



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE MAGISTER EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE
MATERIALES

**DETERMINACION DE PROPIEDADES REOLOGICAS DE MATRICES
HIDROFILICAS POLIELECTROLITO-FARMACO Y SU VINCULACION
CON LA CINETICA DE LIBERACION DE FARMACO**

MIRTA LILIANA CHANAMPA

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2019

PREFACIO

Esta tesis se presenta como parte de los requisitos para optar por el grado Académico de Magister en Ciencia y tecnología de los Materiales, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Biología Bioquímica y Farmacia y PLAPIQUI durante el periodo comprendido entre el 16 de junio del 2009 y el 17 de mayo del 2019. Bajo la dirección del Dr. en Ingeniería Química Enrique Marcelo Vallés y el Dr. Alvaro Jimenez Kairuz.

Mirta Liliana Chanampa



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de posgrado y Educación Continua

La presente tesis Ha sido aprobada el...../...../....., mereciendo la calificación de(.....)

AGRADECIMIENTOS

Aunque la mayoría de las veces pareciera que estuviéramos en una batalla hay momentos en que la guerra cesa y nos unimos para lograr nuestros objetivos.

Autor anónimo

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento, a todas aquellas personas que me ayudaron y acompañaron para hacer realidad este trabajo que ha sido uno de mis anhelos de vida.

A mi esposo por los momentos relegados y por su tiempo invertido, por su amor y aliento durante todo mi trabajo.

A mis hijos y nietos, por esperarme con paciencia a que compartiera con ellos más tiempo del que les di. Gracias, los quiero.

Al Dr. Enrique Marcelo Valles por haber confiado en mí y no dejarme bajar los brazos cuando todo me parecía una nebulosa, siempre encontrando una salida con su experticia y excelente dirección de las tareas.

Al Dr. Alvaro Jimenez Kairuz, que a pesar de la distancia siempre tuvo muy buena predisponían para atender mis pedidos, dudas y por contestar mis mails alentándome cuando tenía estados de desaliento.

A Jorge Ressia, que sin interés alguno, estuvo presente en cada uno de los pasos, asesorándome y ayudándome en todas las etapas de este trabajo. Mas que un colaborador fue un tercer director.

A Verónica Ramírez Rigo, que también considero mi director, por su amistad, cariño e indispensable colaboración para que esta tesis se concretara.

A mis compañeros, becarios de polímeros, por su ayuda desinteresada y generosa haciéndome sentir como en casa y en quienes encontré amistades invaluable que espero perduren por siempre.

Al cuerpo técnico de polímeros por su amabilidad y generoso asesoramiento en el manejo de los equipos de laboratorio.

A mi querida Fernanda, pues sin su buena predisposición, simpatía e inagotable ganas de colaborar este trabajo no sería posible.

A mi amiga Adriana, compañera inseparable en este largo pero no interminable camino, por sus opiniones, comentarios, apoyo y en especial por los agradables momentos compartidos entre risas y café.

A mis compañeras de cátedra, por la cordialidad y la comprensión para esperarme cada vez que lo necesitaba.

A la Dra. Noelia por tener siempre un lugar para atenderme y dar el empujoncito final a pesar del poco tiempo que disponía

A quienes me inculcaron el amor al trabajo, al estudio y a ser perseverante para lograr objetivos, mi padre (ausente y siempre en mi corazón), mi madre (paciente y amorosa) y mis hermanas compinches y amigas.

A Dios.

RESUMEN

La investigación realizada en este trabajo de tesis comprende la preparación y evaluación *reológica y farmacocinética* de un sistema portador de fármaco constituido por el polielectrolito ácido (PE): Carbomer (CB) neutralizado con Ciprofloxacino (Cip) y distintas proporciones del ion Na^+ ; con el objeto de correlacionar parámetros estructurales con los correspondientes a la liberación del fármaco.

Para su estudio, estos complejos (CB-Cip) con distintos porcentajes molares de sodio (Na^+) ((CB-Cip)₅₀Na_x, con X: 5, 10, 12, 14, 16 y 20 % en concentración molar) son obtenidos en forma sólida como sistemas particulados. El método de preparación es sencillo y no requiere equipamiento costoso.

Mediante estudios de análisis térmico, se determinó que los productos particulados (CB-Cip)₅₀Na_x se presentaron como complejos iónicos amorfos.

Los complejos preparados fueron caracterizados reológicamente, midiendo las propiedades viscoelásticas clásicas: el módulo elástico (G') y el módulo viscoso (G''). Se estudió el material hidratado con distintos fluidos de relevancia biológica, como solución fisiológica (SF), buffer fosfato (BF) pH=6,8 y agua destilada (AD) a diferentes temperaturas (25, 32 y 37°C). Los resultados obtenidos permitieron conocer interesantes propiedades de la estructura de estos materiales que dependían de la concentración molar del ion Na^+ , de la concentración de los complejos (% p/p) en los distintos medios, como así también determinar cómo variaba la afinidad de estos complejos con los medios anteriormente mencionados para formar geles.

Se realizaron estudios de liberación del fármaco desde los complejos, con concentración del 21 % p/p en BF pH=6,8 utilizando como medio de disolución en el disolutor BF a 37°C. A partir de los resultados obtenidos y analizados estadísticamente por

ANOVA y LSD (Least significant difference) se estableció una correlación entre las variables estadísticas analizadas y el módulo G' . La cantidad de fármaco liberado por estos sistemas depende de las reticulaciones que promueve el ion Na que actúa como ligante entre las macromoléculas, presentándose un rango en el cual la cantidad de fármaco liberado es similar [10-14] % Na^+ .

La reología da información de la estructura del material particulado e hidratado y, en determinadas condiciones de trabajo, es posible establecer una correlación con la liberación del fármaco,

A partir de la experiencia acumulada en esta tesis es posible avanzar en el conocimiento del comportamiento de complejos Polielectrolito - Fármaco (PE-F) en relación con el medio en que actúan.

ABSTRACT

The present work consists on the preparation and *rheological* and *pharmaco-kinetic* evaluation of a drug carrier system based on an acid polyelectrolyte (PE), Carbomer (CB), Ciprofloxacin (Cp) and different Na^+ concentrations, with the purpose of correlating structural and drug release process parameters.

The (CB-Cip) complexes with different sodium (Na^+) molar concentrations, ((CB-Cip)₅₀Na_x, where X: 5, 10, 12, 14, 16 y 20 %) were obtained as solid particulate systems. The preparation method is simple and no expensive equipment is required.

By means of thermal analysis tests, it was established that the particulate products (CB-Cip)₅₀Na_x are amorphous ionic complexes.

Those complexes were rheologically characterized with standard viscoelastic properties: the elastic (G') and the loss (G'') moduli. The material was hydrated with different biological relevance fluids, such as physiological solution (SF), phosphate buffer solution (BF) pH=6.8 and distilled water (AD) at several temperatures (25, 32 and 37°C). The results of this study contributed to understand how the sodium molar concentration and the weight fraction of the above mentioned complexes determined their affinity with different biological studied fluids to form gels.

The drug release experiments were performed on BF pH=6.8, 21% w/w complexes in BF solution media at 37°C. The results were statistically analyzed by ANOVA and LSD (Least significant difference) and a relation between the statistical properties and the elastic modulus G' was established. The amount of released drug depends on the reticulations induced by the Na^+ ion, which acts as macromolecules ligand. A concentration rank of [10-14] % Na^+ where the amount of released drug is similar was observed.

Rheology tests provided information on the particulate and hydrated material structure and, at certain work conditions, was possible to determine a correlation with the drug release process.

From the experience achieved in this thesis work, we conclude that it is plausible to make use of rheological information for a better understanding of the behavior of Polyelectrolyte – Drug complexes (PE-F) related to their ability to control drug release in specific conditions.

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	I
RESUMEN	III
ABSTRACT.....	V
INDICE	VII
CAPITULO I: INTRODUCCION Y OBJETIVOS	1
1.1 INTRODUCCIÓN	2
1.1.1 Sistemas de liberación modificada: generalidades	2
1.1.2 Estrategias en Farmacotecnia utilizadas para obtener formulaciones sólidas orales de liberación modificada	5
1.2 POLIELECTROLITOS COMO SISTEMAS PORTADORES DE FÁRMACOS Y SU APLICACIÓN EN TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA.....	10
1.3 REOLOGÍA: DEFINICIÓN Y PERSPECTIVA HISTÓRICA.....	12
1.3.1 Comportamiento elástico, viscoso y viscoelástico.....	14
1.3.2 Viscoelasticidad lineal	15
1.3.3 Propiedades reológicas dinámicas.....	15
1.3.4 Aplicaciones de reología en farmacia	16
1.4 ESQUEMA DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO	17
1.5 OBJETIVOS DE LA TESIS	21
1.5.1 Objetivos generales	21
1.5.2 Objetivos específicos	21
CAPITULO 2: MATERIALES SELECCIONADOS GENERALIDADES Y APLICACIONES.....	22
2.1 INTRODUCCIÓN	23

2.2 CARBOMER (ÁCIDO POLIACRÍLICO)	24
2.3 CIPROFLOXACINO (CIP)	29
2.4 GRADO Y ORIGEN DE LOS MATERIALES	33
CAPITULO III: METODOLOGIA GENERAL.....	34
3.1 OBTENCIÓN DE FÁRMACO A PARTIR DE SUS SALES [M 1]	35
3.2 DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE FUSIÓN [M 2]	35
3.3 OBTENCIÓN DE LOS COMPLEJOS CARBOMER-CIPROFLOXACINO EN ESTADO SÓLIDO [M 3].....	36
3.4 MEDICIÓN DE PH [M 4]	37
3.5 ANÁLISIS TÉRMICO [M 5]	38
3.6 DETERMINACIONES POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS. [M 6]	39
3.7 PREPARACIÓN DE COMPLEJOS HIDRATADOS PARA EVALUACIÓN REOLÓGICA [M 7]	41
3.8 ESTUDIOS DE LIBERACIÓN DEL FÁRMACO [M 8].....	41
3.9 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES [M 9]	43
CAPITULO IV: OBTENCION Y CARACTERIZACION DE MATERIALES.....	48
4.1 INTRODUCCIÓN	49
4.2 DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE FUSIÓN DE LA CIP.....	50
4.3 OBTENCIÓN DEL MATERIAL SÓLIDO (CB-CIP) ₅₀ NA _x	51
4.4 DETERMINACIÓN DEL PH DE LOS COMPLEJOS	51
4.5 CARACTERIZACIÓN MEDIANTE ANÁLISIS TÉRMICO	52
4.6 DETERMINACIÓN POR UV-VIS. CURVA DE CALIBRADO DE CIP EN BUFFER FOSFATO PH=6.8.....	56
4.7 CUANTIFICACIÓN DE CIP Y SU DISTRIBUCIÓN EN LOS COMPLEJOS	58

4.8 ESTUDIOS REOLÓGICOS DE LOS COMPLEJOS (CB-CIP) ₅₀ NA _x	59
4.9 PERFILES DE LIBERACIÓN DE LOS COMPLEJOS (CB-CIP)	69
4.10 RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE LOS DATOS EXPERIMENTALES DE ED.....	72
4.11 CORRELACIÓN ENTRE EL PARÁMETRO REOLÓGICO G' Y ED	74
CAPITULO V: CONCLUSIONES GENERALES	76
NOMENCLATURA.....	80
BIBLIOGRAFIA.....	82
ANEXO.....	95



CAPITULO I

INTRODUCCION Y OBJETIVOS

Capítulo I

1.1 Introducción

1.1.1 Sistemas de liberación modificada: generalidades

El tiempo que la industria farmacéutica emplea desde el descubrimiento de una nueva molécula farmacológicamente activa hasta la venta del medicamento es de al menos diez años, implicando altos costos y variados procedimientos (**Knockaert y col., 2015; Vaya y col., 2017; Kaur & Verma, 2015**).

El número de medicamentos basados en nuevas moléculas que han sido lanzados al mercado no ha crecido prácticamente desde los años 70, y desde el 2000 está estabilizado en alrededor de 20 productos al año. Es decir que, a pesar del aumento de las inversiones, el declive en la productividad del sector es evidente (**Peláez, 2010; Battistini, 2015**).

En los últimos años, el desarrollo de nuevos fármacos (F) (síntesis) no ha sido suficiente para lograr un progreso importante en la efectividad de la farmacoterapia. Esto se debe principalmente a que el comportamiento *in vivo* de ciertos principios activos (PA), o más aun de ciertas formas farmacéuticas (ff), puede no correlacionarse con los resultados observados primariamente *in vitro*.

Con la finalidad de salvar los inconvenientes mencionados y garantizar la confiabilidad, la estabilidad y la seguridad de F de relevancia terapéutica que presentan propiedades fisicoquímicas y biológicas desfavorables se han desarrollado nuevos campos del conocimiento en disciplinas como la Farmacotecnia, la Farmacocinética y la Biofarmacia. Estas especialidades se han abocado a la tarea de avanzar sobre nuevas formulaciones, focalizando su interés en atender problemas relacionados con la liberación del fármaco, el sitio donde ejerce su acción, la dosis y la vía de administración.

Con el fin de obtener mejor efecto, los nuevos sistemas terapéuticos, además de cumplir con las funciones clásicas, permiten que el F se libere en un lugar adecuado del

Capítulo I

organismo, de tal forma que asegure su correcta absorción, optimizando las propiedades biofarmacéuticas. De esta manera, se propicia una adherencia adecuada del paciente al tratamiento, considerando la mejor forma de administración y actuación del medicamento que da lugar a una óptima eficacia, seguridad y confiabilidad del sistema **(Suñe, 2002)**.

En este marco, los Sistemas Portadores de Fármacos (SPF), constituyen un ejemplo de estrategia en el diseño. Se denomina así a una plataforma (materiales y procesos) constituida por la/s molécula/s bioactiva/s y excipientes, con ventajas relativas comparadas con formas farmacéuticas tradicionales **(Tartara, 2013)**.

Según lo expuesto, las principales características de los SPF es controlar la liberación del F tanto espacial como temporalmente, procurando dirigirlo selectivamente al blanco de la acción farmacodinámica, en una determinada concentración y dentro del intervalo de dosis terapéuticas efectivas y necesarias para alterar el proceso fisiopatológico **(Navero, 2003)**.

Otros atributos deseables de los SPF son:

- Capacidad de adecuar y de mantener un control preciso de la velocidad de liberación del F.
- Protección de la sustancia activa contra la inactivación.
- Que sea aplicable a una amplia variedad de F y ff
- Que se puedan producir a un costo razonable.
- Que permita obtener el resultado farmacoterapéutico deseado, incluso frente a las variables fisiológicas como pH y movilidad gástrica, volumen de fluidos, alimentación, variabilidad interindividual, etc., en el caso que el sistema fuese administrado por la vía oral.

Capítulo I

- Que permita utilizar nuevas vías de administración y así alcanzar sitios del organismo que antes eran difíciles de acceder (ej: sistema nervioso central).

Estos sistemas, que pueden ser diseñados para las distintas vías de administración, requieren para su desarrollo del conocimiento detallado de las propiedades desfavorables del F, tanto las fisicoquímicas como las farmacocinéticas, **Figura 1.1**

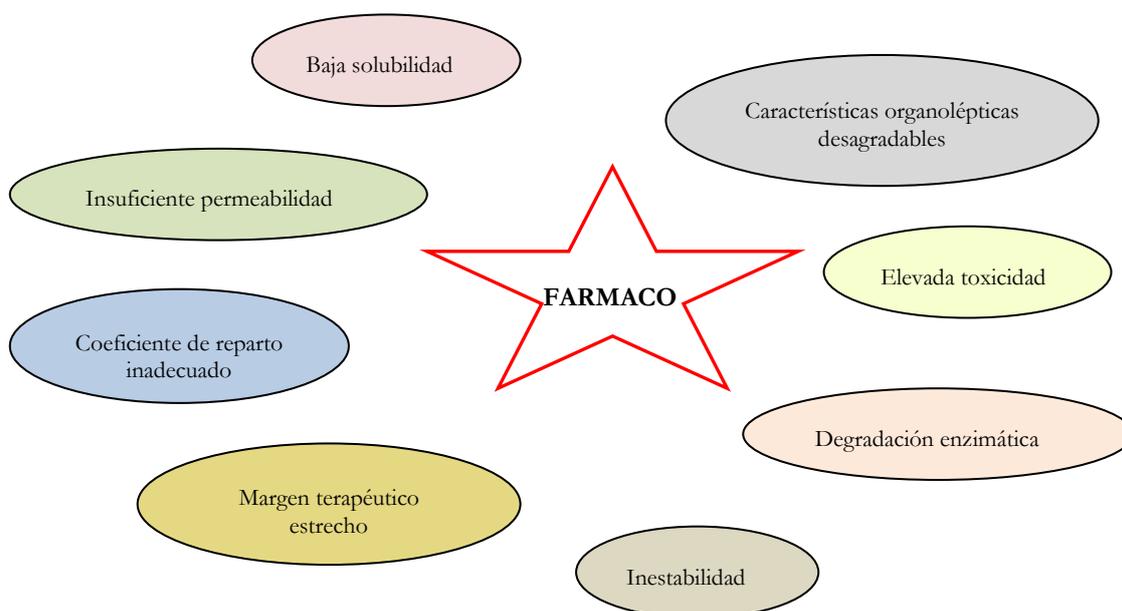


Figura 1.1: Potenciales problemas presentado por fármacos que limitan su utilización y pueden ser superados por técnicas Farmacotécnicas

Como ya se mencionó, todos estos factores ponen en riesgo la seguridad y eficacia de un F e influyen significativamente en el diseño de SPF y en la elección de los materiales para el desarrollo de los mismos.

Existe una amplia gama de SPF, desde las píldoras con recubrimiento entérico de mediados del siglo XIX y otros sistemas en el rango de tamaño macroscópico, siguiendo con micropartículas hasta el nano-dominio (**Crommelin & Florence, 2013**).

Capítulo I

Dentro de los SPF se encuentran los sistemas de liberación modificada (SLM), donde según La Farmacopea de los Estados Unidos (**USP31-NF26, 2008**), se utiliza el término “liberación modificada” (modified release) para referirse a formas farmacéuticas en las que las características de disolución son moduladas en el tiempo y/o en el espacio, a los fines de cumplir los objetivos terapéuticos y que no pueden alcanzarse con formas farmacéuticas convencionales.

Por lo tanto, es útil distinguir las ff convencionales de los SLM. Las ff convencionales o de liberación inmediata son aquellas formulaciones donde la velocidad de aparición de un fármaco en el cuerpo se controla mediante el proceso de absorción biológica y no es modificada por un proceso tecnológico específico (**European Pharmacopoeia, 2005**).

Dentro de los SLM de fármacos, el mayor porcentaje corresponde a los de administración oral, debido a que sigue siendo la ruta de elección más cómoda y aceptable.

Entre los factores que más han contribuido a la evolución de nuevos SLM, hay que citar el desarrollo de nuevos excipientes, particularmente de tipo polimérico, la utilización de nuevas tecnologías y, en algunos casos, el perfeccionamiento de procesos tecnológicos ya existentes.

1.1.2 Estrategias en Farmacotecnia utilizadas para obtener formulaciones sólidas orales de liberación modificada

En cuanto a los procedimientos habitualmente empleados para modular la velocidad de liberación del PA, se pueden citar, entre otros, los siguientes (**Hui & Robinson, 1987**):

- *Sistema monolítico o matricial*: las partículas del fármaco están dispersas o solubilizadas en una matriz biodegradable o no, en donde la liberación de la

Capítulo I

sustancia se produce por difusión, erosión o combinación de ambos procesos.

- *Sistema de reservorio o controlados por membrana:* consta de una cápsula de material polimérico que contiene el PA en estado líquido, sólido o dispersado en una suspensión a partir de la cual la sustancia es cedida por difusión a través de la pared de la membrana.
- *Bomba osmótica:* El sistema de bomba osmótica está compuesto por un núcleo rodeado de una membrana semipermeable insoluble que tiene un orificio de aproximadamente 0,4 mm de diámetro. Su núcleo consta de dos capas, una conteniendo el fármaco y otra conteniendo el agente polimérico osmótico. Permite controlar la liberación del F química o mecánicamente.
- *Resinas de intercambio iónico:* formado por polímeros entrecruzados insolubles en agua que contienen grupos funcionales formadores de sales. El F se une a la resina y luego es liberado por intercambio con otros iones.

En las últimas décadas, los sistemas multiparticulados sólidos o sistemas particulados (SP) adquirieron gran interés por parte de los tecnólogos, debido no sólo a la facilidad de preparación, sino también a los beneficios terapéuticos que pueden alcanzarse. Estos sistemas presentan varias ventajas tecnológicas y biofarmacéuticas en relación con las formas de dosificación unitaria (**Mota, 2010**).

Así, otra manera de clasificar a los SLM es de acuerdo al número de unidades de dosificación que lo constituyen (**Barbosa e Fonseca, 2015**):

- Formas farmacéuticas unitarias, denominadas Single Unit Dosage Forms
- Formas farmacéuticas multiparticulares, denominadas Multiple Unit Dosage Forms.

Capítulo I

El primer grupo engloba los comprimidos y las cápsulas, como formas farmacéuticas orales compuestas por unidades que se administran, conteniendo la dosis en una sola unidad.

En el segundo grupo, la dosis de las sustancias farmacológicas se divide en pequeñas unidades discretas, que consisten típicamente en miles de partículas esféricas con un diámetro de 0.05-2.00 mm, incluyendo normalmente subunidades *matriciales* o *revestidas*, como gránulos, pellets, micropartículas (microesferas o microcápsulas) y mini comprimidos. Aunque es más costosa que las monoterapias a corto plazo, reduce la tasa de fracaso del tratamiento.

Algunos autores se inclinan por la utilización de estos sistemas, destacando las siguientes **ventajas** frente a las formas de dosificación unitaria (**Gandhi & Baheti, 2013**)

- Biodisponibilidad aumentada.
- Mejor distribución y menor tendencia a causar irritación local
- Se comportan como líquidos, permaneciendo poco tiempo en el estómago
- Posibilidad de mezclar subunidades que contienen fármacos incompatibles o con diferentes velocidades y/o mecanismos de liberación.
- Facilidad de obtención y de dosificaciones diferentes para el mismo producto

Por esta razón, los SP han sido muy estudiados para la administración de F, entre otras por vía oral, tanto para favorecer la absorción y estabilidad de estos, como para el tratamiento local a nivel del Tracto Gastrointestinal (TGI).

Luego de que las partículas llegan a la superficie de la mucosa, deben entrar en contacto directo con el mucus y establecer interacciones con él. Cuando se administran micropartículas en forma de dispersión, las mismas entran rápidamente en contacto con la

Capítulo I

mucosa y pueden permanecer adsorbidas a la misma por más tiempo. Es conocido que se logra una distribución uniforme de las mismas a lo largo del TGI, independientemente de las condiciones fisiológicas del mismo (por ej.: presencia o no de alimentos). Además, dichas partículas pueden ser inmovilizadas más eficientemente en la superficie intestinal, por más tiempo, a través de un mecanismo de bioadhesión **(Ensign, 2012)**.

Como ya se ha señalado anteriormente, estos sistemas consisten en formas farmacéuticas sólidas, donde la cantidad de fármaco está subdividida en varias unidades funcionales que pueden ser gránulos, pellets, micropartículas (microesferas o microcápsulas) y minicomprimidos. Para su producción, se recurre a una amplia variedad de tecnologías, resultando en diversas formas y tamaños. Estas subunidades pueden someterse a la compresión para obtener comprimidos o introducirse en el interior de cápsulas duras **(Nobusa, 2010)**.

Microesferas, son sistemas matriciales en los que el fármaco está disperso en la partícula. Son partículas esféricas sin una distinción entre cubierta y núcleo y con un tamaño entre una y varias decenas de micras. El F queda incorporado dentro de una matriz polimérica, preparada a partir de materiales biocompatibles y con un gran espectro de velocidades de cesión y propiedades degradativas **(Saez, 2004)**. El estado físico del F en una microesfera, las proporciones de fármaco y excipientes, el grado y la naturaleza del entrecruzamiento, la interacción entre fármaco y excipiente y el medio de liberación influyen en la cesión del fármaco desde este sistema.

Microcápsulas, son sistemas reservorios en los que el fármaco está confinado en una cavidad central (núcleo) rodeada de una membrana polimérica, esta cavidad puede ser única o estar dividida. Dependiendo del proceso de preparación, se pueden obtener microcápsulas: mononucleares, multinucleares, esféricas o irregulares, encapsuladas y con más de un recubrimiento **(Sáez y col., 2004)**. La variedad en los métodos de preparación

Capítulo I

da lugar a una amplia gama de posibilidades para obtener distintas maneras de modificar la velocidad de liberación del F desde estos sistemas (**Maroni y col. 2005; Ferrari, 2011**).

Los **Pellets** son sistemas recubiertos que tienen una densidad aparente inferior a los jugos gástricos, lo cual facilita su flotación y, por lo tanto, prolonga su permanencia en el tracto gastrointestinal. Generalmente varían en tamaño desde 0.5-1.5 mm. Pueden ser preparados por variados métodos, que dependen del tipo de equipo y proceso seleccionado, de esta manera la formación de gránulos y el crecimiento pueden ocurrir de varias maneras. Los diversos procesos de granulación se pueden explicar en términos de las fuerzas de unión y los mecanismos de crecimiento elementales. La pelletización difiere del proceso de granulación con respecto al tratamiento dado a los polvos de la sustancia activa y excipientes. El factor más importante en la proliferación de estos productos es la aplicación de la tecnología de liberación modificada en el suministro de medicamentos (**Gandhi & Baheti, 2013; Deo, 2009**).

Los **Mini comprimidos** son comprimidos con un diámetro igual o inferior a 3 mm. Las mini tabletas son tabletas muy pequeñas que se pueden colocar en una cápsula para una fácil administración. Tienen varios beneficios sobre las tabletas más grandes de una sola unidad, como la liberación constante de medicamentos, el rendimiento clínico uniforme, más flexibilidad durante el desarrollo de la formulación y máxima estabilidad en el almacenamiento. Además, las mini-tabletas son más fáciles de preparar, lo que implica un número mucho menor de pasos que utilizan equipos simples para su fabricación, permitiendo optimizar tiempos y costos (**Lopes y col., 2006; Hadi y col., 2015**).

Los **gránulos**, son preparaciones que resultan de la transformación de partículas de polvos cristalinos o amorfos en agregados sólidos de resistencia y porosidad variadas (**Couto y col., 2000**). La literatura reporta estudios de gránulos de liberación modificada como: gránulos matriciales, que se recubren con una película semipermeable; gránulos

Capítulo I

matriciales polielectrolito-fármaco, entre otros (**Jimenez-Kairuz, 2004; Ramirez Rigo, 2006; Suñe, 2002**).

En capítulos posteriores estudiaremos las formas farmacéuticas del tipo gránulo matricial polielectrolito-fármaco, por ser estas las elegidas para hacer el desarrollo de la parte experimental en la presente tesis.

1.2 Polielectrolitos como sistemas portadores de Fármacos y su aplicación en tecnología farmacéutica

Los polielectrolitos (PE) utilizados como SPF son polímeros naturales, sintéticos y semisintéticos que contienen como parte de su estructura grupos ácidos o básicos o grupos ionizados (amonio cuaternario), por lo que al ser dispersados en un solvente polar pueden disociarse generando cadenas cargadas (macroiones) y pequeños contraiones (**Dan y col., 2013**). En contacto con el agua, las partículas sólidas de PE provocan el influjo por ósmosis, con el consecuente hinchamiento. Si la interacción entre el PE y el agua es favorable, puede disolverse o dispersarse homogéneamente. En general, el entrecruzamiento de las cadenas poliméricas limita el grado de hidratación e hinchamiento, la velocidad de disolución y viscosidad resultante (**Pissis & Apostolos, 2013; Isaac & Walker, 2011**).

Las dispersiones de PE generan hidrogeles que pueden definirse como "sistemas dispersos viscosos más o menos homogéneos formados por partículas de polímeros de origen natural o sintético, con una gran área superficial e interpenetrada por la fase acuosa" (**Martin, 1993**).

Los PE se pueden clasificar según diferentes criterios en base a la carga que generan en dispersión acuosa:

Capítulo I

- Aniónicos: generadores de cargas negativas, como los grupos carboxilatos. Por ejemplo: Carbomer, Carboximetilcelulosa sódica, ácido algínico, entre otros.
- Catiónicos: que generan cargas positivas, tales como grupos aminos protonados. Por ejemplo: Eudragit, Chitosan, entre otros.

La interacción proveniente de la atracción electrostática de un contraión hacia la vecindad de la cadena del polímero genera la reacción de condensación. De acuerdo a la teoría de condensación de Oosawa-Manning (1971) (**Tuszyński y col, 2004**), los contraiones podrían dividirse en dos grupos, los “libres” y los “condensados”. Los libres se encontrarían disponibles para recorrer todo el volumen de la solución, mientras que los condensados se localizan alrededor de las cadenas del polímero, acomplejados con los grupos que presentan cargas eléctricas opuestas. La fracción del contraión libre es determinada por la energía requerida para alejarse del campo electrostático del PE, la cual es disminuida por la compensación parcial de las cargas del PE, mientras que la fracción condensada se mueve junto con la macromolécula. La fuerza con la que un contraión se encuentra condensado depende de la afinidad que presente por el PE. Dicha afinidad estará condicionada por el tipo de unión que se establezca entre los componentes y su reversibilidad (**Jimenez Kairuz y col, 2003**). Los F también pueden establecer interacciones de tipo hidrofóbicas con otras porciones del PE, favoreciendo la afinidad entre los mismos (**Guzmán y col., 2012**).

Estos PE, por su capacidad de disociar en determinadas condiciones, pueden generar interacciones iónicas con fármacos de naturaleza electrolítica; los productos obtenidos a partir de tal interacción son conocidos como complejos polielectrolito-fármaco (PE-F). Este tipo de comportamiento ha empezado a tener aplicación en el estudio de SLM desde hace algunos años (**Bonferoni y col., 2000; Lankalapalli & Kolapalli, 2009**).

Capítulo I

En la actualidad, la tecnología farmacéutica ha desarrollado y utiliza numerosos sistemas con diversos enfoques, que surgen de las variadas posibilidades de interacciones del PE con contraiones orgánicos como inorgánicos, ejemplo de esto son la caracterización y propiedades de liberación (**Ramirez Rigo y col., 2006; Jimenez-Kairuz y col., 2005**), estudio de los atributos mucoadhesivos (**Llabot y col., 2002**); conocimiento de la viscosidad y efectos de porosidad (**Bettini y col., 1994**).

1.3 Reología: definición y perspectiva histórica

En este apartado se introducirán los conceptos de reología como ciencia y aquellos aspectos generales que están relacionados con las propiedades que analizaremos para el desarrollo de este trabajo de investigación.

La reología es, brevemente, la ciencia de la deformación y el flujo. Las propiedades reológicas de un material se notan cuando se ejerce una tensión sobre él, y como resultado se deforma o fluye. La medida en que un material se deforma bajo una determinada tensión depende fuertemente de sus propiedades. (**Lyklema & Vliet, 2005**)

La palabra reología, que etimológicamente significa estudio del flujo (del griego reos: fluir y logos: estudio), fue propuesta por Eugene Cook Bingham, para definir aquella rama de la física cuyo objetivo es el conocimiento fundamental y práctico de la deformación y flujo de la materia. Tanto la palabra reología como su definición fueron aceptadas en la reunión fundacional de la Sociedad de Reología (USA), que tuvo lugar en el año 1929 (**Daraiswamy, 2002**). En los 90 años transcurridos desde entonces, su campo de aplicación ha llegado a ser tan diverso que hoy día se acepta que la **Reología** es una ciencia interdisciplinaria, cuyo objeto es (**Everett, 1988**):

Capítulo I

" el estudio de la deformación y/o características de flujo de la materia debidas a la acción de tensiones mecánicas externas."

En su origen la Reología se remonta a la segunda mitad del siglo XVII con las teorías: de un sólido elástico ideal de Robert Hooke y un fluido viscoso ideal de Isaac Newton. Ambas teorías se perfeccionaron y consolidaron durante el siglo XIX gracias a la contribución de científicos como: Young (1807), Cauchy (1827), Navier (1823), Stokes (1845), Hagen (1839), Poiseuille (1841), Weidemann (1856) y otros (**Daraiswamy, 2002**).

Al transcurrir el tiempo fueron apareciendo fenómenos que no podían ser explicadas por los fluidos Newtonianos y la teoría de la elasticidad clásica. Así, Wilhelm Weber (1853) trabajando con fibras de seda y Friedrich Kohlrausch (1863) utilizando vidrios, ponen de manifiesto que, en experiencias de deformación la respuesta de ciertos materiales puede considerarse intermedia entre sólidos y líquidos ideales. Por otra parte, James Clerrk Maxwel, en un famoso artículo publicado en 1867, propone un modelo matemático para un fluido al que le son atribuibles propiedades elásticas (**Daraiswamy, 2002**). Los materiales de esta naturaleza se conocen con el nombre de **viscoelásticos** y la Reología está especialmente vinculada a ellos. Es decir que la Reología presta especial atención a aquellos materiales que ante un proceso de deformación presentan al mismo tiempo propiedades viscosas y elásticas.

Ya en nuestro tiempo, este concepto adquiere mayor importancia con la aparición de la industria del plástico y más aún cuando aparecen materiales reológicamente más complejos como pastas, geles, lubricantes, cremas, suspensiones, emulsiones, etc., los cuales constituyen materia de estudio de la industria farmacéutica entre otras. Todo esto ilustra la vital importancia de la Reología en Farmacia.

Capítulo I

1.3.1 Comportamiento elástico, viscoso y viscoelástico

Desde un punto de vista reológico, la conducta más elemental de un material corresponde, por una parte, al comportamiento elástico y, por otra parte, al comportamiento viscoso.

El *comportamiento elástico* es característico de los sólidos, los cuales se deforman ante la aplicación de una tensión "pequeña" pero recuperan totalmente su forma cuando estas tensiones cesan. Las propiedades reológicas de tales materiales pueden describirse, mediante la ley de Hooke, la cual establece que la tensión aplicada es directamente proporcional a la deformación siendo independientes de la velocidad a que tiene lugar esta última (**Schott, 1995**).

El *comportamiento viscoso* es característico de los fluidos. Cuando se aplica una tensión externa se deforman (fluyen) y la deformación continúa mientras la tensión siga presente, cuando estas cesan no recuperan su forma original. En el caso más simple, estas propiedades reológicas pueden describirse mediante la ley de Newton, la cual expresa que la tensión aplicada es directamente proporcional a la velocidad de deformación, siendo independiente de la propia deformación (**Schott, 1995**).

Estas dos categorías son idealizaciones, aunque el comportamiento de muchos sólidos se aproxima a la ley de Hooke en infinitesimales deformaciones, y el de muchos líquidos se aproximan a la ley de Newton para velocidades de deformación bajas.

Con lo cual:

- Muchos sólidos elásticos dejan de seguir la relación lineal dada por la ley Hooke por encima de un cierto valor de deformación.
- De igual modo, muchos fluidos viscosos dejan de seguir la ley de Newton por encima de un cierto valor de velocidad de deformación.

Capítulo I

Así, entre el comportamiento elástico y viscoso existen comportamientos intermedios. El caso más importante para la reología moderna es el relativo a materiales complejos que exhiben propiedades elásticas y viscosas simultáneamente, son las llamadas **sustancias viscoelásticas**, es decir sólidos elásticos que durante la deformación exhiben cierto comportamiento viscoso o fluidos viscosos que presentan cierto comportamiento elástico.

1.3.2 Viscoelasticidad lineal

El comportamiento de los materiales viscoelásticos comparado con los fluidos viscosos y sólidos elásticos, para deformaciones muy bajas, casi cercanas al equilibrio, presentan una relación lineal entre tensión y deformación. A esta zona se la denominada de **"viscoelasticidad lineal"**, que es un marco de modelo material que se ha utilizado ampliamente durante muchos años. Para deformaciones mayores, dicha relación deja de ser lineal y se alcanza la denominada zona de "viscoelasticidad no lineal" (**Garcia Quesada, 2008**).

Lo interesante de trabajar con bajas deformaciones es que, al asegurar un régimen de viscoelasticidad lineal sujeto a deformaciones casi infinitesimales muy cercanas al equilibrio, la respuesta del material en este régimen está fuertemente condicionada con la estructura molecular; esto le confiere la capacidad de ser una buena herramienta de caracterización (**Garcia Quesada, 2008; Aho y col, 2015**)

1.3.3 Propiedades reológicas dinámicas

Probar materiales viscoelásticos a grandes deformaciones durante tiempos relativamente largos puede destruir o reordenar las estructuras responsables de sus

Capítulo I

propiedades reológicas. Para evitar esto, los materiales viscoelásticos pueden ser probados con deformaciones pequeñas y periódicas durante periodos breves. Estos ensayos periódicos, que no son destructivos, aportan las denominadas *propiedades dinámicas*.

Los análisis oscilatorios son frecuentemente el tipo de prueba viscoelástica más utilizado. Esta prueba consiste en someter un material a una tensión o deformación sinusoidal a una frecuencia dada (ω).

Estas pequeñas deformaciones cíclicas armónicas, pueden producirse mediante un reómetro operando con diferentes geometrías, como por ejemplo las configuraciones de cono plato o platos paralelos. Las oscilaciones generan energías que aplicadas a un material viscoelástico para producir el giro se almacena elásticamente y se recupera en el contragiro. Esta etapa se mide por el *módulo elástico o de almacenamiento* (G'). El remanente de energía es disipado como calor y se mide por el *módulo viscoso o de pérdida* (G'') (Schot, 1995. Barnes, 2000). Las unidades de ambos módulos son Pascal (Pa) en el Sistema Internacional.

La dependencia con la frecuencia de las respuestas de los materiales viscoelásticos proporciona importante información acerca de su estructura.

1.3.4 Aplicaciones de reología en farmacia

Como ya se mencionó, la Reología se encarga del estudio de las propiedades de flujo y deformación de los materiales y, en consecuencia, es importante en la preparación de la mayor parte de las formas farmacéuticas. Así, ofrece diversas posibilidades en este campo, como: medida de la estabilidad, control de la calidad, efecto de la formulación sobre la consistencia y muestra aplicaciones en el tema de la biodisponibilidad (Maluf y col., 2005; Machain, 2013; Katayoun y col. 2001). Todo este abanico de posibilidades contribuye a optimizar la confiabilidad y estabilidad de formulaciones farmacéuticas.

Capítulo I

Por lo tanto, es esencial para los científicos farmacéuticos describir las propiedades de flujo y los factores que influyen sobre la confiabilidad farmacológica de las formulaciones. Las propiedades de flujo influyen en cada paso de los procesos farmacéuticos, tales como relleno, mezcla, envasado y evacuación desde el recipiente antes de la aplicación al sitio de acción. También es relevante en el estudio de la viscosidad de una formulación y cómo puede afectar a la velocidad de liberación de un compuesto con baja solubilidad (**Katayoun y col., 2001**).

Especial mención tienen los estudios de las propiedades reológicas dinámicas y de cómo pueden vincularse a la descripción molecular de un sistema farmacéutico, pudiendo contribuir a una mayor capacidad de predicción para modularlos apropiadamente en función de las necesidades de diseño farmacotécnico (**Jimenez-Kairuz, 2004**).

1.4 Esquema de investigación y desarrollo

Este trabajo de tesis se encuentra enmarcado dentro de un proyecto entre la facultad de Química de Córdoba, el Departamento de Biología Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur y la Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI). En el grupo de investigación de Córdoba se estudian diferentes PE como portadores de fármacos ionizables. Estos PE pueden ser utilizados para diseños de formulaciones de liberación modificada tanto sólidas como líquidas.

El esquema del desarrollo de estos sistemas consta de 3 niveles de experimentación **Figura 1.2**. A través de estos se pretende adquirir gradualmente la capacidad científica y técnica para el desarrollo integral de sistemas farmacoterapéuticos, que permitan optimizar los atributos de F de reconocida utilidad.

Capítulo I

En el NIVEL 1 se estudian las propiedades de los PE acomplejándolos con F modelos como moléculas contraiónicas, de esta manera se conoce la potencialidad del PE como SPF. El NIVEL 2 comprende la selección de F de reconocida actividad terapéutica a los cuales se les pueda mejorar alguna propiedad desfavorable incluyéndolos en un SPF. También está incluido en este nivel la metodología de obtención de los SPF y su caracterización física, química, mecánica y biológica. Una vez obtenidos estos sistemas, se procede a su evaluación biofarmacéutica, NIVEL 3.

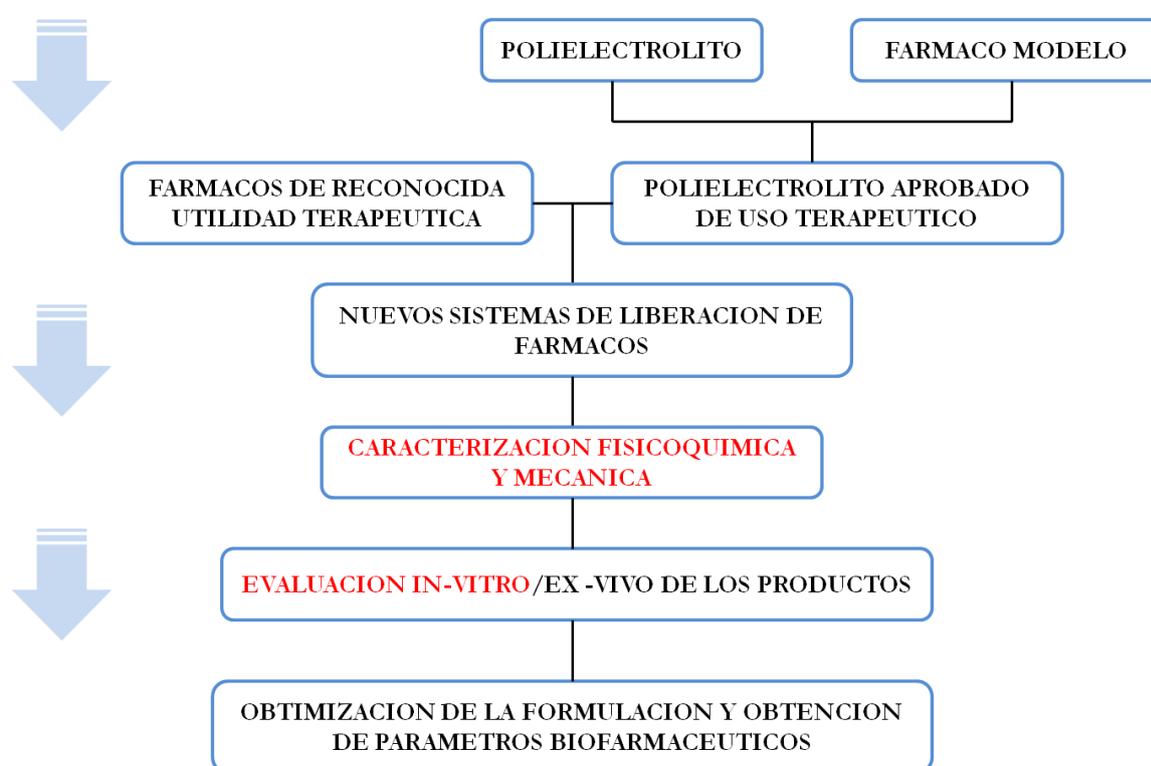


Figura 1.2: Esquema de I+D desarrollado en el grupo de investigación de Córdoba

Muchos SLM de fármaco se han introducido a lo largo del tiempo, exhibiendo una serie de ventajas sobre las formas de dosificación convencional. En trabajos previos se desarrollaron matrices hidrofílicas hinchables (MHH).

Capítulo I

Las MHH son definidas como sistemas monolíticos constituidos por una mezcla homogénea y compactada de uno o varios fármacos con uno o más polímeros formadores de matriz, todos en el estado sólido **(Colombo y col., 2000)**.

Esto permitió definir una clase particular de matriz hidrofílica, denominada matriz hinchable PE-F (MHPF), obtenida por reacción ácido-base, total o parcial, de los grupos ionizables de polímeros aniónicos o catiónicos, con fármacos de carga opuesta **(Jimenez-Kairuz y col., 2005; Ramirez Rigo y col., 2006)**. Los complejos PE-F, a diferencia de las MHH, contienen una dispersión molecular del F en la matriz donde este está iónicamente unido a los grupos ionizables del PE actuando como un reservorio del fármaco al cual lo liberan lentamente. La matriz proporciona propiedades particulares que pueden ser explotadas tanto para el diseño de sistemas monolíticos (comprimidos) como de sistemas multiparticulados de liberación modificada.

Se han obtenido MHPF a partir de una amplia variedad de PE aniónicos: Carbomer **(Bermudez, 2008)**, Ácido Algínico - Alginato de sodio **(Ramirez Rigo, 2009)**, Eudragit L100 **(Ardusso y col., 2010)** y catiónicos: Eudragit E100 **(Quinteros, 2010)**. Se estudiaron integralmente las propiedades de relevancia farmacotécnica y biofarmacéutica de los materiales obtenidos y se definieron los mecanismos que gobiernan la liberación del F desde estos sistemas

En trabajos previos, en este marco de investigación se estudiaron sistemas Carbomer-Fármaco básicos modelo (CB-F)_x, tanto en hidrogel como en forma sólida. Los sistemas particulados de liberación modificada generaron distintos tipos de comportamiento en contacto con fluidos. Así, el tipo de sistema que se genera en cada caso va desde hidrogeles translúcidos, por ejemplo, aquellos neutralizados con Lidocaína (CB-L) o con Atenolol (CB-At), a hidrogeles relativamente opacos, como el que se obtiene con Metoclopramida (CB-Me). En otros casos, los productos de neutralización forman

Capítulo I

dispersiones opacas poco viscosas, tipo suspensiones, con cierta estabilidad física, las que luego de un tiempo generan un sedimento, pero que es fácilmente redispersable por agitación (por ejemplo: con Eritromicina (CB-Er) o Nafazolina (CB-Nz)). **(Jimenez-Kairuz, 2004)**.

El estudio de las propiedades físicas y químicas de los complejos de PE-F en dispersiones acuosas y su comportamiento en fluidos y sistemas biológicos es de gran importancia, no sólo para racionalizar el desarrollo de la administración de fármacos líquidos, sino también para proporcionar la base de desarrollos de formas sólidas orales.

La estabilidad física de los productos, así como la viscosidad y la transparencia pueden aumentarse mediante la incorporación de Na^+ (como NaOH) a la dispersión CB-F, obteniendo sistemas útiles en los casos donde la dispersión en agua no presenta la viscosidad y/o estabilidad física requerida **(Vilches, 2002)**.

La caracterización de estos materiales $(\text{CB-F})_x$ en estado sólido, evidenció interacción iónica entre CB y el F. Estos materiales se presentan como sólidos amorfos y pueden contener una alta proporción en peso de fármaco, 40-90% p/p. Exhiben interesantes propiedades de liberación, donde el control cinético es ejercido por la hidratación del material. Basado en este trabajo, se desarrollaron formulaciones oftálmicas Carbomer-Norfloxacin (CB-Nor) y Carbomer-Ciprofloxacino (CB-Cip) con la finalidad de aumentar su compatibilidad acuosa. Se observó, en ambos hidrogeles, que la concentración de Nor y Cip fue, 34 y 7,2 veces por encima de sus solubilidades, respectivamente **(Vilchez, 2002)**.

Posterior a este trabajo, se estudiaron los sistemas (CB-Cip-Na). Los comprimidos obtenidos, pueden ser preparados mediante métodos comunes de compresión y la liberación de Cip se puede modular variando la proporción de Na^+ **(Bermudez, 2008)**.

Capítulo I

1.5 Objetivos de la tesis

1.5.1 Objetivos generales

Centrándonos en la obtención de sistemas PE-F producto de la neutralización de PE con F ionizables y más específicamente en el trabajo de tesis de José Bermudez, 2008, donde se obtuvieron y caracterizaron matrices de complejos (CB-Cip-Na), los objetivos principales de esta tesis son:

- Evaluar las propiedades reológicas de los materiales (CB-Cip-Na) en forma sólida particulada que nos permitan obtener mayor información sobre los posibles mecanismos involucrados durante la liberación de Cip, considerando la proporción del contraión Na^+ incorporada y diferentes concentraciones de los complejos en medios de relevancia farmacéutica.
- Generar nuevo conocimiento sobre estos sistemas que permita contribuir al diseño y formulación racional de SLM.

1.5.2 Objetivos específicos

- Preparación y caracterización de las propiedades físicoquímicas de los sistemas (CB-Cip-Na)
- Evaluar las propiedades físicas-mecánicas de materiales (CB-Cip-Na) bajo la forma particulada y en distintos medios de relevancia biofarmacéutica.
- Evaluar los perfiles de liberación *in vitro* de los sistemas desarrollados y su vinculación con las propiedades físico-mecánicas.



CAPITULO II

MATERIALES

SELECCIONADOS

GENERALIDADES Y

APLICACIONES

Capítulo II

2.1 Introducción

Desde un punto de vista ideal, durante la farmacoterapia es necesario introducir el fármaco en el organismo de una manera eficaz y eficiente para que alcance el órgano diana. Por ello, es poco probable que los fármacos se administren como sustancias químicas puras; casi siempre se utilizan en forma de preparados farmacéuticos o medicamentos que varían desde soluciones relativamente sencillas a sistemas de liberación complejos obtenidos mediante el uso de excipientes adecuados (**York, 2004**).

De lo expuesto anteriormente, es importante que en el desarrollo de un SLM se consideren las propiedades físicas y químicas de los ingredientes farmacéuticos activos y los excipientes seleccionados, se realicen los estudios de formulación, el perfil de liberación y se considere la vía de administración. Todo ello teniendo en cuenta el beneficio terapéutico que los mismos deben proporcionar.

La investigación y desarrollo de SLM de fármacos se sitúa actualmente a la vanguardia de numerosos proyectos en el área de tecnología farmacéutica y los polímeros hidrofílicos biocompatibles constituyen uno de los materiales más seleccionados como excipientes en el diseño de los mismos. En particular, los polielectrolitos, o sea polímeros con capacidad de generar cargas positivas o negativas cuando entran en contacto con agua, son un grupo de materiales conocidos como polímeros inteligentes, ya que responden a estímulos externos, como los cambios de pH del medio, cambiando su conformación, estado, propiedades químicas o mecánicas.

La selección de los materiales es, tal vez, uno de los pasos más importantes del diseño racional de sistemas terapéuticos. Para el desarrollo de este trabajo de tesis, la elección del polielectrolito portador se basó, inicialmente, en la continuación de los estudios realizados por el grupo de investigación de la Universidad Nacional de Córdoba para el diseño de MHPF utilizando **Carbomer 934P (Bermudez, 2008)**.

Capítulo II

2.2 Carbomer (ácido poliacrílico)

El Carbomer es un polímero sintético lineal, derivado del ácido acrílico, presenta características fisicoquímicas favorables para el desarrollo de SLM y ausencia de toxicidad comprobable. Carbomer puede estar entrecruzado con alilazúcares o pentaeritriol formando una red polimérica tridimensional. El grado de entrecruzamiento, el tipo de agente utilizado para tal fin y la presencia de diferentes residuos tóxicos de la síntesis del polímero generan los diferentes tipos y aplicaciones de Carbomer descritos en las fichas técnicas de los fabricantes (**Lubrizol Bulletin, 2011**).

Los polímeros Carbomer fueron preparados y patentados en 1957 (**Brown H.P., US patent N° 2798053**). Desde entonces se han hecho numerosas mejoras a esta familia de polímeros para satisfacer las demandas en las distintas formulaciones con la finalidad de aumentar y mejorar el manejo del producto durante el procesamiento. Por ejemplo, el disolvente utilizado para sintetizar los polímeros ha evolucionado. Específicamente, los polímeros "tradicionales" fueron polimerizados en disolvente benceno, desde la década del 1980 la oferta del producto se ha ampliado para incluir productos polimerizados en un disolvente más aceptado toxicológicamente como el acetato de etilo o una mezcla co-disolvente de acetato de etilo y ciclohexano, ampliando su campo de aplicación y aprobación en formulaciones de uso interno (**Lubrizol, 2013**).

Estas diferencias se ponen de manifiesto asignándole a su nomenclatura distintos números. Los que llevan la letra P después del número significa que son de elevada pureza, con un contenido residual de benceno muy bajo, que los hace aptos para su uso interno como, por ejemplo, aglutinante en comprimidos para la vía oral. Los Carbomer se clasifican de acuerdo a su uso y aplicaciones como se pone de manifiesto en la **Tabla 2.1**

Capítulo II

Tabla 2.1: Clasificación de diversos Carbomer

APLICACIONES	USOS	CARBOMER
Tópica	Externo	71G, 971P, 974P, 980, 981, 934, 934P etc.
Oral y mucosa	Interno	71G, 971P, 974P, 934P

En este trabajo de tesis se seleccionó a **Carbomer 934P**, en adelante **CB** para desarrollar los sistemas portadores de Cip.

CB es un polímero de alto peso molecular, entrecruzado con alilsucrosa y con propiedades bioadhesivas. El termino bioadhesión se utiliza para definir la habilidad de un material natural o sintético de adherirse por un periodo más o menos prolongado de tiempo a membranas biológicas, resultando en un íntimo contacto del material con el tejido. La mucoadhesión se refiere a un caso particular de bioadhesión en el que el tejido es una mucosa.

Su síntesis genera un producto con bajo contenido de residuos de benceno (< 0,01%) por lo que está clasificado como un CB apto para uso interno, de muy baja toxicidad. Cabe destacar que recientemente la producción de CB fue discontinuada y en su reemplazo Lubrizol aconseja la utilización de Carbomer 974P, con similares propiedades y aplicaciones que CB. Se espera que los resultados obtenidos en este trabajo puedan ser proyectados sin inconvenientes a formulaciones utilizando Carbomer 974P.

Cuando el CB se encuentra en forma de polvo seco, su estado es amorfo y las cadenas de sus macromoléculas están enrolladas y plegadas. La **Figura 2.1 (Taylor y Bagley, 1974-1975)** representa este estado del polímero que, luego de entrar en contacto con agua y en presencia de electrolitos de carga opuesta, se hincha y forma hidrogeles de

Capítulo II

alta viscosidad a muy bajas concentraciones (desde 0,1%) y en un amplio intervalo de pH, entre 4,5 y 8. Además es muy compatible con principios activos ácidos, neutros y básicos.

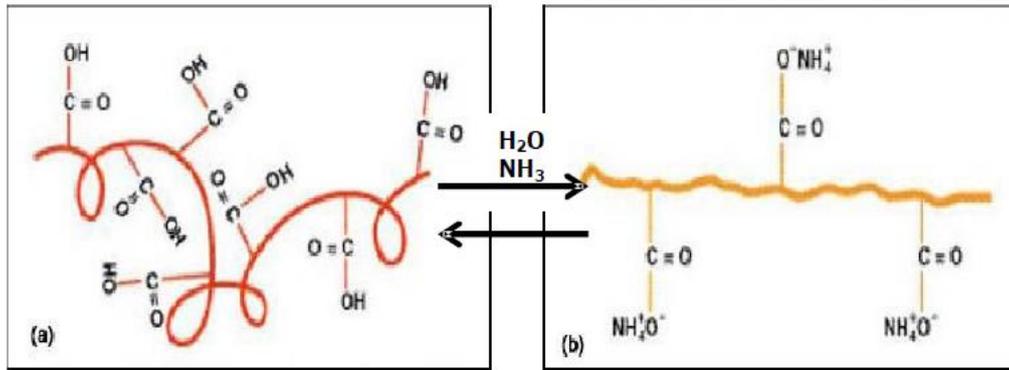


Figura 2.1: Carbomer como polvo seco (a) y luego de ser hidratado y neutralizado (b)

En medio acuoso o hidroalcohólico sus grupos hidrofílicos se hidratan lentamente, sus cadenas se despliegan aumentando su viscosidad. La mayor viscosidad se manifiesta cuando se neutralizan con una base, inorgánica u orgánica, como por ejemplo un fármaco catiónico, generando cargas negativas, $-\text{COO}^-$, a lo largo de la molécula, las cuales promueven la repulsión electrostática entre las cadenas. Así, sus cadenas están totalmente desplegadas presentando una estructura tridimensional más rígida (Nakanishi y col., 1998).

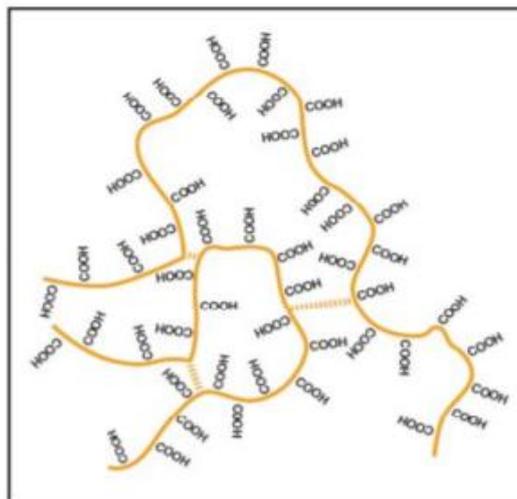


Figura 2.2: Dibujo esquemático de la cadena de Carbomer

Capítulo II

La **Figura 2.2** muestra el diagrama esquemático de un segmento de la molécula de Carbomer, donde se puede observar el entrecruzamiento del polímero sintético.

En la **Tabla 2.2** se resumen algunas las características fisicoquímicas de CB que pueden ser de interés para el desarrollo de este trabajo.

Por titulación potenciométrica se pudo determinar que cada gramo de CB 934P, en estado sólido, contiene 0,012 (\pm 0,001) equivalentes en moles de grupos carboxílicos con capacidad de ionizarse e interaccionar con un contraión (**Jimenez Kairuz, 2004**).

Tabla 2.2 Propiedades fisicoquímicas de CB 934P

PM ¹	7.10 ⁵ - 3.10 ⁹
Nº de equivalentes por gramo de material sólido ²	0,012 (\pm 0,001)
Punto de fusión ³	No funde, descompone a 260 °C
Tº de transición vítrea ³	Entre 100 - 105 °C
Viscosidad ⁴	29,4 - 39,4 cp (Sol. 0,5%)
Apariencia ⁴	Polvo blanco, de baja densidad, con partículas de 2 - 7 μ m
Olor ⁴	Ligeramente acético
Estabilidad ⁵	Estable
Riesgo de polimerización ⁶	Muy bajo

¹Extraído de Lubrizol-bulletin1

²Dato experimental obtenido por Jimenez Kairuz. 2014

³Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6ª Edición

⁴Extraído de Lubrizol, product specification

⁵Extraído de Lubrizol, hoja de seguridad

⁶Extraído de Noveon, hoja de datos de seguridad de materiales

Aplicaciones de Carbomer

Fue diseñado en los años 60 para la industria farmacéutica por su alto grado de pureza, especialmente utilizable en aplicaciones mucoadhesivas y formulaciones orales: comprimidos de liberación modificada y suspensiones.

Posee excelentes propiedades como agente estabilizante, no es irritante de las mucosas, excelente apariencia y aceptabilidad por los pacientes, disponibilidad y

Capítulo II

reproducibilidad lote a lote, lo que garantiza la calidad tanto de la materia prima como del producto elaborado. Estas propiedades hacen de CB un excipiente con numerosas aplicaciones en el área farmacéutica como aquí se detallan:

a- Los polímeros CB son utilizados como formadores de matrices altamente eficaces para controlar la liberación del fármaco en formas de dosificación sólidas. Han demostrado brindar velocidades de liberación de fármaco más lentas a concentraciones más bajas que otros excipientes disponibles comercialmente, lo que permite un ahorro de costos global y tamaños de tabletas más pequeños (**Lubrizol Bulletin, 2011**).

En el grupo de investigación de Córdoba, como ya se mencionó en el capítulo I, se han evaluado las propiedades de liberación de unas nuevas MHPF, obtenidas por compactación de complejos particulados de un PE total o parcialmente neutralizados con fármacos ionizables (**Jimenez y col., 2005; Ramirez Rigo y col., 2006; Quinteros y col., 2008**). En estos recientes trabajos relacionados a MHPF, el CB fue neutralizado con fármacos modelos que poseen grupos básicos, tales como Atenolol, Lidocaína y Metoclopramida (**Jimenez y col., 2005**).

b- Está demostrado que CB interacciona con el mucus de las membranas, generando una marcada bioadhesión con aplicaciones en la formulación de sistemas farmacoterapéuticos con liberación sitio-específica, como por ejemplo bucales, intestinales, oftálmicas, nasales, vaginales y rectales. Este polímero es reconocido como el estándar industrial para la bioadhesión

c- CB modifica la reología a concentraciones muy bajas (menos del 1%) para producir una amplia gama de viscosidades y propiedades de flujo en lociones, cremas, geles, suspensiones orales y en depósitos de gel transdérmico (**Lubrizol Bulletin, 2011**).

Además, se ha descrito su utilización en dispersiones sólidas para aumentar la velocidad de disolución de fármacos muy poco solubles. (**Marín y col., 2007**).

Capítulo II

2.3 Ciprofloxacino (Cip)

Para la selección del fármaco se tuvo en cuenta principalmente que contenga grupos básicos, capaz de generar cargas positivas que interaccionen con los grupos carboxílicos del CB.

La selección del **Ciprofloxacino** se basó complementariamente en su importancia terapéutica y características fisicoquímicas para la formulación de sistemas terapéuticos.

A partir del año 1965, con la introducción en la medicina asistencial del ácido nalidíxico **Figura 2.3**, patentado en 1962, se inicia la terapéutica con los agentes antibacterianos químicamente definidos como quinolonas (**Leshner y col., 1962**).

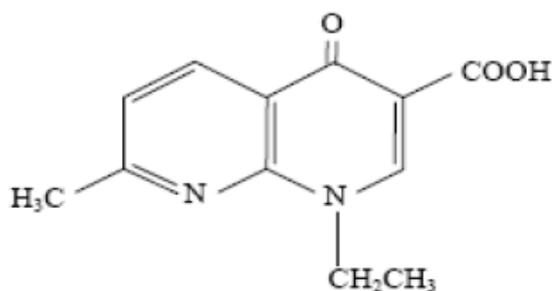


Figura 2.3: Estructura química del ácido nalidíxico

En el transcurso de las últimas cinco décadas se han sintetizado y evaluado miles de moléculas con estructuras de quinolonas, con la finalidad de ampliar el espectro antimicrobiano, dando lugar a *quinolonas de 1^o, 2^o, 3^o y 4^o generación*.

Ciprofloxacino es uno de los antimicrobianos *fluoroquinolónicos* de *segunda generación* más representativos y utilizados en farmacoterapia, cuya fórmula de constitución puede verse en la **Figura 2.4**.

Capítulo II

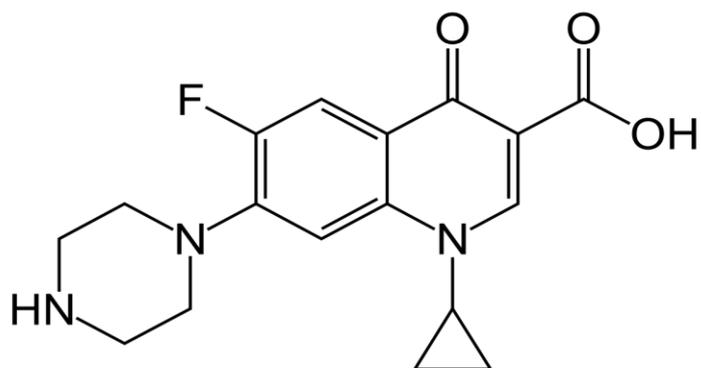


Figura 2.4: Estructura química del Cip

El Cip es, en efecto, uno de los antimicrobianos prescritos más frecuentemente en todo el mundo, se encuentra en el listado “top 200 prescription index” provisto por la base de datos ClinCalc.com a partir de fuentes oficiales del gobierno de USA (**ClinCalc, 2019**). Esta aceptación se debe a su amplio espectro de acción, su eficacia, su excelente tolerancia y también el hecho de que puede ser administrado tanto por vía parenteral como por vía oral. Presenta una acción terapéutica predominantemente bactericida (**Barry y col., 1984**) y posee un amplio espectro que abarca cocos y bacilos Gram-positivos y Gram-negativos, aerobios, facultativos y anaerobios, Mycoplasma, Chlamydia, Rickettsia y Micobacterium. Además, presenta actividad particularmente alta sobre enterobacterias y Pseudomonas. Actúa tanto en fase de crecimiento exponencial como en fase estacionaria, aumentando su potencia bactericida a pH alcalino y no influyendo las condiciones de aerobiosis o anaerobiosis (**Fuentes Martínez, 1994**). Por vía endovenosa se administra como infusión. Mientras que para la vía oral se dispone de Cip formulado en comprimidos convencionales de liberación inmediata, suspensión para administración en niños y más recientemente en comprimidos bicapa de liberación extendida, conteniendo dosis entre 500 y 1000 mg.

Capítulo II

Mecanismo de acción

El resultado del mecanismo de acción del Cip es la combinación de su capacidad para penetrar en la célula bacteriana mediante un mecanismo de difusión pasiva a través de los canales acuosos de las porinas o de la capa de lipopolisacáridos e inhibir la réplica de ADN bacteriano; aunque este último mecanismo es poco claro y conjeturable (**Bermudez, 2008**). En resumen, al ser miembro de las quinolonas actúan inhibiendo dos enzimas topoisomerasas bacterianas de tipo II, ADN-girasa y topoisomerasa IV, perturbando la normal réplica de ADN bacteriano. Sin embargo, aún no se han definido los factores moleculares que generan rupturas de la doble cadena de ADN que probablemente inician la muerte celular (**Lopez Gresa y col., 2002**).

Por tener en su estructura un grupo ácido (-COOH) y otro básico (-NH), es una molécula zwitteriónica y presenta en solución los equilibrios descritos en la **Figura 2.5**. Por esta razón su solubilidad varía con el pH, presentando máxima solubilidad a pH por debajo de 4 y por encima de 11 y mínima solubilidad a pH comprendidos entre estos valores (Pto. isoelectrico) (**Fallati y col., 1994**). Debido a estas características, es bien sabido que puede formar complejos con cationes multivalentes (**Eboka y Okeri, 2005**), de acuerdo al grado de ionización y a la prevalencia de ciertas variantes químicas de la misma, presentes en la solución acuosa.

Capítulo II

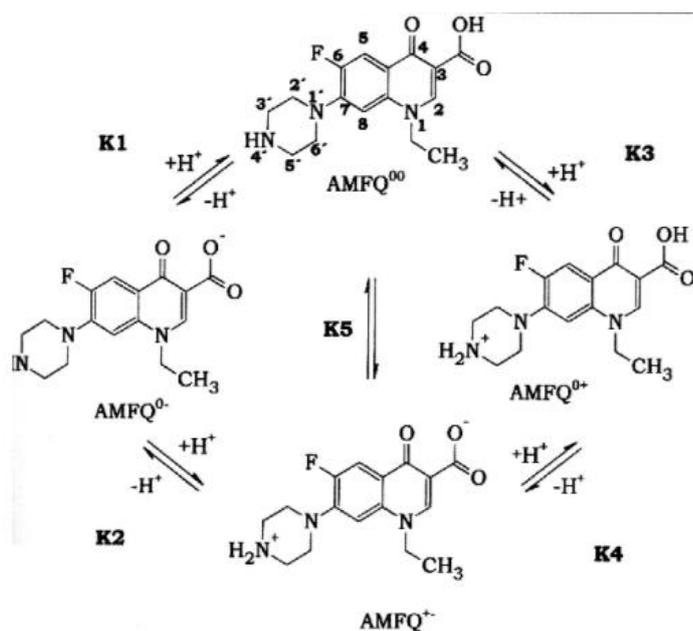


Figura 2.5: Equilibrio de ionización de los AMFQs en solución acuosa

Entre las principales propiedades fisicoquímicas del Cip podemos mencionar las que figuran en la **Tabla 2.3**.

Tabla 2.3: Propiedades fisicoquímicas del ciprofloxacino

Nombre químico	Acido 1-ciclopropil -6-fluor-1,4 dihidro 4 oxo-7- (piperacínil)-3-quinolil carboxílico
DCI	Ciprofloxacino
Formula molecular	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃
Aspecto físico	Sólido blanco cristalino
Clasificación ATC	J01MA02
Clasificación CAS	85721-33-1
Constantes de disociación ácida	pKa₁ 6,09 pKa₂ 8,74
Punto isoelectrico	7,30
Punto de fusión	265-268°C
PM	331,35
Solubilidad	Insoluble en agua, etanol y acetona, soluble en medio ácido y alcalino

Capítulo II

Aplicaciones terapéuticas

La efectividad del Cip se debe a su alta biodisponibilidad, donde sus propiedades farmacocinéticas han contribuido en medicina clínica. Debido a la absorción generalmente excelente del TGI, se han desarrollado formulaciones orales. Para el tratamiento de pacientes hospitalizados, en quienes la absorción por vía oral podría estar deteriorada, se utilizan formulaciones intravenosas, así como para el tratamiento de pacientes ambulatorios **(Hooper, 1998)**.

Pero su uso en una gran variedad de infecciones, ha hecho que se extienda a patologías que bien podrían ser tratadas con otros antibióticos; esto generó la aparición de cepas resistentes con la consiguiente pérdida de la utilidad clínica. Por ello, es una recomendación lógica que no se utilice como primera elección, cuando existen otros antibióticos con igual eficacia e indicación **(Serra, 2008)**.

Por tener una mejor absorción por vía oral, mayor distribución sistémica y su actividad sustancialmente más elevada frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, las principales indicaciones clínicas para el Cip abarcan infecciones de piel y tejidos blandos, articulaciones, hueso y tracto respiratorio inferior, enfermedades de transmisión sexual, así como del tracto urinario entre otras. **(Alos, 2009; Hooper, 1998 ;Blondeau, 1999; Hooper y col, 2015)**.

2.4 Grado y origen de los materiales

Para la realización de este trabajo de tesis se utilizaron los siguientes materiales: Carbomer 934P (grado farmacéutico, Parafarm, Buenos Aires, Argentina). Cip Clorhidrato (grado USP, Parafarm, Buenos Aires, Argentina). Etanol (Porta, Buenos Aires, Argentina). Fosfato monobásico de potasio (para análisis, Parafarm, Buenos Aires, Argentina).

Capítulo II

Hidróxido de sodio perlitas (para análisis, Cicarelli, Buenos Aires, Argentina). Solución fisiológica esterilizada (Sanadrog, Buenos Aires, Argentina). Aceite de silicona (United Chemical Technologies Inc., Bristol, USA). Solución de ácido clorhídrico 1,000 M a partir de ácido clorhídrico 37% (v/v).



CAPITULO III

METODOLOGIA GENERAL

Capítulo III

3.1 Obtención de fármaco a partir de sus sales [M 1]

La base libre de Cip fue obtenida a partir de solución acuosa concentrada de su sal de clorhidrato por neutralización con solución de hidróxido de sodio 1,0 M hasta obtener un precipitado a $\text{pH} \geq 10$. El sólido así obtenido fue filtrado, lavado con agua destilada fría y puesto a secar en estufa a 100 °C hasta peso constante. Posteriormente se procedió a su molienda hasta obtener un polvo fino y uniforme para luego ser envasado en recipiente color caramelo (**Bermudez, 2008**).

3.2 Determinación del punto de fusión [M 2]

El punto de fusión de Cip fue determinado por triplicado utilizando un fusiómetro digital IA-9100 Electrothermal como criterio de identificación y pureza del fármaco luego de su neutralización.

Un tubo capilar de vidrio con un extremo cerrado, se cargó con suficiente polvo seco para formar una columna en el fondo del tubo de 2,5 - 3,5 mm de altura. Se compactó tanto como sea posible, golpeteando suavemente sobre una superficie sólida. Posteriormente, se calentó el baño hasta que la temperatura alcanzara aproximadamente 10 °C por debajo del punto de fusión esperado y aumentando la velocidad a $1,0 \pm 0,5$ °C por minuto. Finalmente, se insertó el capilar acoplado a un termómetro cuando la temperatura llegaba a 5,0 °C por debajo del límite inferior del intervalo de fusión y se continuó calentando hasta completar la fusión. La temperatura a la cual la columna de la sustancia se colapsa claramente contra las paredes del tubo en cualquier punto se define como el comienzo de la fusión y la temperatura a la cual la sustancia se torna completamente líquida se define como el final de la fusión o “punto de fusión”, el cual se presenta como un intervalo de temperatura.

Capítulo III

3.3 Obtención de los complejos Carbomer-Ciprofloxacino en estado sólido [M 3]

Como se ha mencionado, para este trabajo, se han seleccionado Carbomer (CB) como modelo de polielectrolito aniónico y Ciprofloxacino (Cip) como fármaco ionizable con capacidad de interactuar mediante reacción ácido-base en un entorno acuoso. Se han utilizado diferentes concentraciones de ion sodio (Na^+) en la formulación de los complejos. Los complejos $(\text{CB-Cip})_{50}\text{Na}_x$ en estado sólido fueron preparados mezclando en un mortero 10 g de CB, 6,65 g de Cip y una cantidad apropiada de etanol (Alcohol medicinal 96°, Porta, Arg.), hasta conseguir una pasta semisólida de $(\text{CB-Cip})_{50}$ (el subíndice indica que el 50 % de los grupos carboxílicos ionizables de CB fueron neutralizados con Cip). Adicionalmente, se añadieron 2; 3,9; 4,8; 5,6; 6,4 y 7,8 mL de Na^+ (como NaOH) 1,0 M durante el proceso de mezclado, para obtener los complejos $(\text{CB-Cip})_{50}\text{Na}_x$ (x: 5, 10, 12, 14, 16 y 20 % de Na^+ , en concentraciones molares), respectivamente. La mezcla semisólida fue almacenada a temperatura ambiente durante 24 h y luego secada hasta obtener una pasta adecuada para realizar una granulación húmeda con un tamiz N° 30 (600 μm).

Finalmente, los complejos obtenidos como gránulos fueron secados hasta peso constante y tamizados nuevamente, seleccionando el rango de tamaño de partícula entre 200-600 μm para realizar los estudios reológicos y de disolución. La **Figura 3.1** muestra el procedimiento realizado para la obtención del producto final.

La mezcla física, conteniendo las mismas proporciones de CB y Cip que en los complejos, fue preparada en mortero mediante simple mezclado de los materiales sólidos.



Figura 3.1: Esquema de flujo para preparar complejos

3.4 Medición de pH [M 4]

Las determinaciones de pH se llevaron a cabo con equipo Termo/pH-metro digital de mesada ALTRONIX TPX-I con estativo, termocompensador automático (ATC) de platino (sensor origen: Alemania) y electrodo de pH Silver cap (USA) phs-0101-3b.

Para ello, se pesaron aproximadamente 50 mg de cada complejo y se transfirieron a un vaso de precipitado (20 mL), previamente pesado y tarado. Posteriormente se llevó a 5 mL de volumen final con agua destilada y se pesó nuevamente para calcular el % p/p. La muestra se dejó reposar por 24 h. Luego se midió el pH a los 5 mL de muestra. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

3.5 Análisis térmico [M 5]

Bajo la denominación de Análisis Térmico se agrupan una serie de técnicas en las cuales se sigue una propiedad de la muestra, en una determinada atmósfera, en función del tiempo o de la temperatura cuando dicha muestra se somete a un programa de temperatura controlado. Éste puede consistir en calentar o enfriar a una determinada velocidad, o mantener la temperatura constante, o una combinación de ambas.

Estos métodos se utilizan para determinar la pureza, el polimorfismo, la solvatación, la degradación y la compatibilidad de los excipientes. Normalmente permiten supervisar procesos endotérmicos (fusión, ebullición, sublimación, vaporización, desolvatación, transición de fase sólido-sólido y degradación química), como procesos exotérmicos (cristalización, descomposición oxidativa).

Entre las técnicas de Análisis Térmico más comunes destacan:

La *Termogravimetría (TG)* está basada en la medida de la variación de la masa de una muestra cuando se la somete a un cambio de temperatura en una atmósfera controlada. Esta variación puede ser una pérdida o una ganancia de masa. El registro de estos cambios nos dará información si la muestra se descompone o reacciona con otros componentes y es más común que se use para estudiar el proceso de desolvatación, es decir que la principal utilidad para el análisis de TG está en la determinación cuantitativa del contenido total de volátiles de un sólido. Cuando un sólido puede descomponerse por medio de varias reacciones secuenciales discretas, la magnitud de cada paso puede evaluarse por separado. El análisis termogravimétrico de la descomposición del compuesto también se puede usar para comparar la estabilidad de un componente. La Termogravimetría puede utilizarse conjuntamente con otras técnicas de análisis térmico, como por ejemplo DSC, ya que permiten obtener información complementaria sobre el comportamiento térmico de una muestra.

Capítulo III

La *calorimetría diferencial de barrido (DSC)* es el método de análisis térmico más utilizado. En el método DSC, se mide la variación en el flujo de calor entre la muestra y una referencia cuando dicha muestra se somete a un programa de temperatura en una atmósfera controlada. La DSC es una técnica cuantitativa que permite obtener información de la temperatura a la cual tiene lugar el cambio energético en estudio y del calor involucrado en el proceso.

Se evalúa el comportamiento térmico del PA puro, PE, complejos (CB-Cip)₅₀ Na_x y mezcla física de CB-Cip. Para caracterizar estos materiales se obtuvieron los termogramas de absorción y cesión de calor (DSC) y de cambio de peso (TGA) en función de la temperatura, utilizando los siguientes equipos: Perkin-Elmer Pyris para DSC y Perkin-Elmer, modelo TG S-2, para TGA.

En DSC se pesaron aproximadamente 3,5 mg de cada muestra, las que se dejaron equilibrar a 30 °C, con una posterior elevación gradual de la temperatura hasta 270 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min en atmósfera de nitrógeno, utilizando porta muestras de aluminio cerrados herméticamente. En TGA se pesaron aproximadamente 2 mg de muestra, que se dejaron equilibrar a 30 °C, con una posterior elevación gradual de la temperatura hasta 700 °C bajo atmósfera de nitrógeno a 40 mL/min, utilizando porta muestra de aluminio abierto.

3.6 Determinaciones por espectrofotometría UV-Vis. [M 6]

La espectroscopia UV-Vis. (Ultravioleta Visible) es una técnica ampliamente utilizada en análisis farmacéutico para identificar y cuantificar fármacos y productos relacionados.

Con este fin, se realizaron las correspondientes curvas de calibración en los medios utilizados, agua destilada y buffer fosfato pH=6,8. En el primer caso, se pesaron

Capítulo III

exactamente alrededor de 30 mg de Cip (materia prima) y se transfirieron a un matraz aforado de 100 mL. Posteriormente, se llevó a volumen con una solución compuesta por HCl 0,01M y agua destilada (1:1), para ajustar el $\text{pH} \leq 2,5$. Cuando se trabajó con buffer fosfato, se efectuó el mismo procedimiento, aunque se llevó a volumen con una solución compuesta por buffer fosfato y una cantidad suficiente de solución de HCl 0,01M que asegure un $\text{pH} \leq 2,5$, a fin de lograr la completa disolución de Cip y asegurar el aporte de una sola especie ionizada al total de absorción. Finalmente, se homogenizó mediante ultrasonido (Testlab TB018TDCCD), durante 15 min, y las soluciones obtenidas se dejaron reposar toda una noche.

Para realizar las curvas de calibración de Cip, se prepararon soluciones de Cip, en ambos medios, con un intervalo de concentración de Cip entre $6,70 \times 10^{-6}$ y $1,81 \times 10^{-5}$ mol/L. La cuantificación se efectivizó a la longitud de onda de máxima absorción de Cip, $\lambda = 276,9$, utilizando el espectrofotómetro Varian Cary 50 Conc. Las determinaciones se realizaron por triplicado en cada nivel de concentración. Finalmente, se realizó una prueba de correlación, obteniéndose la ecuación de la recta ($A = a C + b$) y su correspondiente coeficiente R^2 . Donde A, es la absorbancia (respuesta instrumental); C, es la concentración del analito; a, la absortividad (medida de la cantidad de luz absorbida por una disolución, definida como la unidad de absorbancia por unidad de concentración por unidad de longitud de la trayectoria de luz); b, ordenada al origen y R^2 , es el coeficiente de determinación.

Para la cuantificación de Cip, inicialmente se prepararon soluciones madres de cada complejo por duplicado. Para ello, se pesaron exactamente 45 mg de cada complejo, equivalente a 30 mg de Cip, tomados aleatoriamente del pool de gránulos y se transfirieron a un matraz aforado de 100 mL. Posteriormente, se agregó la solución ácida de $\text{pH}=2,5$, para asegurar la completa disolución de Cip y finalmente se agitó por ultrasonido por 15

Capítulo III

min. Las soluciones se dejaron reposar durante una noche al abrigo de la luz. A partir de éstas, se tomaron alícuotas de 0,25 mL, por triplicado, se colocaron en un matraz aforado de 10 mL y se llevaron a volumen con la solución ácida de pH=2,5. Se midió la absorbancia de cada solución y los resultados de concentración de Cip obtenidos permitieron determinar los mg de fármaco por mg de complejo. A partir del análisis de los promedios de estos resultados, sus desviaciones estándares y coeficientes de variabilidad, se pudo determinar la distribución de Cip en cada muestra de complejos sólidos y utilizar ésta como medida de “uniformidad de contenido”.

3.7 Preparación de complejos hidratados para evaluación reológica [M 7]

Los complejos (CB-Cip)₅₀ Na_x fueron hidratados en distintas proporciones, utilizando uno de estos tres solventes: agua destilada (AD), pH=5, buffer fosfato (BF), pH= 6,8 o solución fisiológica (SF), pH= 6,0.

Para estudiar los complejos en el reómetro se pesaron 2 mg de cada muestra y se transfirieron a un envase con cierre hermético. Luego, se procedió a agregar gota a gota el medio correspondiente, obteniéndose concentraciones que dependían de la capacidad de las muestras pulverizadas de absorber los distintos medios y adquirir la consistencia adecuada, tipo gel, para ser evaluadas en el reómetro. Luego de cada hidratación se mantenía cerrado el envase para evitar la evaporación.

3.8 Estudios de liberación del fármaco [M 8]

Para obtener los perfiles de liberación de Cip desde los complejos con concentración del 21 % p/p de sólido con BF pH = 6,8, se utilizó un equipo de disolución (Agilent 708 DS), aparato 2 de Farmacopea Argentina 7 ed. (FA7, 2003), equipado con paletas y programado a una velocidad de giro de 25 rpm, **Figura 3.3**, y 900 mL de BF a una

Capítulo III

temperatura de $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ como medio de disolución, previamente filtrado y desgasificado.

Para realizar este estudio, se pesaron 50 mg de complejo sobre un vidrio de reloj, luego se agregó una cantidad previamente calculada del medio, BF, para obtener una concentración del complejo del 21 % p/p, acorde a lo descrito en [M 7] y se dejaron reposar aproximadamente 10 min, cubiertos con una tapa de placa de Petri para evitar la evaporación del medio. Posteriormente, se depositó el vidrio de reloj, con el complejo hidratado, en la base del vaso del disolutor y se inició el ensayo.

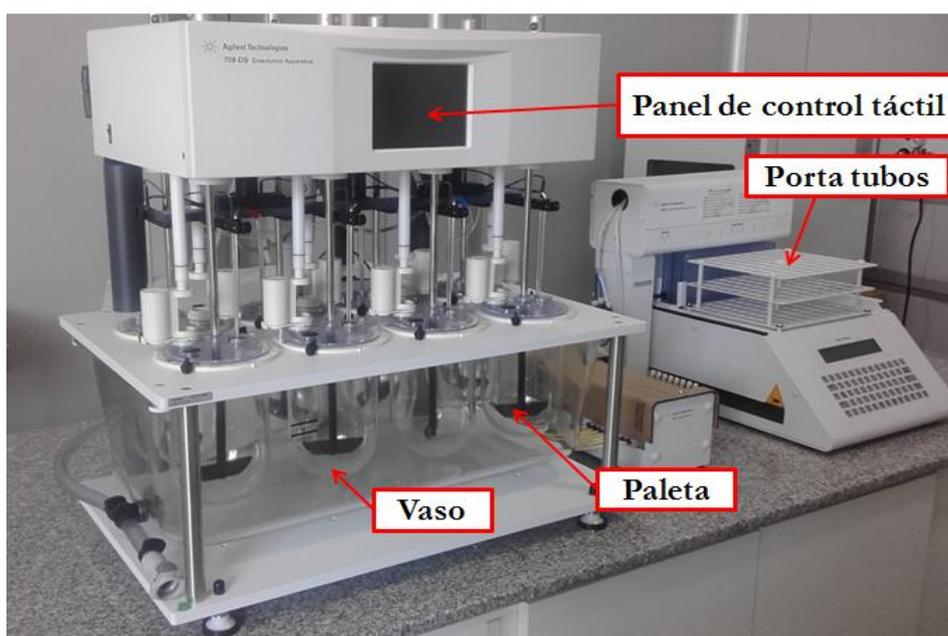


Figura 3.3: Equipo de disolución con paleta (Aparato 2)

Durante el ensayo se tomaron muestras de 5 mL a intervalos de tiempos predeterminados y se reemplazaron con 5 mL de medio de disolución fresco. Se determinó la concentración del Cip disuelta en cada vaso espectrofotométricamente a la longitud de

Capítulo III

onda de máxima absorción de Cip, $\lambda = 276,9$ nm. Todas las mediciones se llevaron a cabo por triplicado y los valores medios fueron graficados (Cip disuelta (%) vs. Tiempo (min))

3.9 Tratamiento estadístico de los datos experimentales [M 9]

Para describir la liberación del fármaco de los complejos, se construyeron los perfiles de liberación, obtenidos acorde a [M 8], para los complejos (CB-Cip)₅₀ Na_x (x= 5,10, 12, 14, 16, 20 en moles %) de concentración 21 % p/p de sólido con buffer fosfato pH=6,8. Pese a que este método como tal no es una prueba farmacopeica oficial, la FDA (**Food and Drug Administration, 2019**) recomienda enfáticamente su utilización dada la información que aporta, fundamental para hacer comparaciones, destacándose el área bajo la curva (ABC), eficiencia de la disolución (ED) y factor de similitud (f_2 : diferencias de los cuadrados medios) (**Franco y col., 2012**).

El ABC es un valor adimensional que, construido de forma idéntica para cada producto en análisis, permite hacer inferencias de su comportamiento de disolución y compararlo con otros lotes o productos. El ABC fue calculada utilizando la regla trapezoidal en el intervalo de tiempo [0-120] min mediante la **Ecuación 3.1: (Perez Guzman, 2013)**, donde C es el % de fármaco liberado en el tiempo t.

$$ABC_0^t = \frac{(C_1+C_2)(t_1-t_2)}{2} \quad \text{Ecuación 3.1}$$

La ED caracteriza la liberación del fármaco. En este trabajo se definió como la razón entre el área bajo la curva de disolución hasta 120 min y el área total de un rectángulo

Capítulo III

que describe el 100 % de disolución a ese tiempo y se calcula mediante la **Ecuación 3.2** (Costa y col., 2000).

$$\mathbf{ED} (\%) = \frac{\mathbf{ABC}_0^t}{\mathbf{Q}_\infty \mathbf{T}} \quad \mathbf{Ecuación 3.2}$$

Donde $Q_\infty T$ está definido por el área del rectángulo delimitado por el porcentaje máximo de fármaco disuelto y el tiempo correspondiente al último punto experimental.

El f_2 compara y determina numéricamente qué tan parecidos son dos perfiles de disolución entre sí. Es una medida de la similitud del porcentaje de disolución entre las curvas. Se calculó a partir de la **Ecuación 3.3** (Franco y col., 2012):

$$\mathbf{f}_2 = \mathbf{50} \log \left\{ \left[\mathbf{1} + \left(\frac{\mathbf{1}}{\mathbf{n}} \right) \sum_{\mathbf{t}-\mathbf{1}}^{\mathbf{n}} (\mathbf{R}_t - \mathbf{T}_t) \right]^{-\mathbf{0,5}} \cdot \mathbf{100} \right\} \quad \mathbf{Ecuación 3.3}$$

Donde n es el número de puntos experimentales, R_t es el % de fármaco disuelto a cada tiempo de referencia y T_t es el % de fármaco disuelto a cada tiempo del producto.

Este factor toma valores de 100 cuando los perfiles son idénticos y tenderá a cero a medida que se hacen más disímiles. La FDA sugiere que dos perfiles de disolución se consideran similares si $100 \geq f_2 \geq 50$. Un $f_2 \geq 50$, refleja diferencias menores al 10 %, $f_2 \geq 65$, indica que las diferencias se reducen al 5 %, y cuando $f_2 \geq 83$ las diferencias se hacen incluso menores al 2 %.

A partir de los perfiles de liberación realizados por triplicado para cada complejo con distintas proporciones de Na^+ se obtuvieron los valores de ABC y se calcularon los

Capítulo III

valores promedios o medias aritméticas \overline{ED} y sus desviaciones para realizar un análisis de varianza (ANOVA) y posteriormente de “Least significance difference”(LSD).

Los datos de ANOVA y LSD se obtuvieron utilizando un programa de computadora suministrado por la cátedra de Control de Calidad de la Universidad Nacional del Sur.

ANOVA es un método estadístico, que permite probar la hipótesis que las medias de dos o más poblaciones son iguales. La hipótesis nula (H_0) establece que todas las medias (μ) de la población son iguales, mientras la hipótesis alternativa (H_1) establece que al menos una es diferente. Por ejemplo, en el caso de 5 poblaciones, el contraste a realizar sería:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 \quad \text{vs.} \quad H_1: \text{No todas las medias poblacionales son iguales}$$

En este trabajo tenemos 6 poblaciones o tratamientos (complejos con 5, 10, 12, 14, 16 y 20 % molar de Na) con una media (\overline{ED}) para cada una de ellas.

En el caso más sencillo, ANOVA permite descomponer toda la variación que presentan los datos en una variación de los datos entre las distintas poblaciones (fuente de variación entre, CM_{Entre}) y una variación entre las unidades experimentales dentro de cada población (fuente de variación dentro, CM_{Error}). A fin de comparar las medias se establece que si CM_{Entre} es significativamente mayor que el CM_{Error} , concluiremos que las medias asociadas a diferentes poblaciones son distintas. Si, por el contrario, CM_{Entre} no es significativamente mayor que CM_{Error} , no rechazaremos la hipótesis nula de que todas las medias coinciden (**Baro y Alemany, 2000**).

Existe una cantidad que puede resumir el resultado de este tratamiento de manera objetiva, el *P-valor* (P)(Probabilidad de que H_0 sea verdadera) (**Fallas, 2012**), obtenido de la tabla de ANOVA, el cual se compara con el valor de significancia (α) que está determinado por convención, este puede ser: $\alpha = 0,01$ o $\alpha = 0,05$

Capítulo III

En este trabajo se consideró $\alpha = 0,01$

Significancia estadística: es una regla que permite afirmar que la diferencia observada entre dos o más tratamientos es el resultado del efecto del tratamiento, no del azar

Para determinar si cualquiera de las diferencias entre las medias es estadísticamente significativa se compara el valor P con α , como ya se mencionó: **(Molina Arias , 2017)**.

si $P \leq \alpha$, se rechaza H_0

si $P > \alpha$, se acepta H_0

Si la prueba de ANOVA da como resultado que existen diferencias significativas entre las medias, se procede a aplicar una prueba de comparaciones múltiples de medias para determinar cuáles de ellas son estadísticamente diferentes. Una de estas pruebas es LSD. Esta prueba permite hacer todas las posibles comparaciones de tratamientos de dos en dos, y por eso se considera la más completa, es decir que es una prueba de hipótesis por parejas.

De esta manera se compararon los ED de cada complejo, de dos en dos, considerando un valor de significancia $\alpha = 0,05$.

El Test, además, se basa en el cálculo de un valor común, un umbral (LSD). Se realizan todas las diferencias entre medias. Las diferencias que estén por encima de este umbral indicarán una diferencia de medias significativa y las diferencias que estén por debajo indicarán una diferencia no significativa. Es decir, que los paquetes estadísticos calculan este valor de LSD y a partir de él, calculan todas las diferencias de medias posibles y valoran cuáles están por encima y cuáles están por debajo de este umbral **(González, 2010)**

Capítulo III

Este test brinda la posibilidad de determinar que perfiles de liberación de los distintos complejos son similares y cuales son diferentes.



CAPITULO IV

OBTENCION Y CARACTERIZACION DE MATERIALES

1. Introducción

Un fármaco no puede considerarse un sistema terapéutico hasta que se formula en una forma farmacéutica. Este proceso implica conocer las características fisicoquímicas del principio activo, y de este con diferentes materiales utilizados como aditivos o excipientes (*estudios de preformulación*) que son necesarios también para elegir y diseñar una formulación adecuada y optima (*estudios de formulación*). Además, hay que conocer propiedades derivadas que tienen influencia directa en la optimización de la formulación, como propiedades de flujo y cinética de liberación del fármaco. Estos estudios son fundamentales en los sistemas de liberación en los cuales uno de los principales componentes son los polímeros hidrofílicos

Con la finalidad de ampliar y complementar los estudios de los materiales (CB-Cip) Na, obtenidos en anteriores trabajos (**Vilches y col., 2002; Jimenez Kairuz, 2004; Bermudez, 2008**), en este capítulo se desarrollan y discuten los siguientes resultados:

- La obtención de Cip a partir de su sal y determinación de su punto de fusión.
- La caracterización de los complejos (CB-Cip)₅₀ Na_x, en estado sólido mediante análisis térmico.
- La determinación de la proporción de Cip (mg de Cip/mg de complejo) y la homogeneidad de su distribución en los materiales en estado sólido (uniformidad de contenido).
- La evaluación del pH y su correlación con la proporción de Na⁺ en los mismos a partir de la redispersión en agua de los diferentes complejos.
- La evaluación de las propiedades reológicas (modulo G' y G'') y de disolución *in vitro*, a partir de los complejos parcialmente hidratados con proporciones determinadas de distintos medios de relevancia fisiológica.

Capítulo IV

- El análisis estadístico de los datos obtenidos, adicionando para la etapa de disolución test de ANOVA y LSD.

4.2 Determinación del punto de fusión de la Cip

Las propiedades de las sustancias son aquellas características mediante las cuales las podemos identificar. Generalmente, las propiedades se clasifican en: *físicas*, que son aquellas que se observan sin que haya un cambio en la composición de la sustancia y, *químicas*, que solo son observables cuando la sustancia experimenta un cambio químico. Dentro de las propiedades físicas se encuentra el punto de fusión que, además de permitir identificar una sustancia, también puede establecer su grado de pureza analizando si éste se corresponde con lo indicado en literatura (**Fuster Ortigosa, 1986**).

Según bibliografía, la temperatura de fusión de Cip es (265-268)°C, seguida inmediatamente por la descomposición de la molécula (**Manzo y col., 1994**). Los valores obtenidos en este trabajo de tesis mediante la técnica [M 2] se muestran en la **Tabla 4.1**

Tabla 4.1: Puntos de fusión de Cip

MEDICIONES	INTERVALOS DEL P.F
1era	[263 - 268]°C
2da	[264 - 269]°C
3era	[263 - 268]°C

Estos resultados fueron confirmados, como se muestra más adelante en la **Figura 4.1**, mediante análisis térmico por DSC. Se observó que la endoterma de fusión de la Cip presentaba las siguientes características, el fármaco inicia su fusión a 271 °C (*onset point*) y funde completamente a 273,6 °C (*máximo de temperatura*), esto fue seguido por una señal

Capítulo IV

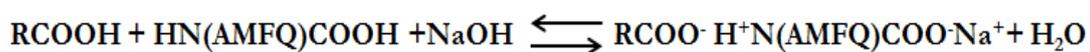
exotérmica inmediatamente cuando se continuó con la rampa de calentamiento (273,6 – 277) °C. Las propiedades de fusión observadas son evidencia de la cristalinidad de la Cip obtenida como base libre, como así también el estrecho intervalo de fusión es reflejo del aceptable grado de pureza del fármaco.

La pequeña diferencia entre los valores obtenidos con las distintas técnicas posiblemente se debió, a que en DSC se utilizó una rampa de 10°C/min y en el fusiómetro 1°C/min

4.3 Obtención del material sólido (CB-Cip)₅₀Na_x

La obtención del complejo se basa en la siguiente reacción de neutralización del grupo carboxílico del CB y el grupo amino de la Cip, representados en la **Ecuación 4.1** como RCOOH y HN(AMFQ)COOH, respectivamente:

Los complejos (CB-Cip)₅₀Na_x fueron obtenidos según la metodología descrita en [M3].



Ecuación 4.1

4.4 Determinación del pH de los complejos

Con la finalidad de evaluar cambios de pH en dispersiones acuosas de los complejos con diferentes contenidos de sodio, se procedió según la metodología descrita en [M4]. Los resultados se presentan en la **Tabla 4.2**.

Capítulo IV

Tabla 4.2: Variación del pH de las dispersiones acuosas de los complejos con distintas proporciones de Na⁺

Complejos (CB-Cip) ₅₀						
	Na ₅	Na ₁₀	Na ₁₂	Na ₁₄	Na ₁₆	Na ₂₀
pH	6,54±0,03	6,77±0,07	6,83±0,05	6,71±0,09	6,85±0,02	7,10±0,18

Debe observarse que el aumento de contenido de sodio produjo pequeños incrementos de pH de [6,54 - 7,10] debido a la capacidad buffer de los sistemas PE-F, tal como lo describe **(Vilchez y col. 2002)**. Este pequeño incremento se asocia posiblemente a una mayor proporción de grupos carboxílicos disociados de CB y Cip neutralizados por Na⁺.

4.5 Caracterización mediante análisis térmico

Los métodos térmicos pueden ser extremadamente útiles en el área de farmacia durante el desarrollo de un medicamento. En los estudios de preformulación pueden usarse para indicar la existencia de una posible interacción fármaco-excipientes en una formulación prototipo. Son también valiosos en la caracterización e identificación de compuestos, determinación de pureza, polimorfismo, contenido de humedad y estabilidad. **(Brittain y Mac Cauley., 1995)**.

Para obtener información sobre la interacción química entre el PE y el F seleccionados, los termogramas de cambio de energía (DSC) y cambio de peso (TGA) fueron obtenidos de acuerdo a la metodología general **[M 5]**. Se realizaron estudios comparativos de comportamientos térmicos sometidos a idénticas condiciones tanto los materiales (CB-Cip)₅₀ Na_x, sus materiales de partida puros como la mezcla física de estos en igual composición en que se prepararon los complejos. En general las propiedades térmicas

Capítulo IV

de una mezcla física equivalen a la suma de los componentes individuales (Wells, 2002). Razón por la cual se pueden comparar estos termogramas con la de los complejos

Para el análisis de los resultados, se evalúa por DSC la presencia o ausencia de la endoterma de fusión de Cip, característica de los sólidos cristalinos, en los perfiles de DSC de cada complejo con distintas proporciones de Na^+ . Esta señal, en el caso de estar presente, indica que el fármaco no está asociado al complejo.

La **Figura 4.1** muestra un gráfico comparativo de algunos de los termogramas, el resto son similares a los presentados, correspondientes a los complejos $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$, CB y Cip libre. Ahí se observan resultados contundentes, que confirman la ausencia de F libre y que Cip está interaccionando totalmente con CB al no presentar estos materiales la endoterma de fusión de Cip.

Este comportamiento fue observado en todos los complejos $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$ en estado de sólido particulado, cargado con un fármaco básico.

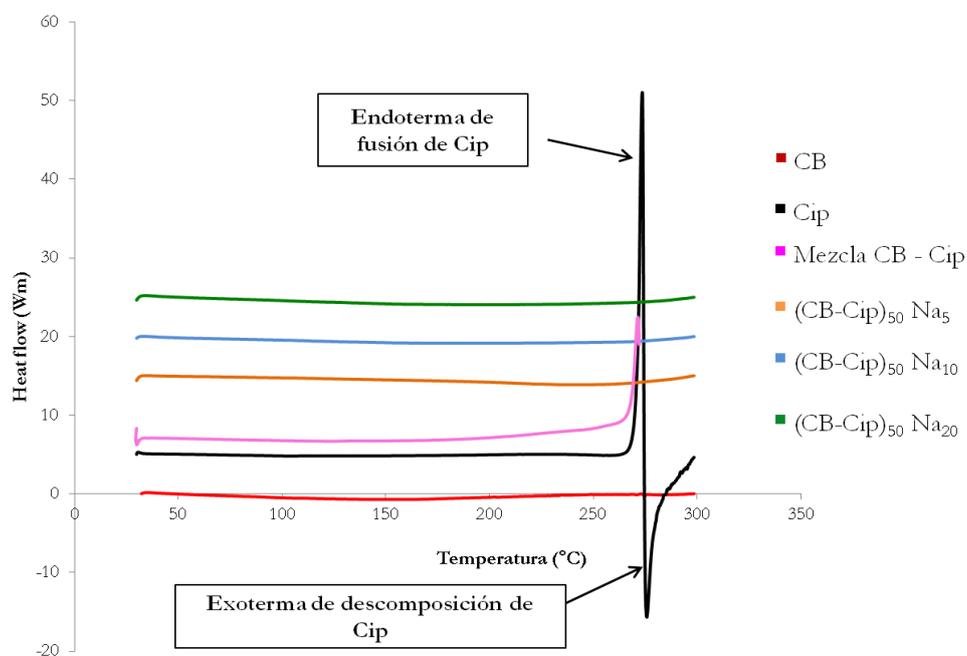


Figura 4.1: Perfiles de DSC correspondiente a los complejos $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$, CB, Cip libre y Mezcla física CB-Cip

Capítulo IV

Este comportamiento también fue confirmado por TGA (solo se muestra uno de los complejos, el resto son muy similares) **Figura 4.2**. Considerando las temperaturas a partir de las cuales descomponen los distintos materiales (T_d), la pérdida de peso correspondiente a la descomposición del Cip (273 °C) y de la mezcla física, CB-Cip (215 °C) no fue observada en los complejos, sugiriendo que todo el fármaco se une a CB. La menor temperatura de descomposición de la mezcla física observada, pueden relacionarse a la dilución de la masa del fármaco cuando se mezcla con el PE y al efecto de impurezas que ejercen el PE sobre el F solo, **Tabla 4.3**.

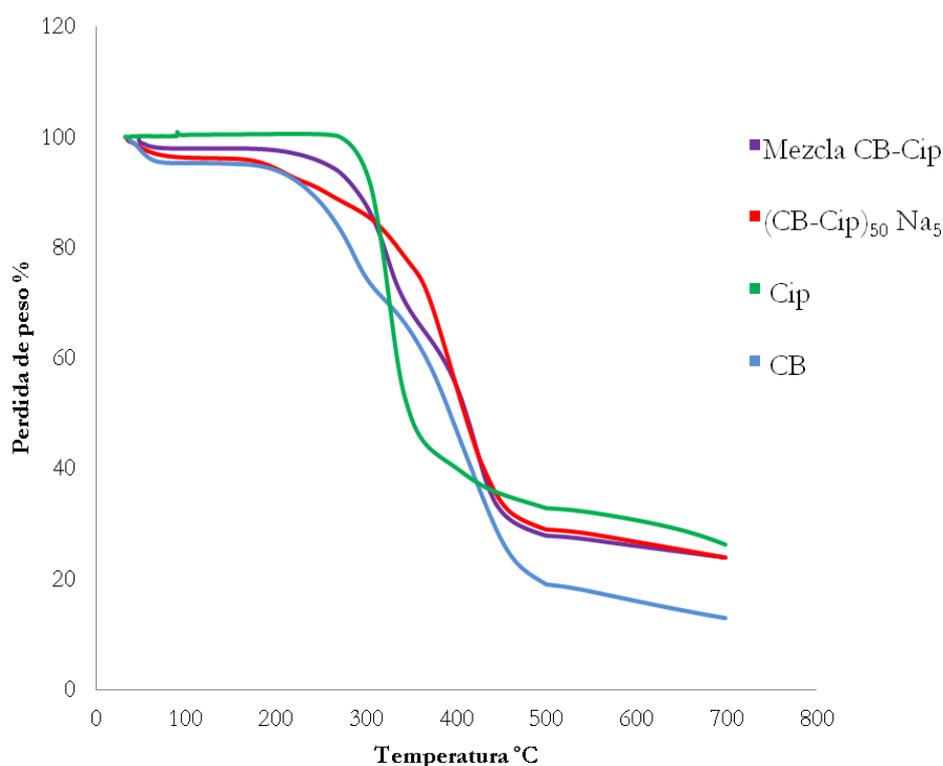


Figura 4.2: Perfiles de TGA correspondiente a los complejos $(CB-Cip)_{50} Na_5$, mezcla física CB-Cip, Cip y CB

Complementariamente, con el análisis de los termogramas de TGA, se pudieron definir las temperaturas de descomposición de los distintos materiales obtenidos **Tabla 4.3**, tomadas en este caso como aquellas correspondientes al máximo de inflexión de cada curva ($T_{d_{max}}$). Se pudo observar que las temperaturas a las cuales descomponen los complejos son

Capítulo IV

mayores que CB y Cip, aumentando a medida que aumenta el ion Na^+ . Mediante este análisis podemos afirmar que la estabilidad del fármaco no se vio sensiblemente comprometida por la interacción de este con el PE.

Carbomer presenta dos puntos de inflexión reportados como $T_{d_{\max} 1}$ (286 °C) y $T_{d_{\max} 2}$ (417,5 °C) similares a la mezcla física, donde $T_{d_{\max} 1}$ (326 °C) y $T_{d_{\max} 2}$ (423,5 °C), en concordancia a lo expuesto por Wells.

Tabla 4.3 : Eventos térmicos obtenidos por TGA

MATERIALES	AGUA (%)	T_{D_i}	$T_{D_{\max} 1}$ (° C)	$T_{D_{\max} 2}$ (°C)
SÓLIDOS				
Cip	0	273	325,5	
CB	4,61	217	286	417,5
Mezcla física CB-Cip	2,05	215	326	423,5
$(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_5$	3,63	186	393	
$(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_{10}$	4,8	193	397	
$(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_{12}$	5,07	198	400	
$(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_{14}$	5,28	200	402	
$(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_{20}$	5,22	203	403	

Adicionalmente, para TGA se evaluó el contenido de agua en el material sólido que pudo ser tomada del ambiente en condiciones normales de almacenamiento o remanente del proceso de secado, calculando a partir del termograma el % de pérdida de peso hasta 100 °C. En la **Tabla 4.3** se informa el porcentaje de agua de los complejos, cuyos valores se encontraron entre 3,63 y 5,22. Estos indican que en general, los $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$, son

Capítulo IV

materiales con bajo contenido de agua y poco higroscópicos, constituyendo una propiedad interesante que favorece la estabilidad, procesamiento y almacenamiento de los mismos.

4.6 Determinación por UV-Vis. Curva de calibrado de Cip en Buffer fosfato pH=6.8

La curva de calibrado es un método utilizado en analítica para determinar la concentración de una sustancia (analito) en una muestra desconocida, por ejemplo en una disolución. Implica la construcción de una curva que es la representación gráfica de una señal que se mide en función de la concentración de un analito (**Hernandez & Gonzales, 2002**).

Se obtiene como resultado, una recta representada por la ecuación, $A=a C + b$, donde "a" es la absorptividad, como ya se mencionó en el capítulo III. Para realizar la curva de calibrado, concentración molar de Cip vs. absorbancia se procedió según la técnica descrita en [M 6].

El método analítico empleado para la determinación fue la espectrofotometría (UV-Vis.), técnica que ha ganado aplicación en el campo farmacéutico porque se puede cuantificar un PA utilizando un análisis sencillo (**Perez Lopez, 2014**).

La finalidad en esta etapa de trabajo de tesis fue realizar curvas de calibrado para establecer el valor de absorptividad de Cip ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) en buffer fosfato pH 6,8 y en agua, a la longitud de onda de máxima absorción de Cip ($\lambda = 276,9 \text{ nm}$) (**Bermudez, 2008**) para ser posteriormente utilizado en los cálculos de los perfiles de disolución.

Como el Cip es una molécula zwitteriónica que tiene capacidad de generar diferentes especies según el medio en el que esté disuelto, se construyó una curva de calibrado en agua **Figura 4.3** y otra en buffer fosfato pH=6,8 **Figura 4.4**, como medios de disolución, con la finalidad de comprobar si las absorptividades obtenidas en cada caso eran

Capítulo IV

iguales o diferentes. Como se muestra, las absorbancias de Cip obtenidas para esos medios, fueron prácticamente iguales, $37.402 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ para buffer fosfato y $37.773 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ para agua. En estas figuras se puede corroborar el intervalo lineal de respuesta de Cip dentro de las concentraciones molares ensayadas y para los siguientes ensayos se consideró el valor de absorbividad de Cip en agua.

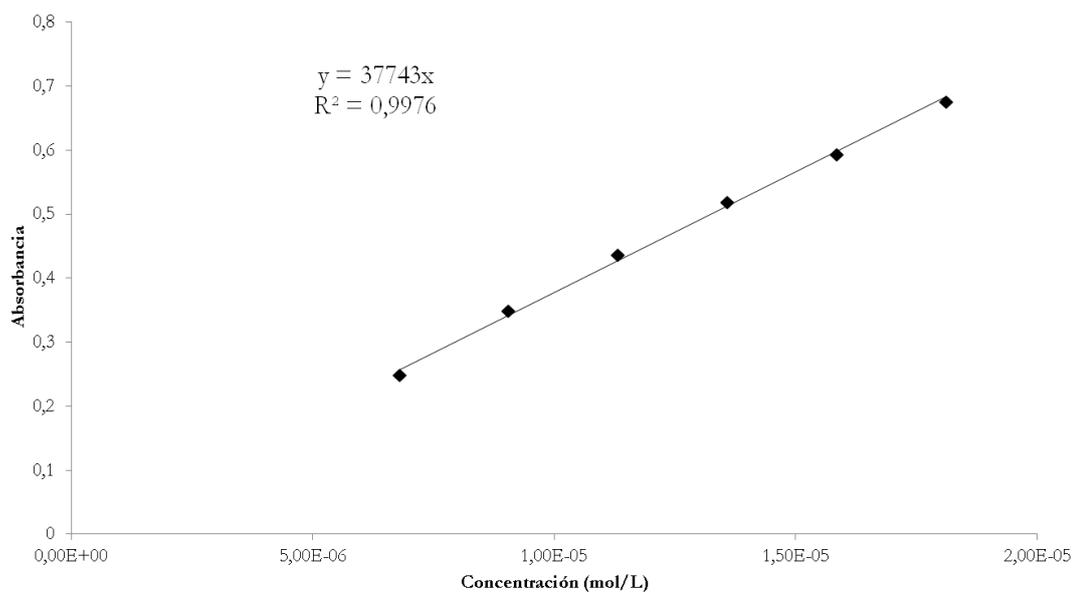


Figura 4.3 : Curva de calibrado de Cip en agua

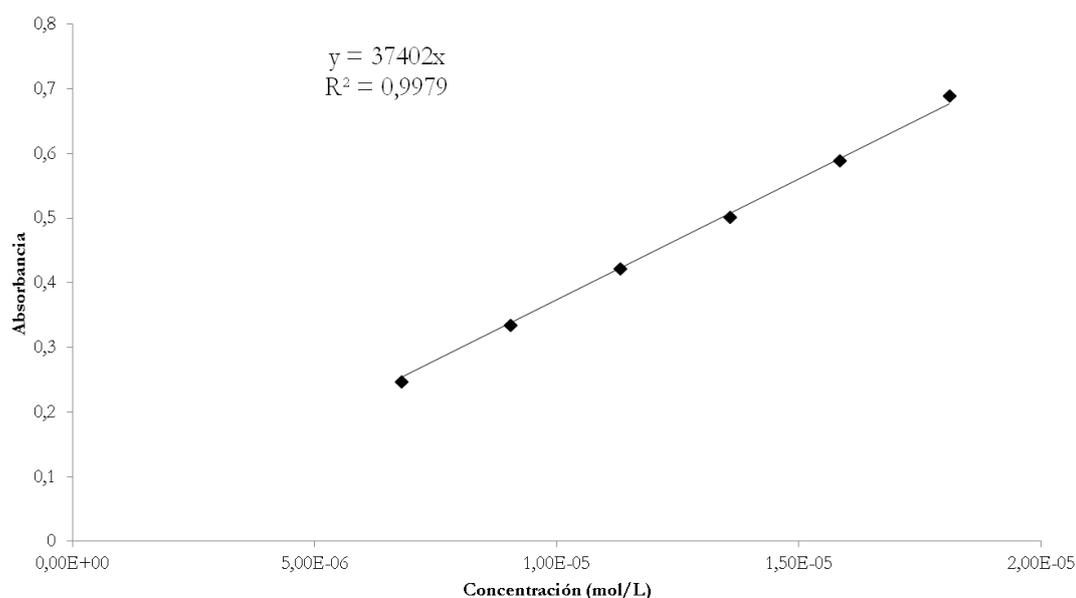


Figura 4.4: Curva de calibrado de Cip en buffer fosfato pH 6,8

Capítulo IV

4.7 Cuantificación de Cip y su distribución en los complejos

La cuantificación y distribución de Cip en los complejos fueron determinadas mediante la aplicación de la técnica [M 6].

Entre los ensayos de comprobación de la calidad de productos farmacéuticos, la prueba de uniformidad de contenido nos permite determinar el grado de uniformidad en el contenido del fármaco entre las distintas unidades o en una masa de producto sólido (por ejemplo, portador+fármaco) obtenido mediante algún proceso farmacotécnico determinado. Con el cumplimiento de esta prueba se garantiza la uniformidad del lote en cuanto a su contenido de fármaco. Esta técnica se aplica, entre otras, a las formas farmacéuticas sólidas orales, con el fin de medir el grado de variabilidad en el proceso de manufactura de un medicamento, utilizando métodos válidos de análisis para garantizar la eficacia, seguridad y homogeneidad (Lavaut & Rodriguez, 2009).

Si bien, en los complejos particulados no hay nada establecido en cuanto a la uniformidad de contenido de Cip, este procedimiento se llevó a cabo para determinar la cantidad promedio de Cip (mg/ mg complejo) y verificar que su distribución en las muestras era homogénea. Este último parámetro se evaluó según la Farmacopea Nacional Argentina (FA), donde el promedio del contenido de Cip debe estar acompañado de una desviación relativa estándar (DER) menor o igual al 6%.

En la **Tabla 4.4** se detallan los resultados obtenidos para la uniformidad de contenido y la cantidad promedio de Cip, correspondientes a cada complejo. A partir de estos, es claro que los complejos contienen una elevada proporción de Cip $\geq 70\%$, lo que refleja una aceptable capacidad de carga de los sistemas portadores basados en polímeros poliacrílicos como Carbomer. Esta alta proporción de fármaco tiene una importancia adicional para el Cip que, al tratarse de un antibiótico cuyas dosis por la vía peroral oscilan entre 250 y 1000 mg/toma, requiere una alta proporción de cargado para garantizar la

Capítulo IV

posibilidad de formular los complejos en adecuadas formas farmacéuticas sólidas para esta vía de administración.

Tabla 4.4: Datos de uniformidad de contenido y cantidad promedio de Cip (mg/mg complejo) en los complejos para n=6. Especificaciones: DER ≤ 6%

MUESTRAS	$\overline{\text{CIP}}(\text{MG/MG})$	DER
(CB-Cip) ₅₀ Na ₅	0,73	4,20%
(CB-Cip) ₅₀ Na ₁₀	0,745	1,77%
(CB-Cip) ₅₀ Na ₁₂	0,767	0,65%
(CB-Cip) ₅₀ Na ₁₄	0,718	1,35%
(CB-Cip) ₅₀ Na ₁₆	0,759	0,28%
(CB-Cip) ₅₀ Na ₂₀	0,733	4,14%

Respecto a la uniformidad de contenido, se observa que los valores de DER se encuentran dentro del rango [0,28 - 4,2] %, siempre menor al 6 % que establece la Farmacopea Argentina como límite de aceptación, lo cual nos permite inferir que la distribución de Cip en los complejos es aceptablemente homogénea.

4.8 Estudios reológicos de los complejos (CB-Cip)₅₀ Na_x

La caracterización reológica de los complejos hidratados, a diferentes concentraciones p/p en AD, BF, SF, fue realizada con un reómetro AR-G2 de TA Instruments **Figura 4.5 a y b** equipado con platos paralelos de 25 mm de diámetro, utilizando barridos de frecuencia de pequeña amplitud [0,1-100] rad/s, a 3 temperaturas predefinidas: 25, 32 y 37 °C. Las temperaturas de 32 y 37 °C fueron alcanzadas trabajando bajo atmósfera de N₂.

Capítulo IV

Para evitar la deshidratación del material durante las mediciones, las muestras localizadas entre los platos fueron protegidas con una capa fina de silicona de baja viscosidad.

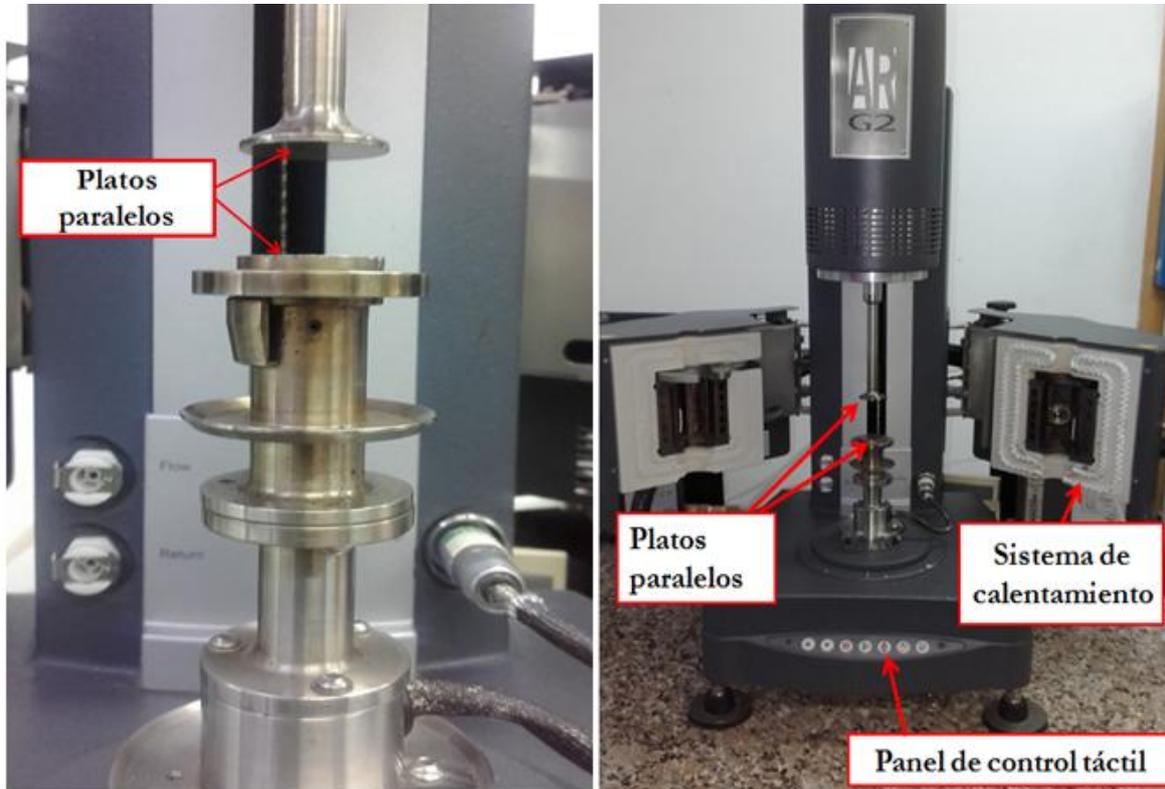


Figura 4.5: Reómetro vista completa (a). Geometría: platos paralelos (b)

En primera instancia, los complejos $(CB-Cip)_{50} Na_x$ (x : 5, 10, 12, 14, 16 y 20 % molar) fueron hidratados con los distintos medios según la técnica [M 7], antes de ser colocados en el reómetro.

Posteriormente, se determinó el rango de viscoelasticidad lineal. Para ello se trabajó en el reómetro realizando barridos sinusoidales (*strain sweep*) a una frecuencia constante de 10 rad/s, para medir G' (módulo elástico) y G'' (módulo viscoso) en función del % de deformación. Los resultados mostraron que hasta 2% de deformación los módulos G' y G'' tenían una variación poco significativa, por lo que se tomó el valor de 2% de

Capítulo IV

deformación en posteriores ensayos, para asegurar mediciones dentro del intervalo de viscoelasticidad lineal (Bird, 1987).

Una vez definido un valor de deformación, se determinaron las propiedades dinámicas G' y G'' en función de la frecuencia (ω), a deformación constante de 2 % en ensayos de barridos de frecuencia. A partir de los resultados de los distintos estudios de las muestras hidratadas de los complejos con distinto contenido del contraión Na^+ , en los diferentes medios (AD, BF y SF) y a temperaturas de 25, 32 y 37 °C se realizaron gráficos comparativos siguiendo las siguientes pautas:

a) **Variando la concentración de los complejos (% p/p)**. Los complejos conteniendo sodio fueron hidratados, a diferentes proporciones p/p utilizando: 1) SF, conteniendo entre 17 y 30 % p/p de material sólido, 2) BF pH=6.8, a concentraciones entre 15 y 25 % p/p y 3) AD, entre 15 y 25 % p/p de sólido. Como ya se mencionó al describir la técnica [M 7], las proporciones de medios utilizados para la hidratación de los complejos sólidos fueron las adecuadas para obtener muestras con la consistencia necesaria para ser usadas en el reómetro.

Debido a que el comportamiento es similar a los otros medios y temperaturas estudiadas, aquí solo se presentan los resultados en AD a 25° C. El gráfico de la **Figura 4.6** es representativo del comportamiento general de todas las muestras en los distintos medios y temperaturas antes mencionadas. Los resultados de las restantes experiencias se muestran en el ANEXO A.1.

Es de destacar que de la caracterización reológica realizada mediante barridos de frecuencia de los complejos conteniendo distintas proporciones molares de Na^+ , se observó que el módulo elástico, G' , aumenta a medida que aumenta el % p/p de las muestras.

Capítulo IV

En una primera aproximación, podríamos decir que el espectro dinámico del material refleja que estamos trabajando con un material que presenta un comportamiento característico de un gel reticulado debido a la meseta que se observa en los resultados de G' a frecuencia bajas. Si bien no es posible determinar el tipo de reticulación, esta estructura puede limitar la movilidad relativa de las cadenas poliméricas en la red (Lubrizol, 2007). Es sabido que el CB presenta cierto grado de entrecruzamiento con alilazucars que, junto con el grado de ionización producido por contraiones con cargas positivas, son los responsables de la mayor estructuración de CB en dispersiones acuosas o hidroalcohólicas. Es de esperar que el Cip cuando está formando pares iónicos con el CB también tenga un aporte sobre esta estructuración general de los geles de CB.

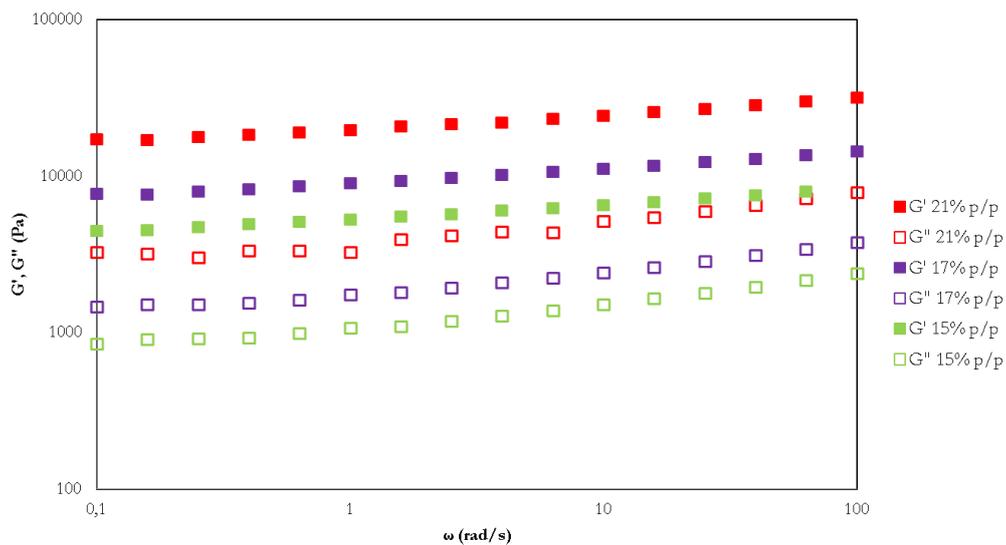


Figura 4.6: Módulo elástico (G') y módulo de pérdida (G'') en función de la frecuencia de deformación (ω), (CB-Cip)₅₀ Na₂₀ a diferentes % p/p en AD a 25°C

Por otra parte, luego del proceso de preparación de los geles, se observó cualitativamente el efecto de la fracción de la fase dispersa en los distintos medios. Los geles donde la fase sólida era mayor, presentaban mayor consistencia y una estructura más rígida que aquellas con menor fracción de fase dispersa, las cuales tenían una consistencia más fluida.

b) **Variando el % molar de Na⁺ en los complejos.** Se graficaron los módulos G' y G'' en función de la frecuencia, para las muestras de complejos con Na⁺, con la misma concentración, 21% p/p **Figura 4.7.**

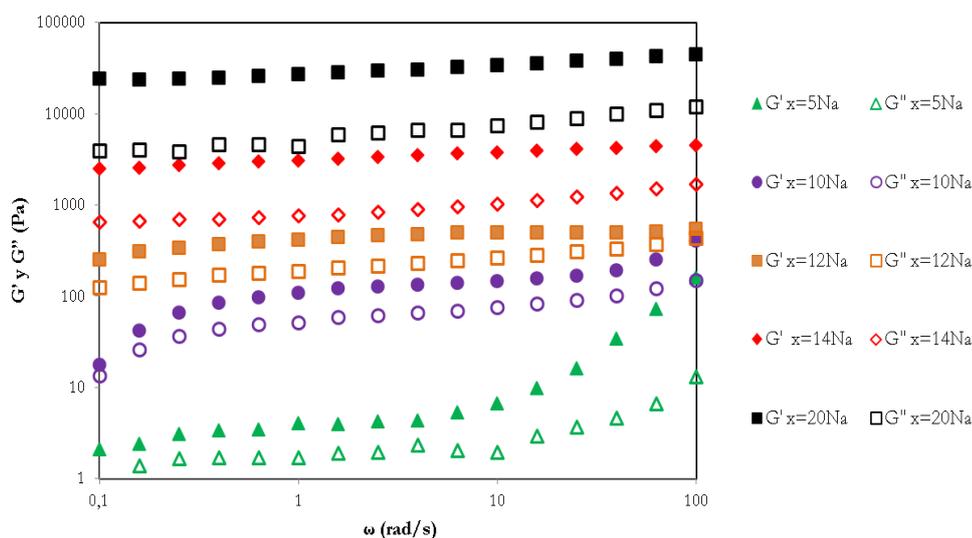


Figura 4.7: Modulo elástico (G') y módulo de pérdida (G'') en función de la frecuencia de deformación (ω), (CB-Cip)₅₀ Na_x al 21% p/p en BF a 32°C.

En este punto, es posible observar que los complejos conteniendo una proporción molar de Na⁺ ≥ 12 % presentan un módulo elástico, G', que tiende a una meseta en la zona de bajas frecuencias y una leve tendencia creciente con la frecuencia a valores intermedios y altos del espectro dinámico.

Con respecto a los complejos con 10 % molar de Na⁺, su disminución con el descenso a bajas frecuencias, indica que las fuerzas de interacción de las moléculas son más débiles que las que se encuentran presentes en los complejos de mayor proporción molar de sodio.

En el caso de los complejos con 5 % molar de Na⁺ también se pone de manifiesto una interacción molecular aún menor en su estructura. Al ser el complejo con menor

Capítulo IV

proporción de Na^+ , es evidente el rol que cumple éste de actuar como ligante entre las macromoléculas lo cual se traduce en una menor capacidad para formar un gel.

Al comparar G' y G'' a 37°C se observa un comportamiento similar, pero se superponen las curvas de G' y G'' con distintas proporciones molares de Na^+ (ANEXO, **Figura 3.a**).

Cabe destacar que los valores de G' siempre son mayores que G'' , las curvas se van haciendo más planas, tipo meseta, y G'' toma mayor distancia de G' , indicando la tendencia del material para comportarse como gel a medida que aumenta la proporción molar de Na^+ (**Lugo Espinosa, 2014**).

Como los valores de G' son más representativos para evaluar la densidad de las fuerzas de interacción entre moléculas como consecuencia de la presencia de la mayor o menor concentración de sodio, solo se muestran los valores de G' en los siguientes análisis.

Análisis de G' de los complejos, en AD Y BF a 37°C

Si bien los estudios de las muestras se efectuaron a las tres temperaturas, aquí se presentan los resultados obtenidos de G' en AD, **Figura 4.8**, y BF, **Figura 4.9**, a 37°C por ser esta la temperatura corporal de nuestro organismo.

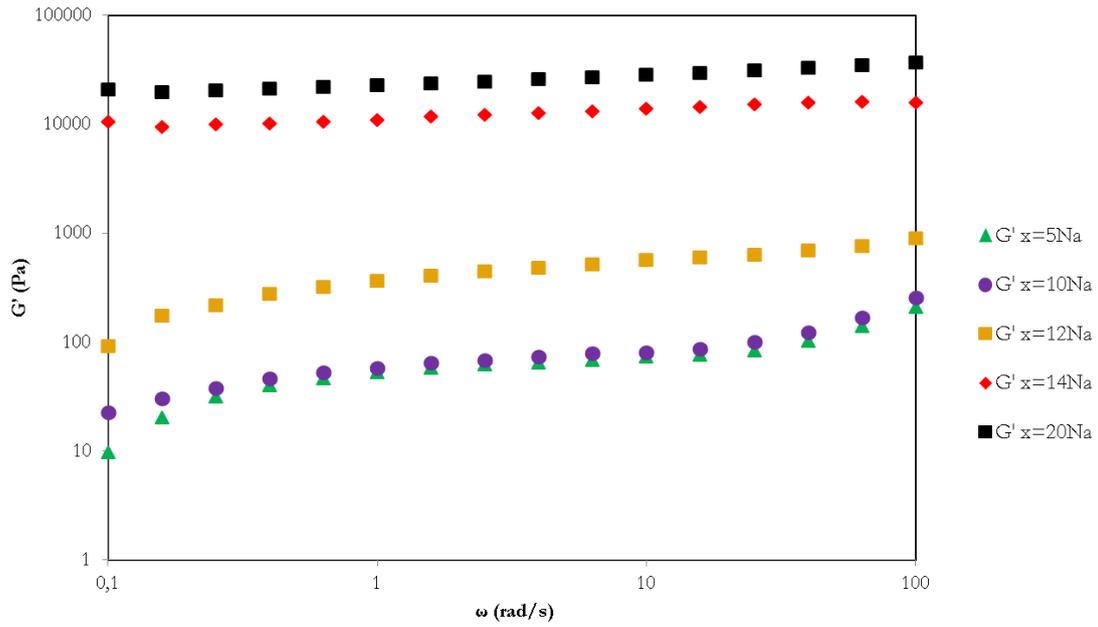


Figura 4.8: Módulo elástico (G') en función de la frecuencia de deformación (ω), $(CB-Cip)_{50} Na_x$ al 21% p/p en AD a 37 °C.

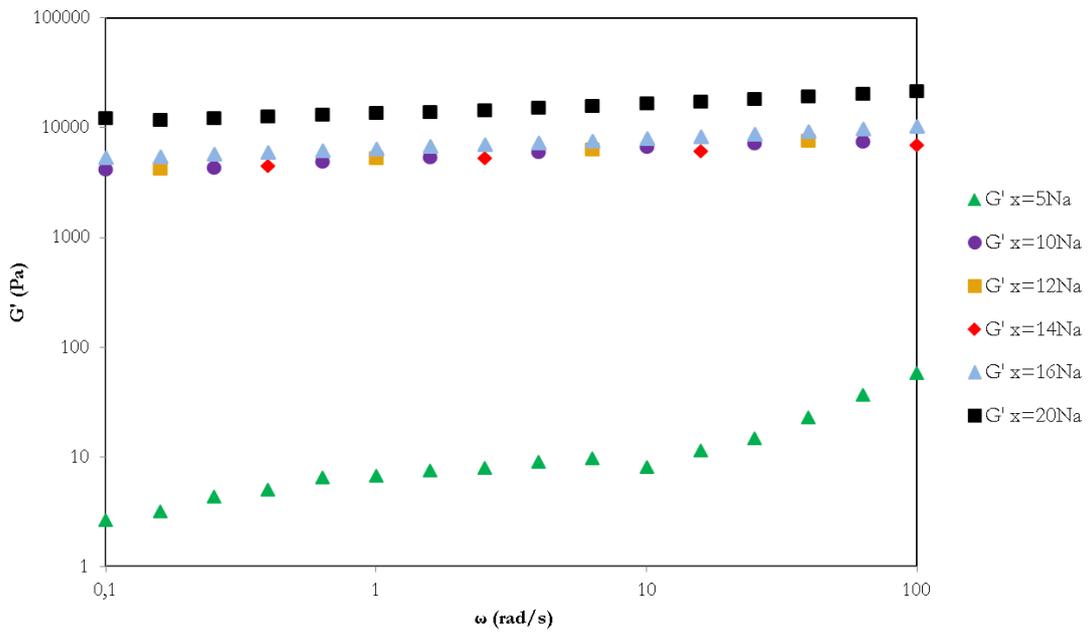


Figura 4.9: Módulo elástico (G') en función de la frecuencia de deformación (ω), $(CB-Cip)_{50} Na_x$ al 21% p/p en BF a 37 °C.

Capítulo IV

De esta caracterización reológica, es posible inferir que en AD, a medida que aumenta la proporción de Na^+ en los complejos, los módulos G' aumentan. A concentraciones de Na^+ superiores al 12 % los complejos presentan un comportamiento tipo gel. Cuando se utiliza BF a 37°C como medio mojante el comportamiento tipo gel está presente a partir de concentraciones de Na^+ del 10 %. Se observa que los módulos elásticos en 10, 12 y 14 % Na son muy similares.

A 37°C en AD, los complejos presentan el mismo comportamiento que a 32°C y 25°C (ANEXO, **Figuras 2.a y b**)), donde la estructura de gel se pone de manifiesto en una proporción molar de $\text{Na}^+ \geq 12\%$ y los complejos con 5 y 10 % molar de Na^+ presentan módulos G' con valores muy bajos y prácticamente iguales, lo que indica bajas interacciones moleculares. Esto no fue observado en BF a 37°C , donde estructuras elásticas se presentaron a proporciones molares de $\text{Na}^+ \geq 10\%$ en los complejos.

Los complejos con distinto contenido de sodio a diferentes temperaturas y con una concentración del 21% p/p de sólido con SF, no pudieron ser evaluarlos en su totalidad, ya que no presentaban la consistencia necesaria para ser ensayados en el reómetro.

En todos los medios y temperaturas antes mencionados, se repite el mismo comportamiento para G' y G'' (ANEXO, **Figura 3.b, c y d**) destacando nuevamente la excepción del comportamiento de los complejos en BF a 37°C (ANEXO, **Figura 3.a**)

A partir de estos gráficos fue posible obtener un valor de G' a una frecuencia representativa, ya que los complejos muestran un comportamiento general similar, donde G' permanece prácticamente constante en un rango de frecuencia intermedio. Se tomó como valor de referencia para el análisis el módulo elástico a una frecuencia de 1 rad/s. A partir de estos valores de G' fue posible continuar analizando la posible correlación entre los parámetros cinéticos y reológicos de los complejos.

Capítulo IV

Variación de G' a un 1 rad/s en función del % Na^+ de los complejos.

Los valores de los módulos G' a 1 rad/s, en AD y BF a 37°C de los complejos con diferentes contenidos de Na^+ , obtenidos de la caracterización anterior, se presentan en la **Figura 4.10**, la cual muestra con mayor claridad los cambios de las estructuras de estos materiales al utilizar medios de hidratación y proporciones molares de sodio diferentes.

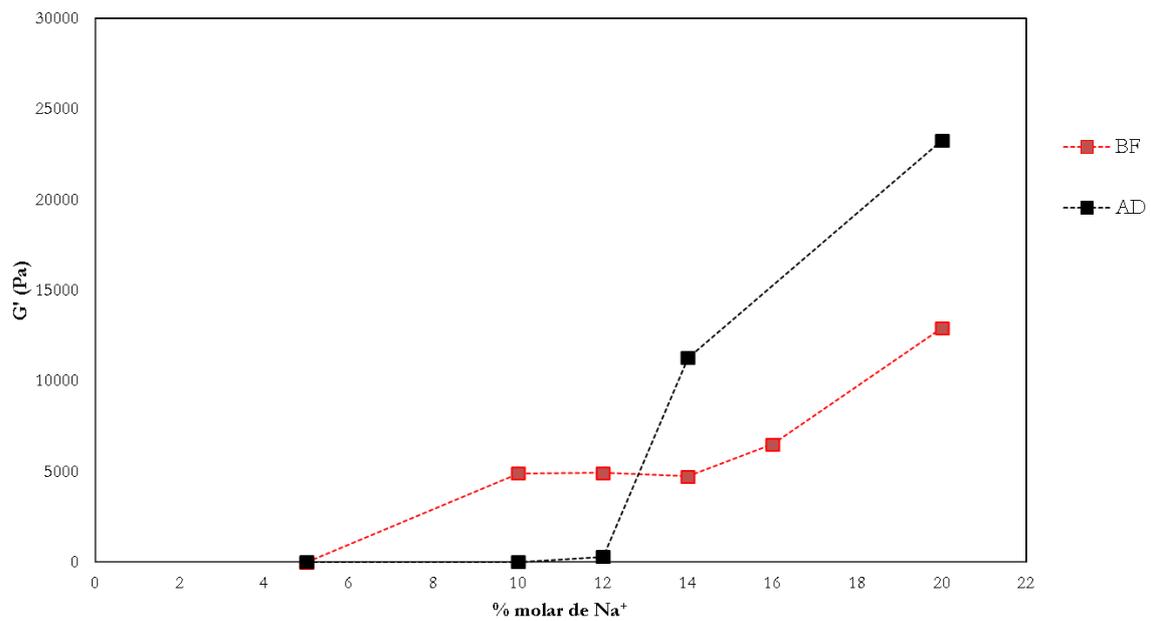


Figura 4.10: Módulo elástico (G') vs. % molar de Na^+ , de los complejos (CB-Cip)50 Na_x , en BF y AD A 37°C y 21% p/p

La visualización de los intervalos de cambio de G' en ambos medios permite corroborar que cuando se utiliza BF como medio de hidratación a 37°C, este tiene mayor capacidad de formar estructuras gelificadas que el AD bajo las mismas condiciones de trabajo. Además es posible inferir que:

- En AD se evidencia un cambio brusco de pendiente en G' en un intervalo de 12 a 14 % de Na . Esto también se presentó a 25 y 32 °C, **Figura 4.11 y**

4.12

Capítulo IV

- En BF se dan dos cambios puntuales, uno en 10 y otro en 14 % de Na^+ , comportamiento que no fue observado en BF a 32 °C, **Figura 4.13**.

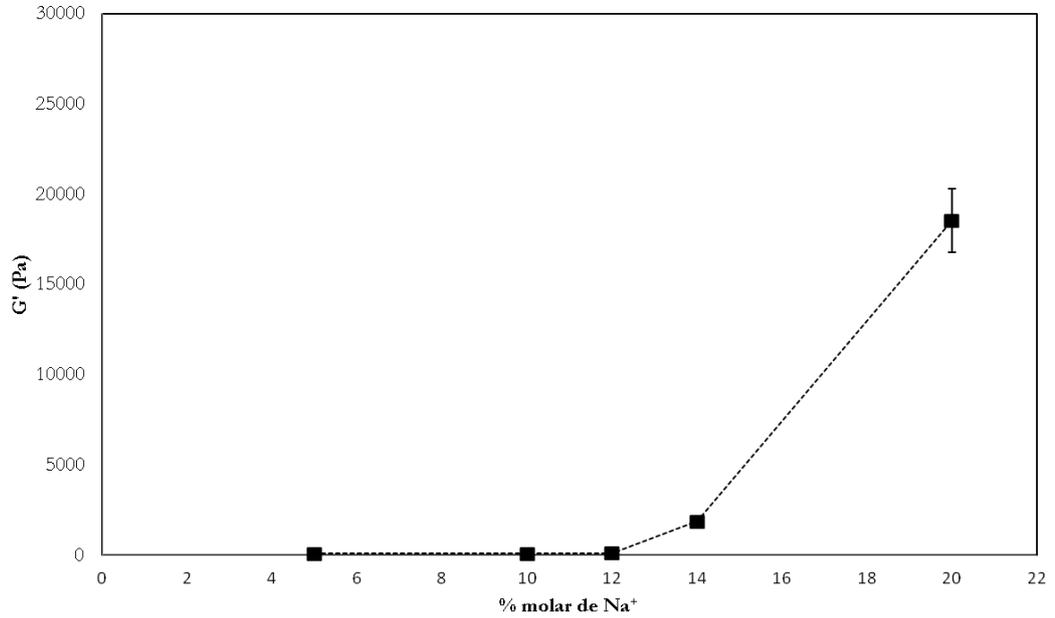


Figura 4.11: Módulo elástico (G') vs. % molar de Na^+ , de los complejos $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$, en AD a 25°C y 21% p/p

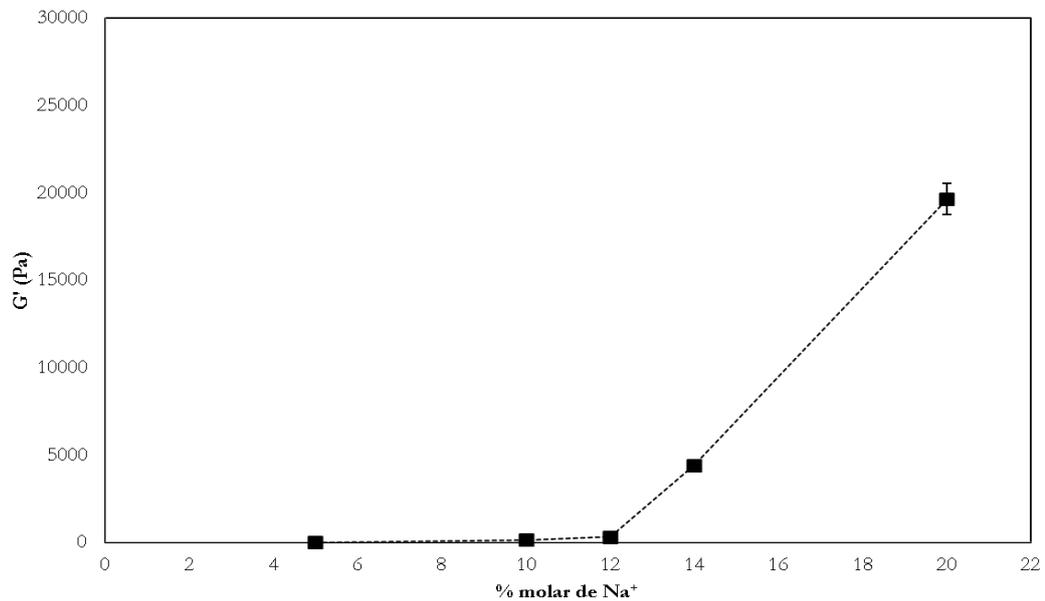


Figura 4.12: Módulo elástico (G') vs. % molar de Na^+ , de los complejos $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$, en AD a 32°C y 21% p/p

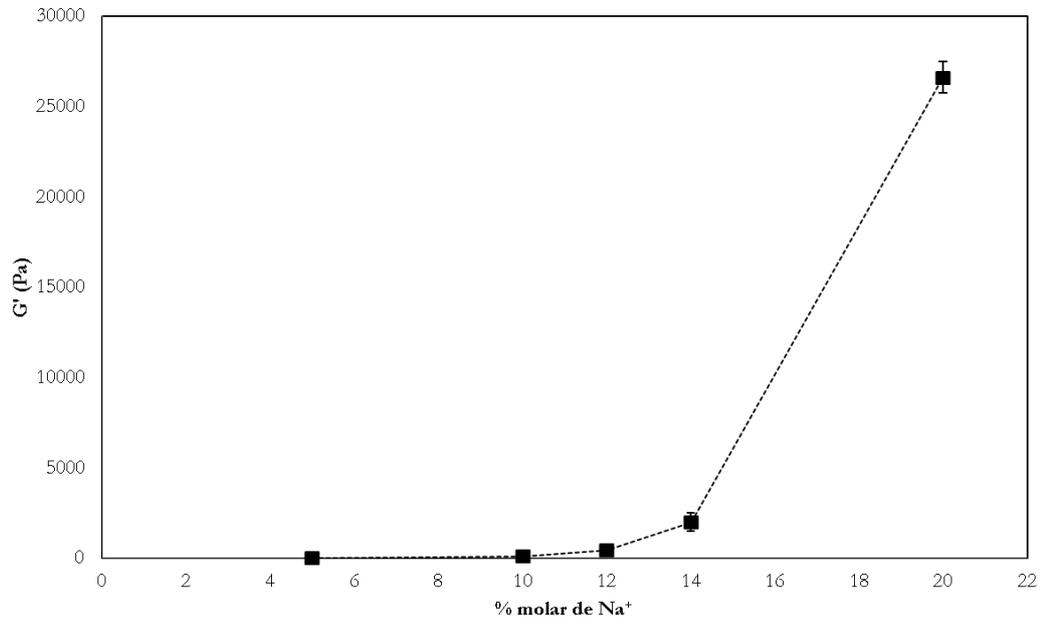


Figura 4.13: Módulo elástico (G') vs. % molar de Na^+ , de los complejos $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$, en BF a 32°C y 21% p/p

En BF a 25°C no fue posible obtener datos debido a la falta de reproducibilidad de algunos datos.

4.9 Perfiles de liberación de los complejos (CB-Cip)

El objetivo de diseñar un sistema terapéutico está dirigido a que éste sea seguro confiable y eficaz, como ya se mencionó en el capítulo I. Uno de los mecanismos del cual se vale la tecnología farmacéutica es la de modular la liberación en un sitio determinado y a una velocidad determinada con el objetivo que esto sea el paso limitante en la disponibilidad del fármaco en el organismo.

El interés es creciente en este tema, es por esto que se estudia la aplicación de polielectrolitos ácidos como portadores de fármacos ionizable de carga opuesta en el ámbito farmacéutico. Existen informes detallados del proceso de liberación tanto de formulaciones matriciales (Bermúdez, 2008; Jimenez-Kairuz y col., 2005; Bonferoni y

Capítulo IV

col., 1993) como en estado de hidrogel (Jimenez-Kairuz y col., 2002; Esteban y col., 2009). Sin embargo, estudios específicos sobre la correlación entre propiedades de liberación desde un polielectrolito ácido (CB) como portador de Cip, aún no han sido estudiadas y no se ha encontrado bibliografía que se focalice en este tipo de estudios. Por este motivo, se realizaron estudios de liberación de los complejos particulados e hidratados (21 % p/p de sólido con buffer fosfato, pH=6,8), en las mismas condiciones en que se efectuaron las pruebas en el reómetro, según indica la técnica [M 8].

Los datos obtenidos son el resultado de varias pruebas, donde se trabajó utilizando diferentes metodologías y equipos que permitan simular las condiciones de las muestras en los ensayos de reología: primero se utilizó un disolutor de uso manual, luego celdas de Frank y finalmente un disolutor automático. Las condiciones operativas también se fueron ajustando, como: el recipiente en que se introdujo la muestra hidratada, el peso de los complejos y la velocidad de rotación de las paletas (datos no mostrados). Los resultados más reproducibles se pudieron lograr mediante el uso del equipo de disolución con muestreador automático.

En la **Figura 4.14**, se muestran los resultados obtenidos de los perfiles de disolución de Cip desde los diferentes complejos con proporciones crecientes de contraión Na^+ . Se puede observar que la proporción de Na^+ condiciona drásticamente la forma y magnitud de la liberación de Cip desde el material particulado e hidratado, también observado por Bermudez (2008) para matrices. Generalizando, los complejos con menor proporción de Na^+ liberan mayor porcentaje de Cip en comparación a igual tiempo de transcurrido el ensayo, presentándose un intervalo de proporción molar de Na^+ (entre 10 y 16 %) donde los perfiles de liberación son muy similares.

Capítulo IV

En base a los resultados obtenidos, es que se decide seguir con los estudios de Eficiencia de disolución (ED) y Factor de similitud (f_2), según [M 9] Ecuación 3.2 y 3.3 respectivamente.

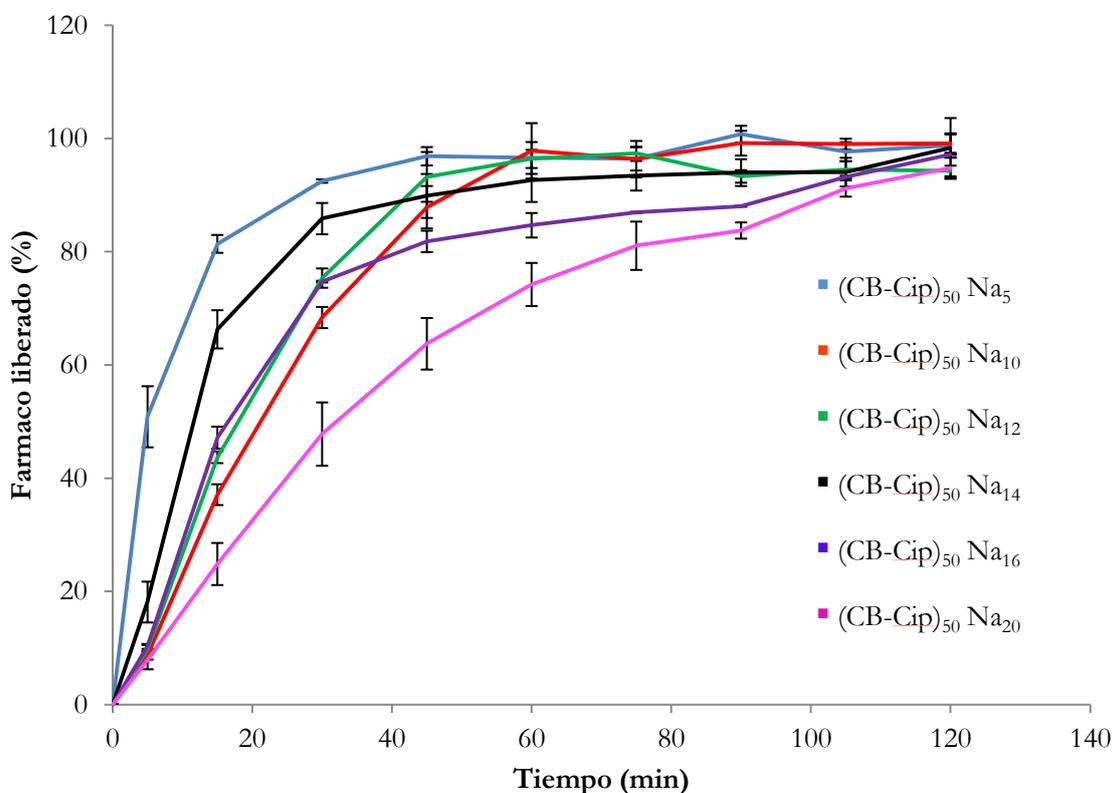


Figura 4.14: Liberación de Cip desde (CB-Cip)₅₀Na_x (50 mg de partículas hidratadas al 21%p/p) a 25 rpm en BF, pH=6.8.

Al utilizar el test f_2 para comparar los perfiles de liberación correspondientes a cada complejo, dieron resultados poco reproducibles que no nos permitieron emitir una conclusión.

Con la finalidad de hacer un examen más profundo en cuanto a la comparación de los perfiles de disolución de los complejos, se calcularon las ED para cada caso, por triplicado mostrados en la **Tabla 4.5**.

En base a estos datos obtenidos de ED se realizaron estudios estadísticos. (CB-Cip)₅₀Na_x

Capítulo IV

Tabla 4.5: Datos de ED de los complejos $(\text{CB-Cip})_{50}\text{Na}_x$

COMPLEJOS	ED 1	ED 2	ED 3	$\overline{\text{ED}}$
$(\text{CB-Cip})_{50}\text{Na}_{20}$	61,00	64,73	66,96	64,23
$(\text{CB-Cip})_{50}\text{Na}_{16}$	76,10	75,48	74,39	75,32
$(\text{CB-Cip})_{50}\text{Na}_{14}$	81,26	83,74	80,56	81,85
$(\text{CB-Cip})_{50}\text{Na}_{12}$	80,56	78,61	80,34	79,83
$(\text{CB-Cip})_{50}\text{Na}_{10}$	81,47	79,28	76,82	79,20
$(\text{CB-Cip})_{50}\text{Na}_5$	89,48	91,56	90,32	90,45

4.10 Resultados estadísticos de los datos experimentales de ED

Según lo expuesto en [M 9] los resultados obtenidos de ED se trataron estadísticamente aplicando ANOVA y LSD para comparar los perfiles de disolución de los complejos según muestra la **Tabla 4.6**.

Como ya se mencionó en el capítulo III la tabla ANOVA descompone la varianza de ED en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro del grupo. La relación F, que en este caso es igual a 65,686, es una relación entre la estimación *entre grupos* y la estimación *dentro del grupo*. Dado que el valor P de la prueba F es menor que 0,01, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la ED media de un nivel de % molar de Na^+ a otra, con un nivel de confianza del 99,0%. Para determinar qué medias son significativamente diferentes de las otras, se utilizó la prueba de rango múltiple, LSD (Least significant difference).

Capítulo IV

Tabla 4.6: Análisis de varianza de ED en el método de buffer fosfato pH=6.8

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Cuadrado de la media	F	P
Entre	1110,084	5	222,017	65,686	0,000
Dentro	40,560	12	3,380		
Total	1150,644	17			

Los resultados obtenidos en LSD se describen en la **Tabla 4.7**.

Tabla 4.7: Comparación de medias de ED según LSD

ORDEN	1	2	3	4	5	6
Tratamiento	20 %Na	16 %Na	14 %Na	12 %Na	10 %Na	5 %Na
Medias	64,23	75,32	81,85	79,83	79,20	90,45
Resultados LSD	A	B	C	C	C	D

En esta tabla se ha colocado una letra debajo de cada media, las letras iguales (C) indican tres grupos homogéneos dentro de los cuales no hay diferencias estadísticamente significativas. Las letras diferentes (A, B y D) indican que estas medias muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95.0%, es decir, existe un riesgo del 5,0 % de llamar a las medias significativamente diferente cuando la diferencia real es igual a 0.

Capítulo IV

Como ya se mencionó anteriormente la ED permite caracterizar la liberación del fármaco y como consecuencia poder considerarlo un parámetro que nos permite comparar perfiles de liberación.

En base a los resultados obtenidos mediante estos estudios estadísticos podemos decir, que los complejos con 10, 12 y 14 % Na^+ presentan perfiles de liberación similares entre sí y distintos a los complejos con 5, 16 y 20 % Na^+ . Asimismo, estos tres últimos complejos presentan perfiles de liberación diferentes entre sí.

4.11 Correlación entre el parámetro reológico G' y ED

Como parte final del análisis de los resultados se efectuó una correlación entre los datos experimentales del parámetro reológico, modulo elástico G' , y de la eficiencia de disolución, ED. Esto fue motivado por la necesidad de saber si se podía relacionar el comportamiento de la estructura del material de los complejos con su capacidad de liberar un fármaco.

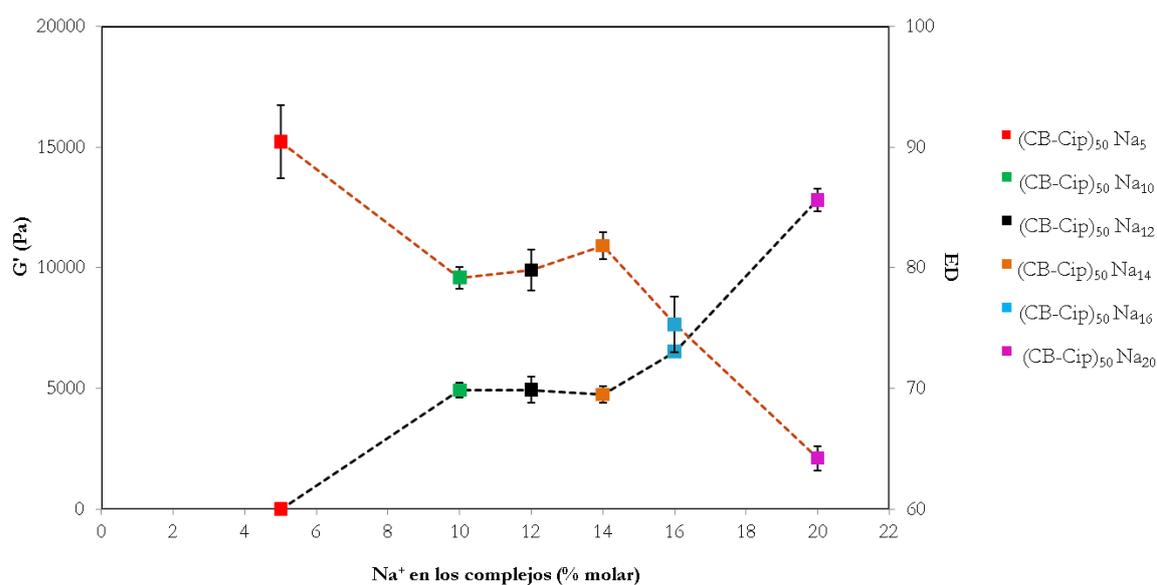


Figura 4.15: ---- G' (módulo elástico), - - - ED(eficiencia de disolución) en BF a 37°C , 21% p/p.

Capítulo IV

Según se muestra en la **Figura 4.15** el complejo con menor proporción de Na^+ (5 %) presentó mayor ED y menor modulo G' ; esto indicaría que su estructura, al presentar menor concentración de interacciones moleculares, tiene mayor capacidad de liberar el fármaco en igualdad de tiempos de disolución que el resto de los complejos.

Los complejos conteniendo 10, 12 y 14 % de Na^+ presentan valores de G' y ED estadísticamente similares. Es decir, la estructura de los materiales que los conforman tiene igualdad de comportamiento, correlacionándose con su forma de liberar el fármaco.

A medida que aumenta la proporción de Na^+ por encima del 14 %, en los complejos que contienen 16 y 20 % del contraión inorgánico los valores de G' aumentan y las correspondientes ED disminuyen.

La mayor incorporación de Na^+ , como ya se indicó anteriormente, da a lugar a estructuras con comportamientos tipo gel con mayor capacidad de retener el fármaco que contienen constituyendo una limitante de la difusión de este hacia el medio de disolución.



CAPITULO V

CONCLUSIONES GENERALES

Capítulo V

El trabajo de investigación realizado en el marco de la presente Tesis permitió elaborar las siguientes conclusiones generales:

a) La preparación y caracterización de los materiales particulados PE-F, utilizando CB como polielectrolito portador y Cip como modelo de fármaco con capacidad de generar cargas positivas, dio origen a complejos iónicos amorfos, los cuales pueden ser obtenidos a escala piloto o productiva mediante técnicas farmacotécnicas sencillas y comúnmente utilizadas en el sector productivo de bienes y servicios. La incorporación de Na^+ (como hidróxido de sodio en solución acuosa), genera una amplia variedad de productos con características físico-mecánicas, químicas y de liberación que incrementa la potencialidad de uso de estos materiales para la formulación de medicamentos innovadores.

b) Los estudios reológicos, en el intervalo de viscoelasticidad lineal, de los complejos CB-Cip-Na rehidratados en diversos fluidos acuosos y fisiológicos simulados a 25, 32 y 37 °C, revelaron que a determinadas concentraciones y contenidos de Na presentan un comportamiento típico de la estructura de un gel. Esto se incrementa tanto a medida que aumenta la concentración molar de Na^+ como con la concentración de los complejo en el medio de hidratación.

c) El ion Na^+ actúa como ligante en la estructura de los distintos complejos hidratados, aumentando la interacción de las moléculas a medida que su proporción aumenta y modificando la velocidad de liberación de Cip en buffer fosfato pH= 6,8

d) Los complejos mostraron menor afinidad por agua destilada para formar estructuras elásticas, comparadas con buffer fosfato en un rango de 5 a 12 % Na^+ .

e) Los perfiles de liberación desde los complejos (CB-Cip-Na) con 10, 12 y 14 % Na^+ , de concentración 21 % p/p de sólido con buffer fosfato pH= 6,8 y utilizando como medio de disolución buffer fosfato pH= 6,8 a 37 °C son estadísticamente similares. En los

Capítulo V

complejos conteniendo 5, 16 y 20 % de Na^+ , los mecanismos de liberación cambian, reflejándose un comportamiento inverso entre proporción de Na^+ y la velocidad de liberación de Cip.

e) El análisis comparativo de los resultados de los estudios reológicos realizados en el intervalo de viscoelasticidad lineal junto con aquellos obtenidos en los estudios de liberación permitió obtener una correlación entre la liberación del Cip y propiedades dinámicas del material particulado rehidratado con buffer fosfato. En general, se obtuvieron evidencias de que ante un aumento de G' , la velocidad de liberación de Cip desde los complejos disminuye proporcionalmente y similares valores de G' resultaron en similares velocidades de liberación de Cip.

f) La reología da información de la estructura del material particulado e hidratado y, en determinadas condiciones de trabajo, es posible establecer una correlación con la liberación del fármaco, esto confirma lo expuesto por **Bonferoni y col., 1992**.

g) Predecir el comportamiento de liberación de un fármaco sobre la base de las propiedades reológicas de poliméricos hidrofílicos sería de una utilidad obvia para un diseño de formulación más racional. Sin embargo, tal enfoque sería posible si se tiene presentes los límites de su aplicación debido a que las condiciones de trabajo deben estar bien definidos.

De las conclusiones obtenidas en esta tesis, se plantea el reto de completar en futuros trabajos el comportamiento de disolución del material en los otros medios seleccionados como agua destilada y solución fisiológica y determinar si existe en general una relación biunívoca entre los perfiles de liberación y las propiedades reológicas para estos materiales que no pudieron ser determinadas por limitaciones de tiempo.

Planteado esto, y teniendo en cuenta los resultados obtenidos, este trabajo de tesis brinda un aporte importante al conocimiento, no solo porque no se dispone de estudios

Capítulo V

sistemáticos que se focalicen en dilucidar específicamente este tipo de relación entre la estructura dinámica y las propiedades de liberación, sino también al diseño racional de formulaciones farmacéuticas.

NOMENCLATURA

Símbolo	Significado
a	Absortividad
A	Absorbancia
ABC	Area Bajo la Curva
AMFQs	Antimicrobianos Fluoroquinolónicos
ATC	Anatomical, Therapeutic, Chemical classification system
ANOVA	Análisis de varianza
AD	Agua Destilada
BF	Buffer Fosfato
C	Concentración
CAS	Chemical Abstracts Service
CB	Carbomer
Cip	Ciprofloxacino
CM _{Entre}	Fuente de Variación entre
CM _{Error}	Fuente de Variación dentro
DCI	Denominación Común Internacional
DER	Desviación Relativa Estándar
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido
ED	Eficiencia de Disolución
F	Fármaco
f ₂	Factor de similitud
FA	Farmacopea Argentina 7ed.
FDA	Food and Drug Administration
ff	Forma Farmacéutica
G'	Modulo elástico o de almacenamiento
G''	Modulo viscoso o de pérdida
H ₀	Hipótesis nula
H ₁	Hipótesis alternativa
Hz	Hercio
LSD	Least Significant Difference
MHH	Matrices Hidrofílicas Hinchables
MHPF	Matrices Hinchables Polielectrolito Fármaco
P	Probabilidad
Pa	Pascal

Nomenclatura

Símbolo	Significado
PA	Principio activo
PE	Polielectrolito
PE-F	Complejo Polielectrolito-Fármaco
p.f	Punto de fusión
PM	Peso Molecular
R ²	Coefficiente de determinación
SF	Solución Fisiológica
SLM	Sistema de Liberación Modificada
SP	Sistema particulado
SPF	Sistema Portador de Fármaco
T _{d_i}	Temperatura de descomposición inicial
T _{d_{max}}	Temperatura máxima de descomposición
TG	Termogravimetría
TGA	Análisis Termogravimétrico
TGI	Tracto Gastrointestinal
UV-vis	Ultravioleta visible
α	Valor de significancia
ω	Frecuencia
λ	Longitud de onda
μ	media de una variable

BIBLIOGRAFIA

-A-

Aho, J., Boetker, J.P., Baldursdottir, S. & Rantanen, J. (2015). *Rheology as a tool for evaluation of melt processability of innovative dosage forms*. International Journal of Pharmaceutics; 494: 623-642.

Alos, J.I. (2009). *Quinolonas*. Enfermedades Infecciosas, Microbiología Clínica, 27 (5): 290–297.

Ardusso, M.S., Manzo, R.H. & Jimenez-Kairuz, A.F. (2010). Comparative study of three structurally related acid polyelectrolytes as carriers of basic drugs: carbomer, eudragit L100 and S-100. Supramolecular Chemistry. 5: 289-296.

-B-

Barbosa e Fonseca, M.S. (2015). *Sistemas multiparticulados sólidos para a administração oral de fármacos*. Trabajo do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Universidade Fernando Pessoa Faculdade de Ciências da Saúde, Porto.

Barnes, H.A. *Handbook of Elementary Rheology*. (2000). Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics. University of Wales Aberystwyth.

Barry, A.L., Jones, R.N., Thomsberry, C., Ayers, L.W. & Gerlach, E.H. Sommers, H.M. (1984). *Antibacterial activities of ciprofloxacin, norfloxacin, oxolonic acid, cinoxacin and nalidixic acid*. *Antimicrob. Agents. Chemother*, 25: 633-637.

Battistini, F.D. (2015). *Desarrollo de complejos polielectrolito-fármaco y su utilización en el diseño de sistemas de liberación modificada*. Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Bibliografía

Bettini, R., Colombo, P., Massimo, G., Catellani, P.L. & Vitali, T., (1994). *Swelling and drug release in hydrogel matrices: polymer viscosity and matrix porosity effects*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2: 213-219.

Bermudez, M. J. (2008). *Desarrollo de nuevos sistemas de liberación modificada de fármacos utilizando matrices hidrofílicas polielectrolito- fármaco.* Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas. Facultad de ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Bird, R.B. Armstrng, R.C. & O. Hassager,. (1987). "*Dynamics of Polymeric Liquids*". Fluid Mechanics (2da ed.), 1 (pp. 672). N. York: J. Wiley and Sons, Inc.

Blondeau, J.M. (1999). *Expanded activity and utility of The new fluoroquinolones*. Review Clinical Therapeutics, 21: 3-40.

Bonferoni, M.C., Rossi, S., Ferrari, F., , Bettinetti, G.P. & Caramella, C. (2000) *Characterization of a diltiazem-lambda carrageenan complex.* International Journal of Pharmaceutics, 200 (2): 207-216.

Brittain, H.G. & Mac Cauley, J.A. (1995). *Thermal methods of analysis*. En: Brittain H.G (Ed.) Physical characteritacion of pharmaceutical solids (1ed.), 70 (pp. 223-253). Boca Raton: CRC Press.

Brown, H.P. (1957). US. Patent N° 2798053.

-e-

ClinCalc DrugStats Database. *The Top 200 of 2019* Disponible en: <https://clincalc.com/DrugStats/Top200Drugs.aspx> consultado el 20-2 2019.

Colombo, P., Bettini, R., Massimo, G. & Peppas, N.A. (2000). *Swellable matrices for controlled drug delivery: ge-layer behavior, mechanisms and optimal perfomanc*. Pharmaceutical Science & Technology Today, 3 (6): 198-204.

Bibliografia

Costa, P. & Sousa Lobo, J. M. (2000). *Modeling and comparison of dissolution profiles*. European Journal of Pharmaceutical Sciences 13 (2001): 123-133.

Council of Europe. (2005). *European Pharmacopoeia*. Strasbourg : Council of Europe (Ed)(5 ed.).

Couto, A. G., Ortega, G. & Petrovick, P. R. (2000). *Granulação*. Caderno de Farmacia, 16 (1): 13-20.

Cromelin, D.J.S. & Florence, A.T. (2013). *Towards more effective advanced drug delivery systems..* International Journal of Pharmaceutics, 454 (1): 496-511.

-D-

Dan, H., Yang, Z. & Chou, K.C. (2013) *Interactions of Polyelectrolytes with Water and Ions at Air/Water Interfaces Studied by Phase-Sensitive Sum Frequency Generation Vibrational Spectroscopy*. Journal of Physical Chemistry, 117: 15698-15703.

Daraiswamy, D. (2002). *The Origins of Rheology: A Short Historical Excursion*. Rheological Bulletin 71: 1-9

Déo, S. C. (2009). *Desenvolvimento de Sistema Multiparticulado Contendo Péletes de Mesalazina Revestidos com Derivado Metacrílico*. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas Paraná. Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

-E-

Ensign, L.M., Cone, R. & Hanes, J. (2012). *Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: The gastrointestinal mucus barriers*. Advanced Drug Delivery Reviews, 64 (6): 557-570.

Eboka, C.J. & Okeri H.A. (2005). *Aqueous solubility of ciprofloxacin in the presence of metal cations*. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 4: 349-354.

Bibliografía

Esteban, S.L., Manzo, R.H. & Alovero, F.L. (2009). *Azithromycin loaded on hydrogels of carbomer: Chemical stability and delivery properties*. International Journal of Pharmaceutics, 366: 53-57.

Everett, H.D. (1988). *Some important properties of colloids III Rheology*. En: Basic Principles of Colloid Science (1 ed.)(pp. 110-116). Londres: Royal Society of Chemistry

-7-

FA7. *Farmacopea Argentina. 7ma ed., Vol. I.* (2003). Ministerio de Salud de la Nación. Imprenta de la Nación. Buenos Aires.

Falla, J. (2012) *Análisis de Varianza..* Disponible en: <http://www.ucipfg.com/Repositorio/MGAP/MGAP-05/BLOQUEACADEMICO/Unidad-2/complementarias/analisis de varianza 2012.pdf> consultado el 02-12-2018.

Fallati, C. S., Ahumada, A.A. & Manzo, R. H. (1994). *El perfil de solubilidad de la ciprofloxacina en función del ph..* Acta Farmacéutica Bonaerense, 13 (2): 73-7.

Ferrari, P.C. (2011). *Sistemas multiparticulados revestidos para liberación colónica de metronidazol.* Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

Franco-Ospina, L. A., Matiz-Melo, G. E. & Indira, B. B. (2012). *Estudio biofarmacéutico comparativo de marcas comerciales de tabletas de ciprofloxacino disponibles en el mercado colombiano.* Revista de salud pública. 14 (4): 695-709.

Food and Drug Administration (FDA). *Pruebas de disolución de formas de dosificación oral solidas de liberación inmediata.* Disponible en: <https://www.fda.gov/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm200707.htm> consultado el 23-02-2019.

Bibliografía

Fuentes Martínez F. (1994). *Estudios "in vitro" e "in vivo" de diversos parámetros farmacodinámicos de meropenem y ciprofloxacina con S. aureus, E coli y P. aeruginosa.* Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Biológicas. Facultad Complutense de Madrid.

Fuster Ortigosa, A.A. (1986). *Determinación del punto de fusión.* En: Práctica de química general. (95). Murcia: Universidad de Murcia.

-9-

Gandhi, B. & Baheti, J. (2013). *Multiparticulates Drug Delivery Systems: A Review.* International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences, 2: 7.

García Quesada, J.C. (2008). *Viscoelasticidad Lineal.* Universidad de Alicante. Departamento de Ingeniería Química. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10045/3624>. Consultado el 13-01-2019.

González, E.W. (2010). *¿Después de un análisis de variancia...qué? ejemplos en ciencia de alimentos.* Agronomía Mesoamericana 21(2): 349-356.

Guzmán, M.L., Manzo, R.H. & Olivera, M.E. (2012). *Eudragit E 100 as a carrier of drugs. The remarkable affinity of phosphate ester group for the dimethylamine groups.* Molecular Pharmaceutics, 49 (9): 2424-33.

-7-

Hadi, M. A., Raghavendra, N. G. & Srinivasa, A. (2015). *Formulation and evaluation of mini-tablets-filled-pulsincap delivery of lornoxicam in the chronotherapeutic treatment of rheumatoid arthritis.* Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 28: 185-193.

Bibliografía

Hågerström, E. (2003). *Polymer Gels as Pharmaceutical Dosage Forms. Rheological Performance and Physicochemical Interactions at the Gel- Mucus Interface for Formulations Intended for Mucosal Drug Delivery*. Uppsala Acta Universitatis Uppsaliensis, (pp. 9-10).

Hernandez, L.H. & Gonzales, P.C. (2002). *Introducción a los métodos instrumentales de análisis*. En: *Introducción al Análisis Instrumental* (1 ed.) (pp. 21). Barcelona: Ariel S.A. Disponible en: <https://books.google.com.ar/books?isbn=8434480433> Consultado el 14-03-2018.

Hui, H.W. & Robinson, L.P. (1987). *Design and Fabrication of Oral Controlled Release Drug Delivery Systems*. En: Robinson, J., Lee, V.H.L. (Ed.). *Controlled Drug Delivery* (2 ed.) (pp. 373-421). Boca Raton: CRC Press.

Hooper, D.C. (1998). *Clinical applications of quinolones*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1400 (1-3): 45-61.

Hooper, D.C. & Strahilevitz J. (2015). *Quinolones*. En: Mandell, Douglas, and Bennett's (Ed.), *Principles and Practice of Infectious Diseases* (8 ed.), 1: 419-439.e8. Philadelphia: Elsevier Saunders.

-9-

Isaac, T. S. & Walker G.C. (2011). *Signature of hydrophobic hydration in a single polymer*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108 (40): 16527-16532.

-9-

Jimenez-Kairuz, A.F., Allemnadi, D.A., Manzo, R.H. (2002). *Mechanism of Lidocaine Release From Carbomer-Lidocaine Hydrogels*. *International Journal of Pharmaceutics*, 91 (1): 267-72.

Bibliografía

Jimenez-kairuz, A.F., Allemandi, D.A. & Manzo, R.H. (2003). *Equilibrium properties and mechanism of kinetic release of metoclopramide from carbomer hydrogels.* International Journals of pharmaceutics, 250: 129-136.

Jimenez-Kairuz, A.F. (2004) *Investigación y desarrollo de nuevos materiales con utilidad en tecnología farmacéutica para el diseño de sistemas terapéuticos.* Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas. Facultad de ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Jiménez-Kairuz, A.F., Llabot, J.M., Allemandi, D.A. & Manzo, R.H. (2005). *Swellable drug-polyelectrolyte matrices (SDPM). Characterization and delivery properties.* International Journals of Pharmaceutics, 288: 87-99.

-K-

Katayoun, W.B., Neeleissen, J.A.M. & Bergenstahl, B. (2001). *The effect of rheological behaviour of a topical anesthetics formulation on the release and permeation rates of the active.* European Journal of Pharmaceutical Sciences, 13 (3): 309-318.

Kaur, G. & Verma, N. (2015). *Nature curing cancer – review on structural modification studies with natural active compounds having anti-tumor efficiency.* Biotechnology Reports, 6: 64-78

Knockaert, M., Manigart, S., Cattoir, S. & Verstraete, W. A. (2015). *Perspective on the economic valorization of gene manipulated biotechnology: Past and future.* Biotechnology Reports, 6: 56-60.

-L-

Lankalapalli, S. & Kolapalli, V.R.M. (2009) *Polyelectrolyte Complexes..* Review Article: Applicability in Drug Delivery Technology. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 71(5): 481-487.

Bibliografía

Lavaut, M. & Rodríguez J. (2009). *Validación del método de determinación de uniformidad de contenido en tabletas de dipirona de 300mg en el Laboratorio Farmacéutico Oriente.* Revista Cubana de Química, 21(2): 66-69. Disponible en: https://issuu.com/pamelaaguilar43/docs/valoracion_dipirona consultado el 19-03-2018

Leshner, G. Y., Froelich E. J., Gruett MD, Bailey JH. & Brundage RP. (1962). *1,8-Naphthyridine derivatives: a new class of chemotherapeutic agents.* Journal of Medicinal Chemistry; 5: 1063-65.

Lopez, C.M., Lobo, J.M.S., Costa, P. & Pinto, J.F. (2006). *Directly compressed mini matrix tablets containing ibuprofen preparation and evaluation of sustained release.* Drugs development and industrial pharmacy, 32: 95-106.

Lopez Gesa, M.P., Ortiz, R., Perello, L., Latorre, J., Liu, Gonzales M., García Granada, S., Perez Priede, M. & Canton, E. (2002). *Interactions of metal ions with two quinolone antimicrobial agents (cinoxacin and ciprofloxacin): Spectroscopic and X-ray structural characterization. Antibacterial studies.* Journal of inorganic biochemistry, 92 (1): 65-64.

Lubrizol Corporation. (2011). *Polymer for pharmaceutical application. Carbopol.* Bulletin 1: 1-9. Cleveland.

Lubrizol Life Science. *Productos de Polímeros Carbopol.* Disponible en: <https://espanol.lubrizol.com/Life-Sciences/Products/Carbopol-Polymer-Products> consultado el 20-05-2018.

Lubrizol Corporation. (2007). *Molecular Weight of Carbopol®* and Pemulen®* Polymers.* Technical Data Sheet. Cleveland, Ohio

Lugo Espinoza A.K. (2014). *“Caracterización reológica de geles de liberación modificada y su cuantificación en suero”.* Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de estudios superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de Méjico

Bibliografía

Lyklema, H. & Vliet, T.V. (2005). *Rheology*. En: Lyklema J. (Ed.), *Fundamentals of Interface and Colloid Science: Particulate colloids*, (1 ed.), 4 (pp. 6-1-6-88). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier

- LL -

Llabot, J.M., Manzo, R.H. & Allemandi, D.A. (2002). Double-layered mucoadhesive tablets containing nystatin. *AAPS Pharmaceutical. Science Technology*, 3 (3) art. 22.

- M -

Machain, V.A (2013). *Desarrollo de sistemas poliméricos para liberación controlada de Doxorubicina: elección de la matriz y ensayos de liberación..* Trabajo de tesis para la Licenciatura en Biotecnología y Biología Molecular. Universidad Nacional de la Plata.

Maluf, N., Bueno Camargo, F., Ignacio, F. R. & Ricci, G. . (2005). *Rheologic behavior of different hydrophilic gels*. *Revista Brasileira de Ciências Farmacéuticas*. 41(1):73-78.

Marin, M., Margarit, M. & Rosasco, M. (2007). *Physical characterization and dissolution properties of solid dispersions of the oxazepam with carbomer 934p*. *Ars. Pharmaceutical*, 48 (3): 311-322.

Martin, A. (1993) *Colloids*. En: *Physical Pharmacy*.(4 ed.)(pp. 406). Baltimore. USA: Williams & Wilkins.

Maroni, A., Zema, L., Cerea, M. & Sangalli, M.E. (2005). *Oral pulsatile drug delivery systems*. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2(5):855-871

Molina Arias, M. (2017). ¿Qué significa realmente el valor de p?. *Revista Pediátrica Atención Primaria*, 19 (76) Madrid. Disponible en:

Bibliografía

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322017000500014

consultado el 12-7-2018.

Mota, J. (2010). *Matrix - and Reservoir - Type Oral Multiparticulate Drug Delivery Systems*.

Tesis doctoral en Ciencias Naturales. Faculdade de Farmacia da Universidade de Berlim.

-N-

Nakanishi, T., Kahio F. & Hayashi M. (1998). *Improvement of drug release rate from*

Carbopol 934-P formulation. Chemical Pharmaceutical Bulletin, 46: 171-3.

Naveros, B.C. (2003). *Sistema de transporte y liberación de fármacos de aplicación tópica:*

liposomas multilamelares portadores de acetanilida de tramcinolona. Tesis doctoral en Farmacia. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.

Nobusa, A.L. (2010). *Desenvolvimento e avaliação de minicomprimidos de indapamida de*

liberação prolongada. Trabalho do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

-P-

Peláez, F. (2010). *Paradigmas actuales en las etapas tempranas del proceso de descubrimiento y*

desarrollo de nuevos fármacos. Anales de Química, 107 (1): 36-45.

Perez Guzman, M. R. (2013). *Estudio de bioequivalencia in vitro de dos formas*

farmacéuticas perorales multifuente de liberación inmediata con metformina como principio activo. Tesis de maestría en ciencias farmacéuticas. Departamento de farmacia. Universidad de Colombia.

Perez Lopez, E. (2014). *Análisis comparativo de la uniformidad de contenido en tabletas de*

sildenafil (50 mg/tab), de un producto genérico y el medicamento original. Revista Pensamiento Actual, 14 (23): 71-80. ISSN impreso: 1409-0112 / ISSN electrónico: 2215-3586.

Bibliografía

Piscis, P. & Apostolos, K. (2013). *Hydration Studies in Polymer Hydrogels*. The Journal of Polymer Science. Polymer Physics, 51 (3): 159-175.

-2-

Quinteros, D.A., Ramirez, R., Jimenez Kairuz, A., Olivera, M.E., Manzo, R.H. & Allemandi, D.A. (2008). *Interaction between a cationic polymethacrylate (Eudragit D100) and anionic drugs*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 331: 72-79.

Quinteros, D.A. (2010). *Desarrollo de nuevas estrategias de formulación de fármacos mediante el acomplejamiento con Polielectrolitos..* Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas. Facultad de ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.

-R-

Ramírez Rigo, M.V. (2006). *Preparación y estudio de sistemas portadores de fármacos*. Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas. Facultad de ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Ramírez Rigo, M.V. Allemandi, D.A. & Manzo, R.H. (2006). *Swellable drug-polyelectrolyte matrices (SDPM) of alginic acid Characterization and delivery properties*. International Journal of Pharmaceutics., 322: 36-43

Ramírez Rigo, M.V., Allemandi D. & Manzo R.H. (2009). *Swellable drug-polyelectrolyte matrices of drug-carboxymethylcellulose complexes*. Characterization and delivery properties. Drug Delivery. 16(2):108-115.

Rockville. US. United States Pharmacopeial Convention, I. (2008). *USP 31. Farmacopea de los Estados Unidos de América. NF 26. Formulario nacional*. United States Pharmacopeial Convention. Rockville.

Bibliografía

-S-

Sáez, V., Hernáez, E., Sanz Angulo, L. & Katime, I. (2004). *Liberación controlada de fármacos. Micropartículas.* Revista Iberoamericana de Polímeros, 5 (2): 87-101.

Schott, H. (1995). *Reología.* En: Gennaro A.R. (Ed.) Remington, Farmacia, 1(19 ed.), (pp. 426-455). España: Panamericana.

Serra, H. A. (2008). *Quinolonas.* Separata 16 N° 3. Disponible en: <http://www.montpellier.com.ar/separatas.aspx> consultado el 21-11-2017.

Suñe Negre, J.M. (2002). *Nuevas aportaciones galénicas a las formas de administración.* En: Curso de formación continuada para farmacéuticos de hospital. Fundación Promoción Médica. Barcelona, 3: 27-65, disponible en: <http://www.ub.edu/legmh/capitols/sunyenegre.pdf>, consultado el 7-02-2017.

-T-

Tártara, L. I. (2013). *Efecto del sistema portador sobre la biodisponibilidad intraocular de fármacos.* Tesis de doctorado en Medicina y Cirugía. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Córdoba.

Taylor, N. & Bagley E. (1974). *Dispersions or Solutions? A Mechanism for Certain Thickening Agents.* Journal of application of polymer science, 18: 2747-61.

Taylor, N. & Bagley E. (1975). *Rheology of Dispersions of Swollen Gel Particles.* Journal of Polymer Science, 13: 1133-44.

Terrádez, M., Juan Angel A. *Análisis de Varianza ANOVA.* Disponible en: <https://studylib.es/doc/5560881/an%C3%A1lisis-de-la-varianza--anova---universitat-oberta-de-c...> consultado 15-07-2018.

Bibliografía

The Top 200 of 2019 .Provided by the ClinCalc DrugStats Database. Disponible en: <https://clincalc.com/DrugStats/Top200Drugs.aspx> consultado el 05-03-2019.

Tuszyński, J.A. (2004). Portet, S., Dixon, J.M., Luxford, C. & Cantiello, H.F. (2004). *Ionic Wave Propagation along Actin Filaments*. Biophysical Journal, 86 (4): 1890–1903.

-V-

Vaya, R.K., Khan, A., Garg, A. & Singhvi, I.J. (2017). *Glycolamide esters as a pro drugs*. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6 (3): 1196-1217.

Vilches, A.P., Jimenez-Kairuz, F. A, Alovero, M.E. Olivera, D.A., Allemandi, R.H. & Manzo. (2002). *Release kinetics and up-take studies of model fluoroquinolones from carbomer hydrogels*. International Journal of Pharmaceutics, 246: 17-24.

-W-

Wells, J. (2002). *Pharmaceutical preformulation: the physicochemical properties of drug substances*. En: Aulton ME. Pharmaceutics, the science of dosage form design. 2 ed., (pp. 113-138). España: Churchill Livingstone Elsevier Science Limited.

-Y-

York, P. (2004). *El diseño de las formas farmacéuticas*. En: Aulton M.E. (Ed.) La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas, (2 ed.)(pp. 1-2). España: Elsevier.

ANEXO

Anexo

A.1- Representación del modulo G' y G'' del complejo $(CB-Cip)_{50} Na_{20}$ en función de la frecuencia de deformación a diferentes temperaturas, medios de hidratación y % p/p.

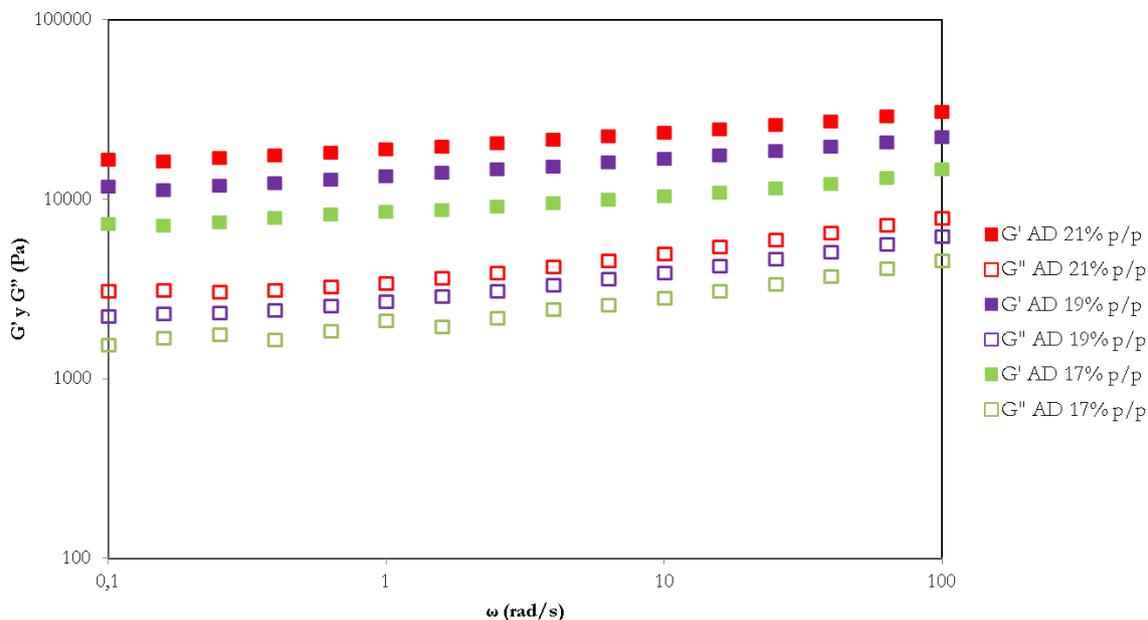


Figura 1.a: Módulo elástico (G') y módulo de pérdida (G'') en función de la frecuencia de deformación (ω), $(CB-Cip)_{50} Na_{20}$ a diferentes % p/p en AD a 32°C

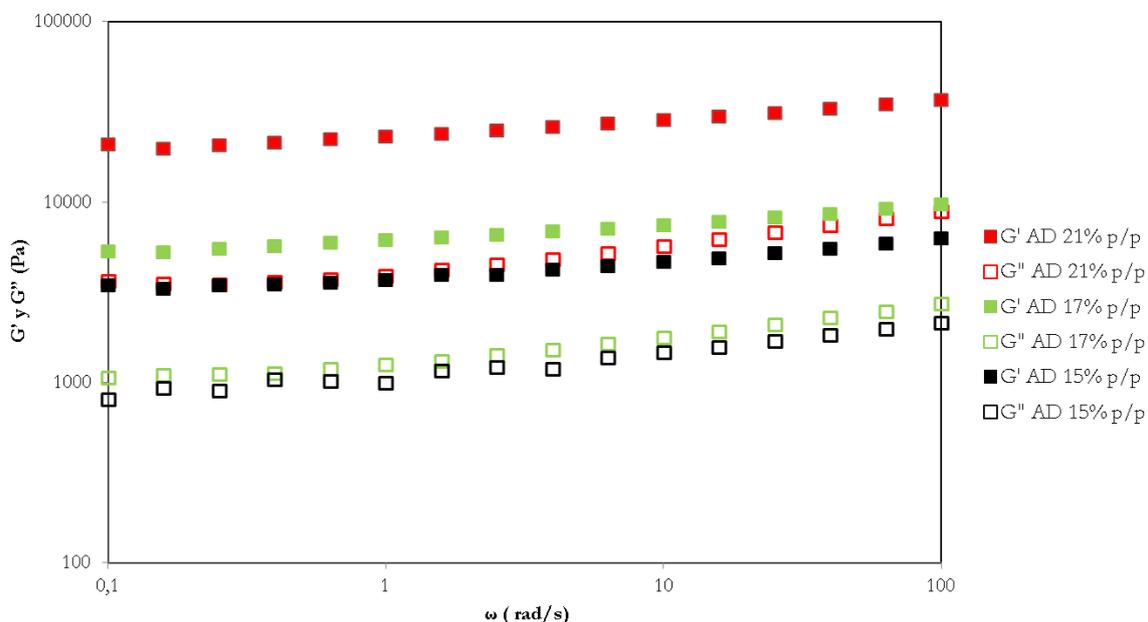


Figura 1.b: Módulo elástico (G') y módulo de pérdida (G'') en función de la frecuencia de deformación (ω), $(CB-Cip)_{50} Na_{20}$ a diferentes % p/p en AD a 37°C

Anexo

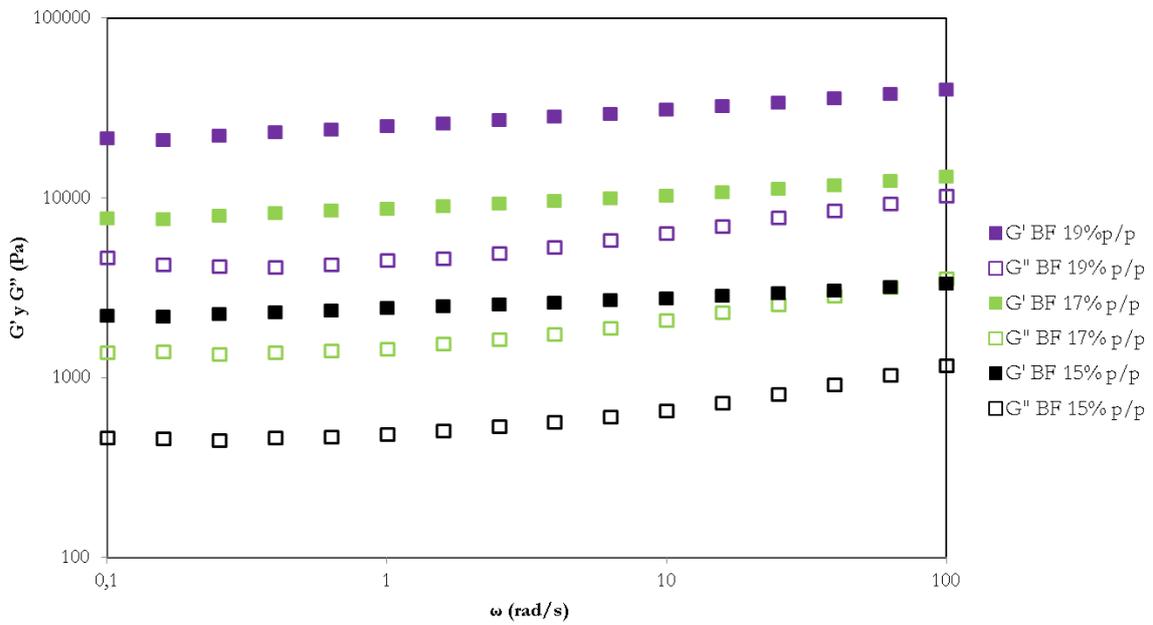


Figura 1.c: Módulo elástico (G') y módulo de pérdida (G'') en función de la frecuencia de deformación (ω), $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_{20}$ a diferentes % p/p en BF a 25 °C

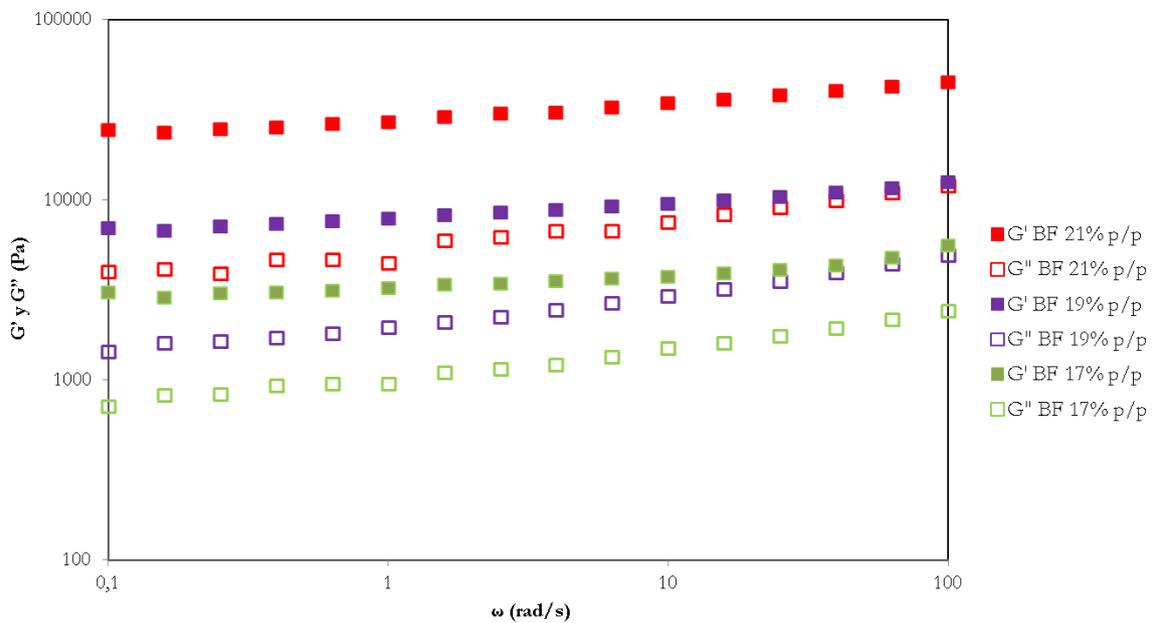


Figura 1.d: Módulo elástico (G') y módulo de pérdida (G'') en función de la frecuencia de deformación (ω), $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_{20}$ a diferentes % p/p en BF a 32 °C

Anexo

A.2- Representación del módulo G' del $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$ al 21% p/p en función de la frecuencia de deformación a diferentes temperaturas, medios de hidratación y proporciones molares de Na^+

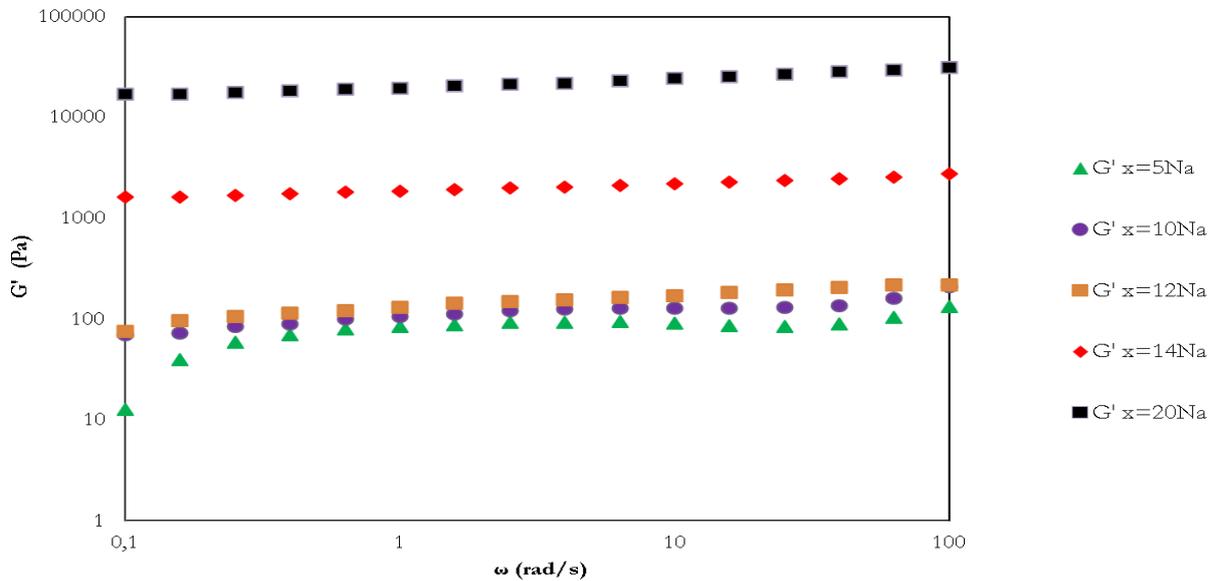


Figura 2.a: Módulo elástico (G') en función de la frecuencia de deformación (ω), $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$ al 21% p/p en AD a 25 °C.

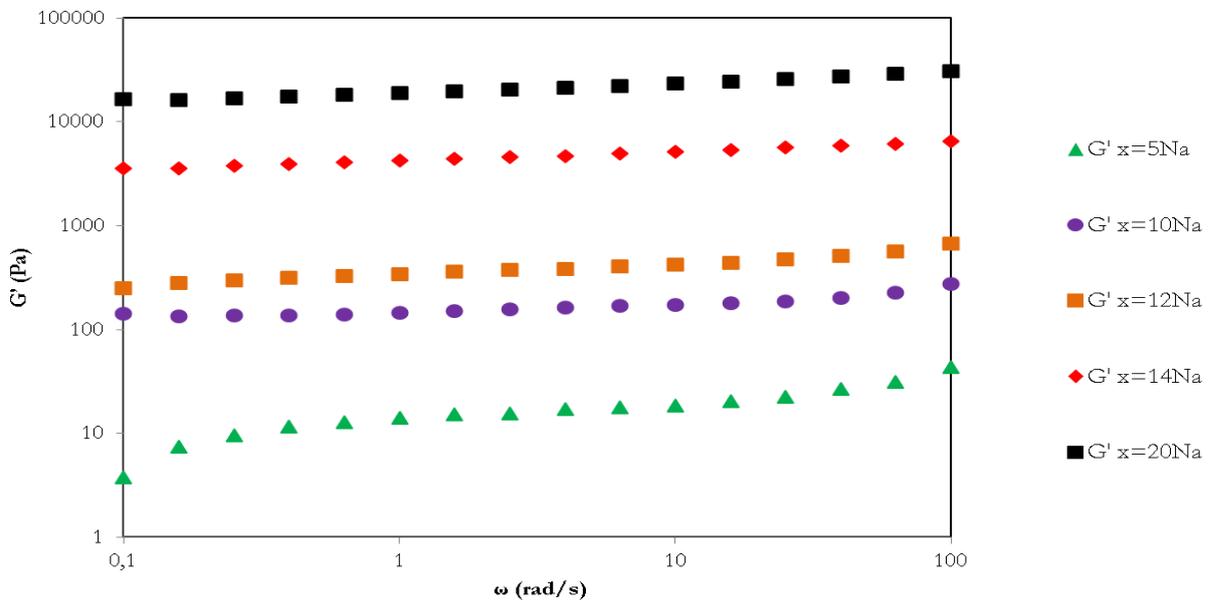


Figura 2.b: Módulo elástico (G') en función de la frecuencia de deformación (ω), $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$ al 21% p/p en AD a 32 °C.

A.3- Representación del módulo G' y G'' en función de la frecuencia de deformación a diferentes temperaturas, medios de hidratación y proporciones molares de Na^+

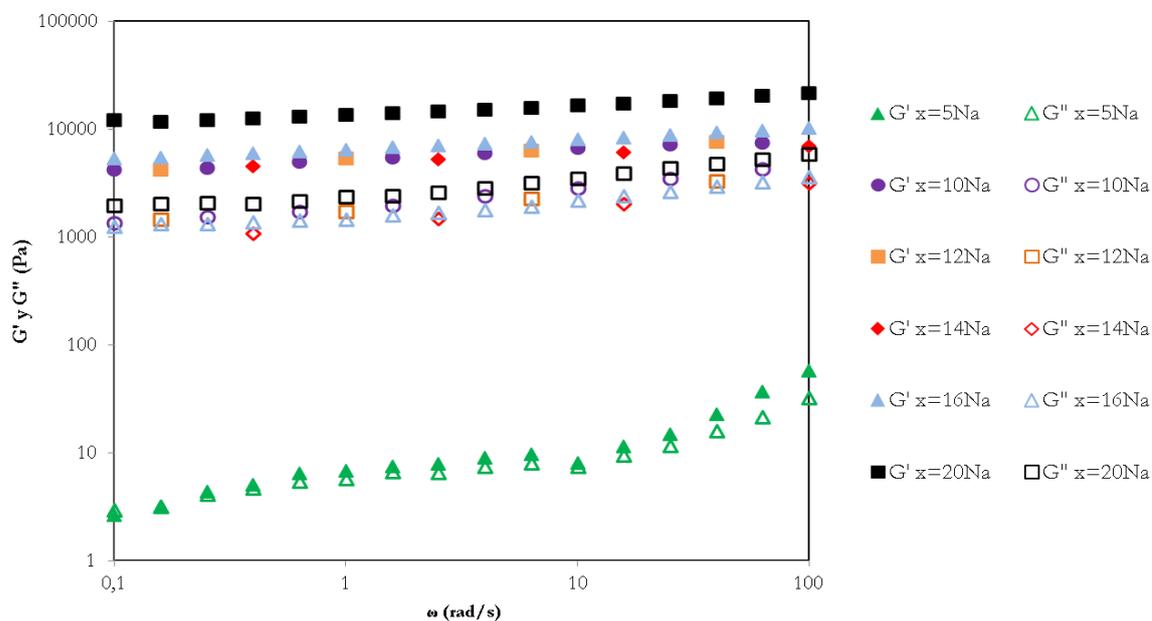


Figura 3.a: Módulo elástico (G') y módulo de pérdida (G'') en función de la frecuencia de deformación (ω), $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$ al 21% p/p en BF a 37 °C.

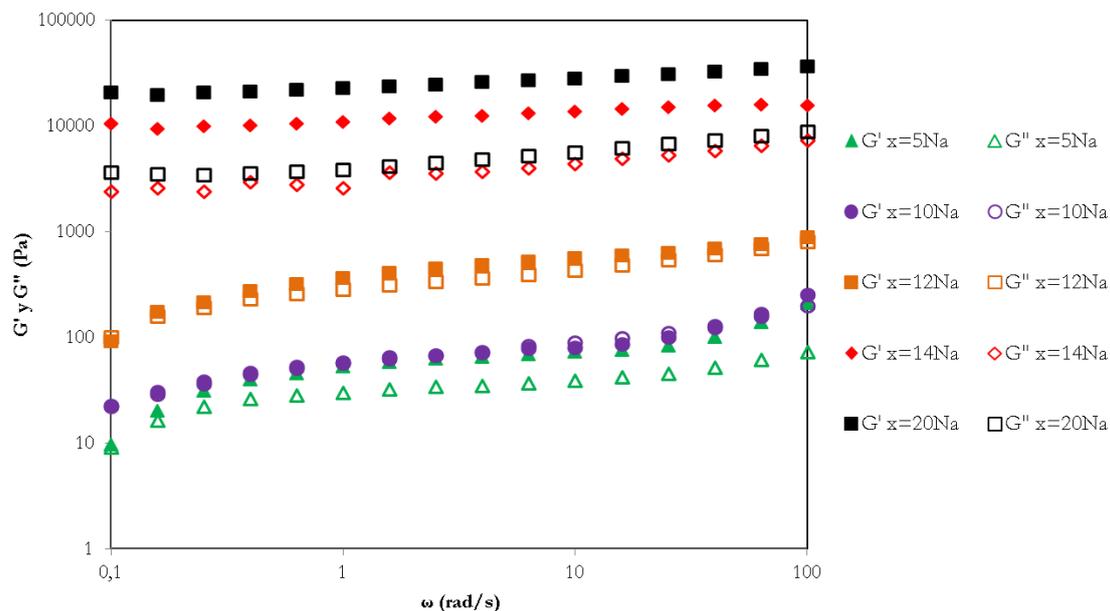


Figura 3.b: Módulo elástico (G') y módulo de pérdida (G'') en función de la frecuencia de deformación (ω), $(\text{CB-Cip})_{50} \text{Na}_x$ al 21% p/p en AD a 37 °C.

Anexo

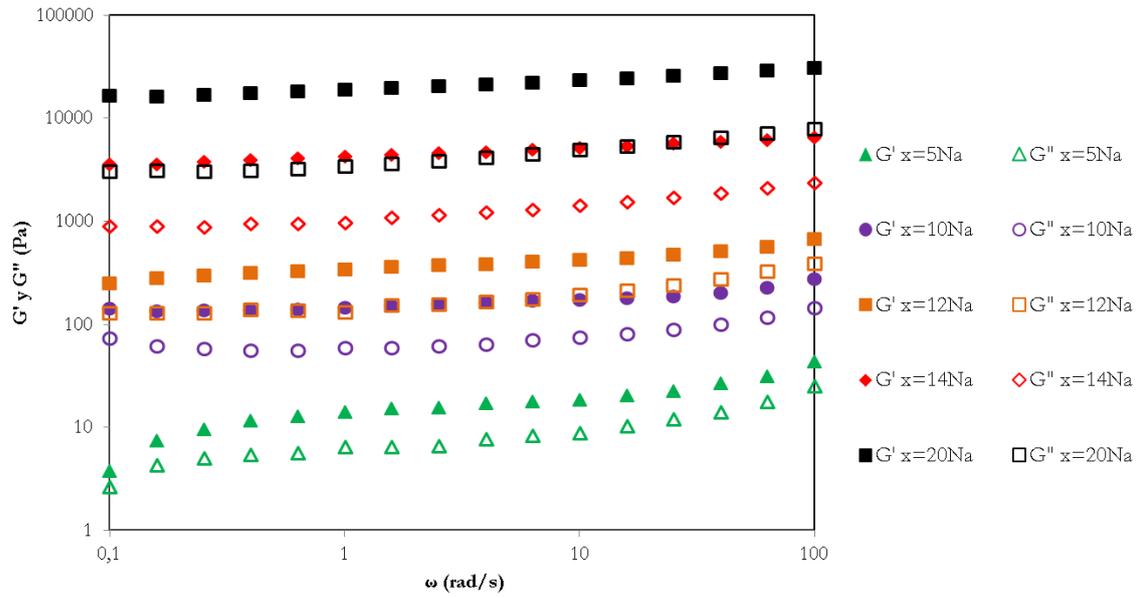


Figura 3.c: Módulo elástico (G') y módulo de pérdida (G'') en función de la frecuencia de deformación (ω), (CB-Cip) $_{50}$ Nax al 21% p/p en AD a 32 °C.

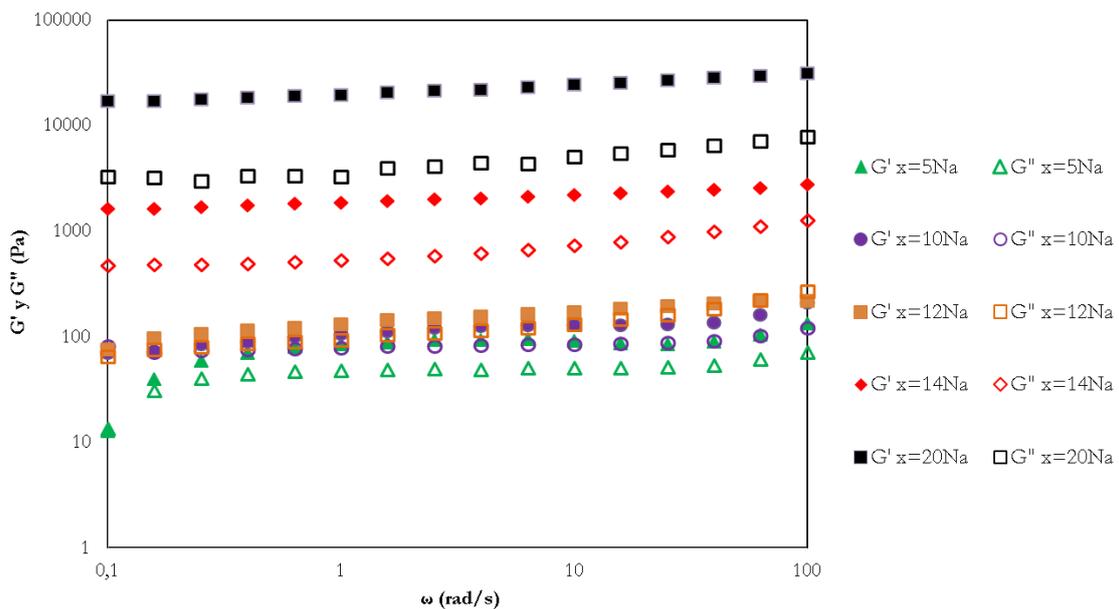


Figura 3.d: Módulo elástico (G') y módulo de pérdida (G'') en función de la frecuencia de deformación (ω), (CB-Cip) $_{50}$ Nax al 21% p/p en AD a 25 °C.