemos utilizado un espectrofotómetro Perkin-Elmer UV/Vis Lambda 40 para realizar todas las medidas (figura 22).



Figura 22. Espectrofotómetro Pelkin-Elmer UV/Vis Lambda 40

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. 1.- MÉTODO DE PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS MICROPARTÍCULAS

IV. 1.1.- Síntesis de pseudolátex y de pseudolátex con fármaco:

La síntesis se ha llevado a cabo introduciendo algunas modificaciones con respecto a los trabajos desarrollados por otros autores (Vanderhoff y col., 1979), con el fin de adaptarla a nuestras necesidades. Así, se ha eliminado el emulgente estabilizador, alcohol cetílico, de la fórmula y se ha aumentado la concentración de emulgente formador, laurilsulfato sódico (*Morales y col., 2004*).

El pseudolátex se obtiene por polimerización de un monómero preformado mediante un proceso de emulsificación en agua con la ayuda de un emulgente formador. La ruta de preparación comienza por disolver el polímero, etilcelulosa, en un disolvente adecuado: mezcla de benceno y etanol en proporción 85:15. Así, obtendremos la fase polimérica, que debe permanecer en reposo durante 24 horas a

temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se adiciona a esta fase n-decano en la cantidad indicada en la fórmula.

Por otro lado, la fase acuosa se prepara adicionando al agua de la fórmula el emulgente formador, laurilsulfato sódico, y calentando a 67°C en un baño termostático durante 30 minutos para que éste se disuelva. Además, ésta es la temperatura a la que debemos calentar la fase acuosa para que se produzca la reacción de polimerización. De acuerdo con este proceso, la fase polimérica es emulsionada en la acuosa, que contiene el emulgente o tensioactivo, dando lugar a una emulsión de fase externa acuosa. Para evitar cambios bruscos de temperatura la fase polimérica se somete previamente a un ligero calentamiento. Las moléculas de emulgente forman micelas en cuyo interior hidrofóbico se aloja gran parte del monómero disponible, causando el hinchamiento de las mismas. Los radicales iniciadores generados en el medio acuoso, en nuestro caso por calentamiento, difunden hasta estas micelas y tiene lugar la polimerización. A medida que estos monómeros son consumidos, se ven reemplazados por los remanentes que entran en las micelas como gotas emulsionadas. El resultado de este proceso es la dispersión coloidal conocida como látex.

En la síntesis del pseudolátex con fármaco la adición del principio activo (clorhidrato de morfina, clorhidrato de tramadol o

paracetamol) se lleva a cabo en este punto. Todos ellos son solubles en agua y, además, perfectamente estables a 67°C. Así, las moléculas de fármaco están presentes en la fase continua durante la reacción de polimerización y pasan junto con el monómero al interior de las micelas. De este modo, al finalizar el proceso, quedarán encerradas o incluidas en el interior de las esferas poliméricas formadas. Esto se traduce en un método de microencapsulación espontáneo que mejora no sólo la dosificación, sino también la pauta de liberación del fármaco en el organismo (Morales y col., 2004).

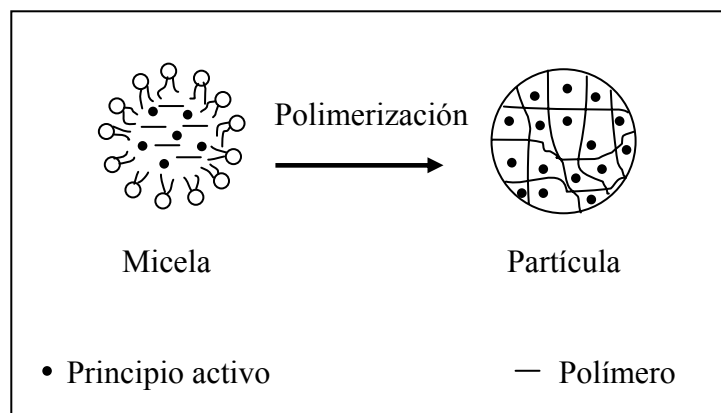


Figura 23. Esquema del proceso de encapsulación

En la mayoría de las aplicaciones comerciales es inaceptable dejar los disolventes orgánicos en el medio de dispersión. Por este

motivo, se hace necesaria una agitación en vacío, diálisis o cualquier otro proceso de evaporación de dichos disolventes. Este último paso también es muy usado en la preparación de látex comerciales para reducir el número de monómeros residuales.

El proceso empleado en la eliminación de los disolventes orgánicos es crucial para la distribución del tamaño de partícula y su morfología, lo que en última instancia determinará el comportamiento de liberación del fármaco desde el sistema (Rosca y col., 2004). Debido a esto, se realiza una agitación mecánica del pseudolátex obtenido a 1000 rpm en campana de extracción durante 12 horas, favoreciendo la evaporación de los disolventes orgánicos utilizados.

La fórmula resultante es la siguiente:

Etilcelulosa	4.68 g
Etanol	4 g
Benceno	22.57 g
n-decano	0.31 g
Laurilsulfato sódico	0.50 g
Agua destilada	94 g
Principio activo	0.01 g

IV. 1.2.- Caracterización microfotográfica de las micropartículas:

Para analizar la morfología de las micropartículas, se recurre normalmente a técnicas de microscopía óptica y/o microscopía electrónica de barrido (SEM) que también permiten detectar la posible agregación de las partículas, así como determinar el tamaño de las mismas. Hemos sintetizado el mismo látex con cada uno de los principios activos objeto de estudio. Así, serán tres las muestras sometidas a microscopía electrónica de barrido: un látex con clorhidrato de morfina, otro con clorhidrato de tramadol y un último con paracetamol.

Las imágenes obtenidas muestran partículas esféricas de superficie porosa en todos los casos (Figuras 24, 25 y 26).

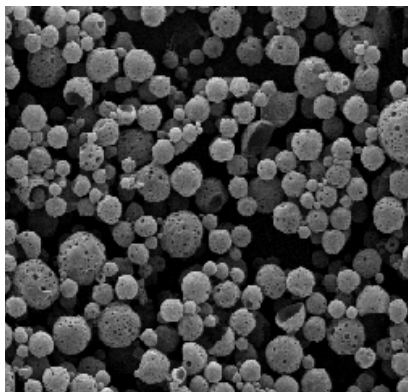


Figura 24. Microfotografía del látex con clorhidrato de morfina obtenida por SEM

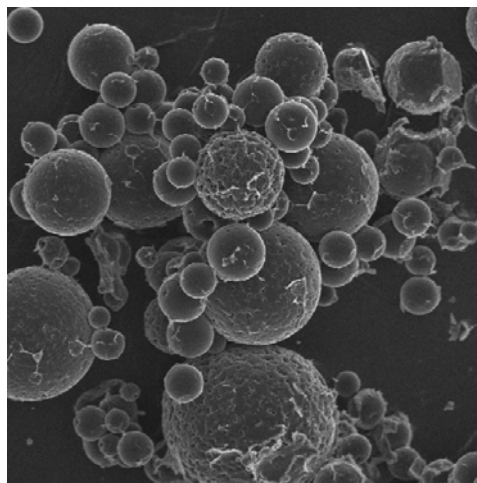


Figura 25. Microfotografía del látex con clorhidrato de tramadol obtenida por SEM

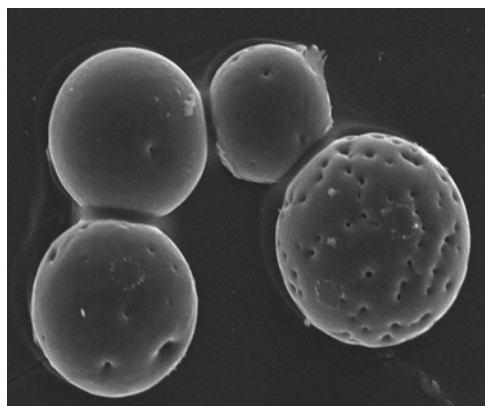


Figura 26. Detalle de las micropartículas de etilcelulosa con clorhidrato de tramadol obtenida por SEM

La porosidad de las micropartículas está directamente relacionada con el proceso de preparación de las mismas, más concretamente con la etapa de evaporación de los disolventes orgánicos, e influirá de forma decisiva en la cinética de liberación (Petrov et al., 2006). Así, existen estudios donde queda patente la relación entre mayor grado de porosidad de las partículas y mayor velocidad de liberación del principio activo desde las mismas (Yung et al., 2000).

Como queda reflejado en la figura 27, en el látex con paracetamol se aprecia una gran polidispersión. Podemos ver que existen micropartículas esféricas que han completado el proceso de formación correctamente junto a masas amorfas de etilcelulosa de gran tamaño. De igual manera, se aprecian cristales de paracetamol de grandes dimensiones cubiertos por aglomerados de partículas. Éstas se disponen de forma aleatoria alrededor y sobre los cristales, lo que nos lleva a pensar que la síntesis del látex con paracetamol no transcurre con normalidad.

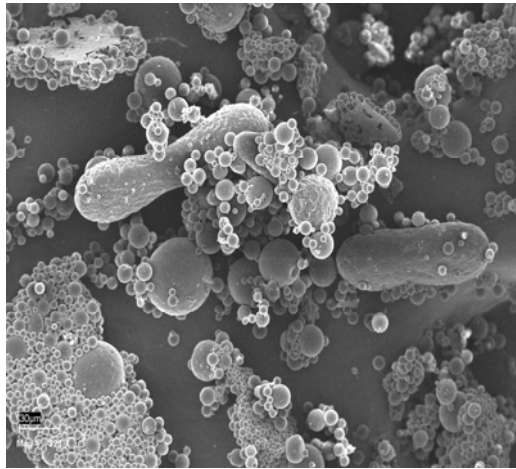


Figura 27. Microfotografía del látex con paracetamol obtenida por SEM.

A partir de varias de estas microfotografías, podemos obtener la distribución de tamaños de partícula. La figura 28 muestra dicha distribución en el látex con clorhidrato de morfina, siendo más representativas las partículas con un diámetro comprendido entre 2.5 y 3 μm . Además, encontramos aproximadamente un 1% con un tamaño en torno a 15 μm .

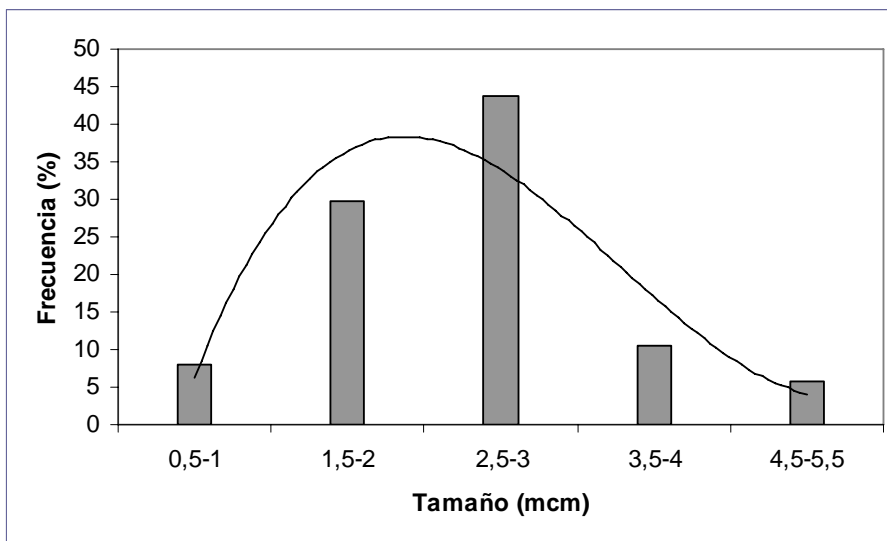


Figura 28. Distribución del tamaño de partícula en el látex con clorhidrato de morfina.

De igual forma se hizo para el látex con clorhidrato de tramadol. Como se observa en la figura 29, los tamaños de partícula más representativos se encuentran comprendidos entre 3.5 y 5.5 μm . Queda patente la polidispersión en cuanto a la distribución de tamaño, así como el sensible incremento en el diámetro de las micropartículas con respecto al látex con clorhidrato de morfina. Numerosos estudios nos hablan de la importancia e influencia del mecanismo de formación de las micropartículas en la morfología y la distribución del tamaño de las mismas. Durante el proceso de emulsificación, la solución de polímero se rompe en “microgotas” debido a la fuerza de deformación producida

por la agitación mecánica. Ésto determinará la morfología y el tamaño de las micropartículas, teniendo igualmente gran influencia sobre el proceso de encapsulación y liberación del principio activo (Rosca et al., 2004). En nuestro caso, se han reproducido las mismas condiciones de temperatura, velocidad de agitación y tiempo de evaporación de disolventes orgánicos para los tres látex preparados, por lo que debemos pensar que la diferencia en cuanto a distribución del tamaño de partícula se debe a las características fisicoquímicas propias del principio activo empleado en cada caso.

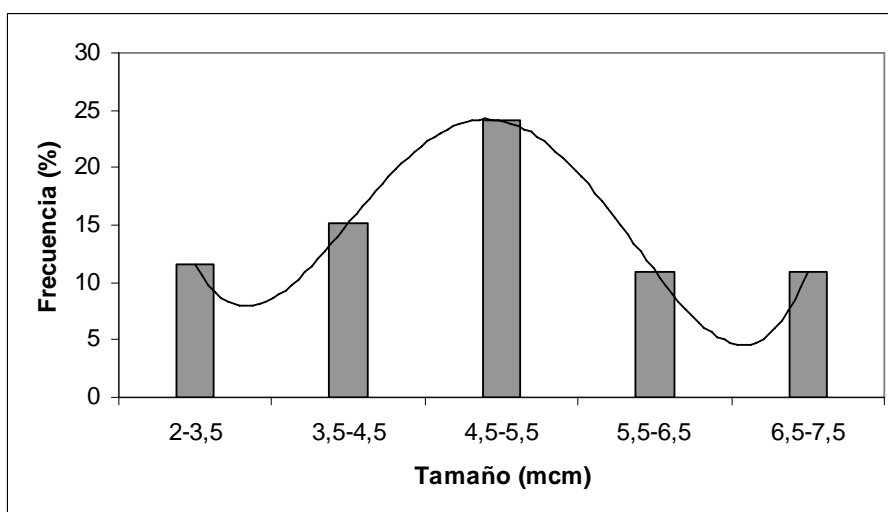


Figura 29. Distribución del tamaño de partícula en el látex con clorhidrato de tramadol.

En el caso del látex con paracetamol encontramos una polidispersión mayor en cuanto a la distribución del tamaño de partícula, como queda reflejado en la figura 30. Las partículas más representativas tienen un diámetro entre 5.5-6.5 μm , aunque queda patente la existencia de un elevado número de partículas tanto de un tamaño inferior como superior, incluso un 6% de las mismas superan los 12 μm .

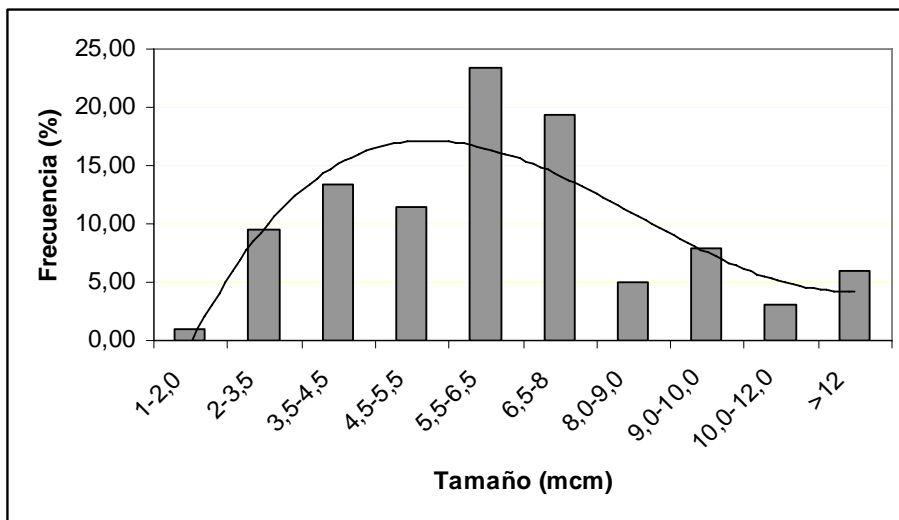


Figura 30. Distribución del tamaño de partícula en el látex con paracetamol.

Para intentar explicar la polidispersión en el látex con paracetamol, así como la aparición de partículas que no completan correctamente el proceso de formación, recurrimos al estudio microfotográfico del paracetamol (figura 31). Vemos que se presenta como cristales irregulares de gran tamaño, muy heterogéneos y que superan sensiblemente los 100 μm . Esto nos lleva a pensar en la incapacidad de las micropartículas para encapsular el principio activo, puesto que su tamaño supera notablemente el de las mismas.

Rodríguez y colaboradores (Rodríguez y col., 2003) lograron encapsular paracetamol en micropartículas de alginato cálcico obteniendo un tamaño de partícula entre 30 y 350 μm , siendo más representativas las partículas con un diámetro comprendido entre 50 y 150 μm . Yung-Hwa y colaboradores (Yung-Hwa y col., 2000) prepararon igualmente microesferas de Eudragit[®] S100 conteniendo paracetamol, siendo el diámetro de las mismas de 200-220 μm . Vemos que en todos los casos las partículas obtenidas presentaron un tamaño mayor al de nuestras micropartículas, lo que podría explicar el hecho de que encontremos masas amorfas o partículas deformadas en las imágenes obtenidas por SEM, siendo los cristales que aparecen en la microfotografía moléculas de paracetamol que no han podido ser encapsuladas.

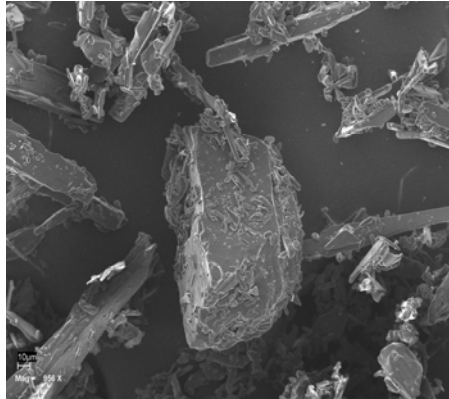


Figura 31. Microfotografía de paracetamol obtenida por SEM

IV. 1.3.- Rendimiento de la encapsulación:

Para cuantificar la cantidad de principio activo encapsulado en las micropartículas empleamos el concepto “rendimiento o eficacia de encapsulación”, que se calcula a partir de la relación entre el principio activo encapsulado y el teórico o en disposición de ser encapsulado, a partir de la expresión:

$$EE(\%) = \frac{\text{Cantidad de principio activo encapsulado}}{\text{Cantidad teórica de principio activo}} \times 100$$

Interesa que la eficacia de encapsulación sea lo más elevada posible, de manera que todo o prácticamente todo el principio activo utilizado en el proceso sea encapsulado.

La cantidad de fármaco encapsulado se determinó para cada uno de los tres látex preparados: con morfina, clorhidrato de tramadol y paracetamol. Cada muestra es centrifugada a 12500 rpm durante 30 minutos y, posteriormente, el sobrenadante obtenido se recoge y se vuelve a centrifugar durante el mismo tiempo y la misma velocidad. Finalmente, despreciamos el sedimento y el sobrenadante resultante de esta segunda centrifugación se somete a una filtración con filtro Millipore 0.2 μm . De esta manera nos aseguramos de haber despreciado las micropartículas, quedándonos en el sobrenadante con las moléculas de fármaco libre, que se determinarán mediante un barrido espectrofotométrico. Las absorbancias resultantes se interpolan en una recta de calibrado obtenida para concentraciones conocidas. Previamente, hemos comprobado que se cumple la ley de Lamber Beer para cada uno de los principios activos a las diferentes concentraciones utilizadas. Además, validamos el método analítico comprobando que es lineal, exacto y preciso en el rango de concentraciones utilizadas (los datos de validación están recogidos en el Apéndice I).

La absorbancia de este sobrenadante indica la concentración de principio activo libre y, conociendo la dosis inicial, podemos determinar la cantidad de principio activo que se ha encapsulado.

A.- Látex con clorhidrato de morfina

Trabajos anteriores realizados por nuestro grupo de investigación pusieron de manifiesto que la microencapsulación en el caso del clorhidrato de morfina era efectiva, así como la influencia de la concentración de fármaco (manteniendo fijos el resto de los componentes de la suspensión). Para ello, se prepararon varias suspensiones incorporándose a cada una de ellas una dosis distinta de principio activo. Los resultados obtenidos quedan recogidos en la tabla 7, (Morales y col., 2004).

<i>Concentración (mcg/ml)</i>	<i>% Encapsulado</i>	<i>DE</i>
<i>120</i>	93.8	1.51
<i>351</i>	96.0	0.46
<i>454</i>	93.5	1.05
<i>605</i>	92.5	1.43

Tabla 7. Encapsulación de clorhidrato de morfina según concentraciones de fármaco.

B.- Látex con clorhidrato de tramadol

En el caso del látex con clorhidrato de tramadol, partimos de una suspensión con una concentración de 100 µg/ml. La absorbancia del sobrenadante nos indica una escasa presencia de fármaco en el mismo, lo que se traduce en un porcentaje de encapsulación del 41.32 ±1.42 % .

Es importante determinar en qué grado la concentración de fármaco puede influir en la capacidad de encapsulación. Con esta intención preparamos una batería de muestras a distintas concentraciones de clorhidrato de tramadol y las sometimos al tratamiento descrito en el principio del apartado. Los resultados obtenidos quedan reflejados en la tabla 8 y figura 32:

Concentración (µg/ml)	% Encapsulado	DE
50	30.55	8.96
100	41.32	1.42
250	82.14	1.97
450	60.44	0.45
600	43.77	1.02

Tabla 8. Encapsulación de clorhidrato de tramadol según concentraciones de fármaco.

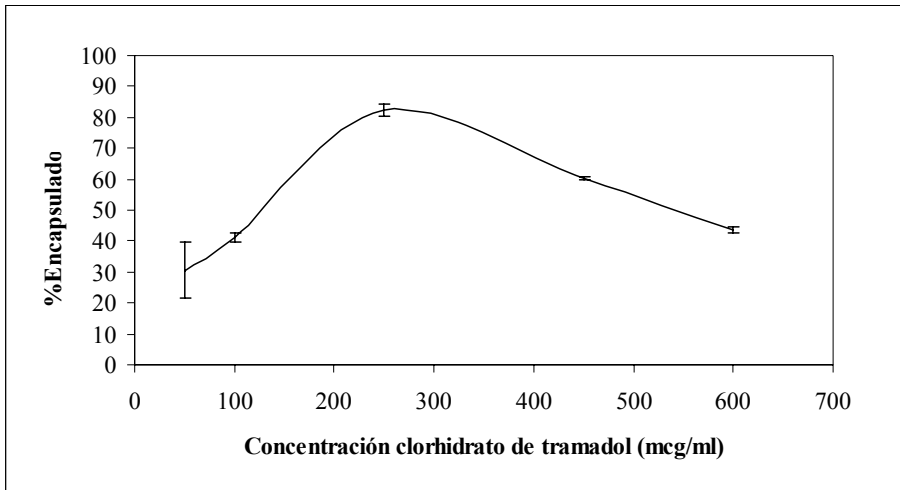


Figura 32. Encapsulación de clorhidrato de tramadol según concentraciones de fármaco.

Llegamos a la conclusión de que la concentración de fármaco en el medio influye de manera directa en el rendimiento de encapsulación. Así hemos conseguido encapsular un 82% de clorhidrato de tramadol aumentando la concentración de principio activo en la fase continua. A partir de este punto, el rendimiento disminuye a medida que aumentamos la concentración, debido a que alcanzamos la carga máxima de principio activo que las micropartículas son capaces de encapsular.

C.- Látex con paracetamol

Se siguió el mismo procedimiento para el látex con paracetamol. Partimos igualmente de un látex con una concentración de 100 $\mu\text{g/ml}$ y medimos la absorbancia del sobrenadante, lo que nos indicó que todo el fármaco se encontraba libre en el medio, de manera que la cantidad de principio activo determinada espectrofotométricamente se correspondía con la dosis inicial.

Como en los casos anteriores, se prepararon varias suspensiones incorporándose a cada una de ellas diferentes dosis de paracetamol. Los resultados obtenidos pusieron igualmente de manifiesto que todo el fármaco se encontraba libre en el sobrenadante analizado.

En la figura 33, queda recogido el barrido espectrofotométrico del sobrenadante de una de las suspensiones preparadas. Podemos apreciar un pico en torno a 245 nm, longitud de onda de máxima absorción para el paracetamol. Puede observarse que la absorbancia del sobrenadante de la suspensión es mucho mayor que la del control, esto se traduce en una elevada presencia de fármaco en el sobrenadante. En consecuencia, podemos decir que todo el paracetamol se encuentra libre en el medio, por lo que concluimos que el rendimiento de encapsulación es nulo.

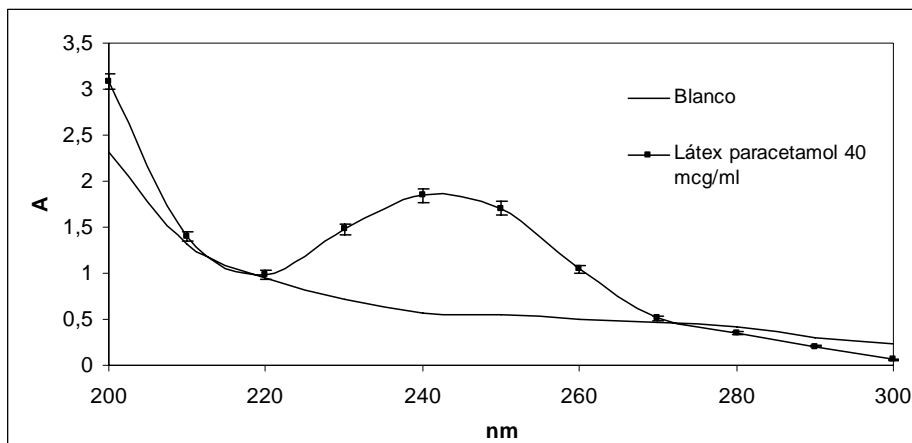


Figura 33. Análisis espectrofotométrico del rendimiento de paracetamol microencapsulado.

IV. 1.4.- Espectrofotometría de infrarrojos:

La mayoría de los procedimientos de microencapsulación implican un mezclado íntimo entre el polímero y el principio activo, por lo que pueden tener lugar diversas interacciones fisicoquímicas que pueden influir en la eficacia terapéutica de la forma farmacéutica final. En consecuencia, es conveniente caracterizar el estado físico del polímero y principio activo por separado y del principio activo en la micropartícula poniendo de manifiesto la posible existencia de interacciones. Para ello se recurre a técnicas espectroscópicas del tipo de infrarrojos (IR).

La etilcelulosa contiene grupos hidroxilo y carbonilo, capaces de interaccionar con otras moléculas mediante la formación de puentes de hidrógeno y fuerzas electroestáticas (Sien y col., 2001). La figura 34 muestra un pico de absorción a 3498 y 1083 cm^{-1} para el látex sin fármaco, correspondientes a la vibración de elongación de los grupos hidroxilo y carbonilo, respectivamente. Ésto permite la identificación de los grupos funcionales del polímero. La morfina presenta igualmente grupos capaces de interaccionar con las cadenas poliméricas. Ésta interacción se deberá fundamentalmente a los grupos hidroxilo y amino de su estructura, que presentan una vibración entre 3436 y 3503 cm^{-1} . Consecuentemente, la formación de puentes de hidrógeno entre ambas moléculas se producirá entre los grupos hidroxilo y amino de la morfina y los grupos hidroxilo y carbonilo de la etilcelulosa. Estas interacciones pueden causar un decrecimiento en la densidad electrónica del oxígeno, provocando la aparición de bandas menos intensas a igual número de onda en el espectro del látex con fármaco. De esta manera, los cambios en el espectro de infrarrojos del látex con morfina con respecto al látex sin fármaco demuestran la interacción entre la morfina y la etilcelulosa.

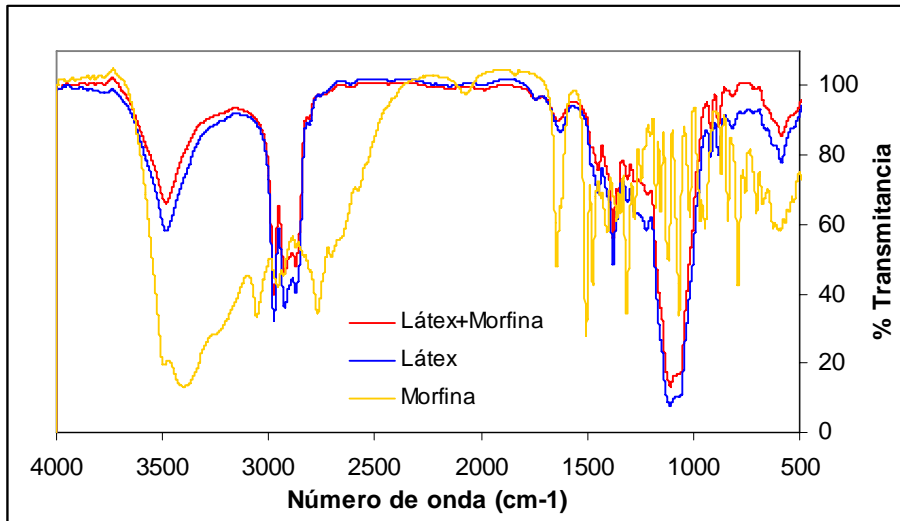


Figura 34. Espectro de infrarrojos del látex sin fármaco, látex con morfina y morfina.

La figura 35 muestra el espectro de infrarrojos del látex sin fármaco, látex con tramadol y tramadol. De igual manera que en caso anterior, quedan identificados los grupos funcionales del polímero. En el caso de la molécula de tramadol, los grupos susceptibles de interaccionar con el polímero serían los grupos hidroxilo, metoxi y amino, que se identifican a 3311, 2934 y 1051 cm⁻¹ respectivamente. En este caso, la formación de puentes de hidrógeno entre el tramadol y el polímero se producirá entre los grupos hidroxilo y carbonilo del polímero y los grupos hidroxilo, metoxi y amino del fármaco. Estas interacciones quedan patentes en el espectro de infrarrojos, donde se

observa el decrecimiento de las bandas características del polímero, con respecto a las de las partículas con fármaco. Además, se aprecia un decrecimiento más pronunciado que en el caso del látex con morfina, lo que puede atribuirse a un mayor número de interacciones entre los grupos funcionales y, consecuentemente, a una mayor formación de puentes de hidrógeno.

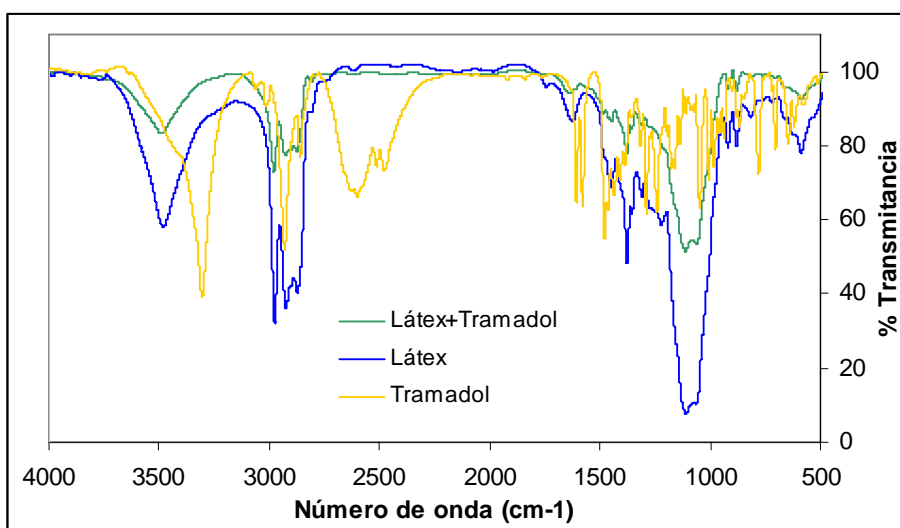


Figura 35. Espectro de infrarrojos del látex sin fármaco, látex con tramadol y tramadol.

Finalmente, en la figura 36 pueden identificarse tres bandas características de la molécula de paracetamol; 3328 cm^{-1} , correspondiente al enlace N-H del grupo amida, 3169 cm^{-1} ,

correspondiente al grupo hidroxilo y 1657 cm^{-1} , correspondiente al enlace C=O del grupo amida. De igual manera las bandas correspondientes al polímero presentan un decrecimiento en el caso del látex con paracetamol, lo que pone de manifiesto la existencia de interacciones entre los grupos amida e hidroxilo del paracetamol y los grupos hidroxilo y carbonilo de la etilcelulosa.

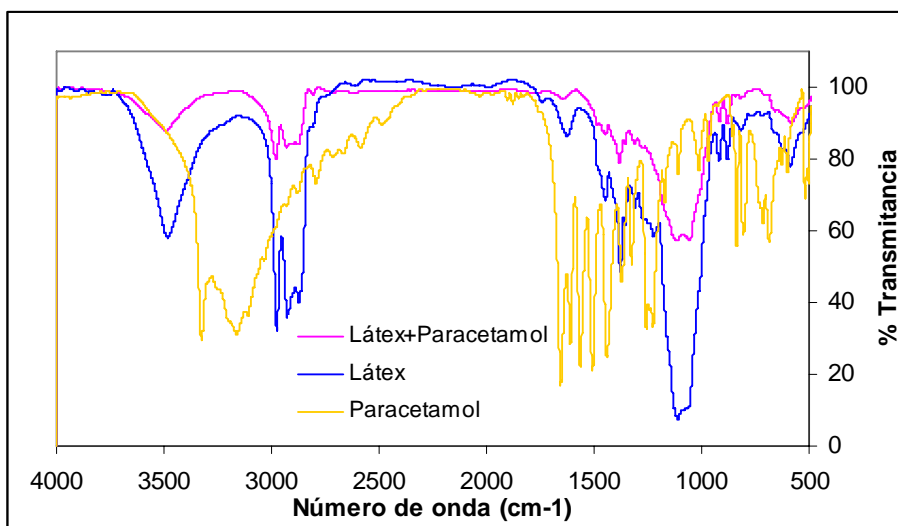


Figura 36. Espectro de infrarrojos del látex, látex con paracetamol y paracetamol.

En este caso, podríamos explicar estas interacciones apoyándonos en el estudio microfotográfico del látex con paracetamol mediante espectroscopía electrónica de barrido (SEM), donde veíamos

cristales de paracetamol alrededor de los cuales se disponían numerosas micropartículas de etilcelulosa. A pesar de que llegamos a la conclusión de que no se producía encapsulación de este fármaco, es posible que en esta distribución de las micropartículas esté implicada la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos funcionales, lo que se traduciría en las modificaciones sufridas en el espectro de IR del látex con fármaco con respecto al látex sólo.

Por este motivo, y dado que los estudios realizados sugieren una incapacidad de nuestras micropartículas para encapsular paracetamol, a partir de este punto continuaremos nuestro trabajo centrándonos únicamente en el látex con morfina y el látex con tramadol.

IV. 1.5.- Análisis calorimétrico:

La calorimetría diferencial de barrido es una técnica ampliamente utilizada tanto en la caracterización de diversas sustancias y, en concreto, de compuestos poliméricos (Ruiz y col., 1994), como en la determinación de los diferentes factores que afectan a la estabilidad de las mismas (Day y col., 1998), desde un punto de vista termoanalítico. Esta técnica mide el flujo de calor, o lo que es lo mismo, el calor absorbido por el material a analizar.

Las muestras de las suspensiones se han obtenido centrifugando a 11000 rpm durante 30 minutos y desecando el sedimento a temperatura ambiente.

En primer lugar, vamos a determinar la estabilidad del clorhidrato de morfina (figura 37). En este termograma observamos una endoterma a $95,6^{\circ}\text{C}$, temperatura a la que, probablemente, se produce la pérdida del agua de cristalización de la molécula. Además, aparece una exoterma a 288°C , que se corresponde con el punto de fusión, teniendo en cuenta que funde con descomposición.

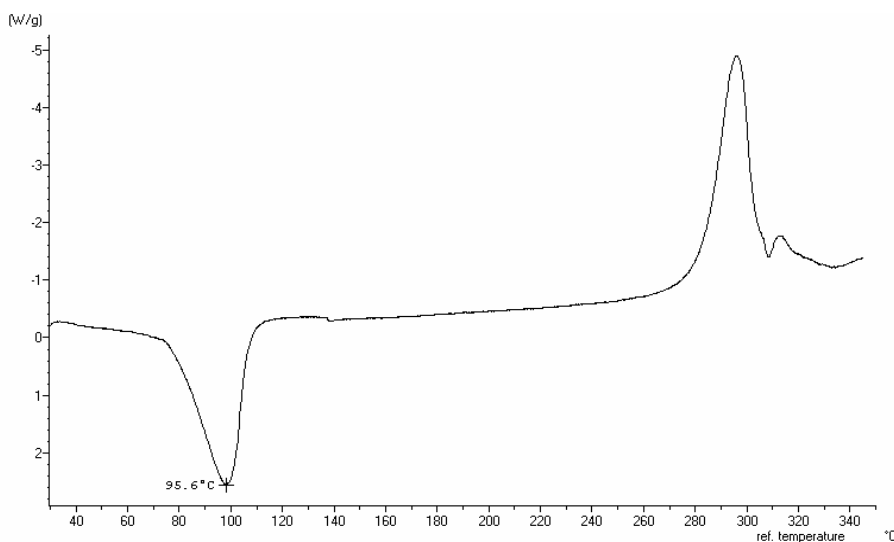


Figura 37. DSC de clorhidrato de morfina.

En el termograma del clorhidrato de tramadol (Figura 38), puede observarse un pico endotérmico bien definido a una temperatura en torno a 184 °C, que corresponde con el punto de fusión del principio activo.

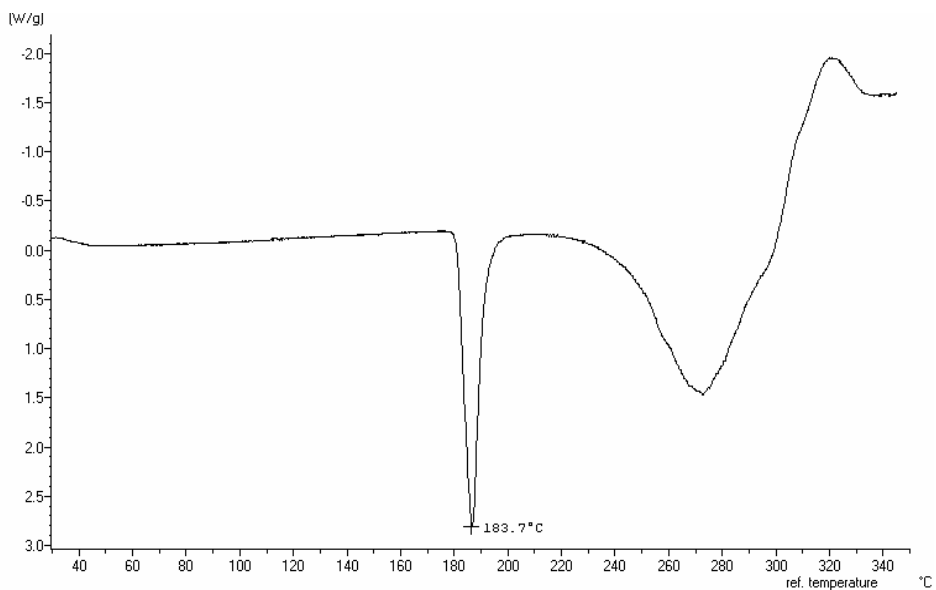


Figura 38. DSC de clorhidrato de tramadol.

Una vez conocidos los termogramas de los fármacos, vamos a establecer las principales diferencias que se observan entre el látex sin principio activo y el látex con fármaco.

En la figura 39 puede observarse como sí existen diferencias entre el termograma de la suspensión polimérica y el látex con clorhidrato de morfina. En el caso del látex sin fármaco aparece una

endoterma en torno a 180 °C, mientras que en el látex con morfina el pico endotérmico se desplaza hasta los 216 °C.

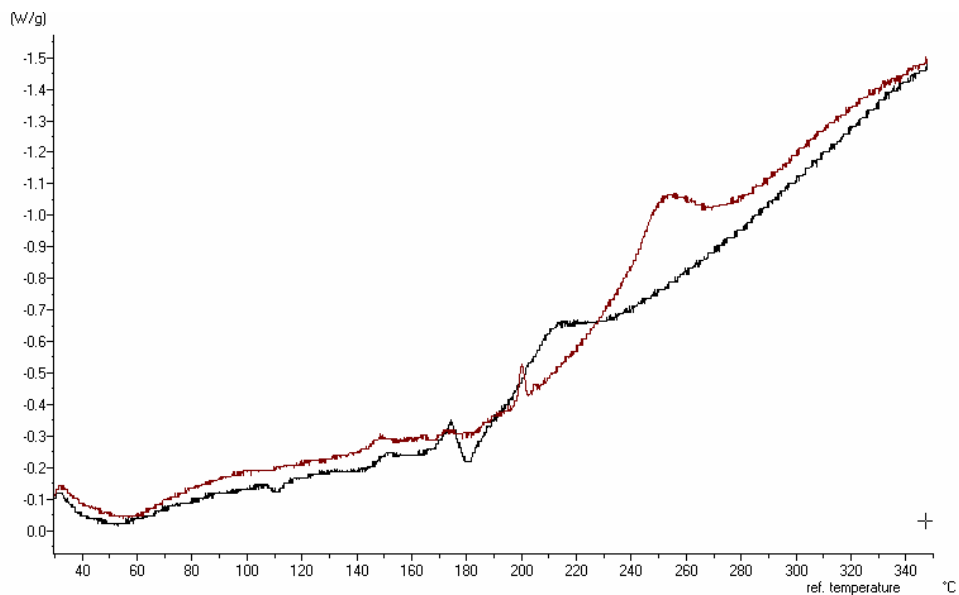


Figura 39. DSC del látex sin fármaco (—) y látex con clorhidrato de morfina (—).

En la figura 40 comparamos el termograma del látex sin fármaco con el látex con clorhidrato de tramadol. De igual manera, observamos que el pico endotérmico característico de la suspensión polimérica sin fármaco, se desplaza hasta los 209 °C.

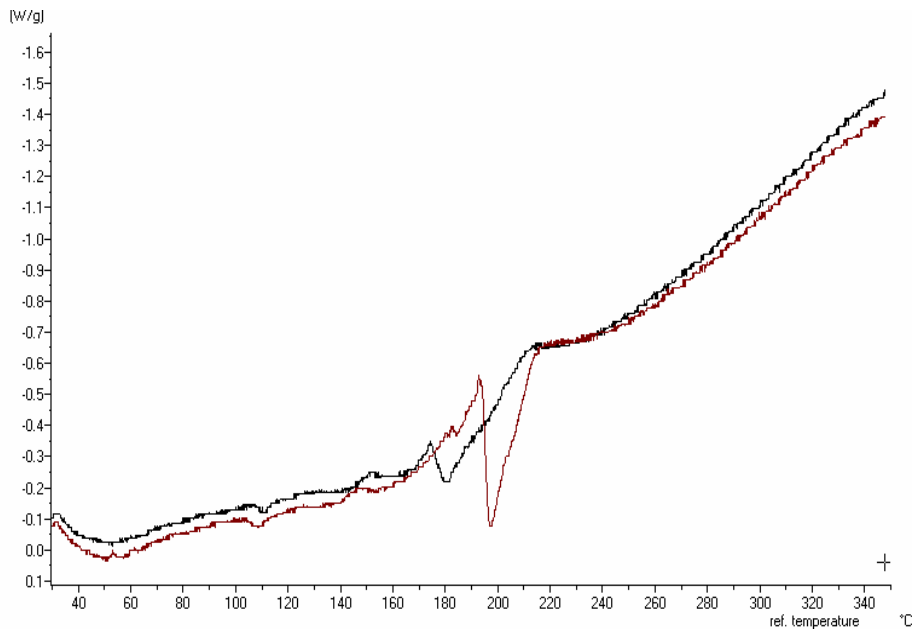


Figura 40. DSC del látex sin fármaco (—) y látex con clorhidrato de tramadol (—).

En ambos casos ha quedado patente que los termogramas del látex con fármaco no coinciden con los de los principios activos ni con el del látex sólo. Por tanto, podemos afirmar que se produce una interacción fármaco-polímero. Tanto el clorhidrato de morfina como el de tramadol son sales fácilmente solubles en agua, de modo que las moléculas que quedan libres en el medio pueden separarse de las que están unidas a las partículas mediante centrifugación. La molécula de fármaco libre quedará en el sobrenadante y en el sedimento tendremos únicamente

complejo fármaco-polímero. Así podemos asegurar que no es una mezcla física de ambos, sino que realmente existe dicho complejo.

IV. 2.- DISEÑO Y ELABORACIÓN DE LA FÓRMULA FINAL

Como citamos anteriormente, el objetivo final de esta memoria es preparar una forma farmacéutica que satisfaga las necesidades de la terapéutica actual, lo cual puede presentar algunas dificultades. Sabemos que una suspensión es un sistema termodinámicamente inestable, por tanto, desde un punto de vista galénico, interesa diseñar una suspensión que no sedimente fácilmente y que se pueda reconstruir con facilidad mediante una ligera agitación. Además, interesa que la redispersión originada por dicha agitación de lugar a un producto homogéneo.

Existen dos formas de incrementar la estabilidad de las suspensiones coloidales: mediante la adición de agentes floculantes o bien mediante viscosizantes.

- Agentes floculantes:

Basándonos en los estudios de movilidad electroforética y potencial zeta realizados con anterioridad por otros autores, (Gallardo y col., 2005), seleccionaremos una concentración de electrolito adecuada

para conseguir una suspensión ligeramente floculada y, en consecuencia, fácilmente redispersable. En la figura 41, observamos cómo el potencia zeta aumenta en valor absoluto a medida que lo hacen las concentraciones de electrolito hasta aproximadamente 10^{-3} M para el NaCl y 10^{-4} M para el CaCl_2 ; por el contrario para concentraciones más elevadas se aprecia un decrecimiento. En cualquier caso, parece claro que para concentraciones suficientemente altas de NaCl y CaCl_2 la carga superficial de las partículas poliméricas puede estar parcialmente apantallada, lo que supone una reducción de las repulsiones electrostáticas interparticulares y, en consecuencia, la aparición de flóculos o agregados voluminosos, debido a las fuerzas atractivas de Van der Waals. Estas suspensiones floculadas sedimentan suavemente originando sedimentos voluminosos y laxos, debido a la gran distancia de separación entre las partículas. Además, estas fuerzas se rompen con suma facilidad, por ejemplo, frente a una suave agitación por lo que la redispersión no es un problema.

Es por esto que el electrolito seleccionado para nuestras fórmulas ha sido CaCl_2 , a una concentración de 10^{-2} M, debido a que para el electrolito divalente, de mayor fuerza iónica que el NaCl a la misma concentración, la floculación aparece a concentraciones molares

menores. De modo que observamos una sedimentación “retardada” o “impedida” a partir de 10^{-2} M.

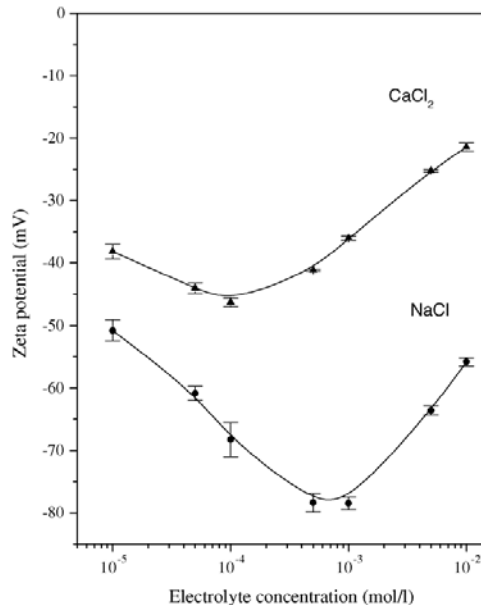


Figura. 41. Potencial Zeta de las partículas poliméricas en función de la concentración de CaCl₂ y NaCl.

- Viscosizantes:

Si aplicamos una floculación controlada para evitar el “caking”, estamos, por otro lado, incrementando el tamaño de partícula, por lo que recurrimos a un viscosizante que nos ayude a reducir la velocidad de sedimentación de acuerdo con la ley de Stokes.

Generalmente, los viscosizantes se utilizan a concentraciones comprendidas entre 0,5-5% dependiendo de la tendencia de las partículas para sedimentar. Además, requieren 24-48 horas para hidratarse completamente y alcanzar el máximo de viscosidad.

Por tanto, estudiaremos tres viscosizantes diferentes, uno natural, uno sintético y otro semisintético, que adicionaremos a la formulación a concentraciones comprendidas entre 0,25% y 1%. De este modo estaríamos cubriendo el rango de concentraciones más utilizado en este tipo de preparaciones.

Viscosizantes utilizados:

• Goma Xantán (natural)

Se trata de una goma producida por fermentación y purificación de un carbohidrato de cultivo puro de *Xanthomonas campestris*. Es la sal sódica, potásica o cálcica de un polisacárido de alto peso molecular que contiene D-glucosa, D-manosa, ácido D-glucurónico y no menos de un 1,5% de ácido pirúvico. Se utiliza como suspensor y estabilizante en preparaciones farmacéuticas orales y tópicas, así como espesante.

- **Carboximetilcelulosa sódica (semisintético) + Avicel[®]**

CMCNa es un viscosizante muy utilizado en preparaciones acuosas a concentraciones entre 0,5-1%. Es incompatible con el pH fuertemente ácido.

Avicel[®] es una celulosa purificada y parcialmente despolimerizada. Existen dos tipos, uno dispersable en agua (que será la que usemos) y otro no.

- **Carbopol[®] 934-P (sintético)**

Es un polímero sintético del ácido acrílico, de alto peso molecular y carácter aniónico. Existen diferentes tipos de Carbopol[®], que vienen designados por un número, pero los que más se utilizan actualmente en Farmacia son dos: el Carbopol[®] 934-P y el Carbopol[®] 940. Los que llevan la letra P después del número son aptos para uso por vía oral o aplicación en mucosas, ya que tienen un contenido residual de benceno muy pequeño, por eso es el 934-P el que usamos en nuestro estudio. Se emplea como agente emulsificante, viscosizante, suspensor y gelificante.

Recurrimos a los trabajos realizados por otros autores sobre el diseño de suspensiones poliméricas destinadas a la administración oral

(Llácer y col., 2000). Así, entre los componentes de la fórmula y puesto que durante la síntesis de las partículas cargadas de fármaco utilizamos laurilsulfato sódico como emulgente formador, es importante la presencia de un agente antiespumante o antiafrógeno, como la Simeticona. También incluimos un antioxidante como el sulfito sódico anhidro y Khatón CG como agente antimicrobiano.

COMPONENTES DE LA FÓRMULA

Suspensión de fármaco	50%
Sulfito sódico anhidro	0.1%
Simeticona	0.5%
Khatón GC	0.1%
CaCl ₂	c.s.
Viscosizante	50%

IV. 3.- ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE LAS FÓRMULAS

En este apartado exponemos los resultados más destacables obtenidos en los ensayos sobre las propiedades de estabilidad para cada una de las formulaciones, con los distintos viscosizantes empleados y a las diferentes concentraciones escogidas de cada uno de ellos.

IV. 3.1.- MEDIDAS DE pH

Hemos realizado medidas de pH a todas las formulaciones preparadas con cada uno de los viscosizantes y a las distintas concentraciones (Figura 42). En la gráfica no se recogen diferencias de pH en función de la concentración de viscosizante ya que en todos los casos no existieron variaciones significativas ($p > 0.05$). Así, distinguimos entre tipo de viscosizante y fármaco utilizado en la preparación de la formulación.

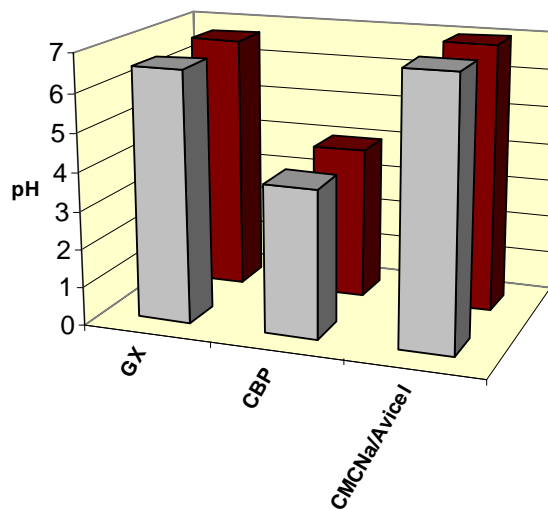


Figura 42. Medidas de pH de las fórmulas con clorhidrato de tramadol (■) y clorhidrato de morfina (■).

Podemos observar que todas las formulaciones presentan un pH comprendido entre $6.5-7 \pm 0.1$ a excepción de las formulas preparadas con carbopol, que presentaron un pH en torno a 4 ± 0.1 .

Teniendo en cuenta que este descenso de pH podría afectar a la estabilidad de las fórmulas, por presentar éstas menor viscosidad y, consecuentemente, a los estudios de liberación de fármaco, corregimos el pH con Na(OH) 1M.

IV. 3.2.- SEDIMENTACIÓN

Este factor se determina en base a un parámetro ampliamente utilizado por muchos autores, el volumen de sedimentación, a partir del cual se calcula la floculación (F), descrito previamente en el capítulo de materiales y métodos.

En este apartado, se harán comparaciones en cuanto a tipo de viscosizante y concentración del mismo empleada en la preparación de la fórmula. Sin embargo, no distinguiremos entre formulación preparada con clorhidrato de morfina o tramadol, puesto que hemos comprobado que no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a utilizar uno u otro fármaco ($p > 0.05$).

En la figura 43, se muestra la floculación (F), o lo que es lo mismo, la altura del sedimento en función del tiempo, para las fórmulas

con goma xantán a concentraciones comprendidas entre 1% y 0.25%. Podemos observar que se da una sedimentación característica, descrita por muchos autores, que se denomina sedimentación “retardada” o “impedida” (Kynch, 1952; Bueno, 1979; Delgado y col., 1990), según la cual la altura del sedimento disminuye a medida que transcurre el tiempo. Se caracteriza por un descenso del frente de los sedimentos desde el nivel superior de la suspensión que da lugar a una frontera nítida entre dicho frente y el sobrenadante clarificado.

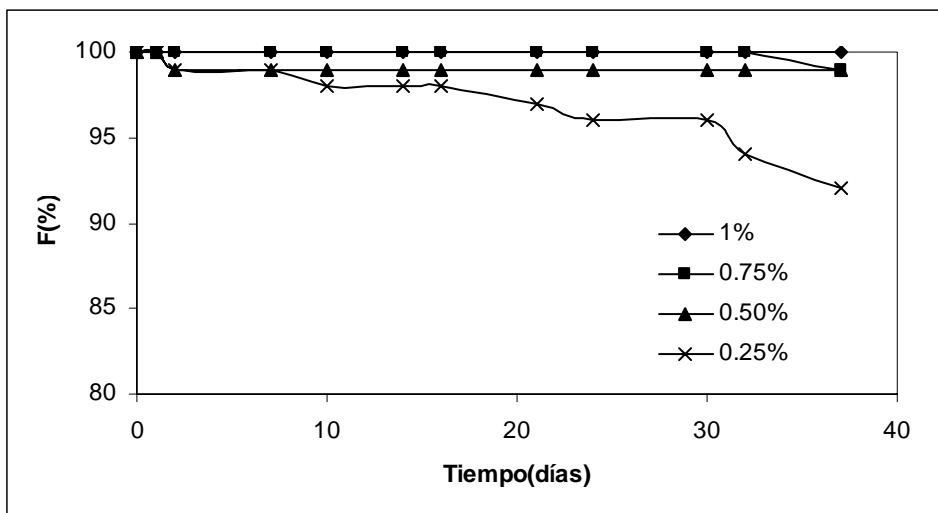


Figura 43. Floculación de las suspensiones con goma xantán.

Este comportamiento se presenta en suspensiones con tendencia a flocular, lo que se corresponde con las características de nuestras suspensiones, ligeramente floculadas debido al CaCl_2 presente entre los

componentes de la formulación y que permite que la carga activa aparente de las partículas de etilcelulosa vaya disminuyendo progresivamente. A una cierta concentración de iones añadidos, las fuerzas de repulsión serán menores que las de atracción y éstas comienzan a predominar. Bajo estas circunstancias, las partículas se unen estrechamente formando unos aglomerados denominados “flóculos”. Así, estos flóculos sedimentan formando un sedimento voluminoso, poco coherente y que se rompe distribuyéndose de manera uniforme con una ligera agitación.

De acuerdo con la gráfica obtenida (Figura 43), podemos afirmar que las fórmulas con goma xantán presentan un alto grado de estabilidad a todas las concentraciones, si bien haciendo una comparación entre ellas la fórmula que presenta una mayor estabilidad es la que lleva el viscosizante a una concentración del 1% ya que, transcurridos 38 días, presenta igual volumen de sedimento que al inicio del ensayo.

A continuación se exponen los resultados obtenidos para las formulaciones con carbopol y carboximetilcelulosa/avicel (Figura 44 y Figura 45).

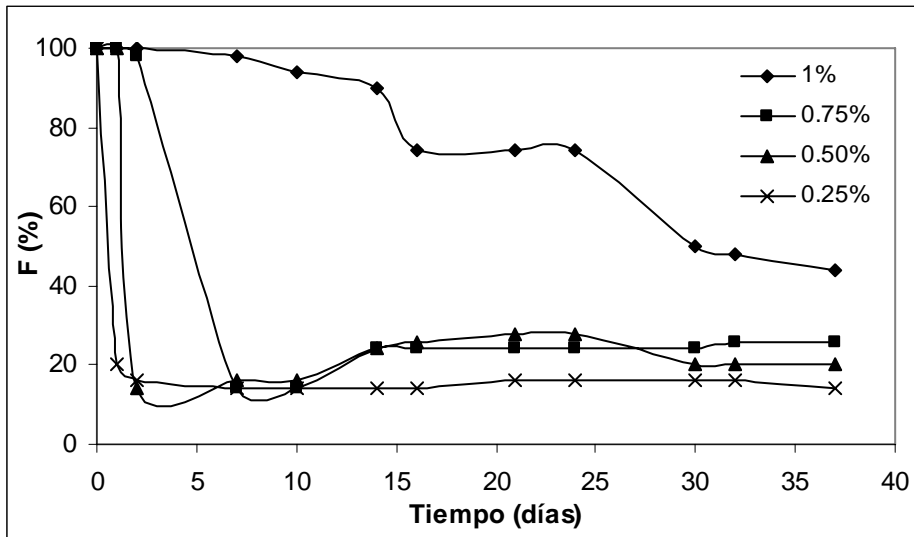


Figura 44. Floculación de las suspensiones con carbopol.

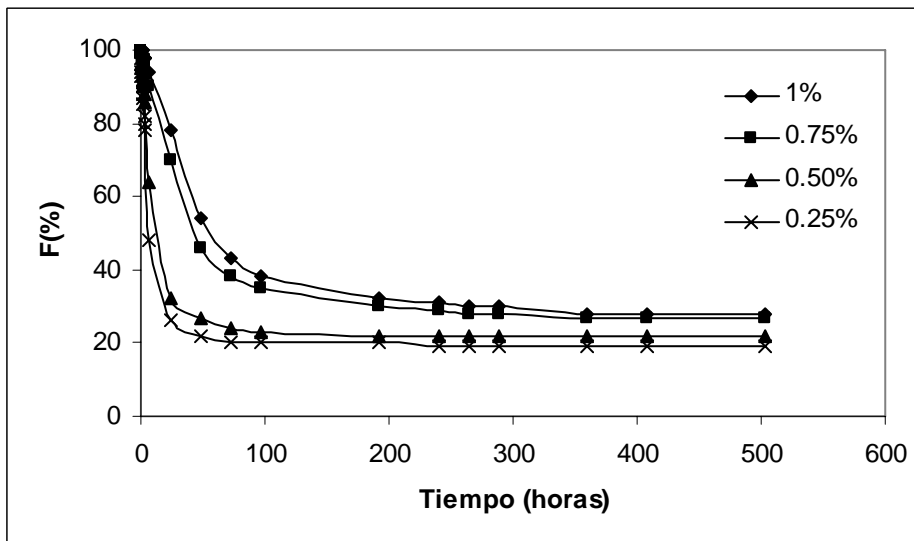


Figura 45. Floculación de las suspensiones con carboximetilcelulosa y avicel.

En ambos casos, se repite el modelo de sedimentación “retardada” o “impedida” propio de las suspensiones floculadas. Sin embargo, y como queda patente en las gráficas, el volumen de sedimento disminuye de forma más acentuada y con mayor rapidez que en el caso de las fórmulas con goma xantán. Así, para las formulaciones con carbopol y como se observa en la figura 44, la fórmula con una concentración de viscosizante al 1% es la más estable, manteniendo un volumen de sedimento prácticamente constante hasta los 7 días del inicio del ensayo, momento a partir del cual comienza a disminuir de forma progresiva. Este comportamiento se mantiene hasta el día 30 del ensayo y no presenta fluctuaciones significativas hasta el final del mismo.

En el caso de las formulaciones con carbopol al 0.75%, 0.50% y 0.25% el volumen de sedimento disminuye de forma acentuada a partir del segundo día del ensayo y el volumen de sobrenadante va aumentando progresivamente hasta el día 15, momento en el cual se estabiliza y se mantiene prácticamente constante hasta el final del ensayo.

Para las fórmulas con carboximetilcelulosa/avicel, la disminución del sedimento es ya significativa desde el primer día y para todas las concentraciones, especialmente para las formulaciones

con viscosizante al 0.75%, 0.50% y 0.25%. Así, en la figura 46, queda representada la disminución del sedimento en las primeras ocho horas del ensayo. Como podemos observar, a partir de la tercera hora del ensayo puede apreciarse una disminución considerable del sedimento, mayor en el caso de las fórmulas con concentración de viscosizante al 0.50% y 0.25%.

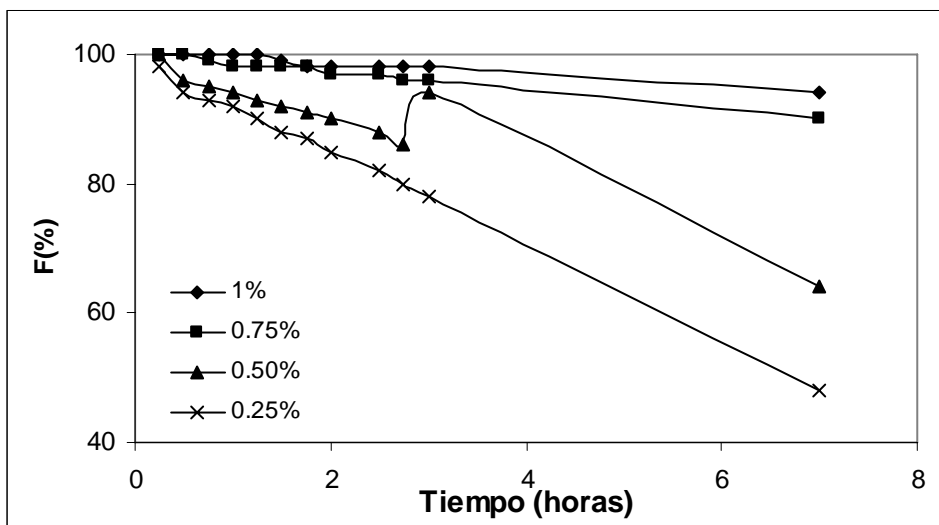


Figura 46. Floculación de las suspensiones con carboximetilcelulosa y avicel.

Por lo tanto, la conclusión más significativa a la que conducen estos resultados es que la goma xantán es el viscosizante que mayor estabilidad confiere a las formulaciones en todos los casos, pero

especialmente a una concentración del 1%. El carbopol se presenta como el segundo viscosizante de elección para conseguir una mayor estabilidad de las fórmulas y la concentración a elegir sería también del 1%, por encontrarse diferencias significativas con las demás concentraciones del mismo viscosizante. Finalmente, la carboximetilcelulosa/avicel confieren poca estabilidad a las fórmulas a todas las concentraciones estudiadas.

IV. 3.3.- CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA

La reología es particularmente interesante en la cuantificación de fenómenos relacionados con la estabilidad física de los sistemas ya que nos permite conocer cómo es y cómo varía su estructura interna. Para realizar una completa evaluación reológica, podemos llevar a cabo dos tipos de experimentos: medidas transitorias (viscosimetría) y dinámicas (oscilometría), como muestran los trabajos realizados por otros autores con polímeros (Rudraraju y col., 2005). En nuestro caso, realizamos el estudio a las fórmulas preparadas con tres viscosizantes distintos (goma xantán, carbopol y una mezcla de carboximetilcelulosa y avicel) a concentraciones comprendidas entre 0.25 y 1%. De igual manera que en el apartado anterior, no haremos diferenciación entre las

formulaciones preparadas con uno u otro fármaco, puesto que hemos comprobado que no muestran diferencias significativas ($p > 0.05$).

Un paso previo a la realización de estos estudios, consiste en someter todas las muestras a las mismas precondiciones. Aplicamos un esfuerzo determinado durante un tiempo establecido con el fin de romper la estructura del sistema, que comienza a formarse durante un tiempo de reposo fijo partiendo, así, todas de la misma historia previa.

A.-VISCOSIMETRÍA

En este tipo de estudios, sometemos las muestras a un barrido de esfuerzos a intervalos regulares, observando como varía la viscosidad (η) y el esfuerzo (σ) frente a la velocidad de deformación (dy/dt).

De acuerdo con los reogramas obtenidos, podemos afirmar que las fórmulas presentan un comportamiento newtoniano, salvo cuando se utiliza carbopol a la concentración más alta y goma xantán a partir del 0.5% (Figuras 47-49). El comportamiento newtoniano es característico de los líquidos que siguen la ley de Newton en la que existe una proporcionalidad directa entre tensión de deslizamiento y velocidad de deslizamiento, de manera que su viscosidad es constante (Figuras 50-53).

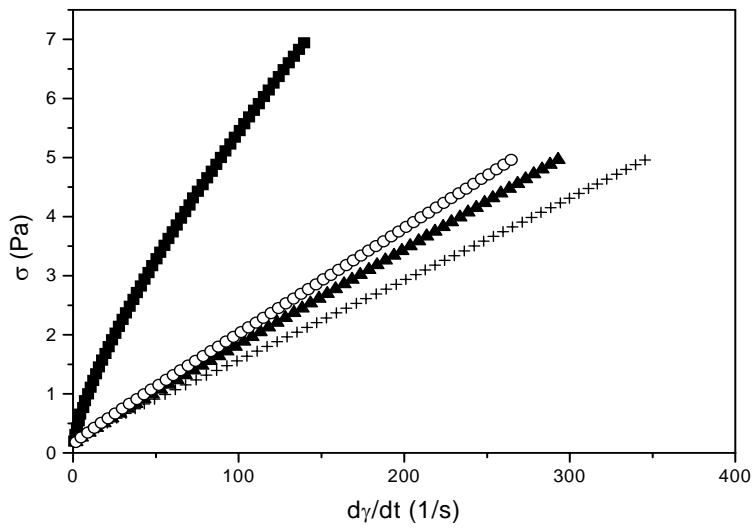


Figura 47. Reograma de las fórmulas preparadas con carbopol al 1% (■), 0.75% (○), 0.5% (▲) y 0.25% (x).

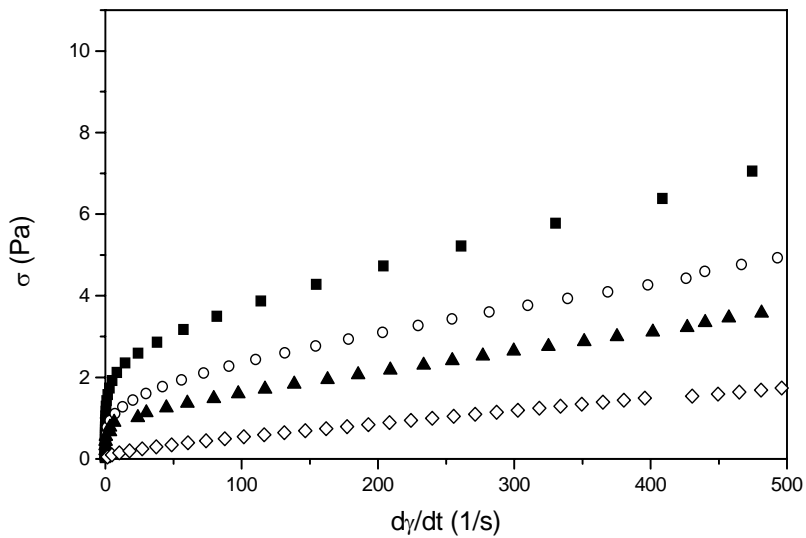


Figura 48. Reograma de las fórmulas preparadas con goma xantán al 1% (■), 0.75% (○), 0.5% (▲) y 0.25% (x).

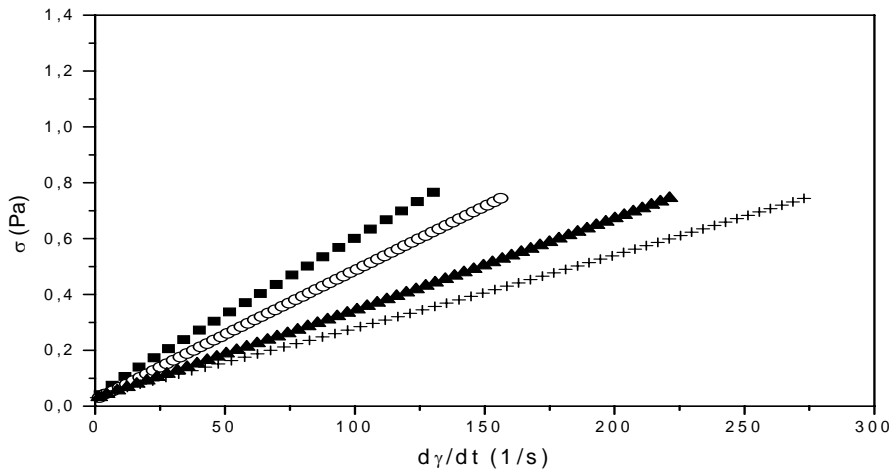


Figura 49. Reograma de las fórmulas preparadas con carboximetilcelulosa y avicel al 1% (■), 0.75% (○), 0.5% (▲) y 0.25% (x).

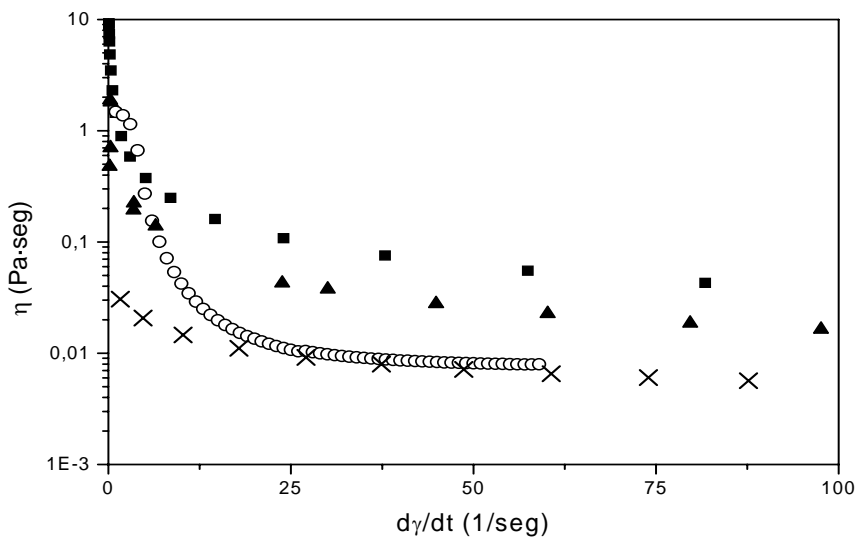


Figura 50. Viscosidad de las fórmulas preparadas con goma xantán al 1% (■), 0.75% (○), 0.5% (▲) y 0.25% (x).

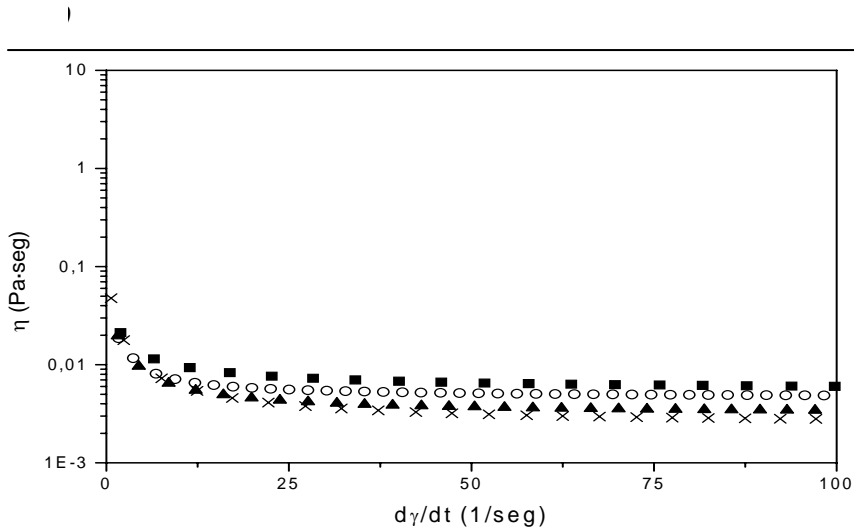


Figura 51. Viscosidad de las fórmulas preparadas con carboximetilcelulosa y avicel al 1% (■), 0.75% (○), 0.5% (▲) y 0.25% (x).

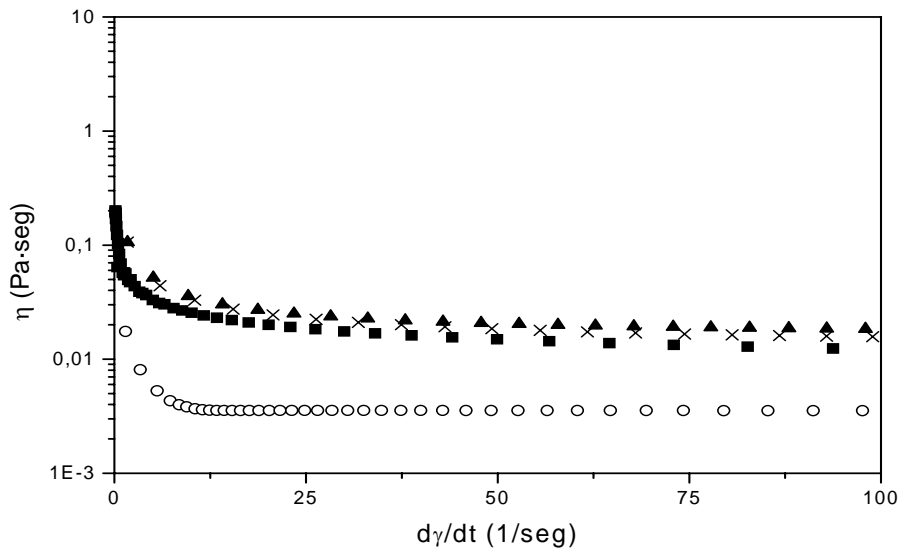


Figura 52. Viscosidad de las fórmulas preparadas con carbopol al 1% (■), 0.75% (○), 0.5% (▲) y 0.25% (x).

De modo que las curvas de flujo o reogramas son líneas rectas que pasan por el origen, siendo la viscosidad la pendiente de dichas rectas o la tangente del ángulo que forman con el eje horizontal.

Como muestra la viscosidad de las muestras con comportamiento newtoniano (tabla 9), el viscosizante que proporciona menor viscosidad a las fórmulas es la carboximetilcelulosa sódica/avicel 1%, así como la goma xantán al 0.25 %.

VISCOSIZANTE		η (Pa·seg)
<i>Fórmula con Carbopol</i>	0.25 %	0.01367
	0.5 %	0.01621
	0.75 %	0.01797
<i>Fórmula con carboximetilcelulosa sódica/avicel 1%</i>	0.25 %	0.00259
	0.5 %	0.00322
	0.75 %	0.00461
	1 %	0.00557
<i>Fórmula con goma Xantán</i>	0.25 %	0.00348

Tabla 9. Viscosidad de las fórmulas con comportamiento newtoniano.

Las fórmulas que presentan carbopol al 1% y goma xantán al 0.5% muestran un comportamiento pseudoplástico (Figuras 47 y 48). Muchos sistemas coloidales, especialmente las soluciones de polímeros y los sistemas floculados sólido/líquido (Vasiljevic y col., 2006), se hacen más fluidos cuanto más vigorosamente se los agita. Este comportamiento de fluidificación por agitación se denomina pseudoplasticidad. Es un ejemplo de comportamiento no newtoniano debido a que la viscosidad no es constante, sino que decrece conforme aumenta de velocidad de deformación o deslizamiento. La velocidad de deslizamiento aumenta más rápidamente que la tensión, haciendo la curva de flujo cóncava hacia el eje de velocidad.

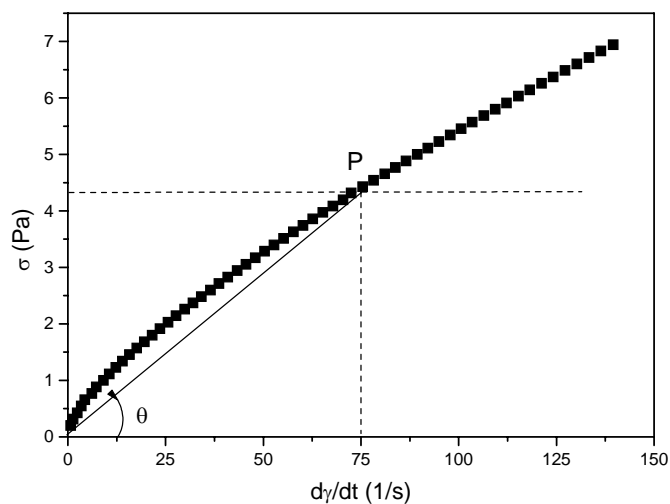


Figura 53. Reograma de un material pseudoplástico (fórmula con carbopol al 1%).

Existe una viscosidad aparente para cada valor de velocidad de deslizamiento o de tensión de deslizamiento (Figuras 50 y 52), de modo que conforme aumenta el esfuerzo o la velocidad de deslizamiento también lo hace la viscosidad. Podemos determinar el valor de la viscosidad aparente como la pendiente de la secante de la curva de flujo en P (Figura 53) o la tangente de θ , que es la viscosidad de un líquido newtoniano cuya curva de flujo pasa por P. Esto es igual a la relación $\sigma_p / (d\gamma/dt)_p$ (Van Wazer y col., 1963; Wilkinson, 1960). El valor de la viscosidad aparente en el punto P nos ayuda a comparar el comportamiento pseudoplástico de distintas muestras, en nuestro caso, la fórmula con carbopol al 1% y con goma xantán al 0.5%, cuyos valores de viscosidad aparente son 0.05869 y 0.01110 Pa·seg respectivamente. Este resultado parece obvio debido a la mayor pendiente de la curva de flujo de la suspensión preparada con carbopol, lo que supone una mayor viscosidad aparente.

Las causas del flujo pseudoplástico son la ruptura progresiva de la estructura del medio líquido por el aumento de deslizamiento y la reconstrucción de la estructura por el movimiento browniano. Las dispersiones de partículas floculadas son pseudoplásticas si las uniones partícula-partícula son demasiado débiles como para resistir las tensiones de deslizamiento aplicadas. El deslizamiento rompe

progresivamente estos agregados a una velocidad que aumenta con el incremento de tensión de deslizamiento.

Finalmente, las suspensiones que contienen goma xantán al 0.75% y 1% exhiben un comportamiento plástico. Esto ocurre cuando las suspensiones están tan concentradas que las partículas tienden a aglomerarse formando puentes continuos de partículas por todo el volumen de la suspensión y, en consecuencia, retículos tridimensionales; de este modo adquieren límites plásticos (Nakamura y col., 2005).

Cuando estos sistemas están en reposo, las fuerzas de cohesión le proporcionan características de sólido, pero si se sobrepasa el límite de fluidez, los enlaces se rompen y pasan a comportarse como líquidos, fluyendo fácilmente. Este esfuerzo inicial se conoce como esfuerzo umbral (σ_0). El criterio empleado para determinar el esfuerzo umbral es considerar que la muestra comienza a fluir cuando la viscosidad alcanza su máximo y este valor coincide con el punto medio del *plateau* del reograma representado en doble escala logarítmica (Figuras 54 y 55). Los valores obtenidos para las suspensiones con comportamiento plástico son 1.164 Pa para la concentración más alta de viscosizante y 0.9391 Pa para el 0.75 %, por lo tanto podemos afirmar que a mayor

concentración mayor esfuerzo umbral y, en consecuencia, mayor carácter plástico.

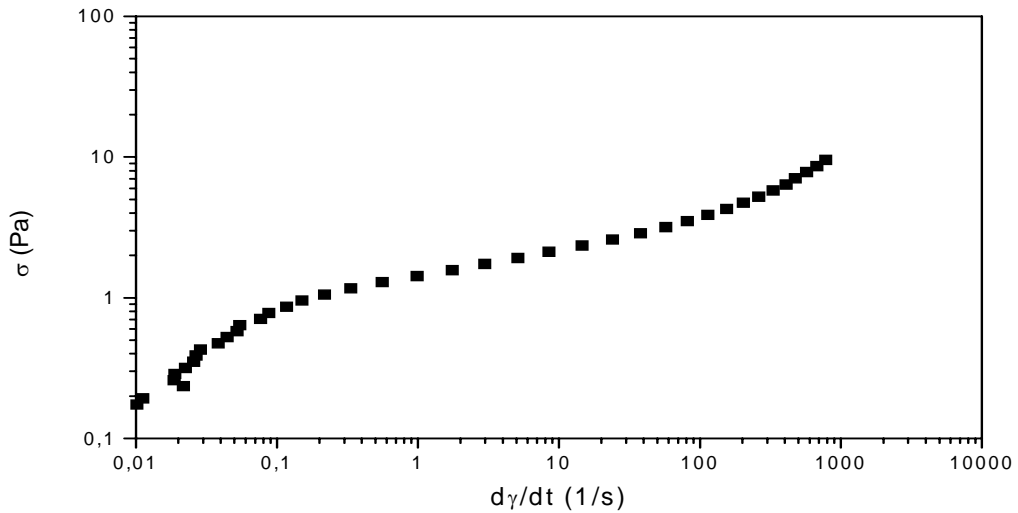


Figura 54. Reograma de la suspensión con 1% de goma xantán.

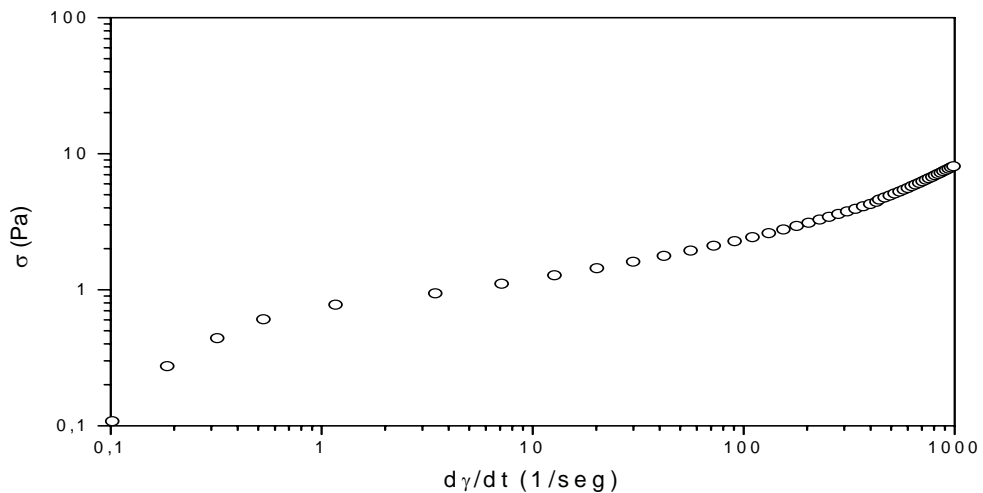


Figura 55. Reograma de la suspensión con 0.75% de goma xantán.

B.- OSCILOMETRÍA

En oscilometría podemos realizar, a las fórmulas objeto de estudio, dos tipos de experimentos:

- Barridos de esfuerzos a una frecuencia constante (1 Hz), para encontrar la zona viscoelástica lineal y calcular la energía de cohesión de los flóculos.
- Barridos de frecuencias a un esfuerzo constante dentro de la zona viscoelástica lineal, para obtener la dependencia de los módulos elástico y plástico, G' y G'' , con respecto a la frecuencia.

Nos centraremos en estudios del primer tipo porque son los que resultan de mayor interés en nuestras muestras.

B.1.- ZONA VISCOELÁSTICA LINEAL

Este estudio se ha llevado a cabo a las suspensiones que muestran un comportamiento plástico o pseudoplástico, que son las únicas que pueden presentar un cierto grado de viscoelasticidad. Los materiales viscoelásticos muestran un flujo viscoso combinado con una deformación elástica cuando se los somete a una tensión.

Aunque la fórmula con carbopol al 1% muestra carácter pseudoplástico, no presenta zona viscoelástica lineal, por lo que no se

le ha podido realizar estudios oscilométricos. Así, las fórmulas sometidas a ensayo han sido las que contienen goma xantán a concentraciones que van desde 0.5 hasta el 1%.

Como muestra la figura 56, para esfuerzos pequeños, se observa un comportamiento viscoelástico lineal ya que en este intervalo el módulo elástico (G') es prácticamente independiente del tiempo. G' permanece más o menos constante hasta un valor de esfuerzo crítico y decrece cuando lo sobrepasa. El comportamiento por encima del esfuerzo crítico indica la destrucción de la estructura debido a la gran amplitud del esfuerzo cortante oscilatorio, la estructura tridimensional de la suspensión deja de existir y se forman flóculos aislados.

De acuerdo con los resultados obtenidos, podemos afirmar que, conforme aumenta la cantidad de goma xantán presente en las fórmulas, se incrementa el valor de G' (Figura 56), lo que se traduce en un mayor grado de estructuración interna. Esto corrobora los resultados obtenidos en viscosimetría. Por otra parte, en todas las muestras estudiadas el módulo elástico (G') es mayor al módulo viscoso (G'') (Fig. 57 y tabla 10) lo que manifiesta un predominio del carácter elástico sobre el viscoso, esto es, un predominio del carácter sólido sobre el líquido.

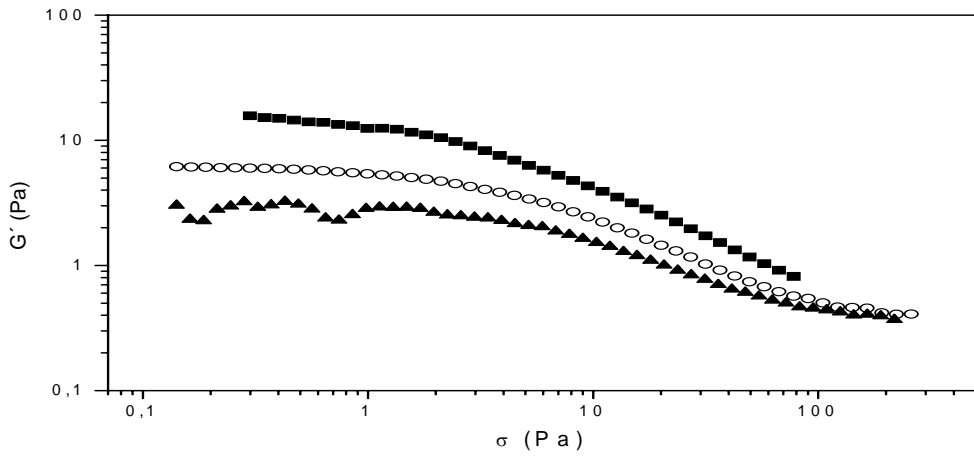


Figura 56. Zona viscoelástica lineal de las fórmulas con goma xantán al 1% (■), 0.75% (○) y 0.5% (▲).

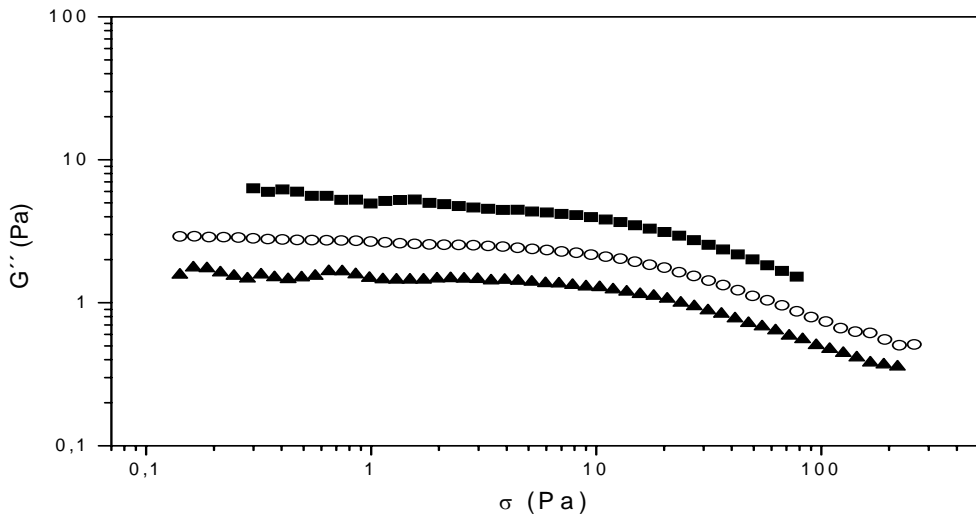


Figura 57. Módulo viscoso (G'') de las fórmulas con goma xantán al 1% (■), 0.75% (○) y 0.5% (▲).

<i>Fórmula con goma xantán</i>	G' (Pa)	G'' (Pa)	σ_c (Pa)
1%	13.909	4.9477	2.1000
0.75%	5.9599	2.6438	3.3923
0.5%	2.9013	1.4463	2.0303

Tabla 10. Valores de G' , G'' y σ_c para las fórmulas con goma xantán con comportamiento plástico y pseudoplástico.

C.- FLUENCIA-RECUPERACIÓN

Finalmente, se han realizado experimentos de fluencia-recuperación, donde hemos sometido a las muestras a un esfuerzo constante (dentro de la zona viscoelástica lineal) durante un tiempo de 120 segundos midiendo la función fluencia (J) en ese periodo de tiempo, así como la recuperación del sistema durante otros 120 segundos cuando el esfuerzo desaparece.

Como se aprecia en las figuras 58 y 59, la suspensión a partir de una concentración de viscosizante del 0.5% experimenta cierto grado de recuperación gracias a su carácter elástico. En cambio, a concentraciones inferiores el sistema prácticamente no se recupera (Figura 60).

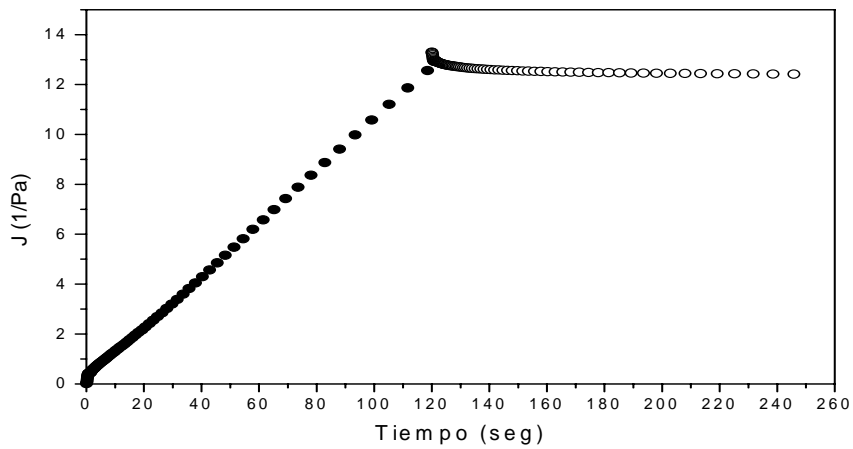


Figura 58. Creep-recoil de la suspensión con goma xantán al 1%.

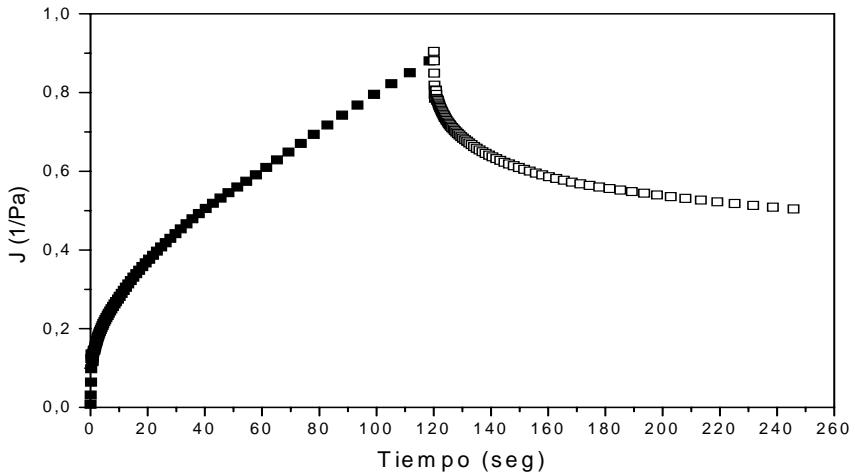


Figura 59. Creep-recoil de la suspensión con goma xantán al 0.75%.

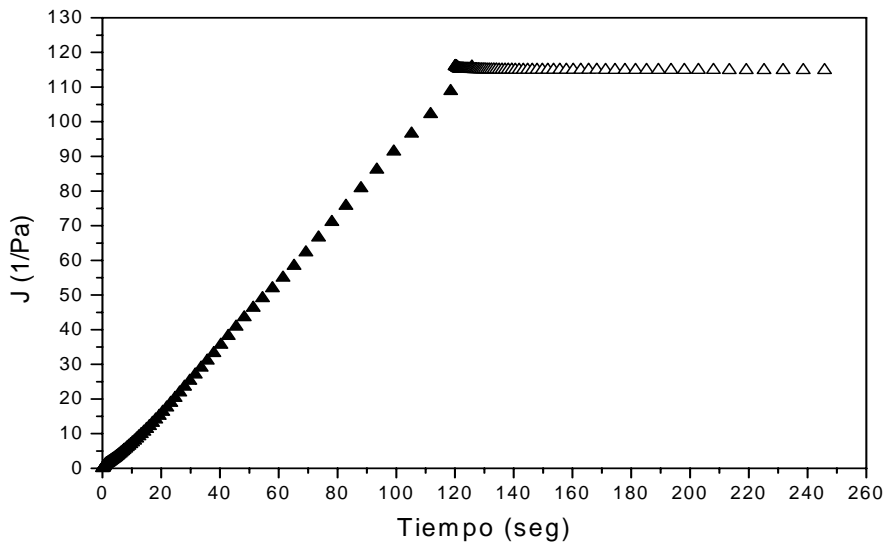


Figura 60. Creep-recoil de la suspensión con goma xantán al 0.5%.

	J_0	δJ (%)
<i>Goma Xantán 1 %</i>	0.1783	42.70
<i>Goma Xantán 0.75 %</i>	0.2516	6.60
<i>Goma Xantán 0.5 %</i>	-1.1256	0.89

Tabla 11. Valores de deformación unitaria instantánea a tiempo cero (J_0) y de la recuperación alcanzada por el sistema (δJ) para las fórmulas con goma xantán al 1, 0.75 y 0.5%.

IV. 4. ESTUDIO DE CESIÓN DEL FÁRMACO

Como es sabido, los procesos de *ladme* se inician con la liberación de un fármaco a partir de un determinado sistema de liberación o forma farmacéutica (o mejor dicho forma de dosificación), de manera que quede disponible para su absorción (Doménech y col., 1998). Así, en nuestro caso y desde un punto de vista farmacéutico, resulta de especial interés conocer cómo será cedido el fármaco, una vez administrada la forma de dosificación.

Por este motivo es muy importante disponer de modelos *in vitro* que nos ayuden a predecir lo que ocurriría en situaciones *in vivo*. Una de las metodologías más empleadas para los estudios de cesión de fármacos consiste en la utilización de células de difusión tipo Franz (Franz, 1975).

Nosotros hemos utilizado células de Franz (FDC-400) de 2 cm de diámetro. Las células constan de 2 compartimentos: donador y receptor. En el compartimiento donador, se coloca 1.25 ml de la forma farmacéutica objeto de estudio con ayuda de una pipeta volumétrica. De esta forma, conocemos perfectamente la dosis de fármaco utilizada. En el compartimiento receptor, se coloca aproximadamente 16 ml de una solución que nos permita mantener las condiciones *sink* en el

transcurso del ensayo, es decir, que la concentración máxima de fármaco disuelto en el medio de trabajo no sea superior al 20% de su concentración a saturación. Como solución receptora hemos escogido un tampón Sorensen a un pH 6.4, por ser éste el pH de las primeras porciones del intestino delgado, donde se absorbe el fármaco tras su administración oral. De esta forma, nos aseguramos que las condiciones *in vitro* son similares a las que encontraríamos *in vivo*. Además, las células de Franz se mantienen a una temperatura de 37° C gracias a la camisa calefactora que presenta este tipo de dispositivos, conectada a un baño termostaticado.

IV. 4.1. Selección de membrana

Entre los dos compartimentos se sitúa la membrana de cesión. Una consideración importante a tener en cuenta antes de iniciar un estudio de este tipo es elegir la membrana que favorezca en mayor medida el paso del fármaco hacia la solución receptora, es decir, que no constituya una barrera. Es importante confirmar que no haya interacción, física o química entre la membrana y la formulación, ya que los excipientes presentes en la fórmula pueden afectar la integridad física de la misma, o, el principio activo puede unirse a ella. Por otra parte, la membrana no debe contener ningún elemento que pueda

causar interferencias en el ensayo o con el fármaco (Thakker y col, 2003).

En trabajos anteriores (Morales y col., 2004), se realizaron estudios de selección de membrana con objeto de determinar con fiabilidad la influencia de la suspensión en la cesión del clorhidrato de morfina. Se ensayaron dos tipos de membrana: nylon y metilcelulosa. Finalmente, se comprobó que aunque la membrana de nylon permitía una difusión más rápida, era la de metilcelulosa la que ofrecía menor resistencia ya que dejaba pasar una mayor cantidad de fármaco (Figura 61). Es por este motivo que hemos seleccionado la membrana de metilcelulosa para llevar a cabo el estudio de cesión de las fórmulas con clorhidrato de morfina.

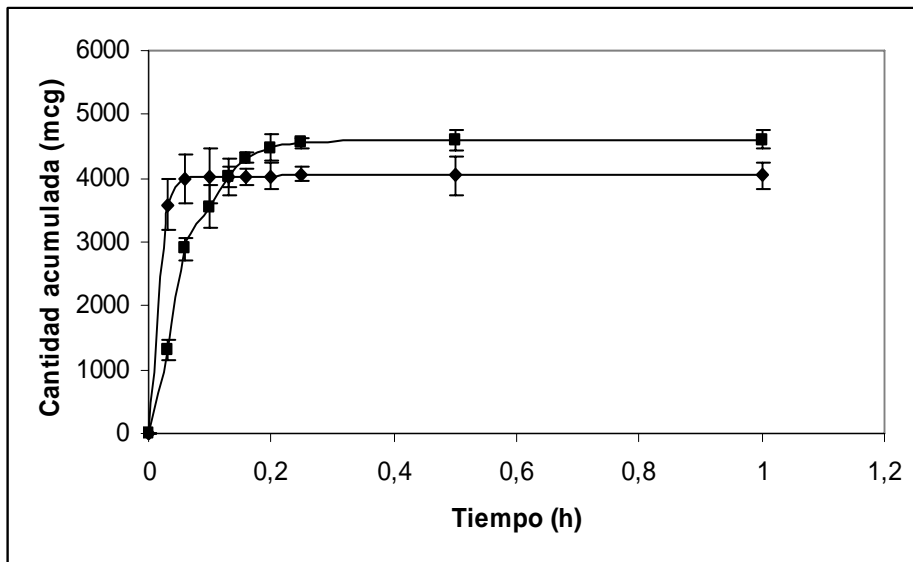


Figura 61. Representación gráfica de las cantidades acumuladas frente al tiempo para los dos tipos de membranas: nylon (◆) y metilcelulosa (■) para las fórmulas con clorhidrato de morfina.

De igual manera se realizó el estudio de selección de membrana para las fórmulas con clorhidrato de tramadol (Figura 62). En este caso queda patente cómo es la membrana de nylon la que ofrece menor resistencia y deja pasar una mayor cantidad de fármaco, en contraposición a lo que ocurría con la morfina. Así, ésta será la membrana de elección para el estudio de cesión de fármaco de las fórmulas con clorhidrato de tramadol.

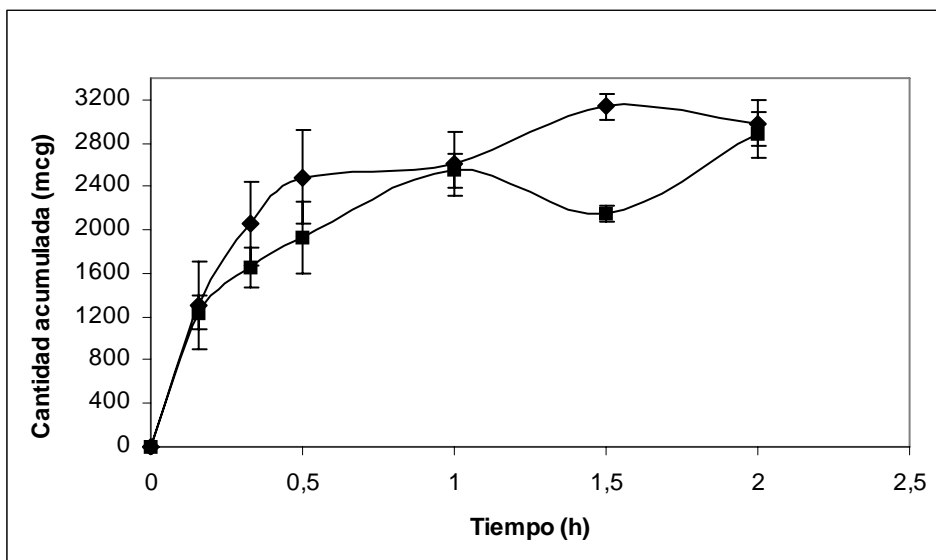


Figura 62. Representación gráfica de las cantidades acumuladas frente al tiempo para los dos tipos de membranas: nylon y metilcelulosa: nylon (♦) y metilcelulosa (■) para las fórmulas con clorhidrato de tramadol.

IV. 4.2. Estudio de cesión

Una vez tenidas en cuenta todas las exigencias del estudio de cesión, realizamos el ensayo propiamente dicho.

En primer lugar, se llevó a cabo el estudio de cesión para cada una de las suspensiones, con clorhidrato de morfina y clorhidrato de tramadol. De acuerdo con los intervalos de tiempo prefijados, se

extraen muestras de 400 μ l del compartimento receptor, reponiendo el volumen extraído con solución receptora. Las cantidades de fármaco estimadas espectrofotométricamente en cada muestra se corrigen en función del número de muestras precedentes y de cada suspensión ensayada se han realizado 4 replicados. El ensayo se ha realizado durante 24 horas. La dosis de ambas suspensiones no es la misma, razón por la que es conveniente comparar las cantidades cedidas normalizadas por la dosis respectiva (Figura 63).

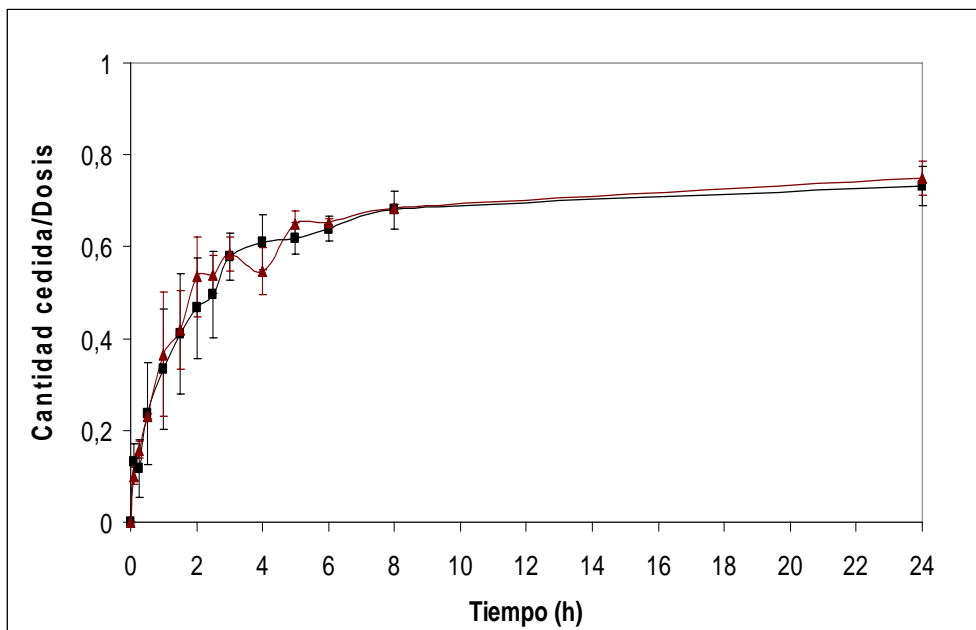


Figura 63. Cantidades cedidas por ambas suspensiones y normalizadas por la dosis en cada caso: suspensión con morfina (■) y suspensión con tramadol (▲).

En efecto, queda demostrado, que ambas suspensiones presentan el mismo perfil de liberación. En el Apéndice II.1 se detalla el estudio estadístico (ANOVA) ejecutado según el programa Statgraphics Plus v. 5.1 de los perfiles de liberación de clorhidrato de morfina y clorhidrato de tramadol desde las micropartículas. Los resultados demuestran que no hay diferencia estadísticamente significativa a un 95% entre las medias de las dos variables, siendo el p-valor del test F superior a 0.05.

En los dos casos, podemos observar una cesión más rápida de fármaco durante las primeras 4 horas del ensayo, momento a partir del cual se observa una liberación más lenta que continúa hasta alcanzar las 24 horas de iniciado el proceso. El efecto explosivo de difusión observado durante las primeras horas es muy común en diferentes tipos de vectores poliméricos, (McCarron y col., 2000).

A continuación realizamos el mismo ensayo para las formulaciones. Hemos seleccionado tres de las fórmulas preparadas para cada uno de los principios activos, una con cada tipo de viscosizante a la concentración más alta. Cada una presenta un comportamiento reológico distinto, lo que resulta particularmente interesante para determinar la influencia de dicho comportamiento sobre el perfil de liberación del fármaco.

En todos los casos la cantidad de clorhidrato de morfina y de clorhidrato de tramadol añadida ha sido de 2400 μg . Las condiciones en las que se lleva a cabo son las mismas que para las suspensiones, sin embargo, el ensayo se ha realizado durante 8 horas y no se ha prolongado más debido a que las fórmulas no pueden permanecer tanto tiempo en el tracto gastrointestinal. Por otra parte, debemos tener en cuenta que alguno de los componentes que constituyen la fórmula puede ser soluble en el tampón y, al igual que la morfina o el tramadol, atravesar la membrana. Realizamos un ensayo de cesión a una fórmula control (sin fármaco) y comprobamos que en ella existen componentes que atraviesan la membrana y contribuyen a la absorbancia de las muestras a las longitudes de onda de máxima absorción para cada principio activo. No obstante, su contribución es idéntica en el intervalo de tiempo estudiado, por lo que resulta fácil restar este dato a la absorbancia de la fórmula. Así, nos aseguramos que las cantidades obtenidas corresponden únicamente a fármaco cedido. Finalmente, todas las muestras extraídas se analizan espectrofotométricamente para determinar las cantidades cedidas.

IV. 4.2.a. Fórmulas con clorhidrato de morfina

En primer lugar, analizaremos los resultados obtenidos para las formulaciones con clorhidrato de morfina. Como queda reflejado en la Figura 64, durante la primera hora del estudio, las tres formulaciones tienen un comportamiento parecido en cuanto a liberación, si bien ya puede apreciarse una cesión más rápida en la fórmula con carboximetilcelulosa sódica al 1%.

Sin embargo, a partir de las 2 horas puede verse claramente cómo la fórmula con goma xantán al 1% es la que presenta una liberación más lenta, de manera que trascurridas las 8 horas que dura el ensayo, las cantidades cedidas de clorhidrato de morfina son menores que en el caso de las formulaciones con carbopol o carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1%.

Por otra parte, podemos observar cómo las fórmulas con carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1% se presentan como las que más rápidamente liberan el principio activo, por encima de la fórmula con carbopol.

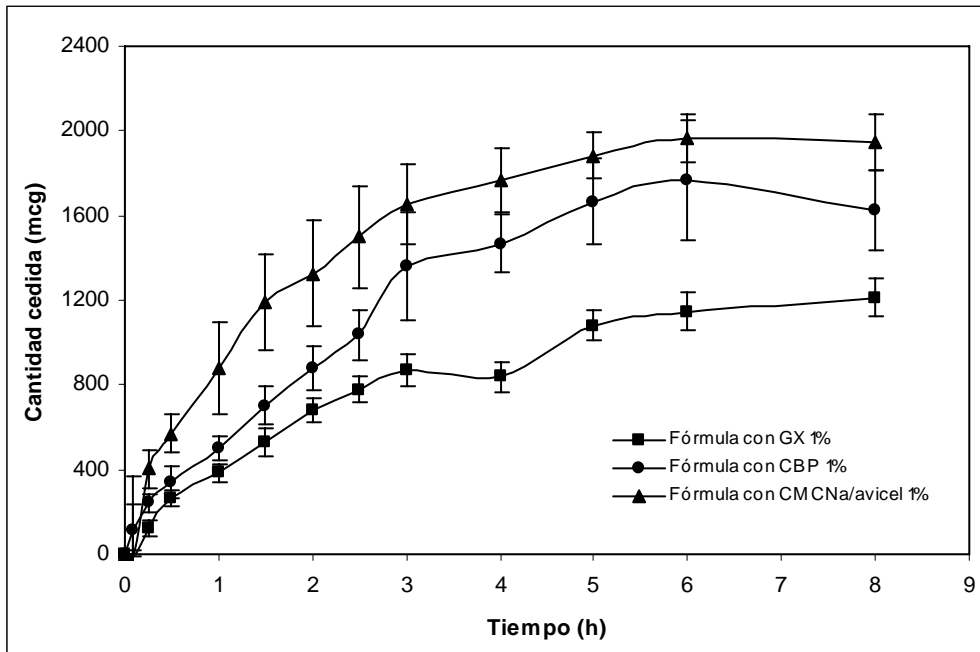


Figura 64. Cantidades acumuladas de clorhidrato de morfina para la fórmula con goma xantán al 1%, carbopol al 1% y carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1%.

En la siguiente gráfica, (Figura 65), comparamos el porcentaje de las cantidades cedidas de clorhidrato de morfina para las fórmulas con cada viscosizante con la suspensión, así podemos determinar con fiabilidad la influencia del viscosizante en la cesión del fármaco.

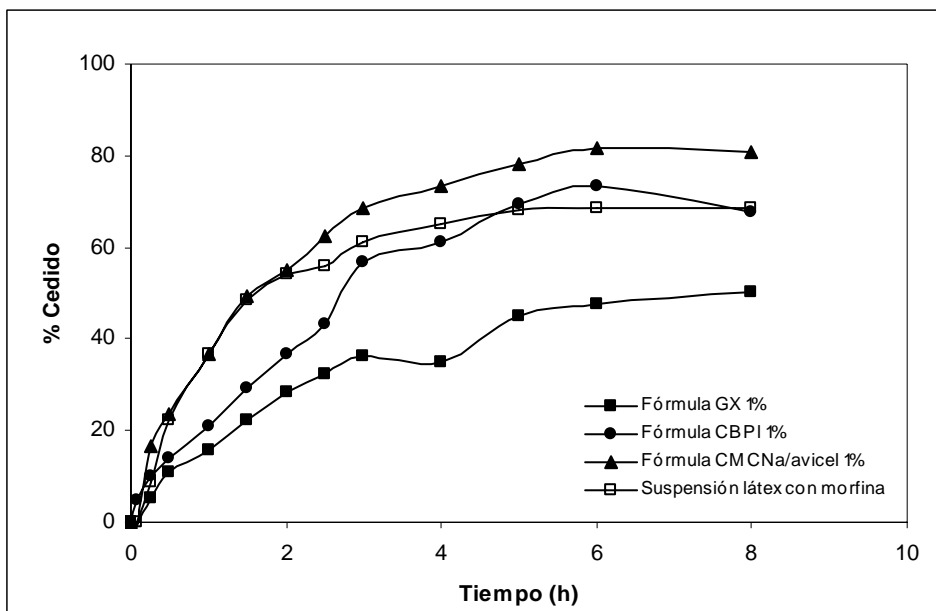


Figura 65. Porcentaje de las cantidades cedidas de clorhidrato de morfina para las fórmulas con goma xantán al 1%, carbopol al 1% y carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1%.

Podemos observar que la formulación con goma xantán al 1% presenta claramente una liberación más lenta, no sólo con respecto a las otras formulaciones, sino también con respecto a la suspensión, siendo su porcentaje cedido el 50% de la dosis empleada. Este dato resulta lógico puesto que, como pudimos comprobar en los estudios de viscosimetría, la goma xantán era el viscosizante que mayor viscosidad confería a las fórmulas. El hecho de que la liberación se vea retardada a

valores de viscosidad más elevados ha quedado plasmado en diversos trabajos, (Luan y col., 2005). Por otra parte y con respecto a la formulación con carbopol al 1%, podemos comprobar que durante las 5 primeras horas del ensayo la liberación de fármaco se produce de una forma más controlada que en el caso de la suspensión sola, sin embargo a partir de este momento, la cesión supera ligeramente a la suspensión, presentando, finalmente, un porcentaje cedido del 73.6% de la dosis. Por último, y como queda reflejado en la gráfica, la carboximetilcelulosa sódica al 1% no confiere ninguna modificación en la velocidad de liberación del principio activo desde las micropartículas de etilcelulosa durante las 2 primeras horas del ensayo, sin embargo, a partir de este momento, se incrementa sustancialmente la liberación del clorhidrato de morfina, llegándose a un porcentaje de fármaco cedido del 81%, muy por encima del alcanzado en el caso de la suspensión. Creemos que este comportamiento en cuanto a la liberación puede deberse a que la carboximetilcelulosa sódica es soluble en agua. Así, se produce un aumento de la fuerza osmótica en el medio, lo que favorece la salida del fármaco disuelto desde las microesferas, y por consiguiente, una mayor cesión del mismo. Estos resultados confirman los hallazgos de diversos autores según los cuales excipientes solubles en agua aumentan las tasas de disolución (Khan. y col., 1998).

Asimismo, se realizó el estudio estadístico (ANOVA) de los perfiles de liberación de las fórmulas con clorhidrato de morfina (Anexo II.2), en base al cual podemos afirmar que sólo existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la fórmula con goma xantán y carboximetilcelulosa sódica/avicel. Sin embargo, teniendo en cuenta el p-valor resultante existe una tendencia de la fórmula con carbopol a liberar mayor cantidad de clorhidrato de morfina y a mayor velocidad que en el caso de la fórmula con goma xantán, tal y como queda reflejado en las gráficas de liberación (Figuras 64 y 65).

IV. 4.2.b. Fórmulas con clorhidrato de tramadol

Finalmente, exponemos los resultados obtenidos para las fórmulas con clorhidrato de tramadol.

Como queda reflejado en la figura 66, las preparaciones con tramadol presentan un comportamiento similar al de las formulaciones con morfina. En este caso vuelve a ser la fórmula con goma xantán al 1% la que libera el principio activo más lentamente. Con respecto a las preparaciones con carbopol y carboximetilcelulosa sódica/avicel, volvemos a encontrar que la fórmula con carboximetilcelulosa sódica

es la que más rápidamente libera el fármaco, quedando de nuevo la fórmula con carbopol en un lugar intermedio. Sin embargo, en esta ocasión, las diferencias entre las tres preparaciones no son tan notables como en el caso de la morfina. Incluso podemos ver cómo la fórmula con carbopol y carboximetilcelulosa sódica presentan un comportamiento prácticamente idéntico durante las tres primeras horas del ensayo, momento a partir del cual la fórmula con carboximetilcelulosa se diferencia ligeramente de la de carbopol liberando tramadol a mayor velocidad. Así, como queda patente en la figura 66, podemos observar que una vez finalizado el ensayo las cantidades cedidas de fármaco son similares en las tres fórmulas.

Estos resultados quedan corroborados con el tratamiento estadístico de los perfiles de liberación recogidos en el Anexo II.2, según el cual podemos afirmar que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre las tres fórmulas estudiadas.

Finalmente, también se realizó el estudio estadístico entre las fórmulas con clorhidrato de morfina y clorhidrato de tramadol, (Véase anexo II.2), comparando las preparaciones con el mismo viscosizante. De acuerdo a los datos obtenidos, observamos que sólo existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre las fórmulas

con carboximetilcelulosa sódica/avicel. De acuerdo con el p-valor podemos afirmar que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las formulaciones con goma xantán y carbopol, aunque observamos una tendencia en las preparaciones con clorhidrato de morfina y carbopol a liberar mayor cantidad de fármaco y a mayor velocidad que en el caso del tramadol.

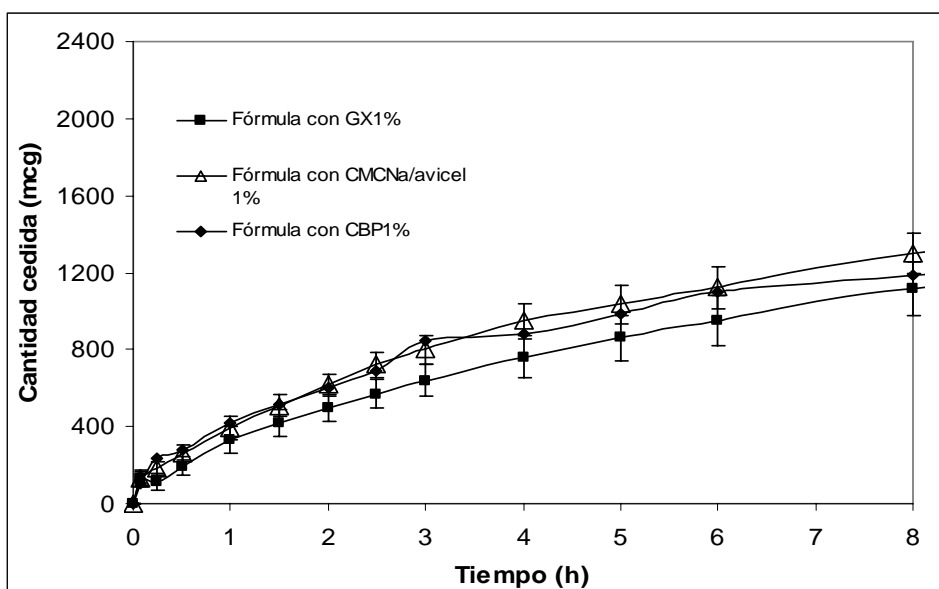


Figura 66. Cantidades acumuladas de clorhidrato de tramadol para la fórmula con goma xantán al 1%, carbopol al 1% y carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1%.

A continuación, en la figura 67 podemos observar los porcentajes de fármaco cedido para cada una de las formulaciones en

comparación con la suspensión. Como queda reflejado, una vez finalizado el ensayo, la fórmula con goma xantán al 1% cede un 46% de tramadol, porcentaje muy similar al cedido en el caso de la morfina y, como ocurría en aquella ocasión, muy por debajo del porcentaje cedido por la suspensión. Este comportamiento vuelve a encontrar su explicación en el hecho de que la goma xantán es el viscosizante que mayor viscosidad confiere a las fórmulas, factor que condiciona la velocidad de liberación del fármaco desde la forma de dosificación.

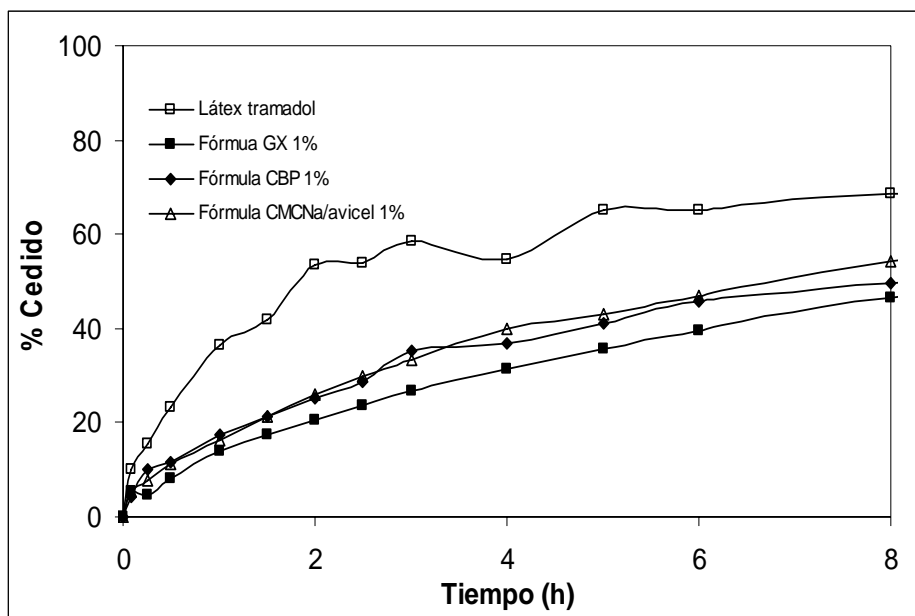


Figura 67. Porcentaje de las cantidades cedidas de clorhidrato de tramadol para las fórmulas con goma xantán al 1%, carbopol al 1% y carboximetilcelulosa sódica/Avicel al 1%.

La fórmula con carbopol al 1% (a las 8 horas), libera aproximadamente un 50% de fármaco, mientras que en el caso de la carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1% el porcentaje cedido es del 55%, como vemos, muy similares entre sí. En esta ocasión, y a pesar de que la formulación con carboximetilcelulosa sódica/avicel sigue siendo la que más rápidamente libera el principio activo, podemos observar que el porcentaje cedido está muy por debajo del alcanzado en la fórmula con morfina, en la que superaba incluso a la suspensión de fármaco sola.

Así, para intentar explicar esta diferencia en el comportamiento de las fórmulas, repetimos el ensayo, prolongando su duración hasta las 24 horas, de manera que podamos hacer un estudio más exhaustivo del perfil de liberación de cada una de ellas.

Como queda patente en la figura 68, a partir de las 8 horas se observa una diferenciación en la velocidad de liberación del fármaco desde las formulaciones. Vemos cómo la fórmula con goma xantán continúa liberando fármaco hasta las 24 horas, de manera que finalizado el ensayo alcanza un porcentaje de tramadol cedido del 77%. La fórmula con carbopol, que en principio cede el fármaco de manera más rápida que la preparación con goma xantán, se iguala en cuanto a velocidad de liberación con ésta a partir de las 14 horas, de forma que a

las 24 horas ambas formulaciones presentan un porcentaje de fármaco cedido muy similar. Además, este porcentaje es prácticamente igual al alcanzado por la suspensión sola.

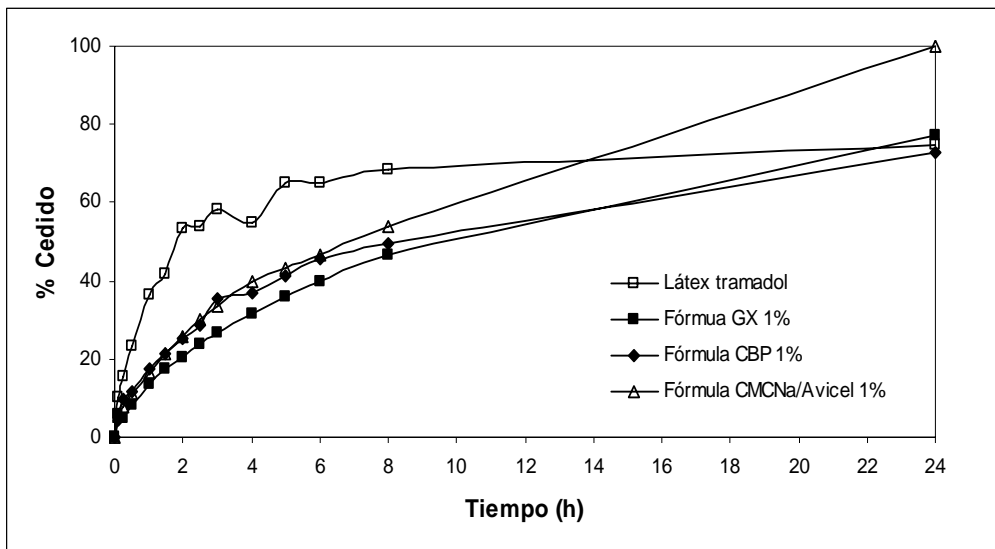


Figura 68. Porcentaje de las cantidades cedidas de clorhidrato de tramadol para las fórmulas con goma xantán al 1%, carbopol al 1% y carboximetilcelulosa sódica/Avicel al 1%.

De igual manera podemos observar cómo a partir de las 8 horas de ensayo la fórmula con carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1% comienza a liberar el fármaco más rápidamente, diferenciándose de las demás formulaciones y superando incluso a la suspensión sola a partir

de las 14 horas. Como queda reflejado en la figura 68, a las 24 horas, la fórmula ha cedido el 100% del principio activo.

Finalmente, hemos podido comprobar que el comportamiento de la fórmula con carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1% con tramadol, ha sido el mismo que en el caso de la formulación con morfina, puesto que ha presentado una liberación sustancialmente más rápida, llegando incluso a superar a la suspensión sola. Sin embargo, éste comportamiento se ha puesto de manifiesto más tarde que en la formulación con morfina. Pensamos que este hecho se debe a la presencia del viscosizante en el medio que, influye en la solubilidad de los principios activos debido a las características fisicoquímicas de los mismos.

IV. 4. 3. Cinética de cesión

Puesto que el mecanismo de liberación intrínseco frecuentemente se desconoce en cada caso particular, pueden ensayarse diferentes modelos matemáticos con la finalidad de elegir el que con mayor fiabilidad es capaz de explicar la cinética de cesión del fármaco a partir de una forma de dosificación dada. Las funciones mayoritariamente utilizadas pueden clasificarse en dos grandes grupos:

A) Con base fisicoquímica:

- Procesos de orden cero
- Procesos de orden uno
- Ecuación de la raíz cúbica
- Ecuación de la raíz cuadrada.

B) Sin base fisicoquímica:

- Ecuación de Weibull

Hemos recurrido, por considerarlas las más adecuadas, a funciones de orden cero, uno, raíz cuadrada y raíz cúbica, cuyas expresiones matemáticas correspondientes son:

- Función de orden cero: $Q_t = k_c (t - t_0)$

Q_t : cantidad cedida

K_c : constante de cesión

- Función de orden uno: $Q_t = Q_\infty (1 - e^{-K_c(t-t_0)})$

Q_∞ : cantidad máxima cedida

- Función de raíz cuadrada: $Q_t = K_c \sqrt{(t - t_0)}$

- Función de raíz cúbica: $Q = Q_\infty - [Q_\infty^{1/3} - K_c(t - t_0)]^3$

Los datos experimentales se han ajustado a cada uno de los modelos matemáticos (programa Excel 2000), empleándose el criterio de información de Akaike para seleccionar la función que mejor explica el proceso de cesión y cuya ecuación es:

$$AIC = n \ln SSQ + 2p$$

n: número de pares de valores experimentales

SSQ: suma de los cuadrados de los residuales

p: número de parámetros de la función de ajuste

Este criterio se basa en el hecho de que los valores residuales deben estar distribuidos aleatoriamente y la suma de sus cuadrados (SSQ) tiene que ser mínima. Además, tiene en cuenta que cuanto mayor es el número de parámetros de la función de ajuste (p), mayor será la posibilidad de que sea menor el valor de SSQ.

La función que presente el menor valor de AIC es la que, estadísticamente, explica mejor el proceso de disolución estudiado. En el Anexo III queda recogido, a modo de ejemplo, el ajuste de los datos a cada uno de los modelos matemáticos para la fórmula con clorhidrato de morfina y goma xantán al 1%.

En la tabla 12, quedan reflejados los valores de AIC para cada una de las fórmulas y cinéticas ensayadas.

		<i>ORDEN</i>	<i>ORDEN</i>	<i>RAIZ</i>	<i>RAIZ</i>
		<i>CERO</i>	<i>UNO</i>	<i>CUADRADA</i>	<i>CÚBICA</i>
MORFINA	GX 1%	61.895	46.376	61.894	34.226
	CBP 1%	63.265	47.847	63.474	39.248
	CMCNa/ Avicel 1%	63.039	49.671	64.480	41.179
	GX 1%	62.141	47.016	61.133	33.084
TRAMADOL	CBP 1%	61.584	47.767	61.825	34.923
	CMCNa/ Avicel 1%	61.802	47.077	61.441	33.869

Tabla 12. Valores de AIC para cada una de las fórmulas y cinéticas ensayadas.

A la vista de estos resultados podemos afirmar que todas las formulaciones siguen una cinética de raíz cúbica. Sabemos que esta cinética puede aplicarse, por razones geométricas, cuando las partículas del fármaco presentan forma esférica o cuando se trabaja en presencia de tensioactivos que forman micelas en el seno de la disolución

(Doménech y col., 1998). En nuestro caso, las micropartículas de etilcelulosa en las que queda encapsulado el fármaco, clorhidrato de morfina o de tramadol, presentan forma esférica, por lo que podríamos justificar que sea la cinética de raíz cúbica la función que más se adapta al proceso de cesión del principio activo.

IV. 4. 4. Parámetros modelo independientes: EF% y MDT

También se utilizan parámetros independientes del modelo de cesión que sigue el fármaco. Los más utilizados son la eficiencia de cesión y los momentos estadísticos, que serán los que determinemos para cada una de nuestras formulaciones (Véase Anexo III).

		<i>EF%</i>	<i>MDT (h)</i>
<i>MORFINA</i>	GX 1%	70.263	0.315
	CBP 1%	73.595	0.286
	CMCNa/Avicel 1%	79.022	0.251
<i>TRAMADOL</i>	GX 1%	63.202	0.400
	CBP 1%	70.503	0.289
	CMCNa/Avicel 1%	65.855	0.379

Tabla 13. Eficiencia de cesión y momentos estadísticos para cada una de las formulaciones ensayadas.

Como podemos observar en la tabla 13, en las preparaciones con clorhidrato de morfina, la fórmula que presenta una mayor eficiencia de cesión es la que contiene carboximetilcelulosa sódica como viscosizante, seguida de la fórmula con carbopol. La formulación con goma xantán, sin embargo, es la que aparece con una eficiencia más baja. Estos datos concuerdan con los resultados obtenidos en el apartado anterior.

Para las fórmulas con clorhidrato de tramadol, es la preparación con carbopol la que muestra una mayor eficiencia de cesión, seguida de la fórmula con carboximetilcelulosa sódica. De igual manera que en el caso anterior, la fórmula con goma xantán es la que presenta una eficiencia más baja.

Estos resultados eran los que cabía esperar teniendo en cuenta que la eficiencia de cesión (EF), se calcula a partir de las curvas acumulativas de fármaco cedido, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$EF(\%) = (AUC_0^T / Q_{100} \cdot T) 100$$

AUC_0^T = valor del área bajo la curva acumulativa de cesión, desde el tiempo cero hasta el último valor experimental (T), calculada por trapezoides.

$Q_{100} \cdot T$ = área del rectángulo delimitado por el porcentaje máximo de fármaco cedido y el tiempo correspondiente al último punto experimental.

De acuerdo con la bibliografía consultada, la eficacia de cesión debe ser como mínimo del 90%, (Doménech y col., 1998) valor que no se alcanza con ninguna de las tres formulaciones. Ésto se debe a que las micropartículas de etilcelulosa han liberado como máximo un 67% de la dosis en el caso de la morfina y un 54 % en el del tramadol transcurridas las 8 horas que dura el ensayo de cesión. No obstante, esta eficacia se tendrá en cuenta a la hora de ajustar la dosis que necesita el paciente en cada caso.

El tiempo medio de cesión (MDT), representa el tiempo que tarda en cederse el porcentaje de principio activo liberado desde cada formulación.

Así, y apoyándonos en los resultados obtenidos, podemos afirmar que en las fórmulas con morfina, la que contiene goma xantán es la que presenta una liberación más lenta por tener un MDT más alto, seguida de la fórmula con carbopol y de la fórmula con carboximetilcelulosa sódica/avicel, que es la que más rápidamente cede el principio activo. Así, este parámetro nos permite corroborar los resultados obtenidos en el estudio de cesión, en el que mediante las

cantidades acumuladas en función del tiempo llegamos a las mismas conclusiones.

En las fórmulas con tramadol, vuelve a ser la formulación con goma xantán la que presenta un MDT más alto, seguida de la fórmula con carboximetilcelulosa sódica/avicel y de la fórmula con carbopol. En este caso da la impresión de que la fórmula con carbopol es la que cede el principio activo de forma más rápida, pero apoyándonos en los estudios de cesión vemos cómo ambas fórmulas presentan una velocidad de liberación muy similar durante las primeras 3 horas del ensayo, momento a partir del cual la fórmula con carboximetilcelulosa sódica comienza a ceder tramadol más rápidamente. Además, si bien es cierto que una vez finalizado el ensayo ambas formulaciones ceden porcentajes de fármaco muy similares, hemos podido comprobar que a partir de las 8 horas la fórmula con carboximetilcelulosa sódica se diferencia de las demás aumentando sustancialmente su velocidad de liberación de tramadol, llegando incluso a superar a las suspensión de fármaco sola.

IV. 5. MECANISMO DE LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO DESDE LAS MICROPARTÍCULAS

La liberación del fármaco desde las micropartículas es un fenómeno de transporte masivo que conlleva la difusión de las moléculas de principio activo desde una región más concentrada de la forma de dosificación a una región de menor concentración. Sin embargo, también pueden estar implicados otros mecanismos como el hinchamiento y erosión de las micropartículas

Diferentes investigadores han intentado establecer un modelo que explique el mecanismo de liberación del fármaco desde este tipo de sistemas, aunque los resultados no han sido muy satisfactorios. Esto se debe a la gran diversidad de factores que influyen en el proceso, tales como la forma y tamaño de las micropartículas o las características del núcleo y de los materiales de recubrimiento. Además, las propiedades fisicoquímicas del material que constituye el núcleo, como solubilidad, difusividad y coeficiente de partición y, del material de recubrimiento, como el espesor o la porosidad, dificultan el modelaje del mecanismo de liberación del fármaco desde las micropartículas.

Nosotros queremos conocer la forma en que las moléculas de fármaco salen de las micropartículas poliméricas después de la administración oral y cómo son liberadas al tracto gastrointestinal. Está

demostrado que la tasa de moléculas de principio activo que pasan al medio depende del mecanismo de liberación. Usualmente, consideramos este mecanismo como una combinación entre difusión y transporte de Caso II (Ritger, Peppas 1987 a, b). En el primer caso, la difusión está gobernada por la ley de Fick, mientras que en el transporte de Caso II (Ensore et al. 1977) el mecanismo predominante de liberación del fármaco es mediante hinchamiento, relajación y, consecuentemente, erosión del sistema.

Para predecir el mecanismo de liberación del fármaco desde las micropartículas usaremos el modelo semi-empírico publicado por Peppas y colaboradores (Peppas y col., 1989) y que responde a la siguiente ecuación:

$$M_t / M_\infty = k \cdot t^n$$

Donde M_t es la cantidad de fármaco cedida a tiempo t , M_∞ es la cantidad de fármaco acumulada a tiempo infinito, k la constante cinética (parámetro determinado experimentalmente), que depende de las características estructurales y geométricas del sistema y n es un exponente que depende de la geometría del sistema y que está

relacionado con el mecanismo de liberación tal y como queda recogido en la tabla 14.

<i>Exponente, n</i>			<i>Mecanismo de liberación</i>
Película	Cilíndrica	Esférica	
0.5	0.45	0.43	Difusión fickiana
$0.5 < n < 1.0$	$0.45 < n < 0.89$	$0.43 < n < 0.85$	Transporte anómalo
1.0	0.89	0.85	Transporte de Caso II

Tabla 14. Exponente de liberación relacionado con el mecanismo de liberación y la geometría del sistema.

Esta ecuación permite un análisis exacto de los resultados cuando se aplica a la primera fracción de la curva de liberación, la correspondiente al primer 60% de fármaco liberado. A partir de los datos experimentales y mediante un ajuste lineal por mínimos cuadrados, determinamos el valor de n para cada suspensión. Los valores obtenidos fueron de 0.46 para el látex con morfina y 0.48 para el látex con tramadol. Puesto que nuestro sistema consiste en partículas

esféricas coloidales, podemos concluir que el mecanismo de liberación se produce por transporte anómalo, incluyendo ambos procesos, difusión y caso II.

Sin embargo, teniendo en cuenta que ambos valores están más cercanos a 0.43 que a 0.85, podemos decir que la mayor parte del fármaco se libera por difusión (más que por hinchamiento y erosión), tal y como cabe esperar de los sistemas hidrofóbicos.

IV. 6. ESTUDIO DE CITOTOXICIDAD Y CESIÓN EN UNA MONOCAPA DE CÉLULAS INTESTINALES.

Las monocapas de células de carcinoma de colon humano, presentan gran similitud con el epitelio intestinal y han demostrado ser de gran validez para la realización de estudios *in vitro* de absorción intestinal y determinación de la influencia de procesos de transporte activo en la misma (Artursson y col., 1990). Las células del epitelio humano no pueden utilizarse directamente para la realización de estos estudios puesto que se obtienen fácilmente, pero no son susceptibles de formar monocapas celulares, imprescindibles para realizar ensayos de absorción.

Antes de llevar a cabo el estudio de cesión, debemos realizar un estudio de citotoxicidad de nuestras formulaciones con objeto de descartar concentraciones citotóxicas.

Concentración (%)	SUPERVIVENCIA (%)			
	LATEX	GOMA XANTAN	CARBOPOL	CMCNa/avicel
0.5	100	100	100	100
1	100	100	100	100
5	48,98	100	100	100
7	52,52	100	100	75,80
10	41,66	96,77	70,20	42,93

Tabla 15. Toxicidad de la suspensión y las fórmulas a las diferentes concentraciones ensayadas sobre células intestinales (Caco-2).

A la vista de los resultados (Tabla 15), podemos decir que tras 8 horas de incubación, las células presentan una supervivencia del 100% para las tres fórmulas estudiadas a una concentración del 5%. Este porcentaje se mantiene para las fórmulas con goma xantán y carbopol a una concentración del 7%, mientras que en el caso de la carboximetilcelulosa sódica la supervivencia disminuye hasta un 76%. La fórmula con goma xantán al 10% presenta igualmente una tasa de

supervivencia celular del 100%, porcentaje que se ve disminuido para las demás formulaciones a esta concentración.

Cabe destacar la baja tasa de supervivencia que se observa al poner las células en contacto con la suspensión a concentraciones mayores del 2%, resultado que discrepa con los obtenidos para las formulaciones. Teniendo en cuenta la composición de las fórmulas, con un 50% de la suspensión en todos los casos, no podemos pensar que ésta presente realmente tasas altas de citotoxicidad. Además, vemos cómo las células mantienen una supervivencia del 100% estando en contacto con la fórmula con goma xantán a todas las concentraciones ensayadas.

Puesto que la única variante entre las fórmulas es el viscosizante y todos ellos son ampliamente utilizados para uso oral, sólo podemos explicar los resultados obtenidos en función de las características propias de nuestras fórmulas. Tal y como avalan los estudios de sedimentación, sabemos que la preparación con goma xantán al 1% es la más estable, de manera que a las 8 horas no habría sedimentado, razón por la cual las células presentan un 100% de supervivencia. La fórmula con carbopol al 1% es menos estable, de manera que resulta lógico que a concentraciones mayores del 7% éste efecto se traduzca en una disminución de la supervivencia celular,

resultado de un contacto directo de las micropartículas de etilcelulosa con las células Caco-2.

En el caso de la fórmula con carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1%, sabemos que la estabilidad se ve comprometida en las primeras horas del ensayo, razón por la que encontramos tasas de supervivencia celulares menores a mayor concentración de la preparación.

Claramente, según éste razonamiento, la suspensión sin viscosizante es la que más rápidamente favorecerá el contacto directo de las micropartículas con las células, lo que se traduce en altas tasas de citotoxicidad.

Sabemos que en condiciones fisiológicas, el propio peristaltismo intestinal evitaría la sedimentación de las suspensiones, condiciones que no han podido ser reproducidas *in vitro* y que han constituido una limitación a la hora de realizar este estudio.

Sin embargo, ante los resultados obtenidos y a modo de *screening*, utilizamos el estudio de citotoxicidad para elegir una concentración a la cual la fórmula seleccionada no sea citotóxica en las condiciones experimentales y que nos asegure que el ensayo de absorción a través de la monocapa intestinal se llevará a cabo de forma satisfactoria.

Considerando todos los estudios realizados hasta ahora, seleccionamos las fórmulas elaboradas con carbopol al 1% como las más apropiadas, ya que muestran una estabilidad y comportamiento reológicos adecuados para su aplicación final, además de un perfil de liberación satisfactorio, ajustándose igualmente a un modelo cinético esperado. Tomaremos la concentración del 7% como la apropiada para realizar el estudio de cesión en monocapa, puesto que no presenta citotoxicidad tras las 8 horas de duración del ensayo.

IV. 6.1. Estudio de cesión a través de una monocapa de células intestinales.

Este ensayo se realizó según el protocolo descrito en el apartado de materiales y métodos. De forma breve, las fórmulas ensayadas se diluyeron en el tampón de transporte hasta una concentración del 7%. Como control se utilizó la fórmula sin fármaco.

En la zona apical se añadieron 400 μl de la dilución anterior, mientras que en la zona basolateral se pusieron 700 μl del mismo tampón de transporte, como fase receptora. La placa se incubó a 0.5, 1, 1.5, 2, 6 y 7 horas a 37°C y atmósfera humificada a 5% de CO₂. Transcurridos los diferentes tiempos se recogió todo el volumen de la

zona basolateral y se cuantificó la cantidad de fármaco (morfina o tramadol), siguiendo el procedimiento habitual.

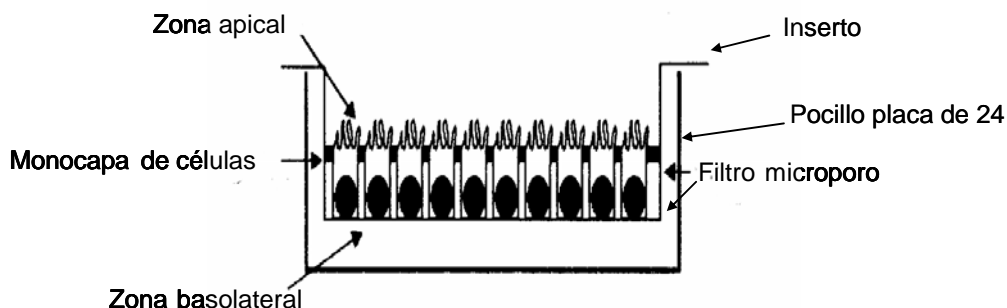


Figura 70. Esquema de un pocillo de la placa de células Caco-2 utilizada para el ensayo de cesión.

En la figura 71, se representa las cantidades de fármaco cedido en función del tiempo y, si lo comparamos con los perfiles obtenidos en los estudios con células de Franz, la tendencia observada en ambos ensayos es muy similar. Se produce una cesión más rápida de fármaco durante la primera hora del ensayo, como ocurre en distintos tipos de vectores poliméricos (McCarron y col., 2000), y a partir de este momento se aprecia una liberación más lenta, que se mantiene constante hasta la finalización del ensayo.

Asimismo, los porcentajes cedidos (Figura 72) en este caso y los obtenidos con las células de Franz son similares, aunque los fármacos tienen que liberarse y, después, atravesar la barrera intestinal.

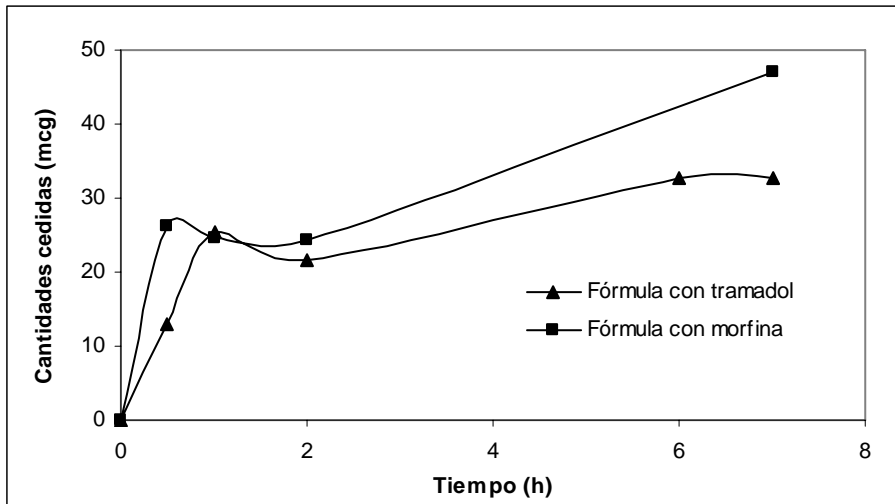


Figura 71. Cantidades cedidas de clorhidrato de morfina y tramadol en función del tiempo en el ensayo con células intestinales.

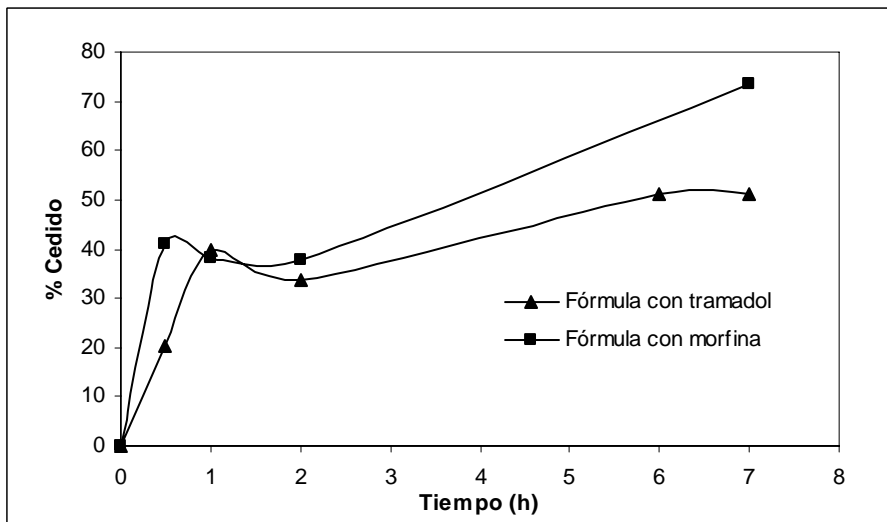


Figura 72. Porcentajes de fármaco cedidos en función del tiempo en el ensayo con células intestinales.

V. CONCLUSIONES

V.1. CARACTERIZACIÓN DE LAS MICROPARTÍCULAS

V.1.1. Caracterización microfotográfica de las micropartículas.

✓ Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM), muestran partículas esféricas de superficie porosa para los látex con morfina y tramadol.

✓ En el látex con morfina las micropartículas más representativas muestran un diámetro comprendido entre 2.5 y 3 μm , mientras que en el látex con tramadol el tamaño de partícula se encuentra entre 3.5 y 5.5 μm .

V.1.2. Rendimiento de encapsulación.

✓ Para el látex con morfina el rendimiento de encapsulación se encuentra entre 92-96% y es independiente de la concentración utilizada, mientras que para el látex con tramadol el rendimiento de

encapsulación obtenido varía entre el 30-82% en función de la concentración empleada.

V.1.3. Espectros de infrarrojos.

✓ En base a los resultados obtenidos en los espectros de infrarrojos, podemos afirmar que existen interacciones entre determinados grupos funcionales de las micropartículas y de los principios activos.

V.1.4. Análisis calorimétrico.

✓ Las diferencias observadas entre los termogramas de las micropartículas con fármaco encapsulado con respecto a los termogramas del látex y de los principios activos, ponen de manifiesto que no se trata de una mezcla física de ambos, sino que realmente se forma un complejo fármaco-polímero.

V.II. ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE LAS FÓRMULAS

V.II.1 Estabilidad: sedimentación.

✓ No se aprecian diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) en el comportamiento de las fórmulas preparadas con uno u otro fármaco.

✓ Todas las fórmulas presentan una sedimentación “retardada” o “impedida”, puesto que la altura del sedimento disminuye en todos los casos a medida que transcurre el tiempo.

✓ La goma xantán es el viscosizante que mayor estabilidad confiere a las fórmulas a todas las concentraciones ensayadas, pero especialmente a la concentración del 1%. El carbopol se presenta como el segundo viscosizante de elección para asegurar la estabilidad de la fórmula y la concentración a elegir es también del 1%.

V.II.2 Caracterización reológica.

✓ No se aprecian diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$) en el comportamiento reológico de las fórmulas preparadas con uno u otro fármaco.

✓ Debido a la aplicación final de las fórmulas propuestas, nos interesa un comportamiento pseudoplástico, como ocurre con la formulación con goma xantán al 0.75% y al 1%.

✓ De acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio oscilométrico tanto el módulo elástico como el viscoso aumentan conforme lo hace la cantidad de goma xantán presente en las fórmulas. Por otra parte, en todas las muestras estudiadas el módulo elástico es

mayor que el módulo viscoso, lo que manifiesta un predominio del carácter elástico sobre el viscoso.

✓ Las fórmulas con goma xantán experimentan una recuperación de la estructura interna del sistema cuando se deja de aplicar un esfuerzo constante, que será mayor cuanto mayor sea la concentración de viscosizante.

V.III. ESTUDIO DE CESIÓN DEL FÁRMACO

✓ En los estudios realizados para determinar la membrana que menos resistencia ofrece al paso tanto de la morfina como del tramadol, hemos seleccionado la de metilcelulosa y la de nylon respectivamente.

✓ De todas las fórmulas propuestas, hemos seleccionado las que contienen los tres viscosizantes a una concentración del 1%, por considerarlas las más adecuadas en base a los estudios de estabilidad y teniendo en cuenta que cada una presenta un comportamiento reológico distinto (newtoniano, plástico y pseudoplástico).

✓ Si comparamos los perfiles de liberación de las suspensiones con morfina y tramadol no observamos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$). En los dos casos se observa una cesión más rápida durante las primeras 4 horas del ensayo, común en distintos tipos

de vectores poliméricos. A partir de este momento se observa una liberación más lenta que se mantiene hasta finalizar el ensayo.

✓ Para las fórmulas con morfina, la preparación con goma xantán al 1% presenta una liberación más lenta, no sólo con respecto a las otras formulaciones, sino también con respecto a la suspensión, siendo el porcentaje de morfina cedido el 50% de la dosis empleada. La formulación con carbopol al 1% libera el fármaco más lentamente que la suspensión durante las primeras 5 horas del ensayo, momento a partir del cual cede el fármaco más rápidamente, alcanzando finalmente un porcentaje de cesión del 73.6%. La fórmula con carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1% es la que más rápidamente libera el principio activo, alcanzando un 81% de cesión.

El estudio estadístico de los datos (ANOVA) pone de manifiesto que sólo existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la fórmula con goma xantán y carboximetilcelulosa sódica/avicel.

✓ Para las fórmulas con tramadol, vuelve a ser la preparación con goma xantán al 1% la que libera el principio activo más lentamente, seguida de la fórmula con carbopol al 1% y de carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1%. Los porcentajes de fármaco cedidos son 46%, 50% y 55% respectivamente.

En este caso, el estudio estadístico de los datos (ANOVA), demuestra que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre los perfiles de liberación de las formulaciones.

✓ Si comparamos las fórmulas de morfina con las fórmulas de tramadol para el mismo viscosizante, observamos que sólo existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre las preparaciones con carboximetilcelulosa sódica/avicel al 1%.

✓ Todas las fórmulas ensayadas siguen la misma cinética de cesión, una cinética de raíz cúbica, que suele aplicarse, por razones geométricas, cuando las partículas de fármaco presentan forma esférica. Esto ocurre en nuestro caso con las partículas de etilcelulosa que microencapsulan tanto el clorhidrato de morfina como el de tramadol.

✓ Con respecto al mecanismo de liberación del fármaco desde las micropartículas, podemos concluir que transcurre por transporte anómalo, incluyendo ambos procesos, difusión y Caso II. Sin embargo, en base a los resultados obtenidos, podemos afirmar que la mayor parte del fármaco se libera por difusión (más que por hinchamiento y erosión), tal y como cabe esperar de los sistemas hidrofóbicos.

✓ Considerando todos los estudios realizados, seleccionamos la fórmula elaborada con carbopol al 1% para ambos fármacos como la más apropiada, ya que muestra una estabilidad y comportamiento

reológico adecuado para su aplicación final. Además, la fórmula citada presenta un perfil de liberación y una cinética de cesión apropiados. Es por esto que escogemos ésta fórmula para los estudios de cesión en monocapa de células intestinales.

✓ Tras someter la fórmula con ambos fármacos a estudios de citotoxicidad, elegimos la concentración del 7% para realizar el estudio en monocapa, por no presentar citotoxicidad tras 8 horas de incubación.

Tras el ensayo de cesión en monocapa, observamos perfiles de liberación muy similares a los obtenidos con las células de Franz, produciéndose un efecto explosivo de la difusión durante la primera hora, propio de los vectores poliméricos. A partir de este momento se aprecia una liberación más lenta que se mantiene hasta la finalización del ensayo.

BIBLIOGRAFÍA

Abukhalf, A.M. y Soliman, M.A. (1996). Drug-release from spherical particles under nonsink conditions. Theoretical evaluation. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 22(1), 465-469.

Álamo, C., López-Muñoz, F. y Cuenca E. (2004). Analgésicos opioides (II). En: *Abordaje del dolor desde la Oficina de Farmacia* (pp. 152-75). Barcelona, España: Acción Médica.

American Medical Association. AMA, (1983). *Drug Evaluations* (5th Ed.) Philadelphia: American Medical Association.

Ansel, H.C., Popovich, N.G., (1990). *Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems* (5th Ed.) London: Lea & Febiger.

Artursson P. y col. (1990). *J. Pharm. Sci.* 79 (7), 585.

Banerjee, P.S. y Robinson, J.R. (1991). Novel drug delivery systems. An overview of their impact on clinical and pharmacokinetic studies. *Clin Pharmacokinetic*, 20,1-14.

Banker, S.G. y Rhodes, T.G. (1990). *Modern Pharmaceutics* (p327). New York: Marcel Dekker.

Bennett, R.M., Kamin, M. Rezaul, K. and Rosenthal N. (2003). Tramadol and Acetaminophen combination tablets in the treatment of fibromyalgia pain: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *The American Journal of Medicine*, 114, 537-545.

Berney, B.M., Deasy, P.B. (1979). Evaluation of Carbopol 934 as a suspending agent for sulphadimine suspensions. *Int J Pharm*, 3, 73-80.

Bodmeier, R. y Paeratakul, O. (1990). Drug release from laminated polymeric films prepared from aqueous latexes. *J Pharm Sci*, 79, 32-36.

Boylan, J.C., Cooper, J. y Chowhan, Z.T. (1983). *Handbook of pharmaceutical excipients* (p. 42). Washington: American Pharmaceutical Association.

Bueno, J.L. (1979). Empleo de polielectrolitos para la floculación de suspensiones de partículas de carbón. *Fundación Juan March*, 95, 16.

Buscall, R., Goodwin, J.W., Hawkins, M.W. y Ottwill, R.H. (1981). Viscoelastic properties of concentrated lattices. *J. Chem. Soc. Faraday Tans*, 78 (1), 2873.

Buscall, R., Goodwin, J.W., Huscall, R., Goodwin, J.W., Hawkins, M.W. y Ottwill, R.H. (1990). Physical properties of polymeric gel. J.P. Cohen Addad, ed. *The polymer latex home page UK Book Store*.

Burrell, H. (1975). *Polymer handbook*. J. Bandrup y E. Jimmergut eds (p 337) (Vol. IV).

Caraballo, I., Álvarez-Fuentes, J., Melgoza, L.M., Millán, M., Holgado, M.A., Tabasco, A.M. y Fernández-Arévalo, M. (1998). Validation study of the conductometrical análisis. Application to the drug releas estudies from controlled release systems. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analisis*, 18(1-2): 281.

Casals M. and Samper D. (2004). Effectiveness, tolerability and quality of live in the management of chronic pain unrelated to cancer with sustained-release tramadol administrered in a single daily dose. *Rev. Soc. Esp Dolor*; 11: 129-140.

Chukwu, T.K., Chukwu, A. y Udeala, O.K. (1992). Hydrophillic polymers as drug release modulators from non-disintegrating tablet matrices. *Acta Pharmaceutica*, 42,181-188.

Collet, D.M. (1990). Suspensions. En DM Collet, Me Aulton (p. 99). Eds. *Pharmaceutical practice*. London: Churchill-Livingstone.

Conde-Salazar, L., Flis, M., González, M.A. y Guimaraens, D. (1998). Sensibilización al Kathon CG en Servicio de Dermatología Laboral (Revisión 1990-1997). *Rev. Esp. Alergol Inmunol Clín*,13,(5), 268-272.

Couvreur, P. (1985). Cap. 14. En *Formes Pharmaceutiques Nouvelles*. Eds. Buri P, Puiseux F, Doelker E, Benoit JP. *Technique et Documentation*, París.

Couvreur, P. (1988). Polyalkylcyanocrylates as colloidal drug carrier. *CRC Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*. (5), 1-20.

Couvreur, P., Dubernet, C. y Puiseux, F. (1995). Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends. *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 41, 2.

Crommelin, D.J.A., Scherphof, G. y Storm, G. (1995). Active targeting with particle carrier systems in the blood compartment.. *Adv. Drug Deliver*, 17, 49.

Croswell, R.W. y Becker, C.H., (1974). Suspension polymerization for preparation of timed-release dosage forms. *J Pharm Sci*, 63, 440-442.

Day, M., Cooney, J.D., Shaw, K. Watts, J. (1998). *J. Thermal Anal, Calorimetry*, 52, 261.

De la Luz Reyes-Vega, M., Fahara-Valdés, M.C., Valdés-Silva, I.C., Saucedo-Salazar, C.T. y Peralta-Rodríguez, R.D. (1996). Flavor election for an aluminium and magnesium hydroxides antacid suspensión. *Drug Dev. Ind. Pharm*, 22, 631-635.

Delgado, M.B., Otero, F.I. y Blanco, J. (1977). Sistemas dispersos heterogéneos. En: J.L. Vila Jato, Tecnología Farmacéutica. Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas.

(p 207) (Vol I):Ed. Síntesis.

Delgado, A.V., González-Caballero, F., Cabrerizo, F., Cabrerizo, M.A. y Alados, I. (1987). The primary electroviscous effect in monodisperse Apolystyrene suspensions. *Acta Polymerica*, 38,66-70.

Delgado, A.V., Gallardo, V., Parera, A. y González Caballero, F.A. (1990). Study of the electrokinetic and stability properties of nitrofurantion suspensions. II flocculation and redispersion properties as compared with theoretical interaction energy curves. *J Pharm Sci*, 79, 709-715.

Díaz Lanza, A., Zaragoza, F., López-Muñoz, F y Álamo, C. (2004). Analgésicos opioides (I): Terminología y sinonimia. Sistema opioide endógeno. Situación actual de la obtención de opiáceos. Clasificación de los opioides. Aspectos farmacocinéticos. En *Abordaje del Dolor desde la Oficina de Farmacia* (pp 125-149). (I). Madrid, España: Acción Médica.

Dichinson, E. (1992). An introduction to food colloids (pp.66-70).Oxford: Oxford University Press.

Dilova, V. y Shishkova, V. (1993). Albumin microspheres as a drug-delivery system for dexamethasone. Pharmaceutical and pharmacokinetic aspects. J Pharm, 45,987-989.

Disilvio, L., Gurav, N., Kayser, M.V., Branden, M. y Downes, S. (1994). Biodegradable microspheres. A new delivery system for growth hormona. Biomaterials,15, 931-936.

Doelker, E. (1985). Polymer properties and principles of preparation of polymeric drug systems. En P. Buri, F. Puisieux, E. Doelker, JP. Benoit, eds New pharmaceutical forms (pp 5-639 Paris: Lavoisier Tec & Doc.

Doménech, J., Martínez, J. y Plá, J.M. (1998). Biofarmacia y Farmacocinética. (Vol II). Ed. Síntesis.

Douglas, S.J., Davis, S.S. e Illum, L. (1997). Nanoparticles in drug delivery. *CRC Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 3, 233-261.

Edwards, J.E. et al. (2002). Combination analgesic efficacy: individual patient data meta-analysis of single - dose oral tramadol plus acetaminophen in acute postoperative pain. *Journal of Pain and Symptom Management*, 23,121-30.

Enscore, D., Hopfenberg, H. and Stannett, V. (1977). Effect of particle size on the mechanism controlling n-hexane sorption in glassy polystyrene microspheres. *Polymer*, 18, 793-800.

Esposito, E., Cortesi, R. y Nastruzzi, C. (1996). Gelatin microspheres. Influence of preparation parameters and thermal-treatment on chemophysical and biopharmaceutical properties. *Biomaterials*, 17, 2009-2020.

Eun Young L., Eung Bong L., Byung Joo P., Chand Keun L, Bin Y. et col. (2006). Tramadol 37.5 mg/Acetaminophen 325 mg Combination Tablets Added to Regular Therapy for Rheumatoid Arthritis Pain: A 1

Week, Randomized, Doble-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Clinical Therapeutics*, 28, 12, 2052-60.

Fauli, i Trillo, C. (1993). *Tratado de Farmacia Galénica* (p 404). Ed. Luzán 5, Madrid.

Ferry, J.D. (1980). *Viscoelastic Properties of Polymers*. (3ª Ed.). New York.

Florence, A.T. y Attwood, D.(1988). *Physicochemical principles of Pharmacy* (pp.230-238) (2ª Ed.). Londres: McMillan Press.

FMC CORPORATION AQUACOAT, (1980). *Aqueus Polymeric Dispersion*, Philadelphia.

Franco, M.L. and Seoane de Lucas, A. (2001). Characteristics of chronic pain among the elderly: management. *Rev. Soc. Esp. Dolor*; 8: 29-38.

Franz, T.J. (1975). Percutaneous absorption on relevance of in vitro data. *J. Investigative Dermatology*, 64,190.

Gallardo, V., Parera, A., Salcedo, J., Gonzalez Caballero, F. y Delgado, A.V. (1994). A study of the stability of aqueous phosphomycin suspensions. Comparison between two pharmaceutical forms (in spanish). *An Real Acad Farm*, 60,79-90.

Gallardo, V., Ruíz, M.A., Vera, P., González-Caballero, F. y Delgado, A.V. (1996). Effect of amino acids on the stability properties of nitrofurantoin suspensions. Flocculation and redispersion as compared with interactions energy curves. *J Pharm Pharmacol*, 48, 450-455.

Gallardo, V., Morales, M.E., Ruiz, M.A., Delgado, A.V. (2005). An experimental investigation of the stability of ethylcellulose latex. Correlation between zeta potencial and sedimentation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*; 26: 170-175.

Goldman, P. (1982). Rate-controlled drug delivery. *New England J. Medicine*, 307, 282-290.

Goodman, H. y Banker, G.S. (1970). Molecular scale drug entrapment as a precise method of controlled drug release I: Entrapment of cationic drugs by polimeric flocculation. *J Pharm Sci.*, 59,1131-1137.

Goodrich, B.F.(1981). Carbopol: hydrosoluble resins. BF Goodrich, Cleveland.

Goodwin, J.W., Ottewill, R.H. y Parentich, A. (1980). J. Phys, Chem. En Solid/liquid Dispersion. Th.F. Tadros, ed. (Cap. 10). Londres: Academic Press.

Goodwin, J.W. y Smith, R.W. (1974). Discuss. Faraday Soc.. En Solid/liquid Dispersion. (pp. 57-126). Th.F. Tadros, ed.. Londres: Academic Press.

Gosgrove, T. (1987). Adsoption of polymers at the solid/solution interface. En Solid/Liquid Dispersion . Londres: Academic Press, cap. 7.

Greminger, G. (1978). Encyclopedia of chemical technology (p. 437) (vol.5). Nueva York: Interscience Encyclopedia Inc.

Goto, K., Takeuchi, T., Miyaji, T. y Kasai, K. (1990). Japanese Patent 1990, 02155935, CA 1990, 113, 19922746.

Gurny, R., Peppas, N.A., Harrington, P.D. y Banker, G.S. (1991). Development of biodegradable and injectable lattices for controlled release of patent drug. *Drug Dev. Ind. Pharm*, 7, 1.

Guyon, S., Abric, J.L. y Barthes, D. (1992). Stability study of cloxacillin in oil suspension, by high performance liquid chromatography. *II Farmaco*, 47,1081-1094.

Hanks, G.W. (1991). Morphine pharmacokinetics and analgesia after oral administration. *Postgrad. Med. J.*, 64, 60.

Hiestand, E.N. (1972). Physical properties of coarse suspensions. *J Pharm Sci.*, 61, 268- 272.

Higuchi, W.I., Swarbrich, J., Simonelli, P. Y Martin, A., (1989). Fenómenos de las partículas y dispersiones groseras. En Genaro, A.R. editor. *Remington Farmacia*. (pp.423-460). (17ª ed.). Buenos Aires:Editorial Médica Panamericana.

Hunter, R.J. (1989). *Foundations of Colloid Science (Vol.2)*. Oxford: Claredon Press.

Hunter, R.J. (1993). Introduction to modern colloid science (pp. 300-322) Oxford: Oxford University Press.

Ide, S., Minami, M., Ishihara, K., Uhl, G., Sora, I., and Ikeda, K. (2006). Mu opioid receptor-dependent and independent components in effects of tramadol. *Neuro Pharmacology*. 51,651-658.

Jung-Hwa, L., Tae Gwan, P and Hoo-Kyun, C. (2000). Effect of formulation and processing variables on the characteristics of microspheres for water-soluble drugs prepared by w/o/o/ double emulsion solvent diffusion method. *Int. J. Pharm.*, 75-83.

Juni, K. Y Nakano, M. (1987). Poly (hydroxyacids). *Drug Delivery En CRC Critical Reviews, Therapeutic Drug Carrier Systems (3)* (p 209). Boca Raton: CRC Press Inc.

Khan, G.M. y Zhu, J.B. (1998). Ibuprofen release kinetics from controlled-release tablets granulated with aqueous polymeric dispersion of ethylcellulose II: Influence of several parameters and coexcipients. *Journal of Controlled Release*, 56, 127-134.

Kramer, P. (1974). Albumin microspheres as vehicles for achieving specificity in drug delivery. *J Pharm Sci.*, 63,1640-1647.

Kowalski, A., Vogel,, M. y Blankenshipi, R.M. (1984). Sequential heteropolymer dispersions useful in coating compositions as thickening and/or opacifying agents. US Patent 1984, 4,427,836, CA 1984, 101,231999.

Kynch, G.F. (1952). *Trans. Faraday Soc.* 48, 166. En: V. Gallardo (1987). Estudio sobre las propiedades electroforéticas y de estabilidad en suspensiones de nitrofurantoina. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.

Lamas, M.C., Frías, M., Velázquez, R. Y Bregni, C. (1998). Microspheres obtained by multiple emulsions. *Boll. Chim. Farmacéutico*, 137 (9), 357-361.

Lerk, C.F., Schoonen, A.M. y Fell, J.J. (1976). Contact angles and wetting of pharmaceutical powders. *J Pharm Sci.*, 65,843-847.

Liao, W.C. y Zatz, J.L. (1980). Effect of surfactant polyoxyethylene chain length on flocculation of local anesthetic suspensions. *J Soc. Cosmet Chem.*, 31,107-121.

Llácer, J.M., Ruiz, M.A., Parera, A. y Gallardo, V. (2000). Adsorption-desorption of ondansetron on latex particles. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26 (3), 237.

Luan, X. y Bodmeier, R. (2006). In situ forming microparticle system from controlled delivery of leuprolide acetate: Influence of the formulation and processing parameters. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 27 (2-3),143-149.

McCarron, P.A., Woolfson, A.D. y Keating, S.M. (2000). Sustained release of 5-fluorouracil from polymeric nanoparticles. *J. Pharm. Pharmacol.*, 52: 1451.

Mcquay H. et al.(2003). Meta-analysis of single-dose oral tramadol plus acetaminophen in acute postoperative pain. *Eur. J. Anaesthesiol Suppl.*,28, 19-22.

Mason, N., Thies, C. Y Cicero, T.J. (1976). In vivo and in vitro evaluation of a microencapsulated narcotic antagonist.. J. Pharm. Sci.,66, 847.

Matthews, B.A. y Rhodes, C.T. (1970). Use of the Derjaguin, Landau, Verwey and Overbeek theory to interpret pharmaceutical suspension stability. J.Pharm. Sci, 59, 521.

Makosco, C.W.(1994). Rheology. Principles and Appications. Nueva York: VCH.

Morales, ME., Gallardo, V., Calpena, AC., Doménech, J. y Ruíz, M.A. (2004). Comparative study of morphine difusion from sustained release polymeric suspensions. Journal of Controlled Release, 95, 75-81.

Morales, ME., Gallardo, V., López, G., Atienza, M., Martín, R. y Ruíz, M.A. (2006). Estabilidad de una formulación oral líquida de morfina para pediatría. Farmacia Hospitalaria, 30, 1-4.

Morefield, E.M., Feldkamp, J.R., Peck, G.E., White, J.L. y Hem, S.I. (1987). Preformulation information for suspensions. In. *J Pharmaceutics*, 34, 263-265.

Murillo, H. (1997). Historia del tratamiento del dolor. En: Torres, ML. *Medicina del Dolor*. Barcelona. Ed. Masson, 7-17.

Narajani, R., Rao, K.P.(1996). Solid tumor-chemotherapy using injectable gelatin microspheres containing free methotrexate and conjugated methotrexate. *Int J Pharm*, 142, 25-32.

Nakamura, H. y Tachi, K. (2006). Dynamics of shear – thinning suspensions of core – shell structured latex particles. *J. Colloid Interface Sci.*, 297 (1), 312-316.

Napper, H. (1983). Polymeric stabilization of colloidal dispersions. En R. Ottewil y R. Rowell, eds. Londres: Academic Press.

Narasimhan, B. y Peppas, N.A., (1997). Molecular análisis of drug-delivery systems controlled by dissolution of the polymer carrier. *J Pharm Sci.*, 86, 297-304.

Nash, J.A. (1988). Pharmaceutical suspensions. En Pharmaceutical dosage forms: Disperse systems. (pp.151-198) (Vol. 1). New York : Marcel Dekker.

Offner, C.M., Schnaare, R.L. y Schwartz, J.B. (1988). En Oral aqueous suspensions. Pharmaceutical dosage forms: Disperse systems (pp.231-264)(Vol. II). New York: Marcel Dekker.

Okubo, M. y Yoshimuro, T. (1996). Preparation of hollow polymeric particles as pigments. European Patent 1996, 695769, CA 1996, 124,205084.

Peppas, N.A. and Sahlin, J.J. (1989). A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. *Int. J. Pharm.*, 57, 169-172.

Petrov, O., Furó, I., Schuleit, M., Dananig, R., Plunket, M. and Daicic, J. (2006). Pore size distributions of biodegradable polymer microparticles in aqueous environments measured by NMR cryoporometry. *International Journal of Pharmaceutics*, 309, 157-162.

Puisieux, F. y Frances, J. (1973). *Prod. Y Prob. Pharm.*, 28, 360. En :
Gallardo Lara, V. (1987). Estudio sobre las propiedades electroforéticas
y de estabilidad en suspensiones de nitrofurantoina. Tesis Doctoral.
Universidad de Granada.

Puisieux, F.(1985). Micro-and nano-particle vectors. Introduction. En :
P. Buri, F. Puisieux, E. Doelker, J.P. Benoit, eds *New pharmaceutical
forms* (pp. 465-466). Paris: Lavoisier Tec & Doc.

Real Farmacopea Española (3ª Ed.) (2005). Madrid: Ministerio de
Sanidad y Consumo.

Ree, T. y Eyring, H.(1958). *Rheology*. (Vol. 2). Academic. New York.

Rekhi, G. y Jambherkar, S. (1995). Ethylcellulose. A review polymer.
Drug Dev. Ind. Pharm., 21,61.

Reynolds, J.E. (1989). Ed. Martin Dale. *The Extra Pharmacopeia*, 29th
(pp.1355-1364). London: The Pharmaceutical Press.

Rhodes, C.T. (1979). *Modern Pharmaceutics* (p. 329)(Vol. II). New York: Marcel Dekker.

Rhodes, C.T., Wai, K. y Banker, G.S. (1970). Molecular scale drug entrapment to polymeric colloidal dispersions. *J Pharm Sci.*, 59,1578-1581.

Rieger, N.M. (1988). Surfactants. En: *Pharmaceutical dosage forms: disperse systems*, (pp. 285-366) (Vol. 1). HA Lieberman, MM Rieger, GS Banker, eds. New York: Marcel Dekker.

Rigamonti, S. y Rugginenti, G. (1969). *Pharmaceutical suspensions*. II *Farmaco*, 24, 445.

Rihova, B. (1996). Biocompatibility of materials. Hemocompatibility, immunocompatibility and biocompatibility of solid polymeric materials, and soluble targetable polymeric carriers. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 21,157-176.

Ritger, P. and Peppas, N.A. (1987a). A simple equation for description of solute release. I. Fickian and non-Fickian release from non-swellable

devices in form of slabs, spheres, cylinders or discs. *J. Control. Release*, 5, 23-36.

Ritger, P. and Peppas, N.A. (1987 b). A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *J. Control. Release*, 5, 37-42.

Robinson, D.H. y Manger, J.W. (1991). Drug delivery systems, *AJHP* 48, S14-S23.

Rodríguez-Llimós, A.C., Chiappetta, D., Széliga, M.E., Fernández, A. y Bregni, C. (2003). Micropartículas de alginato conteniendo paracetamol. *Ars Pharmaceutica*, 44: 4; 333-342.

Rosca, I.D, Watari, F. and Uo M. (2004). Microparticle formation and its mechanism in single and double emulsion solvent evaporation. *Journal of Controlled Release*, 99, 271-280.

Rudraraju, V.S. y Wyandt, C. (2005). Rheological characterization of Microcrystalline cellulose/sodiumcarboxymethyl cellulose hydrogels

using a controlled stress rheometer. Part I and II. International Journal of Pharmaceutics, 292, 53-61.

Ruiz, M.A., Martín, M.J. y Parera A. (1987). Effect of neutralizer and of pH on aqueous dispersions of Carbopol 940. Ciencia & Ind Farm., 6, 41-43.

Ruiz, M.A., Gallardo, V., Delgado, A.V. y Vera, P. (1994). Study of in-vitro release of corticoids in topical formulations. Il Farmaco, 49,147-152.

Ruiz, M.A., Martín, M.J. y Parera, A. (1994). Effect of neutralizer and of pH on aqueous dispersions of Carbopol 940. Ciencia & ind Farm., 6, 41-43.

Ruiz, M.A., Reyes, I., Parera, A. y Gallardo, V. (2000). Adsorption of omeprazole on latex particles and characterization of the complex. Il Farmaco, 314, 318.

Schnitzer T. (2003) .The new analgesic combination tramadol/acetaminophen. Eur. J. Anaesthesiol Suppl., 28, 13-18.

Schwoppe, A.D., Wise, D.L. y Howes, J.F. (1975). Lactic/glycolic acid polymers as narcotic antagonist delivery systems. *Life Sci.*, 17,1877.

Schwoppe, A.D., Wise, D.L. y Howes, J.F. (1976). Development of polylactic/glycolic acid delivery systems for use in treatment of narcotic addiction. *Natl. Inst. Drug Abuse Res. Monogr. Ser.* 4, 13.

Sellés, E. (1995). Suspensiones. En Sellés, E. *Farmacia Galénica General*. Madrid.

Sien, L. F., Basit, A. W. and Netwton, J. M. (2001). The potential of organic-based amylase-ethylcellulose film coatings as oral colon-specific drug delivery systems. *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 1(3), article 22.

Speiser, P. Y Rirrenbach. (1997). Microcapsules in the nanometric range, and a method for their production. *US Patent No.* 4021364.

Stanski, D.R., Geenblatt, D.J. y Lowenstein, E. (1978) Kinetics of intravenous and intramuscular morphine. *Clin. Pharmacol. Therm*, 24 (1), 52.

Steuernagel C.R.(1989). Latex emulsions for controlled drug delivery. En JV McGinity ed. Aqueous polymeric coating for pharmaceutical dosage forms (pp.1-629. New York: Marcel Dekker.

Stewart, W.F., Ricci, J.A., Chee E., Morganstein, D. y Lipton, R. (2003). Lost Productive Time and Cost Due to Common Pain Conditions in the US Workforce. JAMA., 290, 2443-2454.

Storm, G. y Crommelin, D.J. (1997). Colloidal systems for tumor targeting. Hybridoma, 16, 119-125.

Swarbrick, J. y Boylan, J.C. (1996). Encyclopaedia of pharmaceutical technology (p. 133)(Vol. 14). New York: Marcel Dekker.

Tada, K. y Nakahara, Y. (1991). Porous polymer emulsions and particles obtained from them. Japanese Patent 1991, 03227323, CA 1991, 116,84940.- GOTO, K., TAKEUCHI, T., MIYAJI, T. y KASAI, K., 1990. Japanese Patent 1990, 02155935, CA 1990, 113,19922746.

Thakker, K.D y Chern, W. (2003). Development and Validation of In vitro Release Tests for Semisolid Dosage Forms- Case Study. *Dissolution Technologies*, 10-15.

Thies, C. (1976). Development of injectable microcapsules for use in the treatment of narcotic addiction. *Natl. Inst. Drug Abuse Res. Monogr. Ser.* 4, 19.

Tocque y col. (1980) Morphine and metadone binding to human serum proteins. *J. Pharm. Pharmacol*, 32, 729.

Tunçel, T. y Gürek, F. (1992). *Eur. J. Pharm. Biopharm.*38, 82.

Van Wazer, J.R. (1963). *Viscosity and Flow Measurement..* New York: Interscience.

Vanderhoff, J.W., El-Aasser, M.S. y Ugelstad, J. (1979). Polymer emulsification process, U.S. patent 4, 177-177.

Vanderhoff, J.W., El-Aasser, M.S. (1989). Theory of colloids. En *Pharmaceutical dosage forms: disperse systems* (pp. 93-149) (Vol I). New York: Marcel Dekker.

Vasiljevic, D., Parojcic, J., Primorac, M. Y Vuleta, G. (2006). An Investigation into the characteristics and drug release properties of multiple W/O/W emulsion systems containing low concentration of lipophilic polymeric emulsifier. *International Journal of Pharmaceutics*, 309, 171-177.

Vera, P., Gallardo, V., Salcedo, J. y Delgado, A.V., (1997). Adsorption of a corticoid on colloidal hematite particles of different geometries. *J Colloid Interface Sci.*, 187, 429-434.

Vidal, M.A, Calderon E., Martínez, E., González A. y Torrer LM. Pain in neonatos. *Rev. Soc. Esp. Dolor.* 2005; 12: 98-111.

Vila-Jato, J.L., Alonso, M.J., Seijo, B. y Torres, D. (1971). Biodegradable systems for parenteral administration of drugs. I. *Ind Farm.*, 67-75.

Vogel, M., Kowalsi, A. y Scott, J.D. (1988). Preparation of core-shell particles dispersions for use as opacifying agents in coatings. *European Patent 267726, CA 1988 109,130886.*

Walters, K. (1980). *Rheometry-Industrial Applications*. Wiley. New York.

Wilkinson, W.L. (1960). *Non Newtonian Fluids*". Pergamon. New York.

Woodland, J.H.R., Yolles, S., Blakei, D.A, Helrich, M. y Meyer, F.J. (1973). Long-acting delivery systems for narcotic antagonists. I. *J. Med. Chem.*, 16, 897.

Yang, Y., Chung, T., Bai, X. and Chan, W. (2000). Effect of preparation conditions on morphology and release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion method. *Chemical Engineering Science*, 55, 2223-2236.

Yolles, S., Leafe, T.D., Woodland, J.H.R. y Meyer, F.J. (1975). Long-acting delivery systems for narcotic antagonists II: release rates of naltrexone from poly(lactic acid) composites. *J. Pharm. Sci.*, 64, 348.

Zatz, J.L.. (1985). Physical stability of suspensions. *J Soc. Cosmet Chem.*, 36,393-411.

Zatz, J.L., Berry, J.J., Alderman, D.A. (1988). Viscosity-imparting agents in disperse systems. En: *Pharmaceutical dosage forms: Disperse systems* (pp.171-203) (Vol. 2). New York: Marcel Dekker.

Zurita, L., Carrique, F. y Delgado, A.V. (1994). The primary electroviscous effect in silica suspensions. Ionic strength and pH effects. *Colloid & Surf.*, 92, 23-28.

APÉNDICE 1: VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Con la validación del método analítico se pretende demostrar, de forma documentada, que dicho método es fiable dentro de unos intervalos definidos. El método utilizado en esta memoria para medir y cuantificar la cantidad de fármaco presente en las distintas muestras es la espectrofotometría. Por tanto, hemos procedido a su validación para la longitud de onda utilizada en cada caso, (285 nm para el clorhidrato de morfina, 270 nm para el clorhidrato de tramadol y 245 nm para el paracetamol).

Los criterios considerados son: linealidad, precisión y exactitud (*Caraballo y col., 1998*).

Linealidad

Se puede definir como la proporcionalidad entre la concentración de analito y la respuesta en el intervalo de concentraciones de producto utilizadas para las cuales el método es satisfactorio. A la hora de realizar los ajustes lineales, hemos recurrido al método de los mínimos cuadrados, de acuerdo con el cual obtenemos rectas de la forma: $y = a + b x$.

1.a)

	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6
a	0.00214	0.00087	0.00480	0.00348	0.00240	0.00669
b	0.00395	0.00402	0.00401	0.00402	0.00401	0.00397
r	0.99999	0.99995	0.99995	0.99996	0.99998	0.99998

1.b)

	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6
a	0.00007	0.01664	0.00457	-0.00176	0.00911	-0.00923
b	0.00561	0.00557	0.00557	0.00574	0.00555	0.00570
r	0.99829	0.99896	0.99629	0.99960	0.99877	0.99340

1.c)

	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6
a	0.01423	0.02458	0.01605	0.01156	0.01156	0.00905
b	0.05876	0.06075	0.06077	0.06069	0.06066	0.06137
r	0.98544	0.99997	0.99998	0.99955	0.99955	0.99996

Tabla 1. Representa los valores de la ordenada en el origen (a), la pendiente (b) y el coeficiente de correlación lineal (r) para las seis rectas de calibrado y para cada principio activo: 1.a) clorhidrato de morfina, 1.b) clorhidrato de tramadol y 1.c) paracetamol.

	MORFINA		TRAMADOL		PARACETAMOL	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE
a	0.00282	0.00209	0.00324	0.00902	0.01376	0.00550
b	0.00400	0.00003	0.00562	0.00008	0.06049	0.00089
r	0.99997	0.00002	0.99755	0.00232	0.99739	0.00587

Tabla 2. Representa la media y la desviación estándar de la ordenada en el origen (a), la pendiente (b) y el coeficiente de correlación lineal (r) para las seis rectas de calibrado y para cada principio activo.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos (reflejados en las tablas), podemos decir que el resultado del estudio de linealidad es $y = (0.00282 \pm 0.00209) + (0.00400 \pm 0.00003) x$, $r = (0.99997 \pm 0.00002)$ para el clorhidrato de morfina, $y = (0.00324 \pm 0.00902) + (0.00532 \pm 0.00008) x$, $r = (0.99755 \pm 0.00232)$ e $y = (0.01376 \pm 0.00550) + (0.06049 \pm 0.00089) x$, $r = (0.99739 \pm 0.00587)$. En consecuencia, podemos considerarlo lineal.

Exactitud

Es el error sistemático e indica la capacidad del método analítico para dar resultados lo más próximos posible al valor real. Se calcula a partir del error relativo y del coeficiente de variación para cada una de las concentraciones de las rectas. Se acepta un error relativo de un orden de magnitud menor y un coeficiente de variación entre 5-10%.

Conc. teóricas (µg/ml)	R1	R2	R3	R4	R5	R6
15.62	15.156	15.708	14.750	14.555	14.879	14.935
31.25	31.107	31.134	30.198	30.474	30.855	30.547
62.5	62.503	62.735	62,587	62.559	62.807	62.525
125	126,307	123.447	126.868	126.862	125.463	126.483
250	249.104	252.585	251.442	251.442	251.525	250.874
375	375.192	373.761	373.525	373.525	373.842	374.006

Tabla 3. Representa las concentraciones teóricas frente a las concentraciones experimentales de las seis rectas de calibrado para el clorhidrato de morfina.

Conc. teóricas (µg/ml)	Error Relativo	C. V. (%)
15.62	-3.417	2.658
31.25	-1.705	1.221
62.5	0.190	0.196
125	0.734	1.054
250	0.440	0.455
375	0.265	0,160

Tabla 4. Representa las concentraciones teóricas frente al error relativo y el coeficiente de variación de las concentraciones experimentales de las seis rectas de calibrado para el clorhidrato de morfina.

Conc. teóricas (µg/ml)	R1	R2	R3	R4	R5	R6
50	51.363	50.321	50.924	51.357	50.077	52.831
100	99.350	101.474	104.286	98.574	101.617	102.992
125	126.822	122.833	122.613	122.966	124.864	112.638
150	145.910	151.192	142.377	151.889	148.831	154.204
175	172.133	171.295	174.718	174.888	170.817	174.724
200	204.422	202.885	205.082	200.326	203.795	202.611

Tabla 5. Representa las concentraciones teóricas frente a las concentraciones experimentales de las seis rectas de calibrado para el clorhidrato de tramadol.

Conc. teóricas ($\mu\text{g/ml}$)	Error Relativo	C. V. (%)
50	2.275	1.917
100	1.363	2.121
125	-2.370	4.031
150	-0.657	2.904
175	1.093	1.092
200	1.590	0.826

Tabla 6. Representa las concentraciones teóricas frente al error relativo y el coeficiente de variación de las concentraciones experimentales de las seis rectas de calibrado para el clorhidrato de tramadol.

Conc. teóricas ($\mu\text{g/ml}$)	R1	R2	R3	R4	R5	R6
10	10.326	9.966	10.053	10.030	10.030	9.906
15	15.329	15.003	15.039	15.222	15.222	15.088
20	20.859	20.007	19.910	19.970	19.970	19.960
30	25.930	30.147	29.948	29.316	29.316	30.095
35	36.107	34.871	34.950	35.201	35.201	35.097
40	41.450	40.007	40.100	40.262	40.262	39.855

Tabla 7. Representa las concentraciones teóricas frente a las concentraciones experimentales de las seis rectas de calibrado para el paracetamol.

Conc. teóricas ($\mu\text{g/ml}$)	Error Relativo	C. V. (%)
10	0.508	1.439
15	1.000	0.836
20	0.549	1.826
30	-3.046	5.531
35	-0.673	1.266
40	0.798	1.423

Tabla 8. Representa las concentraciones teóricas frente al error relativo y el coeficiente de variación de las concentraciones experimentales de las seis rectas de calibrado para el paracetamol.

El error relativo es menor que las concentraciones experimentales en, al menos, un orden de magnitud y el coeficiente de variación no supera en ningún caso el 10%. Por tanto, este método es exacto para los tres principios activos ensayados.

Precisión

Es la medida del grado de reproducibilidad de un método analítico o, dicho de otro modo, el grado de dispersión de los datos de los distintos replicados. Por consiguiente, se puede considerar como el error aleatorio y se determina a partir del coeficiente de variación de cada una de las concentraciones de las rectas de calibrado, aceptándose entre un 5-10%.

Conc. teóricas (µg/ml)	R1	R2	R3	R4	R5	R6
15.62	0.062	0.064	0.064	0.062	0.062	0.066
31.25	0.125	0.126	0.126	0.126	0.126	0.128
62.50	0.249	0.253	0.256	0.255	0.254	0.255
125.0	0.501	0.497	0.514	0.514	0.505	0.509
250.0	0.986	1.016	1.014	1.013	1.010	1.003
375.0	1.484	1.503	1.504	1.506	1.500	1.492

Tabla 9: Representa las concentraciones teóricas frente a las absorbancias de las seis rectas de calibrado para el clorhidrato de morfina.

Conc. teóricas (µg/ml)	Desv.Est.	Media	C. V. (%)
15.62	0.002	0.063	2.579
31.25	0.001	0.126	0.779
62.50	0.002	0.253	0.986
125.0	0.007	0.506	1.371
250.0	0.011	1.006	1.116
375.0	0.008	1.498	0.567

Tabla 10. Representa las concentraciones teóricas frente a la media, desviación estándar y coeficiente de variación de las absorbancias de las seis rectas de calibrado con clorhidrato de morfina.

Conc. teóricas (µg/ml)	R1	R2	R3	R4	R5	R6
50	0.288	0.297	0.288	0.293	0.287	0.292
100	0.555	0.582	0.585	0.564	0.573	0.578
125	0.711	0.701	0.687	0.704	0.602	0.633
150	0.818	0.859	0.797	0.870	0.835	0.870
175	0.965	0.971	0.977	1.002	0.957	0.980
200	1.146	1.147	1.146	1.148	1.140	1.146

Tabla11. Representa las concentraciones teóricas frente a las absorbancias de las seis rectas de calibrado para el clorhidrato de tramadol.

Conc. teóricas ($\mu\text{g/ml}$)	Desv.Est.	Media	C. V. (%)
50	0.004	0.291	1.330
100	0.011	0.573	1.890
125	0.029	0.689	4.185
150	0.030	0.841	3.569
175	0.016	0.976	1.654
200	0.003	0.145	0.245

Tabla 12. Representa las concentraciones teóricas frente a la media, desviación estándar y coeficiente de variación de las absorbancias de las seis rectas de calibrado con clorhidrato de tramadol.

Conc. teóricas ($\mu\text{g/ml}$)	R1	R2	R3	R4	R5	R6
10	0.621	0.630	0.627	0.620	0.626	0.617
15	0.915	0.936	0.930	0.935	0.907	0.935
20	1.240	1.240	1.226	1.223	1.246	1.234
30	1.538	1.856	1.836	1.790	1.848	1.856
35	2.136	2.143	2.140	2.147	2.155	2.163
40	2.450	2.455	2.453	2.454	2.460	2.455

Tabla13. Representa las concentraciones teóricas frente a las absorbancias de las seis rectas de calibrado para el paracetamol.

Conc. teóricas ($\mu\text{g/ml}$)	Desv.Est.	Media	C. V. (%)
10	0.005	0.622	0.792
15	0.008	0.931	0.873
20	0.008	1.231	0.654
30	0.121	1.774	6.831
35	0.009	2.146	0.435
40	0.002	2.453	0.076

Tabla 14. Representa las concentraciones teóricas frente a la media, desviación estándar y coeficiente de variación de las absorbancias de las seis rectas de calibrado con paracetamol.

El coeficiente de variación de las absorbancias de las rectas de calibrado para todas las concentraciones de cada uno de los principios activos, no es en ningún caso, mayor del 10%, por tanto, podemos decir que este método es preciso.

CONCLUSIÓN: Se trata de un método lineal, preciso y exacto en el rango de concentraciones estudiadas para los tres fármacos.

APÉNDICE II.1: COMPARACIÓN DE LOS PERFILES DE LIBERACIÓN DE CLORHIDRATO DE MORFINA Y CLORHIDRATO DE TRAMADOL DESDE LAS MICROPARTÍCULAS DE ETILCELULOSA (STATGRAPHICS PLUS V.5.1).

Resumen del Procedimiento:

Muestra 1: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de morfina (Cantidades acumuladas corregidas normalizadas).

Muestra 2: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de tramadol (Cantidades acumuladas corregidas normalizadas).

Muestra 1: 13 valores 0.0 hasta 0.731790

Muestra 2: 13 valores 0.0 hasta 0.748882

Este procedimiento compara los datos en dos columnas del actual fichero de datos. Realiza varios test estadísticos y gráficos para comparar las muestras. El F-test en la Tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Test de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras.

TABLA ANOVA:

Análisis de la varianza

Fuente	Suma de cuad	Gl	Cuadrado medio	Cociente F	p-valor
Entre grupos	0.000968992	1	0.000968992	0.02	0.8960
Intra grupos	1.44461	26	0.0555618		
Total (Corr)	1.44558	27			

La Tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El F-ratio que en este caso es igual a 0.0174399, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las dos variables a un 95.0%.

APÉNDICE II.2: COMPARACIÓN DE LOS PERFILES DE LIBERACIÓN DE CLORHIDRATO DE MORFINA Y CLORHIDRATO DE TRAMADOL DESDE LAS FÓRMULAS CON LOS DISTINTOS VISCOSIZANTES (STATGRAPHICS PLUS V.5.1).

Resumen del Procedimiento:

Muestra 1: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de morfina (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Goma Xantán 1%.

Muestra 2: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de morfina (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carbopol 1%.

Muestra 1: 13 valores 0.0 hasta 1212.2

Muestra 2: 13 valores 0.0 hasta 1770.23

Este procedimiento compara los datos en dos columnas del actual fichero de datos. Realiza varios test estadísticos y gráficos para comparar las muestras. El F-test en la Tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Test de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras.

TABLA ANOVA:

Análisis de la varianza

Fuente	Suma de cuad	Gl	Cuadrado medio	Cociente F	p-valor
Entre grupos	560020.0	1	56020.0	1.92	0.1785
Intra grupos	6.99E6	24	291488.0		
Total (Corr)	7.55E6	25			

La Tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El F-ratio que en este caso es igual a 1.92124, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las dos variables a un 95.0%.

Resumen del Procedimiento:

Muestra 1: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de morfina (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Goma Xantán 1%.

Muestra 2: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de morfina (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carboximetilcelulosa Sódica/avicel 1%.

Muestra 1: 13 valores 0.0 hasta 1212.2

Muestra 2: 13 valores 0.0 hasta 1964.13

Este procedimiento compara los datos en dos columnas del actual fichero de datos. Realiza varios test estadísticos y gráficos para comparar las muestras. El F-test en la Tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Test de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras.

TABLA ANOVA:**Análisis de la varianza**

Fuente	Suma de cuad	Gl	Cuadrado medio	Cociente F	p-valor
Entre grupos	1.97E6	1	1.97E6	5.59	0.0265
Intra grupos	8.48E6	24	353406.0		
Total (Corr)	1.04E7	25			

La Tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El F-ratio que en este caso es igual a 5.5914, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0.05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las dos variables a un nivel de confianza del 95.0%.

Resumen del Procedimiento:

Muestra 1: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de morfina (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carbopol 1%.

Muestra 2: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de morfina (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carboximetilcelulosa Sódica/avicel 1%.

Muestra 1: 13 valores 0.0 hasta 1770.23

Muestra 2: 13 valores 0.0 hasta 1964.13

Este procedimiento compara los datos en dos columnas del actual fichero de datos. Realiza varios test estadísticos y gráficos para comparar las muestras. El F-test en la Tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Test de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras.

TABLA ANOVA:**Análisis de la varianza**

Fuente	Suma de cuad	Gl	Cuadrado medio	Cociente F	p-valor
Entre grupos	432134.0	1	432134.0	0.94	0.3431
Intra grupos	1.11E7	24	462021.0		
Total (Corr)	1.15E7	25			

La Tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El F-ratio que en este caso es igual a 0.93531, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las dos variables a un nivel de confianza del 95.0%.

Resumen del Procedimiento:

Muestra 1: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de tramadol (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Goma Xantán 1%.

Muestra 2: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de tramadol (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carbopol1%.

Muestra 1: 13 valores 0.0 hasta 1118.74

Muestra 2: 13 valores 0.0 hasta 1187.65

Este procedimiento compara los datos en dos columnas del actual fichero de datos. Realiza varios test estadísticos y gráficos para comparar las muestras. El F-test en la Tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Test de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras.

TABLA ANOVA:**Análisis de la varianza**

Fuente	Suma de cuad	Gl	Cuadrado medio	Cociente F	p-valor
Entre grupos	62991.6	1	6291.6	0.47	0.5009
Intra grupos	3.24E6	24	134857.0		
Total (Corr)	3.29E6	25			

La Tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El F-ratio que en este caso es igual a 0.467098, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las dos variables a un nivel de confianza del 95.0%.

Resumen del Procedimiento:

Muestra 1: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de tramadol (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Goma Xantán 1%.

Muestra 2: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de tramadol (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carboximetilcelulosa sódica/avicel 1%.

Muestra 1: 13 valores 0.0 hasta 1118.74

Muestra 2: 13 valores 0.0 hasta 1298.52

Este procedimiento compara los datos en dos columnas del actual fichero de datos. Realiza varios test estadísticos y gráficos para comparar las muestras. El F-test en la Tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Test de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras.

TABLA ANOVA:**Análisis de la varianza**

Fuente	Suma de cuad	Gl	Cuadrado medio	Cociente F	p-valor
Entre grupos	80165.6	1	80165.6	0.55	0.4667
Intra grupos	3.52E6	24	146532.0		
Total (Corr)	3.59E6	25			

La Tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El F-ratio que en este caso es igual a 0.547085, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las dos variables a un nivel de confianza del 95.0%.

Resumen del Procedimiento:

Muestra 1: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de tramadol (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carbopol 1%.

Muestra 2: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de tramadol (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carboximetilcelulosa sódica/avicel 1%.

Muestra 1: 13 valores 0.0 hasta 1187.65

Muestra 2: 13 valores 0.0 hasta 1298.52

Este procedimiento compara los datos en dos columnas del actual fichero de datos. Realiza varios test estadísticos y gráficos para comparar las muestras. El F-test en la Tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Test de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras.

TABLA ANOVA:**Análisis de la varianza**

Fuente	Suma de cuad	Gl	Cuadrado medio	Cociente F	p-valor
Entre grupos	1033.88	1	1033.88	0.01	0.9364
Intra grupos	3.81E6	24	159072.0		
Total (Corr)	3.81E6	25			

La Tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El F-ratio que en este caso es igual a 0.00649944, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las dos variables a un nivel de confianza del 95.0%.

Resumen del Procedimiento:

Muestra 1: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de morfina (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Goma Xantán 1%.

Muestra 2: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de tramadol (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Goma Xantán 1%.

Muestra 1: 13 valores 0.0 hasta 1212.2

Muestra 2: 13 valores 0.0 hasta 1118.74

Este procedimiento compara los datos en dos columnas del actual fichero de datos. Realiza varios test estadísticos y gráficos para comparar las muestras. El F-test en la Tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Test de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras.

TABLA ANOVA:**Análisis de la varianza**

Fuente	Suma de cuad	Gl	Cuadrado medio	Cociente F	p-valor
Entre grupos	66053.3	1	66053.3	0.43	0.5168
Intra grupos	3.66E6	24	152595.0		
Total (Corr)	3.73E6	25			

La Tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El F-ratio que en este caso es igual a 0.432867, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las dos variables a un nivel de confianza del 95.0%.

Resumen del Procedimiento:

Muestra 1: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de morfina (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carbopol 1% 1%.

Muestra 2: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de tramadol (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carbopol 1%.

Muestra 1: 13 valores 0.0 hasta 1770.23

Muestra 2: 13 valores 0.0 hasta 1187.65

Este procedimiento compara los datos en dos columnas del actual fichero de datos. Realiza varios test estadísticos y gráficos para comparar las muestras. El F-test en la Tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Test de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras.

TABLA ANOVA:**Análisis de la varianza**

Fuente	Suma de cuad	Gl	Cuadrado medio	Cociente F	p-valor
Entre grupos	569077.0	1	569077.0	2.08	0.1623
Intra grupos	6.57E6	24	273751.0		
Total (Corr)	7.14E6	25			

La Tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El F-ratio que en este caso es igual a 2.07881, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las dos variables a un nivel de confianza del 95.0%.

Resumen del Procedimiento:

Muestra 1: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de morfina (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carboximetilcelulosa sódica/avicel 1%.

Muestra 2: Perfil cinético de liberación de clorhidrato de tramadol (Cantidades acumuladas corregidas): Fórmula con Carboximetilcelulosa sódica/avicel 1%.

Muestra 1: 13 valores 0.0 hasta 1964.13

Muestra 2: 13 valores 0.0 hasta 1298.52

Este procedimiento compara los datos en dos columnas del actual fichero de datos. Realiza varios test estadísticos y gráficos para comparar las muestras. El F-test en la Tabla de ANOVA comprobará si hay alguna diferencia significativa entre las medias. Si hay, los Test de Rangos Múltiples le indicarán las medias que son significativamente diferentes unas de otras.

TABLA ANOVA:**Análisis de la varianza**

Fuente	Suma de cuad	Gl	Cuadrado medio	Cociente F	p-valor
Entre grupos	1.90E6	1	1.90E6	5.48	0.0279
Intra grupos	8.34E6	24	347343.0		
Total (Corr)	1.02E7	25			

La Tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El F-ratio que en este caso es igual a 5.47948, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0.05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las dos variables a un nivel de confianza del 95.0%.

APÉNDICE III: AJUSTE DE CINÉTICAS DE CESIÓN DE LAS FÓRMULAS Y DETERMINACIÓN DE MDT Y EF (%).

AIC	ORDEN 1		RAIZ 2		RAIZ 3		ORDEN 0	
FÓRMULAS MORFINA	MEDIA	DE	MEDIA	DE	MEDIA	DE	MEDIA	DE
GX 1%	46.376	1.798	61.894	0.287	34.226	0.357	61.895	3.357
CBP 1%	47.847	0.747	63.474	0.324	39.248	0.661	63.265	0.920
CMCNa 1%	49.671	0.687	64.480	0.399	41.179	1.244	63.039	0.707
FÓRMULAS TRAMADOL	MEDIA	DE	MEDIA	DE	MEDIA	DE	MEDIA	DE
GX 1%	47.016	0.499	61.133	0.601	33.084	0.602	62.141	0.602
CBP 1%	47.767	0.521	61.825	0.569	34.923	3.658	61.584	0.519
CMCNa 1%	47.077	1.048	61.441	1.025	33.869	2.271	61.802	0.897

Tabla 1. Valores medios de AIC y desviaciones estándar para cada una de las fórmulas y cinéticas ensayadas.

1.1.- CINÉTICAS DE CESIÓN DE LA FÓRMULA CON CLORHIDRATO DE MORFINA Y GOMA XANTÁN 1%

1.1. a. - REPLICA I

Tiempo (h)	Cantidades corregidas(Q)
0	0
0.08	1.71469
0.25	169.24106
0.5	314.94636
1	437.81567
1.5	606.61071
2	711.21120
2.5	763.03516
3	857.74006
4	847.99139
5	107.78195
6	1089.07822
8	1140.39471

$$n = 2 \quad p = 13 \quad Q_{\infty} = 1140.39471$$

ORDEN UNO:

Q	Tiempo(h)	Ln Q
0	0	
1.71469	0.08	0.53923
169.24106	0.25	5.13132
314.94636	0.5	5.75240
437.81567	1	6.08179
606.61071	1.5	6.40788
711.21120	2	6.56696
763.03516	2.5	6.63730
857.74006	3	6.75430
847.99139	4	6.74287
1078.7819	5	6.98358
1089.0782	6	6.99308
1140.3947	8	7.03912
ECUACIÓN DE LA RECTA		
A = 4.81135		
B = 0.41068		
r = 0.56882		

CANTIDADES TEÓRICAS	
Tiempo(h)	Ln Qt
0	-11.71530
0.08	-11.52051
0.25	-11.10657
0.5	-10.49784
1	-9.28037
1.5	-8.06291
2	-6.84544
2.5	-5.62798
3	-4.41052
4	-1.97559
5	0.45933
6	2.89426
8	7.76412
residuales	11,715304
	12.05974
	16.23789
	16.25024
	15.36217
	14.47079
	13.41241
	12.26528
	11.16482
	8.71846
	6.52425
	4.09882
	-0.72499
sumatorio	85.29204
SSQ	7274.73301
n	2
Ln SSQ	8.89216
p	13
AIC=43.784	

RAIZ CUADRADA:

Tiempo(h)	$\sqrt{\text{tiempo}}$	Q
0	0	0
0.08	0.28284	1.71469
0.25	0.50000	169.24106
0.5	0.70710	314.94636
1	1.00000	437.8156
1.5	1.22474	606.6107
2	1.41421	711.21120
2.5	1.58113	763.03516
3	1.73205	857.74006
4	2.00000	847.99139
5	2.23606	1078.78195
6	2.44948	1089.07822
8	2.82842	1140.39471

ECUACIÓN DE LA RECTA

A= -12.33166
 B= 455.49317
 r=0.98395

CANTIDADES TEÓRICAS	
$\sqrt{\text{tiempo}}$	C
0	0.02707
0.28284	0.02769
0.50000	0.02817
0.70710	0.02862
1.00000	0.02926
1.22474	0.02976
1.41421	0.03017
1.58113	0.03054
1.73205	0.03087
2.00000	0.03146
2.23606	0.03198
2.44948	0.03245
2.82842	0.03328
residuales	
	-0.02707
	1.68699
	169.21289
	314.91774
	437.78640
	606.58094
	711.18103
	763.00462
	857.70918
	847.95993
	1078.74997
	1089.04577
	1140.36143
sumatorio	8018.16985
SSQ	64291047.6778
n	2
Ln SSQ	17.97893
p	13
AIC=61.958	

RAIZ CÚBICA:

Q_{∞}	Q	$\sqrt[3]{3Q_{\infty}}$	$Q_{\infty}-Q$	$\sqrt[3]{3Q_{\infty}-Q}$	Tiempo	$\sqrt[3]{3Q_{\infty}-\sqrt[3]{3Q_{\infty}-Q}}$
1140.39471	0	10.44764	1140.39471	10.44764	0	0
1140.39471	1.71469	10.44764	1138.68002	10.44240	0.08	0.00523
1140.39471	169.24106	10.44764	971.15364	9.90290	0.25	0.54473
1140.39471	314.94636	10.44764	825.44834	9.38058	0.5	1.06705
1140.39471	437.81567	10.44764	702.57903	8.88993	1	1.55771
1140.39471	606.61071	10.44764	533.78399	8.11188	1.5	2.33575
1140.39471	711.21121	10.44764	429.18350	7.54306	2	2.90458
1140.39471	763.03516	10.44764	377.35954	7.22634	2.5	3.22130
1140.39471	857.74006	10.44764	282.65464	6.56274	3	3.88490
1140.39471	847.99139	10.44764	292.40331	6.637340	4	3.81030
1140.39471	1078.7819	10.44764	61.61275	3.94963	5	6.49801
1140.39471	1089.0782	10.44764	51.31649	3.71608	6	6.73155
1140.39471	1140.39471	10.44764	0	0	8	10.44764

ECUACIÓN DE LA RECTA

A=0.18251

B =1.20117

r =0.98742

CANTIDADES TEÓRICAS	
tiempo	$\sqrt[3]{Q_{\infty}}-\sqrt[3]{Q_{\infty}-Q}$
0	-1
0.08	-0.08538
0.25	0.05615
0.5	0.26428
1	0.68054
1.5	1.09680
2	1.51306
2.5	1.92932
3	2.34558
4	3.17810
5	4.01062
6	4.84314
8	6.50818
residuales	1
	0.09061
	0.48859

	0.80278
	0.87717
	1.23896
	1.39152
	1.29198
	1.53932
	0.63220
	2.48739
	1.88842
	3.93946
sumatorio	17.66839
SSQ	312.17199
n	2
Ln SSQ	5.74355
p	13
AIC= 37.487	

ORDEN CERO:

Q_{∞}	Q	tiempo	$Q_{\infty}-Q$
1140.39471	0	0	1140.39471
1140.39471	1.71469	0.08	1138.68002
1140.39471	169.2410	0.25	971.15364
1140.39471	314.9463	0.5	825.44834
1140.39471	437.81567	1	702.57903
1140.39471	606.61071	1.5	533.78399
1140.39471	711.21120	2	429.18350
1140.39471	763.03516	2.5	377.35954
1140.39471	857.74006	3	282.65464
1140.39471	857.74006	4	282.65464
1140.39471	847.99139	5	292.40331
1140.39471	1078.78195	6	61.61275
1140.39471	1089.07822	8	51.31649
ECUACIÓN DE LA RECTA			
A=894.75563			
B=134.27722			
r=0.89324			

CANTIDADES TEÓRICAS	
tiempo	$Q_{\infty}-Q$
0	6.663495
0.08	6.662899
0.25	6.661633
0.5	6.659771
1	6.656047
1.5	6.652324
2	6.648600
2.5	6.644876
3	6.641153
4	6.633705
5	6.626258
6	6.618811
8	6.603916
residuales	1133.73121
	1132.01712
	964.49201

	818.78856
	695.92299
	527.13167
	422.5349
	370.71466
	276.01349
	276.02093
	285.77705
	54.993945
	44.712575
sumatorio	7002.85115
SSQ	49039924.2
n	2
Ln SSQ	17.70814
p	13
AIC=61.416	

FÓRMULAS MORFINA	MDT		EF(%)	
	MEDIA	DE	MEDIA	DE
GX 1%	0.315	0.0019	70.263	2.773
CBP 1%	0.286	0.018	73.595	4.004
CMCNa 1%	0.251	0.037	79.022	5.613
FÓRMULAS TRAMADOL	MEDIA	DE	MEDIA	DE
GX 1%	0.400	0.012	63.202	1.157
CBP 1%	0.298	0.044	70.503	3.109
CMCNa 1%	0.379	0.012	65.855	1.090

Tabla 2. Valores medios de MDT, EF(%) y desviaciones estándar para cada una de las fórmulas ensayadas.

1.2.- FÓRMULA CON CLORHIDRATO DE MORFINA Y GOMA XANTÁN 1%

1.2. a. - REPLICAS I

EF(%)				
Q	t	Δt	$(Q_{t-1}+Q_t)/2$	A
0	0	0	0	0
1.71469	0.08	0.08	0.85734	0.06858
169.24106	0.25	0.17	85.47787	14.53123
314.94636	0.5	0.25	242.09371	60.52342
437.81567	1	0.5	376.38101	188.19051
606.61071	1.5	0.5	522.21318	261.10659
711.21120	2	0.5	658.91095	329.45548
763.03516	2.5	0.5	737.12318	368.56159
857.74006	3	0.5	810.38761	405.19380
847.99139	4	1	852.86572	852.86572
1078.78195	5	1	963.38667	963.38667
1089.07822	6	1	1083.93008	1083.93008
1140.39471	8	2	1114.73646	2229.47293
$Q_{\infty} = 1140.39471$			$AUC_0^t =$	6757.28665
$t_{max} = 8$			EF(%) =	74.06741

MDT			
Q	Tiempo (h)	Q_∞	T_{max}
0	0	1140.39470	8
1.71469	0.08		
169.24106	0.25		
314.94636	0.5		
437.81567	1		
606.61071	1.5		
711.21120	2		
763.03516	2.5		
857.74006	3		
847.99139	4		
1078.78195	5		
1089.07822	6		
1140.39471	8		
ΔQ_i	t_i	t_i·ΔQ_i	
1.71469	0.04	0.06858	
167.52637	0.085	14.23974	
145.70530	0.125	18.21316	
122.86930	0.25	30.71732	
168.79504	0.25	42.19875	
104.60049	0.25	26.15012	
51.82395	0.25	12.95598	
94.70489	0.25	23.67622	
-9.74867	0.5	-4.87433	
230.79055	0.5	115.39527	
10.29626	0.5	5.14813	
51.31649	1	51.31649	
	Σ[(t _i)·ΔQ _i]=	335.20548	
	MDT=	0.29393	

