Vitoria

VIII Congreso de la Sociedad Española de

Farmacia Industrial y Galénica

Palacio de Congresos Europa
VITORIA-GASTEIZ
4, 5 y 6 de Febrero 2007

Reconocimiento de interés sanitario por el Departamento de Sanidad del Gobierno Vasco

Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica

Universidad del País Vasco

Euskal Herriko Unibertsitatea

European Federation for Pharmaceutical Sciences

Presentación

Una vez más nos volveremos a encontrar en el VIII Congreso de la SEFIG, que en esta ocasión tendrá lugar en Vitoria entre los días 4 y 6 de febrero del 2007. El Congreso, como en anteriores ocasiones, consta de un amplio programa en el que se trataran temas de actualidad y relevancia científica. Asimismo, la docencia en el ámbito del EEES será motivo de discusión en una de las mesas redondas.

Desde la organización del Congreso os invitamos a todos a participar en este encuentro enviándonos vuestros trabajos.

Gracias a todos. Os esperamos en Vitoria-Gasteiz.

Comité Organizador VIII Congreso de la SEFIG 2007

Comité de honor

Excmo. Sr. D. Ramón Rabanera Rivacoba

Presidente de la Diputación Foral de Alava

Excmo. Sr. Alfonso Alonso Aranegui

Alcalde del Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz

Excmo. Sr. D. Gabriel María Inclán Iribar

Consejero de Sanidad del Gobierno Vasco

Excmo. Sr. D. José Antonio Campos Granados

Consejero de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco

Excma. Sra. Dª. Ana Aguirre Zurutuza

Consejera de Industria del Gobierno Vasco

Excmo. Sr. D. José Ignacio Pérez Iglesias

Rector de la Universidad del País Vasco

Ilmo. Sr. D. Gregorio Rojo García

Presidente de la Caja Vital Kutxa

Ilmo. Sr. D. Joan Sallés Alvira

Vicerrector Campus de Alava de la Universidad del País Vasco

Ilma. Sra. Dª Aurora Fernández Astorga

Decana de la Facultad de Farmacia de la Universidad del País Vasco

Comité Organizador

PRESIDENTE

José Luís Pedraz Muñoz

SECRETARIA

Rosa Mª Hernández Martín

TESORERA

Alicia Rodríguez Gascón

VOCALES

Begoña Calvo Hernáez
Amaia Esquisabel Alegría
Adolfo González Goicoechea
Manuela Igartua Olaetxea
Arantxa Isla Ruiz
Gorka Orive Arroyo
Mª Angeles Solinís Aspiazu

Comité Científico

PRESIDENTE

Alfonso Domínguez-Gil (Universidad de Salamanca)

SECRETARIO

Dolores Torres (Universidad de Santiago de Compostela)

VOCALES

Beatriz Artalejo Ortega (Novartis Farmacéutica)
Carmen Evora García (Univ. La Laguna)
Cecilia Fernández Lastra (Univ. Barcelona)
Manuel Guzmán Navarro (Univ. Alcalá)
Marina Herráez Domínguez (Univ. Valencia)
Juan Manuel Irache Garreta (Univ. Navarra)
Mª Victoria Margarit Bellver (Univ. Granada)
Irene Molina Martínez (Univ. Complutense)
José Luis Pedraz Muñoz (Univ. País Vasco)
Antonio Rabasco Alvarez (Univ. Sevilla)

Sumario

Ponencias

ADVANCED CONCEPTS FOR CONTROLLED RELEASE FORMULATIONS USING METHACRYLATE POLYMERS 19
B. Skalsky, M. Assmus, D. Gallardo, H. Bär, A. Gryczke, H.-U. Petereit

THE RATIONAL SELECTION OF FORMULATIONS FOR PRECLINICAL STUDIES – AN INDUSTRIAL PERSPECTIVE 21
Chris Roe

PREDICCIÓN DE LA ABSORCIÓN EN LOS ESTUDIOS PRECLÍNICOS: FLUOROQUINOLONAS 22
Mª Val Bermejo

INMUNOTERAPIA DEL CANCER CON CÉLULAS DENDRÍTICAS MODIFICADAS GENETICAMENTE 24
Ignacio Melero

DENDRÍMEROS Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS: PAPEL EN LA LIBERACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS 25
Mª Angeles Muñoz

EL DESARROLLO DE TITULACIONES EN EUROPA: DESDE LA TEORÍA A LA PRÁCTICA 26
Endika Bengoetxea

APRENDIZAJE Y ADQUISICIÓN DE COMPETENCIAS EN TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA: UNA EXPERIENCIA PILOTO EN LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. 27
Ana Isabel Torres-Suárez

METODOLOGÍAS DOCENTES EN EL ÁREA DE CONOCIMIENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA EN LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE NAVARRA 29
Iñaki F. Trocóniz

APROXIMACIÓN AL EEES DE LAS TITULACIONES DE FARMACIA DE LAS UNIVERSIDADES ANDALUZAS 30
M. Fernández-Arévalo, Manuel Miró Jodral, Agustín García Asuero, Luis Recalde Manrique

HACIA EL ESPACIO EUROPEO DE EDUCACIÓN SUPERIOR: EXPERIENCIA DOCENTE EN FARMACIA GALÉNICA. (Se Retiene mejor lo que se Discute y luego se Realiza). 32
Guzmán M., Aberturas M.R., Molpeceres J.

Comunicaciones Orales

CO-01 DISEÑO DE MATRICES CONSTITUIDAS POR MEZCLAS DE GLUCOMANANO DE KONJAC Y GOMA XANTANA POTENCIALMENTE ÚTILES PARA LIBERACIÓN COLÓNICA DE FÁRMACOS 37
Felipe Alvarez-Manceñido, Mariana Landín, Ramón Martínez-Pacheco.

CO-02 ADMINISTRACIÓN DE PROTEINAS A PARTIR DE IMPLANTES DE COPOLÍMEROS DE POLILÁCTICO-CO-GLICÓLICO. ENSAYOS IN VITRO 39
Tomé-Alcalde J., Santiago Torrado, Mª Paloma Ballesteros Papantonakis.

CO-03 CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA Y CINÉTICA DE DISOLUCIÓN DE UN SISTEMA DISPERSO HIDRÓFILO ELABORADO CON UN POLÍMERO HIDROFOBICAMENTE MODIFICADO 41
Claro C., Rodríguez del Rey R., Jiménez-Castellanos M.R. Lucero M.J.

CO-04 COMPLEJOS DE INCLUSION NITRATO DE SERTACONAZOL:CICLODEXTRINA. CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR POR MODELIZACIÓN MOLECULAR. 43
Rosa dos Santos, J.F., Rodríguez-Pérez, A.I., Costas-Crespo, S., Rodríguez-Tenreiro, C., Torres-Labandeira, J.J.

CO-05 ESTUDIO DE EXCIPIENTES HIDRÓFILOS PARA ELABORACIÓN DE SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA UTILIZANDO COMPRESIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDOS. 45
Millán, M., Gonçalvez, T., Contreras, L., Caraballo, I.

CO-06 ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA DE EFAVIRENZ: ESTUDIO PRELIMINAR "IN VITRO" DE ABSORCIÓN PERCUTANEA A TRAVÉS DE EPIDERMIS HUMANA 47
O. Díez-Sales, J.E. Peris, A. Melero, P. Almudéver, T. M Garrigues, A. Martín, M. Herráez

CO-07 DISPOSICIÓN DE VANCOMICINA EN PULMÓN AISLADO DE RATA TRAS SU ADMINISTRACIÓN POR VÍA SISTÉMICA Y PULMONAR 49
Jesús Valle, M.J. de, Domínguez-Gil Hurlé, A., Sánchez Navarro, A.

CO-08 FARMACOCINÉTICA POBLACIONAL DE MEROPENEM EN PACIENTES CRÍTICOS SOMETIDOS A TÉCNICAS CONTINUAS DE REEMPLAZO RENAL. 51
Isla A., Gascón A.R., Trocóniz IF., Bueno L., Solinís M.A., Pedraz J.L.

CO-09 PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS POBLACIONALES DEL CARBOPLATINO EN PACIENTES CON CÁNCER DE PULMÓN NO MICROCÍTICO AVANZADO. 53
Merino Sanjuán, M., Maestu, I., Almenar Cubells D., Casabó, V.G., Jiménez Torres, N.V.

CO-10 ESTUDIO DE LA DISTRIBUCIÓN TISULAR Y LA CAPTACIÓN POR MACRÓFAGOS DE AMICACINA UTILIZANDO ERITROCITOS PORTADORES 55
Elsa Briones Cuesta, Clara Isabel Colino Gandarillas, José Martínez Lanao.

C0-11 DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS FORMULACIONES PARA EL TRATAMIENTO DEL SÍNDROME DE OJO SECO. 57
Vicario de la Torre M., de las Heras Polo B., Andrés Guerrero V., Barbosa Alfaro D., Herrero-Vanrell R., Molina-Martínez I.T.

CO-12 CAMBIO EN EL PERFIL DE EFICACIA DEL CISPLATINO TRAS SU VEHICULIZACIÓN EN FORMAS POLIMÉRICAS 59
Daniel Moreno, María Azcona, Conchita Tros de Ilarduya, Eva Bandrés, Jesús García-Foncillas, María J Garrido

CO-13 IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION OF ALGINATE-OLIGOCHITOSAN-ALGINATE MICROCAPSULES FOR CELL IMMOBILIZATION 63
De Castro, M., Orive, G., Hernández, R.M., Bartkowiak, A., Pedraz, J.L.

CO-14 INMUNOTERAPIA CON NANOPARTÍCULAS DE GANTREZ® AN CONTENIENDO LIPOPOLISACARIDO DE BRUCELLA OVIS 65
Gómez S., Gamazo C., San Roman B., Ferrer M., Sanz M.L., Grau A., Espuelas S., Irache J.M.

CO-15 TRANSPORTE Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE FTORAFUR POR NANOSFERAS DE POLI(ETLI-2-CIANOACRILATO) Y POLI(BUTILCIANOACRILATO) 67
Arias, J.L., Gallardo, V., Linares-Molinero, F., Ruiz, M.A.

Posters

Tecnología Farmacéutica

P-01 CARACTERIZACIÓN DE MICROPARTÍCULAS DE KOLLIDON® SR DESTINADAS AL DISEÑO DE SISTEMAS TRANSPORTADORES DE FÁRMACOS 73
Arias, J.L., Gómez-Gallo, A., López-Viota, M., Gallardo, V.

P-02 APLICACIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL A LA OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE COMPLEJOS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE DEXTROMETORFANO. 75
Álvarez-Fuentes, J., Salas, S., Fernández-Arévalo, M., Holgado, M.A.

P-03 APORTACIÓN A LA AUTOMATIZACIÓN DEL TEST DE DISOLUCIÓN USP-II 77
Johnny E. Aguilar-Díaz, E Garcia-Montoya, P.Pérez-Lozano, M. Miñarro, JR Ticó, JM Suñe-Negre

P-04 CAPACIDAD LIPOLÍTICA DE ACTIVOS COSMÉTICOS ANTICELULÍTICOS. 79
Morales, M.E., López,G., López-Viota, M., Arias, J.L.

P-05 CARACTERÍSTICAS DE ESTABILIDAD DEL ANTINEOPLÁSICO, β-LAPACHONA 81
Cunha Filho, M.S.S., Torres-Labandeira, J. J., Martínez-Pacheco, R., Landín, M.

P-06 CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS FORMAS DE LIBERACIÓN TRANSDÉRMICA: GEL PLURONIC Y PLO (PLURONIC LECITIN ORGANOGEL) 83
Ruíz, MªA; Clares, B; Morales, MªE and Gallardo, V.

P-07 CARACTERIZACIÓN VISCOELASTICA Y REOLÓGICA DE PREPARACIONES TÓPICAS DE CARBOPOL ULTREZ 10 Y CAFEÍNA AL 5 % (M/M) EN SOLUCIÓN. 85
Cayoja, L., Contreras, M D.

P-08 COMPARACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE CROMATROGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC) PARA LA DETERMINACIÓN DE LAMOTRIGINA EN PLASMA. 87
Rivas Herrero, Nuria; Zarzuelo Castañeda, Aránzazu; González López, Francisco

P-09 COMPATIBILIDAD TÉRMICA DEL ANTINEOPLÁSICO ß-LAPACHONA CON EXCIPIENTES FARMACÉUTICOS 89
Cunha Filho, M.S.S., Martínez-Pacheco, R., Landín, M.

P-10 COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE SUSPENSIONES DE KOLLIDON® SR 91
Gómez-Gallo, A., Arias, J.L., López-Viota, M., Ruiz, M.A.

P-11 COMPRESIÓN DE MATRICES HIDRÓFILAS DE HPMC Y TEOFILINA: RELACIÓN ENTRE FUERZA DE COMPRESIÓN Y DUREZA DE LOS COMPRIMIDOS 93
Pérez Lozano, P., García Montoya, E, Suñé Negre JM., Bataille B, Duru C , Miñarro M., Ticó JR

P-12 CYTOTOXICITY STUDIES OF DOCETAXEL LOADED CHITOSAN NANOCAPSULES. 95
Lozano M.V., Brea J., Torrecilla D., Loza M ., Domínguez F. Torres D., Alonso, M.J.

P-13 DEFINICIÓN DE UN PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE MICROCÁPSULAS GASTRORRESISTENTES DE MOLÉCULAS MUY HIDROSOLUBLES BASADO EN LA TÉCNICA DE EMULSIÓN-EVAPORACIÓN 97
Tavares-Fernandes D.F., Esteban-Verdugo M.E., Gil-Alegre M.E., Torres-Suárez A.I.

P-14 DENDRÍMEROS ACTIVADOS PARA LA LIBERACIÓN DE DNA EN CÉLULAS TUMORALES 99
Navarro, G., Tros de Ilarduya, C.

P-15 DESARROLLO DE MICROCÁPSULAS DE ALGINATO-ACICLOVIR PARA EL TRATAMIENTO DEL HERPES SIMPLE. 101
Cheddadi, M., Pastoriza A., P., Montejo C., Fernández C. A.

P-16 DESARROLLO DE UNA FORMULACIÓN DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE MORFINA BASADA EN UN COMPLEJO POLIMÉRICO 103
M.A. Holgado, A. Iruin, J. Alvarez-Fuentes, M. Fernández-Arévalo

P-17 DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA DE ENCAPSULACIÓN DE AMICACINA EN ERITROCITOS HUMANOS 105
Gutiérrez Millán, C., Zarzuelo Castañeda, A., Sayalero Marinero, M. L., Bax, B.E., Lanao, J. M.

P-18 DISEÑO DE EXCIPIENTES PARA COMPRESIÓN DIRECTA: APLICACIÓN DEL MÉTODO SeDeM 107
Ferran Luque Enríquez, Josep Juvé Fontoba, Anna Viscasillas Clerch, Alfons del Pozo Carrascosa

P-19 DISEÑO DE INSTALACIONES PARA PRODUCCIÓN DE CÁPSULAS DE GELATINA BLANDAS 109
Zúñiga, L., Calvo, B.

P-20 DISEÑO DE NANOCÁPSULAS DE POLI(BUTILCIANOACRILATO) COMO SISTEMAS TRANSPORTADORES DE FÁRMACOS 111
Martín-Paniza, M.C., Arias, J.L., Gallardo, V., Ruiz, M.A.

P-21 DISEÑO Y ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE UNA SOLUCION ORAL DE IBUPROFENO DE USO EN PEDIATRÍA. 113
Tortajada Sañudo, M.; Camacho Sánchez, M.A.; Gil Alegre, M.E.; Torres Suárez, A.I.

P-22 EFECTO DE DISTINTOS TIPOS DE ß-CICLODEXTRINAS EN LA SOLUBILIZACIÓN DE IBUPROFENO Y DEXIBUPROFENO. 115
Cuéllar, C., Ballesteros, M. P., Torrado, J. J.

P-23 EFECTO DE LA RADIACIÓN-γ SOBRE EL ANTÍGENO DE LA MALARIA SPf66 ENCAPSULADO EN MICROESFERAS DE PLGA 117
Igartua M., Hernández R.M., Mata E., Rosas J. E., Patarroyo M.E., Pedraz J.L.

P-24 EFECTOS DE LA TEMPERATURA Y DE LA EXPOSICION A VAPORES ORGANICOS SOBRE LA DISOLUCION DE PARACETAMOL A PARTIR DE PELETS MATRICIALES A BASE DE CELULOSA MICROCRISTALINA-EUDRAGIT RSPO 119
Sá Barreto, L.C.L., Martínez-Pacheco, R., Gómez-Amoza, J.L.

P-25 EFFECT OF LYOPHILIZATION ON THE TRANSFECTION CAPACITY OF SLN-DNA COMPLEXES 121
del Pozo, A., Delgado, D., Solinís, M.A., Gascón, A.R., Pedraz, J.L.

P-26 ENCAPSULACIÓN DE CELECOXIB EN MICROSFERAS DE ETILCELULOSA: EFECTO DEL DISOLVENTE. 123
Sashalmi, J., De Diego G., González, M., Aberturas, M.R., Molpeceres, J.

P-27 ESTABILIDAD DE GELES NATURALES DE ALOE VERA 125
Hernández, B.a, Llabrés, M.a, Alvárez-Lorenzo, C.b, Barreiro-Iglesias, R.b, Fariña, J.B.a, Concheiro, A.a

P-28 ESTUDIO COMPARATIVO DE CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA DE DOS FORMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA: LIPOSOMAS Y PLO (PLURONIC LECITIN ORGANOGEL) 127
Ruíz, M"A; Clares, B; Morales, MªE y Gallardo, V.

P-29 ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD DE TRANSPORTE Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE 5-FLUOROURACILO POR NANOSFERAS DE POLI(ALQUILCIANOACRILATO) 129
Arias, J.L., Ruiz, M.A., Linares-Molinero, F., Gallardo, V.

P-30 ESTUDIO DE ESTABILIDAD EN ESTADO SÓLIDO DEL PÉPTIDO 30-33 DE LA COLECISTOQUININA. 131
Oliva, A., Sánchez, D., Fariña, J.B., Llabrés, M.

P-31 ESTUDIO UNIDOSIS DE EFICACIA DE UNA NUEVA FORMULACIÓN DE ANFOTERICINA B EN UN MODELO MURINO DE CANDIDIASIS SISTÉMICA. 133
Espada, R., Valdespina, S., Molero, G., Ballesteros, M.P., Torrado, J.J.

P-32 ESTUDIOS DE COMPATIBILIDAD PRINCIPIO ACTIVO-EXCIPIENTE EN FORMULACIONES SÓLIDAS DE IBUPROFENO 135
Maderuelo Martín, Cristina1; Zarzuelo Castañeda, Aránzazu; Sayalero Marinero, Mª Luisa; Sánchez Martín, Mª Jesús; Martínez Lanao, José

P-33 FORMULACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LIBERACIÓN DE SUPOSITORIOS DE ETOSUXIMIDA 137
Margari M. V. y Caballero J. D.

P-34 FORMULACIÓN Y ENSAYOS DE ABSORCIÓN IN VITRO DE UN SISTEMA TRANSDÉRMICO DE SUMATRIPTÁN EN METILCELULOSA 139
Balaguer Fernández, C., Femenía Font, A., del Rio Sancho S., Merino V., López Castellano A.

P-35 HIDROGELES A BASE DE GOMAS NATURALES PARA LA LIBERACIÓN COLÓNICA DE FÁRMACOS. 141
Adawe I., Gago Guillan M., Almeida Prieto S., Otero Espinar F.J.

P-36 HIDROGELES DE ACIDO ACRÍLICO Y LAURIL ACRILATO SENSIBLES A pH PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS 143
Mayo-Pedrosa, M., Cachafeiro-Andrade, N., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C.

P-37 HIDROGELES DE CICLODEXTRINAS PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE SERTACONAZOL 145
López-Montero, E., Alvarez-Lorenzo,C., Torres-Labandeira, JJ.

P-38 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA LIBERACIÓN Y LA PERMEACIÓN DEL FILTRO SOLAR ETILHEXYL METOXICINNAMATE EN UNA EMULSIÓN MÚLTIPLE. 147
Torres, E., Calpena, A., Barbé, C., Aróztegui, M., Halbaut, L., Suñer, J.

P-39 INTERACCION DE PLURONIC CON CICLODEXTRINAS: EFECTO SOBRE LA SOLUBILIDAD DE CICLOPIROX 149
Nogueiras-Nieto, L., Alvarez-Lorenzo, C., Otero-Espinar, F.

P-40 LIBERACIÓN IN VITRO DE TEOFILINA EN COMPRIMIDOS DE MATRIZ HIDROFILA A BASE DE POLÍMEROS DE ÓXIDO DE ETILENO 151
Mozo Casado, M.A., Margarit Bellver, M.V. y Marín Boscá M.T.

P-41 MÉTODO ANALÍTICO POR HPLC PARA DETERMINAR METADONA EN PLASMA HUMANO. 153
Crivillé, A., Lastra, C. F., Modamio, P., Mariño E.L.

P-42 MICELAS POLIMÉRICAS DE TETRONIC QUE RESPONDEN A CAMBIOS DE pH Y FUERZA IÓNICA 155
González-López, J.,aFernández-Tarrio, M., Alvarez-Lorenzo, C., Sández-Macho, I., Concheiro, A.

P-43 MICROENCAPSULACIÓN DE INSULINA Y CARACTERIZACIÓN POR RP-HPLC. 157
Presmanes, C., Torrado, J.J.

P-44 MICROESFERAS DE ALGINATO – GANTREZ® CONTENIENDO CLORHIDRATO DE LIDOCAÍNA PARA ADMINISTRACIÓN EN MUCOSA BUCAL. ESTUDIO DEL PROCESO DE LIBERACIÓN 159
Salas, S., Talero, B., Rabasco, A.M., González-Rodríguez, M.L.

P-45 MICROESFERAS DE LIDOCAÍNA-PLGA: INFLUENCIA DEL TIPO DE POLÍMERO 161
M. Fernández-Arévalo, M.J. Cózar, M.A. Holgado, J. Álvarez-Fuentes

P-46 MICROPARTICULAS GASTRORRESISTENTES COMO VACUNA ORAL INACTIVADA FRENTE AL COLERA 163
Esquisabel A, Año G, Hernández RM, Talavera A, Solís RL, Pedraz JL

P-47 MODELO ESTADÍSTICO DE EFECTOS MIXTOS: EVALUACIÓN IN VIVO DE IMPLANTES DE HORMONA HUMANA DEL CRECIMIENTO. 165
Santoveña, A., Fariña, J.B., Llabrés, M.

P-48 PERMEACIÓN TRANSDÉRMICA DE CETIRIZINA FORMULADA EN NANOEMULSIONES CONTENIENDO DIFERENTES N-ALQUIL PIRROLIDONAS. 167
Ciurlizza C, Boix A, Domenech J, Calpena A

P-49 PUESTA A PUNTO Y VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA ANALÍTICA DE HPLC PARA LA DETERMINACIÓN DE SIETE ANTIRRETROVIRALES (ART) EN PLASMA HUMANO 169
García MJ, Cabrera S, Lopez FG, Domínguez-Gil A.

P-50 RELACIÓN ENTRE CONTENIDO EN HUMEDAD, POROSIDAD Y RIQUEZA EN MICROESFERAS DE ALBÚMINA CON ANFOTERICINA B. 171
Valdespina, S., Espada, R., Torrado, J.J.

P-51 REOLOGÍA DE DISPERSIONES ACUOSAS DE GOMAS XANTANA Y GARROFÍNA. INFLUENCIA EN LA DIFUSIÓN DE CIPROFLOXACINO 173
Henriques P., Almeida Prieto S., Alvarez Lorenzo C, Otero Espinar F.J.

P-52 REPRODUCIBILIDAD DEL PROCESO DE SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS DE ALMIDÓN E HIDROXIPROPILALMIDÓN DE TAPIOCA Y METACRILATO DE ETILO. 175
Casas, M., Ferrero, C., Jiménez- Castellanos, M.R.

P-53 SAFETY OF LACTOSE AND CHITOSAN TO THE RESPIRATORY SYSTEM WHEN DELIVERED BY INHALATION ROUTE 177
Jesús Valle M J de, Dinis-Oliveira R J, Carvalho F, Bastos ML, Sánchez Navarro A

P-54 TERNARY ADMIXTURES OF TRAMADOL, HALOPERIDOL AND HYOSCINE N-BUTYL BROMIDE: COMPATIBILITY AND STABILITY. EVALUATION IN TERMINAL ONCOLOGY PATIENTS 180
Martín, A, Barcia, E, Azuara, M.L, Sánchez, Y., Negro, S.

P-55 UTILIDAD DEL CARBOPOL 974P PARA MODULAR LA LIBERACION DE TEOFILINA A PARTIR DE PELETS DE ESTRUCTURA MATRICIAL ELABORADOS POR EXTRUSION-ESFERONIZACION 185
Gómez-Carracedo, A., Coca, R., Souto, C., Gómez-Amoza, J.L.

BIOFARMACIA Y FARMACOCINÉTICA

P-56 ADMINISTRACIÓN DE GENTAMICINA EN REGIMENES CON AMPLIACION DEL INTERVALO EN SEPSIS NEONATAL 187
Martínez Lanao J, González Martínez S Gil Navarro MV, Sánchez Martín A, Martín Suárez A, Calvo Hernández MV.

P-57 ANALISIS DE MECANISMOS DE DISOLUCION BASADO EN EL AJUSTADO 189
Garcia Rovira M, Boix Montañés A, Reig López I, Doménech Berrozpe J

P-58 ESTUDIO "IN VITRO" DE PERMEACIÓN DE CELIPROLOL Y BISOPROLOL EN PLASMA HUMANO 191
Braza, A.J., Modamio, P., Lastra, C.F., Mariño, E.L.

P-59 ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD DE DIFERENTES PROMOTORES EN LA PENETRACIÓN TRANSDÉRMICA DE LA DOXEPINA. 193
Calpena AC, Escribano E, Lauroba J.

P-60 ESTUDIO DE LA ABSORCIÓN TRANSDÉRMICA DE NORTRIPTILINA MEDIANTE IONTOFORESIS 195
Merino, V., Micó, T., Miralles, S., Nácher, A., Díez, O., Herráez, M., Merino-Sanjuán, M.

P-61 FACTORES ESTIMULANTES DE CÉLULAS SANGUÍNEAS EN EL TRATAMIENTO ADYUVANTE DEL CÁNCER DE MAMA: ANÁLISIS DE COSTES. 197
Jiménez Arenas, V., Olmos Antón, S., Merino Sanjuán, M., Casabó Alós, VG., Jiménez Torres, NV.

P-62 FARMACOCINÉTICA DEL SAQUINAVIR ADMINISTRADO POR VÍA IV EN LA RATA 199
Lledó García, R., Prats, L., Merino Sanjuán, Nácher, A., Casabó, V.G.

P-63 HOW DPA AND DHA MODULATE CORTISOL TRANSPORT THROUGH BLOOD BRAIN BARRIER 200
Navarro-Fontestad C, Gonzalez-Alvarez I, Murck H , Merino V, Manku M , Bermejo MV

P-64 INVERSIÓN NUMÉRICA DE LA TRANSFORMADA DE LAPLACE EN EL ESTUDIO DE LOS MODELOS DE DIFUSIÓN 202
Llabrés, M.

P-65 MATHEMATICAL MODELLING TO CALCULATE PHARMACOKINETICS AND BIOAVAILABILITY OF CNV97101 204
González-Álvarez I, Fernández-Teruel C, Navarro-Fontestad C, Ruiz-Garcia A., Bermejo M, Casabó VG

P-66 STUDY IN VITRO OF ABSORPTION OF KAR-2, A NEW VINBLASTINE DERIVATIVE 206
Gonzalez-Alvarez I, Navarro-Fontestad C, Merino V, Ovadi J, Bermejo MV

Docencia

P-67 ANÁLISIS DE LOS FACTORES QUE CONDICIONAN LA APLICACIÓN DE LAS TIC EN LA DOCENCIA RELACIONADA CON EL ÁREA DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA 211
López FG., Colino Gandarillas C.I., Fernández de Gatta Mª del Mar.

P-68 EXPERIENCIA DOCENTE EN LA ADAPTACIÓN AL EEES: APLICACIÓN A LA TECNOLOGIA FARMACEUTICA II 213
Hernández R.M., Igartua M., Esquisabel A., Pedraz, J.L.

P-69 INCORPORACIÓN DE LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS A LA DOCENCIA DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA 215
Begoña Calvo

P-70 MATERIAL DOCENTE MULTIMEDIA EN ASPECTOS DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA: MONOGRÁFICO CÁPSULAS DE GELATINA BLANDA 219
Cerezo P., Rodríguez, I.C., Viseras C., Hernández P. y Bedmar C.

P-71 SEGURIDAD EN EL USO DE LOS MEDICAMENTOS: APLICACIÓN AL EEES SEGÚN EL DOCUMENTO DE BOLONIA 221
Mariño, E.L., Modamio, P., Sebarroja, J., Casasin, T., Bonafont, X., Lastra, C.F.

Ponencias

ADVANCED CONCEPTS FOR CONTROLLED RELEASE FORMULATIONS USING METHACRYLATE POLYMERS

B. Skalsky, M. Assmus, D. Gallardo, H. Bär, A. Gryczke, H.-U. Petereit

Degussa Pharma Polymers, Röhm GmbH, Darmstadt, Germany
e-mail: brigitte.skalsky@degussa.com

Introduction

Several advanced applications of polymethacrylates are presented demonstrating the high flexibility in generating tailor made dissolution profiles. Focus is on both membrane and matrix systems. As innovative manufacture technology for matrix CR pellets hotmelt extrusion is introduced.

Multiparticulate formulations

Small particles (pellets, granules, crystals, micro tablets) can be coated with polymethacrylate films, in order to generate sustained drug release. As process technology fluidized bed coating is preferred. When compression the coated particles to (fast) disintegrating tablets it is important to use flexible film coatings in order to avoid film damages. EUDRAGIT® NE 30 D is most suitable because of its high elongation at break value. EUDRAGIT® RS and EUDRAGIT® RL coatings may also be used. Up to 70% w/w of particles can be compressed to tablets. Filler-binders which show plastic deformation during compression are preferred.

Film coatings made of EUDRAGIT® RS 30 D and EUDRAGIT® RL 30 D require a curing process. Conventionally it has been recommended to dry 24 hours at 40°C in a tray drier. Recent investigations indicate that curing can be done in the coating equipment under humidity control right after finishing the coating. Temperature, process time and relative humidity need to be balanced thoroughly.

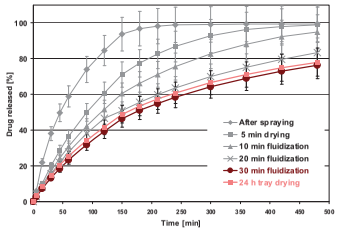


Figure 1: *Coalescence progress of EUDRAGIT® RL/RS aqueous coatings on Theophylline particles cured in fluid bed*

pH-dependent and pH-independent polymethacrylates in matrix applications

The insoluble EUDRAGIT® polymers RL/RS, NE 30 D or the previously launched new product EUDRAGIT® NM 30 D swell pH-independently in physiological fluids. Depending upon their individual hydrophilicity the release rate can be varied by polymer amount and combination of different types. Beside these traditional controlled release polymers also the anionic polymethacrylates can be used for the manufacture of extended release matrix formulations. By taking advantage of the different solution pH values both pH-dependent (EUDRAGIT® L 30 D) and pH-independent (EUDRAGIT® FS 30 D) controlled release properties can be achieved.

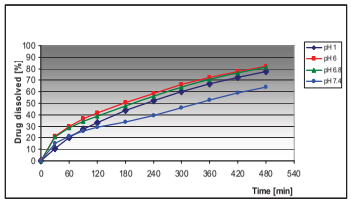


Figure 2: *Dissolution profiles of Diltiazem EUDRAGIT® FS 30 D matrix tablets in various pH*

While the formulations enter the pH region where the anionic polymer gets soluble, erosion becomes more important as drug release mechanism, whereas in the lower pH range diffusion processes dominate. Polymer contents of 10-20% are sufficient to prepare extended release matrices. In case of highly soluble drugs or once-a-day formulations polymer quantity can further be increased. Since the methacrylate polymers have good binding properties they provide excellent hardness to the tablets, even at low quantities. They act as both matrix former and binder.
Functional film coatings may be applied onto matrix tablets e.g. for taste masking or moisture protection. Sustained release final coatings can be applied to lower initial drug release.

Variations in process technology and their impact on drug release from matrices

Among the common process technologies direct compression is a very economical method to prepare matrix tablets. The methacrylate polymer powders are simply mixed with the drug and additional excipients before compression. However, often it is not possible to achieve the desired release profile via direct compression. In these cases wet or solvent granulation can be the processes of choice being conducted as fluid bed and high shear mixer processes. In order to get maximum density of the formulation, melt techniques can be applied as well. The methacrylate polymers show thermoplastic behaviour and have excellent thermal stability. The better the distribution of active in the polymer matrix the stronger the retardation effect. The suitables process technology should be selected considering both physico-chemical properties of the active and the medically required drug release.

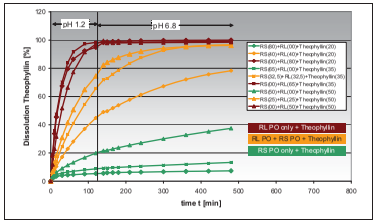


Figure 3: *Controlled release matrix pellets prepared by hotmelt extrusion with EUDRAGIT® RL/RS combinations*

Conclusions

Polymethacrylates offer the possibility to formulate both single and multiple unit controlled release dosage forms. By using single polymers and mixtures specific release profiles can be generated for matrix tablets as well as for filmcoated particles.

Methacrylate polymers form inert matrices which release the active via (pore) diffusion and erosion processes depending on their solution characteristics and the pH environment. The polymer functionalities provide a series of options for tailor made formulation design.

Melt extrusion of EUDRAGIT® polymers offers a number formulation design options taking advantage of the functionality of the polymers and their thermal behaviour. Pellets with strong retardation can be achieved.

References

[1] Lehmann K. in: Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Applications, Edt.: J. W. McGinity, Marcel Dekker, New York, 1989, pp. 153

[2] Gryczke A., Nollenberger K., Petereit H.-U., Meier Ch., Melt extruded Theophylline micro spheres for better controlled release, 33rd annual meeting and exposition of the CRS, Vienna 2006

[3] Skalsky B., Bär H., Petereit H.-U., Improved Curing of EUDRAGIT® RL/RS 30 D Film Coatings by Controlled Post-Processing in the Fluid Bed, 33rd annual meeting and exposition of the CRS, Vienna 2006

[4] Gallardo D., Assmus M., Skalsky B., Comparison of EUDRAGIT® NE 30D to Aquacoat® ECD and various Methocel® Types for Matrix Tablets Manufacture using Highly Soluble Drugs, 32nd annual meeting and exposition of the CRS, Miami, Florida, 2005

[5]Gallardo D., Assmus M., Skalsky B., Comparison of EUDRAGIT® FS 30 D and L 30 D-55 as Matrix Formers in Sustained Release Tablets, 33rd annual meeting and exposition of the CRS, Vienna 2006

[6] Lehmann K., Dreher D., Mixtures of Aqueous Polymethacrylate Dispersions for drug Coating, Drugs made in Germany, 31, 101-102 (1988)

THE RATIONAL SELECTION OF FORMULATIONS FOR PRECLINICAL STUDIES – AN INDUSTRIAL PERSPECTIVE

Chris Roe

Pharmaceutical & Analytical R&D, AstraZeneca R&D Charnwood, Loughborough, UK

During the preclinical testing of new chemical entities (NCE's), it is important to develop formulations which allow convenient and consistent dosing with minimal use of drug substance. Preclinical formulations which enable either the appropriate systemic exposure (oral, intra-venous or sub-cutaneous dosing) or appropriate concentration of drug at the site of action (inhalation and depot dosing) are desired.

In providing suitable preclinical formulations the focus is on simplicity wherever possible to minimise the risk of adding complexity and/or time to development programmes. Various formulation options will be covered in this presentation including solutions, suspensions, emulsions and capsules. These will be illustrated with several case studies. Typical enabling technologies, such as prediction software, databases and in vitro models, used within industry to support preclinical formulation work will also be described.

Preclinical formulations in the pharmaceutical industry play an important role in allowing rapid project team decisions regarding NCE quality. There are many aspects to consider when developing an appropriate preclinical formulation and this presentation aims to provide an overview of the work performed at this phase of development.

PREDICCIÓN DE LA ABSORCIÓN EN LOS ESTUDIOS PRECLÍNICOS: FLUOROQUINOLONAS

Mª Val Bermejo

Departamento Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. Av. Vicente A Estelles sn Burjassot 46100 Valencia
e-mail: mbermejo@uv.es

Introducción

La vía oral es la más usada y conveniente para el paciente y por ello la predicción de la capacidad de absorción de los nuevos candidatos es un aspecto clave en el ámbito de la etapa preclínica de desarrollo. Las metodologías disponibles para predecir la fracción absorbida abarcan desde modelos computacionales o in silico, modelos celulares in vitro hasta modelos animales in situ e in vivo de mayor complejidad y dificultad experimental. Estos procedimientos difieren en cuanto a capacidad de procesado en número de moléculas y en cuanto a la fiabilidad de las predicciones, que es mayor cuanto mas cercano es el modelo a la realidad fisiológica. En la presentación, tomando como ejemplo una familia de fluoroquinolonas se revisará los modelos biofísicos desarrollados para estimar la permeabilidad intestinal a partir de características moleculares como la lipofilia y el peso molecular. A continuación se mostrará la correlación entre diferentes modelos in vitro de la membrana intestinal y un modelo de perfusión in situ. Finalmente, los parámetros de permeabilidad obtenidos en los modelos previos se utilizaran para realizar la estimación de la fracción oral absorbida in vivo que es el parámetro determinante de la biodisponibilidad oral en conjunción con los efectos de primer paso intestinal y hepático. El conjunto de datos que se presentarán son el resultado de diferentes proyectos de investigación destinados a validar estas metodologías y los modelos matemáticos asociados a ellas en nuestro laboratorio. (1-8)

Materiales y Métodos

Materiales

Se realizaron estudios con una familia de 16 fluoroquinolonas derivadas del norfloxaciono, ciprofloxacino y 3'metilciprofloxacino como grupo de validación de los modelos.

Métodos

Se realizaron experimentos de permeabilidad en membranas PAMPA, en monocapas celulares Caco-2, experimentos intestinales in situ en rata anestesiada así como experimentos in vivo en rata mediante administración oral e intravenosa de soluciones de cada fluoroquinolona.

Los experimentos en monocapas celulares y en intestino de rata se realizaron a diferentes concentraciones iniciales para algunas fluoroquinolonas a fin de establecer el mecanismo de absorción (activo, pasivo o combinado). Esto permitió a su vez comparar la funcionalidad de ambos sistemas para este fin.

Resultados y Discusión

Para la familia de fluoroquinolonas estudiadas la lipofilia es el principal condicionante de su permeabilidad intestinal. La capa acuosa estática constituye el factor limitante en la permeación de los elementos más lipófilos y este fenómeno es posible observarlo tanto en las membranas PAMPA como en las monocapas Caco-2 y en los experimentos in situ en intestino de rata. Algunas fluoroquinolonas como la CNV97100 y la grepafloxacina son sustratos de algún transportador de secreción que bien puede ser glicoproteína P o MRP2. Este resultado es similar tanto en Caco-2 como en intestino de rata, si bien los experimentos en el animal permiten además determinar el tramo intestinal donde la permeabilidad es menor y correlacionarlo con el nivel de expresión del transportador a lo largo del intestino del animal. Existe una excelente correlación entre los dos sistemas in vitro, Pampa-Caco-2 y entre estos y los experimentos en rata in situ para aquellas quinolonas cuyo mecanismo de absorción es pasivo. Cuando la quinolona es sustrato de un transportador la bondad de la correlación depende de la similitud en el nivel de expresión en ambos sistemas, si bien las correlaciones provisionales establecidas son prometedoras.
Finalmente las permeabilidades obtenidas en monocapas caco-2 y en rata in situ se utilizaron para predecir la fracción oral absorbida. Ambos sistemas proporcionan buenas predicciones con todas aquellas quinolonas que no son sustrato de portadores intestinales.

Conclusiones

La permeabilidad intestinal estimada en monocapas celulares o in situ en rata es un buen predictor de la fracción oral absorbida en ausencia de otros factores limitantes como la solubilidad o la velocidad de disolución. Los procesos de secreción observados in vitro o in situ no siempre son relevantes in vivo y son necesarios más estudios para conseguir mejorar la predicción sobre su potencial relevancia. El tipo de sistema experimental a utilizar en las fases preclínicas dependerá del numero de candidatos a evaluar y de las preguntas especificas que se desee responder, bien una estimación semicuantitativa de la fracción oral absorbida o bien un conocimiento mas detallado del mecanismo de permeación y su extrapolación in vivo.

Bibliografía

(1) Merino V., Freixas J., Bermejo M.V., Moreno J., Garrigues T.M. and Plá Delfina J.M.: Journal of. Pharmaceutical. Sciences 84 777-782 (1995)

(2) Sánchez-Castaño G., Ruiz-García A., Bañón N., Bermejo M., Merino V., Freixas J., Garrigues T.M., Plá-Delfina J.M. Journal of Pharmaceutical Sciences 89(11) 1395-1403 (2000)

(3)Rodríguez-Ibáñez M, Nalda-Molina R, Montalar M., Bermejo MV, Merino V, Garrigues TM. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 55(2):241-6. (2003)

(4) BermejoM, Avdeef A, Ruiz A, Nalda R, Ruell JA, Tsinman O, González I, Fernández C, Sánchez G, Garrigues TM, Merino V. European Journal of Pharmaceutical Sciences. Vol 21/4 pp 429-441 (2004)

(5) González-Alvarez I, Fernández-Teruel C, Garrigues TM, Casabo VG, Ruiz-García A, Bermejo M. Xenobiotica; 35(12): 1067–1088 (2005)

(6) Rodríguez-Ibañez M, Sánchez-Castaño G, Montalar-Montero M, Bermejo M, Garrigues TM, Merino V. Int J Pharm. 3;307(1):33-41 (2006)

(7) Fernandez-Teruel C, Gonzalez-Alvarez I, . Casabo´ VG, Ruiz-Garcia A, Bermejo M. Journal of Drug Targeting,; 13(3): 199–212 (2005)

(8) Cabrera Pérez MA, González Álvarez I, Fernández Teruel C, Navarro Contestad C Bermejo Sanz M. Journal of Pharmaceutical Sciences, 95(3) (2006)

INMUNOTERAPIA DEL CANCER CON CÉLULAS DENDRÍTICAS MODIFICADAS GENETICAMENTE

Ignacio Melero

CIMA y Clinica Univeritaria. Universidad de Navarra. Pamplona.

Una serie de circunstancias históricas han otorgado a las células dendríticas un lugar importante en la inmunoterapia antitumoral. El descubrimiento de su papel fundamental en la presentación antigénica ha propiciado su uso como adyuvantes en protocolos de vacunación en modelos tumorales de ratón. En estos modelos se han obtenido remisiones tumorales completas. A finales de los años 90 la coincidencia de (i) estos resultados preclínicos prometedores, (ii) la disponibilidad en hospitales de áreas de terapia celular (desarrolladas sobre todo para transplantes de médula ósea y (iii) protocolos de cultivo sencillos para diferenciar células dendríticas a partir de monocitos o precursores mieloides han impulsado la realización de múltiples ensayos clínicos. Los primeros datos clínicos no cumplieron las expectativas, pero se están extrayendo conclusiones sobre la actividad biológica e incluso se han obtenido algunos casos de respuestas clínicas en pacientes con cánceres avanzados. En cualquier caso, algunos de los ensayos que mejores resultados estaban obteniendo han suscitado controversia y sospecha de fraude científico y porque, además, los buenos resultados obtenidos en los grupos piloto no se reproducían cuando se utilizaban los mismos protocolos en grupos más amplios de pacientes. La situación actual de este campo de investigación y desarrollo puede ser vista como una botella medio llena o medio vacía. En cualquier caso, se necesita mejorar la potencia terapéutica en modelos preclínicos, afrontando el riesgo de mayores efectos adversos.

Como una variante de estas estrategias de tratamiento nosotros hemos realizado un ensayo clínico en 18 pacientes con carcinomas digestivos avanzados. El tratamiento consistió en la inyección guiada por ecografía de células dendríticas derivadas de monocitos autólogos y transfectadas mediante un vector adenoviral para expresar los genes de la Interleukina-12. En modelos de ratón una estrategia similar de inyección de células dendríticas ingenierizadas para producir IL-12 resulta en la curación de tumores singénicos transplantables a la cepa de ratón correspondiente. Los rechazos tumorales se producen también en tumores concomitantes a distancia del tumor tratado mediante células dendríticas. En los pacientes incluidos en el ensayo clínico se pudo verificar el efecto biológico del tratamiento y se objetivo una respuesta parcial y dos casos de estabilización transitoria del curso de la enfermedad. Mediante estudios de gammagrafía se siguió la bi - distribución y migración de las células dendríticas destacando el hecho de que se acumulaban en la lesión tratada. Se pudo identificar que la producción tumoral de la quimiocina Interleukina-8 es un mediador importante de la retención de las células dendríticas en el tumor. En la actualidad se están probando estrategias de inmunoterapia combinada para aumentar el beneficio clínico de estas estrategias de tratamiento del cáncer.

DENDRÍMEROS Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS: PAPEL EN LA LIBERACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Mª Angeles Muñoz

Dendrico S.L. (Madrid)

Los progresos realizados en la investigación sobre el SIDA, han conseguido que la infección por VIH se transforme en una enfermedad crónica. Sin embargo el tratamiento antirretroviral presenta una serie de limitaciones: a) La “erradicación” viral, no es posible con el arsenal terapéutico disponible. b) Hasta el 40% de los pacientes VIH+ experimentan fracaso terapéutico que se traduce en la emergencia progresiva de virus resistentes. c) A medio plazo el tratamiento antirretroviral tiene efectos secundarios, especialmente metabólicos, que aumentan la morbilidad de los pacientes VIH. d) El arsenal terapéutico está formado por fármacos dirigidos frente a un número limitado de dianas. e) Existe una baja biodisponibilidad de algunos compuestos que presentan perfiles farmacológicos desfavorables o que requieren administración parenteral. Entre los nuevos abordajes terapéuticos, la aplicación de la terapia génica utilizando oligonucleótidos antisentido (ODNs) o pequeños RNAs de interferencia (siRNAs) dirigidos para silenciar genes del VIH representan una posible alternativa. Hay varios problemas para la utilización de estos ácidos nucleicos debido a la vida media y la posibilidad de atravesar membranas celulares de los mismos. Los dendrímeros carbosilanos (CSDs) son solubles en agua, están basados en la química del carbono y del silicio y se han sintetizado para incrementar la efectividad de los ácidos nucleicos. Hemos comprobado que tanto los CSD solos como los complejos CSD/ODN o CSD/siRNA presentan buena biocompatibilidad, no presentando toxicidad en distintas líneas celulares establecidas (Jurkat, MT-2, U-87) y cultivos primarios de linfocitos T, monocitos y células dendríticas realizando ensayos de MTT, LDH, tinción con azul tripan y de linfoproliferación. Los CDSs son capaces de unir los ODNs o isRNAs incluso en presencia de proteínas plasmáticas (albúmina, suero fetal de ternera y suero AB a distintas concentraciones) y RNasa. Considerando que uno de los principales problemas de la terapia con ODN es que cuando están libres tienen alta afinidad por las proteínas plasmáticas, nuestros datos claramente indican que los CSDs podrían ser útiles para la liberación controlada de los ODNs y permitir la reducción de dosis de los mismos. Hemos comprobado la liberación controlada de los mismos a diferentes tiempos y hemos demostrado por citometría de flujo y microscopía confocal que los CSDs son capaces de transfectar células in vitro con ODN marcados con fluoresceína. Finalmente hemos observado que el complejo CSDs/ODN tiene efecto funcional, ya que tanto la unión de ODNs como de siRNA producen inhibición in vitro de la replicación viral en células mononucleares de sangre periférica. Nuestro objetivo es presentar los dendrímeros como vectores no virales para terapia génica.

EL DESARROLLO DE TITULACIONES EN EUROPA: DESDE LA TEORÍA A LA PRÁCTICA

Endika Bengoetxea

Profesor de la UPV/EHU y evaluador de proyectos europeos en la Comisión Europea

Aunque el desarrollo de titulaciones en general según los parámetros de Bolonia, y de postgrados oficiales en particular, son relativamente recientes en España, otros países de nuestro entorno ya llevan algunos años de adelanto y disponen de ejemplos prácticos que nos sirven de utilidad como referencia. El proceso de Bolonia nos abre indudablemente muchas posibilidades de cooperación entre las universidades, aunque es necesario que sepamos aprovechar la experiencia previa de los otros países para no repetir errores y para poder centrarnos en aspectos que a menudo no se intuyen y que pueden suponernos problemas futuros. Esta experiencia trasciende el ámbito académico y llega incluso al administrativo.

Uno de los aspectos esenciales es la del reconocimiento oficial del mismo. Con las reformas provenientes de los acuerdos de Bolonia se abre la posibilidad de las titulaciones conjuntas, además de las de los dobles que ya existían anteriormente. Algunas instituciones en España ofrecen actualmente títulos dobles (sobre todo a nivel de grado), aunque muchas de ellas no se han diseñado respetando la filosofía de Bolonia y no se centran en aspectos de competencias y de habilitación profesional. Es esencial clarificar y acordar estos dos elementos en el momento de diseñar los planes de estudio, máxime cuando desde Bruselas se está construyendo el marco de cualificaciones europeo que nos obligará a las instituciones educativas (no solo las universitarias) a describir nuestra labor docente en estos términos. Este tipo de iniciativas también se han apreciado en otros países europeos anteriormente, aunque en España debido al retraso en la definición del marco legal no se han corregido a tiempo.

En cuanto al desarrollo curricular, hay que distinguir estos aspectos de objetivos y de competencias a adquirir por los estudiantes, antes incluso de empezar a debatir el contenido y la carga lectiva en créditos ECTS. Aunque en España algunas instituciones planean reformar sus titulaciones sin entrar a fondo en muchos de estos puntos, no se puede dejar de lado este aspecto sobre todo si se desea que la titulación sea interuniversitaria. Esta necesidad es aún mayor habida cuenta de que los diferentes grupos de trabajo de la ANECA ya han elaborado una lista de los criterios que se utilizarán para medir la calidad de las titulaciones en los que los ejes son precisamente estos. En especial para el caso de los masters es necesario tener estos parámetros de referencia para facilitar aspectos de homologación y acreditación. Por último, es también importante fijarse en los criterios que se aplican en los programas europeos de diseño curricular e implementación si la intención es diseñar una titulación internacional, ya que los parámetros que se utilizan actualmente en Bruselas inspiran los parámetros que se aprobarán posteriormente en la ENQA, de la que forma parte la ANECA, y es previsible que se utilicen para la evaluación de postgrados internacionales.

Por último, no podemos dejar de margen el aspecto de la financiación. En Europa existen varias fuentes de financiación de postgrados siempre y cuando nuestra titulación (preferentemente postgrados) cumpla algunos de los requisitos exigidos para su apoyo financiero. En la exposición se hará una revisión de las posibilidades de financiación tanto de diseño curricular como de implementación (mantenimiento) de las mismas.

En la exposición se revisarán todos estos aspectos, con el fin de abordar ejemplos y casos prácticos, de forma que se aportará una visión general de la situación actual, y centrándonos sobre todo en el caso de los postgrados.

APRENDIZAJE Y ADQUISICIÓN DE COMPETENCIAS EN TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA: UNA EXPERIENCIA PILOTO EN LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Ana Isabel Torres-Suárez

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid
e-mail: galaaaa@farm.ucm

Introducción

El presente trabajo plantea la adaptación de la materia troncal Tecnología Farmacéutica al EEES, mediante la transformación del programa actual a créditos europeos y su adaptación a las competencias profesionales. El contenido de la materia Tecnología Farmacéutica está íntimamente relacionado con el mundo profesional farmacéutico (en la Industria Farmacéutica, en Farmacia Hospitalaria, en Oficina de Farmacia y en la Administración Sanitaria) y, por ello, con la integración de la misma en el modelo educativo europeo se busca que los alumnos, además de lograr una buena formación académica, desarrollen habilidades demandadas en el mercado laboral y que no suelen formar parte de los actuales programas universitarios, aproximando de una manera más eficaz las destrezas del alumno a los requerimientos actuales de la sociedad. Se trata de formar profesionales creativos, emprendedores, con juicio crítico, capaces de realizar un trabajo tanto de forma independiente como en grupo y entrenados para su autoaprendizaje.

Metodología

La innovación educativa que recoge el trabajo se centra en el diseño curricular de la materia Tecnología Farmacéutica, con la transformación del programa actual a créditos europeos y su adaptación a las competencias profesionales. Esta transformación conlleva el diseño y desarrollo de materiales y recursos encaminados al aprendizaje autónomo y a la adquisición de competencias para el ejercicio profesional. El trabajo realizado se puede desglosar en 2 puntos:

1.Adaptación del programa a la nueva metodología docente: buscando un aprendizaje más eficaz y atractivo se lleva al alumno, desde conocimientos o experiencias ya adquiridos a abordar nuevos aprendizajes y estrategias estrechamente relacionados con su futura actividad profesional.

2.Definición de estrategias de enseñanza-aprendizaje: el sistema se basará en la asistencia a clase del alumno y en la evaluación continua de las actividades realizadas; mientras que la realización de exámenes será un recurso excepcional. Las estrategias se dividen en aprendizaje individual, aprendizaje colectivo y autoevaluación.

Esta propuesta educativa se ha implementado en un grupo piloto de 26 alumnos, en la Universidad Complutense de Madrid y ha contado con la financiación del Vicerrectorado de Innovación y Espacio Europeo de Educación Superior a través de un Proyecto de Innovación Docente.

Resultados

1. Adaptación del programa a la nueva metodología docente:

En el programa propuesto, las nuevas unidades temáticas corresponden al estudio individualizado de las diferentes formas farmacéuticas detallando, además de las distintas técnicas de elaboración (excipientes, etapas, equipamiento, variables y controles en proceso), las operaciones básicas y los sistemas farmacéuticos implicados en cada caso. De este modo, el alumno va estudiando de forma paulatina las operaciones básicas farmacéuticas y los sistemas dispersos, aplicándolos directamente a la elaboración de un medicamento. En la figura 1 se recogen, a modo de ejemplo, los contenidos de la unidad correspondiente al estudio de las formas farmacéuticas líquidas orales.

2. Definición de estrategias de enseñanza-aprendizaje.

2.1 *Actividades de aprendizaje individual*: se establecen de forma continua.

FORMAS LÍQUIDAS ORALES
Jarabes y elixires
- *Disolución*
- *Mezcla de líquidos*
- *Filtración*
- *Extracción*
- *Concentración de disoluciones*
- Conservantes
- Colorantes, edulcorantes y aromatizantes
Otras formas líquidas orales

Figura 1. Contenidos de la unidad temática Formas líquidas orales.

- Búsqueda de información complementaria a la lección magistral: información fácil de encontrar y entender, consultando fuentes bibliográficas accesibles al alumno. De gran interés los estudios

comparativos (de distintos equipos, distintas técnicas...), que obligan al alumno a entresacar la información de distintas fuentes.

- Comentarios de trabajos publicados: Se reparte una separata sencilla de entender a los alumnos y se plantean preguntas sobre el contenido de la misma.

- Búsqueda de respuestas a problemas planteados: Durante las lecciones magistrales se plantean cuestiones o problemas que el alumno, apoyándose fundamentalmente en los conocimientos teóricos expuestos, tiene que resolver.

- Resolución de supuestos prácticos: tratamiento de datos de análisis granulométrico, cálculo de parámetros para realizar una desecación...

- Prácticas de laboratorio: se le proporciona al alumno un cuaderno de prácticas donde se describen las mismas, y que ha de completar con cálculos y protocolos de trabajo para los ensayos de control que busca previamente en la farmacopea. Cada práctica se realiza en la unidad temática correspondiente.

2.2. *Actividades de aprendizaje colectivo*:

- Trabajos en grupo: en cada unidad temática los alumnos describen en un trabajo los pasos a seguir para la elaboración de una forma farmacéutica: selección los constituyentes, descripción de las etapas, elección de equipos, definición variables y caracterización de los productos intermedios y el producto final. La figura 2 muestra el esquema de uno de estos trabajos.

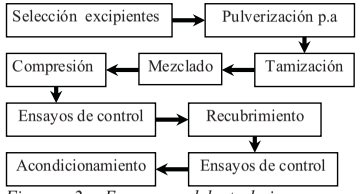


Figura 2. Esquema del trabajo en grupo "Comprimidos recubiertos"

- Organización y participación en un Congreso. Al final del curso, se organiza una jornada que presenta todas las características de un congreso: con comité organizador integrado por alumnos, y comité científico integrado por profesores de Tecnología Farmacéutica. El programa de la jornada incluye una Mesa Redonda, una Conferencia Plenaria, Sesiones Científicas y Exposición de Posters. La respuesta de los alumnos fue masiva: 169 inscripciones, se presentaron 61 posters y 7 comunicaciones orales.

2.3. *Actividades de autoevaluación*:

- Por cada unidad temática el alumno ha de redactar 10 preguntas de los temas tratados e incluir su respuesta con las fuentes bibliográficas correspondientes.

- Cada cuatrimestre, el profesor elabora una presentación con 20 imágenes (Figura 3), que el alumno ha de identificar y describir en clase, y luego revisar, evaluar y completar las respuestas en 24h, consultando la bibliografía que estimen oportuna.

Figura 3. Ejemplo de imágenes incluidas en un ejercicio de autoevaluación..

Conclusiones

- Con el programa y la metodología propuestos se ha conseguido el fortalecimiento de las habilidades del estudiante para identificar, analizar y proponer soluciones a los problemas relacionados con la Tecnología Farmacéutica.

- Se ha logrado un importante acercamiento entre el mundo académico y el ejercicio profesional, adaptándose de una manera más eficaz las destrezas del alumno a los requerimientos actuales de la sociedad.

- Para una misma carga lectiva teórica la dedicación del profesor en la práctica se duplica.

- El sistema sólo se puede implementar con grupos muy reducidos de alumnos (25), que han de disponer de infraestructuras adecuadas (salas de reunión, salas de informática, bibliografía...)

Bibliografía

(1) M.C. Chamorro Plaza y P. Sánchez Delgado. Iniciación a la docencia universitaria. Instituto Ciencias de la Educación. UCM. 2005.

(2) I Jornada de Asignaturas Piloto UCM. La Docencia en el EEES. 21 junio 2005. UCM.

METODOLOGÍAS DOCENTES EN EL ÁREA DE CONOCIMIENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA EN LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE NAVARRA

Iñaki F. Trocóniz

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Navarra Irunlarrea 1. 31080 Pamplona-Navarra
e-mail: itroconiz@unav.es

Con vistas a la adaptación al Espacio Europeo de Educación Superior la metodología docente en el área de conocimiento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica en nuestra Universidad ha visto modificado su perfil fruto de tres tipos de iniciativas: (i) Creación por parte de la Universidad de Navarra de un Servicio Inter-facultativo de Innovación Educativa, (ii) creación por parte de la junta de Facultad de los comités de docencia de grado y postgrado, y (iii) estrategias a nivel de Departamento.

El objetivo de esta comunicación es describir brevemente las actividades propuestas e implementadas para cada una de las citadas iniciativas.

Servicio de Innovación Educativa (http://www.unav.es/innovacioneducativa/): La función de este Servicio es la de asesorar al profesorado a través de sesiones y cursos de formación:

- Uso de herramientas de ayuda a la docencia
  - Creación de páginas web
- Uso de plataformas educativas en la docencia (plataforma Adi)
- Sesiones para la adaptación de los planes de asignatura al Espacio Europeo de Educación Superior
  - Cómo preparar exámenes tipo test de forma adecuada.

Comité de estudios de grado: Tiene dos funciones principalmente:

Coordinar para cada curso de la licenciatura la elaboración de temarios acordes con los objetivos de Bolonia

Identificación actividades docentes que podrían ser consideradas de vanguardia a la hora de valorar la estrategia dirigida a mejorar el perfil profesional del alumno:

Promover el uso del Inglés entre el alumnado y profesorado

- New Trends in Pharmaceutical Sciences, donde se han impartido charlas de divulgación en Farmacocinética y Tecnología Farmacéutica
- Asignaturas optativas (Radiopharmacy, Nutrition and Health)

Comité de estudios de posgrado: En la actualidad tiene como finalidad la coordinación de las distintas ofertas de Másters de la Universidad de Navarra.

Departamento: El Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Navarra imparte siete asignaturas troncales, y cuatro asignaturas optativas (http://www.unav.es/farmytec/).

Uno de los objetivos para el presente curso Académico es la presentación en página Web, además del programa, y objetivos de cada asignatura, del material docente, casos prácticos, y trabajos dirigidos.

Se están realizando experiencias encaminadas a potenciar el trabajo personal del alumno y fomentar su implicación en la asignatura a través de autoevaluación voluntaria utilizando la plataforma informática Adi.

En relación a los sistemas de evaluación, la participación activa del alumno durante las sesiones presenciales, y su disposición a realizar trabajos de consulta propuestos es valorada dentro de la evaluación final.

Además el Departamento cuenta con un programa de doctorado "Biofarmacia, Farmacología y Calidad de Medicamentos" con mención de calidad, la especialidad de Farmacia Industrial y Galénica, y una Línea Especial de Investigación. Estas actividades proporcionan al alumno de posgrado un mayor contacto con el mundo profesional empresarial y Universitario nacional e internacional a través de visitas, seminarios, y cursos impartidos por especialistas invitados.

APROXIMACIÓN AL EEES DE LAS TITULACIONES DE FARMACIA DE LAS UNIVERSIDADES ANDALUZAS

M. Fernández-Arévalo[1], Manuel Miró Jodral[2], Agustín García Asuero[1], Luis Recalde Manrique[2]

[1]Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla; [2]Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada
Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/ Profesor García González nº 2, 41012 Sevilla
e-mail: mfarevalo@us.es

Introducción

Desde la Dirección General de Universidades de la Junta de Andalucía se están promoviendo las acciones necesarias conducentes a la integración en el Espacio Europeo de Educación Superior (EEES). Entre otras, mediante convocatorias por la que más titulaciones y centros desarrollen guías docentes conforme al sistema de créditos europeo (ECTS). Lógicamente, éstas deben estar enmarcadas aún en los planes de estudios vigentes. A su vez, esta acción está incluida dentro de los Planes Propios para la convergencia Europea de las dos Universidades Andaluzas en las que se imparte la Titulación de Farmacia, las universidades de Granada y Sevilla.

Ambas facultades han participado en esta convocatoria, bajo la coordinación de la Facultad de Granada.

Para elaborar la guía única, se han debido resolver diversas cuestiones de diferentes índoles, entre las que caben destacar, entre otras, la manera de conseguir traducir de forma homogénea los créditos LRU en créditos ECTS, manteniendo intacto los dos planes de estudios actuales, así como la forma de distribuir los créditos de cada asignatura de modo que permitan desarrollar lo más adecuadamente posible las competencias preestablecidas.

Metodología y resultados

El proceso se ha abordado en dos fases: en la primera se han contemplado las materias troncales de toda la titulación (primero y segundo ciclos), dejando para una segunda intervención las obligatorias de universidad, asignaturas optativas y de libre configuración.
Con esta actuación se consigue que el profesorado se aproxime a los nuevos conceptos implicados en el EEES, principalmente en lo que respecta al nuevo sistema europeo de transferencia de créditos, la puesta en marcha del Suplemento Europeo al Título, y la nueva homologación europea de los planes de estudios.
Se comenzó elaborando un calendario de actuaciones que, aunque no se llevó a cabo con exactitud, sirvió para programar las tareas a realizar. Uno de los puntos críticos del proyecto consistió en una reunión conjunta de los coordinadores de las asignaturas implicadas de ambas Facultades.

También se llevaron a cabo diversas reuniones con el profesorado explicando en qué consiste el nuevo sistema educativo, estableciéndose la conveniencia de valorar más la formación universitaria y la disponibilidad para el empleo de los conocimientos que el dominio de la información, y explicando algunas de las formas de abordar las fichas técnicas a desarrollar para las asignaturas

Uno de los temas de mayor trascendencia consistió en traducir los créditos actuales LRU a créditos ECTS, manteniendo los planes de estudio vigentes.
Para ello, se han considerado las siguientes circunstancias:

* Un curso académico (60 créditos ECTS)
  * L. Farmacia (5 años) 300 créditos ECTS
    * Estancias 30 créditos ECTS
* Créditos de actividades de LCC (10 % del total) 30 créditos ECTS
* Créditos asignaturas Optativas (5 % del total) 15 créditos ECTS
* Créditos disponibles (Troncales y Obligatorias) 25 créditos ECTS

La transformación de los créditos LRU a créditos ECTS se llevó a cabo mediante la ecuación:

Créditos teóricos + Créditos prácticos / 1.45

El factor 224,5/sumatorio de créditos LRU de todas las asignaturas troncales y obligatorias permite transformar los créditos LRU de cada asignatura troncal en créditos ECTS.

Otro tema importante consistió en la forma de abordar la organización de las enseñanzas, tomando como punto de partida el volumen de trabajo que ha de desarrollar el alumno para superar una materia:

Se consideró el mantener un mínimo del 70 % del componente LRU para las clases presenciales teóricas y prácticas, en la proporción establecida en los Planes de Estudios, organizando el 30 % restante para otras actividades que requieren la presencia del Profesor. El resto, hasta completar el total de horas de trabajo del estudiante, se dedica a la realización de actividades académicas dirigidas sin presencia del profesor, como tutorías individuales, exámenes, trabajo personal autónomo (entendido, en general, como horas de estudio, trabajo personal...). Se presenta un ejemplo en la Figura 1

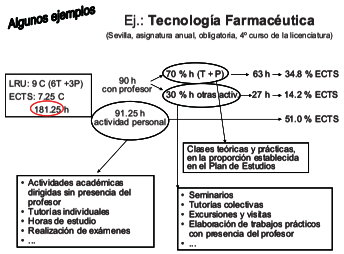


Figura 1. *Ejemplo de la organización de la enseñanza de la materia propia de la asignatura Ampliación de Tecnología Farmacéutica (Asignatura anual obligatoria de 4º curso de la Licenciatura de Farmacia de Sevilla).*

El resultado de cuantificar el trabajo global del estudiante se recoge en la Tabla 1.

Actividad	Horas presenciales	Factor de esfuerzo	Horas actividades personales	H. TOTALES
Clases teóricas	42	1.25	52.5	94.5
Clases prácticas	15	0.5	7.5	22.5
Supuestos basados en problemas	6	2.5	15	21
Supuestos prácticos	2	10	20	22
Tutoría obligada	1.25	0	0	1.25
Exámenes	4	4	16	20
				181.25

Tabla 1. *Cuantificación del trabajo global del estudiante para la asignatura Ampliación de Tecnología Farmacéutica (Asignatura anual obligatoria de 4º curso de la Licenciatura de* Farmacia de Sevilla).

Lógicamente, para realizar esta labor primero hubo de identificarse las competencias, habilidades y destrezas que debe conseguir el futuro farmacéutico. Para ello, se han seguido las ideas expuestas por la Federación Farmacéutica Internacional (FIP), Directiva Europea (art. 41 (2) 2001/19/EC), Ministerio de Educación y Ciencia, Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, y Libro Blanco de Grado de Farmacia, Agencia Nacional de Evaluación de la Calidad y Acreditación, 2005(1).

Como resultado inicial, las fichas de todas las asignaturas implicadas en este proyecto, para ambas facultades se encuentran recogidas en las páginas web de ambos centros (http://www.farmacia.us.es/) (http://farmacia.ugr.es/)

Conclusiones

Los resultados obtenidos han sido muy positivos. De hecho con estas experiencias se ha concluido que las Facultades de Farmacia tanto de Granada como de Sevilla hayan decidido participar en la Convocatoria de Incentivos para realizar Experiencias Piloto para la Implantación ECTS en el curso 2006-2007, promovida por la Dirección General de Universidades de la Secretaría de Universidades, Investigación y Tecnología de la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa de la Junta de Andalucía.

Bibliografía

(1) A.G. Asuero, Libro Blanco de Grado en Farmacia, ANECA, 2005.

(2) M. Fernández-Arévalo, M. Miró Jodral, A. García Asuero, L. Recalde Manrique, "Guía Docente Única de la Titulación de Farmacia de las Universidades Andaluzas, Jornadas Nacionales de Intercambio de Experiencias Piloto de Implantación de Metodologías ECTS, Badajoz, 2006.

HACIA EL ESPACIO EUROPEO DE EDUCACIÓN SUPERIOR: EXPERIENCIA DOCENTE EN FARMACIA GALÉNICA (Se Retiene mejor lo que se Discute y luego se Realiza)

Guzmán M., Aberturas M.R., Molpeceres J.

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá. Campus Universitario. Alcalá de Henares 28871. e-mail: manuel.guzman@uah.es

Introducción

La Declaración de Bolonia (1) de 1999 estableció como objetivo de la UE la construcción de un "Espacio Europeo de Educación Superior", basado en la calidad, movilidad, diversidad y competitividad de las enseñanzas. Con ello se persigue la universalización de la Formación Superior, de manera que permita atraer a estudiantes y profesores de todo el mundo, y una profunda reforma y modernización de las universidades con el fin de convertirlas en agentes activos para la transformación de Europa (2). Otros documentos españoles y europeos se pueden encontrar en la página web de la UAH (3).

Este Espacio Europeo de Educación Superior se asienta sobre el establecimiento del Sistema Europeo de Transferencia de Créditos (ECTS) en las titulaciones oficiales de grado y de posgrado y constituye el punto de referencia básico para lograr la transparencia y armonización de sus enseñanzas. En el Real Decreto 1125/2003 (4) por el que se establece el sistema europeo de créditos y el sistema de calificaciones en las titulaciones universitarias de carácter oficial y validez en todo el territorio nacional, se dice textualmente que: "este sistema constituye una reformulación conceptual de la organización del currículo de la educación superior mediante su adaptación a los nuevos modelos de formación centrados en el trabajo del estudiante. Esta medida del haber académico comporta un nuevo modelo educativo que ha de orientar las programaciones y las metodologías docentes centrándolas en el aprendizaje de los estudiantes, no exclusivamente en las horas lectivas".

El proceso de aprendizaje

Se pueden distinguir diferentes fases o etapas en el proceso del aprendizaje. La primera es la *fase receptiva* que requiere una predisposición al estímulo para poder continuar adelante; seguidamente la información recibida se discrimina y elabora, *fase elaborativa*, para incorporarla al esquema psíquico del alumno generando así en él conocimiento nuevo, *fase adquisitiva.* Estos conocimientos adquiridos generan a su vez inquietudes y estímulos para nuevos procesos de aprendizaje, *fase extensiva.*

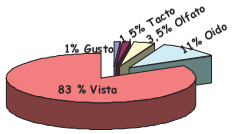


Figura 1.-

Por último, la exteriorización de lo aprendido se conoce como *fase expositiva,* cuando se verbaliza y *fase práctica,* cuando se aplica. Por tanto, la primera cualidad que debe existir es la motivación, que actúe de fuerza impulsora en todo el proceso de aprendizaje. La figura 1 muestra la influencia que tiene la vía de entrada de la información en el aprendizaje.

Tabla 1.- *Porcentaje de datos retenidos en la memoria en función del medio de transmisión utilizado*

- 10% de lo que leemos
- 20 % de lo que escuchamos
- 30% de lo que vemos.
- 50% de lo que vemos y escuchamos.
- 70% de lo que decimos y discutimos.
- 90% de lo que decimos y luego realizamos.

Por otro lado los conocimientos se retienen (5) (Tabla 1) y perduran en el tiempo (Tabla 2) de forma marcadamente diferente dependiendo de la metodología utilizada en el aprendizaje.

Tabla 2- *Datos retenidos al cabo de 3h y de tres días en función del método de enseñanza.*

METODOLOGÍA	a las 3 horas	a los 3 días
Oral	70 %	10 %
Visual	72 %	20 %
Oral y Visual	85 %	65 %

Experiencia docente en Farmacia Galénica

A pesar de que la metodología de enseñanza que se utiliza en ciencias experimentales se organiza entorno a actividades conceptuales y actuariales, es de sobra conocido que resulta difícil conseguir una formación integral del alumno crítica, creativa y participativa en el periodo de grado. No obstante eso es los que se propone en la Declaración de Bolonia.

Si efectuamos un análisis sobre la formación de nuestros alumnos, se aprecia que las principales carencias y dificultades se podrían concretar en las siguientes:

1.- Falta de asimilación de los conocimientos. El alumno los almacena o empaqueta sin que lleguen a generar en él conocimiento nuevo: En el examen los extrae y vierte en el papel.
2.- Dificultades para establecer correlaciones entre los diferentes temas del programa y para utilizar conocimientos previamente adquiridos en otras disciplinas.
3.- Dificultades para exponer ordenadamente (oral y escrita) los conocimientos adquiridos.
4.- Escasa consulta de los libros. No se contrastan ni completan los apuntes y no se hace uso de la Biblioteca.
5.- Desconocimiento de cómo realizar una búsqueda bibliográfica de un tema científico.
6.- Los alumnos no están acostumbrados a realizar trabajos en grupo y desarrollar habilidades de análisis y síntesis.

Experiencia docente en Farmacia Galénica

Para intentar cubrir, en la medida de lo posible, estas deficiencias, los profesores de teoría de la asignatura de Farmacia Galénica de la Universidad de Alcalá nos propusimos poner en práctica alguna actividad complementaria a la programación docente ordinaria. Así, desde el curso 2000-2001 se ofrece a los alumnos la posibilidad de realizar un trabajo bibliográfico dirigido, de carácter voluntario, con un doble objetivo:

- mejorar las capacidades que la metodología de docencia clásica no permite abordar o en las que que tienen mayores dificultades y
- disponer de un criterio de valoración adicional a tener en cuenta en su nota final, siempre que hayan superado el examen ordinario.

El trabajo tiene por objeto la realización de una memoria bibliográfica que abarque todos los aspectos implicados en el desarrollo y preparación de un medicamento de uso humano elaborado industrialmente. Los objetivos que se pretende conseguir se orientan a que los alumnos:

- Alcancen un mayor grado de motivación para abordar la asignatura
- Conozcan y manejen la literatura científica y los códigos oficiales (las Farmacopeas)
- Estudien en mayor profundidad una forma farmacéutica
- Realicen un trabajo en equipo
- Sean capaces de organizar la información y elaborar una memoria
- Mejoren sus capacidades de razonamiento, toma de decisiones y solución de problemas.
- Desarrollen un pensamiento lógico, crítico y creativo
- Sean capaces de realizar una presentación oral en público.

Metodología

El problema que se les propone es global: dado un fármaco, realizar un proyecto de desarrollo de un medicamento. En su abordaje los alumnos se ven en la necesidad de integrar, analizar y asimilar una gran cantidad de conocimientos diversos, lo que les va a facilitar el aprendizaje integral de la materia, al tiempo que les permite el desarrollo de habilidades intelectuales de razonamiento.

La metodología que se sigue se basa en la actividad centrada en el alumno; para lo cual los participantes se organizan en grupos de 3 alumnos cada uno, siendo ellos los principales protagonistas del proceso. A cada grupo se le asigna un fármaco y una forma farmacéutica diferente. Esto permite abarcar, en conjunto, un amplio número de formas y procesos farmacéuticos y disponer de una extensa visión de la asignatura. Los alumnos deben buscar y analizar por ellos mismos la información, si bien cuentan en todo momento con el apoyo, seguimiento y orientación de un profesor. Los grupos se distribuyen entre los tres profesores, de manera que cada uno se responsabiliza de 2-3 grupos. El número de participantes ha sido de unos 20-25 alumnos por año, aproximadamente, lo que corresponde a un 10-15% de los matriculados.

Mediante reuniones, unas con todos los grupos conjuntamente y otras de cada uno con su profesor responsable, se estimula la participación del alumno y se fomenta la capacidad creativa y la reflexión conjunta.

El trabajo se presenta de tres formas: en un documento ***escrito*** in extenso**,** en forma de ***cartel*** y en ***exposición oral***. En ésta última**,** cada uno de los miembros del grupo expone una parte del trabajo, teniendo como apoyo el cartel que se ha colgado unos días antes en unos paneles de cartón, que se suelen colocar al efecto en una zona del vestíbulo de la Facultad. En el turno de preguntas, que se establece a continuación, se pueden afianzar conceptos y establecer interrelaciones entre los temas, que les sirvan de afianzamiento de los conocimientos adquiridos.

Bibliografía

(1)www.mec.es/universidades/eees/files/Declaracion_Bolonia.pdf
(2) www.uah.es/universidad/espacio_europeo
(3) MEC: La Organización de las Enseñanzas Universitarias. Doc. de trabajo 26 Sept. 2006
(4) R.D. 1125/2003 de 5 septiembre 2003, BOE 224 de 18 de septiembre.
(5) Guía Docente en Formación Dual. Ed. Agrupación de Desarrollo "Periplos" de la Iniciativa Comunitaria Equal (2006). Unidad 6 Los Recursos Didácticos, pag. 238.

Comunicaciones Orales

CO-01 DISEÑO DE MATRICES CONSTITUIDAS POR MEZCLAS DE GLUCOMANANO DE KONJAC Y GOMA XANTANA POTENCIALMENTE ÚTILES PARA LIBERACIÓN COLÓNICA DE FÁRMACOS

Felipe Alvarez-Manceñido, Mariana Landín, Ramón Martínez-Pacheco.

Departamento Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela
e-mail: mlandin@usc.es

Introducción

El glucomanano de konjac (KGM) es un polisacárido no iónico de elevado peso molecular, soluble en agua, compuesto por unidades de glucosa y manosa unidas mediante enlaces glucosídicos ß-(1-4). Presenta gran capacidad viscosizante y de hinchamiento al contacto con el agua. En los últimos años, este material ha recibido una atención creciente debido a su capacidad de formación de geles resistentes, por tratamiento con álcalis o por interacción sinérgica con otros polisacáridos como el quitosano o la goma xantana (1).

El hecho de que el glucomanano de konjac no puede ser hidrolizado por las enzimas digestivas, y sea degradado por la flora colónica anaerobia (2) le convierte en candidato potencial para la elaboración de formas farmacéuticas de liberación colónica.

En este estudio se han elaborado matrices de diltiazem HCl, por compresión previa granulación vía húmeda, de composición acorde con un diseño de mezclas para tres componentes: KGM, goma xantana (XG) y sacarosa (S), con restricciones (polisacáridos totales >20% y sacarosa >20%). Se pretende delimitar la utilidad de la interacción de ambos polisacáridos en la elaboración de matrices que mantengan su integridad física y que permitan ejercer un control eficaz sobre la cesión de fármacos hidrosolubles durante periodos de tiempo superiores a 8 horas.

Materiales y Métodos

Materiales

Como excipientes se utilizaron KGM de origen japonés (Propol A®), XG (Guinama), sacarosa y estearato de magnesio. Se empleó diltiazem HCl (Roig-Farma) (D) como modelo de fármaco hidrosoluble.

Elaboración de las matrices

Se elaboraron siete formulaciones (300mg) cuya composición se indica en la tabla 1.

Para la preparación del granulado se tamizaron (120µm) todos los componentes de la formulación excepto el lubrificante. Se mezclaron en mezcladora túrbula y se malaxaron utilizando una mezcla hidroalcohólica (1:1) como liquido de humectación (volumen ~20%).

	Porcentaje			
Formulaciones	**D**	**KGM**	**XG**	**S**
F1J	30	7	7	56
F2J	30	49	7	14
F3J	30	7	49	14
F4J	30	28	28	14
F5J	30	7	28	35
F6J	30	28	7	35
F7J	30	21	21	28

***Tabla 1**. Composición de los granulados.*

La masa humectada se granuló (malla 1mm) y se secó a 40ºC durante 24 h. El granulado se mezcló con 0,5% de estearato Mg y se comprimió en una máquina Bonals, equipada con punzones de 9mm de diámetro aplicando una fuerza de 14000N.

Caracterización de las matrices

Se determinó la resistencia resistencia a la rotura corregida (TS) de las matrices.
El ensayo de disolución de diltiazem se llevó a cabo de acuerdo con la USP 27. La concentración de fármaco se determinó espectrofotométricamente a 236 nm.
Se evaluó el hinchamiento de los comprimidos sumergiéndolos en el mismo medio de disolución y registrando su diámetro y peso a tiempos preestablecidos.

Resultados y Discusión

La tabla 2 presenta los valores de TS de las formulaciones elaboradas. La resistencia mecánica de las matrices presenta, en función de su composición, diferencias significativas. La regresión multiple secuencial permitió generar la ecuación siguiente:

$$TS\ (MPa) = 7.7\ 10^{-4}\ XG.S + 2.0\ 10^{-2}.S - 1.7\ 10^{-4}.KGM.S - 1.3 10^{-4}.\ KGM.XG$$

(r^2>0.99; F=1891.7; 4 y 3 g.l. α<0.01)

Estudios recientes han puesto de manifiesto que la interacción entre KGM y XG en medio acuoso puede generar geles útiles para modular la cesión de fármacos de distinta naturaleza (3, 4). Las formulaciones elaboradas muestran, mayoritariamente perfiles de disolución de diltiazem muy lentos, (Figura 1) fácilmente justificables por sus características de hinchamiento (Figura 2).

	Tensile Strength (MPa)	
Formulación	**Media**	**Dev.Std**
F1J	2,10	0,20
F2J	0,23	0,03
F3J	1,41	0,08
F4J	0,68	0,18
F5J	2,41	0,18
F6J	1,03	0,20
F7J	1,36	0,16

***Tabla 2**. Valores de TS de las formulaciones.*

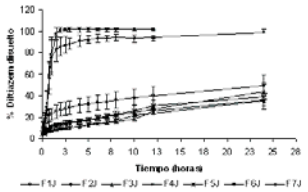


***Figura 1.** Perfiles de disolución de diltiazem de las formulaciones.*

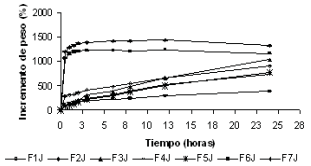


***Figura 2.** Perfiles de incremento de peso (%) por hinchamiento vs. tiempo de las formulaciones.*

Los perfiles de disolución se ajustaron a una cinética de orden cero para la que se consiguieron los mejores resultados, excepto para las formulaciones F1J, F2J y F6J con porcentajes de XG extremadamente bajos. La la difusión de moléculas en geles de KGM/XG está determinada por la presencia de XG en la mezcla (4) lo que permite justificar este comportamiento. Las formulaciones F2J y F6J experimentaron una disgregación rápida; es decir, no se comportan como matrices y liberan rápidamente el fármaco. Tampoco presenta el comportamiento propio de una matriz la formulación F1J como consecuencia de su elevado contenido en sacarosa.

Los perfiles de cesión de diltiazem se compararon utilizando el parámetro porcentaje disuelto a 8 h. La regresión múltiple secuencial permitió obtener la siguiente ecuación:

$\%D_{480min} = 0{,}047.KGM.S.$

(r^2>0.88; F=36.57; 1 y 6 g.l. α<0.01)

Si consideramos que una formulación de las características de las elaboradas, es aceptable para administración colónica si presenta una resistencia mecánica adecuada (TS> 1 MPa) y una velocidad de cesión muy lenta hasta alcanzar la zona colónica ($\%D_{480min}$ < 30%), la superposición de las superficies de respuesta generadas con las ecuaciones obtenidas para ambos parámetros permite determinar el área de intersección en la que las mezclas ternarias son útiles para tal fin (Figura 3).

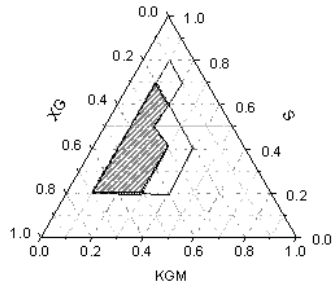


***Figura 3.** Superficies de respuesta correspondientes a TS> 1MPa y $\%D_{480min}$<30%. (areas blancas) y su intersección (área rayada).*

Finalmente, se dispone de datos preliminares relativos a la acción de una β-mananasa de *Aspergillus níger*, sobre las propiedades reológicas de geles elaborados con mezclas de KGM/XG. La degradación de estos sistemas debe conducir a la liberación completa del fármaco a partir de los comprimidos matriz.

Conclusiones

Las mezclas KGM/XG son útiles para la elaboración de matrices, mediante compresión previa granulación vía húmeda, capaces de mantener su integridad física y ejercer un control eficaz de la cesión de fármacos hidrosolubles durante periodos prolongados de tiempo. Además las características de hinchamiento de los sistemas y su susceptibilidad de ser degradados por enzimas producidas por la flora colónica, les confieren utilidad potencial para conseguir la liberación selectiva de fármacos en esa zona del tracto gastrointestinal.

Bibliografía

(1) Paradossi, G. et al. Biomacromolecules, 3, 498-504, 2002.

(2) Nakajima, N. y Matsuura, Y. Biosci. Biotech. Biochem., 61, 1739-1742. 1997

(3) Alvarez-Manceñido et al. Int. J. Pharm. 316, 37-46, 2006.

(4) Alvarez-Manceñido et al. Int. J. Pharm. (en prensa).

Los autores agradecen la financiación de la Xunta de Galicia (PGIDIT05BTF20301PR)

CO-02 ADMINISTRACIÓN DE PROTEINAS A PARTIR DE IMPLANTES DE COPOLÍMEROS DE POLILÁCTICO-CO-GLICÓLICO. ENSAYOS *IN VITRO*

Tomé-Alcalde J., Santiago Torrado, Mª Paloma Ballesteros Papantonakis.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid (UCM) Avda Complutense S/N 28040 Madrid
e-mail: pballesp@farm.ucm.es

Introducción

El gran desarrollo que en la actualidad está teniendo la biotecnología ha generado un nuevo desafío galénico: la administración de fármacos como proteínas y péptidos (Topp, E. y col, 2000). Los comprimidos de implantación, aunque no son una de las formas farmacéuticas con mayor difusión, se han podido emplear con éxito para tratamientos hormonales de larga duración. Una forma de solventar el problema de la retirada del implante es emplear materiales biocompatibles y resorbibles para su fabricación. En estos sistemas, la cesión se rige por una combinación de los procesos de difusión a través de la matriz y la degradación de la misma en el organismo. (Ahmad, I. y col., 1996).

Los copolímeros de láctico y glicólico se han empleado para la fabricación de sistemas de implantación, habitualmente por compresión directa. Usando polímeros de diferente peso molecular en las formulaciones se pueden obtener tiempos de degradación entre 5 y 20 semanas, con retrasos iniciales de entre 0 y 10 semanas.

La albúmina sérica humana fue elegida como proteína modelo para nuestro ensayo por su facilidad de manejo, estabilidad en condiciones de trabajo y facilidad para análisis, así como por la ausencia de toxicidad o efectos adversos de especial relevancia para el ensayo in vivo

Materiales y Métodos

Materiales

Resomer® R203 H (Poli(D,L-láctico)) y Resomer® RG504H (Poli(D,L-láctico-co-glicólico) 50:50), ambos de Boehringer Ingelheim (Alemania). Albúmina Humana 20%® para perfusión intravenosa Rhône-Poulenc Farma SAE, Alcorcón, Madrid..

El reactivo para el análisis de albúmina sérica humana por espectrofotometría ultravioleta-visible según el método de Bradford fue adquirido en Bio-Rad Laboratories, S.A.

Todos los demás reactivos empleados fueron de grado analítico.

Elaboración de los comprimidos

Se elaboraron comprimidos de 100 mg de peso, con un contenido inicial de HSA de 60 mg por comprimido. Esta dosis se eligió con el fin de que la cantidad de proteína no influyera en el comportamiento de los polímeros, y por ser similar a la que se utilizaría en caso de emplear los comprimidos para administrar factores de crecimiento u otros péptidos de elevada actividad y coste.

Proporción RG504H:R203H		RG 504 H (mg)	R 203 H (mg)	µl solución HSA 1 mg/ml	µl H_2O
100	**0**	1000	0	600	0
75	**25**	750	250	600	150
50	**50**	500	500	600	300
25	**75**	250	750	600	450
0	**100**	0	1000	600	600
Blanco RG504H		1000	0	0	600
Blanco R 203 H		0	1000	0	1200

***Tabla 1.** Composición de los comprimidos, por lote de 10 comprimidos.*

Estudios *in vitro*

Estos comprimidos se introdujeron en viales de vidrio individuales con 2000 ml de medio de disolución (tampón fosfato pH = 7,4 USP 26). Los viales se mantuvieron en un baño termostatizado a 37 ºC, del que se comprobaba regularmente la temperatura y el volumen de agua..

A las 24 horas, y después semanalmente hasta la octava semana de ensayo, se realizó la toma de muestra y medición de los volúmenes de medio de disolución remanente. El volumen de alícuota tomado fue de 1000 ml y, tras medir el volumen remanente, se completó hasta el volumen original de 2000 ml empleando para ello el volumen necesario de tampón fosfato pH = 7,4 USP 26.

Todas las muestras de medio de disolución se conservaron congeladas hasta el momento de analizarlas simultáneamente por la técnica de Bradford.

Los comprimidos al término del ensayo se retiraron de los viales, se pesaron, y se liofilizaron para medir el contenido en agua por variación de peso. Después se mantuvieron congelados hasta el momento de analizar el contenido en proteína remanente.

Resultados y Discusión

Al comparar el peso desecado al término del ensayo con el inicial se hizo patente que la erosión al término del ensayo de disolución in vitro es mayor cuanto mayor es la proporción inicial de

RG 504 H, como muestran los resultados recogidos en la tabla 2.

Formulación	Erosión (% de polímero perdido)
Blanco 203H	-0,55%
100% 203H	0,38%
75% 203H – 25% 504H	20,30%
50% 203H – 50% 504H	37,40%
25% 203H – 75% 504H	71,45%
100% 504H	82,85%
Blanco 504H	86,65%

Tabla 2. *Erosión (pérdida de polímero) a término del ensayo in vitro (8 semanas).*

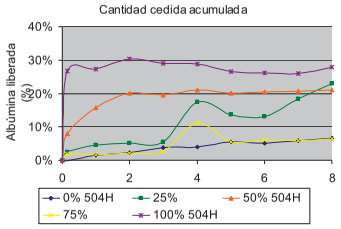


Figura 1. *Cantidad de albúmina cedida (%).*

La figura 1 muestra el perfil de cesión in vitro. En esta figura se observa como la liberación de HSA es más rápida cuanto mayor es la riqueza de la formulación en PLGA. Además se puede apreciar en el estudio de cesión un importante efecto de liberación inmediata en la formulación 100% RG 504 H, efecto que es mucho menor en el resto de comprimidos y que se atenúa conforme disminuye la presencia de PLGA. Este retraso en la cesión por parte del PLA se debe a que la cesión a partir de estos sistemas es dependiente de una combinación de los procesos de difusión y erosión, erosión que es mucho más lenta para el R 203 H, y coincide con lo observado por varios autores (Anderson, J.M. y col, 1997; Loo, J.S.C. y col, 2004).

En ningún caso se libera más del 30% del contenido inicial en principio activo, lo que puede ser debido a una degradación del mismo o a su retención por la matriz polimérica. (Topp, E. y col, 2000).

La degradación de los comprimidos no es uniforme, siendo más acusada en el interior que en la superficie como se observa en la microfotografía de la figura 2.

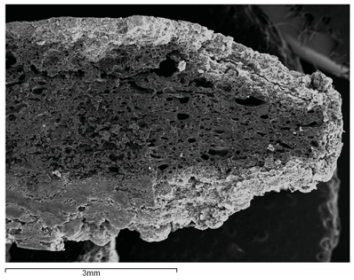


Figura 2. *Degradación heterogénea de un comprimido de PLGA.*

Esta degradación también es más acusada cuanto mayor es la proporción de PLGA (Blanco y col., 2006).

Conclusiones

La captación de agua y los procesos de erosión fueron más rápidas en las formulaciones con PLGA (Resomer® RG 504 H). Los estudios de microscopía electrónica confirman una degradación heterogénea de los comprimidos. Esta degradación es cualitativa y cuantitativamente diferente en virtud de la proporción de los dos polímeros empleados.
El efecto de cesión inmediata disminuye conforme aumenta la proporción de PLA (Resomer® R 203H) en la formulación.
La cesión de proteína (albúmina sérica humana) durante los ensayos in vitro es más rápida y completa cuanto mayor es el contenido en PLGA en el comprimido de implantación.
Las características de cesión más interesantes para subsiguientes estudios in vivo las presenta la formulación PLGA : PLA 50:50

Agradecimientos. Fundación Rafael Folch.

Bibliografía

Anderson J.M. y col., Advance drug delivery review 28, 5-24 (1997).

Ahmad I. y col., Acta Neurochir (Wien) 138, 1230-1240 (1996).

Topp E. y col., Handbook of Pharmaceutical Controlled Release. Chapter 33, 693-724 (2000).

Loo J.S.C. y col., Biomaterials 26 (12), 1359-1369 (2005).

Blanco M.D. y col., International Journal of Pharmaceutics (2006) in press.

CO-03 CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA Y CINÉTICA DE DISOLUCIÓN DE UN SISTEMA DISPERSO HIDRÓFILO ELABORADO CON UN POLÍMERO HIDROFOBICAMENTE MODIFICADO

Claro C., Rodríguez del Rey R., Jiménez-Castellanos M.R. Lucero M.J.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. Profesor García González, 2. 41012 Sevilla.
e-mail: mjlucero@us.es

Introducción

La administración de fármacos a través de la piel ofrece muchas ventajas sobre la vía oral y parenteral (1). Por otra parte en los últimos años, los hidrogeles se han considerado buenos candidatos para la administración a través de piel y mucosas. Dentro de este campo, diferentes estrategias se han propuesto para incrementar la eficacia de los sistemas de liberación de fármacos (2). Una de ellas consiste en incorporar grupos hidrófobos a moléculas hidrófilas, formadoras de gel, y obtener polímeros hidrofóbicamente modificados. Los éteres de celulosa son comúnmente utilizados para elaborar preparaciones farmacéuticas (3), pero al mismo tiempo se están investigando diferentes modificaciones hidrofóbicas con el fin de conseguir excipientes de liberación modificada de fármacos (4).

El objetivo de este trabajo es estudiar la liberación de un fármaco modelo (teofilina) desde un sistema disperso hidrófilo elaborado con un copolímero de injerto de hidroxipropil celulosa y metacrilato de metilo (HCMMA) (5), utilizado por nuestro Grupo de Investigación como excipiente de sistemas matriciales de liberación modificada (6,7).

Materiales y Métodos

Materiales

Copolímero de injerto de hidroxipropil celulosa-metacrilato de metilo (HCMMA), polioxietilen (EO=5) nonil fenil eter (Igepal CO 520®, Sigma-Aldrich, Barcelona) y Teofilina anhidra (Roig Farma, S.A. Barcelona).

Elaboración de sistemas dispersos hidrófilos

Se ha preparado un sistema disperso hidrófilo con HCMMA, Igepal CO 520® y agua purificada, en las proporciones 1.5:21:77.5 % p/p respectivamente. Para ello se ha utilizado un homogeneizador Ultra-Turrax T18 equipado con una turbina S-18 N-19 (IKA, Staufen, Alemania) a una velocidad de 6000 rpm. Se ha controlado la temperatura a 37ºC mediante una baño termostatizado. Al sistema así obtenido, se le ha añadido teofilina en las proporciones de 0.5, 1 y 1.5 % p/p. Para su elaboración, en primer lugar se ha disuelto la teofilina en el agua, a continuación se ha dispersado el tensoactivo y por último se ha incorporado el copolímero de injerto. En estas condiciones se ha obtenido un sistema disperso hidrófilo tipo espuma.

Estudio reológico

Los estudios reológicos se han realizado mediante un reómetro RS-100 de esfuerzo controlado (Haake, Karlsruhe, Alemania). El sistema sensor utilizado ha sido placa-placa rugoso de 60 mm (PP60R). Se ha controlado el esfuerzo a 2 Pa. La temperatura del ensayo se ha mantenido a 37ºC. Todas las muestras han permanecido en reposo 24 horas antes de realizar los ensayos reológicos, tanto en cizalla rotacional como oscilatoria.

Estudios de disolución *in vitro*

Los ensayos de disolución se han realizado utilizando un aparato de disolución USP 27 tipo 2 (paletas) (Aidec, Barcelona). En el interior de cada vaso con 900 mL de solución reguladora de fosfatos (pH=6.8) como medio de disolución, se ha sumergido un dispositivo denominado Enhancer cell® (Vankel Industries. Barcelona) de 2 cm de diámetro. Este dispositivo consta de un receptáculo donde se introduce la muestra, una membrana a través de la cual se realiza la liberación del fármaco y un anillo que ajusta todo el dispositivo perfectamente. La muestra depositada ha sido de 1.5 g de las espumas que incluyen 0.5, 1 y 1.5 % de teofilina. La membrana que se ha utilizado ha sido de nitrato de celulosa de 25 mm de diámetro y 0.45 µm de tamaño de poro (Whatman® Internacional, Maidstone, Inglaterra). Previamente, la membrana ha sido puesta en contacto con el medio de disolución durante 24 h para facilitar su humectación. La superficie efectiva resultante ha sido de 1.77 cm^2. Las paletas del aparato de disolución tenían una velocidad de agitación de 100 rpm y se han colocado a una distancia del Enhancer cell® de 3 cm. La temperatura se ha mantenido a 37±0.5ºC y la duración del ensayo ha sido 1440 min.

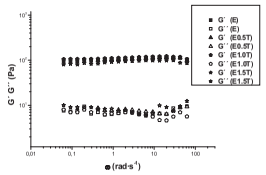
Las concentraciones de teofilina se han determinado de forma automática y a intervalos de tiempos regulares por espectrofotometría a 272 nm (Hewlett Packard 8452A diode array UV-visible, Waldbronn, Alemania).

Los datos de liberación se han ajustado a la ecuación de Higuchi ($Q/A=2C_0(Dt/\pi)^{1/2}$) (8). El análisis de la regresión se ha efectuado mediante el programa SPSS versión 14.0.

Resultados y Discusión

Se ha elaborado un sistema disperso hidrófilo con un copolímero de injerto de hidroxipropil celulosa hidrofobicamente modificado con metacrilato de metilo (5). Dada su hidrofobicidad y para dispersarlo en agua, se ha utilizado un tensoactivo no iónico, polioxietilen (EO=5) nonilfenil eter (Igepal CO 520®) de HLB 10. En estas condiciones se ha obtenido un sistema disperso tipo espuma. Se ha procedido a realizar la caracterización reológica de los distintos preparados para lo que se ha tenido que utilizar un sistema sensor rugoso (PP60R) con el fin de evitar los problemas de deslizamiento que inicialmente se han presentado. Los resultados indican que estas espumas se comportan como sistemas no Newtonianos y viscoelásticos. La Figura 1 muestra los resultados del estudio en cizalla oscilatoria cuando se realiza un barrido de frecuencia a esfuerzo controlado de 2 Pa. Se puede observar la representación de las componentes viscosa y elástica características de las estructuras gelificadas. La adición de los distintos porcentajes de teofilina no modifica el comportamiento reológico.

Figura 1. *Barridos de frecuencia de las espumas sin fármaco (E) y con teofilina al 0.5 (E0.5T), 1.0 (E1.0T) y 1.5 (E1.5T) % p/p a 37ºC.*



El estudio de la disolución de teofilina se ha llevado a cabo mediante una Enhancer cell®, dispositivo alternativo (2,9,10) a las células de difusión de Franz y Valia-Chien (3). En la Figura 2 se exponen los pocentales de teofilina liberados en función del tiempo para las 3 espumas en estudio. En todos los casos la cinética de disolución se ha ajustado a la ecuación de Higuchi. Los coeficientes de de determinación (r^2) y de difusión se exponen en la Tabla 1. Estos resultados indican que se produce un descenso en el porcentaje de teofilina disuelta conforme aumenta la concentración de fármaco en la muestra, coincidiendo con un descenso en el coeficiente de difusión. Dado que el comportamiento reológico de las espumas no se ha modificado con el incremento de teofilina, pueden ser las interacciones que se establecen entre el fármaco y la estructura gelificada las que justifiquen este hecho.

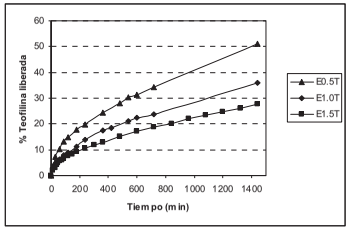


Figura 2. *Perfiles de disolución de las espumas con teofilina al 0.5 (E0.5T), 1.0 (E1.0T) y 1.5 (E1.5T) % p/p a 37ºC.*

	E0.5T	E1.0T	E1.5T
r^2	0.998	0.996	0.997
D (cm^2/min)	9.6E-9	5.0E-9	2.9E-9

Tabla 1. *Coeficientes de determinación y de difusión de las espumas con teofilina al 0.5 (E0.5T), 1.0 (E1.0T) y 1.5 (E1.5T) % p/p .*

Agradecimientos

Ministerio de Educación y Ciencia (MAT2004-01599) y Acciones Coordinadas de la Junta de Andalucía.

Bibliografía

(1) Parsaee S. et al. Int. J. Pharm. 241, 185-190, 2002.
(2) Bonacucina G. et al. Int. J. Pharm. 307, 129-140, 2006.
(3) Alvarez C. et al. Int. J. Pharm. 180, 91-103, 1999.
(4) Miller D. et al. Colloid Surface A 288, 165-169, 2006.
(5) Castellanos I. et al. Int. J. Pham. 146, 71-79, 1997.
(6) Ferrero C. et al. Int. J. Pharm. 149, 233-240, 1997.
(7) Ferrero C. et al. J. Control. Release 92, 69-82, 2003.
(8) Higuchi W.I. J. Pharm. Sci. 51, 802-804, 1962.
(9) Rege PR. et al. J. Pharm. Biomed. Anal. 17, 1225-1233, 1998.
(10) Djordjevic L. et al. Int. J. Pharm. 296, 73-79, 2005

CO-04 COMPLEJOS DE INCLUSION NITRATO DE SERTACONAZOL: CICLODEXTRINA. CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR POR MODELIZACIÓN MOLECULAR.

Rosa dos Santos, J.F., Rodríguez-Pérez, A.I., Costas-Crespo, S., Rodríguez-Tenreiro, C., Torres-Labandeira, J.J.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. Campus Universitario Sur. 15782. Santiago de Compostela.
e-mail: ffjuant@usc.es

Introducción

La química computacional permite racionalizar la observación experimental y aporta información complementaria a la obtenida experimentalmente, sentado las bases para la realización de predicciones sobre las que diseñar futuros experimentos. El uso de la química computacional en el área de las ciclodextrinas -oligosacáridos cíclicos ampliamente utilizados en tecnología farmacéutica por su capacidad para formar complejos de inclusión- es relativamente reciente y su aplicación limitada debido a su tamaño, son moléculas relativamente grandes, y flexibles que, a menudo, se estudian en medio acuoso, lo que obliga a la introducción de muchas restricciones en los modelos de estudio (1).

La complejación con ciclodextrinas permite incrementar la solubilidad, estabilidad y biodisponibilidad de las moléculas encapsuladas (2). En el presente trabajo se ha estudiado la complejación del nitrato de sertaconazol (NS), antifúngico imidazólico de síntesis de amplio espectro y solubilidad muy limitada (inferior a 0.01%) (3), con dos ciclodextrinas (CDs) naturales (β-CD y γ-CD), y dos derivados sintéticos, hidroxipropil-β-CD (HPβCD) e hidroxipropil-γ-CD (HPγCD), mediante técnicas de modelización molecular con el fin de obtener información preliminar acerca de las posibles conformaciones de los complejos formados.

Materiales y Métodos

Estudios de Modelización Molecular.

Los estudios de modelización molecular se llevaron a cabo en un ordenador clónico AMD Athlon XP 3000+ MHz. La optimización de los complejos fue realizada mediante mecánica molecular (MM+) empleando el programa Hyperchem (Release 6.03 for Windows). Se optimizaron individualmente las estructuras de las diferentes CDs empleadas y del NS mediante MM+. La molécula de NS optimizada fue introducida en la cavidad de las diferentes CDs y se calculó la energía de interacción. Se asumió como conformación más probable del complejo aquella que presentó menor energía de interacción.

Resultados y Discusión

El NS (Figura 1) presenta tres grupos funcionales que podrían incluirse dentro de la cavidad de la ciclodextrina: el anillo imidazólico, el anillo clorobenzotioféno y el anillo 2,4-diclorofenilo.

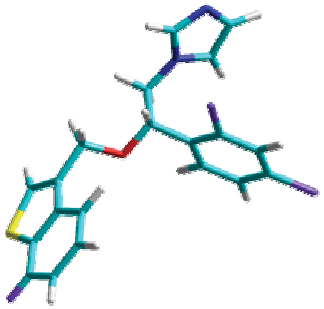


Figura 1. Representación de la estructura optimizada del Nitrato de Sertaconazol.

Los valores de hidrofobicidad para estos grupos, calculados según el método propuesto por Wang y col., (4), resultaron ser de: 0.458, 2.787 y 3.225 para los grupos imidazólico, clorobenzotioféno y 2,4-diclorofenilo, respectivamente. El bajo valor obtenido para el anillo imidazólico hace improbable su inclusión dentro de la cavidad de las CDs. Por ello, específicamente se modelizaron los complejos en los cuales el anillo clorobenzotioféno y el 2,4-diclorofenilo se incluían tanto por la parte estrecha como por la parte ancha de la cavidad de las diferentes CDs, primeramente en vacío. Sin embargo, un modelo más real de la conformación del complejo se obtiene considerando la presencia de disolvente (5), razón por la cual también se modelizaron dichas estructuras en presencia de agua.

Orientación del complejo		Energía en vacío (Kcal/mol)		Energía en agua (Kcal/mol)	
		β-CD	HPβCD	β-CD	HPβCD
Cavidad Ancha	*2,4-diclorofenil*	133.7	89.9	-402.3	-450.9
	Benzotiofénico	124.4	95.4	-387.9	-423.3
Cavidad Estrecha	*2,4-diclorofenil*	141.8	93.5	-387.8	-389.9
	Benzotiofénico	135.1	100.5	-399.5	-400.5

Tabla 1. Energías de las posibles conformaciones de los complejos con HPβCD y βCD estimadas por MM+.

Orientación del complejo		Energía en vacío (Kcal/mol)		Energía en agua (Kcal/mol)	
		γ-CD	HPγCD	γ-CD	HPγCD
Cavidad Ancha	*2,4-diclorofenil*	127.9	130.9	-387.4	-390.6
	Benzotiofénico	127.4	129.4	-379.4	-350.3
Cavidad Estrecha	*2,4-diclorofenil*	131.3	130.9	-389.8	-382.5
	Benzotiofénico	123.2	132.7	-414.0	-398.9

Tabla 2. Energías de las posibles conformaciones de los complejos con HPγCD y γCD estimadas por MM+.

Las tablas 1 y 2 muestran los resultados de energía calculada para las diferentes conformaciones estudiadas. En todos los casos las conformaciones más estables se obtuvieron en presencia de disolvente. Los complejos energéticamente más favorables fueron los obtenidos para la HPβCD. La orientación más probable, en presencia de disolvente, Figura 2, resulta de la inclusión del anillo 2,4- diclorofenilo por la cavidad ancha de esta CD (diferencia de 28 Kcal/mol frente a la inclusión del anillo clorobenzotiofénico) lo que está en consonancia con los valores de hidrofobicidad calculados. El anillo más hidrofóbico se encuentra encapsulado en la ciclodextrina permaneciendo los grupos más hidrofílicos en contacto con las moléculas de disolvente. Esta conformación también resultó ser la más probable cuando los cálculos se realizaron en vacío, Figura 3, (diferencia de 5 Kcal/mol frente a la inclusión del anillo clorobenzotiofénico), valor que puede sugerir la coexistencia de ambos tipos de conformaciones. La inclusión de los grupos funcionales por la parte estrecha de la cavidad de la CD se ve dificultada, probablemente por impedimentos estéricos, motivo por el cual los complejos resultantes presentan, en todas las posibles conformaciones, valores de energía más altos.
El derivado hidroxipropilado de la γCD dio lugar, sin embargo, a la formación de complejos de mayor energía frente a los obtenidos para la ciclodextrina natural.

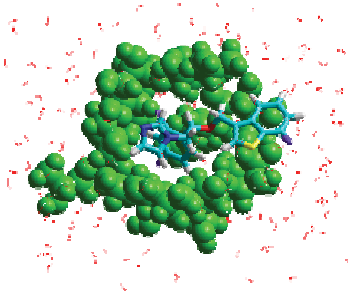


Figura 2. Complejo optimizado NS-HPβCD en medio acuoso. El anillo 2,4-diclorofenil se introduce por la cavidad ancha de la molécula de CD.

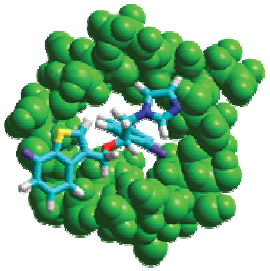


Figura 3. Complejo optimizado NS-HPβCD en medio vacío. El anillo 2,4-diclorofenil se introduce por la cavidad ancha de la molécula de CD.

Conclusiones
Los estudios de modelización molecular permiten identificar la conformación más estable de los complejos tanto en vacío como en presencia de disolvente. La modelización molecular, constituye por lo tanto, una herramienta muy útil en estudios preliminares de complejación.

Agradecimientos
MEC (SAF2005-01930), FEDER y Xunta de Galicia (PGIDIT04BTF203011PR).

Bibliografía
(1) Lipkowitz, KB. et al. Chem. Rev. 98, 1829-1873. 1998.

(2) Del Valle, EEM. Process Biochem. 39, 1033-1046. 2004.

(3) Albet, C. Arzneimittel. Forsch. 42, 695-698. 1992.

(4) Wang et al. Perspect. Drug Discov. Des. 19, 47-66. 2000.

(5) Estrada et al. J. Org. Chem. 65, 8510-8517. 2000.

CO-05 ESTUDIO DE EXCIPIENTES HIDRÓFILOS PARA ELABORACIÓN DE SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA UTILIZANDO COMPRESIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDOS.

Millán, M., Gonçalvez, T., Contreras, L., Caraballo, I.

Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/ Profesor García González nº 2. 41012 Sevilla
e-mail: momillan@us.es

Introducción

Los sistemas de Liberación Controlada de fármacos presentan una serie de ventajas, como reducción del número de tomas diarias, reducción de los efectos secundarios y aumento de la eficacia del tratamiento.

La compresión asistida por ultrasonidos de un excipiente termoplástico, se ha utilizado de forma experimental para elaborar un nuevo sistema de Liberación Controlada. De este modo se ha conseguido un mejor control de la liberación y un aumento de la eficacia del excipiente.

El objetivo principal del presente trabajo es estudiar diferentes excipientes formadores de matrices hidrófilas, que hasta ahora no han sido sometidos a la compresión asistida por ultrasonidos y que por sus características de fusión, transición vítrea y capacidad de deformación, se considere candidato a experimentar la deformación termoplástica y el sinterizado que conduce a la obtención de estos nuevos sistemas de Liberación Controlada.

Materiales y Métodos

Materiales

Fármaco: Deferiprona (DF), cedido por la empresa ApoPharma (Toronto, Canada).

Excipientes: Carbopol 971-P, 71-G y 974-P elaborados por Noveon Metilcelulosa A15LV, derivado de celulosa de la empresa Colorcon. Almidón pregelatinizado, elaborado por Rofarma Italia Srl. (Milán)

Métodos

Se elaboraron comprimidos con diferentes mezclas de cada uno de los excipientes seleccionados, utilizando *una máquina de compresión asistida por ultrasonido* con punzones planos de 11 mm de diámetro.

Los comprimidos contienen hasta 425 mg de deferiprona en 500 mg de peso de comprimido total, por lo tanto, los comprimidos se han elaborado usando formulaciones con cantidades de excipiente tan bajas como el 15 % p/p, lo cual es esencial para nuestros objetivos.

Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	Lote 6
25% APG 75 % DF	30% APG 70 % DF	15% C71 85% DF	25% C71 75% DF	15% C974 85% DF	15% C974 75% DF

Tabla 1. Composición de los comprimidos elaborados

Lote 7	Lote 8	Lote 9	Lote 10
15% C971-P 85% DF	25% C971-P 75% DF	15% MC 85% DF	25% MC 75% DF

Tabla 2. Composición de los comprimidos elaborados

Se utilizó un Calorímetro Diferencial de Barrido *(DSC)*, integrado por horno, unidad de control de temperatura y el software correspondiente (*Mettler FP80 HT, FP80 HT, FP89 HT*). Se realizó un estudio térmico de cada uno de los excipientes y del fármaco individualmente, así como de las mezclas formadas por cada uno de los excipientes y del fármaco. Estos estudios son de gran importancia ya que al someterse los comprimidos a altas temperaturas durante el proceso de elaboración hay que asegurarse que no sufren procesos físicos endotérmicos tales como la fusión, así como procesos exotérmicos principalmente relacionados con fenómenos de degradación. Además, en estos estudios se pueden detectar posibles interacciones en estado sólido, que serían causa de incompatibilidad entre el fármaco y los excipientes.

Estudio morfológico mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). , utilizando un Microscopio Electrónico de Barrido *Phillips* modelo *XL 30* acoplado a un sistema de análisis de imágenes. Se estudió el aspecto del polvo solo, así como el corte transversal y de la superficie de los comprimidos matriciales. Esta técnica nos aportará información sobre la identificación, distribución, forma y tamaño de los componentes del comprimido y su posible alteración durante el proceso de compresión.

Estudio de las *velocidades de absorción de agua* de las matrices utilizando el sistema de *Enslin modificado,* compuesto por un sistema de nivelación, un receptáculo poroso para la muestra y un depósito de agua que se coloca en el platillo de una balanza acoplada a un ordenador. Este ensayo se realizó por triplicado.

Este estudio resulta de gran importancia ya que la velocidad de entrada de agua va a determinar el grado de hinchamiento que sufre la matriz hidrófila y este grado de hinchamiento es uno de los factores que determina la velocidad de liberación de un fármaco desde su interior. Además, proporcionan información de la cinética que va a regir el proceso de liberación.

Resultados y Discusión

En función de sus propiedades fisicoquímicas (especialmente temperatura de transición vítrea y

comportamiento termoplástico: T_g= 80 ºC, $P_{fusión}$> de 140 ºC), se seleccionaron cinco excipientes como candidatos a experimentar la deformación termoplástica y el sinterizado.

Calorimetría Diferencial de Barrido. Tras la realización de los termogramas no se evidenció incompatibilidad fisicoquímica al mezclar los componentes de cada uno de los lotes y someterlos a temperaturas muy superiores a las alcanzadas durante el proceso de compactación con ultrasonidos, ya que los termogramas de las mezclas corresponden al promedio de los termogramas de los componentes individuales. A modo de ejemplo se muestran en la figura 1 los termogramas de los componentes de la mezcla DF/Carbopol 971-P.

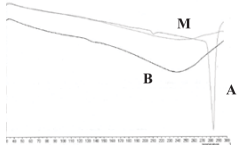


Figura 1. Termograma de deferiprona (A), Carbopol 971-P (B), Mezcla física DF/C 971-P (M).

Mediante **microscopía electrónica de barrido (SEM)**, se pudo observar:

1. En los lotes que contienen APG se produce un fenómeno de sinterizado del APG, al existir zonas donde se aprecia una fase continua de excipiente (Fig 2). Las partículas que se encuentran aisladas coinciden con la forma y tamaño de partículas de fármaco.

Figura 2. Microfotografías del corte transversal del lote 1.

2. En los lotes elaborados con Carbopol 971P también se aprecia un medio continuo.

3. En los lotes elaborados con Carbopol 71G, no se ha producido sinterizado de las partículas de excipiente ya que se observan partículas independientes distribuidas uniformemente (Fig 3).

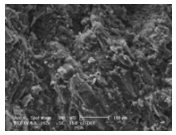


Figura 3. Microfotografía del corte transversal del lote 3.

4. En los comprimidos elaborados con Carbopol 974-P se aprecian zonas de sinterizado correspondientes al excipiente y partículas aisladas correspondientes al fármaco (Fig. 4).

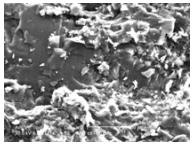


Figura 4. Microfotografía del corte transversal del lote 5.

5. Los comprimidos de deferiprona y Metilcelulosa A15LV, no dan lugar al sinterizado de sus partículas, encontrándose perfectamente definidas.

Tras la realización del **estudio de las velocidades de absorción de agua** en las matrices, se obtuvieron diferentes perfiles, que nos van a dar información de la capacidad de controlar la liberación del fármaco.

Los excipientes que presentaron mejores características son: Carbopol 71-C, 974-P, 971-P y Metilcelulosa, al ser sus perfiles casi lineales (cinética de orden cero) y muestran una baja velocidad de entrada de agua, lo que da lugar a que el hinchamiento sea lento y por lo tanto la velocidad de liberación de fármaco desde el interior de la matriz, también lo sea. En la figura 5 se muestran, a modo de ejemplo, los perfiles de entrada de agua de la mezcla DF/Carbopol 974-P.

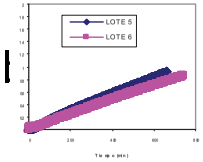


Figura 5. Cantidad de agua que penetra dentro de las matrices elaboradas con diferentes cargas de deferiprona y Carbopol 974-P.

Por lo tanto, dos de los excipientes estudiados, presentan fenómeno de sinterizado y características de liberación y velocidad adecuadas: Carbopol 971-P y Carbopol 974-P. Por lo tanto serían buenos candidatos para elaborar matrices hidrófilas mediante esta nueva técnica de compresión asistida por ultrasonido.

Bibliografía

(1) Gómez-Carracedo A., et al. Int. J. Pharm., 2004.

(2) Sancin P., et al. Eur. J. Pharm. Sci., 1999.

(3) Millán M., Caraballo I. Int. J. Pharm., 2006.

Agradecimiento

Este trabajo está financiado por el Ministerio de Sanidad y Consumo (FIS) PI042604.

CO-06 ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA DE EFAVIRENZ: ESTUDIO PRELIMINAR "*IN VITRO*" DE ABSORCIÓN PERCUTANEA A TRAVÉS DE EPIDERMIS HUMANA

O. Díez-Sales, J.E. Peris, A. Melero, P. Almudéver, T. M Garrigues, A. Martín, M. Herráez

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Valencia.
Avenida Vicente Andres Estellés s/n 46100 Burjassot (Valencia)
e-mail: octavio.diez@uv.es

Introducción

El efavirenz es un inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de los nucleósidos (NNRTI) y se utiliza en combinación con otros antirretrovirales (zidovudina, indinavir,..) en el tratamiento de la infección VIH-1/SIDA.
Se absorbe por vía oral y tras la administración de una dosis de 600 mg alcanza un valor de Cmax de 1,4-3,9 µg/mL. Se une a proteínas plasmáticas en alta proporción (> 99%) y su semivida es de 40-55 horas. Su metabolismo es fundamentalmente hepático por la vía del citocromo P450 y actúa como inhibidor o inductor de algunos de sus isoenzimas. Se elimina fundamentalmente por heces y orina en forma de metabolitos inactivos.
Debido a su elevado efecto de primer paso hepático, la administración por vía transdérmica podría considerarse una alternativa interesante frente a la vía oral, ya que podría permitir mantener niveles plasmáticos constantes, además de reducir los efectos secundarios asociados, fundamentalmente, a síntomas del sistema nervioso, psiquiátricos y rash.
El objetivo de este estudio preliminar ha sido determinar, in vitro, la absorción percutánea, de efavirenz a través de epidermis humana y establecer la influencia del alcohol etílico como promotor de la penetración de este fármaco, como paso previo a futuros planteamientos que, en conjunto, permitan evaluar la posibilidad de tratamiento sistémico mediante parches transdérmicos.

Materiales y Métodos

El efavirenz se utilizó en forma de solución en miristato de isopropilo (1,2 mg/mL). Se utilizó piel humana de la zona abdominal (mujeres de 38-48 años) procedente de correcciones quirúrgicas. Las piezas, a las que previamente se eliminó el exceso de tejido graso, se conservaron en congelador (-20ºC) hasta su utilización en los ensayos (menos de dos meses). Los fragmentos de epidermis se prepararon mediante la técnica de separación por calor (1). Los ensayos de difusión se llevaron a cabo en células de Franz. El área de difusión fue de 0.78 cm^2. La solución de efavirenz en miristato de isopropilo (1mL), se colocó en el compartimento dador; el compartimento receptor se llenó con solución salina a pH 7.4 a la que se añadió polisorbato 80 a concentración supramicelar (1%, m/m) con el fin de mantener condiciones de gradiente máximo para el permeante. La solución receptora (37º C) se mantuvo en agitación a lo largo del ensayo mediante un agitador magnético colocado en el interior del compartimento.
Previamente a los ensayos las membranas epidérmicas se trataron con 1 mL de una solución etanólica (100% y 30% m/m, respectivamente), durante 12 horas. A tiempo cero se depositó 1 mL de la solución de efavirenz en cada célula y, a tiempos preestablecidos se tomaron muestras de 200 µL del compartimento receptor, durante 32 horas. El volumen extraído en cada muestra se repuso con la misma cantidad de solución receptora libre del fármaco. La valoración del efavirenz en las muestras se llevó a cabo mediante CLAE. Se determinaron las cantidades acumuladas en función del tiempo y se calcularon los parámetros de permeabilidad correspondientes a la piel no tratada (control) y piel pretratada con la solución etanólica, mediante la siguiente ecuación (Ec.1):

$$Q_{(t)} = A \cdot P \cdot L \cdot C \cdot \left[D \cdot \frac{t}{L^2} - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^2}{n^2} Exp\left(\frac{-D \cdot n^2 \cdot \pi^2 \cdot t}{L^2} \right) \right]$$

donde **Q**(t) es la cantidad acumulada en el compartimento receptor a un tiempo deterrminado, t; **A** representa la superficie difusional (0.78 cm^2); **P** el coeficiente de reparto del permeante entre la membrana y el vehículo; **L** el camino difusional; **D** el parámetro de difusión y **C** la concentración del permeante en la solución dadora (1,2 mg/mL).
El tiempo de latencia (t_{lag} = L^2/6.D), coeficiente de permeabilidad (Kp = P.D) y flujo en el estado estacionario (J = C. Kp) se obtienen a partir de los parámetros de reparto y difusión determinados mediante la ecuación anterior (Ec. 1).

Resultados y Discusión

En la figura 1 se muestran las cantidades de efavirenz acumuladas en el compartimento receptor en los diferentes ensayos: epidermis humana sin tratar (control) y pretratada con las

soluciones etanólicas. Los valores correspondientes al control y la piel pretratada con alcohol etílico al 30% no muestran diferencias significativas entre si. Sin embargo, el pretratamiento de la epidermis con alcohol absoluto proporcionó cantidades acumuladas muy superiores al control.

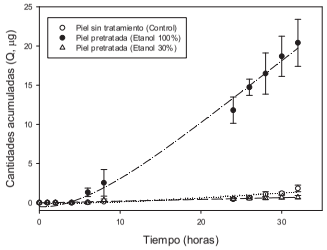


Figura 1. *Cantidades acumuladas de efavirenz en el compartimento receptor, obtenidas en los diferentes ensayos: piel sin tratamiento (control) y pretratada con las soluciones etanólicas (n=5).*

La tabla 1 recoge los valores de los parámetros de permeabilidad calculados a partir de las cantidades acumuladas de efavirenz, en el compartimento receptor, en función del tiempo. Como se observa, existe una reducción significativa del tiempo de latencia (Tabla 1) para las muestras de piel que han sido pretratadas con alcohol etílico 100%.

Parámetros de permeabilidad	Piel sin tratar	Piel pretratada Alcohol 30 %	Piel pretratada Alcohol 100 %
D ($cm^2.h^{-1}$)	0,01447 (0,0016)	0,0173 (0,0013)	0,3791 (0,4509)
P	2,433 (1,049)	1,616 (0,422)	2,979 (1,447)
Kp ($cm.h^{-1}$)	0,0356 (0,0194)	0,0279 (0,0079)	1,129 (0,4145)
t_o (h)	11,61 (1,29)	9,69 (0,73)	1,99 (2,64)
J ($\mu g.cm^{-2}.h^{-1}$)	0,0427 (0,0233)	0,0336 (0,0233)	1,3548 (0,6974)

Tabla 1*. Valores de los parámetros de permeabilidad obtenidos para el efavirenz en los diferentes ensayos: piel sin tratamiento (control) y pretratada con las soluciones etanólicas (n=5).*

Por otra parte, los valores de coeficientes de permeabilidad y flujo obtenidos con la piel pretratada con alcohol etílico 100%, presentan un incremento significativo con respecto al control.

Para conocer si es posible la administración de efavirenz por vía transdérmica es necesario, previamente, estimar la cantidad de fármaco que debe atravesar la piel para alcanzar y mantener la concentración plasmática eficaz, en el estado estacionario (C_{ss}). Teniendo en cuenta que dicho valor de concentración es de 1,4 µg/mL y que el aclaramiento (Cl) es de 11,7 L/h (3), la cantidad de efavirenz que debe atravesar la piel (**R**, µg/h) se obtuvo mediante la siguiente expresión (Ec. 2):

$$R = C_{ss} \cdot Cl \qquad \text{(Ec. 2)}$$

Dicho valor resultó ser de 16.380 µg/h, por lo que en las condiciones experimentales establecidas (concentración de la solución aplicada = 1,2 mg/mL) no es viable el uso de este fármaco, ya que se requeriría una superficie de aplicación inalcanzable.

Cabe indicar que los valores de flujo obtenidos por otros autores para otro fármaco antiviral (4), la zidovudina (50 mg/mL), para el cual se utilizaron terpenos como promotores de la penetración (Cineol) y se alcanzaron valores de flujo muy superiores (J=1785,7 $\mu g.cm^{-2}.h^{-1}$) a los obtenidos en este trabajo con efavirenz y piel pretratada con alchol etílico (100%) (J=1,3548 $\mu g.cm^{-2}.h^{-1}$). Por ello se considera conveniente realizar nuevos ensayos modificando algunas condiciones experimentales específicas (incremento de concentración de efavirenz en la solución dadora, uso de otros promotores de penetración como ácidos grasos, diversos terpenos,..etc), de modo que se puedan extraer conclusiones definitivas sobre la posibilidad de administración transdérmica de este fármaco.

Bibliografía

(1) Scott et al. J. Soc. Cosmet. Chem. 37, 35–41. 1986

(2) Copovi et al. Int. J. Pharm. 314, 31-36. 2006.

(3) Kappelhoff B.S. et al. Clin. Pharmacokinetic 44 (8), 849-861. 2005.

(4) Kumar Narishetty S.T., Panchagnula R. J. Control. Rel. 95, 367-379 (2004).

CO-07 DISPOSICIÓN DE VANCOMICINA EN PULMÓN AISLADO DE RATA TRAS SU ADMINISTRACIÓN POR VÍA SISTÉMICA Y PULMONAR

Jesús Valle, M.J. de, Domínguez-Gil Hurlé, A., Sánchez Navarro, A.

Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca
Avenida Campo Charro, s/n 37007
e-mail: asn@usal.es

Introducción

Vancomicina es el antibiótico recomendado en la práctica clínica para el tratamiento de la bronconeumonía causada por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, especialmente en el caso de pacientes sometidos a ventilación mecánica (1,2). La eficacia del tratamiento de la neumonía bacteriana depende de una adecuada liberación del antibiótico en el área infectada para lo que es necesario maximizar la exposición del foco infeccioso al antibiótico y minimizar, a la vez, la exposición del resto del organismo al fármaco (3). En la actualidad se dispone de poca información sobre la disposición de vancomicina en tejido pulmonar, y los datos disponibles hasta el momento indican que la fracción que accede al tejido y secreciones pulmonares desde la sangre es baja, alcanzando niveles del orden del 15%-30% de los correspondientes en plasma (4).

Dado el interés de optimizar el perfil cinético del agente antimicrobiano en el foco infeccioso, el presente estudio tiene por objeto caracterizar la disposición de vancomicina en pulmón cuando accede desde la circulación sistémica y cuando se administra por vía pulmonar, así como evaluar la influencia del "modo respiratorio" en la disposición pulmonar para ambas vías.

Materiales y Métodos

El estudio fue llevado a cabo utilizando 24 ratas Wistar macho distribuidas en cuatro grupos.

El procedimiento quirúrgico desarrollado para aislar el pulmón, consiste en la realización de una traqueotomía con ventilación mecánica seguida de la inserción y fijación de una cánula eferente (ventrículo izquierdo) y otra aferente (arteria pulmonar) desde el ventrículo derecho. El flujo de perfusión utilizado fue de 5mL/min. Se conectó una sonda y un transductor de presión a la cánula aferente para el registro continuo del flujo y presión arterial.

Tras un periodo de estabilización de 5 minutos, se procedió a la administración del antibiótico bajo diferentes condiciones experimentales:

Grupo I: vía sistémica; 60r.p.m., V_{tidal} 2mL.
Grupo II: vía sistémica; 30r.p.m., V_{tidal} 4mL.
Grupo III: vía inhalatoria; 60r.p.m., V_{tidal} 2mL.
Grupo IV: vía inhalatoria; 30r.p.m., V_{tidal} 4mL.

La administración por vía sistémica se realizó a través de la cánula aferente localizada en la arteria pulmonar. Para la vía pulmonar se utilizó un nebulizador de ultrasonidos acoplado al respirador y directamente conectado a tráquea a través de una cánula. Mediante dicho sistema se nebuliza la disolución del antibiótico a administrar. Para la recogida de muestras de fluido eferente se utilizó un colector de fracciones previamente programado, durante un periodo total de 10 minutos para la administración sistémica y 20 minutos para la vía inhalatoria. Asimismo, se tomaron muestras de fluido broncoalveolar (FBA) mediante un lavado con 0,3mL de suero fisiológico, y muestras de tejido pulmonar al final de cada experimento.

La determinación de las concentraciones del antibiótico en las muestras se llevó a cabo mediante una técnica de HPLC con detección de ultravioleta implementada en nuestro Departamento.

Para el análisis de datos se recurrió al cálculo de momentos estadísticos y parámetros farmacocinéticos derivados.

Resultados y Discusión

La figura 1 muestra los niveles de vancomicina en fluido eferente tras su administración por vía sistémica para las diferentes condiciones experimentales ensayadas y la tabla 1 incluye los correspondientes parámetros calculados mediante el análisis estocástico de los datos.

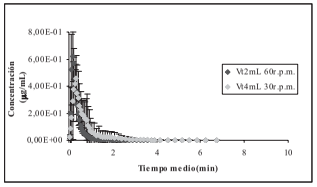


Figura 1. *Concentraciones de vancomicina en fluido eferente administrada por vía sistémica.*

Parámetros farmacocinéticos	Vt2mL 60r.p.m (media±D.E.)	Vt4mL 30r.p.m (media±D.E.)
ABC_0^{∞} (µg*min/mL)	1,57E-01 ±1,48E-02	2,58E-01 ±3,85E-02
TMT (min)	3,99E+01 ±1,43E+01	5,26E+01 ±1,64E+01
Vd (mL/g)	1,64E+02 ±5,89E+01	1,94E+02 ±5,38E+01
K (min^{-1})	2,64E-02 ±2,18E-02	1,94E-02 ±1,40E-02

***Tabla 1**. Parámetros farmacocinéticos de vancomicina correspondientes a la administración del fármaco por vía sistémica.*

La figura 2 presenta los niveles de vancomicina en fluido eferente cuando el antibiótico se administra por vía pulmonar.

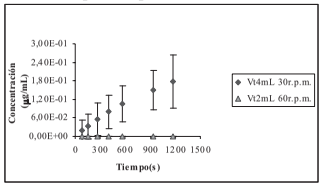


***Figura 2.** Concentraciones de vancomicina en fluido eferente tras su administración por vía pulmonar.*

Se comprueba que los cambios en el "modo respiratorio" afectan significativamente al perfil de vancomicina en el sistema pulmonar, produciéndose una mayor transferencia del fármaco entre el espacio vascular y los tejidos-fluidos pulmonares cuando disminuye la frecuencia respiratoria y aumenta el volumen tidal, para las dos formas de administración estudiadas.

Las figuras 3 y 4 muestran los niveles alcanzados en tejido pulmonar y FBA, respectivamente para las diferentes condiciones experimentales ensayadas.

Estos datos confirman los resultados anteriormente comentados y demuestran la mayor capacidad de transferencia de vancomicina entre los espacios pulmonares para el volumen tidal más alto y la frecuencia respiratoria más baja.

Por otro lado se comprueba que cuando vancomicina se administra por inhalación su acceso a la circulación sistémica es muy restringido, con niveles inferiores a 0,25 µg/mL en fluido eferente para las condiciones más desfavorables de transferencia. Por el contrario los niveles alcanzados en tejido pulmonar y FBA son muy superiores a los que se alcanzan cuando se recurre a la administración sistémica (7,44±3,74 *versus* 0,98±1,23 y 15,25±5,41 *versus* N.D., respectivamente).

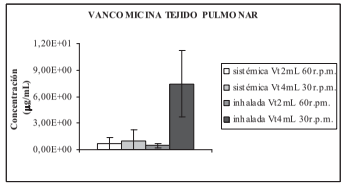


***Figura 3.** Concentraciones de vancomicina en tejido pulmonar administrada por vía sistémica y pulmonar.*

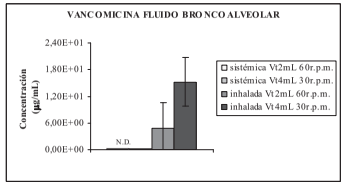


***Figura 4.** Concentraciones de vancomicina en fluido broncoalveolar tras su administración por vía sistémica y pulmonar (N.D. no detectado).*

Estos resultados ponen de manifiesto el interés de los estudios de administración de fármacos por vía pulmonar, no sólo para nuevos productos de origen biotecnológico, sino para todos aquellos cuya biofase se localice a este nivel.

Conclusiones

- La vía pulmonar constituye una excelente alternativa a la administración sistémica para vancomicina al cumplir el doble objetivo de maximizar la exposición del foco infeccioso al antibiótico y minimizar, a la vez, la exposición del resto del organismo al fármaco.
- Se comprueba la influencia de las variables fisiológicas que definen el "modo respiratorio" en la capacidad de transferencia de vancomicina entre los diferentes espacios del sistema pulmonar.
- El aumento del volumen tidal y la disminución de la frecuencia respiratoria favorecen el proceso de distribución de vancomicina en los tejidos-fluidos pulmonares.

Bibliografía

(1) Eliopoulos, G.M. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 24, 826-831. 2005.

(2) Van Bambeke, F. et al. Drugs. 64(9), 913-936. 2004.

(3) Georges, H. et al. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 16, 385-388. 1997

(4) Cruciani, M. et al. J. Antimicrob. Chemother. 38, 865-869. 1996.

CO-08 FARMACOCINÉTICA POBLACIONAL DE MEROPENEM EN PACIENTES CRÍTICOS SOMETIDOS A TÉCNICAS CONTINUAS DE REEMPLAZO RENAL.

Isla A.[1], Gascón A.R.[1], Trocóniz IF.[2], Bueno L.[2], Solinís M.A.[1], Pedraz J.L.[1]

[1] Laboratorio de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco (UPV/EHU). Paseo de la Universidad 7. 01006 Vitoria-Gasteiz.
[2] Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Navarra. Apartado 177. Pamplona, Navarra.
e-mail: knzisrua@vc.ehu.es

Introducción

Meropenem es un antibiótico carbapenémico con un amplio espectro antibacteriano, frecuentemente administrado a pacientes críticos sometidos a técnicas continuas de reemplazo renal (CRRT).

Su estructura y características farmacocinéticas facilitan su eliminación de manera eficiente través de las membranas utilizadas en este tipo de técnicas. Teniendo en cuenta que los fármacos hidrófilos como los carbapenems presentan en pacientes críticos importantes variaciones farmacocinéticas, es necesario llevar a cabo una estrecha monitorización y tener especial cuidado al establecer las pautas posológicas con el fin último de evitar tanto la infradosificación como la sobredosifiación.

Hasta la fecha, se han publicado varios trabajos sobre farmacocinética de meropenem en pacientes sometidos a CRRT, pero en ninguno de ellos se ha llevado acabo un análisis poblacional. Por ello, y debido a la variabilidad farmacocinética en pacientes críticos, el objetivo de este estudio ha sido llevar a cabo un estudio farmacocinético poblacional en pacientes críticos sometidos a CRRT.

Materiales y Métodos

Pacientes y toma de muestras

En el estudio participaron 20 pacientes (15 hombres y 5 mujeres) sometidos a CRRT en los hospitales Doce de Octubre de Madrid y Santiago Apóstol de Vitoria-Gasteiz. El estudio fue aprobado por los Comités Éticos de Investigación Clínica de ambos Hospitales y en todos los casos se obtuvo el consentimiento informado del paciente o sus familiares.

Se extrajeron muestras de sangre, de las cuales se obtuvo plasma, y de ultrafiltrado-dializado del dispositivo extracorpóreo.

Cuantifiación del fármaco

La determinación de meropenem en plasma y dializado-ultrafiltrado se llevó a cabo mediante una técnica validada de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Análisis farmacocinético y simulaciones

Para el desarrollo del modelo farmacocinético poblacional se utilizó el programa NONMEM versión V (1). Para la estimación de los parámetros poblacionales, la variabilidad interindividual y la variabilidad residual se utilizó el método FOCE. Se compararon los modelos mono y bicompartimental con eliminación de primer orden. Tras establecer el modelo estructural base se examinó el efecto de las covariables. La selección entre modelos se basó en el error estándar de los estimados, la bondad del ajuste y el Criterio de Akaike (AIC).

Se simularon las concentraciones plasmáticas en mil individuos tras la administración de 500 y 2000 mg de meropenem mediante perfusión endovenosa de 20 minutos de duración cada 6 horas, con el fin de validar internamente el modelo seleccionado.

Resultados y Discusión

El modelo bicompartimental proporcionó un mejor ajuste que el monocompartimental (ΔAIC=-169.1). Por ello, los parámetros a determinar fueron el aclaramiento total (CL), volumen de distribución del compartimento central (V_c), aclaramiento intercompartimental (Q), y volumen de distribución del compartimento periférico (V_T).

Se determinó así mismo otro parámetro, el "sieving coefficient" (SIE), definido como la fracción de fármaco eliminada a través de las membranas de CRRT.

En el modelo final, el aclaramiento poblacional fue la suma del aclaramiento no-renal, renal, y extracorpóreo. El aclaramiento renal se correlacionaba con el de creatinina (CLCR) de diferente manera dependiendo del tipo de UCI en la que se encontraba el paciente. El aclaramiento extracorpóreo se determinó como producto entre el sieving coefficient y el flujo de ultrafiltración-diálsis (SIE*FLOW). La fracción de fármaco libre (FU), así como el tipo de UCI resultaron covariables significativas para Vc. La inclusión de más covariables, como edad, peso corporal, membrana o técnica de reemplazo renal empleada no mejoró el ajuste.

En la tabla 1 se presentan los parámetros poblacionales estimados con el modelo final, que permitía covarianza entre CL y Vc.

Parameter or covariate model	Estimate	IIV
$CL=\theta_{CL}+\theta_{CRCL_hosp0}xCLCR+SIExFLOW^1$ $CL=\theta_{CL}+\theta_{CRCL_hosp1}xCLCR+SIExFLOW^2$	θ_{CL}= 4.55 (17.10) θ_{CRCL_hosp0}= 0.06 (37.44) θ_{CRCL_hosp1}= 0.48 (24.74)	41.71 (25.46)
$V_c=\theta_{V_hosp0}{}^{1a}FU$ $V_c=\theta_{V_hosp1}{}^{2a}FU$	θ_{V_hosp0}= 22.40 (14.78) θ_{V_hosp1}= 67.80 (17.40)	57.10 (45.71)
CL_D (L/h)	11.90 (13.36)	Ne
V_T (L)	16.30 (17.06)	Ne
Sieving coefficient	0.73 (5.35)	19.10 (66.85)
Error aditivo [plasma; sd]	0.19 (43.73)	Na
Error proporcional [plasma; %]	19 (13.48)	Na
Error aditivo [ultrafiltrate; sd]	1.00 (26.25)	Na
Error proporcional [ultrafiltrate; %]	16 (23.19)	Na

***Tabla 1**. Parámetros farmacocinéticos poblacionales para el modelo final. 1, modelo para el Hospital Santiago Apóstol y 2, modelo párale Hospital Doce de Octubre.*

Los errores estándar de los parámetros en el modelo estructural seleccionado sugieren que dichos parámetros fueron estimados con precisión razonable. La bondad de ajuste se confirmó al representar las predicciones del modelo frente a las observaciones y los residuales ponderados frente al tiempo (Figura 1).

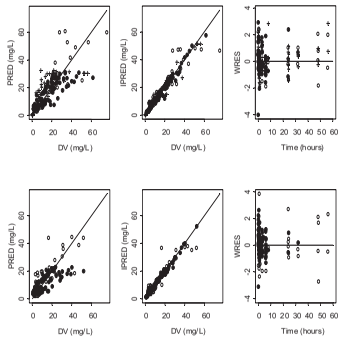


Figura 1. Gráficos de bondad de ajuste para el modelo final seleccionado con los datos de plasma (arriba) y dializado-ultrafiltrado (abajo).

Los datos de los parámetros farmacocinéticos obtenidos con el análisis poblacional resultaron consistentes con los determinados de modo tradicional y anteriormente publicados (2)

La Figura 2 muestra el resultado de simular mil individuos utilizando los datos estimados con el modelo final y su variabilidad. Se presentan los datos observados y la mediana de las concentraciones simuladas tras administrar 500 mg (derecha) o 2000 mg (izquierda) cada 6 h.

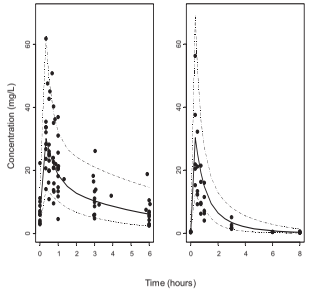


Figura 2. Perfiles concentración plasmática-tiempo en mil individuos simulados. Puntos negros: Observadas. Izquierda: administración de 500 mg; Derecha: administración de 2000 mg.

Por último, el modelo seleccionado permitió simular curvas concentración plasmática-tiempo atendiendo a la funcionalidad renal del paciente (Figura 3).

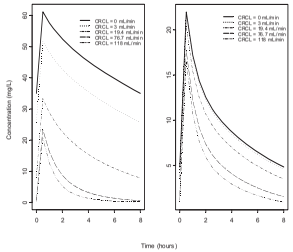


Figura 3. Simulación de curvas concentraciones plamáticas-tiempo en función del aclaramiento de creatinina. Derecha: administración de 500 mg. Izquierda: administración de 2000 mg.

Conclusiones

El modelo que mejor ajustó los pares de valores concentración-tiempo fue el modelo bicompartimental. El aclaramiento total dependía del aclaramiento extra-corpóreo, la función renal residual del paciente, y el aclaramiento no renal. Tanto la fracción de fármaco libre como el tipo de paciente fueron covariables significativas para Vc. El modelo seleccionado permite estimar los parámetros poblacionales de meropenem con precisión razonable y permite predecir la evolución de las concentraciones plasmáticas en función del CLCR del paciente.

Bibliografía

(1) Beal SL, Sheiner SB NONMEN User Guides (I_VIII). University of California at San Francisco: University of California NONMEN Project Group, 1998.

(2) Isla A, Maynar J, Sanchez-Izquierdo JA, Gascon AR, Arzuaga A, Corral E, Pedraz JL. J Clin Pharmacol. 2005; 45 (11): 1294-304.

CO-09 PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS POBLACIONALES DEL CARBOPLATINO EN PACIENTES CON CÁNCER DE PULMÓN NO MICROCÍTICO AVANZADO.

Merino Sanjuán, M.[1], Maestu, I.[2], Almenar Cubells D.[3], Casabó, V.G.[1], Jiménez Torres, N.V.[1,4]

[1]Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. Avda. Vicente Andrés Estellés s/n. 46100 Burjassot-Valencia
e-mail: matilde.merino@uv.es
[2]Servicio de Oncologia. Hospital Virgen de los Lirios. Polígono de Caramanchel s/n 03800 Alcoy-Alicante
[3]Servicio de Oncología . Hospital Universitario Dr. Peset. Avda. Gaspar Aguilar 90 46017 Valencia
[4]Servicio de Farmacia . Hospital Universitario Dr. Peset. Avda. Gaspar Aguilar 90 46017 Valencia

Introducción

El carboplatino se utiliza en combinación con la gemcitabina para el tratamiento del carcinoma de pulmón avanzado de células no pequeñas (1). Se excreta por orina (del 54 al 82 % de la dosis) y su aclaramiento renal (Cl CarboPt) se correlaciona con la tasa de filtración glomerular (TFG), fundamento de la fórmula de Calvert para la individualización de la dosis del mismo (2). Al considerar constante su aclaramiento no renal (25 mL/min) la dosis de carboplatino, calculada para un área bajo la curva de concentración plasmática tiempo (AUC), diana de 5 a 7 mg·min/mL, se obtiene de la siguiente expresión:

$$DosisCarboPt = AUCdeseado\left(mg \cdot \min / mL\right) \cdot \left(TFG\left(ml / \min\right) + 25\right)$$

En la práctica asistencial, para calcular la TFG se utiliza el aclaramiento de creatinina sérica, calculado a partir de la ecuación de Cockroft-Gault (3), que fue diseñada con datos de pacientes jóvenes, no oncológicos y con buen estado general. Por consiguiente, la extrapolación a pacientes ancianos con cáncer no parece muy adecuado (4,5).

El objetivo de este trabajo es cuantificar y comparar la variabilidad del AUC de carboplatino a partir de la determinación experimental de la concentración plasmática de carboplatino libre en dos subpoblaciones de pacientes adultos con cáncer de pulmón (menores de 65 años y mayores de 65 años) para establecer la validez de la fórmula de Calvert para la dosificación de carboplatino en los dos grupos de pacientes estudiados.

Materiales y Métodos

Pacientes

La población de estudio está constituida por pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón no microcítico, que han iniciado tratamiento con el esquema carboplatino (dia 1) y gemcitabina 1250 mg/m2 (dias 1 y 8). Se han definido dos grupos: Grupo 0: pacientes de edad inferior a 65 años (N= 7) y grupo 1: pacientes de edad superior a 65 años (N= 5). La dosificación del carboplatino se ha realizado para un AUC_{diana} de 5 mg·min/mL en los pacientes del grupo 0 y un AUC_{diana} de 4 mg·min/mL en los pacientes del grupo 1.

Obtención de muestras y determinación de platino en plasma

A cada paciente se le han extraído tres muestras de 5 mL de sangre después de finalizada la perfusión. Los tiempos de toma de muestra han sido para la Cp1, entre 1 y 2 horas, la Cp2 entre 3 y 5 horas y la Cp3 entre 12 y 24 horas. Se determina el platino en plasma mediante espectrofotometría de absorción atómica de llama de acuerdo con el método propuesto por Kloft C y col (6).

Análisis farmacocinético del carboplatino

Se ha caracterizado el modelo farmacoestadístico que describe el comportamiento farmacocinético del carboplatino total y libre en plasma mediante el modelo no lineal de efectos mixtos a través de la regresión no lineal por mínimos cuadrados extendidos, con doble precisión y estimación de primer orden (FO), implementada en el software NONMEM 5.0.

Resultados y Discusión

En la tabla 1 se indican las características antropométricas de los pacientes incluidos en el estudio, el aclaramiento de creatinina y la dosis recibida de CarboPt.

Paciente Grupo	Edad años	Peso Kg	Altura cm	Cl Cr mL/min	Dosis CarboPt
1,0	47	66.2	173	122.15	740
2, 0	62	65	168	78.24	600
3, 0	59	93.2	175	104.85	649
4, 0	51	63.5	170	130.82	780
5, 0	62	129	169	174.69	1000
6, 0	47	104	182	111.94	680
7, 0	64	81	167	85.50	550

Media (DE)	**56 (7.4)**	**86 (24.4)**	**172 (5.2)**	**115.5 (32.1)**	**714 (148.4)**
8,1	74	68.8	167	45.05	280
9, 1	79	70.5	173	59.73	340
10, 1	81	80	176	59.60	340
11, 1	76	67	166.6	66.17	364
12, 1	75	77	168	57.93	330
Media (DE)	**77 (2.9)**	**72.7 (5.6)**	**170 (4.2)**	**57.7 (7.7)**	**331 (31)**

Tabla 1. *Cl Cr: Aclaramiento de creatinina calculado con la expresión de Cockcroft-Gault*

La figura 1 muestra las concentraciones de carboplatino libre en plasma frente a los tiempos de toma de muestra.

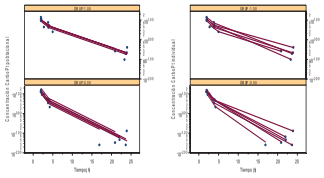


Figura 1. *Grupo 0: pacientes dosificados AUCdiana= 5 y grupo 1: pacientes dosificados AUCdiana= 4. La línea continua representa la concentración plasmática predicha poblacional e individual, respectivamente.*

Los parámetros farmacocinéticos poblacionales del carboplatino se han obtenido utilizando el modelo bicompartimental intravenoso. Los ajustados se han realizado considerando dos opciones, que se distinguen en la estimación del parámetro farmacocinético Cl CarboPt. De forma que: 1) todos los pacientes incluidos en el estudio tienen el mismo Cl CarboPt y 2) el Cl CarboPt tiene un valor determinado en cada grupo de pacientes estudiado. En la Tabla 2 se muestra el valor de los parámetros farmacocinéticos y el error estándar obtenido para la concentración total y libre de carboplatino en plasma, respectivamente, permitiendo que el Cl CarboPt sea distinto en cada grupo de estudio. Para ello, se ha iterado un factor (CL_{factor}) que cuantifica el cambio en el Cl CarboPt en los dos grupos de población estudiados.

Parámetro	**Cp total CarboPt**	**Cp libre CarboPt**
$CL_{AUC=5}$ (mL/h)	106.6 (6.7)	165 (25.8)
CL_{factor}	0.37 (11.1)	0.51 (18.3)
$CL_{AUC=4}$(mL/h)	39.44	84.15
K_{12} (h^{-1})	0.255 (21.2)	0.294 (104)
K_{21} (h^{-1})	0.142 (28.5)	0.34 (38.5)
Vc (L)	18.8 (11.1)	13.7 (60.1)
Variabilidad interindividual		
CL	0.197 (39.9)	0.16 (38.3)
K_{12} / K_{21} fijadas	0.2	0.2
Vc	0.295 (23.2)	0.141 (328)

Variabilidad residual		
Error residual	0.061	0.088 (51.4)
MOF	33.71	- 10.66

Tabla 2. *Parámetros farmacocinéticos poblacionales del Carboplatino total y libre en plasma (CV).*

A partir de los parámetros farmacocinéticos poblacionales y sus variabilidades se han estimado los parámetros farmacocinéticos individuales, en particular aclaramiento y AUC, utilizando la metodología bayesiana de máxima probabilidad a posteriori, procedimiento POSTHOC de NONMEM. Se han calculado los valores individuales de AUC CarboPt estimado a partir del Cl CarboPt estimado y la dosis administrada. Se ha obtenido la diferencia que representa este valor con el AUC de carboplatino diana expresada en porcentaje. Asimismo se ha calculado para cada paciente la dosis de CarboPt (dosis calculada) teniendo en cuenta el AUC de CarboPt diana y el Cl CarboPt estimado.

Conclusiones

1. El Cl CarboPt libre estimado a partir de las concentraciones plasmáticas experimentales es mayor que el calculado a partir de la ecuación de Calvert. En el grupo de población de edad inferior a 65 años representa un incremento en el Cl CarboPt de un 20% y en el grupo de población de edad superior a 65 años un 4%.
2. Los resultados obtenidos parecen indicar que el criterio de dosificación actual subestima la dosis que se debe administrar para conseguir el AUC diana. Esta subestimación es mayor en pacientes de edad inferior a 65 años.
3. De las covariables estudiadas, Cl CarboPt está relacionado con la edad y la creatinina sérica.
4. Los pacientes de edad superior a 65 años y dosificados con un AUC_{diana} de 4 mg·min/mL presentan un valor de AUC estimado (3.97 mg*min/mL ES de 0.35) semejante a los pacientes de edad inferior a 65 años dosificados con un AUC_{diana} igual a 5 mg·min/mL (4.24 mg*min/mL ES de 0.30), por lo que es de esperar similar eficacia y toxicidad.

Bibliografía

(1) Carrato, A. et al. Cancer Conference Highlights, 3 (2), 4-6. 1999.

(2) Calvert, AH. et al. J. Clin. Oncol., 17, 1748-1756. 1989.

(3) Cockroft, DW. et al. Nephron., 16, 31. 1976.

(4) Groth, G. et al. Lung Cancer, 38, 97-98. 2002.

(5) Monfardini, S. Ann. Oncol., 15, 183-184. 2004.

(6) Kloft, C. et al., Ther. Drug Monit. 21, 631–637. 1999.

CO-10 ESTUDIO DE LA DISTRIBUCIÓN TISULAR Y LA CAPTACIÓN POR MACRÓFAGOS DE AMICACINA UTILIZANDO ERITROCITOS PORTADORES

Elsa Briones Cuesta, Clara Isabel Colino Gandarillas, José Martínez Lanao.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Avda. Campo Charro s/n. 37007. Salamanca.
e-mail: jmlanao@usal.es

Introducción

Los aminoglucósidos son un grupo de antibióticos utilizados en el tratamiento de infecciones por gérmenes Gram (-). Una de las limitaciones que plantean es su baja penetración en el interior de las células (1). El uso de sistemas portadores, como los eritrocitos (2) podría solucionar este problema, permitiendo la utilización de estos agentes en el tratamiento de infecciones intracelulares. Además, los estudios en células fagocíticas son de gran utilidad para predecir la eficacia de estos antibióticos en el tratamiento de este tipo de infecciones.
El objetivo del presente trabajo ha sido el estudio de la penetración en células fagocíticas y de la distribución tisular de amicacina cuando se administra encapsulada en eritrocitos portadores.

Materiales y Métodos

Los eritrocitos portadores de amicacina se prepararon mediante un método de diálisis hipotónica utilizando un tampón hipoosmótico de 90 mOsm/kg y un tampón de resellado de 500 mOsm/kg (3, 4).
El estudio se realizó en dos grupos de ratas Wistar que habían recibido tres días antes una inyección de tioglicolato al 3% por vía intraperitoneal: uno recibió una solución de amicacina a una dosis de 7,5 mg/Kg y el otro 1 mL de eritrocitos conteniendo amicacina, en ambos casos por vía intraperitoneal. A tiempos predeterminados se extrajeron los macrófagos peritoneales mediante lavado peritoneal. A continuación los animales fueron sacrificados y se tomaron muestras de plasma y tejidos (hígado, bazo, riñón y pulmón).
Las concentraciones de amicacina en las distintas muestras se determinaron mediante una técnica de HPLC (C.V. = 7,32%) con detección de fluorescencia ($\lambda_{excitación}$=343 nm y $\lambda_{emisión}$=440 nm) tras una derivatización con o-phtaldialdehído (5).

Resultados y Discusión

La figura 1 muestra las concentraciones de amicacina obtenidas en macrófagos peritoneales, demostrando una mayor acumulación cuando se administra encapsulada en eritrocitos.

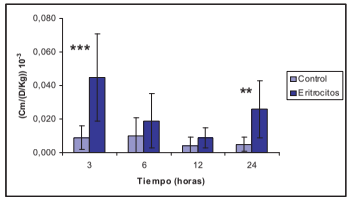


Figura 1. *Concentraciones medias de Amicacina en macrófagos peritoneales administrada en eritrocitos portadores y en disolución acuosa por vía intraperitoneal (*** p < 0,001, ** p < 0,01)*

La figura 2 muestra los niveles plasmáticos de amicacina en un periodo de 24 horas para los dos grupos estudiados.

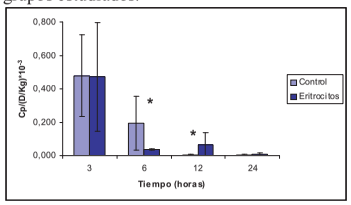


Figura 2. *Niveles plasmáticos de Amicacina administrada en eritrocitos portadores y en disolución acuosa por vía intraperitoneal (* p < 0,05)*

Se observa la existencia de concentraciones plasmáticas más bajas del antibiótico cuando se administra incorporado en eritrocitos portadores, poniéndose de manifiesto un efecto de acción sostenida con incremento de la vida media.
Las figuras 3-7 muestran las concentraciones de amicacina determinadas en los diferentes tejidos. Se ha encontrado una mayor acumulación del antibiótico en los tejidos pertenecientes al sistema retículo-endotelial como son bazo, hígado y pulmón, siendo especialmente notable su localización en el bazo. Sin embargo, no se aprecian grandes modificaciones en la distribución en el riñón, tanto en corteza como en médula renal.

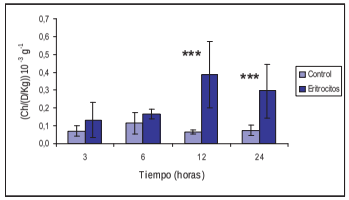


Figura 3. *Niveles de Amicacina en hígado administrada en eritrocitos portadores y en disolución acuosa por vía intraperitoneal (*** p < 0,001)*

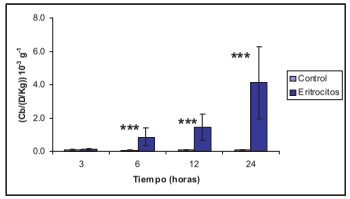


Figura 4. *Niveles de Amicacina en bazo administrada en eritrocitos portadores y en disolución acuosa por vía intraperitoneal (*** p < 0,001)*

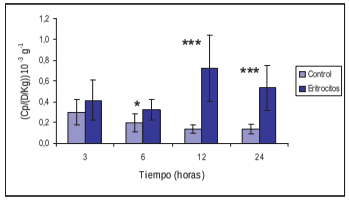


Figura 5. *Niveles de Amicacina en pulmón administrada en eritrocitos portadores y en disolución acuosa por vía intraperitoneal (* p < 0,05, *** p < 0,001)*

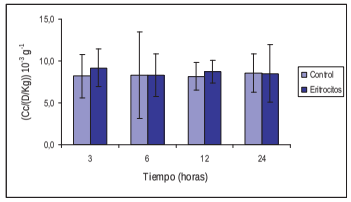


Figura 6. *Niveles de Amicacina en corteza renal administrada en eritrocitos portadores y en disolución acuosa por vía intraperitoneal.*

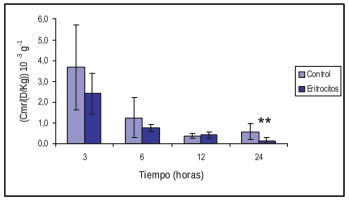


Figura 7. *Niveles de Amicacina en médula renal administrada en eritrocitos portadores y en disolución acuosa por vía intraperitoneal (** p < 0,01)*

Conclusiones

La administración intraperitoneal de eritrocitos portadores de amicacina muestra un aumento en la acumulación de antibiótico en macrófagos peritoneales comparado con su administración en solución acuosa.

El estudio de la farmacocinética de amicacina encapsulada en eritrocitos muestra un efecto de liberación sostenida con un incremento de la vida media en plasma.

El uso de eritrocitos autólogos como portadores biológicos produce una distribución selectiva del antibiótico en hígado, bazo y pulmón. No se observan cambios en la distribución en riñón.

Bibliografía

(1) M. Maurin and D. Roault. Use of aminoglycosides in treatment of infections due to intracellular bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy,* 45 (2001) 2977-2986.
(2) M. Hamidi and H. Tajerzadeh. Carrier erythrocytes: an overview. *Drug Delivery*, 10 (2003) 9-20.
(3) C. Gutiérrez Millán, A. Zarzuelo Castañeda, M. L. Sayalero Marinero, J. M. Lanao. Factors associated with the performance of carrier erythrocytes obtained by hypotonic dialysis. *Blood cells, Mol. & Dis.* 33 (2004) 132-140
(4) C. Gutiérrez Millán, M. Arévalo, A. Zarzuelo Castañeda, F.G. López, M.L. Sayalero, J.M. Lanao. Encapsulation and in vitro evaluation of amikacin-loaded erythrocytes. *Drug Delivery*, 12(6) (2005) 409-416.
(5) B. Santos, M.L. Sayalero, A. Zarzuelo, J.M. Lanao. Determination of amikacin in biological tissues by HPLC. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, 25(3) (2002) 463-473
.

C0-11 DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS FORMULACIONES PARA EL TRATAMIENTO DEL SÍNDROME DE OJO SECO.

Vicario de la Torre M.[1], de las Heras Polo B.[2], Andrés Guerrero V.[1], Barbosa Alfaro D.[1], Herrero-Vanrell R.[1], Molina-Martínez I.T.[1]

[1] Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, UCM, Madrid,
[2] Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, UCM, Madrid

Introducción

El síndrome de ojo seco (SOS) es una afección ocular de gran prevalencia, que afecta aproximadamente al 10-15 % de la población[1]. Esta patología se puede considerar como un conjunto de problemas que surgen a partir de la alteración de la película lacrimal que genera a su vez una pérdida de las propiedades ópticas de ésta y una ausencia de lubricación, hidratación, protección, nutrición y limpieza de la superficie ocular[2]. Independientemente del origen de la enfermedad, la terapia del SOS se centra, fundamentalmente, en mejorar los síntomas de la misma. Dentro de los tratamientos actuales se incluyen preparados dirigidos hacia la estabilización de la película precorneal.
El objetivo de este trabajo se centra en el desarrollo de formulaciones de administración tópica ocular que aumenten la estabilidad de la película precorneal y, por tanto, mejoren los síntomas del SOS. Los nanosistemas farmacéuticos ensayados que incluyen componentes acuosos y lipídicos (liposomas), vehiculizados en soluciones acuosas de cloruro sódico y ácido hialurónico (polímero bioadhesivo).

Materiales y Métodos

Componentes básicos de los liposomas

Fosfatidilcolina (PC) procedente de lecitina de soja (Phospholipon 90G® Phospholipid GMBH), Colesterol (Cht) y α-tocopherol (vit.E) (Sigma Chemical Co. St. Louis), Hialuronato sódico (HNa grado oftálmico) de peso molecular 400.000-800.000 Da (Abaran Materias Primas S.L.).

Método de preparación de los liposomas

Los liposomas se han preparado por la técnica de Bangham, siendo sometidos a sonicación y extrusión con el fin de homogeneizar el tamaño y la estructura de las vesículas formadas. Como componentes lipídicos de la formulación se emplean PC, Cht y vit.E (en relación 8:1:0,08), obteniéndose formulaciones con concentraciones en PC de 10 y 20 mg/ml.
Las formulaciones finales ensayadas se han vehiculizado en agua y en solución de HNa al 0,4% en medio salino hipotónico (NaCl 0,615%) e isotónico (NaCl 0,9%).

Determinación del tamaño de los liposomas

El análisis del tamaño de las vesículas se ha realizado por espectroscopia de correlación fotónica empleando un equipo Nanosizer N4 (Coulter).

Determinación de la osmolaridad

Se ha determinado con un osmómetro de vapor Knauer K-7000 a una temperatura de 33 ºC (temperatura de la superficie corneal). Como referencia se ha utilizado una solución patrón de cloruro sódico de concentración osmolar 400 mOsm/l.

Tolerancia *in vitro* de las formulaciones de liposomas

Se estudia la tolerancia *in vitro* de las formulaciones de liposomas mediante medidas de viabilidad celular. El ensayo se ha realizado en un línea celular de cornea humana[3] (Human Corneal-Limbal Epithelial Cells, cedida por Schepens Eye Research Institute, Harvard Medical School, Boston, MA.), utilizando la técnica de reducción a nivel mitocondrial, de la sal de bromuro de 3(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5 difeniltetrazolio (MTT) a formazán.
El ensayo se realizó a corto (15 minutos) y largo plazo (2 y 4 horas). Se empleó como control negativo de viabilidad (100%) las células sin tratar y como control positivo las células tratadas con una solución de cloruro de benzalconio al 0,005%.

Resultados y Discusión

Influencia del método de preparación en el tamaño de las vesículas lipídicas

En el método de preparación se han estudiado dos variables que condicionan el tamaño de las vesículas formadas: número de ciclos de extrusión y dispositivo empleado en el proceso de sonicación (sonda o baño de ultrasonidos).
A medida que aumenta el número de ciclos de extrusión disminuye el tamaño de las vesículas lipídicas (figura 1). Con 5 ciclos se consigue que la fracción de liposomas con un diámetro superior a 1µm sea inferior al 3%.

La influencia del tipo de sonicación empleado (sonda durante 2,5 minutos y baño de ultrasonidos durante 15 minutos) en el tamaño de las vesículas se recoge en la figura 2.
Aunque la distribución de tamaños obtenida con los dos dispositivos es bimodal, con el baño de ultrasonidos se consigue una disminución en la dispersión de tamaños y además, se evita la posible aparición de partículas metálicas que se pueden originar en el contacto directo con la sonda de ultrasonidos.

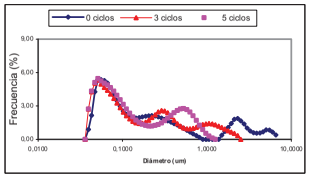


Figura 1. *Distribución de los tamaños de las vesículas lipídicas obtenidas con 1, 3 y 5 ciclos de extrusión.*

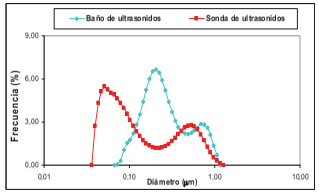


Figura 2. *Distribución de tamaños de los liposomas al utilizar los diferentes dispositivos de sonicación.*

Determinación de la Osmolaridad de las formulaciones

Los resultados de osmolaridad obtenidos en estos ensayos se indican en las tablas 1 y 2.

Muestra ensayada	Osmolaridad (mOsm/l)
Solución isotónica de ClNa (0,9 %)	291,7
Solución hipotónica de ClNa (0,615 %)	198,9
Hialuronato sódico al 0,4 % en solución isotónica de ClNa (0,9 %)	309,8
Hialuronato sódico al 0,4 % en solución hipotónica de ClNa (0,615 %)	214,2

Tabla 1. *Medida de la osmolaridad en los diferentes vehículos ensayados*

Muestra ensayada	Osmolaridad (mOsm/l)
Liposomas vehiculizados en solución isotónica de ClNa (0,9 %)	282,1
Liposomas vehiculizados en solución hipotónica de ClNa (0,615 %)	188,5

Tabla 2. *Osmolaridad determinada en las formulaciones que contienen liposomas con una concentración en fosfatidilcolina de 20 mg/ml*

La osmolaridad aportada por la sal sódica del ácido hialurónico al 0,4% oscila entre 15 y 18 mOsm/kg, Este valor puede ser debido tanto a la presión coloidosmótica que presentan estas moléculas (polímero de elevado peso molecular) como a los posibles iones de sodio que se liberan de la sal. La incorporación de las vesículas lipídicas genera una disminución de la osmolaridad, posiblemente debido al secuestro parcial de iones sodio por parte del resto fosfórico de la molécula de fosofolípido.

Tolerancia in Vitro de la formulación de liposomas

En la figura 3 se puede observar que en todos los casos la viabilidad celular ha resultado superior al 80%, no encontrándose diferencias significativas con el control negativo.

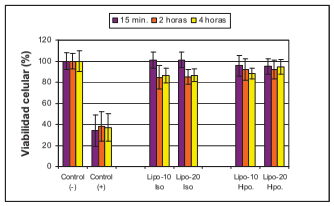


Figura 3*. Viabilidad celular obtenida con los cultivos de línea celular de cornea humana de las formulaciones de liposomas ensayadas. Lipo-10 y Lipo-20: liposomas con una concentración en fosfatidilcolina de 10 y 20 mg/ml, respectivamente.*

Conclusiones

La determinación de las propiedades fisicoquímicas de las formulaciones ensayadas, permite la selección de un preparado farmacéutico de características similares a las de la película lacrimal. Los estudios de viabilidad celular indican una tolerancia óptima para las distintas formulaciones.

Bibliografía

(1) Brewitt H, Sistani F. Dry eye disease: the scale of the problem. Surv Ophthalmol 2001; 45:S199-S202.
(2) Bron J, Tiffany JM, Gouveia SM, Yokoi N, Voon LW. Functional aspects of the tear film lipid layer. Experimental Eye Research 2004; 78: 146-153.
(3) Saarinen-Savolainen P, Järvinen T, Araki-Sasaki K, Watanabe H, and Urtti A. Evaluation o Citotoxicity of Various Ophthalmic Drugs, Eye Drop Excipients and Cyclodextrins in an Immortalized Human Corneal Epithelial Cell Line. Pharmaceutical Research 1998; 15 (8): 1275-80.

CO-12 CAMBIO EN EL PERFIL DE EFICACIA DEL CISPLATINO TRAS SU VEHICULIZACIÓN EN FORMAS POLIMÉRICAS

Daniel Moreno, María Azcona, Conchita Tros de Ilarduya, Eva Bandrés*, Jesús García-Foncillas*, María J Garrido

Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. *Laboratorio de Biotecnología. Sección Farmacogenómica. CIMA. Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción

El Cisplatino, sólo o en combinación, es un agente antineoplásico muy utilizado en una amplia variedad de tumores sólidos. Su severa nefrotoxicidad y neuropatía periférica, debido a la necesidad de administrar altas dosis para evitar en parte los fenómenos de resistencia, han supuesto una limitación para su uso[1]. Sin embargo, su potente efecto antitumoral y la aparición de resistencias similares para otros derivados, a priori más efectivos, han llevado al desarrollo de estrategias capaces de disminuir su toxicidad. Entre éstas resaltamos, la encapsulación en liposomas o microsferas. Pero, debido a la presencia de un elevado efecto "burst" acompañado en algunos casos de una eficacia de encapsulación baja[2], han significado un importante freno en el desarrollo de otras formas como las nanopartículas. Por otro lado, datos de la literatura apuntan a que un régimen de administración continuado a bajas dosis es más efectivo para inducir apoptosis que un régimen de dosis única y elevada. Esta idea ha llevado a plantearnos el siguiente **objetivo:** desarrollar formulaciones micro- y nanoparticulares capaces de englobar cisplatino para explorar el mecanismo de acción y la eficacia de éstas, en cultivo de células tumorales.

Material y métodos

Las partículas desarrolladas se prepararon siguiendo el método de evaporación del disolvente tras la formación de una doble emulsión (A/O/A)[3] y utilizando como polímero el PLGA, y en concreto el Resomer 502H.

Método A/O/A

Protocolo 1: Una solución acuosa de Cisplatino (2.5 mg/ml) se emulsionó con una solución de PLGA (100 mg) disuelto en diclorometano mediante una sonda de ultrasonidos Microson XL 2000, a una potencia de 20 W / 5 s. Esta emulsión A/O fue transferida a una solución acuosa de polivinilalcohol (PVA) al 9% (p/v) saturada con Cisplatino (2 mg/mL) que, tras su homogeneización se obtuvo la segunda emulsión. La mezcla A/O/A se dejó en agitación a Tª ambiente durante 3 h y transcurrido ese tiempo las muestras se centrifugaron, se lavaron con agua y se liofilizaron. Las partículas se guardaron a -80º C para su caracterización.

Protocolo 2: Una solución (1.6 mg/ml) de Cisplatino disuelto en tampón TrisHCl 30 mM, se homogeinizó con una solución de PLGA (100 mg) disuelto en cloroformo, mediante Ultra-Turrax durante 10 s. Esta mezcla se añadió a una solución acuosa de PVA (9%, p/v) saturada con Cisplatino (2mg/mL) y tras 30 s de homogeneización con el Ultra-Turrax, la mezcla se dejó 3 h en agitación. Las partículas se recogieron por centrifugación, se lavaron con agua milliQ y fueron liofilizadas y guardadas a -80º C para su caracterización.

Caracterización de las partículas.

- *Estudios físico-químicos:* el tamaño y el potencial zeta se determinaron por difractometría de láser en un Zetasizer Nano Series. Aquellas partículas con tamaños superiores a 1 ó 1.2 µm, se cuantificaron en el Mastersizer (lente 300RF).

- *Estudios de liberación in-vitro*

Para cuantificar la cantidad de Cisplatino encapsulado, muestras de 2.5 mg de partículas se disolvieron en 1 ml de PBS. La mezcla se dejó en agitación a 37º C y a distintos tiempos, se recogieron alícuotas del medio que se mezclaron con 10 µl de una solución de ditiocarbamato sódico (DDTC) (10% p/v NaOH 0.1M). Esta mezcla se incubó 1 h a 37º C y posteriormente se colocó a 4º C/10 min. Se añadió 100 µl de cloroformo como agente extractante y tras agitación, la mezcla se centrifugó a 1000 g/ 5 min. La fase orgánica se inyectó en el HPLC y la detección de los complejos DDTC-Pt se realizó a 254 nm. Las condiciones cromatográficas consistieron en: columna Kromasil C-18 (25x0.46 cm; con 5 µm de poro) y una fase móvil metanol/agua (75:25) a un flujo isocrático de 1 ml/min. La técnica fue lineal entre 100-0.1 µg/ml, el límite de detección estuvo en 0.2 µg/ml y la precisión [expresada como CV (%)] fue < 10%.

Caracterización de la citotoxicidad

- *Estudios de viabilidad celular*: Células DHDK12-Prob, procedentes de carcinoma de colon de rata, fueron sembradas en placas de 96 pocillos. Transcurridas 24 h cada placa fue tratada

con distintas concentraciones (2,5- 100µM) de cisplatino libre y encapsulado durante distintos tiempos de exposición (6- 144 h). A cada tiempo, la placa fue lavada y tratada con un colorante vital, el rojo neutro, para cuantificar el porcentaje de células vivas. Con esta técnica se determinó la evolución temporal de la supervivencia para los tratamientos y la IC_{50} a cada tiempo.

- *Análisis del ciclo celular*: Estas mismas células fueron sembradas en placas de 6 pocillos y se siguió el mismo protocolo que el descrito en el estudio anterior. En este caso, las concentraciones usadas fueron 2,5 y 50 µM para el compuesto libre y encapsulado y los tiempos ensayados fueron los mismos (6- 144 h). A cada tiempo las células fueron recogidas mediante tripsinización y tras permeabilizarlas con tween 20 (0.1%) se marcaron con ioduro de propidio. Las células marcadas se analizaron mediante citometría de flujo.

- *Caracterización de la respuesta apoptótica*: Siguiendo la metodología descrita para el estudio del análisis del ciclo celular, se midieron los niveles de un efector apoptótico para el cisplatino, la caspasa-3. Para cuantificar esta proteína intracelular, las células fueron lisadas y procesadas siguiendo el protocolo descrito por el kit-caspase3 comercial (Deltaclon S. L., Madrid).

Resultados y discusión

Las partículas obtenidas mediante los dos protocolos difirieron estadísticamente en el tamaño y la cantidad de cisplatino encapsulado (carga) mientras que, no se observaron diferencias en el potencial zeta. En ambos casos, las poblaciones fueron homogéneas y las partículas redondas con tamaños medios de 192 nm ± 16 y de 9.21 µm ± 3.03 para los protocolos 1 y 2, respectivamente. Este resultado influyó en los perfiles de liberación y la carga obtenida. Así, las nanopartículas (NP) presentaron un efecto burst del 50 % a las 24h, mientras que éste no llegó al 20 % para las micropartículas (MP). Este aspecto condicionó la cinética de viabilidad celular para cada tratamiento ya que, la IC_{50} a las 24h fue de 18, 100 y > 100 µM para cisplatino libre, NP y MP, respectivamente. Un aspecto curioso, fue el cambio en el valor de este parámetro a las 48 h y especialmente a las 72 h, donde estas diferencias casi desaparecieron, como se observa en la figura 1.

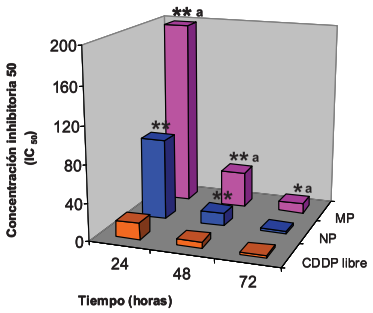


Figura 1: Evolución temporal del parámetro IC_{50} del cisplatino libre y encapsulado en NP y MP. *p<0,05 respecto al fármaco libre; **a,** respecto a la MP.

Este resultado apunta a que las células con el paso del tiempo se adhieren a las partículas, favoreciendo la degradación del polímero de manera más rápida que cuando se incuban en PBS únicamente. Por otro lado, el análisis de las distintas fases del ciclo celular mostró, que la acumulación de células en fase G2/M tras el tratamiento con cisplatino, se cumple cuando la dosis utilizada está por debajo de 10 µM para el agente libre, mientras que a dosis superiores, estas células son capaces de saltar este "checkpoint" y entrar en apoptosis directamente. Estos resultados contrastan con los observados para los tratamientos con NP y MP donde, incluso 50 µM siguió el patrón de acumulación en fase G2/M.

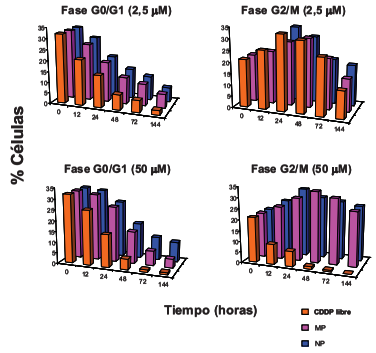


Figura 2: Evolución temporal del % de células en fase G0/G1 y G2/M del ciclo celular tras el tratamiento con cisplatino libre y vehiculizado en NP y MP (2,5 y 50 µM).

Este dato corrobora, al menos in-vitro, la hipótesis de partida sobre la activación más efectiva de apoptosis tras una liberación continuada y a dosis bajas. Finalmente, y para profundizar más detenidamente en el mecanismo de apoptosis, observamos que la caspasa-3, presentaba un perfil de activación dosis dependiente en todos los casos. Este perfil para el tratamiento con cisplatino libre llegaba a un máximo a las 24 h mientras que, para la NP y MP este máximo se desplazaba a las 48 h y 72 h, respectivamente. Además, los niveles de activación fueron diferentes entre el compuesto libre, NP y MP, para la misma dosis total.

Conclusiones. A la vista de estos resultados podemos decir que, la encapsulación del cisplatino supuso un aumento de la eficacia de este agente, al menos en ensayos in-vitro. Este aumento se relacionó con la presencia de un mecanismo de acción dual, el cual dependió de la dosis y pauta de administración utilizada.

Bibliografía

1 Fuertesa MA, Castillab J, Alonso C, Pérez JM. Curr Med Chem 10: 257, (2003).

2 Spenlehauer G, Vert M, Benoit JP, Chabot F, Veillard M. J Control Release 7: 217, (1988).

3 Diez, S. and C. Tros de Ilarduya. Eur J Pharm Biopharm 63: 188, (2006).

Agradecimientos
Este trabajo ha sido en parte financiado por el Departamento de Educación del Gobierno de Navarra y el Instituto de Salud Carlos III (C10/2003, RTIC Cáncer).

CO-13 IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION OF ALGINATE-OLIGOCHITOSAN-ALGINATE MICROCAPSULES FOR CELL IMMOBILIZATION

De Castro, M.,[1] Orive, G.,[1] Hernández, R.M.,[1] Bartkowiak, A.[2], Pedraz, J.L.[1]

[1]Laboratory of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of the Basque Country (UPV/EHU), Paseo de la Universidad nº 7, Vitoria-Gasteiz, 01006, Spain
e-mail: knppemuj@vc.ehu.es
[2]Food Parking and Biopolymers, Faculty of Food Sciences and Fisheries, University of Agriculture in Szczecin, Papieza Pawla VI no. 3 71-456 Szczecin, Poland

Introduction

Cell encapsulation is an attractive somatic gene therapy alternative, in which genetically engineered cells are manipulated to secrete the protein of interest. The most important concepts related to this approach are de novo drug production and the immunoprotection ejected by the semipermeable membrane that encloses the cells. (1)

Revising the literature one of the most frequent methods to immobilize biologically molecules consists on the ionic interaction stabilized between chitosan and alginate. Thu et al. reached to the conclusion that the polyelectrolyte complex formed between chitosan and alginate under certain conditions can be considered mechanically more stable than the complex formed between poly-L-lysine and alginate.(2) The use of polycation chitosan presents one problem due to his high molar mass (greater that 10000 $gmol^{-1}$). The completely solubility of chitosan requires a pH value below 6.6 and these acidic conditions are not generally acceptable for mammalian cells. Recently, it has been shown that by adjusting the molecular mass of the oligochitosan sample, it is possible to obtain, under physiological conditions, biocompatible and mechanically stable capsules. (3)
In this work, we have selected an oligochitosan to prepare microcapsules according to a two step encapsulation procedure. The in vitro biocompatibility of the oligochitosan and the in vivo functionality of the capsules have been studies by means of enclosing erythropoietin (EPO)-secreting cells.

Materials and Methods

The purification, characterization, and analytical investigation of the oligochitosan have been described elsewhere. (4) The Oligo-3 has a Mw of 6680 and was kindly provided by Food Packanging and Biopolymers of Faculty of Food Sciences and Fisheries in the University of Agriculture in Poland.

C2C12 cells genetically engineered to secrete murine EPO (mEPO) were kindly provided by Laboratorie D´etude de la Neurodegenerescence of Institut des Neurosciences (EPFL, Lausanne, Switzerland).

A 96-well plate was used for cell culture. 10.000 cells per well were seeded to culture clusters. Culture medium was replaced by 100 µl of two different concentrations of the same oligochitosan (0.5 and 0.05% w/v). Positive (culture medium) and negative (triton solution) controls were also tested. The MTT assay was used to measure the cell viability. The relative viability of the cells related to the control wells was calculated by [test viability]/[control viability] x 100.

The LDH concentration in the cell cultures was calculated after 3 hours of incubation. A commercial kit was used to evaluate these concentrations (DG130, Sigma). Culture medium without oligochitosan was used to set 0% LDH release while positive controls were performed with 0.1% triton and set as 100% LDH release. The relative LDH release was calculated by [LDH release test]/[total LDH release] x 100. Results are expressed as mean ± standard deviation for three replications.

mEPO secreting C2C12 cells were immobilized into alginate-oligochitosan-alginate microcapsules using an electrostatic droplet generator. Firstly, a $5 \cdot 10^6$ cell suspension in 1.5% LVG alginate was extruded into a 55 mMol CaCl solution. Secondly, the beads were coated with a 1% (w/v) oligochitosan solution during 20 min. Finally capsules were coated with a 0.1% alginate solution.

The morphology of alginate-oligochitosan-alginate was evaluated using an inverted optical microscope and a fluorescence confocal microscope, both of them equipped with a camera.

Cell-loaded microcapsules were implanted subcutaneously using a catheter (Nipro 18 gauge; Nissho Corp.) on adult female Balb/c mice (n=5) previously anesthetized by ether inhalation. Blood was collected at determined times by retro-orbital bleeding on anesthesized mice. The hematocrit was then measured using a standard

microhematocrit method. After 80 days of implantation, capsules were retrieved from some animals and fixed in 4% paraformaldehyde solution for histological analysis.

Results and Discussion

The oligochitosan studied showed an adequate biocompatibility as it is observed in the cell viability and cytotoxicity assays (Fig 1A and 1B respectively):

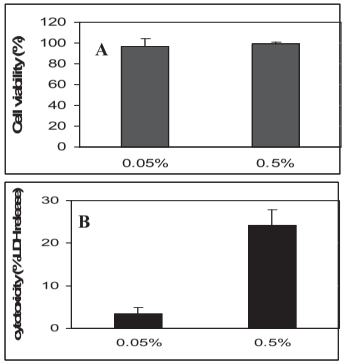


Fig. 1. *(A) Cell viability and (B) LDH release from C2C12 cells cultured with two different solutions of oligochitosans.*

As it is shown in Fig. 2, all microcapsules presented a uniform and spherical shape.

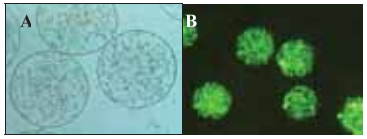


Fig. 2. *Morphology of encapsulated EPO-secreting cells. (A) Optical and (B) Confocal microcopy.*

Cell-loaded microcapsules implanted in mice induced a rapid and maintained hematocrit level during 82 days (Fig. 3).

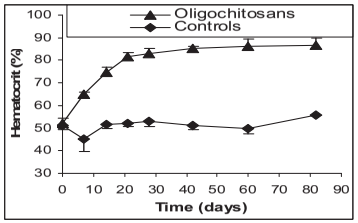


Fig. 3. *Hematocrit values of Balb/c mice (n=5) after subcutaneous implantation of encapsulated EPO-secreting C2C12 cells*

The histological analysis of the explanted microcapsules revealed a neovascular network within and surrounding the capsules. The EPO angiogenic activity may be responsible for this neovascularization (5). Besides a weak fibroblast overgrowth was detected especially surrounding the capsules. (Fig. 4)

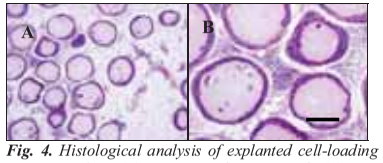


Fig. 4. *Histological analysis of explanted cell-loading microcapsules. (A) 4x magnification and (B) 10x magnification. 200µm scale bar.*

Conclusions

In the present work, the in vitro analysis showed that oligochitosan molecule is highly biocompatible. On the other hand, the s.c. implantation of alginate-oligochitosan-alginate microcapsules inmobilizing EPO-secreting C2C12 cells in Balb/c mice induced a rapid increase of hematocrit levels. High and constants hematocrit levels were maintained with only one shot and without applying any immunosuppressive protocol.

In summary, our contribution demonstrates the feasibility and long-term efficacy of alginate-oligochitosan-alginate microcapsules for murine EPO delivery

Acknowledgements

This project was partially supported by the "Ministerio de Educación y Ciencia" (BIO2005-02659).

M. De Castro thanks the "Gobierno Vasco (Departamento de Educación, Universidades e Investigación)" for the fellowship grant.

Bibliografía

(1) Orive, G. et al. Nat. Med. 9, 104-107, 2003.

(2) Thu, B. et al. Biomaterials. 17, 1031-1040, 1996.

(3) Orive, G. et al. J. Biomed. Mat. Res. 74B, 429-439, 2005.

(4) Bartkowiak, A. J Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects. 204, 117-124, 2002.

(5) Ribatti, D. et al. Blood. 8, 2627-2636, 1999.

CO-14 INMUNOTERAPIA CON NANOPARTÍCULAS DE GANTREZ® AN CONTENIENDO LIPOPOLISACARIDO DE *BRUCELLA OVIS*

Gómez S.[1], Gamazo C.[2], San Roman B.[1], Ferrer M.[3], Sanz M.L.[3], Grau A.[4], Espuelas S.[1], Irache J.M.[1]

Farmacia y Tecnología Farmacéutica[1], Microbiología[2] y Alergología[3], Universidad de Navarra, Pamplona. [4]Applied Molecular Development, Alcarria 7, Pol. Ind. Coslada, Madrid.
e-mail: jmirache@unav.es

Introducción

Durante los últimos años, la prevalencia de las enfermedades alérgicas ha experimentado un crecimiento exponencial. En la UE, la alergia es la enfermedad crónica más común en los niños, llegando a tasas mayores del 25% en algunos países (1). En España, la prevalencia de este tipo de enfermedades en la población de 4 a 17 años es de un 13,3%; de entre ellas el 6,4% se manifiesta como asma bronquial (2).

La inmunoterapia es un tratamiento clínico efectivo de la alergia que permite aumentar la calidad de vida de los pacientes, mediante la reducción de los síntomas y del uso de otra medicación. Sin embargo, la inmunoterapia actual se asocia a una gran variabilidad en seguridad y eficacia (3). Una estrategia para intentar solventar estos problemas es el desarrollo de nuevos adyuvantes mas seguros y eficaces.

Por ello, en este estudio se evaluó la eficacia de las nanopartículas de Gantrez® como adyuvantes en inmunoterapia. Para ello se utilizó ovalbúmina como modelo de alergeno y en algunos casos se añadió a la formulación lipopolisacárido de *Brucella ovis*, para que actuara como inmunomodulador.

Material y Métodos

Material

Gantrez® AN 119 (ISP). Ovalbumina (Ova), 1.3-diaminopropane (DP) y Alum (Sigma-Aldrich Chemie). Los inmunoconjugados (GAM/IgG_1/PO y GAM/IgG_{2a}/PO) se obtuvieron de Nordic Immunology. El kit ELISA de IL-10 de Biosource International. El lipopolisacarido (LPS) se extrajo de *Brucella ovis* REO 198 (4).

Preparación de las nanopartículas

Las nanopartículas de Gantrez® AN se prepararon mediante dispersión de 4 mg Ova en 1 mL de acetona. Esta dispersion se añadió sobre 4 mL de acetona que contenían 100 mg de Gantrez® AN disueltos y se agitó la mezcla durante 30 min a temperatura ambiente. Alguno de los lotes se incubó también con 1 mg LPS en 1 mL acetona. A continuación se llevó a cabo la desolvatación del polímero mediante la adición de 20 mL de una mezcla de etanol y agua. Los disolventes orgánicos se eliminaron y las nanopartículas resultantes se reticularon con 5 µg DP/mg polímero durante 5 min. Finalmente, las suspensiones resultantes se centrifugaron y se liofilizaron.

Caracterización de las nanopartículas

El tamaño de partícula y el potencial zeta de las nanopartículas se determinaron en un analizador Zetamaster. La cantidad de Ova asociada a las nanopartículas se determinó utilizando el método del Micro BCA. La cantidad de LPS se cuantifico por el método del KDO.

Estudios de inmunización

Ratones BALB/c se dividieron en grupos de 5 animales. Estos fueron inmunizados por vía i.d. con 10 µg de OVA incorporada en (i) OvaNP, (ii) LPS-OvaNP, (iii) Ova-Alum o (iv) disuelta en PBS. Las muestras de sangre se recogieron a diferentes tiempos y los niveles de anticuerpos anti-Ova e Il-10 se determinaron por ELISA.

Sensibilización, vacunación y desafío

Ratones BALB/c fueron sensibilizados mediante administración i.p. de 50 µg Ova emulsificada en 1 mg Alum. Posteriormente, los animales recibieron 3 inyecciones i.d. con 3 µg de Ova formulada como OvaNP, LPS-OvaNP, Ova-Alum o disuelta en PBS. Finalmente, el día 35 los animales fueron desafiados mediante inyección i.p. de 1 mg de Ova. La intensidad de la anafilaxia se evaluó determinando mortalidad y sintomatología, y mediante la cuantificación de los niveles de histamina en sangre y el descenso de la temperatura corporal.

Resultados y Discusión

La Tabla 1 resume las características fisicoquímicas principales de las diferentes formulaciones estudiadas. Las nanopartículas de Gantrez® AN presentaron un tamaño de aproximadamente 200 nm y una encapsulación de alrededor de 30 µg OVA/mg. En LPS-OvaNP, la presencia de LPS no influyó en las características fisicoquímicas, excepto en el potencial Zeta, que resultó ser menos negativo que en el caso de la formulación OvaNP.

	Tamaño (nm)	Contenido Ova (µg/mg)	Contenido LPS (µg/mg)
NP	158±2	-	-
OvaNP	239±3	30,1±4,5	-
LPS-OvaNP	227±4	26,5±0,3	13,8±3,0

Tabla 1. Caracterización de las nanopartículas (media ± desviación típica, n=10).

Inmunización

Cuando estas formulaciones se administraron por vía i.d. en ratones, se pudo observar como todas ellas inducían niveles significativamente altos de anticuerpos IgG1 (respuesta Th2). Sin embargo, y a diferencia de los controles, las formulaciones de nanopartículas (OvaNP y LPS-OvaNP) inducían la secreción de niveles significativos de anticuerpos IgG2a anti-Ova (marcador Th1). Igualmente, para ambas formulaciones de nanopartículas, se pudo detectar niveles altos de IL-10 en suero. Dicho resultado demuestra que estas nanopartículas son capaces de ejercer un efecto sobre los linfocitos T reguladores, previniendo la secreción de IgE y la expansión Th2 (5).

Sensibilización, vacunación y desafío

Los animales tratados con LPS-OvaNP presentaron la sintomatología más favorable tras el desafío. En efecto, este grupo mostró los niveles más bajos de histamina (Figura 1).

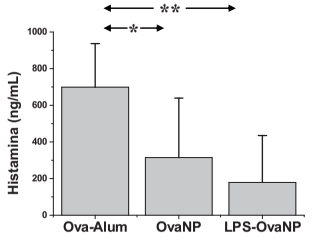


***Figura 1**. Aumento de los niveles sanguíneos de histamina, 30 minutos después del desafío.*

Igualmente, el descenso térmico de los animales fue de aproximadamente 3,6ºC para los controles frente a una disminución de 1,2º para los tratados con LPS-OvaNP 2,9ºC para Ova-NP. Igualmente, los animales tratados con LPS-OvaNP presentaban una movilidad normal y pocos síntomas de cianosis o piloerección. Por último es de destacar que ninguno de los animales tratados con LPS-OvaNP murió. Para los otros grupos las tasas de mortalidad estaban comprendidas entre 60-80% para los controles y el 40% para los animales tratados con OvaNP (Tabla 2).

	Pilo-erección	Movi-lidad	Cianosis	Morta-lidad
Ova-Alum	+ +	**Baja**	+ +	**80%**
PBS	+ + +	**Baja**	+ + +	**60%**
OvaNP	+	**Baja**	+	**40%**
LPS-OvaNP	+	**Normal**	+ +	**0%**

***Tabla 2**. Síntomas tras la vacunación intradérmica y el posterior desafío. (-) ausencia; (+) débil; (++) moderado; (+++) fuerte.*

Conclusión

La presencia de LPS potencia el efecto protector e inmunoterapeutico de las nanopartículas de Gantrez AN. En efecto, LPS-OvaNP administrada por vía intradérmica protege del shock anafiláctico a animales experimentalmente sensibilizados frente a ovalbúmina

Agradecimientos

Gobierno de La Rioja, Fundación de Roviralta, Fundación Universitaria de Navarra y Ministerio de Ciencia y Tecnología (Project SAF2001-0690-C03-01)".

Bibliografía

(1) http://www.eaaci.net/media/PDF/B/683.pdf
(2) Zubeldia et al., Alergolía e Inmunología Clínica, 16, 13 (2001).
(3) Bernstein et al., J. Allergy Clin. Immunol., 113, 1129 (2004).
(4) Gamazo et al., Infect. Immun., 57, 1419 (1989).
(5) Cottrez et al., J. Immunol., 165, 4848 (2000).

CO-15 TRANSPORTE Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE FTORAFUR POR NANOSFERAS DE POLI(ETLI-2-CIANOACRILATO) Y POLI(BUTILCIANOACRILATO)

Arias, J.L., Gallardo, V., Linares-Molinero, F., Ruiz, M.A.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja, s/n. 18071 Granada
e-mail: jlarias@ugr.es

Introducción

En el presente trabajo investigamos las posibilidades de 2 tipos de nanosferas de poli(alquilcianoacrilato) como sistemas de transporte de fármacos anticancerígenos. La utilización de esta familia de polímeros biodegradables ofrece grandes posibilidades en el tratamiento de células cancerígenas resistentes, ya que se logran concentraciones terapéuticas en el tejido tumoral. El incremento de la acción terapéutica se debe a: i) la potenciación de la toxicidad del fármaco; ii) la toxicidad inducida por las altas concentraciones locales de productos de degradación en la membrana celular, lo que induce la inhibición del crecimiento celular o la muerte celular; iii) la reversión de los mecanismos de multirresistencia a fármacos, debido a adsorción del transportador en la superficie celular y a la formación, tras la degradación polimérica, de pares iónicos [fármaco-ácido poli(cianoacrílico)], capaces de atravesar la membrana celular sin ser reconocidos por la glicoproteína P (1, 2).

En la presente contribución, nos centramos en la preparación de nanoesferas de poli(etil-2-cianoacrilato) y poli(butilcianoacrilato) (PE-2-CA y PBCA, respectivamente) cargadas de Ftorafur. Analizamos la capacidad de absorción/adsorción de fármaco y los factores que la influencian (tipo de monómero y su concentración, [fármaco] y pH). Finalmente, investigamos los factores determinantes de la cinética de liberación *in vitro*.

Materiales y Métodos

Materiales

Los reactivos empleados son de calidad analítica (Panreac, España), excepto los monómeros butilcianoacrilato y etil-2-cianoacrilato (regalo de Henkel Loctite, Irlanda) y el Ftorafur (Sigma-Aldrich, Alemania). El agua es de calidad Milli-Q (Milli-Q Academic, Millipore, Francia).

Preparación de las nanoesferas poliméricas

La síntesis de nanoesferas de PE-2-CA y PBCA con un tamaño ~ 100 nm, se realiza mediante polimerización en emulsión del monómero (3): se añade el monómero [1 % (p/v)], bajo agitación mecánica, a un medio de polimerización con una concentración 10^{-4} N de HCl y un 1 % (p/v) de dextrano-70. Tras 2 horas bajo agitación mecánica, se neutraliza con cantidad suficiente de KOH, para asegurar la finalización de la reacción.

Estudio de la adsorción y absorción de Ftorafur

Mediante espectrofotometría UV-Vis (λ = 271 nm) se determinó la incorporación de antineoplásico a nivel superficial o en la matriz polimérica, utilizando una metodología basada en la aplicación de la ley de Beer de soluciones que contienen una concentración inicial de Ftorafur, tras realizar la síntesis de las partículas poliméricas en esta disolución de fármaco (4). Sólo se analizó en detalle la influencia del pH (HCl: 10^{-4} a 10^{-2} N) y de la concentración de Ftorafur (entre 10^{-4} y 10^{-2} M), siguiéndose el método de síntesis ya descrito (3, 4), ya que no se observó un efecto significativo de la concentración de tensioactivo y de monómero. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Estudios de liberación *in vitro*

El estudio de la liberación del Ftorafur adsorbido/absorbido se realizó utilizando las partículas preparadas con una concentración de antineoplásico 10^{-2} ó 10^{-4} M en el medio de contacto/polimerización. En ambos casos, las partículas fueron suspendidas, bajo agitación (50 rpm), en 10 mL de una solución buffer NaOH-KH_2PO_4 (pH = 7.4) a 37.0 ± 0.5 ºC. A tiempos prefijados, se tomaron muestras de 1.5 mL y se analizaron mediante espectrofotometría, tras su centrifugación (13500 rpm, 15 min.). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Resultados y Discusión

Adsorción de Ftorafur en las nanoesferas

La concentración de anticancerígeno en el medio de contacto ejerce un efecto positivo sobre la eficiencia de adsorción de ambos polímeros. Como puede apreciarse en la Fig. 1, la adsorción de Ftorafur se incrementa potencialmente con la cantidad de fármaco en solución, no sugiriéndose saturación alguna para las concentraciones estudiadas.

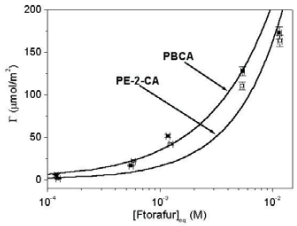


Fig. 1. *Densidad de adsorción de anticancerígeno en función de la [Ftorafur] en el equilibrio.*

Efecto de la [Ftorafur] y del pH en la absorción

El aumento de la concentración de fármaco en solución aumenta de manera potencial la absorción de Ftorafur, sin que se sugiera saturación alguna (Fig. 2). La mayor cinética de polimerización del etil-2-cianoacrilato, justifica la mejor absorción lograda por su polímero, al conseguirse una adecuada captación mecánica.

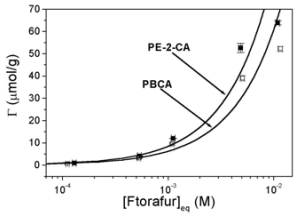


Fig. 2. *Densidad de absorción de Ftorafur en función de la [Ftorafur] en el equilibrio.*

Con respecto al efecto del pH-[HCl] (M) del medio de polimerización (Fig. 3), para cualquiera de las concentraciones de Ftorafur empleadas, la mayor absorción se obtiene a un pH ~ 4, ya que al disminuir la [OH⁻], la velocidad de polimerización se ralentiza y la captación mecánica decrece (4).

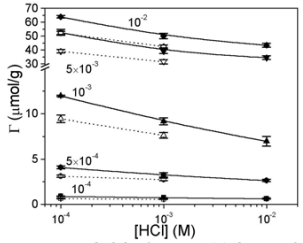


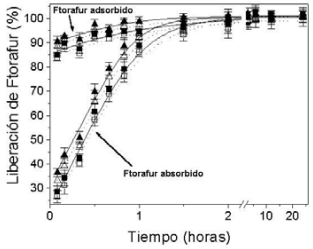
Fig. 3. *Densidad de absorción (Γ) de Ftorafur, en función de la [HCl] (M), del PE-2-CA (líneas) y el PBCA (símbolos abiertos). Las [Ftorafur] (M) utilizadas en sentido creciente de Γ son: 10^{-4}, 5×10^{-4}, 10^{-3}, 5×10^{-3} y 10^{-2}.*

De forma general, se aprecia una mayor absorción para el PE-2-CA, esto es debido a la mayor velocidad de polimerización de su monómero (5).

Liberación *in vitro* de Ftorafur

Bajo las condiciones estudiadas pH = 7.4), se desarrolla una liberación bifásica, independiente de la cantidad de fármaco cargada: la liberación rápida del anticancerígeno situado a nivel superficial (~80 % en 0.5 h.), seguida de una fase lenta consecuencia de la degradación polimérica por erosión superficial (20 % en 1 h.). La cinética es ligeramente superior para el PE-2-CA, debido a su mayor velocidad de degradación. Además, la liberación se ve ligeramente acelerada al aumentar la cantidad de Ftorafur incorporada por las partículas. Por otro lado, en la liberación del fármaco adsorbido se observa el mismo comportamiento comentado respecto al anticancerígeno absorbido y el proceso es completo tras 0.8 h.

Fig. 4. *Liberación de antineoplásico desde*



PE-2-CA (▲, Δ) y PBCA (■, □) en función del tiempo a pH = 7.4. El medio de polimerización o adsorción tiene una [Ftorafur] (M) de 10^{-3} (símbolos abiertos, líneas discontinuas) o 10^{-2} (símbolos y líneas sólidas).

Conclusiones

Se han identificado las condiciones ideales para la síntesis de nanopartículas poliméricas adecuadas para administración parenteral y con una máxima carga de Ftorafur. La absorción permite obtener una mayor incorporación de anticancerígeno y un perfil de liberación bifásico más lento, en comparación con la adsorción.

Bibliografía

(1) Vauthier, C., et al. Adv. Drug Deliv. Rev. 55, 519-548. 2003.
(2) Vauthier, C., et al. J. Control. Rel. 93, 151-160. 2003.
(3) Arias, J.L., et al. J. Colloid Interface Sci. 299, 599-607. 2006.
(4) Arias, J.L., et al. J. Biomed. Nanotech. 1(2), 214-223. 2005.

Tecnología Farmacéutica

P-01 CARACTERIZACIÓN DE MICROPARTÍCULAS DE KOLLIDON® SR DESTINADAS AL DISEÑO DE SISTEMAS TRANSPORTADORES DE FÁRMACOS

Arias, J.L., Gómez-Gallo, A., López-Viota, M., Gallardo, V.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja, s/n. 18071 Granada
e-mail: vglara@ugr.es

Introducción

El interés por la utilización de formas de dosificación orales no sólidas, de liberación modificada de principios activos, determina que actualmente no dejen de aparecer nuevos sistemas transportadores que permiten adaptar las pautas posológicas a las necesidades del paciente y reducir las fluctuaciones de las concentraciones plasmáticas de fármaco entre dosis, garantizando así la eficacia terapéutica y minimizando la severidad de los efectos secundarios dependientes de la dosis. La utilización de formas líquidas, como las suspensiones, permite ampliar el abanico de indicaciones a dos sectores de la población de elevada importancia clínica (niños y ancianos) y lograr un fácil ajuste de la dosis.

El presente trabajo tiene como objetivo lograr una completa caracterización de Kollidon® SR, un copolímero de acetato de polivinilo y polivinil pirrolidona; concretamente: forma y tamaño, composición química, y propiedades eléctricas y termodinámicas superficiales.

Materiales y Métodos

Materiales

El Kollidon® SR utilizado se encuentra en forma de polvo blanco-amarillento (BASF, Alemania). Los reactivos empleados son de calidad analítica (Panreac, España), excepto el diiodometano (Merck, Alemania) y la formamida (Carlo Erba, Italia). El agua es de calidad Milli-Q (Milli-Q Academic, Millipore, Francia).

Métodos de caracterización

En primer lugar, se realizó una selección de partículas con un tamaño por debajo de 10 μm, utilizando una célula de filtración bajo agitación con una membrana de tamaño de poro de 10 μm.

La determinación de la forma y el tamaño de las partículas poliméricas se realizó mediante el análisis de fotografías de microscopia electrónica de barrido (S.E.M.), realizadas a suspensiones diluidas [~0.1 % (p/v)].

Para la obtención del interferograma de FTIR de la muestra de Kollidon® SR, se utilizó un espectrómetro de infrarrojos (Nicolet 20 SXB, USA). La obtención de espectros alta resolución de ^{1}H-RMN y ^{13}C-RMN se realizó mediante un espectrómetro de impulsos o de transformada de Fourier (BRUKER AM-300), utilizando cloroformo deuterado como disolvente. La identificación de la muestra y el análisis de los espectros se realizó mediante comparación con los datos de la ficha técnica del producto y con datos tabulados (1-3).

Los valores de área superficial específica del sólido se obtuvieron mediante la técnica B.E.T. multipunto de adsorción de nitrógeno (Quantasorb Jr., Quantachrome, USA).

Las propiedades eléctricas superficiales de las suspensiones poliméricas [~0.1 % (p/v)] se investigaron mediante medidas electroforéticas en función del pH y de la [$NaNO_3$] (Malvern Zetasizer 2000, Inglaterra). Las medidas se realizaron a 25.0 ± 0.5 ºC, tras 24 h. de contacto a esta temperatura. La conversión de los valores de movilidad electroforética en potencial zeta (ζ) se realizó utilizando la teoría de O'Brien y White (4).

El análisis termodinámico superficial se realizó utilizando el modelo de van Oss et al. (5). Los ángulos de contacto de los líquidos (agua, formamida y diiodometano) se midieron a 25.0 ± 0.5 ºC utilizando un telegoniómetro Ramé-Hart 100-0.7-00 (USA) en comprimidos (radio: 1.3 cm) obtenidos mediante compresión del polvo seco en una prensa hidráulica Spepac (10 Ton., 5 min.).

Resultados y Discusión

La observación de la fotografía S.E.M. (Fig. 1), permite identificar la morfología esférica de las partículas y su irregularidad superficial. Las partículas presentan una amplia distribución de tamaños y un diámetro medio y desviación estándar de 6.35 ± 3.55 μm.

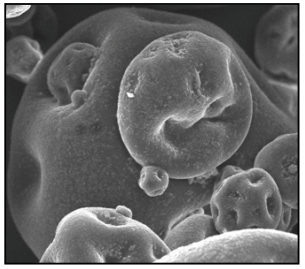


Fig. 1. Fotografía S.E.M. de Kollidon® SR.

El espectro de IR del polímero (Fig. 2) coincide con el correspondiente a la ficha técnica del producto y permite, al igual que los espectros de RMN (datos no representados), identificar la muestra como Kollidon® SR y sus grupos funcionales característicos.

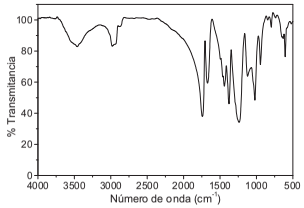


Fig. 2. Espectro de infrarrojos de Kollidon® SR.

La superficie específica obtenida fue 2.97 ± 0.15 m^2/g. Este elevado valor era esperable si tenemos en cuenta la gran rugosidad y la irregularidad superficial de estas esferas poliméricas (ver Fig. 1).

La Fig. 3 muestra los valores de potencial zeta en función del pH, en presencia de $NaNO_3$ 10^{-3} M. Las partículas de Kollidon® SR presentan una carga superficial neta negativa en todo el intervalo de pH estudiado (de 2 a 9). Sólo a pH inferiores a 2, los datos sugieren la presencia del punto isoeléctrico o pH de potencial zeta cero.

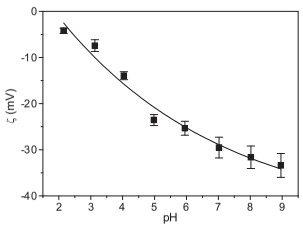


Fig. 3. Potencial zeta de Kollidon® SR en función del pH, en presencia de $NaNO_3$ 10^{-3} M.

Para confirmar estos resultados, determinamos el potencial zeta en función de la concentración de $NaNO_3$ a pH natural (~ 4.5), siguiendo la misma metodología (Fig. 4). La reducción del potencial zeta, en valores absolutos, al incrementarse la fuerza iónica del medio puede explicarse si tenemos en cuenta la reducción del grosor de la doble capa eléctrica que induce este aumento de la fuerza iónica.

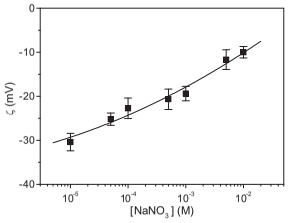


Fig. 4. Potencial zeta de Kollidon® SR en función de la concentración de NaNO3, a pH= =4.

La evaluación de las componentes γ_S aporta una información física veraz sobre la termodinámica superficial de Kollidon® SR. La componente Lifshitz-van der Waals (γ_S^{LW}) es 41.9 ± 0.4 mJ/m^2, la componente electrón-aceptor (γ_S^+) es 0.004 ± 0.001 mJ/m^2, y la contribución electrón-donante (γ_S^-) es 58.9 ± 0.4 mJ/m^2. Por tanto, el Kollidon® SR es esencialmente un material monopolar electrón-donante, en el sentido dado al término por van Oss (5): puede tener interacciones ácido-base con fases de cualquier polaridad (γ^+, γ^-, o ambas, diferentes de cero) pero las fuerzas *AB* no contribuyen a su energía libre de cohesión. Utilizando el citado modelo se puede determinar la naturaleza hidrófila o hidrófoba del material. El valor positivo de la energía libre de interacción entre las partículas poliméricas en medio acuoso (46.3 ± 0.3 mJ/m^2), es indicativo de su carácter hidrófilo.

Conclusiones

Se ha logrado una caracterización exhaustiva de las propiedades de las partículas de Kollidon® SR y sus suspensiones, que podrá ser utilizada en los posteriores ensayos de adsorción-absorción y liberación de principios activos.

Bibliografía

(1) BASF, Información Técnica de Kollidon® SR. Abril 2006.
(2) Silverstein, R.M., Webster, F.X. *Infrared Spectrometry,* en: *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 6th Ed., John Wiley & Sons Inc., New York. pp. 71-144. 1998.
(3) Skoog, D.A., et al. *Principios de Análisis Instrumental*, 5º Ed., Mc Graw Hill, Madrid. pp. 481-536. 2001.
(4) O'Brien, R.W., White, L.R. J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2(274), 1607-1626. 1978.
(5) van Oss, C.J. *Interfacial Forces in Aqueous Media*, Marcel Dekker Inc., New York. 1994

P-02 APLICACIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL A LA OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE COMPLEJOS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE DEXTROMETORFANO.

Álvarez-Fuentes, J., Salas, S., Fernández-Arévalo, M., Holgado, M.A.

Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/ Profesor García González nº 2. 41012 Sevilla
e-mail: ffjalvarez@us.es

Introducción

Desde hace varios años nuestro grupo de investigación ha venido empleando un copolímero aniónico de solubilidad pH-dependiente, Eudragit® L30D, como vehículo en la elaboración de complejos poliméricos de liberación controlada. Así, usando la técnica patentada por la Universidad de Sevilla (nº P9401748), se introduce un fármaco de carácter básico en la estructura polimérica obteniéndose un producto que controla por sí mismo la liberación del fármaco (1-3).

El objetivo del presente trabajo es optimizar la producción de una formulación oral de liberación controlada de dextrometorfano, que posteriormente se incluirá en una formulación antigripal de acción sostenida, investigando la influencia de (I) porcentaje de neutralización del polímero y (II) cantidad de fármaco empleada, sobre parámetros de contenido en fármaco del producto final y de liberación *in vitro*.

Materiales y Métodos

Materiales

Eudragit® L30D, Degüssa Iberia, S.A. (Barcelona, España); bromhidrato de dextrometorfano, Roig-Farma, S.A. (Terrasa, España); cloruro de sodio, Panreac Química, S.A. (Barcelona, España); laurilsulfato sódico, Acofarma (Tarrasa, España); metanol, Panreac Química, S.A. (Barcelona, España), y tetrahidrofurano, Merck (Darmsdat, Alemania).

Preparación de complejos poliméricos de dextrometorfano

La técnica de complejación desarrollada da lugar a un producto obtenido por reacción entre Eudragit L (suspensión acuosa al 12 % p/v) parcialmente neutralizado con una solución acuosa de NaOH 1M y el bromhidrato de dextrometorfano en solución acuosa saturada.

El modelo experimental seleccionado, un diseño factorial completo (tabla 1), pretende determinar si variables del proceso de complejación como son el porcentaje de neutralización del polímero acrílico (nivel 1: 30 %, nivel 2: 35% y nivel 3: 40 %) y la cantidad de fármaco empleada en el proceso de complejación, calculada para diferentes porcentajes de grupos carboxilos/carboxilatos del polímero (nivel 1: 30%, nivel 2: 45%, y nivel 3: 60 %; es decir, 1.5, 2.25, y 2.99 g de dextrometorfano, respectivamente), ejercen influencia significativa sobre parámetros como el contenido de fármaco y el ajuste del perfil de disolución *in vitro* a una cinética orden cero.

Lote	% Neutralización	Fármaco (g)
1	30	1.50
2	30	2.25
3	30	2.99
4	35	1.50
5	35	2.25
6	35	2.99
7	40	1.50
8	40	2.25
9	40	2.99

***Tabla 1**. Descripción de los lotes de complejos de dextrometorfano elaborados*

La evaluación estadística de los resultados se realizó mediante un análisis de la varianza, ANOVA (software DOE pack 2000). El estudio gráfico de los efectos significativos se realiza mediante los diagramas de Pareto.

Determinación del contenido en fármaco de los complejos poliméricos

El contenido de fármaco se calcula por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) a 224 nm. El cromatógrafo utilizado consta de bomba isocrática L–7100, detector espectrofotométrico L-7455 UV-VIS de diodo, autoinyector L-7200 e interfase D–7000. El sistema cromatográfico empleado está formado por una columna Merck Alusper 60 RP–select B de 125 mm de longitud y 4 mm de diámetro, de acero inoxidable, rellena con un polímero recubierto de partículas esféricas de alúmina y polibutadieno de 5 μm de diámetro. La fase móvil empleada fue metanol/ agua/tetrahidrofurano (500 mL, 400 mL y 100 mL, respectivamente) con 1 mL de ácido fosfórico, disolviendo en esta mezcla 100 mg de laurilsulfato sódico y ajustando a pH 4 con NH_4OH. Para el análisis se empleó una velocidad de flujo de 1 mL/min.

Ensayos de disolución *in vitro*.

Los ensayos de liberación se llevaron a cabo a 37 ± 0.5 ºC durante 8 horas, por sextuplicado, empleando el aparato 2 de disolución para comprimidos y cápsulas descrito en U.S.P. 29 (Sotax AT7 smart), con una velocidad de giro de 50 r.p.m.

Conocidas las características de disolución de éste tipo de complejos poliméricos (3), como medio de disolución se emplearon soluciones acuosas de

fuerza iónica próxima a los valores del fluido gastrointestinal, 0.1 M (4).

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos para la respuesta contenido en fármaco se recogen en la tabla 2.

Lote	Riqueza (% p/p)
1	40.21 ± 0.16
2	43.62 ± 0.36
3	44.95 ± 0.07
4	42.84 ± 0.15
5	47.85 ± 0.21
6	43.41 ± 0.01
7	43.76 ± 0.09
8	52.09 ± 0.16
9	53.90 ± 0.51

Tabla 2. *Riquezas (μ ± D.E.) correspondientes a los lotes indicados.*

El análisis de varianza (ANOVA) llevado a cabo para esta variable muestra que los dos factores estudiados, porcentaje de neutralización del polímero y cantidad de fármaco empleada en el proceso de complejación, influyen con significación estadística (p<0.001) para todos las transiciones de nivel e interacciones entre factores viables.

A continuación, el diagrama de Pareto indicará qué nivel de cada una de las variables es el adecuado para conseguir la respuesta óptima.

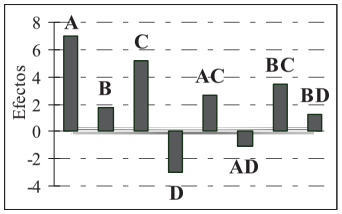


Figura 1. *Diagrama de Pareto para el análisis de los efectos sobre las variables respuestas riqueza en fármaco de los complejos poliméricos. A: porcentaje de neutralización (1 vs 3), B: porcentaje de neutralización (1,3 vs 2), C: cantidad de fármaco (1 vs 3), D: cantidad de fármaco (1,3 vs 2), AC: interacción AC, AD: interacción AD, BC: interacción BC, BD: interacción BD.*

Desde el punto de vista de la producción de los complejos interesará maximizar la variable contenido en fármaco; se deberá elegir los niveles de cada una de las variables que el gráfico de Pareto (figura 1) muestre que ejercen la mayor influencia en este sentido. Esto es el nivel 3 para el porcentaje de neutralización del polímero, 40 % (barra A) y el nivel 3 de la variable cantidad de fármaco empleada en el proceso de complejación, 2.99 g de bromhidrato de dextrometorfano (barra C). Estos resultados confirman la teoría de que existe un punto óptimo de neutralización, relacionado con el peso molecular y el tipo de amina de que se trate. para el cual se optimiza el rendimiento de la técnica de complejación propuesta (2). Además, no es factible aumentar este rendimiento empleando la cantidad máxima de fármaco que puede reaccionar con el porcentaje total de los grupos carboxilos/carboxilatos del polímero (3).

Respecto a la otra respuesta evaluada, la fidelidad del ajuste del perfil de disolución *in vitro* a una cinética de orden cero después de una liberación inicial, nuevamente se deberá considerar aquellos niveles que permitan maximizar la respuesta.

El análisis de varianza (ANOVA) llevado a cabo para esta variable respuesta muestra que el porcentaje de neutralización del polímero influye de forma significativa para cualquier transición entre sus niveles (p<0.001); sin embargo, respecto a la cantidad de fármaco empleada en el proceso de complejación, sólo se observan diferencias, con este nivel de significación estadística (p<0.001), para las transiciones al nivel 2, es decir, la mayor influencia sobre la fidelidad del ajuste a una cinética de orden cero se obtiene cuando los complejos se elaboran con la cantidad intermedia de fármaco empleada para la producción, 2.25 g de bromhidrato de dextrometorfano.

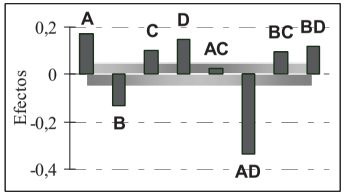


Figura 2. *Diagrama de Pareto para el análisis de los efectos sobre la variable respuesta ajuste a cinética orden cero. A: porcentaje de neutralización (1 vs 3), B: porcentaje de neutralización (1,3 vs 2), C: cantidad de fármaco (1 vs 3), D: cantidad de fármaco (1,3 vs 2), AC: interacción AC, AD: interacción AD, BC: interacción BC, BD: interacción BD.*

A continuación, el diagrama de Pareto (figura 2) indica cuál de estos efectos significativos permite maximizar la respuesta. Así, el valor del coeficiente de correlación para un ajuste a una cinética orden cero se maximiza si se elabora el complejo polimérico de dextrometorfano empleando un 40 % de neutralización del polímero, nivel 3 (barra A), y 2.25 g de fármaco, nivel 2 (barra D).

Bibliografía

(1) Rabasco, A.M., Fernández-Arévalo, M., Alvarez-Fuentes, J., Holgado, M.A., Caraballo, I., (inventores) nº P9401748.
(2) Álvarez-Fuentes, J. et al. Drug Dev. Ind. Pharm. 20, 2409-2424. 1994.
(3) Fernández-Arévalo, M. et al. S.T.P. Pharma Sci. 12, 334-336. 2002.
(4) Bonferoni, M.C. et al. AAPS Pharm. Sci.Tech, 1, (2), article 15. 2000.

P-03 APORTACIÓN A LA AUTOMATIZACIÓN DEL TEST DE DISOLUCIÓN USP-II

Johnny E. Aguilar-Díaz, E Garcia-Montoya, P.Pérez-Lozano, M. Miñarro, JR Ticó, JM Suñe-Negre

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia.
Universidad de Barcelona. Avda. Joan XXIII s/n 08028 Barcelona.
e-mail: encarnagarcia@ub.edu

Introducción

La industria farmacéutica (tanto en sus departamentos de análisis como de producción) ha ido adoptando la automatización, pero esta implementación resulta complicada, cuando han de sustituirse métodos que ya estaban validados y que cumplían las normativas específicas como las GMP, GLP o GAMP. La principal dificultad está en demostrar la equivalencia entre los 2 equipos, con lo cual los esfuerzos de validación se verán simplificados, ya que todos los métodos serán válidos para el nuevo equipo.
Teniendo en cuenta que el test de disolución USP-II es un indicador de la biodisponibilidad in vitro y que representa aproximadamente un 15 % del trabajo del laboratorio de análisis de un laboratorio fabricante de formas farmacéuticas sólidas, la automatización del test de disolución se plantea como una gran ayuda para el laboratorio de análisis porque al estandarizar el ensayo se generarán procesos más rápidos, menos costosos, disminuirá la ocupación de los equipos, y además se pueden disminuir las incidencias de calidad.

Materiales y métodos
Los **materiales** utilizados fueron 2 equipos:
1.- Pharmatest manual.
2.- Socars automatizado.
Respecto a las muestras a analizar, se elaboró una matriz (figura 1) de todos los productos a analizar, con el fin de seleccionar aquellos de análisis sean los más desfavorables, con el fin de incluir cualquier otro producto del laboratorio. Por otra parte también se incluyeron los comprimidos patrón de la USP para el control del equipo (AAS y prednisona).

Figura 1: *Matriz con los productos a ensayar*

Tanto los reactivos utilizados para preparar los medios de disolución, como los patrones de las materias primas y de los comprimidos USP, son productos certificados.
Para la calificación del equipo, se aplicó la estrategia de calificación del modelo "V" propuesto por las GAMP. Ver figura 2. En cada fase de la cualificación se llevaron a cabo pruebas diferentes. Destacando las siguientes pruebas dentro de la cualificación de proceso:
1. validación de la desgasificación del medio,
2. validación de los cálculos
3. validación de la toma de muestra automatizada
4. validación del tipo de filtro
5. validación de la limpieza automática

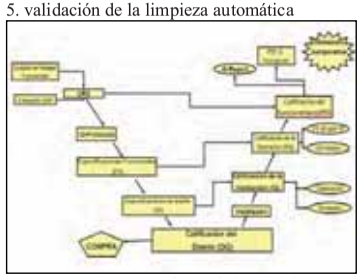


Figura 2: *Esquema y fases de la cualificación.*

Metodología para la validación comparativa
La validación comparativa se realizó con los 6 productos seleccionados mediante una matriz de riesgo Para ello se realizó el test de disolución de 3 lotes de cada producto de modo manual y automatizado (en total 36 ensayos). Ver figura 3.

Figura 3: *Estrategia de evaluación para cada producto.*

Para la evaluación de los resultados obtenidos de manera manual, automatizada y parcialmente automatizada se realizó un análisis estadístico ANOVA para cada sistema individualmente para

comprobar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los lotes, ya que en tal caso implicaría que la variabilidad aportada por los propios lotes analizados pudiera enmascarar la variabilidad debida al método (automatizado y manual) y no ser detectada. Posteriormente se realizó el test F-Snedecor que indica igualdad de varianzas entre las poblaciones de los métodos manual y automatizado para cada producto y en caso positivo, se aplicó un análisis T- Student entre ambos grupos ($p<0,05$).

Resultados y Discusión

La evaluación estadística no encontró diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los casos (**ver tabla 1 y figura 4)** con lo cual se concluye y visualiza la equivalencia entre ambos métodos.

Tabla N 1: Statistic Results of comparative validation

	TEST MODE	SOURCE	SUME OF SQUARE	df	Mirdum Square	Cuotient F	P-Value
TILDEAM	Manual	A	34,1111	2	17,0556	3,10465	0,0700
		B	80,3333	15	5,36556		
	Automat	A	1,44444	2	0,722222	0,0993884	0,906
		B	109	15	7,26667		
SIDEAM	Manual	A	0,777778	2	0,388889	0,16912	0,8267
		B	32,3333	15	2,15556		
	Automat	A	12,3333	2	6,16667	3,6039	0,0527
		B	25,5667	15	1,71111		
LE-DEAM	Manual	A	6,33333	2	3,16667	0,611588	0,5555
		B	77,5667	15	5,17778		
	Automat	A	1,0	2	0,5	0,113046	0,8906
		B	65,5	15	4,3		
PROEAM	Manual	A	0,111111	2	0,0555556	0,0223059	0,9774
		B	36,3333	15	2,42222		
	Automat	A	1,33333	2	0,6666676	0,268826	0,7766
		B	36,5667	15	2,57778		
PREDNIL	Manual	A	0,7778	2	0,388889	0,0878847	0,9171
		B	67,5	15	4,46667		
	Automat	A	0,111111	2	0,0555556	0,00755207	0,9926
		B	110,333	15	7,35556		
SALIC. ACID	Manual	A	0,1111	2	0,0555556	0,042735	0,9583
		B	19,5	15	1,3		
	Automat	A	1,2333	2	0,616667	0,335522	0,7231
		B	11,1667	15	0,744444		

* A: Between group B: Intra groups

Tabla 1: *Resultados obtenidos para los productos evaluados.*

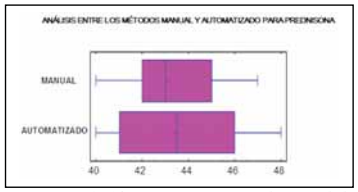


Figura 4: *Gráfico* que *representa la variabilidad en los métodos comparados.*

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que:

a) Es posible realizar una transferencia del método analítico de la farmacopea (ensayo de disolución) USP-II palas validado que se realizaba en condiciones manuales a un método analítico totalmente automatizado, siendo todos los resultados equivalentes.

b) La calificación del equipo automatizado fue correcta y el sistema es apto para su uso bajo un entorno GxP.

c) Se validaron los ensayos más desfavorables que puede realizar el equipo (ver figura 1).

d) Se realizó la validación el proceso de limpieza, definiendo el número de ciclos mínimos (con resultado óptimo) que debe realizar el equipo son 2.

e) El procedimiento estandarizado que se propone para la validación comparativa ha sido seguido para cada método analítico de cada producto quedando demostrada su robustez, ya que se han aislado todas las variables externas que pudieran haber alterado la evaluación comparativa.

f) Se realizó el estudio económico que supuso un aumento del 500% de beneficio al implantar el sistema automatizado.

Bibliografía

1. Sharon M., Averell F. Introduction to the Validation of a Dissolution Apparatus. *Dissolution Technologies.* 2004; Volume 11: 19-21

2. Doddapaneni, H., Jushchyshyn. J. Enhanced Decision Making from Dissolution Automation. *Dissolution Technologies* .1999, 6, 16-18.

3. Vinod P. Shah. Dissolution: A Quality Control Test vs. A Bioequivalence Test. *Dissolution Technologies*. 2001, 8, 1-2.

4. Owen, S., Waters. B., Rebelo-Cameirao, Comparison of the Effectiveness of various Deaeration Techniques. *Dissolution Technologies.* 2004, 11, 6-11.

5. Rolli, R., Fiechter, A., Hengst, R. In-Situ Deaeration of Dissolution Media Through a Hollow ShaftTM System. *Dissolution Technologies.* 2000, 7, 12-14.

6. Curley, T., Forsyth, R., Kyle Fliszar S., and col. Measurement of Dissolved Oxygen as a Determination of Media Equilibrium during Dissolution Testing. *Dissolution Technologies.* 2004; 11: 6-11.

7. Rolli, R. Automation of Dissolution Tests. *Dissolution Technologies*. 2000, 7, 8-9.

8. Rolli, R., Hengst, R. Hollow ShaftTM Sampling Method for Dissolution Testing. *Dissolution Technologies.* 1999, 6 (1), 4-7.

9. Brown, W. United States Pharmacopeia Establishes Project Team on Dissolution Calibration. *Dissolution Technologies.* 2002, 9, 7

P-04 CAPACIDAD LIPOLÍTICA DE ACTIVOS COSMÉTICOS ANTICELULÍTICOS.

Morales, M.E., López,G., López-Viota, M., Arias, J.L.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada Campus de Cartuja s/n 18071 Granada
e-mail: maen@ugr.es

Introducción

El término celulitis, en general, se utiliza para definir una serie de alteraciones del tejido conjuntivo subcutáneo, especialmente el depósito de grasa subcutánea en determinadas zonas del organismo como la parte baja de las nalgas y la zona superior de los muslos (1). Se trata, por tanto, de un incremento anormal del componente lipídico que conlleva un aumento del tamaño y el número de adipositos, sin que acompañe a un estado de obesidad generalizada. El objetivo del tratamiento anticelulítico es estimular la lipólisis venciendo la resistencia natural del tejido adiposo a la degradación de los triglicéridos (2).

Nuestro grupo de trabajo pretende investigar nuevas fórmulas farmacéuticas así como nuevas sustancias que ayuden al tratamiento tópico de la celulitis debido a su actividad lipolítica. Como un paso previo al desarrollo de estas preparaciones anticelulíticas, hemos estudiado la capacidad lipolítica de distitos activos como centella asiática, ácido salicílico y aloe vera, comparando su actividad con la de la noradrenalina (sustancia cuya actividad lipolótica está demostrada). Para ello hemos llevado a cabo ensayos *in vitro* con la línea celular 3T3-L1 de adipocitos humanos (3, 4).

Materiales y Métodos

Materiales

Extracto glicólico de centella asiática y aloe vera gel 10:1 suministrados por Guinama, L-noradrenalina de Fluka, USA, y ácido salicílico suministrado por Merck.

Cultivo celular

Las células 3T3-L1 fueron cultivadas en medio de cultivo DMEM adicionado de 2mM de glutamina y 10% de suero bovino fetal inactivado. Las células se cultivaron hasta conseguir una monocapa. .

Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

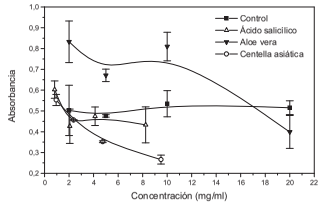
Utilizamos un microscopio electrónico de transmission C. Zeiss EM 10C.

Estudio de citotoxicidad

El estudio de citotoxcidad se llevó a acabo en los adipocitos con distintas dosis de las sustancias a ensayar, para lo cual se utilizó el método del MTT.

Medidas de glicerol libre

Los adipositos 3T3-L1 fueron incubados con cada una de las sustancias objeto de estudio durante 90 minutos. Transcurrido este tiempo retiramos el sobrenadante del medio en el que



medimos la cantidad de glicerol libre mediante el Kit suministrado por sigma (GPO Trinder, St. Louis).

.

Figura 1. *Estudio de citotoxicidad en adipocitos.*

Resultados y Discusión

Un paso previo a la realización de estos ensayos, consiste en hacer un estudio de citotoxicidad (figura 1) en el que comprobamos que los productos ensayados no son tóxicos a las concentraciones utilizadas. Los valores de absorbancia por encima de los obtenidos para el control, indican que no existe citotoxicidad.

La figura 2 muestra un adipocito control en el que se aprecian las gotículas de grasa más opacas que el resto de los orgánulos. Mediante TEM realizamos un estudio cualitativo de los adipositos en el que apreciamos una disminución en el tamaño de las gotículas de grasa (figura 3).

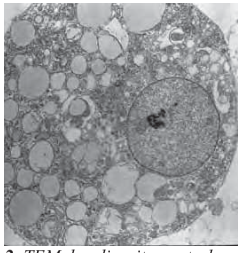


Figura 2. *TEM de adiposito control.*

En la tabla 1, observamos la cantidad de glicerol liberado desde los adipositos tras ser estimulas con los distintos activos cosméticos. De acuerdo con estos resultados, podemos afirmar que el aloe vera no estimula la actividad lipolítica, mientras que la centella asiática y el ácido salicílico sí son capaces de activar dicho actividad. Como ponen de manifiesto los valores obtenidos, esta capacidad es mayor para la centella asíatica.

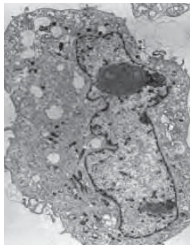


Figura 3. *TEM de adiposito tratado con centella asiática.*

	Glicerol liberado (mg/ml)
Control	22.35 ± 0.3
Noradrenalina	63.65 ± 0.2
Centella asiática	45.68 ± 0.6
Ácido salicílico	36.51 ± 0.4
Aloe vera	20.19 ± 0.7

Tabla 1*. Valores glicerol por los adipocitos.*

Conclusiones

Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que los cultivos celulares de adipocitos pueden utilizarse para determinar la capacidad lipolítica de distintos activos cosméticos anticelulíticos. La centella asiática y el ácido salicílico son potencialmente capaces de estimular la lipólisis, liberando glicerol y ácidos grasos. En cambio, el aloe vera carece de esta actividad estimulante.

Bibliografía

(1) Franchi, J. et al. Phatologie Biologie 51, 244-247, 2003.

(2) Arner, P. Best Practice & Research Clinical Endocrinogy & Metabolism, 19(4), 471-482. 2005.

(3) Brasaemle, D.L. et al. Biochimica et Biophysica Acta 1483, 251-262. 2000.

(4) Park, Y. et al. J. Nutritional Bioch., 15, 561-569. 2004.

P-05 CARACTERÍSTICAS DE ESTABILIDAD DEL ANTINEOPLÁSICO, β-LAPACHONA

Cunha Filho, M.S.S., Torres-Labandeira, J. J., Martínez-Pacheco, R., Landín, M.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. 15782 Santiago de Compostela. e-mail: mlandin@usc.es

Introducción

La β-lapachona (βLAP) es un fármaco experimental con un gran potencial terapéutico para el tratamiento de algunos tipos de cáncer que, en los últimos años, está siendo estudiado intensamente (1, 2). Como parte integrante de los estudios de pre-formulación de esta nueva entidad terapéutica se llevaron a cabo estudios de estabilidad del fármaco en estado sólido y en disolución. Se determinaron los efectos de factores ambientales - humedad, temperatura y luz - en su degradación, así como las correspondientes cinéticas de degradación. Adicionalmente, se estudió la incidencia de la inclusión de ßLAP en metil-ß-ciclodextrina randomizada (RMβCD), sobre sus características de estabilidad.

Materiales y Métodos

Se utilizó βLAP producida por la Universidad de Federal de Pernambuco/Brasil (99,99 % de pureza por DSC); lapachol suministrado por Sigma® y RMβCD (grado de sustitución molar de 0,57) facilitado por Roquette. Los disolventes y reactivos empleados en los ensayos fueron de grado analítico o de grado HPLC.

Valoración de la ßLAP por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Se validó un método analítico por HPLC en fase reversa según especificaciones de la AEFI (3) Las condiciones del ensayo fueron isocráticas, con flujo de 1 $mL \cdot min^{-1}$, fase móvil metanol/agua (65:35 v/v), volumen de inyección de 20 µL. y longitud de onda 253 nm.

Estabilidad en estado sólido

Se evaluó la estabilidad de la ßLAP en estado sólido a 40 ± 2°C. El estudio se planificó siguiendo la estrategia marcada por un diseño factorial 2 x 2. Las variables fueron humedad relativa (HR) a dos niveles (0 y 75%) e iluminación (oscuridad y luz) siguiendo las especificaciones ICH Q1B (4). La caracterización físico-química del material a diferentes tiempos de exposición (1, 3 y 6 meses) se realizó mediante HPLC, XRPD, microscopía óptica, DSC y TGA.

Estabilidad en disolución

Se elaboró una disolución acuosa de βLAP de 30 $\mu g \cdot mL^{-1}$. Se acondicionaron alícuotas de 3 mL de esta disolución en ampollas de vidrio cerradas, que se almacenaron a 40 ± 2 °C en dos condiciones de luminosidad (oscuridad y luz) siguiendo las especificaciones ICH Q1B. A diferentes tiempos de exposición se determinó la βLAP remanente por HPLC. Se ajustaron los datos a cinéticas de orden uno, para las que se obtuvieron los mejores resultados. A partir de las constantes de velocidad de degradación calculadas (k) se determinó la semivida de descomposición de la βLAP en las distintas condiciones.

Adicionalmente, se evaluó la influencia de la adición de un derivado de la β-ciclodextrina, la metil-β-ciclodextrina randomizada (RMβCD) sobre la estabilidad del fármaco en disolución acuosa. Para ello se adicionó a la disolución de fármaco un 5% de RMβCD. Se repitió la estrategia empleada en el ensayo anterior.

Perfil pH estabilidad

La construcción del perfil pH-estabilidad siguió el protocolo descrito por Connors y col. (5). Se emplearon disoluciones de βLAP (30 $\mu g \cdot mL^{-1}$) en tampones USP, en un intervalo de pH de 2 a 10 con fuerza iónica 0,74, ajustada mediante adición de cloruro sódico. Las muestras (3 mL) se acondicionaron en ampollas de vidrio cerradas y se almacenaron a 40 ± 2 °C.

Resultados y Discusión

Los resultados de los ajustes de los datos de degradación de βLAP en disolución acuosa a cinéticas de pseudo-orden uno se muestran en la tabla 1. Como puede observarse, la exposición a la luz acelera la degradación del fármaco (140x). El efecto de la presencia de RMβCD en el medio es diferente en función de las condiciones del ensayo. En oscuridad, se incrementa la semivida del fármaco, mientras que con luz se cataliza el proceso degradativo. Este comportamiento, junto a otras evidencias experimentales, sugiere la existencia de dos vías de degradación distintas. En ausencia de luz, degradación hidrolítica por catálisis alcalina de los grupos carbonilos (figura 1) y, en presencia de luz, degradación oxidativa.

Tabla 1. Ajustes cinéticos de degradación de ßLAP en disolución a 40ºC.

RMβCD [%]	Luz	K[a] [10^{-3}día^{-1}]	r[b]	$t_{1/2}$ [día]
0	No	2,1	0,9981	330
0	Si	280,0	0,9909	2,5
5	No	0,4	0,9850	1732
5	Si	1427,3	0,9986	0,5

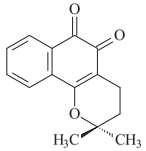


Figura 1. Estructura molecular de βLAP

En estado sólido, la degradación de la ßLAP se ajustó a cinéticas de pseudo-orden cero como predice la teoría de la capa húmeda de los procesos degradativos. La degradación en estado sólido de este fármaco está también catalizada por la luz. Además, se observó un efecto significativo de la interacción, luz-humedad relativa. En condiciones de luz y humedad relativa elevada (75 %) se observaron, a los 6 meses de almacenamiento, modificaciones muy importantes de color y reducciones significativas de cristalinidad (XRPD). Los datos de DSC presentados en la figura 2, muestran la desaparición del pico de fusión de βLAP en las muestras sometidas a iluminación, en contraste con las mantenidas en oscuridad.

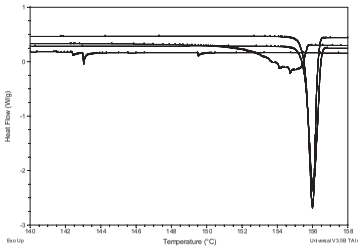


Figura 2. Termogramas de βLAP en estado sólido después de 6 meses de almacenamiento. Oscuridad y 0% HR (SL0), oscuridad y 75% HR (SL75), luz y 0% HR (CL0), luz y 75%. HR (CL75)

El perfil pH-estabilidad obtenido (figura 3) es característico de fármacos no ionizables, con degradación catalizada por la presencia de hidroxilos. La máxima estabilidad del fármaco se sitúa a valores de pH comprendidos entre 4 y 2. La cinética de degradación se ajustó al modelo predictivo:

$$Kobs = 4{,}997 \cdot 10^{-4} + 582{,}6\left[OH^{-}\right]^{0{,}8412}$$

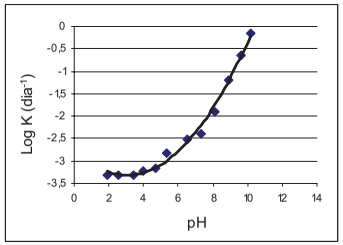


Figura 3. Curva pH-estabilidad para la degradación de βLAP a 40ºC.

Conclusiones

De los estudios de estabilidad realizados se deduce que la βLAP experimenta un proceso degradativo catalizado por la luz, tanto en disolución acuosa como en estado sólido. La ruta degradativa difiere en función de la presencia de luz. Adicionalmente, se ha observado que, en estado sólido, la luz y la humedad relativa ambiental interaccionan sinérgicamente sobre el proceso degradativo del fármaco. En disolución el intervalo de pH de máxima estabilidad se sitúa entre 2 y 4 ya que la reacción de descomposición del fármaco experimenta una catálisis alcalina. Los datos aportados son útiles para determinar las condiciones de manipulación, envasado y almacenamiento de futuras formulaciones desarrolladas con este fármaco.

Agradecimientos

Se agradece la financiación del programa Alβan, Programa de becas de alto nivel de la Unión Europea para América Latina, beca n^0 E04D043994BR y la donación de RMβCD a Roquette/España.

Bibliografía

(1) Ough, M. et al. Cancer. Biol. Ther., 4, 95-102. 2005.
(2) Suzuki, M. et al. Radiat. Res., 165, 525-531. 2006.
(3) Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria-AEFI. Validación de Métodos analíticos. 2001.
(4) ICH guideline Q1B. Photostability testing of a new drug substances and products. 1996.
(5) Cornnors, K. et al. Chemical stability of pharmaceuticals: A handbook for pharmacists. 2nd ed. John Wiley & Sons. 1986.

P-06 CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS FORMAS DE LIBERACIÓN TRANSDÉRMICA: GEL PLURONIC Y PLO (PLURONIC LECITIN ORGANOGEL)

Ruíz, MªA; Clares, B; Morales, MªE and Gallardo, V.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada

Introducción

La administración de fármacos por vía transdérmica presenta una serie de ventajas con gran potencial terapéutico, ya que evita el efecto de primer paso. Estas ventajas son especialmente útiles en el caso de fármacos susceptibles de degradarse en el tracto gastrointestinal, fármacos usados en tratamientos crónicos, uso de fármacos por vía intravenosa en neonatos, etc.

Sin embargo, la piel es un órgano complejo, diseñado para aislar al organismo del medio externo, lo que supone una barrera para el diseño galénico de excipientes que posibiliten una óptima permeabilización y absorción cutánea de los principios activos.

Dada la necesidad de desarrollo de nuevos vehículos de liberación de fármacos transdérmicos[1] al principio de los años 90 Marty Jones y Lawson Kloesel[2] desarrollaron PLO (Pluronic Lecitin Organogel). Las aplicaciones médicas mas prometedoras son el uso para, antiiflamatorios no esteroídicos (ketoprofeno, piroxican, diclofenaco), hormonas (estriol, estradiol, progesterona, testosterona), inhibidores selectivos de la receptación de serotonina (fluoxetina, paroxetina), antipsicóticos (haloperidol), opiáceos (morfina), bloqueantes de los canales de calcio (nifedipino, dilitacen), proteínas y péptidos (ureasa, insulina).

A la vista de lo anterior, en el presente trabajo se describe la elaboración del gel Pluronic F-127 y PLO (Pluronic Lecitin Organogel), así como su caracterización por microscopía de transmisión electrónica. El objeto fundamental del presente estudio es conocer con precisión el tipo de estructura obtenido, su composición, tamaño, homogeneidad y estabilidad.

Material y Métodos

Las diferentes formulaciones estudiadas en la elaboración de las formas transdérmicas, así como las concentraciones de los componentes figuran en la Tabla 1.

FORMULA		COMPONENTES	%
GEL		Pluronic F-127	20
		Agua	c.s.p.100ml
PLO	F.O	Palmitato isopropilo	10
		Lecitina de Soja	10
	F.A	Gel Pluronic F-127	c.s.p. 100 ml

Tabla 1 Composición de las fórmulas

Las dos formulaciones se han caracterizado por tinción negativa con acetato de uranilo[3] y posterior visualización por microscopía de transmisión electrónica.

Los posibles cambios estructurales de ambas formas transdérmicas fueron estudiados en función de la composición y tiempo, a las 24h, 7, 30, 60 y 90 días desde su preparación, con objeto de apreciar la incidencia sobre la estructura, dimensiones y grado de agregación de las micelas y vesículas.

En la tabla 2 se incluyen los valores medios de tamaño de partícula (µm) evaluados para las dos formulaciones ensayadas, acompañados de sus respectivas desviaciones estándar. El número de medidas efectuadas han sido de 100 por fórmula y periodo de tiempo. Las muestras se ha conservado a la temperatura de refrigeración (4-6º C) y protegidas de la luz hasta el momento de la caracterización.

Los datos experimentales obtenidos tras la caracterización se han sometido a un tratamiento estadístico, determinándose las varianzas intra e intergrupos y el test de Fisher (LSD) para un nivel de confianza del 95%.

µm ± sd (n=100)					
GEL	0.018± 0.0065	0.024± 0.0063	0.022± 0.002	0.021± 0.002	0.03± 0.0014
PLO	0.043± 0.0046	0.10± 0.019	0.16± 0.0056	0.61± 0.083	0.88± 0.13
Tiempo	**24horas**	**7días**	**30días**	**60días**	**90días**

Tabla 2 Evolución del tamaño medio de partícula

Resultados y Discusión

La figuras 1 y 2 corresponde a dos microfotografías gel Pluronic F-127 y PLO, respectivamente, a los 7 días de elaboración.

Figura 1

En la primera observamos la presencia de micelas; en cambio, en la figura 2 hablamos de nanovesículas. A partir de la difusión del

colorante, se visualiza una capa hidrófilica, constituida por las moléculas de Pluronic F-127 alrededor de un compartimento central lipídico, constituido por cadenas de lecitina de soja. Por ello el compartimento central se comporta como transparente mientras que la parte polar corresponde a las zonas electrodensas, oscuras a nuestra percepción.

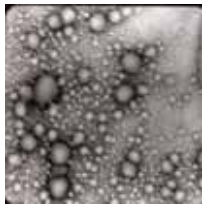


Figura 2

Esta estructura vesicular, característica de PLO, se sigue manteniendo con el paso del tiempo tal y como se observa en la microfotografía de la figura 3 tras 90 desde su elaboración.

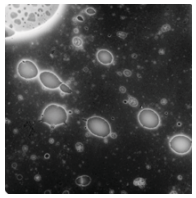


Figura 3

Se aprecian diferencias significativas entre el gel y PLO debido a la formación de diferentes estructuras. Al principio los copolímeros de Pluronic, en presencia de agua y tras pasar una concentración y temperatura micelares críticas forman micelas [4] .

A medida que aumenta la temperatura estas micelas interaccionan entre sí en forma de coronas , haciendo más rígido el sistema y por tanto gelificándolo. Al incorporar la lecitina de soja a una solución de Pluronic F-127, las micelas del tensioactivo se disponen alrededor de las colas hidrófobas de los fosfolípidos, dando lugar a una vesícula (Figura 4) con una superficie hidrofílica, donde se sitúan los principios activos hidrosolubles, alrededor de un compartimento hidrófobo, que albergará los principios activos liposolubles[5] .

Todas las micelas formadas en el gel se caracterizan por presentar un menor tamaño, uniformes y prácticamente constante todo el periodo de estudio oscilando este de 0.018 (24h) y 0.03 (90 días) µm.

En cambio, cuando se incluye la lecitina de soja en la fórmula anterior el diámetro es sensiblemente mayor (0.043 µm), aumentando además de forma significativa con el paso del tiempo, llegándose a obtener valores comprendidos entre 0.16 µm (30 días desde su elaboración) hasta 0.88 µm (90 días desde su elaboración).

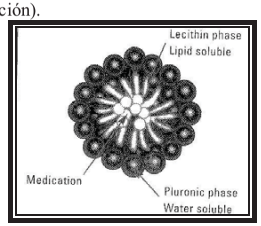


Figura 4

Todas las muestras de PLO se caracterizan por un contorno liso. El grado de fusión vesicular es inapreciable a lo largo del periodo de estudio, no obstante a partir de los 60 días desde su elaboración, tiene lugar una leve agregación, pese a todo, no se aprecia destrucción de las vesículas manteniendo una estructura definida, si bien, el número de estas es menor para un mismo cuadrante.

Conclusiones

La caracterización por microscopía de transmisión electrónica ha permitido constatar la formación de micelas o vesículas hidro-lipídicas unilaminares para el gel Pluronic yPLO (Pluronic Lecitin Organogel), respectivamente, denotando la eficacia del método de elaboración empleado.

Según las medidas efectuadas tanto micelas como vesículas experimentan un incremento de su tamaño con el tiempo, no superando en ningún caso 1µm.

Durante los tres meses de estudio no existen evidencias sobre la pérdida de integridad física o individualidad de dichas estructuras.

Bibliografía

1.Willian, H.; Walde, P.; Luisi P.L.; Gazzaniga, A., Stroppolo, F. Lecitin Organogel as matrix for transdermal transport of drugs. *J. Pharm. Sc.* 1992, 81, 871-874.
2.Murdan, S. A review of pluronic lecithin organogels as a topical and transdermal drug delivery system. *H. Pharm.* 2005, 12, 267-270.
3.Hayat, M.A. Principles and Techniques of Electron Microscopy. Biological Applications. Book. Third Edition. *Macmillan press published* 1989, 251-253.
4.Sharma, P. K.; Matthew, J. E.; Bhaitia, S. R. Structure and assembly of PEO-PPO-PEO co-polymers in mammalian cell-culture media. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2005, 16(9),1139-1151.
5.Kim, S.W.; Jeong, B.; Bae, Y.H.; Lee, D.S. *Nature* 1997, 388, 860-862

P-07 CARACTERIZACIÓN VISCOELASTICA Y REOLÓGICA DE PREPARACIONES TÓPICAS DE CARBOPOL ULTREZ 10 Y CAFEÍNA AL 5 % (M/M) EN SOLUCIÓN.

Cayoja, L., Contreras, M D.

Área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus de Cartuja s.n. 18 075 Granada.
e-mail: mdcontre@ugr.es

Introducción

El objetivo general planteado fue obtener geles tópicos con cantidades elevadas de sustancia activa en solución. Con el fin de simplificar el desarrollo y optimización de estas formas de dosificación se aplicó la técnica de diseño de experimentos a las diferentes fases. En primer lugar se determinó las mezclas codisolventes, en las que la cafeína al 5 % (M/M) se encontrara en solución y a saturación. Posteriormente se procedió a la selección del gelificante. Esta comunicación incluye la caracterización viscoelástica y reológica de algunas de las formulaciones viables así como la influencia de la cafeína en las propiedades estructurales de las formulaciones. Como gelificante, se emplea Carbopol Ultrez 10. Es un polímero poliacrílico de última generación y con algunas ventajas con respecto a otras variedades clásicas. Se estudian 6 formulacio-nes en total. 3 con cafeína (identificadas como caf) (composición en Tabla 1) y 3 con igual composición y ausencia de cafeína (identificadas como Exc).

Nº	Neut-ralz	pH	Conc polím	Glic	Etanol	agua
			% (M/M)			
4	Tris	5	1	0	40	54
6	Tris	5	1	27	40	37
14	Neut	7	0,5	0	40	54

Tabla 1. *Composición de las formulaciones. Todas incluyen cafeina (5 %M/M), metil (0,05 % M/M) y propilparaben (0,025 % M/ M).*

Materiales y Métodos

Materiales

Cafeína base, etanol, glicerina, metil y propilparaben suministrados por Guinama, Barcelona; Carbopol Ultrez 10, desde BF Goodrich, Barcelona, Tris (tris-hidroximetil-aminometano) de Sigma, Barcelona; Neutrol TE (Tetrahidroxipropil-etlendiamina), Basf Española, Barcelona y agua purificada.

Elaboración de las formulaciones

Se preparan 200 g de cada fórmula disolviendo la cafeína en la dilución de agua, glicerina (cuando necesario) y solución etanólica de metil y propilparaben. Se adiciona el polímero agitando 5 minutos a 200 r.p.m. A 100 r.p.m. se neutralizan hasta pH (MicropH 2001) adecuado, homogeneizando con agitación 10 min. Las formulaciones se mantienen en recipiente de cierre hermético a 25 ºC, al menos 48 horas antes de iniciar los ensayos. Con igual método se elaboran los excipientes.

Estudios viscoelásticos y reológicos

Se realizaron en un reómetro de esfuerzo controlado (Bohlin CS-10) y geometría cono placa CP 4/40 a 25 ºC. En cada ensayo, se obtienen los parámetros característicos y la relación M/Mc. (1,2) :

$$\frac{M}{Mc} = \left(\frac{1{,}04}{\tan \delta_{\min}} \right)^{\frac{1}{0{,}8}}$$

Donde M: Peso Molecular de polímero (desconocido), Mc: Peso molecular crítico, es la distancia entre dos puntos de contacto físico y reversibles entre las cadenas de polímero que forman la red tridimensional del gel y tan δ_{min} , se obtiene desde los espectros mecánicos.

Resultados y Discusión

Todas las formulaciones son transparentes, brillantes y consistentes, sin crecimiento cristalino visible. Las figuras 1 y 2 y la tabla 1 incluyen los resultados dinámicos.

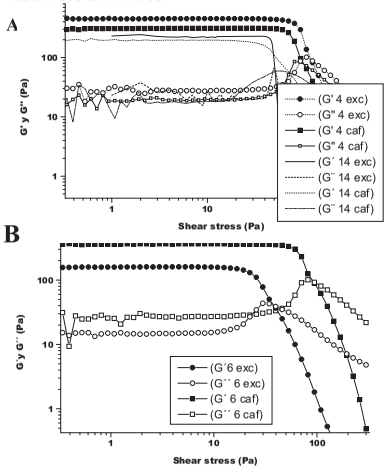


Figura 1. *Zona viscoelástica lineal de 4 y 14 (A) y 6 (B) a 1 Hz.*

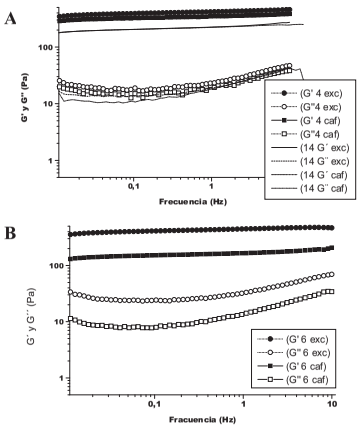


Figura 2. *Espectros mecánicos de 4 y 14 (A) y 6 (B) en zona viscoelástica lineal.*

Las diferencias entre el excipiente 4 y 6 es consecuencia de sustituir parte del agua de la formula por glicerina. En 4 el polímero se encuentra deshidratado por el etanol. En 6, dicho efecto puede verse atenuado en parte por la formación de puentes de Hidrógeno con la glicerina, repercutiendo en el componente viscoso (G´´). La adición de cafeína a los sistemas disminuye el esfuerzo crítico (τc), la elasticidad (G´) y G´´ de los sistemas. Especialmente significativo es Caf. 6, donde τc , G´ y G´´ son los más bajos. Este efecto es menos acusado en 14, posiblemente debido a la baja concentración de polímero y al pH neutro de la formulación. A este pH el polímero puede encontrarse menos ionizado, así como la cafeína, sustancia de carácter básico débil.

	4		6		14	
	exc	caf	exc	caf	exc	caf
τc	95	85,8	70,7	29,8	61,3	45,9
G´	443	305	357	156	223	192
G´´	17	13	24	8	13	10
δ	4,2	2,2	3,2	2,9	3,7	2,9
M/Mc	27,5	62	38	44	32	44

Tabla 2. *Parámetros viscoelásticos.*

Respecto al valor M/Mc (Tabla 2), la formulación exc. 4, presenta el valor menor, deduciendo el reducido número de uniones físicas reversibles entre las cadenas del polímero, probablemente debido a su repulsión electrostática. Este efecto es menor en exc. 6 (presencia de glicerina) y en exc 14 (baja concentración y menor ionización de polímero). La incorporación de cafeína modifica los sistemas, especialmente en caf. 4 donde M/Mc es la más elevada siendo previsible gran número de uniones físicas entre las cadenas del polímero. Quizás sea debido a la formación de pares iónicos entre el polímero y la cafeína, ambos fuertemente ionizados a pH 5. En este caso, la actividad de la cafeína se modificaría con respecto a la que presenta en los codisolventes sin gelificar y podría alterar la liberación prevista.

Respecto al comportamiento reológico (figuras 3 a, b, c), todas las formulaciones presentan flujos plásticos característicos de geles verdaderos. Solo se distingue un pequeño ciclo de histéresis en caf. 6. Se diferencian en los parámetros. En los excipientes, el mayor esfuerzo umbral se aprecia en exc. 4, la sustitución de agua por glicerina (exc. 6) y la disminución en la concentración de polímero (exc. 14), disminuye dicho valor. La adición de cafeína disminuye el esfuerzo umbral, siendo inferior al esperado en caf. 6. Estos valores se correlacionan con los obtenidos para τc. Fenómenos semejantes se observan en los valores de viscosidad a 50 s-1, representativos de la resistencia de las formulaciones al extenderse sobre la piel.

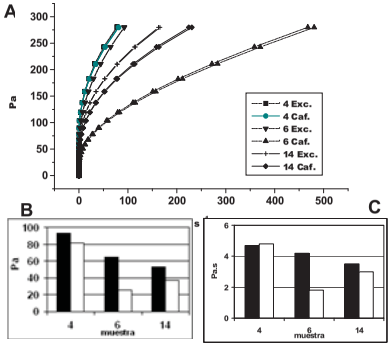


Figura3. *Reogramas (A) de las formulaciones, esfuerzo umbral (B) y viscosidad a 50 s^{-1} (C) ,* ■ *excipiente, cafeína.*

Conclusiones

Las relaciones que se establecen entre las moléculas de sistemas gelificados se pueden poner de manifiesto mediante ensayos viscoelásticos y reológicos. Algunos efectos predecibles desde estos ensayos es necesario confirmarlo con otros complementarios.

Bibliografía

1.- Ferry, J.D. Viscoelastic propiertes of polymers. Thirt ed. Wiley. New York, 1980.
2.- Vinogradov, G.V., Malkin, A.Y. Rheology of polymers. Springer, Berlin, 1980, 216-300.

P-08 COMPARACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE CROMATROGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC) PARA LA DETERMINACIÓN DE LAMOTRIGINA EN PLASMA.

Rivas Herrero, Nuria; Zarzuelo Castañeda, Aránzazu; González López, Francisco

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Avda. Campo Charro 78. 37008. Salamanca
e-mail: nuria.rivas@usal.es

Introducción

Lamotrigina (LTG) es un nuevo fármaco antiepiléptico, con actividad farmacológica similar a la de la fenitoína o carbamazepina, efectivo en co-terapia para el tratamiento de las crisis parciales simples y en las crisis tónico-clónicas con generalizaciones secundarias resistentes a la terapia farmacológica[1].

La amplia variabilidad cinética interindividual, la frecuente asociación con otros fármacos antiepilépticos, así como la ausencia de un margen terapéutico bien establecido, han hecho que la monitorización de las concentraciones plasmáticas de lamotrigina resulte útil para la individualización posológica y para el estudio de las diferentes interacciones cuando se administran otros fármacos antiepilépticos, especialmente inductores o inhibidores enzimáticos.

Objetivo

- Validar dos métodos analíticos rápidos y sensibles de HPLC-UV, para la determinación plasmática de LTG con dos tipos de columnas cromatográficas.
- Estudiar la influencia de la longitud y el tamaño de partícula de los dos tipos de columnas cromatográficas en el tiempo de análisis, en los límites de detección y cuantificación y en la exactitud y precisión de la técnica.

Material y Métodos

Material

Lamotrigina (LTG) (BW430C78) y su estándar interno (S.I) (BW725C78) proporcionados por Wellcome Reearch Laboratorios.

Sistema Cromatogáfico

Se utilizó un cromatógrafo Hewlett Packard 1050, con inyector automático y detector de U.V. Waters 486 a una longitud de onda de 306 nm acoplado a un tratamiento de datos Clarity®.
Para el estudio se utilizaron dos tipos de columnas cromatográficas: Kromasil 100C18 5µm 15*0,4cm y LiChroCART RP 18e 3µm 5,5*0,4cm

Condiciones cromatográficas

Se trabajó en condiciones isocráticas utilizando un flujo de trabajo de 1mL/min y con una fase móvil consistente en una mezcla de KH_2PO_4 0.1M, trietilamina y metanol (62:3:35;% v.v.v) pH=6,2.

Tratamiento de muestras

Para el tratamiento de las muestras de plasma se realizó una extracción líquido-liquido. El procedimiento utilizado queda descrito a continuación[2]:

A 500 µL de muestra se le añadieron 50 µL de S.I y 50 µL de NaOH 2M, agitándose durante 30 segundos, añadiéndose posteriormente como disolvente orgánico 2mL de acetato de etilo. Después de 30 segundo de agitación en vortex y centrifugar 10 minutos a 3500 r.p.m., se recoge la fase orgánica para su evaporación a sequedad en atmósfera de N_2. El residuo seco se reconstituye con 100 µL de fase móvil y se inyectan 20 µL.

Resultados y Discusión

Para realizar el estudio de validación se siguieron las guías publicadas por la FDA[3] para la validación de métodos bioanalíticos.

En primer lugar se estudio la selectividad de las técnicas, analizando para ello seis blancos de plasma humano de distinta procedencia; se observó que no aparecían interferencia, como puede apreciarse en la figura 1.

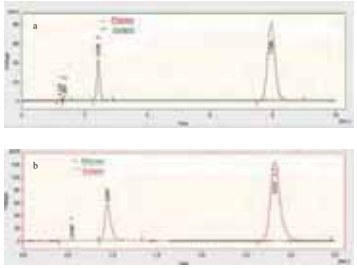


Figura. Cromatograma de un blanco y de una muestra identificando la LTG y el SI. a) Kromasil; b) LiChroCART.

El estudio de linealidad se realizó preparando 5 rectas de calibrado con concentraciones comprendidas entre 0,5 y 20,0 µg/mL (0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 15,0 y 20,0 µg/mL). Con los datos obtenidos se calculó el valor de r, el coeficiente de variación del factor relativo de respuesta (fr) y la desviación de la media del factor de respuesta para cada concentración.

A partir de los datos del estudio de linealidad se determinó la exactitud de las técnicas como el porcentaje de recuperación de la cantidad añadida de LTG en cada muestra.

Con respecto a la precisión se hizo un estudio tanto de la repetibilidad como de la reproducibilidad. Para el estudio de la repetibilidad, o precisión intradía, cinco replicados de cada concentración se prepararon y analizaron por el mismo analista, en el mismo día y con los mismos reactivos. En el estudio de reproducibilidad, o precisión interdía, los cinco replicados de cada concentración se prepararon y analizaron por el mismo analista, pero en diferentes días y con diferentes reactivos.

En cuanto a los límites de detección y de cuantificación, se siguió el método de Lang y Bolton[4], obteniéndose límites de detección y cuantificación de 0,25 y 0,1 µg/mL para la columna Kromasil y LiChroCART respectivamente.

Los resultados obtenidos en las validaciones se observan en las tablas 1 y 2.

Ambos métodos son selectivos, lineales (r>0,99, CV_{fr}<7% y desviación de fr para cada concentración < 8% del fr medio), repetible y reproducible (CV de LTG/SI para cada concentración <15%, valor aceptado cuando se trabaja con muestras biológicas sometidas a un tratamiento complejo), rápido (tiempo de análisis< 10 min) y exacto (% recuperación = 100 ± 5% y CV % recuperación<10%) para el rango de concentraciones plasmáticas 0,5- 20,0 µg/mL.

	Media ± SD	CV %
r	0.998	
fr (Factor respuesta)	0.55 ± 0.03	6.07
Exactitud (% Recuperación)	101.83 ± 7.39	7.25
Repetibilidad (Área LTG/Área SI)		
0.5 µg/mL	0.27 ± 0.01	1.99
6.0 µg/mL	3.35 ± 0.21	6.40
20.0 µ/mL	11.31 ± 0.15	1.29
Reproducibilidad (Área LTG/Área SI)		
0.5 µg/mL	0.29 ± 0.01	4.55
6.0 µg/mL	3.55 ± 0.27	7.68
20.0 µ/mL	11.49 ± 0.27	2.31

Tabla 1.- *Resultados del estudio de validación con la columna Kromasil para el rango de concentraciones estudiado (0,5-20,0 µg/mL)*

	Media ± SD	CV %
r	0.999	
fr (Factor respuesta)	0.55 ± 0.03	6.07
Exactitu (% recuperación)	100.13 ± 3.42	3.41
Repetibilidad (Área LTG/Área SI)		
0.5 µg/mL	0.33 ± 0.01	3.90
6.0 µg/mL	3.60 ± 0.05	1.31
20.0 µ/mL	11.82 ± 0.36	3.05
Reproducibilidad (Área LTG/Área SI)		
0.5 µg/mL	0.32 ± 0.02	6.64
6.0 µg/mL	3.49 ± 0.14	4.12
20.0 µ/mL	11.56 ± 0.37	3.20

Tabla 2.- *Resultados del estudio de validación con la columna LiChroCART para el rango de concentraciones estudiado (0,5-20,0 µg/mL)*

Conclusiones

- Los métodos de HPLC son sensibles, repetibles, reproducibles, rápidas y precisas para el rango de concentraciones estudiado.
- La columna LiChroCART presenta una serie de ventajas por la disminución en los tiempos de retención y en los límites de cuantificación, así como los mejores parámetros de exactitud y precisión.
- El método analítico que utiliza la columna LiChroCART es el candidato idóneo en la práctica clínica porque permite un mayor número de determinaciones en el mismo tiempo y porque presenta una mayor exactitud en la cuantificación de las concentraciones.

Bibliografía

(1) Millar A.A, et al. Epilepsia 27 (1986) 483-489

(2) Castel-Branco, M.M. J. Chromatogr., B, Biomed. Sci. Appl. 1387-2273 2001, vol. 755, no1-2, pp. 119-127

(3) Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (U.S.). URL: http://www.fda.gov/cder/guidance/4252fnl.pdf

(4) Lang, J.R. et al. J. Pharm. Biomed. Anal. 9(5) (1991) 361-375.

P-09 COMPATIBILIDAD TÉRMICA DEL ANTINEOPLÁSICO β-LAPACHONA CON EXCIPIENTES FARMACÉUTICOS

Cunha Filho, M.S.S., Martínez-Pacheco, R., Landín, M.

Departamento Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela. e-mail: mlandin@usc.es

Introducción

La β-lapachona (βLAP) es un fármaco antineoplásico en fase preclínica que presenta buenas perspectivas para su incorporación en el arsenal terapéutico en un futuro próximo [1]. Los estudios de compatibilidad de fármacos con excipientes forman parte de la etapa de preformulación habituales en el desarrollo de formas farmacéuticas sólidas [2]. El objetivo del presente trabajo es evaluar la compatibilidad de la βLAP con diferentes excipientes farmacéuticos de uso común en la elaboración de formas sólidas, por calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Materiales y Métodos

Se prepararon mezclas binarias en proporción 1:1 (p/p) de βLAP lote L503/UFPE-Brasil y los excipientes siguientes: celulosa microcristalina Avicel PH 101, almidón pregelatinizado de maíz, lactosa monohidratada, estearato de magnesio, talco e hidroxipropilmetilcelulosa K100LV-Premium® (HPMC) suministrados por Guinana®; polivinilpirrolidona/BASF® (PVP); fosfato dicálcico dihidratado-Emcompress®/ Mendel®; carboximetilcelulosa sódica de media viscosidad/Sigma® (CMC); croscarmelosa sódica/FMC® (explocel); manitol/AstraZeneca®; β-ciclodextrina/Roquette® (βCD); hidroxipropil-β-ciclodextrina / Janssen Pharmaceutica® (HPβCD); sulfobutileter-β-ciclodextrina/ Cydex® (SBβCD) y metil-β-ciclodextrina randomizada/Roquette® (RMβCD). Se evaluó, por DSC, el perfil térmico de las mezclas a tiempo cero y tras un mes de envejecimiento a 40 ^{0}C y 75 % HR. El ensayo se realizó en cápsulas de aluminio tapadas a una velocidad de calefacción de 10 $^0C \cdot min^{-1}$ en el rango de temperaturas de 30-300 ^{0}C

Resultados y Discusión

Para determinar la posible existencia de incompatibilidades entre el fármaco y los excipientes, las curvas de DSC de las mezclas elaboradas se compararon con las de sus componentes individuales, especialmente con el termograma de la βLAP (tabla 1) que presenta un único evento correspondiente a la fusión del fármaco a una temperatura de 157,6 ^{0}C con una entalpía asociada de 104 $J \cdot g^{-1}$. Con excepción del manitol, el talco, el estearato de magnesio y el fosfato dicálcico dihidratado, para los restantes excipientes no se observaron variaciones en los eventos térmicos de ambos componentes ni en las mezclas recién elaboradas ni en las mezclas envejecidas. Las modificaciones encontradas con estos excipientes se intensifican cuando las mezclas se someten a estrés térmico.

El DSC correspondiente a la mezcla fármaco/manitol (figura 1) presenta desplazamiento de los picos de fusión de ambos componentes hacia valores inferiores lo que indica una interacción entre ellos.

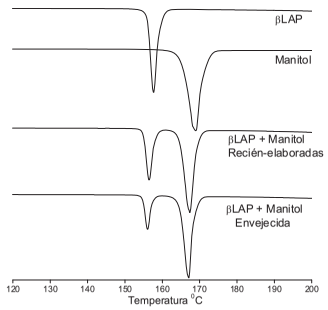


Figura 1. Termogramas de βLAP; manitol y mezclas binarias βLAP-manitol (1:1 p/p) a tiempo cero y envejecida a 40 ^{0}C y 75 % HR.

En las mezclas de βLAP con talco o estearato de magnesio (tabla 1) también se observan desplazamientos en el pico de fusión del fármaco similares. Adicionalmente, la presencia de estearato de magnesio provoca una reducción importante en los valores de la temperatura de descomposición del fármaco, de 220 ^{0}C a 180 ^{0}C.

La interacción más importante se observó en las mezclas de βLAP con fosfato dicálcico dihidratado (figura 2). El termograma de la mezcla no corresponde ni al de la deshidratación, en dos etapas, del fosfato dicálcico dihidratado ni tampoco al de la βLAP. Se observa un único evento endotérmico, a 155 ^{0}C. La presencia de βLAP provoca la deshidratación del fosfato a una temperatura inferior y en una sola etapa. Ello unido a que este excipiente presenta una superficie alcalina [2] que favorece la degradación del fármaco, no hace recomendable su utilización en la elaboración de formas sólidas de βLAP.

Entre las ciclodextrinas seleccionadas, la mezcla con HPβCD presenta un desplazamiento en el pico de fusión de la βLAP hacia valores inferiores. La mezcla con RMβCD, además de un efecto similar al anterior, presenta un nuevo pico exotérmico tras la fusión de βLAP, que debe estar relacionado con la encapsulación del fármaco fundido en la cavidad de la ciclodextrina y, por lo tanto, no constituye un indicio de incompatibilidad química con βLAP.

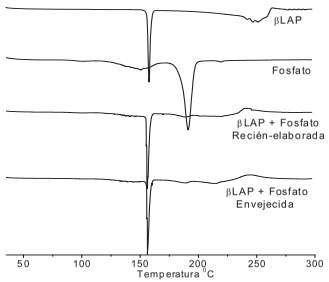


Figura 2. Termogramas de βLAP; fosfato dicálcico y mezclas binarias βLAP-fosfato dicálcico (1:1 p/p) a tiempo cero y envejecida a 40 °C y 75 % HR.

Tabla 1. Datos termodinámicos del estudio de compatibilidad de mezclas binarias de βLAP-excipiente

Muestras	Fusión de βLAP				Excipiente		Nivel de interacción[a]
	Recién elaboradas		Envejecidas		Recién elaboradas	Envejecidas	
	pico (ºC)	ΔH (J g^{-1})	pico (ºC)	ΔH (J g^{-1})	Cambios	Cambios	
βLAP	157,6	104,0					
+ almidón	157,4	58,7	157,0	68,9	No	No	0
+ lactosa	157,6	55,1	157,1	62,4	No	No	0
+ celulosa	157,5	49,5	157,5	74,3	No	No	0
+ HPMC	157,3	53,9	157,2	71,6	No	No	0
+ fosfato	**154,9**	**155,5**	**154,8**	**145,1**	**Si**	**Si**	+++
+ PVP	157,4	34,4	157,6	51,8	No	No	0
+ CMC	157,3	65,3	157,3	65,6	No	No	0
+ explocel	157,3	47,8	157,3	66,5	No	No	0
+ manitol	**156,5**	57,2	**156,0**	50,0	**Si**	**Si**	++
+ talco	**156,9**	58,4	157,1	51,7	No	No	+
+ estearato	**156,9**	41,2	**156,7**	44,0	**Si**	**Si**	++
+ αCD	157,7	51,1	157,4	59,1	No	No	0
+ βCD	157,8	65,6	157,3	53,1	No	No	0
+ HPβCD	157,2	40,5	**156,8**	58,8	No	No	+
+ SBβCD	157,9	65,0	157,9	658	No	No	0
+ RMβCD	157,4	55	**156,9**	65,5	**Si**	**Si**	+

[a]Nivel de interacción: elevado (+++), medio (++), bajo (+) y inexistente (0).

Conclusiones

La βLAP fue compatible con 13 de los 16 excipientes evaluados. Además, los indicios de interacción encontrados pueden no corresponder a incompatibilidades químicas sino tan solo a asociaciones físicas, como en el caso de la encapsulación en ciclodextrinas. Para el desarrollo de formulaciones sólidas que incluyan manitol o estearato de magnesio deben realizarse estudios complementarios. La incompatibilidad de la βLAP con el fosfato dicálcico dihidratado y su posible repercusión sobre la estabilidad del fármaco, desaconseja su uso en formulaciones sólidas de βLAP.

Agradecimientos

Se agradece la financiación del programa Alβan, Programa de becas de alto nivel de la UE para América Latina (n^0 E04D043994BR) y la donación de las ciclodextrinas a Janssen Pharmaceutical Products, a Roquette Freres y a CyDex.

Bibliografía

[1] Ough, M. et al. Cancer. Biol. Ther., 4, 95-102. 2005.

[2] Verma, R. y Garg, S. J. Pharm. Biomed. Anal., 38, 633-644. 2005.

[3] American Pharmaceutical Association, Handbook of Pharmaceutical Excipients. 4^{0}ed. 2003.

P-10 COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE SUSPENSIONES DE KOLLIDON® SR

Gómez-Gallo, A., Arias, J.L., López-Viota, M., Ruiz, M.A.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja, s/n. 18071 Granada
e-mail: mlvg@ugr.es

Introducción

La importancia de la Reología es cada vez mayor en áreas de muy diversa naturaleza, como los plásticos, las pinturas, los adhesivos de contacto, la Geología, la Minería, la Medicina o la Cosmética, entre otras (1-6).

En el ámbito farmacéutico, la Reología es una herramienta fundamental para el estudio del flujo de emulsiones, la pulverización de sólidos, envases de vidrio y plásticos, etc. En nuestro caso, es particularmente interesante para cuantificar fenómenos relacionados con la estabilidad física de los sistemas, como la sedimentación y la redispersión, ya que nos permite conocer cómo es y cómo varía la estructura interna de los sistemas, así como la interacción entre las partículas. Por eso, de cara a la preparación de una formulación final de principio activo vehiculizado en Kollidon® SR en suspensión, el estudio de su comportamiento reológico es de gran utilidad.

En el presente trabajo realizamos el estudio de la estabilidad de dispersiones de Kollidon® SR [10 % (p/v)] sometidas a diferentes pH (ácido: 2 y 3; básico: 8 y 9), mediante un análisis parcial de su comportamiento reológico realizando medidas transitorias en función del tiempo (viscosimetría).

Materiales y Métodos

Materiales

Los reactivos empleados son de calidad analítica (Panreac, España). El Kollidon® SR utilizado se encuentra en forma de polvo blanco-amarillento (BASF, Alemania). El agua es de calidad Milli-Q (Milli-Q Academic, Millipore, Francia).

Comportamiento reológico - Viscosimetría

Se realizó una selección de las partículas que se utilizarían en la preparación de las suspensiones acuosas (tamaño < 10 μm), utilizando una célula de filtración bajo agitación con una membrana de tamaño de poro de 10 μm.

Las medidas de viscosimetría a diferentes pH (ácido: 2 y 3; básico: 8 y 9) se llevaron a cabo a 25 ºC ± 0.5 ºC, utilizando un viscosímetro rotatorio digital, modelo DV-II+ de Brookfield conectado a una base de datos.

Deben someterse todas las muestras a las mismas precondiciones, como paso previo a la realización de estas medidas: aplicamos un esfuerzo conocido durante un periodo de tiempo fijado, con el fin de romper la estructura del sistema. De esta manera, todas las muestras parten de las mismas condiciones (misma historia previa), ya que tras un periodo de tiempo fijo de reposo se retorna a la estructura característica del sistema.

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

Resultados y Discusión

En la Fig 1 pueden observarse las partículas poliméricas que se utilizaron en el estudio. Como puede apreciarse, poseen una morfología esférica, una superficie irregular y una amplia distribución de tamaños (6.35 ± 3.55 μm).

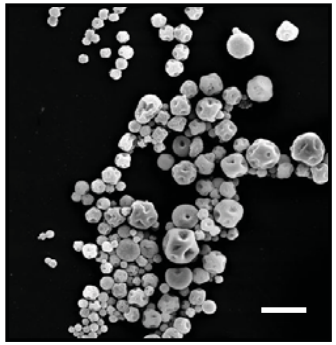


Fig. 1. *Fotografía S.E.M. de Kollidon® SR. Longitud de barra: 10 μm.*

Como puede apreciarse en la Fig. 2, todas las suspensiones de Kollidon® SR exhiben un comportamiento plástico, cualquiera que sea su pH. Esto ocurre cuando están tan concentradas que las partículas tienden a aglomerarse formando puentes continuos por todo el volumen de la dispersión y, en consecuencia, retículos tridimensionales. De este modo, adquieren límites plásticos (7).

Cuando estos sistemas están en reposo, las fuerzas de cohesión les proporcionan características de sólido, pero si se sobrepasa el

límite de fluidez, los enlaces se rompen y pasan a comportarse como líquidos, con la capacidad de fluir fácilmente. Este esfuerzo inicial se conoce como esfuerzo umbral (σ_0). El criterio empleado para determinar el esfuerzo umbral es considerar que la muestra comienza a fluir cuando la viscosidad alcanza su máximo y este valor coincide con el punto medio del *plateau* del reograma representado en doble escala logarítmica. Los valores obtenidos para las dispersiones son: 1.9 para la muestra a pH = 2, y 2.3 para la muestra a los pH = 3, 8 y 9; por lo tanto, podemos decir que existe una ligera tendencia a un mayor esfuerzo umbral al aumentar la acidez del medio y, en consecuencia, a un mayor carácter plástico.

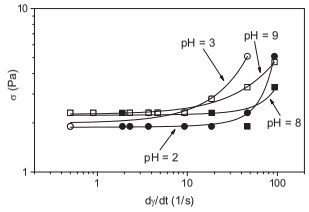


Fig. 2. *Reograma de una dispersión de Kollidon® SR [10 % (p/v)] a pH = 2 (●), 3 (o), 8 (■) y 9 (□).*

Los sistemas plásticos son un ejemplo de comportamiento no newtoniano debido a que la viscosidad no es constante, sino que decrece conforme aumenta la velocidad de deformación o deslizamiento (Fig. 3). La velocidad de deslizamiento aumenta más rápidamente que la tensión, haciendo la curva de flujo cóncava hacia el eje de la velocidad.

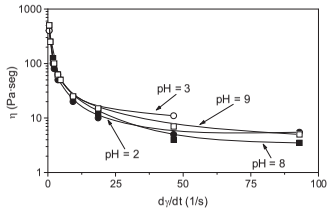


Fig. 3. *Viscosidad de una dispersión de Kollidon SR® [10 % (p/v)] a pH = 2 (●), 3 (o), 8 (■) y 9 (□).*

Conclusiones

Con el fin de lograr la obtención de una forma farmacéutica líquida de Kollidon® SR, como vehículo de fármacos, estudiamos la estabilidad de las suspensiones a distintos pH.

Todas las suspensiones exhiben un comportamiento plástico, cualquiera que sea su pH, sin que existan diferencias significativas en los valores de esfuerzo umbral de las muestras. Esto ocurre cuando las suspensiones están tan concentradas que las partículas tienden a aglomerarse formando retículos tridimensionales. De este modo, adquieren límites plásticos. Por tanto, la estabilidad física del sistema no se ve afectada por modificaciones en el pH.

Bibliografía

(1) Dealy, J.M., Wissburn, K.F. *Melt Rheology and its Role in Plastics Processing*. Van Nostrand Reinhold, Nueva York. 1990.
(2) Patton, T.C. *Paint Flow and Pigment Dispersion*. Interscience Publishers, Nueva York. 1964.
(3) Saunders, S.R., et al. Lebensm.-Wiss. U.-Technol. 25, 309. 1992.
(4) Cristescu, J.M., *Rock Rheology*. K. Klumer Academia Pub, Boston. 1989.
(5) Pal, R., J. Biomechanics 36, 981. 2003.
(6) Laba. *Rheological Properties of Cosmetics and Toiletries*. Marcel Dekker, Nueva York . 1993.
(7) Nakamura, H., Tachi, K. J. Colloid Interface Sci. 297(1), 312. 2005.

P-11 COMPRESIÓN DE MATRICES HIDRÓFILAS DE HPMC Y TEOFILINA: RELACIÓN ENTRE FUERZA DE COMPRESIÓN Y DUREZA DE LOS COMPRIMIDOS

Pérez Lozano, P[1]., García Montoya, E[1], Suñé Negre JM[1]., Bataille B[2], Duru C[2] , Miñarro M[1]., Ticó JR[1]

[1]Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona (UB). Avda. Joan XXIII s/n. 08028 Barcelona
[2]Laboratoire de Pharmacie Galenique & Génie Pharmaceutique. Université de Montpellier.
e-mail: perezlo@ub.edu

Introducción

La HPMC es el excipiente más ampliamente utilizado como polímero de matrices hidrófilas destinadas al desarrollo de formas farmacéuticas de liberación controlada (1, 2), de hecho es un excipiente que proporciona óptimas características retard para la liberación del principio activo (3-5). En este estudio se han elaborado comprimidos de liberación sostenida de teofilina elaborados por compresión directa para conocer la influencia de diferentes factores relacionados con la forma farmacéutica. Por otra parte, se ha utilizado como vector la teofilina que es un principio activo versátil que se suele utilizar para establecer el efecto de otras variables de la fórmula como excipientes o efecto de los diluyentes (6) en la forma farmacéutica.
Los factores que se han estudiado son los excipientes, la calidad o marca comercial y proporción utilizada de la HPMC.

Materiales y Métodos

Teofilina anhidra granulada suministrada por BASF, HPMC (Methocel® K4M Premium y Methocel® K100M Premium) facilitada por Colorcon, y HPMC (Metolose 90SH4000, Metolose 90SH100000) facilitada por Shin-etsu. Como excipientes en estudio se utilizó; Emcompress dihidrato y Lactosa fast flow suministradas por SEPPIC, y como deslizante Estearato magnésico.
En la tabla 1 se muestra la composición general teniendo en cuenta que el % de HPMC puede ser 10 o 15%.

	Fórmula A		Fórmula B	
	mg/ comp	%	mg/ comp	%
Teofilina	200	50	200	50
HPMC	40	10	60	15
Diluyentes	160	40	140	35
Estearato Mg	2	0.5	2	0.5

Tabla 1.*Composición de las fórmulas.*

Se plantea una dosis de teofilina de 200 mg y un peso final de comprimido de 402 mg como se refleja en la tabla 1.

Para conocer en detalle las influencias e interacciones entre los 4 factores estudiados (dos niveles) se diseño un diseño experimental, que ayudase a delimitar el posible espacio de diseño de la formulación. Ver tabla 2: factores y niveles. Se llevaron a cabo la formulación de 16 fórmulas.

VARIABLE	NIVEL ALTO	NIVEL BAJO
Tipo de HPMC	Metolose	Methocel
Grado HPMC	alto	bajo
% HPMC	15	10
Excipiente de carga	Emcompress dihidrato	Lactose Fast Flow

Tabla 2: *Valores de los factores ensayados.*

Elaboración de los comprimidos

Los comprimidos se elaboraron por compresión directa. Todos los componentes se tamizaron por un tamiz de 1,0 mm de malla excepto el estearato Mg que se tamizó por 0,5 mm. Se pesaron las cantidades previstas para las fórmulas y se mezclaron en un mezclador tipo túrbula durante 10 minutos.
Finalmente se añadió el estearato a la mezcla y se mezcló durante otros 5 minutos. La mezcla se comprimió en una máquina de comprimir excéntrica Frogerais OA, instrumentada. Se utilizaron punzones de 11,23 mm de diámetro y se trabajó para todas las fórmulas con un volumen fijo en la matriz (1 cm^3).
Se elaboran 4 tipos de comprimidos, proporcionando la fuerza de compresión necesaria para obtener 4 grupos de durezas: del orden de 30-40N, 50-60 N, 70-80 N y 90-100 N.

Control de calidad de los comprimidos

A las formulaciones obtenidas se les aplicó los controles galénicos siguientes: tiempo y velocidad de deslizamiento, Indice de Carr, Indice de Hausner, densidad compactada y sin compactar y relación entre la Fuerza de compresión y la dureza de los comprimidos.

Resultados y Discusión

Los resultados de los parámetros galénicos estudiados se recogen en las tablas 3 y 4, a continuación.

FORMULA	Ve (g/s)	(V10-V500)	ICarr	IH
ME100000SH15L	16,67	14	17,11	1,21
ME100000SH10L	18,75	12	18,92	1,23
ME4000SH10E	21,43	12	18,03	1,22
M100MK10E	23,08	12	17,74	1,22
M100MK15L	20,00	16	20,47	1,26
M4MK10E	23,09	10	17,46	1,21
ME4000SH15L	20,00	16	16,88	1,20
M4MK15E	25,00	16	15,66	1,19
M4MK10L	20,00	14	14,29	1,17
M100MK15E	20,00	14	18,18	1,22
ME100000SH15E	18,75	14	20,90	1,26
ME4000SH10L	18,75	10	15,49	1,18
ME4000SH15E	21,43	14	20,00	1,25
ME100000SH10E	20,00	12	17,74	1,22
M4MK15L	17,64	16	21	1,27
M100MK10L	20,00	14	17,57	1,21

***Tabla 3**. Resultados galénicos obtenidos (parte I).*

FORMULA	Recta F compres. y dureza	d no compact g/ml	d compact g/ml	t desliz (s)
	Pendiente			
ME100000SH15L	9,3112	0,658	0,794	6,00
ME100000SH10L	8,5182	0,676	0,833	5,33
ME4000SH10E	6,9711	0,820	1,000	4,67
M100MK10E	6,2030	0,806	0,980	4,33
M100MK15L	11,3430	0,641	0,806	5,00
M4MK10E	7,0840	0,794	0,962	4,33
ME4000SH15L	8,1150	0,649	0,781	5,00
M4MK15E	7,4760	0,781	0,926	4,00
M4MK10L	11,1320	0,714	0,833	5,00
M100MK15E	6,6340	0,758	0,926	5,00
ME100000SH15E	7,1605	0,746	0,943	5,33
ME4000SH10L	8,8963	0,704	0,833	5,33
ME4000SH15E	7,6885	0,769	0,962	4,67
ME100000SH10E	6,5795	0,806	0,980	5,00
M4MK15L	10,9400	0,617	0,781	5,67
M100MK10L	8,5381	0,676	0,820	5,00

***Tabla 4**. Resultados galénicos obtenidos (parte I I).*

Los datos experimentales se analizaron con el programa informático Statgrafics, para determinar la combinación de factores que mejoran cada un de las respuestas, ver ejemplo de gráfico 1 para la respuesta del parámetro capacidad de flujo.
Por otra parte, las rectas que relacionaron Fuerza de compresión con dureza, resultaron significativas (gráfico 2).

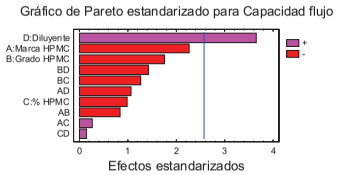


***Gráfico 1**. Influencia de los factores y nivel de significación para la respuesta Capacidad Flujo.*

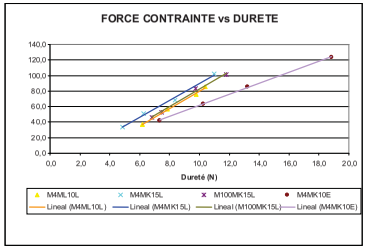


***Gráfico 2**. Rectas calculadas para 4 de las fórmulas ensayadas.*

Conclusiones

Finalmente al analizar todos los datos experimentales puede concluirse que no hay una combinación de factores que mejoren todas las características reológicas de las fórmulas y que por tanto compriman mejor. Por otra parte se demostró una interacción significativa entre el diluyente y la marca de HPMC, influyendo esta interacción en el resultado final de los parámetros reológicos estudiados.

Bibliografía

(1) Miñarro,M, Pacheco JA, García-Montoya,E, Suñé Negre JM, Ticó JR. Cienc Pharm 7, 219-226. 1997.

(2) Siepmann J, Peppas NA. Advanced Drug Delivery Reviews 48, 139-157. 2001.

(3) Salsa T, Veiga F, Pina ME. Drug Dev Ind Pharm 23, 929. 1997

(4) Tahara K, Yamamoto K, Nishiahata, Int J Pharm, 133, 17. 1996

(5) Hayashi T, Kanbe H, Okada M, Onuki Y, Renedo T, Sonobe T. Int J Pharm DOI: 10.1016/J.ijpharm.2005.07.022

(6) Furlanetto S, Cirri M, Maestrelli F, Corti G, Mura P. Eur J Pharmac Bipharm 62, 77-84. 2006

P-12 CYTOTOXICITY STUDIES OF DOCETAXEL LOADED CHITOSAN NANOCAPSULES.

Lozano M.V.[1], Brea J[2]., Torrecilla D.[3], Loza M .[2], Domínguez F.[3] Torres D.[1], Alonso, M.J.[1]

[1] Dept. of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, School of Pharmacy.
[2]Dept of Pharmacology, School of Pharmacy
3Dept. of Physiology, School of Medicine and Odontology.
University of Santiago de Compostela, Spain.
e-mail: fframona@usc.es

INTRODUCTION

Chitosan nanocapsules have been shown to be effective nanosystems for the nasal and oral delivery of macromolecules, such as salmon calcitonin. In vivo studies performed by our research group have shown the ability of these nanocapsules to interact with mucosa and increase the peptide bioavailability (1).
Numerous investigations have shown that both tissue and cell distribution profiles of anticancer drugs can be controlled by their entrapment in colloidal systems (2). This work is aimed to evaluate the potential of chitosan nanocapsules as vehicles for targeting anticancer drugs to tumor cells. Docetaxel (DCX) is currently one of the most effective agents in the treatment of different tumors, such breast or lung cancer. Therefore, its entrapment efficiency in chitosan nanocapsules as well as the antiproliferative effect of DCX-containing nanocapsules in contact with different cell lines were investigated.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Miglyol® 812 (Sasol; Germany); L-α-lecithin (Epikuron 145V, Degussa; Spain); Poloxamer 188 (Pluronic F-68®; Sigma-Aldrich); chitosan hydrochloride salt, (Protasan® CL113; deacetylation degree 85%; FMC Biopolymer/ Novamatrix, (Norway); docetaxel (DCX) (Sigma-Fluka).

Preparation of chitosan oligomers

Chitosan oligomers were prepared from medium molecular weight chitosan (<150KDa) by oxidative degradation using sodium nitrite ($NaNO_2$) according to the procedure described previously (3).

Preparation of chitosan nanocapsules

Chitosan oligomer nanocapsules were prepared according to the procedure formerly described by our group (1). Briefly, an organic phase formed by 125 µL of Miglyol® 812 and 40 mg of lecithin dissolved in 0.5 mL of ethanol and 9.5 mL of acetone, was added under magnetic stirring to a 20 ml aqueous phase containing Pluronic® F68 (0.25% w/v)
and chitosan oligomers (0.05 w/v). Afterwards, solvents were evaporated under vacuum to a final volume of 10 mL.
DCX-loaded nanocapsules were obtained by dissolving 100 µg of DCX in the organic phase and then following the above described method.

Nanocapsules characterization

Size and zeta potential were determined by Photon Correlation Spectroscopy (PCS) and Laser Doppler Anemometry, respectively (Zetasizer® Nano-ZS, Malvern, UK).

Cell culture experiments

Human non-small cell lung cancer lines NCI-H460 were cultured in RPMI-1640 medium (ATCC), while human breast cancer cell line MCF-7 were cultured in D-MEM medium (Sigma). They were both supplemented with 10% (v/v) foetal bovine serum at 37º C in a humidified atmosphere containing 5% carbon dioxide.
Cytotoxicity studies were performed by the MTT method. Briefly, cells were plated onto 96-well plates, with a seeding density of $15x10^3$cells/well (NCI-H460) or $5x10^3$ cell/wells (MCF-7) in 100 µL culture medium. After 24h, various concentrations of formulations were added to the wells. Following 24 or 48 hours of continuous exposure, survival was evaluated by the MTT assay.

Statistical analysis

The statistical comparison of the percentages of cell viability reduction was performed by the Kruskall-Wallis test for non-parametric multiple comparisons between treatments. Differences were considered to be significant at a level of $p<0,05$. IC_{50} values were compared by the t-student method.

RESULTS AND DISCUSSION

Chitosan nanocapsules were prepared following the solvent displacement method. They were obtained by attaching chitosan oligomers (MW=10 kDa) onto the oil nanodroplets of a nanoemulsion consisted of Miglyol 812® stabilized by lecithin. The attachment of chitosan was mediated by the ionic interaction between the negatively charged phospholipid and the positively charged chitosan. Chitosan nanocapsules were monodispersed, showing a mean size between 150-160 nm and a highly positive charge due to the chitosan coating formed (Table 1).

Carrier	Size (nm)	PI	ζ Potential (mV)
Blank nanocapsules	151.2±1.5	0.1	+47.2±1.3
DCX-loaded nanocapsules	162.3±3.7	0.1	+47.5±3.3

PI: polydispersity index

Table 1: Physicochemical properties of the chitosan oligomer nanocapsules (mean+s.d.).

The incorporation of the DCX in the nanocapsules was achieved by dissolving it in the oil core of the carriers, being the drug encapsulation efficiency of this extremely hydrophobic drug of about to 45%.

Cell culture results showed that DCX-loaded chitosan oligomer nanocapsules significatively increased its antiproliferative effect compared to free drug in the both tested cell lines (Fig. 1 and 2). The effect was more appreciable in the lung cancer cell line. More concretely, the IC_{50} for the NCI-H460 cells decreased from a value of 14.75 nM for free DCX to a value of 6.39 nM for DXC-loaded nanocapsules. This significant improvement of the cytotoxic effect of DCX could be explained by the possible uptake of the nanocarriers by the cells and subsequent intracellular DCX release. Finally, blank nanocapsules did not produce significant toxicity in all the range of concentrations tested, thus indicating the safety of this nanocarrier.

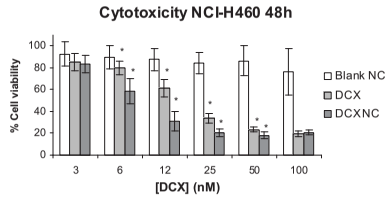


Fig. 1: Cellular viability of NCI-H460 cells after 48 hours of incubation with blank nanocapsules, free DCX and DCX-loaded chitosan oligomer nanocapsules.

*Statistically significant differences ($p<0.05$)

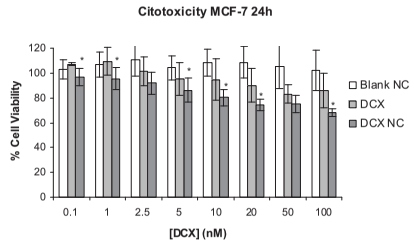


Figure 2. Cellular viability of MCF-7 after 24 hours of incubation with blank nanocapsules, free DCX and DCX-loaded chitosan oligomer nanocapsules.
*Statistically significant differences ($p<0.05$)

CONCLUSIONS

Chitosan oligomer nanocapsules were able to improve the antiproliferative effect of the antitumor drug docetaxel in different cancer cell lines. These nanocarriers can thus be considered for future studies as promising vehicles for targeted delivery to cancer cells

REFERENCES

1. Prego C, Fabre M., Torres D. and Alonso M.J., Pharm. Res., 23 (2006) 549-556.
2. Brigger I., Dubernet C., Couvreur P. Adv. Drug Del. Rev. 54 (2002) 631-651.
3. Janes K.A., Alonso M.J., J. Appl. Polym.Sci., 88 (1997) 2769.

ACKNOWLEDGMENTS
This work was financially supported by the Spanish Government (CICYT: SAF 2003-8765, SAF 2004-08319-C02-01and AP2005-1701)

P-13 DEFINICIÓN DE UN PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE MICROCÁPSULAS GASTRORRESISTENTES DE MOLÉCULAS MUY HIDROSOLUBLES BASADO EN LA TÉCNICA DE EMULSIÓN-EVAPORACIÓN

Tavares-Fernandes D.F., Esteban-Verdugo M.E., Gil-Alegre M.E., Torres-Suárez A.I.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid.
e-mail: galaaaa@farm.ucm.es

Introducción

Las formas farmacéuticas de liberación retardada de administración por vía oral se dividen en formas entéricas o gastrorresistentes, y formas de liberación colónica. La liberación retardada se puede conseguir mediante la utilización de distintos tipos de sistemas como comprimidos, cápsulas, microcápsulas o minigránulos, entre otros, capaces de disolverse, hincharse, romperse o erosionarse en un determinado momento o lugar del tubo digestivo. El procedimiento más frecuentemente utilizado para conseguir un retraso en la liberación de un principio activo a partir de estos sistemas administrados por vía oral consiste en la utilización de recubrimientos con solubilidad pH dependiente. Sin embargo, la elaboración de estos sistemas para la liberación retardada de moléculas de elevada hidrofilia es especialmente compleja debido a la alta capacidad de estas sustancias para disolverse en todos los fluidos digestivos.
Con este trabajo se busca definir y optimizar un procedimiento de microencapsulación basado en la técnica de evaporación del solvente que permita obtener microcápsulas gastrorresistentes que liberen de forma selectiva a nivel de duodeno una sustancia muy hidrosoluble.

Materiales y métodos

Materiales

Como molécula patrón, de elevada hidrosolubilidad, se utiliza una sal de un ácido orgánico (ácido butírico), con una solubilidad en agua a 25ºC de 80g%. El material de recubrimiento que se utiliza es acetoftalato de celulosa (CAP), que presenta una solubilidad en el medio ácido del estómago muy baja, pero que se disuelve rápidamente a valores de pH mayores de 6.

Obtención de microcápsulas:

El proceso de obtención de las microcápsulas se divide en dos etapas: obtención de los núcleos a microencapsular y microencapsulación

Elaboración de los núcleos: se elaboran granulación por vía húmeda. Junto con la sustancia patrón, contienen sulfato cálcico como diluyente y un 10% de almidón de maíz como disgregante. Como aglutinante se utiliza una disolución de gelatina en agua al 8%.

Preparación de las microcápsulas: se utiliza una variante del proceso convencional de microencapsulación por evaporación del solvente. El procedimiento está basado en la formación de una emulsión no acuosa en la que los núcleos se dispersan en la fase externa no polar de la emulsión mientras el material de recubrimiento se disuelve, como es habitual en esta técnica, en la fase interna volátil (figura 1). De esta forma se espera obtener sistemas tipo reservorio (microcápsulas) en las que los núcleos aparezcan rodeados de una película más o menos gruesa de material polimérico que les aislará, tras su administración oral, de los jugos gástricos.

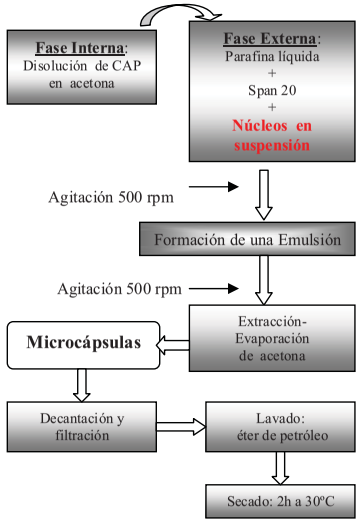


Figura 1: Esquema de la preparación de microcápsulas.

Se analiza la influencia de las variables del proceso recogidas en la tabla 1 sobre la carga y la resistencia en medio ácido de las microcápsulas obtenidas. La resistencia en medio ácido se determina manteniendo las microcápsulas en agitación durante 2h en HCL 0,1N.

1. Contenido inicial en p.a.
2. Porcentaje de polímero
3. Porcentaje de tensioactivo
4. Adición de plastificante

Tabla 1: Variables del proceso analizadas.

Resultados y discusión

Con el procedimiento de microencapsulación propuesto se obtienen sistemas tipo reservorio con un tamaño medio de 1,3 mm (figura 2) y con una elevada esfericidad. Al microscopio óptico se observa el núcleo central rodeado de una película de material polimérico de espesor variable, pero que rodea todo el núcleo (figura 3).

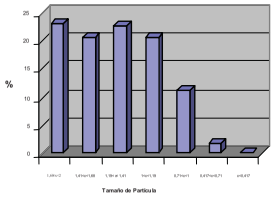


Figura 2. – Distribución de tamaño de partícula de las microcápsulas (análisis por tamización en cascada)

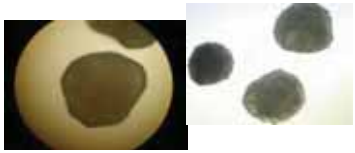


Figura 3. – Aspecto de las microcápsulas al microscopio óptico.

Al aumentar el contenido inicial de activo en los núcleos (del 50 al 75%) se consigue un aumento significativo en el contenido en activo en las microcápsulas formadas pero, como contrapartida, pierden la gastrorresistencia (tabla 2)

Al aumentar el porcentaje de CAP en la solución de recubrimiento, mejora la resistencia entérica de las microcápsulas, pero disminuye el contenido en principio activo. En cuanto al tensioactivo, al duplicar su concentración aumenta significativamente la resistencia de las microcápsulas al ácido clorhídrico probablemente al conseguirse un recubrimiento más homogéneo, pero disminuye ligeramente la carga (tabla 2).
Al añadir como plastificante un 2% de trietil citrato (TEC) a la solución de recubrimiento se consigue mantener el contenido en principio activo elevado (36,97%), y una resistencia entérica de 77,5%. Sin embargo si la concentración de plastificante se duplica las microcápsulas dejen de resistir al ácido clorhídrico (tabla 2).

% p.a inicial	% CAP	% Span	% TEC	%p.a	2h HCl (%)*
50	1. 12	1	2. -	3. 24.8	4. 87.1
75	12	1	-	42	no
75	14,5	1	--	23.2	66.7
75	20	1	--	30.1	62.5
75	20	2	--	28.3	69.3
75	12	1	--	37.0	77.5
75	12	1	2% 4%	40	no

*Tabla 2: Influencia de las variables analizadas en la carga en principio activo y en la resistencia en medio ácido de las microcápsulas obtenidas. * porcentaje de principio activo no disuelto remanente en medio ácido.*

Conclusiones

El procedimiento de microencapsulación desarrollado permite obtener microcápsulas gastrorresistentes cargadas con susutancias muy hidrosolubles. Los mejores resultados se obtienen cuando se parte de núcleos con un 50% de activo y un diluyente no hidrosoluble; y en la microencapsulación se utiliza una disolución al 12% de CAP en acetona a la que se incorpora un 2% de trietil citrato como plastificante; y una fase externa que contiene como tensioactivo span 20 al 2%.

Bibliografía

(1) Nokhodochi A. et al.. ARS Pharmaceutica 43, 135-137. 2002.
(2) Silva J.P.S. J. Microencapsulation 16, 95-103.1999.
(3) Krogars K. et al. International Journal of Pharmaceutics 199, 187-194. 2000.
(4) Nokhodochi A., Fraid D. Pharmaceutical Technology, June, 15-19. 2002

P-14 DENDRÍMEROS ACTIVADOS PARA LA LIBERACIÓN DE DNA EN CÉLULAS TUMORALES

Navarro, G., Tros de Ilarduya, C.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra, Pamplona
ctros@unav.es
gnavarro@alumni.unav.es

Introducción

Una terapia génica exitosa depende en gran medida del desarrollo de vectores que permitan transferir material genético de manera eficaz y segura. Se distinguen dos grandes categorías: vectores virales y vectores no virales. Las limitaciones de los vectores virales hacen de los vectores no virales una alternativa atractiva. Entre sus ventajas destacan que no inducen inmunogenicidad, que presentan una baja toxicidad y que son fáciles de producir a gran escala, si bien su eficacia de transfección es mucho menor que la de los virales.

Los dendrímeros PAMAM pertenecen al grupo de vectores no virales. Son macromoléculas esféricas altamente ramificadas que presentan una carga neta positiva a pH fisiológico. La mezcla de los dendrímeros con DNA lleva a la formación de complejos por interacción electrostática con el plásmido, al cual protegen de la degradación por las nucleasas del suero y aumentan su entrada en la célula por endocitosis [1].

Los dendrímeros pueden sufrir un proceso de activación que da lugar a los llamados "dendrímeros activados" o "dendrímeros fracturados" [2]. El proceso de activación consiste en la solubilización del dendrímeros en un solvente adecuado y un posterior calentamiento que provoca la pérdida de algunas ramificaciones. Esto hace que la estructura del dendrímero activado sea más flexible, lo que se relaciona con una mayor eficacia de transfección [3]

El objetivo principal de este estudio es la preparación y evaluación de complejos formulados con dendrímeros PAMAM (activados / no activados) y DNA plasmídico como vectores para la liberación de genes terapéuticos.

Material y Métodos

Preparación de los complejos
Los complejos se prepararon mediante la mezcla de una solución de pDNA con una solución del dendrímero (generación 4 o generación 5). La concentración final del DNA en los complejos fue de 5µg/mL. Las cantidades de dendrímero y DNA fueron calculadas para obtener complejos a distintas relaciones de carga (+/-) desde 1/1 hasta 10/1.

Activación de los complejos
Los dendrímeros activados se prepararon a partir del dendrímero intacto por calentamiento en agua a una temperatura de 40ºC y se obtuvieron dendrímeros a distintos tiempos de activación.

Determinación del tamaño y potencial zeta
El tamaño y el potencial zeta se midieron por difractometría de láser (Zetasizer Nano Series, Malvern Instruments).

Estudios de transfección *in vitro*
La eficacia de transfección se determinó midiendo la expresión de luciferasa en células HepG2. Las células se incubaron con los complejos (1µg de DNA por pocillo) durante 4 horas en presencia de un 60% de FBS. Tras 48h de incubación, las células se lisaron y se midió la expresión de luciferasa.

Resultados y Discusión

En la determinación del tamaño y potencial zeta, se estudió la influencia de la generación y de la relación de carga. Como se indica en la Tabla 1, los complejos preparados con la generación 4 del polímero presentaron tamaños entre 150 y 170 nm para las relaciones de carga desde 2/1 a 10/1. Los complejos preparados con la generación 5 presentaron tamaños más pequeños de alrededor de 100 nm. El potencial zeta fue positivo para todos los casos a excepción de la relación 1/1 (electroneutralidad). La generación 5 dobla en su peso molecular y en el número de grupos amino terminales a la generación 4, lo que explicaría el menor tamaño y el ligero aumento de potencial zeta para los complejos preparados con la generación 5.

Tabla 1. *Tamaño y Potencial Zeta de los complejos (Dendrímero/DNA). Los resultados se expresan como la media ± D.S*

	Tamaño (nm)		Potencial Zeta (mV)	
Relación de Cargas (Dendrímero/DNA)	PAMAM (G4)	PAMAM (G5)	PAMAM (G4)	PAMAM (G5)
1/1	471 ± 85	585 ± 260	- 5 ± 5	-9 ± 3
2/1	150 ± 37	113 ± 11	8 ± 1	6 ± 2
4/1	173 ± 16	110 ± 15	9 ± 5	11 ± 6
6/1	160 ± 16	108 ± 3	11 ± 3	15 ± 5
8/1	154 ± 23	100 ± 25	11 ± 2	14 ± 4
10/1	153 ± 24	102 ± 10	11 ± 3	18 ± 5

La evaluación *in vitro* de los complejos se muestra en la Figura 1. Por un lado, la actividad de transfección de los complejos formulados con G5 es notablemente superior a los preparados con G4. Este aumento de transfección puede ser debido al menor tamaño y mayor potencial zeta de los complejos G5/DNA. Por otro lado, el aumento en la relación de carga resultó en un incremento progresivo de la eficacia de transfección en HepG2. Un aumento en la relación de carga supone un exceso de las cargas positivas existentes en el complejo, con lo que se favorece la interacción con la membrana celular, y en consecuencia la internalización del complejo.
También se estudió la eficacia de transfección de los complejos con dendrímeros activados a distintos tiempos, observándose un aumento de la expresión génica a partir de las 8 horas de activación.

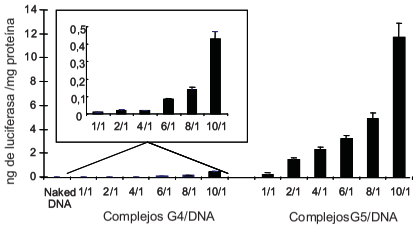


Figura 1. *Eficacias de transfección en HepG2 de los complejos PAMAM/DNA a distintas relaciones de carga. Los resultados se expresan como la media ± D.S de tres pocillos.*

Conclusiones

1. La generación del polímero PAMAM influye en el tamaño y potencial de los complejos.
2. Los estudios *in vitro* muestran que las eficacias de transfección obtenidas en HepG2 aumentan con la relación de carga y son más elevadas para la generación 5.
3. El proceso de activación mejora la eficacia de transfección de los complejos PAMAM/DNA.

Referencias

[1] Dufès, C., Uchegbu, I.F., Schätzlein, A.G. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 57, 2177-2202.2005.
[2] Dennig, J., Duncan, E. J. Biotechnol. 90 (3-2), 339-347. 2002.
[3] Tang, M.X., Redemann, C.T., Szoka, F.C., Jr. *Bioconjug. Chem.*7, 703-714. 1996.
.

P-15 DESARROLLO DE MICROCÁPSULAS DE ALGINATO-ACICLOVIR PARA EL TRATAMIENTO DEL HERPES SIMPLE

Cheddadi, M.[1], Pastoriza A., P.[1], Montejo C.[2], Fernández C. A.[1]

[1]Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. UCM. Madrid. Av. Ramón y Cajal s/n 28040 Madrid. [2]Facultad de Farmacia. USP-CEU. Madrid.
e-mail: mahacheddadi@hotmail.com

Introducción

El aciclovir es el fármaco más indicado por vía tópica para el tratamiento del herpes simple[1]. El alginato es un polisacárido extraído de las algas, la gran variedad de sus aplicaciones se basa su propiedad hidrocoloide y su reactividad frente al calcio[2]. El objetivo del presente estudio es la obtención de microcápsulas de alginato cálcico que contienen como principio activo aciclovir, destinadas a la elaboración de un apósito para su aplicación tópica en el tratamiento del herpes simple. Las microcápsulas de alginato cálcico en contacto con el exudado producido por la lesión cutánea, rico en ClNa, absorben dicha secreción produciéndose un intercambio entre el Ca y el Na con la consiguiente solubilización del polímero que irá cediendo de forma gradual el principio activo, además de mantener seca la herida.

Materiales y Métodos

Materiales

Aciclovir suministrado por Sigma Tau Española, Alginato sódico proporcionado por Guinama , Cloruro cálcico (Panreac Química S.A.) Hidróxido sódico (Merck), labrafil (Gattefossé, Francia), Miristato de Isopropilo (Guinama), Tween 80 (Panreac Química S.A.)Etanol absoluto (Panreac Química S.A.) Formaldehído 37-38% P/P (Panreac Química S.A.)

Elaboración de las microcápsulas:

El método empleado para la elaboración de microcápsulas es el de gelificación iónica .Se llevan a cabo 4 métodos, en el método 1 se prepara una disolución acuosa de alginato sódico al 1%, 1,5% y 2%, en la cual se disuelve aciclovir (10 mg). La solución obtenida se hace gotear sobre una disolución de cloruro cálcico 2% en agitación. Las microcápsulas formadas así se mantienen en agitación 45 minutos, a continuación se filtran y se lavan con 20 ml de agua seguidos de 5 ml de etanol. Posteriormente son desecadas durante 48 horas en un desecador a vacío. En el método 2 se añade 1ml de NaOH al principio activo, tras una agitación con vortex se añade sobre una disolución acuosa de alginato sódico 1%, 1,5% y 2%. El resto del proceso se realiza de acuerdo al protocolo anterior. En el método 3, se añaden 10 µl de labrafil al principio activo. Tras la disolución del principio activo en el aceite, el proceso se realiza de acuerdo al protocolo descrito en el método 1. La elaboración de microcápsulas con el método 4 se lleva a cabo a partir de una emulsión de fase externa acuosa (O/A). La fase interna está compuesta por 2,8 ml de Miristato de isopropilo y 0,6 ml de Tween 80 en los que se disuelven 10 mg de aciclovir mediante agitación con vortex y la fase externa está formada por una disolución acuosa de alginato sódico al 1%, 1,5% y 2%.La formación de la emulsión se lleva a cabo adicionando la fase oleosa sobre la solución de alginato y agitando ambas fases en a una velocidad de 475 rpm durante 30 minutos, una vez formada la emulsión se preparan las microcápsulas de acuerdo al protocolo descrito en el método 1.

Determinación del contenido en aciclovir:

Se disuelven 10 mg de microcápsulas en 10 ml de solución tampón fosfato pH 7,4. La muestra fue sometida a sonicación el tiempo necesario para producir la ruptura de las partículas. Se filtraron a través de un filtro de 0,45 µm. se determina el aciclovir por espectrofotometria a 252 nm. Se calcula la cantidad de principio activo expresada en µg de Aciclovir por 100 mg de microesferas.

Ensayos de cesión

Los ensayos de cesión se llevan a cabo en un baño termostatizado. (Clifton NE-28) a 37ºC ± 2ºC .Se pesan 400 mg de microcápsulas y se colocan en un recipiente, se cubren con una membrana semipermeable de celofán, y se pone su superficie en contacto con 15 ml de tampón fosfato pH=4,6. A los tiempos de muestreo fijados (3, 6, 9 y 24 horas) se extrae completamente la solución tamponada y se renueva con solución tampón recién preparada. El aciclovir cedido se determina recogiendo todo el volumen del líquido de cesión y filtrando a través de un filtro de 0,45 µm (Teknokroma) y se valora por espectrofotometría UV a una longitud de onda de 252 nm. Los ensayos se realizan siempre por triplicado para cada uno de los lotes.

Resultados y Discusión

La figura 1 muestra Contenido en aciclovir en las microcápsulas obtenidas por los cuatro métodos para las tres concentraciones de alginato utilizadas.

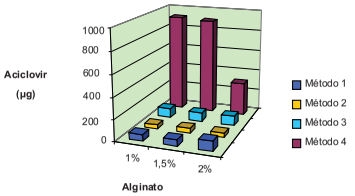


Fig1.- Contenido en aciclovir en las microcápsulas obtenidas por los cuatro métodos

Se observa que el método 4 es el que proporciona un contenido más elevado en principio activo, por lo que es el método seleccionado. Además, la formulación que se elabora con un 1,5% de alginato sódico presenta mayor eficacia de encapsulación. Los estudios de cesión del aciclovir a partir de las microcápsulas elaboradas por este método con concentraciones iniciales de alginato sódico del 1% y del 1,5% se realizaron en tampón fosfato a pH=4,6.

Con el fin de comprobar si el solvente utilizado en el lavado influye en la cesión del principio activo, se empleó un lote que se divide en tres partes. Se lava la primera con agua, la segunda con etanol y la tercera con formaldehído. Se analizaron las cantidades de Aciclovir cedidas en las 3 primeras horas y estas fueron menores cuando se lleva a cabo el lavado con agua como se refleja en la figura 2, tanto para las microcápsulas elaboradas con un 1% o 1,5% de alginato sódico.

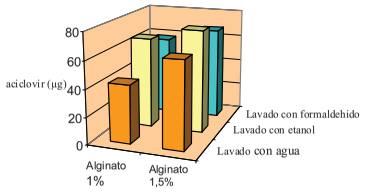


Fig. 2.- Aciclovir cedido (en µg) en las tres primeras horas para el tampón pH=4,6.

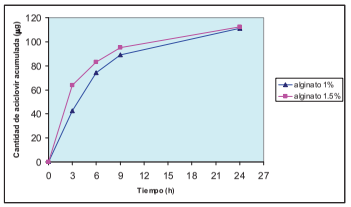


Fig. 3.- Cantidad de aciclovir cedida acumulada (µg) en el tampón pH=4,6

Cuando se comparan los perfiles de cesión a pH=4,6 obtenidos con microcápsulas elaboradas con un 1% y 1,5% de alginato, las curvas resultan muy similares, por lo que las dos formulaciones serian adecuadas. Pero teniendo en cuenta que la formulación que se elabora con un 1,5% de alginato sódico presenta mayor eficacia de encapsulación, seleccionamos esta como formulación definitiva.

Conclusiones

De los cuatro métodos empleados en la elaboración de las microcápsulas, el que permite una mayor encapsulación del principio activo es el que se lleva a cabo con el paso intermedio de una emulsión O/A.

De los tres métodos de lavado utilizados: agua, etanol y formaldehído, el que proporcionó mejores resultados fue el lavado con agua tal y como queda reflejado en los ensayos de cesión, ya que para la misma cantidad de microcápsulas, la cesión inicial del principio activo a las tres horas es la menor, mientras que a las 24 horas la cesión del aciclovir es prácticamente la misma e independiente del tipo de disolvente utilizado.

La cesión de aciclovir a partir de las microcápsulas es muy similar para las dos formulaciones seleccionadas de 1 y 1,5% de alginato sódico, no obstante, la eficacia de encapsulación del principio activo es superior cuando se emplea una concentración de 1,5%.

Bibliografía

(1) R. Laurent. Encyclopédie Médicale Chirurgicale – Médecine. 2005; 2: 265-275.

(2) H.J. Kong, M.K. Smith, D.J. Mooney. Biomaterials. 2003; 24: 4023-4029.

P-16 DESARROLLO DE UNA FORMULACIÓN DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE MORFINA BASADA EN UN COMPLEJO POLIMÉRICO

M.A. Holgado, A. Iruin, J. Alvarez-Fuentes, M. Fernández-Arévalo

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/ Profesor García González nº 2, 41012 Sevilla
e-mail: holgado@us.es

Introducción

En clínica, el control del dolor severo crónico requiere de la administración de medicamentos de morfina de acción rápida y larga duración.

El objetivo global en el que se incluye el presente trabajo es el desarrollo de un medicamento de liberación controlada de morfina de administración oral que proporcione un efecto analgésico inmediato y prolongado, basado en un complejo polimérico de morfina.

En trabajos precedentes se ha optimizado el proceso de elaboración de un complejo polimérico de morfina, desarrollado, patentado y caracterizado por nuestro grupo de investigación (1). Por otro lado, se elaboraron comprimidos con este complejo polimérico de morfina conteniendo, además, morfina libre. Estudiando la influencia del porcentaje de fármaco libre en el comportamiento de disolución de estos comprimidos, se llegó a la conclusión de que era necesario un 15% de morfina libre (2). Esta formulación proporcionaba una gran variabilidad en los perfiles de disolución, debido a que el fármaco se encontraba en las proximidades de su umbral de percolación. Por lo tanto, la inclusión de un tercer componente (paso de un sistema binario a otro terciario), obviaría este problema. Este tercer componente es el Eudragit® RS-PM que no solo ralentizaría la velocidad de disolución del fármaco sino que, además, conseguiría una dosis total de morfina de 60 mg (una de las presentaciones comerciales más utilizadas) manteniendo un peso final de los comprimidos de 150 mg.

Se toma como perfil de liberación in vitro de referencia aquél que libera el 50% de la carga del fármaco en la primera hora del ensayo mediante una cinética difusional, y el resto de la dosis siguiendo una cinética de orden cero.

Además, se estudia la influencia del pH y de la fuerza iónica del medio de disolución sobre los perfiles de liberación *in vitro*.

Materiales y Métodos

Los productos utilizados en el presente trabajo son: clorhidrato de morfina (Alcaliber S.A., Madrid), Eudragit® L30D, Eudragit® RS-PM (Degussa Iberia, S.A., Barcelona), hidróxido sódico (Acofarma, Barcelona), ácido clorhídrico, cloruro sódico, cloruro potásico, ácido cítrico y fosfato disódico dihidratado (Panreac Química S.A., Barcelona), metanol para HPLC y fosfato amónico dibásico (Merck, Darmstadt).

Cuantificación de morfina

Se empleó la espectrofotometría UV (Hitachi, mod. U-2000), a una longitud de onda de 284 nm. Se validó la técnica estudiando la linealidad, exactitud y precisión del método (2).

Elaboración de los comprimidos

La formulación conteniendo 62.5% de complejo polimérico, 15% de morfina libre y 22,5% de Eudragit® RS-PM, se obtuvo por mezclado en mezcladora en V durante 15 minutos. Los comprimidos se elaboraron por compresión directa en una máquina de comprimir excéntrica (Bonals, mod. A-300), con punzones planos de 9 mm de diámetro y 150 mg de peso. Las fracciones granulométricas de complejo polimérico y Eudragit® RS-PM utilizadas estaban comprendidas entre 100-250 µm (Retsch, mod. Vibro). El complejo polimérico utilizado es un producto obtenido por reacción en medio acuoso entre el clorhidrato de morfina y el polímero Eudragit® L y patentado por la Universidad de Sevilla (3).

Caracterización galénica de los comprimidos

Se realizaron ensayos de peso (n=10, balanza Mettler, tipo AE-50), dimensiones (n=10, *micrómetro Export-Pel*), resistencia a la rotura (n=10, *durómetro Schleuniger, mod. 2E/205*) y friabilidad (n=20, *friabilómetro Erweka, mod. TAD*).

Los ensayos de disolución *in vitro* se realizaron inicialmente a gradiente de pH y fuerza iónica controlada para simular las condiciones fisiológicas gastrointestinales. Se llevaron a cabo por triplicado en el aparato I de disolución de comprimidos y cápsulas (*Turu Grau, mod. D-6)*, a 37 ± 0.5 °C y 50 r.p.m.

Para estudiar la influencia del pH sobre los perfiles de disolución, se realizaron los ensayos a tres valores diferentes (2.2, 6.0 y 8.0), con valor de fuerza iónica constante, 0.005 M claramente inferior al valor fisiológico (0.11-0.14 M) (4). Para determinar la influencia de la fuerza iónica

sobre la liberación de los comprimidos se empleó como medio de disolución el tampón McIlvaine`s ajustado a pH 5 y con los siguientes valores de fuerza iónica: agua destilada, 0.01M, 0.11M y 0.5 M.

Con objeto de comparar y evaluar los perfiles de disolución de los comprimidos con el de referencia se utilizaron los factores de ajuste f_1 (factor de diferenciación) y f_2 (factor de similitud). Por lo general, valores de f_1 entre 0 y 15 y valores de f_2 entre 50 y 100, aseguran la igualdad de las dos curvas comparadas (5).

Resultados y Discusión

Los comprimidos elaborados mostraron un color amarillo claro y superficie lisa y brillante, con peso medio (mg) de 151.38 ± 4.5, altura (mm) de 2.01 ± 0.003 y diámetro (mm) de 9.07 ± 0.02. Con respecto a la resistencia a la fractura, el valor obtenido (N) fue de 6.92 ± 0.29. En el estudio de friabilidad, se calculó una pérdida de masa de 0.70 %.

El perfil obtenido del lote propuesto junto al perfil ideal de liberación, a gradiente de pH, se muestran en la figura 1. Los valores de f_1 y f_2 para ambos lotes son 10.56 y 56.56, respectivamente, por lo que se concluye que el perfil deseado se consigue con la mezcla ternaria propuesta.

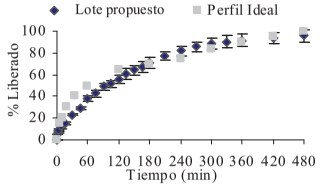


Figura 1. *Perfil de liberación del lote propuesto en gradiente de pH*

En la figura 2 se muestran los perfiles de disolución de los comprimidos a tres valores de pH concretos (2.2, 6.0 y 8.0). Como se aprecia, la influencia que ejerce el pH es prácticamente nula, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los tres perfiles obtenidos.

En la figura 3 se muestran los perfiles de disolución de los comprimidos en función de la fuerza iónica del medio. Al igual que ocurría en el caso de los complejos de morfina, la influencia de la fuerza iónica sobre la velocidad de disolución se deja notar solamente a valores inferiores al valor fisiológico de fuerza iónica (0.11-0.14 M) (4).

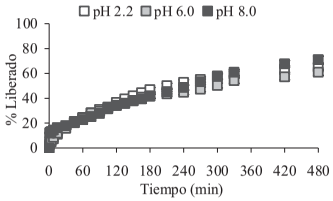


Figura 2. *Perfiles de liberación del lote propuesto a diferentes valores de pH y fuerza iónica constante*

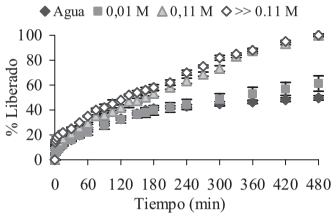


Figura 3. *Perfiles de liberación del lote propuesto a diferentes valores de fuerza iónica y pH constante*

Por lo tanto, de los resultados obtenidos en ambos estudios, se concluye que el comportamiento de disolución de los comprimidos de morfina propuestos es robusto e independiente de las posibles variaciones fisiológicas dentro del tracto gastrointestinal.

Conclusiones

Los ensayos realizados permiten definir como óptima la formulación de comprimidos compuesta por 62.5% de complejo polimérico, 15% de morfina libre y 22,5% de Eudragit® RS-PM. Esta formulación, una vez procesada hacia la forma de comprimido, proporciona el perfil de disolución pretendido, esto es, niveles adecuados de morfina liberada en la primera etapa del proceso y control de la velocidad de disolución global hasta al menos 8 horas.

Bibliografía

(1) M. Fernández-Arévalo et al., AAPS Pharm. Sci. Tech. 5: article 39 (2004).
(2) M. Fernández-Arévalo et al., VI Congreso de la Sociedad Española de farmacia Industrial y Galénica, Granada, 2003.
(3) A.M. Rabasco et al., patente de la Universidad de Sevilla, nº P9401748.
(4) M.C. Bonferoni et al., AAPS Pharm. Sci. Tech. 2: article 15 (2000).
(5) http://www.fda.gov/cder/audiences/iact/1713bp1.htm (2006).

P-17 DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA DE ENCAPSULACIÓN DE AMICACINA EN ERITROCITOS HUMANOS

Gutiérrez Millán, C.[1], Zarzuelo Castañeda, A.[1], Sayalero Marinero, M. L.[1], Bax, B.E.[2], Lanao, J. M.[1]

[1]Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. c/ Licenciado Méndez Nieto s/n. 37001 Salamanca
[2]Pediatric Metabolism Unit, Department of Clinical Developmental Sciences, St. George´s Hospital Medical School. London SW17 ORE
e-mail: carmengutierrez@usal.es

Introducción

La utilización de eritrocitos como portadores de fármacos, enzimas u otras macromoléculas es un campo de investigación en constante desarrollo dadas sus importantes aplicaciones potenciales.

Las múltiples ventajas de estos sistemas, como la biocompatibilidad y ausencia de toxicidad, han hecho que muchos investigadores los hayan utilizado como sistemas portadores para mejorar la selectividad, evitar problemas de degradación, etc. (1, 2)

En trabajos previos hemos desarrollado un método de encapsulación de amicacina trabajando con células procedentes de animales de experimentación (3). Dados los buenos resultados obtenidos y las ventajas de esta nueva forma de administración del antibiótico, se han ampliado estos estudios a la encapsulación de aminoglucósidos en eritrocitos humanos.

Con este objetivo se desarrolló una investigación en colaboración con el St. George´s Hospital Medical School de Londres (Reino Unido) para el desarrollo y optimización de un método similar (4) al obtenido para eritrocitos de ratas pero adaptándolo a las particularidades y diferencias de las células procedentes de seres humanos.

Materiales y Métodos

Encapsulación del antibiótico

Tras su extracción, la sangre es sometida a una serie de lavados con el objeto de retirar leucocitos, plaquetas y otros componentes sanguíneos, enriqueciendo la muestra en eritrocitos. Los eritrocitos lavados y empaquetados, son suspendidos al 70 % con tampón fosfato pH 7,4 isotónico y son dializados frente a un tampón hipotónico (1/30 v/v) a 4 ºC durante 90, 120 ó 180 minutos.

Igualmente se utilizaron diferentes concentraciones de amicacina en el medio (0.2, 1, 2 ó 10 mg/mL) a fin de estudiar la incidencia de este factor en el rendimiento final de encapsulación.

Tras la diálisis, los eritrocitos se sometieron a un proceso de resellado cambiando el medio hipotónico por tampón fosfato suplementado con adenosina, $MgCl_2$ y glucosa, y se incubaron a 37 ºC durante 60 minutos.

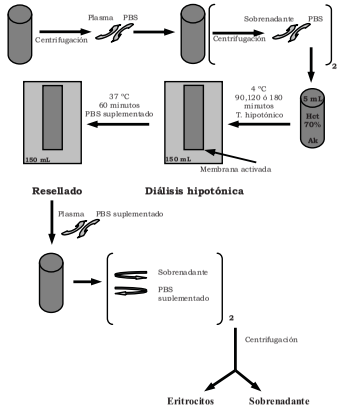


Figura 1. *Método de encapsulación de amicacina en eritrocitos humanos.*

La cuantificación de amicacina se llevó a cabo mediante una técnica de HPLC con derivatización pre-columna con OPA (*o*-phtaldialdehído) y detección de fluorescencia.

Caracterización de los eritrocitos portadores

Sobre los eritrocitos portadores de amicacina se estudió la fragilidad osmótica de los eritrocitos incubándolos con concentraciones crecientes de NaCl (de 0 a 0,9 %) y midiendo la hemoglobina liberada al medio por espectrofotometría a 540 nm.

Se analizaron los parámetros hematológicos de los eritrocitos tanto previamente a la diálisis como una vez cargados, a fin de observar las alteraciones sufridas durante el proceso de diálisis y resellado.

Finalmente se llevaron a cabo estudios de liberación *in vitro* de la amicacina encapsulada. Para ello se resuspendieron los eritrocitos portadores de amicacina en PBS suplementado y se incubaron durante 24 horas. A tiempos previamente programados se tomaron muestras y se valoró la amicacina liberada al sobrenadante.

Resultados y Discusión

La figura 1 recoge los datos de amicacina encapsulada en las distintas condiciones del estudio, mostrando la relación entre la concentración inicial de amicacina y la concentración de fármaco encapsulado.

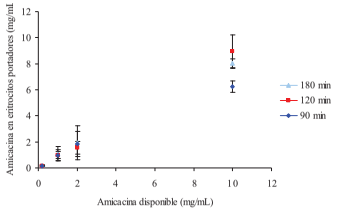


Figura 1. *Relación entre la concentración disponible en el medio y la amicacina encapsulada en los eritrocitos.*

En vista de los resultados obtenidos en el ensayo anterior, se eligieron las condiciones de 180 minutos y 10 mg/mL y se realizó un estudio de las propiedades hematológicas de los eritrocitos cargados con amicacina utilizando dichas condiciones (tabla 1).

Parámetro hematológico	Muestra pre-diálisis	Muestra post-diálisis
RBC	3.72 ± 0.18	6.85 ± 0.53
Hgb	11.40 ± 1.31	13.83 ± 0.83
Hct	0.34 ± 0.04	0.44 ± 0.03
MCV	92.33 ± 8.15	86.20 ± 39.61
MCH	30.53 ± 2.42	27.13 ± 12.26
MCHC	33.13 ± 1.10	41.97 ± 17.88

Tabla 1. *Parámetros hematológicos de eritrocitos previo a ser sometidos al procedimiento de diálisis y de eritrocitos portadores de amicacina.*

La figura 2 recoge la modificación de la curva de fragilidad osmótica como resultado del proceso de encapsulación cuando se compara con la curva de eritrocitos control.

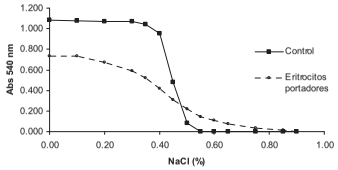


Figura 2. *Fragilidad osmótica de eritrocitos control y eritrocitos portadores de amicacina.*

Para completar el estudio se llevaron a cabo ensayos de liberación *in vitro* de amicacina desde estos eritrocitos portadores (figura 3), obteniéndose que un 3 % de la amicacina encapsulada era rápidamente liberada al medio en dos horas. Por otra parte, sólo un 20 % era liberada en 48 %, quedando el 80 % restante en el interior de las células.

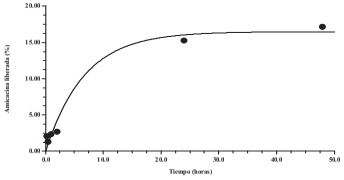


Figura 3. *Porcentaje de amicacina liberada frente al tiempo.*

Conclusiones

- Se ha desarrollado un método de encapsulación de amicacina en eritrocitos humanos con un alto rendimiento de encapsulación.
- Los eritrocitos portadores presentan una fragilidad osmótica moderada y parámetros hematológicos similares a los de eritrocitos portadores.
- Los estudios *in vitro* demuestran una lenta liberación puesta de manifiesto en que a las 48 horas aún queda un 80 % de la amicacina encapsulada en el interior de las células, lo que justifica la liberación prolongada del antibiótico.

Bibliografía

(1) Gutiérrez Millán, C. et al. J. Control. Release 95(1), 27-49. 2004.

(2) Rossi, l: et al. Expert Opinión Drug Deliv. 2 (2) 311-22. 2005.

(3) Gutiérrez Millán, C. et al. Drug Deliv. 12(6), 409-16. 2005.

(4) Bax, B.E. et al. Br. J. Haematol. 109(3), 549-54. 2000.

P-18 DISEÑO DE EXCIPIENTES PARA COMPRESIÓN DIRECTA: APLICACIÓN DEL MÉTODO SeDeM

Ferran Luque Enríquez, Josep Juvé Fontoba, Anna Viscasillas Clerch, Alfons del Pozo Carrascosa

Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica. Facultat de Farmàcia. Universitat de Barcelona.

Introducción y Objetivos

En el diseño de excipientes multifun-cionales para elaboración de comprimidos por compresión directa, es imprescindible una exhaustiva caracterización del mismo desde un punto de vista físico-químico y farmacotécnico.

El objetivo del presente trabajo es el de valorar el empleo de diagramas SeDeM, para la caracterización de diferentes prototipos de un nuevo excipiente multifuncional y para obtener información acerca de sus posibles carencias, con objeto de su posterior corrección.

Así, se comparan tres modificaciones de un excipiente multifuncional en desarrollo (Prototipos G2A, G2B y G2C), con dos excipientes de compresión directa ampliamente utilizados en industria farmacéutica: Avicel® PH101, con buenas características de compresibilidad (1) y Tablettose® 100, con buenas características de flujo (2), mediante el método SeDeM (3), cuyo fundamento se describe brevemente en el trabajo.

Materiales y Métodos

Volumenómetro SBS; Vibrador de Tamices CISA; Probetas Graduadas de Cristal Graduadas de 100ml; Tamiz 355µm; Tamiz 212µm; Tamiz 100µm; Tamiz 100µm; Tamiz de 50µm; Recogedor; Balanza Precisa 220M; Balanza Mettler Toledo PB801; Durómetro Dr. Schleuniger Pharmatron Modelo 5Y; Estufa Selecta; Máquina de Comprimir Excéntrica Bonals Modelo B-MT; Pie de Rey; Higrómetro de Vidrio; Embudo de cristal estandarizado para medir el ángulo de reposo; Embudo de cristal estandarizado para medir la velocidad de deslizamiento. Cronómetro.

Prototipo G2A, G2B, G2C; Avicel® PH101; Tablettose® 100.

El método SeDeM consiste en una metodología para la caracterización de sustancias sólidas, con el fin de facilitar los estudios de formulación para la obtención de comprimidos por vía directa. Se determinan una serie de parámetros (ver tabla 1) cuyo análisis permite evaluar si la sustancia objeto de estudio es apta o no para su utilización por compresión directa. Los parámetros seleccionados deben ser representativos de los procesos de compresión. Así mismo, deberán ser fáciles de tratar matemáticamente y simples y rápidos de determinar experimentalmente.

Con los resultados obtenidos se realizan las transformaciones matemáticas necesarias para poder representarlos gráficamente en una misma escala de valores (0 a 10). El fundamento de estas transformaciones y de los valores límite de los parámetros, se hallan descritos en el método SeDeM (ver tabla 1).

Incidencia	Parámetro	Fórmula	Valores Límite	Factor Aplicado a V
Dimensiones	Densidad Aparente (Da)	$Da = \frac{P}{Va}$ (g/ml)	0-1	$10 \cdot V$
	Densidad Compactada (Dc)	$Dc = \frac{P}{Vc}$ (g/ml)	0-1	$10 \cdot V$
Compresibilidad	Índice de Esponjosidad (Ie)	$Ie = \frac{(Dc - Da)}{(Dc \cdot Da)}$	0-1,2	$10 \cdot \frac{V}{1,2}$
	Índice de Carr (IC)	$IC = \left[\frac{(Dc - Da)}{Dc}\right] \cdot 100$ (%)	0-50	$\frac{V}{5}$
	Índice de Cohesividad (Icd)	Experimental (N)	0-200	$\frac{V}{20}$
Deslizamiento Fluidez	Índice de Hausner (IH)	$IH = \frac{Dc}{Da}$	3-0	$10 - \left(\frac{10 \cdot V}{3}\right)$
	Ángulo de Reposo (α)	$\tan \alpha = \frac{h}{r}$ (º)	50-0	$10 - \left(\frac{V}{5}\right)$
	Tiempo de Deslizamiento (t')	Experimental (s)	20-0	$10 - \left(\frac{V}{2}\right)$
Lubtificación Estabilidad	Humedad Relativa (%HR)	Experimental (%)	0-1-2-3-..-10	0-5-10-..-0
	Higroscopicidad (%H)	Experimental (%)	20-0	$10 - \left(\frac{V}{2}\right)$
Lubtificación Dosificación	Partículas <50µm (%Pf)	Experimental (%)	50-0%	$10 - \left(\frac{V}{5}\right)$
	Índice de Homogeneidad (Ih)	Experimental	$0\text{-}2 \times 10^{-2}$	$500 \cdot V$

Tabla 1. Obtención de los valores i factores aplicados para la transformación.

Los gráficos del diagrama SeDeM se realizan en base a un polígono circunscrito a una circunferencia de r=10, formado por la unión de los radios, que representan los valores transformados matemáticamente de los diferentes parámetros determinados.

Los dos índices de aceptación más interesantes propuestos por el método SeDeM son:

- Índice de Perfil paramétrico (IPP); correspondiente a la media de los valores transformados matemáticamente.
- Índice de Buena Compresión (IGC); IGC = IPP x f.
  Dónde f = factor de fiabilidad.
  f = área polígono regular/ área círculo

En ambos casos el límite de aceptabilidad es = 5.

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos para los prototipos G2A, G2B i G2C así como para Avicel® PH101 y Tablettose® 100 se muestran en la tabla 2.

Lote	IPP	IGC
Avicel® PH101	4,58	4,37
Tablettose® 100	5,64	5,39
Prototipo G2A	6,12	5,84
Prototipo G2B	6,17	5,89
Prototipo G2C	6,06	5,78

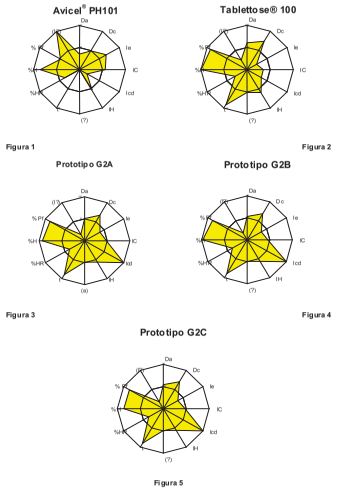
Tabla 2. Resultados Índices de Aceptación (r = 0,955).

Los diagramas SeDeM de las diferentes muestras objeto de estudio se exponen en las figuras 1 a 5. Se observa que las características descritas en la bibliografía para Avicel® PH101 y Tablettose® 100 se corresponden con los respectivos diagramas SeDeM.

Los índices de aceptación obtenidos mediante el método SeDeM para las diferentes modificaciones del prototipo G2, son superiores que los de los excipientes de referencia; no existen en cambio diferencias significativas atribuibles a las modificaciones aplicadas al proceso de obtención de los diferentes prototipos.

De acuerdo con los resultados obtenidos, el parámetro a mejorar del Prototipo G2 es la homogeneidad del tamaño de partícula.

El método SeDeM constituye una nueva herramienta en los estudios previos al diseño de excipientes para compresión directa.



Bibliografía

1. Lahdenpää, E., Niskanen, M., Yliruusi,J. Crushing strength, disintegration time and weight variation of tablets compressed from three Avicel® PH grades and their mixtures. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 43 (3), pp. 315. (1997)

2. Gohel, M.C., Jogani, P.D. A review of co-processed directly compressible excipients. Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 8 (1), pp. 76. (2005)

3. Suñé Negre, J.Ma., Roig Carreras, M., Fuster García, R., Hernández Pérez, C., Ruhí Roura, R., García Montoya, E., Miñarro Carmona, M., Pérez Lozano, P., Ticó Grau, J.R. Nueva metodología de preformulación galénica para la caracterización de sustancias en relación a su viabilidad para la compresión: Diagrama SeDeM. Ciencia y Tecnologia Pharmaceutica, 15 (3), pp. 125. (2005)

P-19 DISEÑO DE INSTALACIONES PARA PRODUCCIÓN DE CÁPSULAS DE GELATINA BLANDAS

[1]Zúñiga, L., [2]Calvo, B.

[1]BTI-Biotechnology Institute . Parque Tecnológico de Álava . 01510 Miñano (Álava).
[2]Laboratorio de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco (UPV/EHU). Paseo de la Universidad 7. 01006 Vitoria-Gasteiz
e-mail: bego.calvo@ehu.es

Introducción

La elaboración industrial de cápsulas de gelatina blandas es especialmente costosa, siendo necesario disponer de una maquinaria compleja y de coste elevado (1).

De las técnicas de producción industrial la más utilizada es la de las matrices rotatorias o método Scherer. El tipo de instalación que se ha utilizado tradicionalmente en la industria farmacéutica se va extinguiendo de forma paulatina apareciendo nuevos conceptos en el diseño de las plantas de fabricación.

El objetivo de este trabajo consiste en diseñar nuevas instalaciones para la producción de cápsulas de gelatina blandas, teniendo en cuenta la normativa y las recomendaciones europeas existentes al respecto.

Diseño de la planta de producción

En la figura 1 se esquematizan las etapas que conlleva el método de las matrices rotatorias.

***Figura 1**.- Flujo de proceso del método Scherer*

El tipo de instalación que ha venido utilizándose en los últimos años por la industria farmacéutica para la elaboración de cápsulas de gelatina blandas se recoge en la figura 2. En este diseño los procesos de encapsulación y de secado en estantes están separados en salas independientes, mientras que en el nuevo concepto de diseño que se propone (figura 3), confluyen en la misma sala los procesos de encapsulado y secado, siendo las condiciones de temperatura y humedad iguales para las dos etapas.

Con este diseño, las dos fases de secado pasan a realizarse en el mismo local, la primera de las cuales tiene lugar en un moderno túnel de secado. El ciclo se completa con el secado en estantes móviles ubicados en un armario

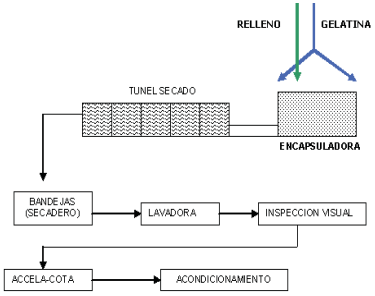
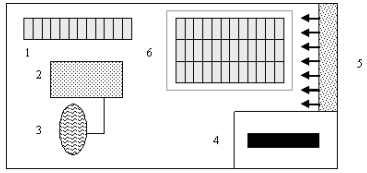


***Fig. 2**.- Instalación típica de una planta de fabricación de cápsulas gelatinosas blandas*

secadero a través de los cuales pasa aire impulsado desde un plenum situado en la pared posterior de la sala.



1.-Bandejas; 2.- Encapsuladora; 3.- Túnel de secado 4; Inspección visual 5; Flujo de aire horizontal; 7.- Armario secadero.

***Fig. 3**.- Nuevo concepto de diseño de instalaciones de fabricación de cápsulas blandas*

Una vez definido el proceso de producción propuesto aportando diagramas de flujo y describiendo fase a fase el método de fabricación desde la preparación de la gelatina hasta el acondicionamiento junto con el estudio del flujo de personal se orienta la distribución arquitectónica de la planta para que la producción se realice en zonas conectadas según un orden lógico correspondiente a la secuencia de operaciones y a los niveles requeridos de

limpieza, tal y como indica el principio general de las Normas de Correcta Fabricación (NCF) (2).
La filtración del aire suministrado a las zonas de producción permite reducir el número de partículas en suspensión y "clasificar los ambientes" en función del contenido de partículas. Se toma como criterio de cumplimiento la clasificación dada en el Anexo I de las NCF, siendo la Norma Técnica a seguir la ISO-14644 para la metodología (el cálculo del número de puntos en el contaje de partículas, equipos a utilizar en los ensayos, periodicidades, etc).

Para cada etapa y local, se especifican los parámetros críticos ambientales: clasificación de áreas, sobrepresiones / depresiones, tempe-raturas, humedad, etc. (3).

Diseño de la arquitectura exterior e interior de la planta
El siguiente paso es el diseño de la arquitectura exterior e interior de la planta. En un paso más avanzado deberán detallarse cimientos, sanitización, cubiertas, suelos y carpintería. Es importante facilitar a la ingeniería responsable del proyecto, una descripción general de los materiales involucrados.

Una vez conocidas en detalle la función para la que el edificio es diseñado, las actividades y las operaciones que se van a llevar a cabo en el interior de la instalación, se dimensionan los sistemas críticos en conformidad con las reglamentaciones de aplicación: sistema de climatización y tratamiento de aire (HVAC) en salas clasificadas, agua purificada, equipo de limpieza *in situ* (CIP), esclusas (SAS) y duchas de aire.

En la tabla 1 se detallan las condiciones de presión, temperatura y humedad relativa (HR), requeridas en el diseño de algunas de las salas.

SALA	Pres (Pa)	T (ºC)	HR (%)
Preparación de gelatina	+20	22/24	50± 10
Preparación mezcla medicamentosa	+20	22/24	50± 10
Suministro de productos	+20	22/24	<25
Zona de encapsulación y túnel de secado	+20	22/24	18-20
Acondicionamiento 1º	+10	22/24	18-20
Esclusas	+10	22/24	50± 10

***Tabla 1**.- Parámetros ambientales*

Programa de validación
Un programa de validación es esencial. Las instalaciones para todas las fases de fabricación de las cápsulas de gelatina blandas, deben cumplir con las Normas de Correcta Fabricación además de con la normativa que les sea de aplicación. El programa de validación para las instalaciones de este tipo de forma farmacéutica es similar al de otras formas sólidas orales. Las mayores diferencias incluyen las fases de encapsulado y secado, donde los sistemas de tratamiento de aire requieren una atención especial. La temperatura y humedad deben ser cuidadosamente controladas para la producción y facilitar un secado adecuado.

El propósito de la cualificación es demostrar documentalmente que la instalación / equipos son adecuados para su uso y que cumplen con:

- Los requerimientos del proceso
- Las especificaciones funcionales del proveedor
- Requerimientos normativos (NCF, Farmacopeas, FDA, ISPE, ...)

Los protocolos a desarrollar y ejecutar durante la cualificación de los equipos e instalaciones serán:

- Plan Maestro de Validación (VMP)
- Cualificación del Diseño (DQ)
- Cualificación de la Instalación (IQ) y
- Cualificación de la Operación (OQ)

Conclusiones
- Se han establecido las bases a considerar en el diseño y construcción de una planta de fabricación de cápsulas de gelatina blandas, de acuerdo a las nuevas tendencias seguidas actualmente en la industria farmacéutica.

- Se ha desarrollado un diseño conceptual en el que se han tenido en cuenta la normativa y recomendaciones europeas existentes sobre instalaciones y equipos de acuerdo a las normas de correcta fabricación .

- Se ha detallado el equipo necesario para la fabricación y el acondicionamiento de cápsulas de gelatina blandas y se han descrito los protocolos necesarios para la validación de equipos e instalaciones.

Bibliografía

(1) Swarbrick, J. : Boylan, J.C. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. 3ª ed. Taylor & Francis.(2006).

(2) Normas de Correcta Fabricación. Comisión Europea. Ed. 2002.

(3) AEFI. Requerimientos y normativas en el diseño de plantas farmacéuticas. Barcelona, 2002.

P-20 DISEÑO DE NANOCÁPSULAS DE POLI(BUTILCIANOACRILATO) COMO SISTEMAS TRANSPORTADORES DE FÁRMACOS

Martín-Paniza, M.C., Arias, J.L., Gallardo, V., Ruiz, M.A.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja, s/n. 18071 Granada
e-mail: adolfina@ugr.es

Introducción

La familia de los poli(alquilcianoacrilatos) (PACAs) comenzó a ser utilizada para aplicaciones biomédicas por sus propiedades como material embólico, pegamento quirúrgico y adhesivo de tejidos. Desde hace pocos años, se emplea también en el diseño de sistemas transportadores de fármacos de muy diversa naturaleza, permitiendo lograr una distribución selectiva del principio activo en el órgano o tejido diana, sin que se produzca una distribución sistémica que pueda inducir la aparición de efectos secundarios. Atendiendo a la vía de administración, destacamos las siguientes utilidades biosanitarias (1-4):

- Vía intravenosa: *i*) tratamiento de infecciones intracelulares, por ejemplo la leishmaniosis visceral, al ser fagocitados por los macrófagos; *ii*) terapia anticancerígena, al lograr una captación selectiva por la célula diana, potenciar la citotoxicidad del fármaco e inhibir los mecanismos de resistencia a éste (p. ej., glicoproteína P); *iii*) terapia génica, ya que permiten el transporte de oligonucleótidos a través de membranas biológicas; y *iv*) facilitan el paso de fármacos a través de la barrera hematoencefálica.
- Vía oral: sistema transportador de péptidos, proteínas, vacunas o antiproteasas, al incrementar su biodisponibilidad oral. En el diseño de vacunas, han permitido la reducción de la dosis de antígeno necesaria para lograr una inmunización apropiada de la mucosa.
- Otras vías: se estudia su utilización, vía subcutánea y oftálmica, en el diseño de formas de liberación sostenida que incrementen la biodisponibilidad del principio activo.

Con respecto a su toxicidad, si bien es baja (2), es significativa si la comparamos con la de otros polímeros como la polilactida (PLA) y su copolímero con el ácido glicólico (PLA/GA), los cuáles se degradan de forma relativamente lenta *in vivo*. Sin embargo, los resultados de ensayos clínicos en fase I y II (3, 5), indican una buena tolerancia ya que sólo se apreciaron los efectos tóxicos propios del principio activo. Además, los productos de degradación polimérica se eliminan fisiológicamente del lugar de degradación, reduciéndose el tiempo de contacto con las células y no saturándose los mecanismos de metabolización de éstas. En tratamientos crónicos, la degradación rápida de los PACAs parece más adecuada, al evitarse la sobrecarga celular con productos de degradación lenta de poli(ésteres) como el PLA y el PLA/GA.

Materiales y Métodos

Materiales

Los reactivos empleados son de calidad analítica (Panreac, España), excepto el monómero butilcianoacrilato (regalo de Henkel Loctite, Irlanda), el aceite de oliva (Fluka Chemika, Suiza) y el dextrano-70 (Sigma-Aldrich, Alemania). El agua es de calidad Milli-Q (Milli-Q Academic, Millipore, Francia).

Síntesis de las nanocápsulas poliméricas

Para la obtención de nanocápsulas de poli(butilcianoacrilato) (PBCA), utilizamos un proceso de síntesis mediante polimerización interfacial del monómero. La reacción se realiza en un sistema de microemulsión W/O, dando lugar a la formación de nanocápsulas que contienen una fase acuosa (2). En estos sistemas, las micelas acuosas de tensioactivo (A.T.A.), de tamaño pequeño y uniforme, se dispersan en una fase orgánica. El monómero se añade a la microemulsión y polimeriza en la superficie de las micelas. La cubierta polimérica se forman en la interfase W/O y precipita generando la cubierta de la nanocápsula.

Los factores analizados que conducen a la formación de suspensiones de nanocápsulas con características apropiadas para la administración parenteral son: *i*) la metodología de adición del monómero a la emulsión (solo o disuelto en acetona en proporción 1:6); *ii*) el tipo de A.T.A. utilizado (dextrano-70 o PEG 4000) y su concentración [0, 0.5 y 1 % (p/v)]; y *iii*) la velocidad de agitación empleada (1200 ó 10000 rpm).

Brevemente, la microemulsión se obtuvo interponiendo la fase acuosa (con el tensioactivo ya disuelto) sobre la fase oleosa (aceite de oliva), bajo agitación mecánica (10000 rpm, 10 min.). La proporción fase oleosa:fase acuosa utilizada fue 2:1. Una vez formada la emulsión, se añadió 1 mL de

monómero, de forma lenta y continua, bajo agitación mecánica; la cuál se prolongó durante 2 horas.

La limpieza de la suspensión obtenida se realizó mediante sucesivos ciclos de centrifugación (20000 rpm, 20 min.) y redispersión en agua Milli-Q. Para asegurarnos de que la suspensión estaba lo suficientemente limpia, se comprobó la conductividad tras cada ciclo de limpieza.

Estudio de la morfología y tamaño

La determinación de la forma y el tamaño de las nanocápsulas se realizó mediante el análisis de las fotografías de Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) obtenidas. Antes de la observación, una suspensión diluida de nanocápsulas [~0.1 % (p/v)] fue sonicada durante 5 min. y gotas de ésta se añadieron a celdillas de cobre con cubierta de formvar. La celdilla se secó a 35 ºC en un horno de convección.

Resultados y Discusión

Efecto de la metodología de adición del monómero

Sólo las suspensiones poliméricas obtenidas mediante la adición del monómero disuelto en acetona (1:6) presentaron adecuadas propiedades para su administración parenteral y la polidispersión de tamaños de las nanocápsulas obtenidas es menor que si se realizaba la adición del monómero sin disolver. Además, la adición directa de éste genera precipitados sólidos y macroagregados poliméricos, siendo el rendimiento de la reacción bajo.

Efecto del tipo de tensioactivo y su concentración

La utilización de cualquiera de los A.T.A. evita la formación de precipitados sólidos y macroagregados poliméricos, incluso a la concentración más baja ensayada. En cualquier caso, las nanocápsulas de PBCA presentan una morfología esférica.

El dextrano-70 conduce a la formación de suspensiones poliméricas mucho más estables en el tiempo y fácilmente redispersables, para cualquiera de las concentraciones ensayadas. Si bien, de forma general, cuanto mayor es la concentración, mayor es la estabilidad. Además, permite obtener un tamaño de partícula mucho menor que el logrado con el PEG 4000 (230 ± 75 nm frente a 500 ± 150 nm, respectivamente).

Efecto de la velocidad de agitación

El único efecto significativo es sobre el tamaño. Cuanto mayor es la velocidad de agitación, menor es el tamaño de partícula, ya que el tamaño de gotícula de la emulsión W/O es mucho más pequeño.

Condiciones óptimas de síntesis

De forma resumida, recogemos las condiciones de síntesis de nanocápsulas poliméricas de tamaño pequeño (230 ± 75 nm, ver Fig. 1) y adecuadas propiedades para su uso vía parenteral: la microemulsión se obtiene interponiendo una fase acuosa [dextrano-70: 1 % (p/v)], sobre una fase oleosa de aceite de oliva, bajo agitación mecánica (10000 rpm, 10 min.). Una vez formada la emulsión, se añade 1 mL de monómero disuelto en acetona (1:6), de forma lenta y continua, bajo agitación mecánica (10000 rpm, 10 min.); la cuál se prolongó durante 2 horas a esa misma velocidad.

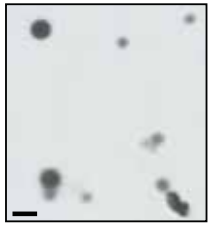


Fig. 1. *Fotografía T.E.M. de nanocápsulas de PBCA. Longitud de barra: 200 nm.*

Conclusiones

Se ha realizado un estudio preliminar de las condiciones óptimas que permiten la obtención de una suspensión de nanocápsulas poliméricas con propiedades adecuadas para su uso como transportador de fármacos vía parenteral: elevado rendimiento del proceso de síntesis, elevada estabilidad y fácil redispersión de las suspensiones y pequeño tamaño de partículas.

Bibliografía

(1) Fattal, E., et al. *Poly(alkylcyanoacrylates)*, en: Domb, A.J., Kost, J., Wiseman, D.M. (Eds.), *Handbook of Biodegradable Polymers*. Harwood Academic Publishers, Amsterdam. pp. 183-202. 1997.

(2) Vauthier, C., et al. Adv. Drug Deliv. Rev. 55, 519-548. 2003.

(3) Vauthier, C., et al. J. Control. Rel. 93, 151-160. 2003.

(4) Arias, J.L., et al. J. Colloid Interface Sci. 299, 599-607. 2006.

(5) Kattan, J., et al. Invest. New Drugs 10, 191-199. 1992.

P-21 DISEÑO Y ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE UNA SOLUCION ORAL DE IBUPROFENO DE USO EN PEDIATRÍA.

Tortajada Sañudo, M.; Camacho Sánchez, M.A.; Gil Alegre, M.E.; Torres Suárez, A.I.

Depto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza de Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid.
e-mail: galaaaa@farm.ucm.es

Introducción

Ibuprofeno es un fármaco ampliamente utilizado en terapéutica por sus propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. Se utilizan, fundamentalmente, formas farmacéuticas de administración por vía oral, mucho más fáciles de administrar.

Buscando principalmente sus propiedades antipiréticas y también antiinflamatorias, Ibuprofeno es un fármaco de gran valor en pediatría. Sin embargo, para su administración a niños, sobre todo menores de dos años, resulta fundamental el disponer de un preparado oral en forma líquida. La baja solubilidad de Ibuprofeno, junto con su intenso sabor amargo, ha provocado que, hasta la fecha, sólo existan suspensiones en el mercado. Este tipo de formulaciones presenta dos importantes inconvenientes: la dificultad de una dosificación correcta y la desagradable palatabilidad, al detectarse las partículas sólidas dispersas en un líquido. Ambos factores son especialmente importantes en el caso de niños.

Los objetivos del presente trabajo son la optimización de una formulación oral de Ibuprofeno en solución, de administración a niños menores de 2 años, y su estudio de estabilidad.

Materiales y Métodos

Materiales

Ibuprofeno (Guinama), Polietilenglicol 400 (Panreac), Propilenglicol (Panreac), D-Sorbita (Panreac) para la elaboración de la solución de Sorbitol 70%, Metil-p-hidroxibenzoato (Panreac), Propil-p-hidroxibenzoato (Guinama), Agua destilada, Edulcorantes (Panreac), Correctores del sabor (Flachsman y Firmenich), Ácido Ortofosfórico (Merck), Acetonitrilo (Panreac).

Elaboración de la Solución

Para el desarrollo de la formulación se tuvo en cuenta el volumen a administrar (volumen diario total = 2 mL, considerando que se administran 10 gotas ≈ 0,5 mL en cada toma) y la dosis máxima diaria del fármaco (dosis máxima diaria = 200 mg, considerando una dosis de 20 mg/kg de peso) (1).

En un estudio previo de solubilidad de ibuprofeno en medio acuoso se formuló la Solución "A" (Figura 1) en la que se emplean distintos cosolventes y en la que se fija un valor de pH de 7 para conseguir una concentración de ibuprofeno de 100mg/mL (2,3). A esta formulación se le adicionaron sustancias para mejorar el sabor, solución "B", y, por último, conservantes, solución "C" (Figura 1).

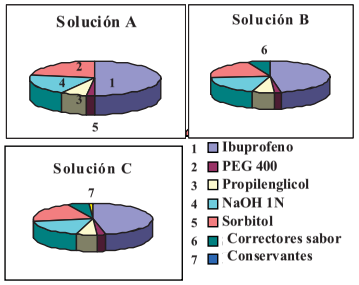


Figura 1*: Soluciones de Ibuprofeno.*

Estudio de Estabilidad

Se estudió la estabilidad de las tres soluciones de Ibuprofeno (A, B y C) envasadas en ampollas de vidrio. Las condiciones de almacenamiento y la duración del estudio de estabilidad corresponden con las recogidas en la normativa ICH Q1A R2 (4). Como no se conoce la estabilidad de Ibuprofeno en la solución, también se realiza el estudio a 5ºC. La frecuencia de muestreo fue mayor que la estipulada por la normativa ICH. Las propiedades evaluadas a cada tiempo de muestreo fueron aspecto, valor de pH, y contenido en Ibuprofeno. Para determinar el contenido en principio activo se empleó un método de HPLC que fue puesto a punto y validado para que fuese útil en el estudio de estabilidad. Así la especificidad del método se evaluó no sólo frente a los componentes de la formulación, sino también frente a los productos de degradación.

Resultados y Discusión

Elaboración de la Solución

Después de probar con distintos edulcorantes y correctores del sabor y con distintos conservantes,

la composición de las soluciones A, B y C queda como se muestra a continuación:

Ibuprofeno……..200 mg
Propilenglicol……..0,25 mL
Polietilenglicol 400……0,08 mL
NaOH 1N……..0,80 mL
Sorbitol 70%.....c.s.p 2,00mL
Sacarina Sódica……..125 mg
Anís……..40 mg
Parabenes……..0,1%

A B C

En todas ellas, Ibuprofeno está disuelto a una concentración de 100 mg/mL y se respeta las cantidades máximas diarias de excipientes establecidas por la OMS para pediatría.

Con estas soluciones se realiza el estudio de estabilidad.

Estudio de Estabilidad

La Figura 2 muestra una foto de la solución C tras 6 meses de almacenamiento a las distintas temperaturas. Cabe destacar que a 5ºC, las tres soluciones estudiadas presentaron un precipitado blanco.

Figura 2. *Aspecto de las solución C a las temperaturas de 25, 30, 40 y 5ºC (de izquierda a derecha).*

El valor de pH se mantuvo constante a lo largo de todo el estudio en todas las formulaciones.

En todas las soluciones estudiadas se apreció degradación significativa de Ibuprofeno en todas las condiciones de almacenamiento, excepto en la Solución C a 25ºC (6 meses), como se puede observar en la Figura 3. Además, en todos los casos, la degradación se ajustó a un modelo cinético de orden 0.

Esta mayor estabilidad de la solución C puede ser debida a que los aditivos incorporados a la solución de Ibuprofeno (solución A) ejercen un efecto estabilizador, probablemente al disminuir la presencia de agua libre en la formulación.

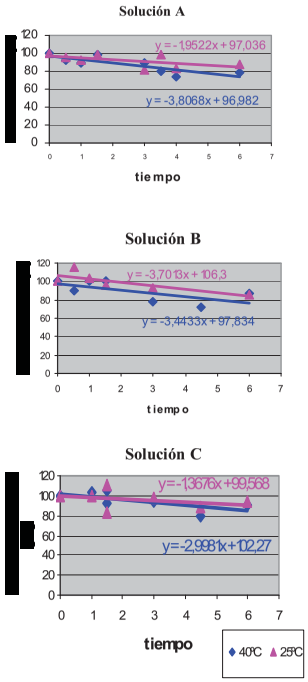


Figura 3. *Evolución del contenido en Ibuprofeno de las Soluciones A, B y C con el almacenamiento a 25 y 40ºC durante 6 meses.*

Conclusiones

Se ha conseguido elaborar una solución oral de Ibuprofeno que contiene correctores de sabor y conservantes y que permite una dosificación adecuada para niños menores de 2 años. Esta solución envasada, utilizando vidrio como material de acondicionamiento, no presenta degradación significativa de Ibuprofeno durante 6 meses a 25ºC.

Bibliografía

(1) Sean, C.S. Martindale, Guía Completa de Consulta Farmacoterapéutica. 57-59, 2003.

(2) Tortajada M. et al. Industria Farmacéutica 119, 70-78, 2005.

(3) Guisado E.I. et al. Libro del VI Congreso SEFIG, 161-164, 2003.

(4) International Conference of Harmonization, ICH Harmonised Tripartite Guideline, ICH Q1A (R2), February 2003.

P-22 EFECTO DE DISTINTOS TIPOS DE β-CICLODEXTRINAS EN LA SOLUBILIZACIÓN DE IBUPROFENO Y DEXIBUPROFENO.

Cuéllar, C., Ballesteros, M. P., Torrado, J. J.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.

Introducción

El ibuprofeno es un derivado propiónico en forma racémica, pero sólo el dexibuprofeno es el enantiómero con actividad farmacológica. Existen varias ventajas en el uso del enantiómero activo, tales como la administración de dosis menores, y por lo tanto menos efectos secundarios a nivel gástrico, y unas características farmacocinéticas más sencillas ya que se disminuye el efecto de bioinversión (1). La solubilidad acuosa del fármaco es un parámetro muy importante para el desarrollo de formulaciones líquidas, que son las más adecuadas para pediatría, por lo que es muy importante hacer previamente estudios de solubilidad (2).

Debido a que el ibuprofeno y el dexibuprofeno son prácticamente insolubles en agua, en este estudio de solubilidad se han empleado tres tipos de β-ciclodextrinas como agentes solubilizantes, en medios de distinto pH (5,5; 6,8 y 7,2), a 37ºC, con el fin de encontrar las condiciones más favorables para la solubilización del ibuprofeno racémico (rac-ibuprofeno) y su enantiómero activo (dexibuprofeno).

Materiales y Métodos

Materiales

Ibuprofeno (Roig Farma S.A.), dexibuprofeno (Shasun chemicals δ drugs Ltd.), β-ciclodextrina (CAVITRON, Cerestar iberica S.A.), dimetil-β-ciclodextrina (RINGEX, RAMEB), hidroxipropil-β-ciclodextrina, (KLEPTOSE HPB, Roquete).

Caracterización de los principios activos

Se evaluó el aspecto externo del ibuprofeno y del dexibuprofeno, en cuanto a color, textura, olor y sabor.

Se determinó experimentalmente el punto de fusión (BUCHI Melting Point).

Se analizaron los dos fármacos por difractometría de rayos X (Philips X Pert), mediante el método de polvo, lo cual permitió conocer la naturaleza de los sólidos.

Valoración espectrofotométrica UV a 221 nm del ibuprofeno. Validación analítica.

Se utilizó el método de espectrofotometría de absorción ultravioleta-visible (Beckman DU7), siguiendo las directrices de la ICH Q2A, 1994 y Q2B, 1996 (3). Para la validación del método analítico, acorde a dichas directrices, se determinaron los parámetros de linealidad, sensibilidad (límites de detección y cuantificación), y precisión (repetibilidad y precisión intermedia).
La valoración se realizó en una disolución acuosa constituida por metanol:agua (20:80).

Estudios de solubilidad

Los ensayos de solubilidad se realizaron utilizando un baño termostatizado Memmert, siguiendo el procedimiento descrito por Higuchi y Connors 1965 (4), y la valoración de las muestras se realizó en un espectrofotómetro Beckman DU7.

Se prepararon varias disoluciones que contenían cantidades crecientes de cada ciclodextrina en distintos medios (tampón acetato pH 5,5; 6,8 y 7,2), según la USP 29, 2006 (5), y en cada una se añadió el principio activo en exceso. Estas muestras se sometieron a agitación durante un tiempo aproximado de 15 minutos. Después se introdujeron en el baño de agua a 37+/-0,1ºC durante una semana en agitación constante a 15 rpm. Este ensayo se realizó por triplicado.
Tras una semana de agitación en el baño de agua, se filtraron las muestras con filtros de tamaño de poro de 0,45 µm, se realizaron las diluciones pertinentes y se analizaron en el espectrofotómetro de absorción UV a 221nm.

Resultados y discusión

En cuanto a la evaluación del aspecto externo de los principios activos, se determinó que son sólidos pulverulentos de color blanco, siendo el dexibuprofeno ligeramente más translúcido que el ibuprofeno.

Se apreció cierto olor característico en ambos fármacos, siendo más intenso en el caso del dexibuprofeno, y se comprobó que ambos fármacos tienen sabor ácido.

En cuanto a la determinación del punto de fusión, resultó ser de 75,5ºC para el rac-ibuprofeno y de 50,5ºC para el dexibuprofeno. Las figuras 1 y 2 muestran los difractogramas resultantes del análisis por rayos X, que indican la diferente naturaleza de cristal de los sólidos, puesto que no coinciden ninguno de los picos de las gráficas.

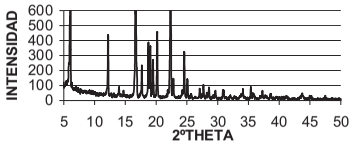


Figura 1. *Difractograma de rac-ibuprofeno.*

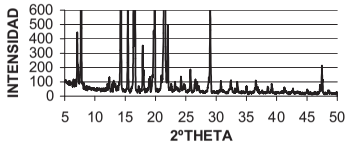


Figura 2. *Difractograma de dexibuprofeno.*

Estos datos podrían explicar las diferentes solubilidades intrínsecas de los dos fármacos, como más adelante se muestra, puesto que ambos poseen distintas propiedades fisicoquímicas, tales como el punto de fusión y el sistema de cristalinización de los sólidos.

En cuanto a la validación analítica de la valoración por espectrofotometría UV, en primer lugar, se comprobó experimentalmente que el ibuprofeno en una solución de metanol: agua, muestra una máxima absorbancia a 221nm, coincidiendo con las especificaciones de la USP 29, 2006.

Los parámetros de linealidad ofrecieron una recta de calibrado con un coeficiente de determinación del 99%, al enfrentar gráficamente absorbancia frente a concentración de ibuprofeno solubilizado.

Los resultados de los límites de confianza, de detección, cuantificación, precisión y repetibilidad, fueron adecuados y estaban dentro de los límites requeridos según las especificaciones de las normas Q2A y Q2B.

Los estudios de solubilidad de cada uno de los principios activos por separado, con las distintas β-ciclodextrinas, realizados a 37ºC, ofrecieron unos resultados más favorables en el caso del dexibuprofeno, en medios con un pH de 7,2, y con el empleo de la hidroxipropil-β-ciclodextrina, como se aprecia en la figura 3.

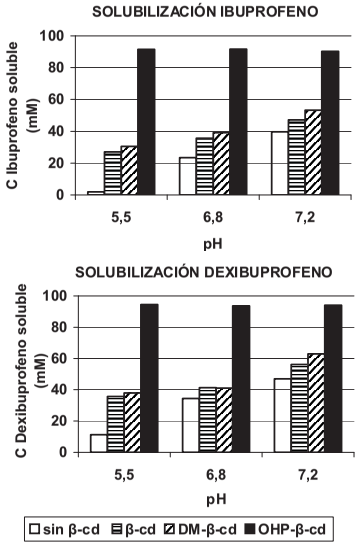


Figura 3. *Máximas concentraciones de los principios activos disueltos en distintas condiciones.*

Conclusiones

Con unos valores de probabilidad inferiores al 1%, respecto a la estimación del parámetro estadístico T-Student (Statgraphics®Plus V. 5.0), se confirma que las diferentes solubilidades alcanzadas no son debidas al azar, sino a las condiciones propuestas en cada caso ensayado.

Así pues, a la vista de los resultados obtenidos, se obtiene una mayor solubilidad con el empleo del dexibuprofeno, a pH 7,2, y con la hidroxipropil-β-ciclodextrina como agente solubilizante.

Bibliografía

1. B. Bole-Vunduk, K. Verhnjak, and J. Zmitek, J. Pharm. Pharmacol., 48:1153-1157, 1996.

2. J. Nerurkar, J. W. Beach, M. O. Park, and H. W. Jun., Pharmaceutical Development and Technology, 10:413-421, 2005.

3. International Conference on Harmonisation, ICH (Q2A) 1994, (Q2B) 1996.

4. J. A. Castillo, J. Palomo-Canales, J. J. García, J. L. Lastres, F. Bolas, and J. J. Torrado, Drug Development and Industrial Pharmacy, 25 (12), 1241-1248, 1999.

5. U.S.P. 29, 1254-1257, 2006.

P-23 EFECTO DE LA RADIACIÓN γ SOBRE EL ANTÍGENO DE LA MALARIA SPf66 ENCAPSULADO EN MICROESFERAS DE PLGA

Igartua M., Hernández R.M., Mata E., Rosas J. E., Patarroyo M.E., Pedraz J.L.

Laboratorio de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco (UPV/EHU). Paseo de la Universidad 7. 01006 Vitoria-Gasteiz
e-mail: manoli.igartua@ehu.es

Introducción

La radiación-γ es un método adecuado para la esterilización de microesferas elaboradas con polímeros biodegradables debido a su alta capacidad de penetración, baja reactividad química y a que el incremento de temperatura que produce es mínimo (1). A pesar de estas ventajas, diversos autores han puesto de manifiesto que la radiación-γ puede provocar cambios en las características físico-químicas de micropartículas de PLGA (2). Sin embargo, son pocos los estudios que han evaluado el efecto de la radiación-γ en la respuesta inmune inducida por los antígenos microencapsulados.

En este trabajo se ha estudiado la influencia de la esterilización mediante radiación-γ en las características físico-químicas y la respuesta inmune inducida por microesferas de PLGA que contienen el antígeno de la malaria SPf66.

Materiales y Métodos

Elaboración de las microesferas

Las microesferas de PLGA 50:50 (Resomer® RG 506) y 75:25 (Resomer® RG 756) (Boehringer Ingelheim, Alemania) se elaboraron en condiciones asépticas mediante el método de evaporación-extracción del solvente previamente descrito (3). Posteriormente, se procedió a su caracterización mediante la determinación de su tamaño, morfología, eficiencia de encapsulación, porcentaje de péptido adsorbido a la superficie, perfil de liberación *in vitro* e integridad del antígeno microencapsulado. Esta caracterización se realizó antes y después de la esterilización.

Esterilización de las microesferas

Las formulaciones se acondicionaron en viales topacio herméticamente cerrados y se esterilizaron mediante radiación-γ de 25 kGy con una fuente de ^{60}Co, dosis recomendada por la Farmacopea Europea para realizar un proceso de esterilización.

Estudios de liberación *in vitro*

Los ensayos de liberación se realizaron suspendiendo una muestra de 20 mg de microesferas en 2 mL de tampón fosfato 20mM, pH 7,4 y manteniéndolas en un agitador orbital. A los tiempos de muestreo establecidos se centrifugaron las muestras y se extrajo el sobrenadante para determinar la cantidad de péptido liberado mediante el método micro-BCA

Integridad del antígeno microencapsulado

El análisis de la integridad del antígeno microencapsulado se realizó mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC-HPLC) y espectrometría de masas (MALDI-TOF).

Protocolo de inmunización

La respuesta inmune inducida por las microesferas se evaluó en ratones Balb/c de 25 g de peso y 6-8 semanas divididos en 3 grupos de 10 ratones. El grupo 1 recibió una dosis subcutánea de 100 µg del antígeno microencapsulado en microesferas de PLGA 50:50 y PLGA 75:25 mezcladas en proporción 1:2, sometidas al proceso de esterilización. El grupo 2 recibió la misma dosis del antígeno microencapsulado en microesferas no esterilizadas. El grupo 3 recibió 100 µg del antígeno emulsificado con el adyuvante de Freund (AF) como control positivo. Los niveles de anticuerpo (IgG) anti-péptido fueron determinados mediante una técnica de ELISA:

Resultados y Discusión

Caracterización de las microesferas

El análisis de las microesferas mediante microscopía electrónica de barrido puso de manifiesto que la forma e integridad superficial de las mismas no se vieron alteradas por el proceso de radiación. De forma similar, tal y como puede observarse en la tabla 1, la radiación-γ tampoco afectó de forma significativa al tamaño de partícula, eficiencia de encapsulación, ni al porcentaje de péptido adsorbido a la superficie de las microesferas.

Tabla 1. Caracterización de las microesferas de PLGA 50:50 o PLGA 75:25 con el antígeno SPf66 esterilizadas mediante radiación-γ. NI: No irradiadas. I: Irradiadas.

FORMULACIÓN	TAMAÑO (µm)	EFICIENCIA ENCAPSULACIÓN (%)	PÉPTIDO ADSORBIDO (%)
PLGA 50:50 NI	1,63	83,07	23,57
PLGA 50:50 I	1,63	83,65	24,31
PLGA 75:25 NI	2,06	69,11	41,97
PLGA 75:25 I	2,02	68,90	42,57

Como puede observarse en la figura 1, las microesferas de PLGA 50:50 mostraron un perfil de liberación trifásico característico, tanto en el caso de las muestras irradiadas como las no sometidas a dicho proceso. En el caso de las microesferas de PLGA 75:25, irradiadas y no irradiadas, el perfil obtenido es bifásico. Por otro lado, se observa que la irradiación de las microesferas provoca una liberación más rápida del péptido microencapsulado, debido probablemente a una disminución del peso molecular del copolímero causada por la radiación, lo cual provoca una degradación más rápida y por consiguiente una liberación más rápida del antígeno a partir de la formulación de microesferas irradiadas. Estos resultados son similares a los descritos por Lee et al. (4).

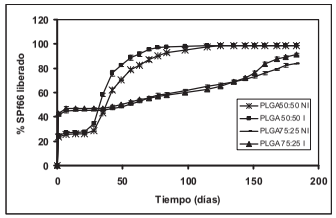


Figura 1. Perfil de liberación del péptido SPf66 a partir de microesferas de PLGA 50:50 o PLGA 75:25, antes y después de ser sometidas a un proceso de radiación-γ de 25 kGy.

Los resultados obtenidos tras el análisis del péptido SPf66 nativo, extraído de microesferas irradiadas y no irradiadas, mediante HPLC-SEC y MALDI-TOF pusieron de manifiesto que la irradiación de las microesferas de PLGA, no afecta a la integridad del antígeno microencapsulado.

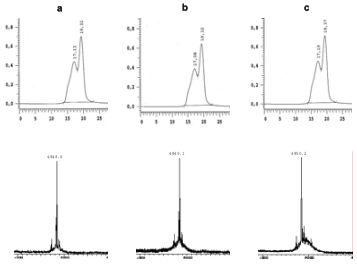


Figura 2. Cromatografía de exclusión por tamaño (HPLC-SEC) y espectrometría de masas (MALDI-TOF) de diferentes muestras del antígeno SPf66. **a.** Péptido nativo. **b.** Péptido extraído de microesferas de PLGA 50:50 no irradiadas y **c.** Péptido extraído de las microesferas esterilizadas.

Como puede observarse en la figura 2, el análisis del perfil cromatográfico del péptido extraído de las microesferas irradiadas, no muestra la presencia de señales adicionales, que pudieran deberse a la degradación o formación de agregados por efecto de la radiación-γ; siendo similar a los perfiles cromatográficos del péptido extraído de las microesferas no irradiadas y al del péptido nativo. De forma similar, el análisis por espectrometría de masas demostró que no se producían cambios en el peso molecular de la unidad monomérica del antígeno SPf66 en ninguna de las muestras analizadas.

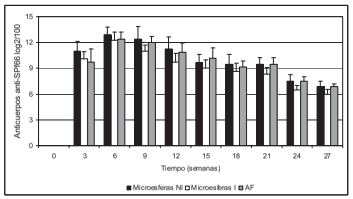


Figura 3. Respuesta de anticuerpos IgG obtenida en ratones BALB/c después de su inmunización con diferentes formulaciones: **NI**: microesferas no esterilizadas. **I**: microesferas esterilizadas por radiación-γ. **AF**: SPf66 emulsificado con adyuvante de Freund.

Por ultimo, como se muestra en la figura 3, los niveles de anticuerpos anti-SPf66 obtenidos en los diferentes grupos de animales no presentaron diferencias estadísticamente significativas en ningún momento del estudio (P>0,05). Esto sugiere que no hay efecto aparente de la radiación-γ sobre la actividad biológica del antígeno microencapsulado en el modelo animal empleado.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren la posibilidad de utilizar la radiación-γ como método de esterilización final de para las micropartículas del antígeno sintético de la malaria SPf66.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto SAF2004-02742, del Ministerio de Educación y Ciencia y fondos FEDER.

Bibliografía

(1) Martínez-Sancho, C. et al. J. Control. Rel., 99, 41-52. 2004.
(2) Fernández-Carballido, A. et al. Int. J. Pharm., 313, 129-135. 2006.
(3) Rosas, J.E. et al. Vaccine 19, 4445-4451. 2001.
(4) Lee. T.H. et al. J. Control. Rel. 83, 437-452. 2002

P-24 EFECTOS DE LA TEMPERATURA Y DE LA EXPOSICION A VAPORES ORGANICOS SOBRE LA DISOLUCION DE PARACETAMOL A PARTIR DE PELETS MATRICIALES A BASE DE CELULOSA MICROCRISTALINA-EUDRAGIT RSPO

Sá Barreto, L.C.L., Martínez-Pacheco, R., Gómez-Amoza, J.L.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. Campus Universitario Sur s/n. 15782 Santiago de Compostela
e-mail: ffjoluga@usc.es

Introducción

Entre los sistemas multiparticulares de liberación controlada, los pelets obtenidos por extrusión-esferonización sometidos a un proceso de recubrimiento son los que han recibido una mayor atención (1). Por el contrario, la información disponible acerca de los pelets de estructura matricial es escasa debido a que, por su pequeño tamaño, resulta difícil controlar el proceso de liberación de principio activo (2).

El objetivo de este trabajo es evaluar las posibilidades que ofrece el Eudragit RSPO para modular el proceso de cesión de paracetamol a partir de pelets de estructura matricial elaborados por extrusión-esferonización. En concreto, se analiza el efecto de un factor asociado a la elaboración de los pelets (su tamaño) y de dos factores post-elaboración: exposición a vapores de acetona o tratamiento térmico, respectivamente.

Materiales y Métodos

Materiales

Celulosa microcristalina (Avicel PH 101, lote 9120500001) y paracetamol (Acetaminofeno pulverizado, lote 93742000028) fueron suministrados por Guinama. Eudragit RSPO (lote G031038154) fue cedido por Degussa.

Elaboración de los pelets

Los pelets, de composición Avicel PH 101, 50% p/p; Eudragit RSPO, 40% p/p y paracetamol, 10% p/p, se elaboraron de acuerdo con la siguiente metodología:
Mezclado de los componentes secos (Turbula T2C, 30 rpm, 10 min), humectación de las mezclas con agua (Mezcladora planetaria Kenwood, 10 min), extrusión de las masas humectadas (Caleva 35, 60 rpm, malla de 1 o de 2 mm de luz), esferonización (Caleva 120, plato de fricción circular de 12 cm de diámetro, hendiduras de 1 mm, 1200 rpm, 10 min), desecación de los pelets (estufa con circulación forzada de aire, 40ºC, 24 h).

Tratamientos post-elaboración

Muestras de pelets, obtenidos por extrusión a través de malla de 1 o de 2 mm de luz, se sometieron, en un desecador, a la acción de vapores de acetona durante 5 h o a un tratamiento térmico a 105ºC durante 30 min (Termobalanza Shimadzu EB-280 MOC).

Caracterización de los pelets

Tamaño y forma: Se determinó el diámetro de Feret y la circularidad de, al menos, 625 pelets por microscopía óptica (Estereomicroscopio Olympus SZ-CTV, software PC Imagen VGA 24 v. 2.1)
Microestructura: La distribución de tamaños de poro y el volumen poroso de los pelets se determinaron por porosimetría de intrusión de mercurio en el intervalo de presiones comprendido entre 0.8 y 25000 psi (Micromeritics Pore Sizer 9305).
Velocidad de disolución de paracetamol: Se utilizaron muestras de 500 mg de pellets (contenido teórico en paracetamol = 50 mg). Los ensayos se llevaron a cabo en 900 mL de agua a 37ºC y una velocidad de rotación de las paletas de 50 rpm (Turu Grau, aparato II USP). La concentración de paracetamol en las muestras se determinó espectrofotométricamente a 243 nm (Agilent 8453). Las curvas de disolución se ajustaron, por regresión no lineal (GraphPad Prism v. 3.02, GraphPad Software Inc., San Diego, USA) a la ecuación de Weibull modificada (3):

$$M = \frac{1}{q}(1 - e^{-a t^{b}})$$

en la que M representa la fracción de dosis de paracetamol disuelto, q la relación dosis/solubilidad del fármaco, expresada como fracción y a y b los factores de escala y de forma, respectivamente. A partir de estos valores, se estimaron los tiempos medios de disolución (TMD) (3).

Tratamiento estadístico

El estudio se ha planificado de acuerdo con la estrategia impuesta por un diseño factorial para dos factores, ambos de tipo cualitativo: la abertura de malla del tamiz utilizado durante la extrusión (tamiz de 1 mm; código -1 y tamiz de 2 mm; código 1) y el tratamiento al que se sometieron los pelets tras su elaboración (sin tratar; código [1 0]; exposición a vapores de acetona durante 5 h, código [0 1] y tratamiento térmico a 105ºC durante 30 min código [-1 -1])

Luz Malla (mm)	Tratamiento Post-elaboración	Diámetro Feret, µm	Circular.	q	a	b	R^2	TMD,h
1	--	787.9(116.8)	0.92(0.06)	1.074(0.004)	4.11(0.18)	0.832(0.022)	0.996	0.202(0.003)
	Acetona	--	--	1.049(0.029)	1.56(0.17)	0.890(0.074)	0.999	0.626(0.023)
	105ºC	--	--	0.958(0.023)	2.62(0.23)	0.753(0.032)	0.997	0.278(0.006)
2	--	1548.4(161.9)	0.94(0.05)	0.904(0.023)	1.65(0.11)	0.725(0.022)	0.998	0.277(0.024)
	Acetona	--	--	0.986(0.014)	1.29(0.05)	0.662(0.022)	0.993	0.668(0.023)
	105ºC	--	--	0.983(0.010)	1.16(0.03)	0.623(0.012)	0.998	0.925(0.040)

***Tabla 1**. Características granulométricas de los pelets y resultados del ajuste de los perfiles de disolución de paracetamol a la ecuación de Weibull modificada.*

Resultados y discusión

En la tabla 1 se presentan los valores obtenidos en la caracterización granulométrica y de cesión de paracetamol a partir de los pelets. De su observación se deduce que no se detectaron fenómenos de aglomeración o de erosión de importancia en la etapa de esferonización, a pesar del elevado contenido en polímero acrílico (40%).

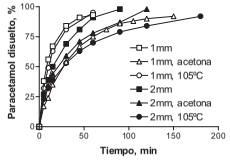


***Figura 1**. Curvas medias de disolución de paracetamol a partir de los pelets elaborados en las condiciones indicadas.*

En la figura 1 se presentan las curvas medias de disolución de paracetamol. De los resultados obtenidos cabe destacar que los valores del parámetro *b* de la ecuación de Weibull (tabla 1) se sitúan entre 0.5 y 1. Este hecho es indicativo de que el proceso de cesión es heterogéneo (4). Además, los pelets de tamaño reducido presentan valores de *b* claramente mayores, y más próximos a la unidad (tendencia a ceder el paracetamol de acuerdo con la clásica cinética de orden uno), que los elaborados por extrusión en malla de 2 mm de luz (tienden a ceder el principio activo de acuerdo con un mecanismo de difusión fickiana, en particular los sometidos a tratamientos post-elaboración). Estas diferencias se reflejan en los valores estimados para los tiempos medios de disolución (tabla 1). El TMD obtenido a partir de los pelets de tamaño elevado sometidos a tratamiento térmico es unas cuatro veces mayor que el correspondiente a los pelets de tamaño reducido sin tratar. El análisis estadístico de los valores de los TMD ratifica los comentarios anteriores al atribuir una contribución del 45% al efecto de los tratamientos post-elaboración ($F_{2,12\ g.l.}$=39.67; α<0.01) frente a contribuciones del 22 y del 26% para el tamaño de los pelets y la interacción, respectivamente ($F_{1,12\ g.l.}$=38.72; α<0.01 y $F_{2,12\ g.l.}$=22.97; α<0.01).

Los efectos generados por los tratamientos post-elaboración de los pelets pueden tener su origen en a) modificaciones en la cristalinidad del polímero y/o b) modificaciones en la microestructura de los pelets. Los difractogramas de rayos x obtenidos para el Eudragit tras ser sometido a estos tratamientos no detectaron modificaciones en el carácter amorfo del polímero. Por el contrario, la correlación observada entre el parámetro *b* y el volumen poroso de los pelets (figura 2) apunta a que el origen de las modificaciones detectadas en los perfiles de disolución de paracetamol es la oclusión de un importante número de poros de diámetro superior a 1 µm, como consecuencia de una disolución superficial o de un ablandamiento del eudragit al ser expuesto a vapores orgánicos o a la acción de temperaturas claramente superiores a su Tg, respectivamente.

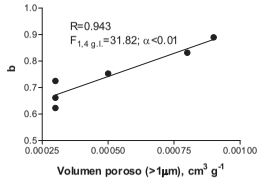


***Figura 2**. Relación entre el volumen poroso (poros de diámetro > 1 µm) y el factor de forma (b) de la ecuación de Weibull.*

Agradecimientos

Trabajo financiado por la Xunta de Galicia (Proyecto PGIDIT05BTF20301PR)

Bibliografía

(1) J. Swarbrick y J.C. Boylan (Eds), Enciclopedia of pharmaceutical technology vol 3, M. Dekker, New York 1997, pp 281-314

(2) R.U. Nesbitt, Drug Dev. Ind. Pharm., 1994, 20, 3207-3236

(3) A. Dokoumetzidis y col., Pharm. Res., 2006, 23, 256-261

(4) P. Macheras y col., Pharm. Res., 2000, 17, 108-112

P-25 EFFECT OF LYOPHILIZATION ON THE TRANSFECTION CAPACITY OF SLN-DNA COMPLEXES

del Pozo, A., Delgado, D., Solinís, M.A., Gascón, A.R., Pedraz, J.L.

Pharmacy and Pharmaceutical Technology Laboratory. Pharmacy Faculty. University of the Basque Country (UPV-EHU). Paseo de la Universidad 7, 01006 Vitoria-Gasteiz, Spain.
e-mail: knbporoa@vc.ehu.es

Introduction

Cationic solid lipid nanoparticles (SLNs) are one of the non-viral systems employed on cell transfection (1). In general the stability of these systems is limited and in a short period of time an increase in particle size is observed. Lyophilization has proven to be an effective method for the large-scale production of dried pharmaceuticals. This technique is a promising way to increase the chemical and physical SLN stability among long periods of time (2), and it has been extensively used to improve non-viral vectors stability (3, 4) .

However, the lyophilization process can damage biomolecules unless appropriate stabilizers are used. It has been previously reported that sugars can stabilize non-viral vectors composed by cationic lipids and DNA (5).

The aim of this work was to evaluate the effect of the lyophilization of SLNs and SLN-DNA complexes on their size, zeta potential, DNA protection capacity and transfection activity. Trehalose and glucose were employed as stabilizers of the systems during the lyophilization process.

Materials and Methods

SLN and SLN-DNA complexes elaboration

SLNs composed by Precirol ATO 5, DOTAP and Tween 80 were elaborated by a solvent emulsification/evaporation technique. SLN-DNA complexes were elaborated at DOTAP/DNA ratio 5/1.

Lyophilization

Suspensions of SLN or SLN-DNA complexes were mixed with the same volume of trehalose or glucose solutions at different concentrations: 40%, 30%, 20%, 10%, 5% and 2%. The resulting dispersions were frozen by placing the samples in a refrigerator at -80ºC. After 24h, the frozen samples were lyophilized at -55ºC and 0,2 mBar for 48h using a Telstar Cryodos freeze-dryer.

The lyophilized samples were characterized by their aspect, dispersion capacity, size and zeta potential. Malvern Zetasizer 3000 was used to measure size and zeta potential.

Agarose gel electrophoresis and DNAse assay

After lyophilization of SLNs, SLN-DNA complexes were prepared. In order to analyze the DNA binding capacity of the lyophilized SLNs, the complexes were subjected to electrophoresis on an agarose gel (1% ethidium bromide included for visualisation) for 30 minutes at 120 V.

The capacity of the complexes to protect the DNA from DNase activity and changes on DNA conformation were also studied. DNase I was added to lyophilized SLN-DNA complexes and to the complexes elaborated with lyophilized SLNs to a final concentration of 1 U DNase I/2.5 µg DNA, and the mixtures were incubated at 37ºC for 30 min. SDS was added to the samples treated with DNase or non-treated to a final concentration of 1% to release DNA from SLNs. Samples were then analysed by electrophoresis on agarose gel.

Transfection and cellular viability

The human embrionary kidney cell line (HEK-293) was used to carry out the transfection and cellular viability experiments, which were quantified after 72 h by using flow cytometry.

Statistical analysis

The statistical analysis between different groups was determined with an ANOVA test. Differences were considered statistically significant if $p < 0.05$.

Results and Discussion

When the monosaccharide glucose was employed as stabilizer the lyophilized sample obtained presented rubbery aspect. When SLNs were lyophilized with 5% and 2% glucose, a powered product was obtained, but after 2 days at room temperature they became in rubber. The complexes lyophilized presented rubbery aspect at all glucose concentrations. Thus, glucose did not provide a good stabilization of the samples.

On the contrary, the disaccharide trehalose had stabilizer effect at all the concentrations assayed. Figure 1 represents size of the lyophilized products with trehalose. The sizes of the SLNs and the SLN-DNA complexes lyophilized with trehalose did not show significant differences in comparison with the non-lyophilized samples, but the samples presented high variability.

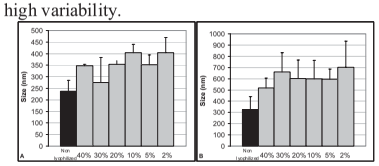


Figure 1. Sizes of the SLNs (A) and the SLN-DNA complexes (B) lyophilized with trehalose solutions at different concentrations (n=3).

When SLNs and SLN-DNA complexes were lyophilized with 10% and 5% trehalose, a powered product was obtained, and the aspect become fibrous when other concentrations were employed.

Figure 2 features zeta potential of the samples before and after lyophilization with trehalose. At all sugar concentrations a significant decrease in surface charge was observed. This decrease was much more evident for the SLN-DNA complexes.

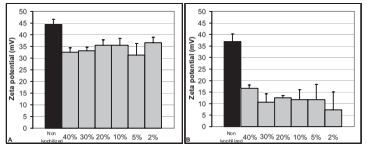


Figure 2. Zeta potentials of the SLNs (A) and the SLN-DNA complexes (B) lyophilized with trehalose solutions at different concentrations (n=3).

The zeta potential decrease after the lyophilization with sugars has been attributed by other authors (6) to Schiff´s base: the amine groups react with reducing groups of sugars. This is possible when reducing sugars, such as glucose, are employed. Trehalose is a non-reducing sugar composed by two glucoses, which resists strongly hydrolysis, so in this case Schiff´s base will not be responsible of the zeta potential decrease. We attribute the reduction of the superficial charge to the "water replacement hypothesis" (7, 8): sugars form hydrogen bonds with the lipid head groups and replace water, mimicking the hydrated condition. The cationic lipid head group, which has the ammonium group, is the responsible of the positive charge of the SLNs. When the sugars form hydrogen bounds part of the positive charge is neutralized, and the SLNs or SLN-DNA complexes superficial charge decreases.

Agarose gel electrophoresis, which is represented in figure 3, was carried out with SLNs and SLN-complexes lyophilized with trehalose at 10% and 5%. The absence of bands on lanes 3 and 4 indicates that all DNA was bound to the lyophilized SLNs.

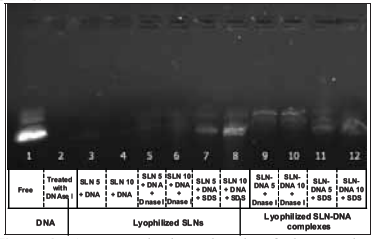


Figure 3. Agarose gel electrophoresis of the complexes elaborated with lyophilized SLNs, of the complexes treated with DNase I and the complexes treated with SDS. (SLN 5: SLNs lyophilized with 5% trehalose, SLN 10: SLNs lyophilized with 10% trehalose, SLN-DNA 5: SLN-DNA complexes lyophilized with 5% trehalose and SLN-DNA 10: SLN-DNA complexes lyophilized with 10% trehalose).

In previous works we have observed that non-lyophilized SLNs have a good DNA protection capacity (data not shown). However, the DNA protection from DNase I activity was minimised by the lyophilization of SLNs and SLN-DNA complexes. On lanes 5 and 6 slight bands were observed, which means that almost all DNA complexed with lyophilized SLNs was digested by the enzyme. On lanes 9 and 10 bands corresponding to the open circular (upper band) and linear (lower band) isoforms of the DNA were observed. These isoforms are obtained from the DNase I digestion of the supercoiled form, which is the most bioactive one. The DNA conformation did not change either when the complexes SLN-DNA were lyophilized or the DNA was complexed with lyophilized SLNs.

The lyophilization of SLNs and SLN-DNA complexes with both 10% trehalose and 5% did not modified transfection capacity (figure 4).

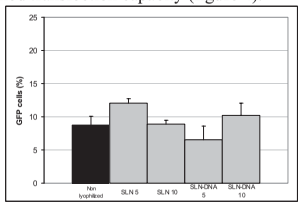


Figure 4. Transfection capacity of the non-lyophilized and lyophilized systems (n=3). (SLN 5: SLNs lyophilized with 5% trehalose, SLN 10: SLNs lyophilized with 10% trehalose, SLN-DNA 5: SLN-DNA complexes lyophilized with 5% trehalose and SLN-DNA 10: SLN-DNA complexes lyophilized with 10% trehalose).

Cell viability also did not decrease when the lyophilized samples were assayed (data not shown).

Conclusions

Although lyophilization of SLNs and SLN-DNA complexes induced a decrease on zeta potential and DNA protection capacity, transfection efficiency and cell viability did not change.

Lyophilization with trehalose may be a good method to obtain dried SLN and SLN-DNA complexes maintaining their transfection capacity.

References

(1) Tabatt K. et al. Eur. J. Pharm. Biopharm., 2004; 57: 155-162.
(2) Mehnert W. et al. Adv. Drug Deliv. Rev., 2001; 47: 165-196.
(3) Allison SD. et al. J. Pharm. Sci., 2000; 89: 682-691.
(4) Allison SD. et al. Biochim. Biophys. Acta, 2000; 1468: 127-138.
(5) Anchordoquy TJ. et al. Drug Discov. Today, 2001; 6: 463-470.
(6) Hinrichs WLJ. et al. J. Controll. Rell., 2005; 103: 465-479.
(7) Crowe JH. et al. BioPharm., 1993; 6 : 28-37.
(8) Crowe JH. et al. BioPharm., 1993; 6 : 40-43.

Acknowledgements

We would like to thank the Spanish Ministry of Education and Science for research grant (AP2003-4780) awarded to Ana del Pozo.

P-26 ENCAPSULACIÓN DE CELECOXIB EN MICROSFERAS DE ETILCELULOSA: EFECTO DEL DISOLVENTE.

Sashalmi, J., De Diego G., González, M., Aberturas, M.R., Molpeceres, J.

Laboratorio de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá. Campus Universitario. 28871 Alcalá de Henares
e-mail: jesus.molpeceres@uah.es

Introducción

Los antiinflamatorios inhibidores específicos de la vía COX-2 se utilizan para el alivio de los síntomas asociados a la artrosis o la artritis reumatoide (1). No obstante, estudios in vitro y retrospectivos han demostrado un efecto terapéutico de los fármacos antiinflamatorios sobre algunos tipos de cáncer epitelial (pulmón, colon, próstata…). Estudios clínicos posteriores han evaluado el efecto oncológico de los inhibidores de COX-2 mostrando eficacia a dosis más altas que las utilizadas para el tratamiento del dolor en las enfermedades osteoarticulares y un mayor riesgo de sufrir efectos adversos cardio-vasculares graves (2). Ello ha supuesto la retirada del mercado de varias moléculas del grupo (rofecoxib…) y recomendaciones estrictas para el uso de las que todavía persisten. Una de éstas es el celecoxib (CX), un fármaco de clase II, con limitada biodisponibilidad y una amplia distribución tisular tras su administración por vía oral en forma de cápsulas (3). Recientemente se ha aprobado en España el medicamento Onsenal, que contiene celecoxib como principio activo para el tratamiento de la poliposis adenomatosa familiar. La elaboración de formulaciones que permitan una localización selectiva del fármaco a nivel de las lesiones tumorales representaría una ventaja importante al proporcionar elevadas concentraciones de fármaco en la biofase restringiendo su distribución al resto del organismo y reduciendo por tanto sus efectos adversos (4).

En este estudio se han elaborado microesferas de etilcelulosa (EC) para la liberación sostenida de CX en el colon. El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia del disolvente orgánico (diclorometano-DC o acetato de etilo-EA) en las características de las microesferas obtenidas por evaporación del disolvente.

Materiales y Métodos

Materiales

El CX se extrajo de forma selectiva a partir de las cápsulas de gelatina dura de la especialidad celebrex. La EC fue suministrada por Sigma (España) y el DC, EA, metanol y acetonitrilo por Panreac, Merck y Scharlab (Barcelona), respectivamente. El agua ultrapura se obtuvo con un equipo MilliQ de Millipore (EE.UU.).

Elaboración de las microesferas

Las microesferas se elaboraron a partir de EC mediante evaporación del disolvente. Para la emulsificación se utilizó un homogeneizador Polytron® (Kinemática, Suiza) a 30.000 rpm durante 5 min y una fase acuosa de alcohol polivinílico al 0,5%. Las formulaciones están compuestas por 10% de CX y 90% de EC. Las microesferas se aislaron por filtración a través de membranas de 0,45µm.

Eficacia de encapsulación

El porcentaje de CX encapsulado se determinó por espectrofotometría UV-Vis a 250 nm. Las formulaciones se disolvieron en una mezcla de metanol, acetonitrilo y agua. Se comprobó también la ausencia de cristales de fármaco sin encapsular mediante microsocopía óptica.

Tamaño de partícula y morfología

El tamaño de partícula se evaluó por técnicas de difracción de luz y la morfología mediante microscopía electrónica de barrido.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El estudio de DSC se realizó con 3 mg de cada formulación pulverizada, introducidos en cápsulas de aluminio selladas y en un rango de temperatura de 0-350ºC con una velocidad de calentamiento de 10ºC/min.

Estudios de disolución *in vitro*

Los ensayos de velocidad de disolución se realizaron utilizando una bomba peristáltica, una celda de ultrafiltración y un colector de fracciones que representan una aproximación a un aparato de velocidad de disolución de flujo en contínuo. Las concentraciones de CX eluidas a los diferentes tiempos se determinaron por HPLC a 230 nm. Las curvas de disolución se obtuvieron por deconvolución matemática de los perfiles de elución frente al obtenido con una solución del fármaco.

Resultados y Discusión

La figura 1 muestra las imágenes obtenidas al microscopio electrónico de barrido para las microesferas y el fármaco. Se observa que las partículas poliméricas son esféricas y que no existen cristales de fármaco en la preparación.

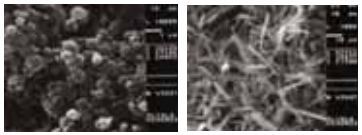


Figura 1. Fotografías de microesferas (izqda) y celecoxib (dcha) obtenidas al microsocopio electrónico de barrido.

Las medidas del tamaño de partícula muestran una distribución relativamente amplia y una clara influencia del disolvente orgánico utilizado. El DC, un disolvente inmiscible con el agua, permite reducir el tamaño medio de partícula hasta las 5µm mientras que las microesferas elaboradas con EA muestran tamaños medios superiores e incluso se detecta que la presencia de fármaco induce un incremento del mismo (Tabla 1).

	Mv (µm)	10 (µm)	50 (µm)	90 (µm)
MS-EA	12,52 (3,54)	2,78 (0,20)	10,36 (4,02)	23,26 (7,50)
CX MS-EA	21,91 (1,10)	8,97 (1,08)	19,73 (1,07)	38,50 (1,22)
MS-DC	4,85 (0,11)	1,23 (0,04)	3,83 (0,18)	10,16 (0,49)
CX MS-DC	4,77 (0,94)	1,25 (0,14)	3,36 (0,69)	9,67 (2,18)

Tabla 1. Valores de tamaño medio y percentiles 10, 50 y 90 para microesferas sin fármaco (MS-EA y MS-DC) y con celecoxib (CX MS-EA y CX MS-DC). (d.e.)

Por otro lado, en cuanto a los perfiles de disolución se observa que las microesferas elaboradas con DC liberan de forma rápida un 40% de la carga inicial, mientras que las obtenidas con EA ceden un 25%, ajustándose las curvas en las primeras 5 h a cinéticas de orden 1. Por el contrario, la liberación posterior de CX obedece a una cinética que se aproxima más a orden cero sin que existan diferencias entre las constantes de velocidad entre ambos tipos de microesferas.
Finalmente, los estudios de DSC realizados ponen de manifiesto que el fármaco no se encuentra en la forma cristalina inicial en el interior de las microesferas y que existe algún tipo de interacción entre el mismo y la EC debido a la evaporación del disolvente.

Conclusiones

El método de evaporación del disolvente permite elaborar microesferas de CX con distintas características en función del disolvente orgánico utilizado. El empleo de EC proporciona una liberación sostenida que podría ser utilizada para la vectorización colónica del fármaco.

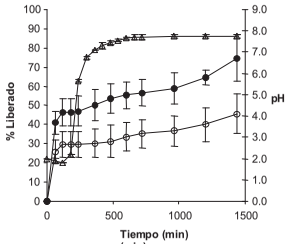


Figura 2. Curvas de disolución de microesferas de etilcelulosa cargadas con celecoxib (Δgradiente de pH; • elaboradas con DC; O elaboradas con EA).

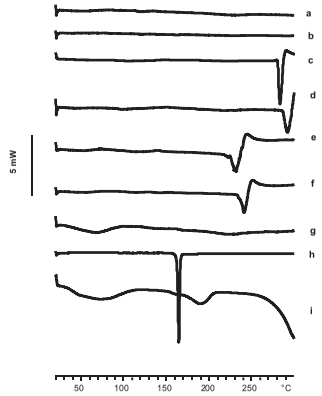


Figura 3. Perfiles térmicos de las materias primas y las formulaciones de microesferas (a:MS-EA; b:MS-DC; c:mezcla CX-EC en EA; d:mezcla CX-EC en DC; e:CX MS-EA; f:CX MS-DC; g:EC; h:CX; i:PVA).

Bibliografía

(1) Subongkot, S. et al. Pharmacotherapy, 23(1), 9-28, 2003.
(2) http://www.pfizer.com.
(3) Pawlson, S.K. et al J. Pharm. Exp. Ther. 297(2), 638-645, 2001.
(4) Chourasia, M.K. et al J. Pharm. Pharma. Sci., 6(1), 33-66, 2003.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la UA proyecto PI2003/034.

P-27 ESTABILIDAD DE GELES NATURALES DE ALOE VERA

Hernández, B.[a], Llabrés, M.[a], Alvárez-Lorenzo, C.[b], Barreiro-Iglesias, R.[b], Fariña, J.B.[a], Concheiro, A.[a]

[a] Depart. Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de La Laguna; [b] Depart. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Santiago de Compostela.
e-mail: beaherna@ull.es

Introducción

En los análisis oscilatorios, las muestras se someten a variaciones armónicas de la fuerza o la deformación. Este procedimiento es el que se utiliza más frecuentemente para estudiar el comportamiento viscoelástico de un material. Para describir los resultados de estos análisis oscilatorios se pueden expresar por G´(módulo elástico) y G´´(módulo viscoso) que son funciones de la frecuencia (1).

Van Gurp y Palmen (1998) han propuesto un tipo de representaciones en los que se enfrenta el ángulo de fase (δ) de las medidas reológicas al correspondiente valor absoluto del módulo complejo (|G*|), y presentando un método para la confirmación del principio de superposición tiempo-temperatura (2). Este tipo de gráficos se caracteriza por presentar un punto de inflexión y un mínimo, que están correlacionados con el módulo de meseta (G^0_N, "plateau modulus"), como se puede observar en la figura 1.

$$G^0_N = G'(\omega)_{\tan\delta\ min}$$

Según la forma de estas curvas se puede explorar la influencia de las características moleculares de los polímeros lineales, como el peso molecular, la composición química, la polidispersividad, la distribución de pesos moleculares y la tacticidad (3).
El objetivo de este trabajo es caracterizar geles naturales de Aloe vera de distinta procedencia, y su evolución con el tiempo y temperatura de almacenamiento así como el efecto de la ciclodextrina sobre sus propiedades reológicas, ya que la composición de estos geles es rica en polímeros de elevado peso molecular (responsables de las propiedades viscoelásticas que presentan), y la degradación de los mismos supone en parte la pérdida de su funcionalidad biológica.

Materiales y Métodos

Materiales

Se emplearon hojas de Aloe vera maduras a las que se les extrajo el gel incoloro por corte (separación de la corteza externa de la pulpa parenquimatosa) y extrusión mecánica. Estas fueron suministradas por dos empresas (Aloe-fenimoy® (I) y Laboratorios Pejoseca® (II)). También se utilizaron muestras de un gel comercial de dos lotes diferentes.
Hidroxipropil-β-ciclodextrina suministrada por Roquette (Francia), utilizada como agente estabilizante de los geles naturales recién extraídos.

Estudio de estabilidad

Las muestras de geles naturales de aloe para este ensayo se sometieron a tratamiento térmico y agitación junto con la adición de hidroxipropil-β-ciclodextrina a diferentes concentraciones (0 a 6 mM hp-β-CD), conservándose durante 1 mes a dos temperaturas distintas de almacenamiento, a 4ºC bajo refrigeración y a 25ºC en estufa.

Reología

Los ensayos reológicos experimentales se realizaron utilizando un Reómetro Rheolyst AR1000N (TA Instruments, UK) equipado con un analizador de datos AR2500, de geometría cono-plato, utilizando un cono de 40 mm de diámetro y un ángulo de 1,58º a una temperatura constante de 25ºC. La fuerza aplicada estuvo entre los límites de la viscoelasticidad lineal. Se realizaron barridos de frecuencia angular de 0,05-50 rad/seg con una fuerza de oscilación de 0,1 Pa. Los análisis de reología se llevaron a cabo durante un mes de almacenamiento.

Resultados y Discusión

Sólo se exponen los resultados del análisis reológico de las muestras (I) con y sin la adición de ciclodextrina (HP-β-CD) representando a los 10 y a los 30 días del comienzo del ensayo bajo condiciones de almacenamiento a 4ºC, recogidos en la figura 1 y 2.

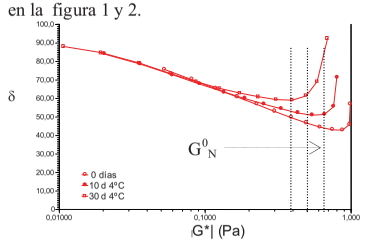


Figura 1. Representación vanGurp-Palmen de las muestras de aloe (I) a 4ºC analizados durante 30 días.

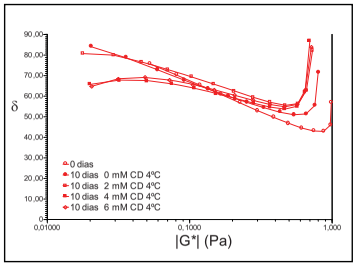


Figura 2. *Representación vanGurp-Palmen de las muestras de aloe (I) a 4ºC analizados durante 10 días, a las que se añadió hidroxipropil-β-ciclodextrina.*

En la figura 1 se observa la evolución del módulo de meseta (G^0_N) durante el almacenamiento que se caracteriza por un desplazamiento vertical ascendente de los valores del ángulo de fase, y una reducción de los valores de |G*|. Esto se explica por un descenso del peso molecular de los polímeros existentes en las muestras de los geles de aloe, a consecuencia de la ruptura molecular de los mismos. Ya que muestras con una elevada masa molar presentan un mínimo que pasa a valores más bajos de ángulo de fase.
En el caso de la figura 2, la evolución de los parámetros ocurre de la misma manera, pero se puede apreciar como el tratamiento con ciclodextrina parece no afectar a las propiedades reológicas de las muestras en cuanto a estabilidad se refiere.

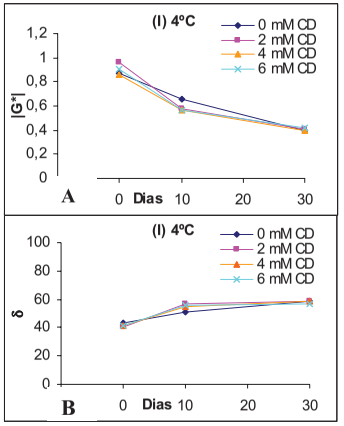


Figura 3. *Representación del módulo complejo (A) y del ángulo de fase (B) frente al tiempo de almacenamiento de los geles de aloe (I) a 4ºC.*

La siguiente figura (3), informa del efecto de las distintas concentraciones de ciclodextrina sobre las propiedades de los geles tratados, enfrentando por un lado el valor absoluto del módulo complejo (A) al tiempo de análisis, y por otro lado, el ángulo de fase (B) frente al mismo tiempo. Al representar de esta manera se observa como la reducción del |G*| para las muestras tratadas con ciclodextrina es algo más acusada que las muestras sin tratamiento pero llegando al mismo valor final, y en el caso de δ, se incrementa proporcionalmente de la misma manera sin una variación apreciable respecto de la muestra original.

Por lo tanto, los resultados obtenidos de las muestras sometidas a tratamiento con hp-β-CD no mostraron diferencias significativas con respecto a las muestras que no recibieron ningúna adición.
Sin embargo, se pone de manifiesto la degradación reológica de todas las muestras con la evolución de los parámetros estimados mediante este tipo de representaciones (vGP plot).
También hay que considerar que las muestras almacenadas a bajas temperaturas presentan una menor degradación y menos acusada que las conservadas a 25ºC.

Conclusiones

La utilización de este tipo de gráficos para las muestras de geles de aloe, informa de la posibilidad de cambios en las características moleculares de las mismas, bien sea por el descenso en la masa molar, el cambio en la distribución de pesos moleculares o de la composición, como consecuencia de la inestabilidad de las mismas durante el almacenamiento.
Con respecto a la adición de hidroxipropil-β-ciclodextrina a los geles de aloe, se puede considerar que no afecta a la estabilidad de los mismos a lo largo del tiempo de almacenamiento, sea cual sea la temperatura utilizada.

Bibliografía

(1) Steffe J.F. Rheological Methods in Food Process Engineering, 2nd ed.; East Lansing, MI, 1996.

(2) van Gurp M. et Palmen J. Rheol. Bull., 67, 5-8. 1998.

(3) Trinkle S. et Friedrich C. Rheol. Acta 40, 322-328. 2001.

P-28 ESTUDIO COMPARATIVO DE CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA DE DOS FORMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA: LIPOSOMAS Y PLO (PLURONIC LECITIN ORGANOGEL)

Ruíz, M"A; Clares, B; Morales, MªE y Gallardo, V.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada

Introducción

La piel es una zona cada vez más utilizada para la aplicación de p.a. Sin embargo su eficacia terapéutica está limitada fundamentalmente, por la dificultad de acceso de la sustancia activa a los tejidos diana dando lugar a niveles de fármaco ineficaces. De hecho, la importancia de la aplicación tópica de diversas sustancias deriva en su absorción percutánea. En este sentido la administración de fármacos por vía transdérmica presenta una serie de ventajas con gran potencial terapéutico.
Dada la necesidad de desarrollo de nuevos vehículos de liberación de fármacos transdérmicos[1] y debido a la importancia de la piel como vía tópica de principios activos, al principio de los años 90 Marty Jones y Lawson Kloesel[2] desarrollaron PLO (Pluronic Lecitin Organogel) como sistema de liberación transdérmica. La innovación y versatilidad de esta forma farmacéutica radica en la obtención de un depósito directo de la sustancia activa en el lugar de acción, a nivel neuromuscular o sistémico, para instaurar el efecto de forma rápida y eficaz; siendo especialmente útil en el caso de fármacos susceptibles de degradarse en el tracto gastrointestinal, fármacos usados en tratamientos crónicos, vía intravenosa o fármacos indicados en lesiones osteoarticulares. A pesar de las ventajas que aporta esta administración transdérmica de PLO, existen situaciones en las que resulta primordial tanto la instauración rápida del tratamiento como el mantenimiento de concentraciones eficaces en el lugar de acción durante el mayor tiempo posible. Con este fin, en un futuro, podríamos incluir en la formulación anterior liposomas, dada su capacidad de vectorización y liberación prolongada de fármacos[3]. Es decir el tratamiento ideal apuntaría hacia una formulación, con la que se consiguiera en una aplicación única, la liberación inicial de una cantidad de fármaco, seguida de una liberación lenta y gradual.
A la vista de lo anterior, tras la elaboración de PLO (Pluronic Lecitin Organogel), así como de liposomas multilaminares, el objeto fundamental del presente trabajo es conocer con precisión el tipo de estructura de ambos sistemas de liberación controlada, su composición, tamaño, homogeneidad e integridad, para en un futuro intentar formularlos conjuntamente.

Material y Métodos

Las diferentes formulaciones estudiadas en la elaboración de las formas de liberación controlada, así como las concentraciones de los componentes figuran en la Tablas 1 y 2.

FORMULA		COMPONENTES	%
PLO	Fase Oleosa	Lecitina de Soja	10
		Palmitato isopropilo	10
	Fase Acuosa	Gel Pluronic F-127 c.s.p 100 ml (Pluronic F127® 20% Agua destilada c.s.p 100ml)	

Tabla 1 Composición PLO

Fórmula	Proporción Molar	mmoles/100ml
PC:CH	1:0.5	0.230/0.115

Tabla 2 Composición los Liposomas (PC: Fosfatidilcolina/ CH: Colesterol)

Los liposomas han sido obtenidos por el método de Bagham y cols, 1974[4]. PLO (Pluronic Lecitin Organogel) se preparó por adición de la fase acuosa sobre la oleosa y posterior agitación.
Las dos formulaciones se han caracterizado por tinción negativa con acetato de uranilo y posterior visualización por microscopía de transmisión electrónica[5].

Los posibles cambios estructurales de ambas formas transdérmicas fueron estudiados en función de la composición y tiempo, a las 24h, 30, 60 y 90 días desde su preparación, con objeto de apreciar la incidencia sobre la estructura, dimensiones y grado de agregación de las micelas y vesículas.

En la tabla 2 se incluyen los valores medios de tamaño de partícula (µm) evaluados para las dos formulaciones ensayadas, acompañados de sus respectivas desviaciones estándar. El número de medidas efectuadas han sido de 100 por fórmula y periodo de tiempo. Las muestras se han conservado a la temperatura de refrigeración (4-6º C) y protegidas de la luz hasta el momento de la caracterización.
Los datos experimentales obtenidos tras la caracterización se han sometido a un tratamiento estadístico, determinándose las varianzas intra e intergrupos y el test de Fisher (LSD) para un nivel de confianza del 95%.

Liposomas	0.42± 0.31	0.46± 0.14	0.50± 0.06	0.52± 0.16
PLO	0.043± 0.0046	0.16± 0.0056	0.61± 0.083	0.88± 0.13
Tiempo	**24horas**	**30días**	**60días**	**90días**

Tabla 3 Evolución del tamaño medio de partícula. **µm ± sd (n=100)**

Resultados y Discusión

La figuras 1 y 2 corresponde a dos microfotografías PLO y liposomas MLV, respectivamente, a los 7 días de elaboración. A partir de la difusión del colorante, se visualiza una capa hidrófilica, constituida por las moléculas de Pluronic F-127 alrededor de un compartimento central lipídico, constituido por cadenas de lecitina de soja.

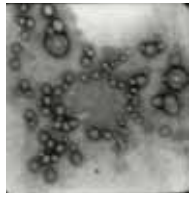


Figura 1

En cambio en la figura 2 se visualizan las bicapas fosfolipídicas alternando con compartimentos acuosos, así como una zona central polar.

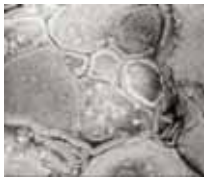


Figura 2

La estructura vesicular, característica de PLO, se sigue manteniendo con el paso del tiempo tal y como se observa en la microfotografía de la figura 3 tras 90 desde su elaboración. Todas las muestras de PLO se caracterizan por un contorno liso. El grado de fusión vesicular es inapreciable a lo largo del periodo de estudio, no obstante a partir de los 60 días desde su elaboración, tiene lugar una leve agregación, pese a todo, no se aprecia destrucción de las vesículas manteniendo una estructura definida.

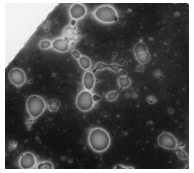


Figura 3

No ocurre lo mismo para los liposomas los cuales se van agregando progresivamente, perdiendo su individualidad (Figura 4). Este hecho contribuye, junto a otros factores, a la modificación de las características de permeabilidad de la pared, facilitando la pérdida de principios activos.

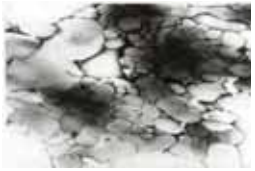


Figura 4

En ambas fórmulas se apreciaron diferencias significativas en los diámetros medios con el paso del tiempo, obteniéndose valores entre 0.043 a 0.88 µm y 0.42 a 0.52 µm, para PLO y los liposomas respectivamente.

Conclusiones

La caracterización por microscopía de transmisión electrónica ha permitido constatar la formación de vesículas hidro-lipídicas unilaminares para PLO (Pluronic Lecitin Organogel) y plurilaminares en el caso de los liposomas, denotando la eficacia del método de elaboración empleado. Dada su estructura, ambos sistemas podrán transportar tanto principios activos liposolubles como hidrosolubles.

Según las medidas efectuadas experimentan un incremento de su tamaño con el tiempo, no superando en ningún caso 1µm.

Bibliografía

1.Willian, H.; Walde, P.; Luisi P.L.; Gazzaniga, A., Stroppolo, F. Lecitin Organogel as matrix for transdermal transport of drugs. *J. Pharm. Sc.* 1992, 81, 871-874.

2.Murdan, S. A review of pluronic lecithin organogels as a topical and transdermal drug delivery system. *H. Pharm.* 2005, 12, 267-270.

3.Jain SK, Jain RK, Chourasia MK, Jain AK, Chalasani KB, Soni V, Jain A. Design and development of multivesicular liposomal depot delivery system for controlled systemic delivery of acyclovir sodium. AAPS Pharm Sci Tech 2005; 06(01): E35-E41.

4.Bangham A. D. Hill M.W. y Miller N.G.A. Preparation and use of liposomes as models of biological membranes In " Methods in membrane bialogy ", publié par Korn E.D. Plenum Press, New York, 1,1-68 (1974).

5.Hayat, M.A. Principles and Techniques of Electron Microscopy. Biological Applications. Book. Third Edition. *Macmillan press published* 1989, 251-253.

P-29 ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD DE TRANSPORTE Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE 5-FLUOROURACILO POR NANOSFERAS DE POLI(ALQUILCIANOACRILATO)

Arias, J.L., Ruiz, M.A., Linares-Molinero, F., Gallardo, V.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja, s/n. 18071 Granada
e-mail: jlarias@ugr.es

Introducción

Los poli(alquilcianoacrilatos) (PACA)s son una familia de polímeros muy utilizada en Biomedicina como material embolítico, pegamento quirúrgico o adhesivo de tejidos (1). Las nanopartículas de PACA presentan multitud de aplicaciones como sistemas transportadores de fármacos, con diferentes dianas y vías de administración. Actualmente, han adquirido especial interés en el tratamiento del cáncer y se encuentran en fase de investigación clínica (2, 3).

Describimos la preparación de nanoesferas de poli(etil-2-cianoacrilato) (PE-2-CA) y de poli(butilcianoacrilato) (PBCA) cargadas con 5-fluorouracilo (5-FU). Analizamos los parámetros que determinan la incorporación de fármaco por las partículas, tanto a nivel superficial como en la matriz polimérica Finalmente, investigamos los factores determinantes del perfil de liberación *in vitro*.

Materiales y Métodos

Materiales

El agua utilizada es de calidad Milli-Q (Milli-Q Academic, Millipore, Francia). El resto de reactivos son de calidad analítica (Panreac, España), excepto los monómeros etil-2-cianoacrilato y butilcianoacrilato (regalo de Henkel Loctite, Irlanda) y el 5-FU (Sigma-Aldrich, Alemania).

Preparación de las nanoesferas poliméricas

La síntesis de nanoesferas de PE-2-CA y PBCA (tamaño: 80 ± 30 nm y 90 ± 15 nm, respectivamente) se realiza mediante polimerización en emulsión del monómero (3): se añade el monómero [1 % (p/v)], bajo agitación mecánica, a 50 mL de un medio acuoso de polimerización con una concentración 10^{-4} N de HCl y un 1 % (p/v) de dextrano-70. Tras 2 horas, se neutraliza con cantidad suficiente de KOH.

Estudio de la adsorción y absorción de 5-FU

Mediante espectrofotometría (λ = 266 nm) se determinó la adsorción y absorción de 5-FU por el PE-2-CA y el PBCA, utilizando una metodología ya descrita (4). Como no es de esperar un efecto significativo de la concentración de tensioactivo y de monómero sobre la absorción de 5-FU (4), sólo se estudió la influencia del pH (HCl: 10^{-4} a 10^{-2} N) y de la concentración de 5-FU (entre 10^{-4} y 10^{-2} M), siguiéndose el método de síntesis ya descrito (3, 4). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Estudios de liberación *in vitro*

El estudio de la liberación (37.0 ± 0.5 ºC) de 5-FU desde PE-2-CA y PBCA, tras un proceso de adsorción o absorción, se realizó utilizando las partículas preparadas con una concentración de 5-FU 10^{-2} ó 10^{-3} M en el medio de contacto/polimerización. En ambos casos, las partículas fueron suspendidas, bajo agitación, en 10 mL de una solución buffer NaOH-KH_2PO_4 (pH = 7.4) o de HCl (pH = 2). A tiempos prefijados, se tomaron muestras y se analizaron mediante espectrofotometría, tras su centrifugación. Todos los experimentos se realizaron por triplicado, manteniendo las condiciones *sink*.

Resultados y Discusión

Adsorción de 5-FU en las nanoesferas

Se aprecia un efecto positivo de la concentración de 5-FU en el medio de contacto sobre la eficiencia de adsorción para ambos polímeros. Como puede apreciarse en la Fig. 1, la adsorción de fármaco se incrementa potencialmente con la cantidad de 5-FU en solución, no sugiriéndose saturación alguna para las concentraciones investigadas.

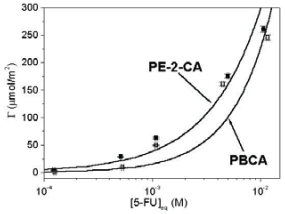


Fig. 1. *Densidad de adsorción de 5-FU en función de la [5-FU] en el equilibrio.*

Efecto del pH y de la [5-FU] en la absorción

Con respecto al efecto del pH del medio (Fig. 2), para cualquiera de las [5-FU] empleadas, la mayor

absorción se obtiene a un pH ~ 4, ya que al disminuir la [OH⁻], la velocidad de polimerización se ralentiza y la absorción decrece (4). De forma general, se aprecia una mayor absorción para el PE-2-CA, esto es debido a la mayor velocidad de polimerización de su monómero (5).

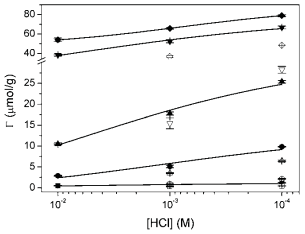


Fig. 2. *Densidad de absorción (Γ) de 5-FU en función de la [HCl] (M) del PE-2-CA (líneas) y el PBCA (símbolos abiertos). Las [5-FU] (M) utilizadas en sentido creciente de Γ son: 10^{-4}, 5×10^{-4}, 10^{-3}, 5×10^{-3} y 10^{-2}.*

La absorción de 5-FU se incrementa potencialmente con la concentración de fármaco en solución, sin que se sugiera saturación alguna (Fig. 3). La mayor absorción lograda por el PE-2-CA, se explica si tenemos en cuenta que la mayor cinética de polimerización de su monómero induce una mejor captación mecánica (5).

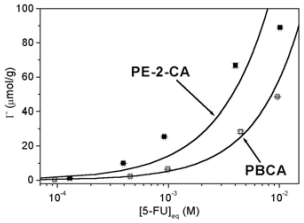


Fig. 3. *Densidad de absorción de 5-FU en función de la [5-FU] en el equilibrio.*

Liberación *in vitro* de 5-FU

A pH = 7.4 (Fig. 4), se produce un proceso bifásico, independientemente de la cantidad de fármaco cargada: la liberación rápida del 5-FU situado a nivel superficial (~ 80 % en 0.5 h.), seguida de la liberación lenta por degradación polimérica mediante erosión superficial (20 % en 1 h.). La cinética es ligeramente superior para el PE-2-CA, debido a la mayor velocidad de degradación asociada a la menor longitud de su cadena alquílica. También se observa cómo la liberación se ve ligeramente acelerada al aumentar la cantidad de 5-FU incorporada por las partículas. En cuanto a la liberación del 5-FU adsorbido, ésta es completa tras 0.3 h. y se observan los mismos comportamientos comentados respecto al 5-FU absorbido.

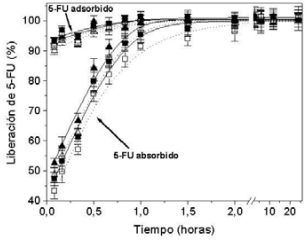


Fig. 4. *Liberación de 5-FU desde PE-2-CA (▲, Δ) y PBCA (■, □) en función del tiempo a pH = 7.4. El medio de polimerización o adsorción tiene una [5-FU] (M) de 10^{-3} (símbolos abiertos, líneas discontinuas) o 10^{-2} (símbolos y líneas sólidas).*

Cuando se utiliza un pH = 2, el perfil de liberación es similar al observado a pH = 7.4 (Fig. 5), si bien se aprecia una cinética de liberación más lenta. Todas las características previamente comentadas también se aprecian a este pH.

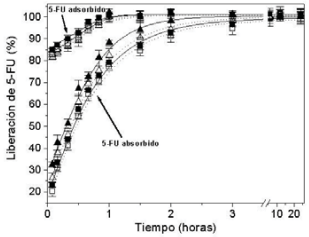


Fig. 5. *Igual que la Fig. 4, pero para un medio de liberación con un pH = 2.*

Conclusiones

Se han estudiado las condiciones ideales para la síntesis de nanopartículas poliméricas con una máxima carga de 5-FU y adecuadas para la administración parenteral. La absorción permite obtener una mayor incorporación de 5-FU y un perfil de liberación bifásico más lento, en comparación con la adsorción.

Bibliografía

(1) Reece, T.B. et al. Am. J. Surg. 182, 40S-44S. 2001.
(2) Vauthier, C., et al. Adv. Drug Deliv. Rev. 55, 519-548. 2003.
(3) Arias, J.L., et al. J. Colloid Interface Sci. 299, 599-607. 2006.
(4) Arias, J.L., et al. J. Biomed. Nanotech. 1(2), 214-223. 2005.
(5) Gibaud, S., et al. J. Control. Rel. 52, 131-139. 1998.

P-30 ESTUDIO DE ESTABILIDAD EN ESTADO SÓLIDO DEL PÉPTIDO 30-33 DE LA COLECISTOQUININA.

Oliva, A., Sánchez, D., Fariña, J.B., Llabrés, M.

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia.
Universidad de La Laguna, 38200, La Laguna, Tenerife

Introducción

La tecnología de ADN recombinante desarrollada a mediados de los años 70 ha permitido la producción a escala industrial de un amplio grupo de fármacos de naturaleza proteica/peptídica denominados medicamentos biotecnológicos. Dos de los problemas más frecuentes en el desarrollo de estos medicamentos son su vida media biológica corta y la estabilidad de los preparados. En este último caso, la reducida estabilidad de las proteínas se resuelve habitualmente en Tecnología Farmacéutica mediante la liofilización o recurriendo a su formulación como polvos para prolongar su vida media [1]. Sin embargo, los fármacos en estado sólido no están exentos de sufrir procesos de inestabilidad tanto física (desnaturalización agregación, precipitación y adsorción a superficies) como química (desaminación, oxidación, hidrólisis, β-eliminación, reacción de Maillard y dimerización/agregación. Los factores físicos y químicos responsables de estos procesos son la temperatura, humedad, excipientes y el estado físico del fármaco (amorfo o cristalino) [2].

El objetivo de este trabajo fue estudiar la estabilidad en estado sólido del fragmento 30-33 de la colecistoquinina (CCK-4) utilizando las técnicas de DSC y TGA, así como la estimación del plazo de validez a partir de la evaluación de los parámetros de la cinética de descomposición aplicando las ecuaciones de Augis & Bennet, de Kissinger y la aproximación de Mahadevan.

Materiales y Métodos

Materiales

El fragmento 30-33 de la colecistoquinina cuya composición es Trp-Met-Asp-PheAmida (WMDF) fue suministrado por Sigma Aldrich (lote: 104K 0686). Los demás reactivos fueron de grado analítico.

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

El análisis térmico se realizo en un calorímetro diferencial de barrido (DSC) modelo DSC-820 de Mettler Toledo. El peso de las muestras estuvo comprendido entre 2 y 3 mg, utilizando cápsulas de aluminio abiertas, calentando desde 0º hasta 300ºC bajo una corriente de nitrógeno a un flujo de 100ml/min. y a diferentes velocidades (α=1, 2.5, 5, 7.5, 10, 15 y 20ºC/min.) El equipo se calibró previamente con indio de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las muestras se analizaron por triplicado.

Análisis Termogravimétrico (TGA)

Los termogramas de TGA/DTA fueron obtenidos utilizando un equipo Dupont 910 (TA Instruments). Los análisis se realizaron en cápsulas de aluminio abiertas bajo una corriente de nitrógeno de 30ml/min. y en el intervalo de temperatura de 20 a 300ºC a una velocidad de 5ºC/min. Las muestras fueron analizadas por triplicado.

Método cromatográfico

Se utilizó un sistema cromatográfico de Waters con detección UV-Vis con una columna de fase inversa (Nova Pack C-18); el control y adquisición de los datos se llevó a cabo con el programa Millenium®32. La fase móvil fue una mezcla de acetonitrilo/agua (30/70, v/v) con un 0,05% de ácido trifluoroacético (pH=2), a un flujo de 1,0ml/min., a una λ de 280 nm siendo el volumen de inyección de 25µl.

Resultados y Discusión

En la figura 1 se muestra un termograma de la CCK-4 donde se observan tres endotermas, mientras que por TGA/DTA se observaron dos pérdidas de masa. El primer pico endotérmico observado antes de 160ºC se corresponde con la pérdida de agua que contiene la muestra y no al agua de hidratación, ya que en ese caso debería observarse un pico más amplio y definido.

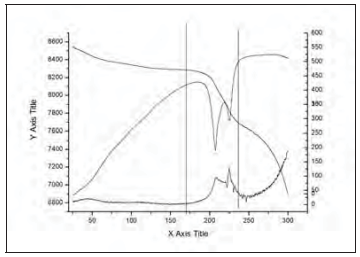


Figura 1. *DSC/TGA/DTA de una muestra de CCK-4 a una velocidad de 5ºC/min.*

El análisis por TGA confirma que se debe al agua residual que pudiera contener la muestra, ya que no hay pérdida de masa significativa a esa temperatura. Por encima de 200ºC se observan

dos picos endotérmicos que, en principio, podrían corresponderse con la descomposición y posterior fusión del producto de degradación de la CCK-4, hecho que coincide con los dos etapas de pérdida de masa observadas por TGA/DTA.
Para confirmar estos hechos se calentaron diferentes muestras a una velocidad de calentamiento de 5ºC/min., hasta los 160ºC, 210ºC y 250ºC y posteriormente fueron analizadas por HPLC y espectrometría de masas. Por HPLC no se observaron diferencias entre una muestra patrón y la calentada hasta 160ºC (ver figura 2). Por el contrario, en la muestra calentada hasta 210ºC, se detectó la presencia de un pico (tr = 1,8 min.), cuya identidad fue confirmada por masas y que se corresponde con el producto resultante de la hidrólisis del lado amino del aspártico dando lugar al producto WMD. La endoterma observada a 225ºC podría corresponder con la fusión del citado producto de degradación.

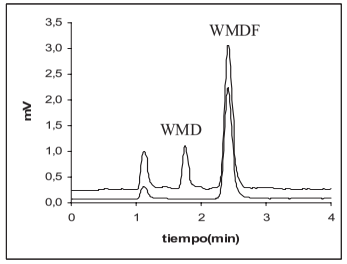


Figura 2. *Cromatogramas de la CCK-4 (A) muestra referencia; (B) muestra calentada a 210ºC observándose el producto de degradación (WMD).*

La energía de activación (Ea) del proceso de descomposición se calculó utilizando las ecuaciones de Augis & Bennet, de Kissinger y la aproximación de Mahadevan [3], que utilizan diferentes expresiones que relacionan la temperatura de descomposición (T_d) con la velocidad de calentamiento (α) como puede observarse en la figura 3.

Los valores de la Ea obtenidos y sus respectivos intervalos de confianza del 95% para cada una de los métodos utilizados ponen de manifiesto que la CCK-4 en estado sólido sigue una cinética de primer orden, siendo las Ea muy similares y comparables con otras reacciones en estado sólido observadas en péptidos [4]. La Ea en estado sólido es tres veces mayor que en disolución [5] reflejando la mayor energía que se requiere para el reordenamiento en los confines de la estructura cristalina. La elevada Ea confirma que se trata de una verdadera reacción en estado sólido del tipo sólido-> sólido + gas.

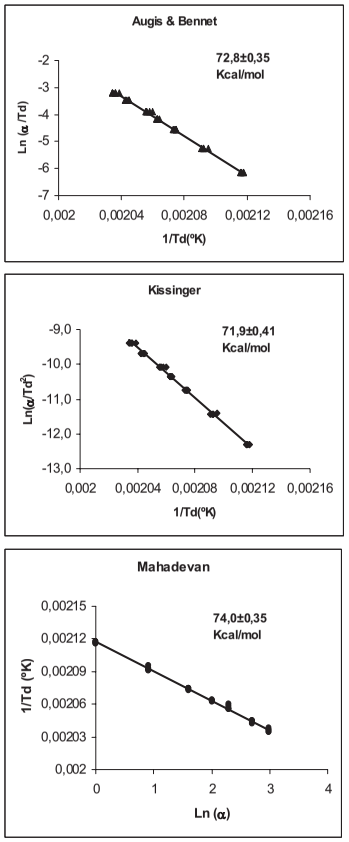


Figura 3. *Representaciones de Augis & Bennet, de Kissinger y Mahadevan que relacionan la temperatura de descomposición (Td) con la velocidad de calentamiento (α.)*

Bibliografía

(1) Lai, M.C., Topp, E.M.. J. Pharm. Sci. 88, 489-500. 1999.

(2) Costantino, H.R. et al. J. Pharm. Sci. 83, 1662-1669. 1999.

(3) Khawam, A., Flanagan. D.R. J. Pharm. Sci. 95, 472-498. 2006.

(4) Leung, S.S., Grant, D.J. J. Pharm. Sci. 86, 64-71. 1997.

(5) Oliva, A. et al. Pharm. Res. 23, 2595-2602. 2006.

P-31 ESTUDIO UNIDOSIS DE EFICACIA DE UNA NUEVA FORMULACIÓN DE ANFOTERICINA B EN UN MODELO MURINO DE CANDIDIASIS SISTÉMICA.

Espada, R.[1], Valdespina, S.[1], Molero, G.[2], Ballesteros, M.P.[1], Torrado, J.J[1].

[1]Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. [2]Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid (UCM). Plaza Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid
e-mail: torrado1@farm.ucm.es

Introducción

Candida albicans es el hongo que con más frecuencia se aisla en infecciones fúngicas, siendo además la cuarta causa de infecciones nosocomiales en países desarrollados. El arsenal terapéutico del que se dispone es limitado e ineficiente en casos de infección sistémica grave; la anfotericina B (AmB) continúa siendo el fármaco de elección para el tratamiento de diversas infecciones fúngicas. La formulación convencional Fungizona® (AmB-desoxicolato), da lugar a efectos adversos, siendo el más importante la nefrotoxicidad (1). En los últimos años se han desarrollado nuevas formulaciones lipídicas de AmB menos tóxicas que la Fungizona ®, pero aún no está clara su eficacia.
Es necesario disponer de fármacos más seguros, más eficaces y con mejores propiedades farmacocinéticas para reducir la mortalidad que producen las micosis sistémicas. Por ello, en este estudio se han realizado ensayos de eficacia *in vivo* en ratones donde se compara la formulación convencional de AmB-desoxicolato (D-AmB) con una nueva formulación de AmB consistente en microesferas de albúmina humana (M-AmB).

Materiales y Métodos

Materiales

Anfotericina B suministrada por Bristol-Myers Squibb, Barcelona, Ácido ortofosfórico 85 (Panreac Química S.A., Barcelona), Sodio desoxicolato (Fluka Chemie A.G., Suiza), Sodio fosfato dibásico anhidro (Panreac Química S.A., Barcelona), Sodio fosfato monobásico 1-hidrato (Panreac Química S.A., Barcelona), Sodio hidróxido (Central Ibérica de Drogas, Madrid), Solución de albúmina humana al 20% Behring inyectable® (Aventis Behring, Barcelona), Suero glucosado (5%) isotónico (Fresenius Kabi, Barcelona).
Se han utilizado también animales para la realización del estudio in vivo: ratones albinos ICR (hembras de 20 g de peso).

Elaboración de las microesferas de AmB

Las microesferas de AmB se obtienen mediante atomización (2). Para ello, en primer lugar, la AmB se dispersa en una disolución acuosa que contiene desoxicolato de sodio, fosfato monobásico de sodio y fosfato dibásico de sodio. La dispersión resultante se somete a una agitación moderada hasta que se alcanza una suspensión homogénea. A continuación se adiciona una solución de albúmina sérica humana al 20%, agitándose suavemente. La mezcla final se atomiza utilizando un atomizador Büchi B-191 en el que las gotículas se forman a partir de la mezcla inicial con un dispositivo tipo pistola.

Estudio de eficacia *in vivo*

Se ha alcanzado la infección diseminada con organismos *Candida albicans* (cepa SC5314) mediante la inyección de 2 x 10^6 UFC/ml (10^6 UFC/ratón) por la vena lateral de la cola a ratones inmunocompetentes 72 horas antes del comienzo de la terapia farmacológica. Los ratones infectados se han tratado con la formulación convencional (D-AmB) a la dosis de 1 mg/kg o con la nueva formulación (M-AmB) a distintas dosis (1, 3, 5 y 10 mg/kg de masa corporal). La supervivencia fue monitorizada hasta el día 37 postinfección.
Ambas formulaciones (D-AmB y M-AmB) se reconstituyen inmediatamente antes de su uso con una solución de glucosa al 5% hasta que la dilución alcanza la concentración adecuada (se administran 0,2 ml de cada formulación).
El curso de la infección por *C. albicans* ha sido monitorizado a través de la supervivencia de los ratones a lo largo del ensayo y de la carga fúngica de los órganos más representativos (cerebro y riñón). Los riñones y cerebros de los ratones se han seleccionado aleatoriamente, se han extirpado asépticamente y se han colocado en un homogeneizador de tejidos con PBS. El número de UFC (unidades formadoras de colonias) en los especimenes fue determinado mediante un método de dilución en placa, contando el número de colonias después de 48 horas de incubación a 37º C. Los resultados se han expresado como logaritmo del número de UFC por ratón.

Resultados y Discusión

La figura 1 muestra que el grupo control de ratones infectados sin tratamiento murió durante los 11 días después de la inoculación de *C. albicans* y que todos los ratones tratados con M-AmB a dosis de 1 mg/kg murieron durante el transcurso del estudio. Por otro lado, los ratones tratados con D-AmB (1 mg/kg) presentaron un

71,4 % de supervivencia, en los ratones tratados con M-AmB a dosis de 3 mg/kg se observó un 60 % de supervivencia, cuando se aumenta la dosis de M-AmB hasta 5 mg/kg se aumenta también la supervivencia de los ratones hasta el 76,9 %, y se obtuvo un 100% de supervivencia en los ratones tratados con M-AmB a una dosis de 10 mg/kg.

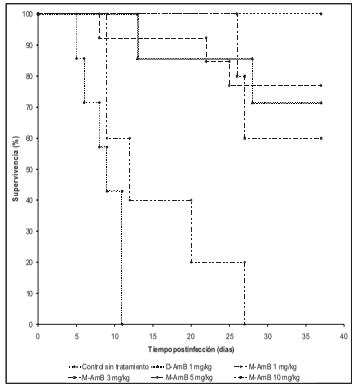


Figura 1. *Comparación de las curvas de supervivencia.*

Los resultados obtenidos indican que la nueva formulación (M-AMB) administrada a dosis de 1 ó 3 mg/kg no proporciona ventajas respecto a la administración de la formulación convencional (D-AMB).
Hay que destacar que la única formulación que ha proporcionado un 100% de eficacia en cuanto a supervivencia de los ratones se refiere, es la consistente en microesferas de AmB administrada a una dosis de 10 mg/kg. A pesar de que se trata de una dosis de AmB muy elevada no se han detectado signos de toxicidad en los ratones tratados con ella, lo cual demuestra que la microencapsulación con albúmina disminuye la toxicidad de la AmB.

La tabla 1 muestra la carga fúngica en riñones y cerebros de los ratones infectados tratados con M-AmB o con D-AmB. Tanto en el tratamiento de los ratones con D-AmB como en el tratamiento con M-AmB se ha producido una colonización de los riñones encontrándose una elevada carga fúngica (log UFC ≈ 5-6), excepto en los ratones tratados con M-AmB a dosis de 5 mg/kg en los que la carga fúngica detectada se reduce casi a la mitad (log UFC ≈ 3). Es importante mencionar que cuando se ha llevado a cabo la extirpación de los órganos de los ratones se ha comprobado que los animales tratados con D-AmB poseen uno de los dos riñones infradesarrollado. En cuanto a la colonización en cerebro, también se ha observado crecimiento de colonias en todos los grupos de ratones. Únicamente en dos ratones tratados con D-AmB y en dos ratones tratados con M-AmB (5 mg/kg) se ha producido una eliminación total del microorganismo tanto en riñones como en cerebro. Así, en lo que se refiere a carga fúngica se han obtenido resultados muy similares en todos los grupos de ratones tratados con las diferentes formulaciones de AmB, y sólo la administración de M-AmB a dosis de 5 mg/kg parece proporcionar una ligera ventaja con respecto a la administración de la formulación convencional de AmB.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Número de colonias (log (media UFC ± SE))	
		Riñón	Cerebro
D-AmB	1	4,52±1,85*	1,54±1,48*
M-AmB	3	6,39±6,63	2,07±2,02
M-AmB	5	2,94±2,36*	1,15±1,33*
M-AmB	10	4,80±0,53	3,72±0,49

*Al menos un ratón ha aclarado la infección

Tabla 1. *Carga fúngica (UFC/órgano) en ratones ICR infectados con C. albicans y tratados con formulaciones de AmB.*

Conclusiones

En primer lugar, se han encontrado diferencias en la eficacia de la AmB, evaluada como porcentaje de supervivencia al final del ensayo, en función de la formulación administrada. Así, a igual dosis la formulación convencional D-AmB es más eficaz que las microesferas de AmB. Sin embargo, cuando se aumenta la dosis de AmB al administrar las microesferas se consigue un mayor porcentaje de supervivencia que con la administración de la D-AmB.
Por otra parte, las microesferas han permitido la administración de dosis de AmB mucho más elevadas que la formulación convencional, de lo cual se deduce que esta nueva formulación lleva asociada una menor toxicidad que dicha formulación convencional.
Por último, la administración de una única dosis de cualquiera de las formulaciones ensayadas no asegura la eliminación total del microorganismo (*C. albicans*).

Bibliografía

(1) Bates, D. W. et al. Kidney International. 60, 1452-1459. 2001.

(2) Sánchez-Brunete, J. A. et al. Antimicrob. Agents Chemother. 48(9), 3246-3252. 2004.

P-32 ESTUDIOS DE COMPATIBILIDAD PRINCIPIO ACTIVO-EXCIPIENTE EN FORMULACIONES SÓLIDAS DE IBUPROFENO

Maderuelo Martín, Cristina[1]; Zarzuelo Castañeda, Aránzazu[1]; Sayalero Marinero, Mª Luisa[2]; Sánchez Martín, Mª Jesús[3]; Martínez Lanao, José[2]

[1]Laboratorio Farmacéutico Usala, S.L
[2]Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Salamanca
[3]Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología. CSIC, Apdo 257 Salamanca
e-mail: jmlanao@usal.es

Introducción

Varios autores[(1-4)] han descrito una interacción en estado sólido entre el Ibuprofeno y la Polivinilpirrolidona (PVP), excipiente ampliamente utilizado como aglutinante en formulaciones sólidas orales, debido al establecimiento de un puente de hidrógeno molecular entre el grupo COOH del Ibuprofeno y el grupo C=O de la PVP, lo cual supone un inconveniente a la hora de su formulación conjunta en formulaciones sólidas orales.

En el presente trabajo se ha estudiado la posible interacción entre Ibuprofeno racémico y polivinilpirrolidona (PVP), concretamente Kollidón® 30, en las proporciones (1:1), (1:0,5), (1:0,2), como paso previo al desarrollo de formulaciones sólidas orales, mediante Calorimetría diferencial de barrido y Difracción de rayos X.

Material y Métodos

Material

Ibuprofeno suministrado por Shasun Chemicals y polivinilpirrolidona K30 (PVP), suministrado por BASF.

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

El estudio de DSC se realizó con productos puros y mezclas binarias, en estado sólido, de Ibuprofeno-PVP en las proporciones (1:1), (1:0,5), (1:0,2) utilizando un equipo TA Instruments SDT Q600 V7.0. Las condiciones de análisis fijadas en el equipo fueron 10ºC/min en un rango de 30-800ºC. Se utilizaron entre 7 y 10 mg de cada producto/mezcla introducidos en cápsulas de aluminio selladas.

Análisis de Difracción de Rayos-X

El análisis de difracción se realizó con los productos puros y la mezcla binaria, en estado sólido, de Ibuprofeno-PVP (1:0,2), utilizando un Difractómetro Philips PW1710 con radiación Kα de Cu, con filtro de Ni. Las condiciones de operación del difractómetro fueron: voltaje de 50kV*40 mA y las condiciones de registro: tamaño de paso de 0,04 a 2θ, tiempo 2,5 segundos y registro en un rango de 3º a 60º. Se utilizó para la identificación de los picos el software PCPDFWIN con fichero XPSHS2003.

Resultados y Discusión

Las figuras 1 y 2 muestran los termogramas de las sustancias puras (Ibuprofeno y PVP) y de las mezclas binarias en las proporciones (1:1), (1:0,5), (1:0,2) en estado sólido.

El estudio de DSC no pone de manifiesto ningún tipo de interacción entre Ibuprofeno y PVP en las proporciones estudiadas, ya que no se observan cambios en los picos endotérmicos de los termogramas como queda recogido en

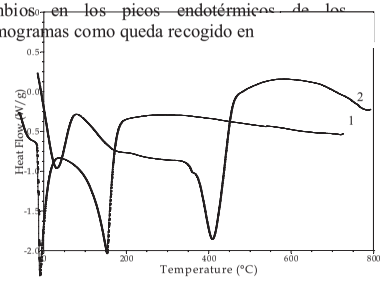


Figura 1*. Termogramas de sustancias puras: Ibuprofeno (1) y PVP (2)*

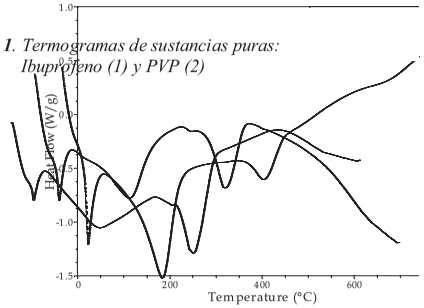


Figura 2. *Termogramas de las mezclas binarias Ibuprofeno-PVP en las proporciones 1:1 (1), 1:0,5 (2), 1:0,2 (3)*

Compuesto/s	Temperatura (ºC)	J/g
Ibuprofeno	51,9 78,7 232,9	15,5 132,7 426,9
PVP	69,6 200,7 435,2	252,9 51,3 434,5
Ibuprofeno-PVP (1:1)	77,6 222,1 435,6	70,8 349,5 183,0
Ibuprofeno-PVP (1:0,5)	78,1 229,9 430,9	50,9 325,5 154,4
Ibuprofeno-PVP (1:0,2)	77,7 226,5 434,9	117,2 378,3 80,4

Tabla 1. *Estudio térmico de las sustancias puras y de las combinaciones binarias Ibuprofeno-PVP*

Para verificar la ausencia de interacción a la proporción (1:0,2), de uso frecuente en formulaciones sólidas orales, se realizó un análisis de Difracción de Rayos-X. Dicho análisis confirmó la ausencia de interacción entre ambas sustancias en las condiciones ensayadas, como queda reflejada en la figura 4 que recoge los difractogramas de Ibuprofeno y de la mezcla binaria. En dicha figura puede observarse la ausencia de diferencias en ambos difractogramas.

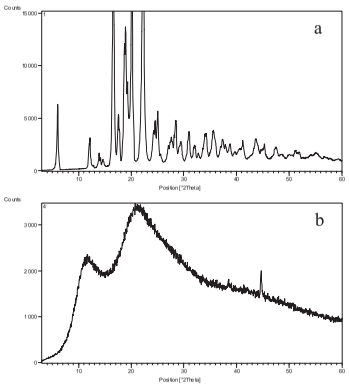
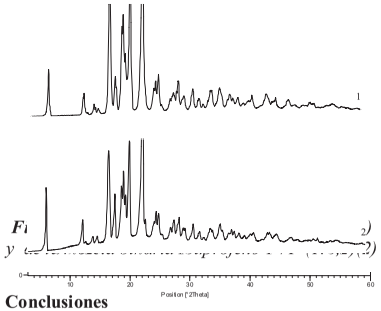


Figura 3. *Difractograma de Ibuprofeno (a) y PVP (b).*



Conclusiones

Los resultados obtenidos con los métodos utilizados no ponen de manifiesto las interacciones descritas entre el Ibuprofeno y la PVP en las proporciones ensayadas en este estudio. Este hecho justifica la combinación de ambas sustancias en el desarrollo de formulaciones sólidas orales en las proporciones estudiadas: (1:1), (1:0,5), (1:0,2).

Bibliografía

1. A.J. Romero and cols. International Journal of Pharmaceutics, 99: 125-134. 1993.
2. Hauro Sekizaki and cols. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 43 (6): 988-993.1995.
3. Svetla Bodganova and cols. Pharmaceutical Research, 22 (5): 806-813, 2005.
4. P. Di Martino and cols. 5th World Meeting of Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Geneva, 2006.

P-33 FORMULACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LIBERACIÓN DE SUPOSITORIOS DE ETOSUXIMIDA

Margarit M. V. y Caballero J. D.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja S/N. 18071 Granada.
e-mail: margarit@ugr.es

Introducción

La liberación y absorción de los fármacos de los supositorios lipófilos se realiza en varias etapas: 1ª fusión del supositorio y posterior extensibilidad de la masa fundida en la ampolla rectal, 2ª transferencia del fármaco desde el excipiente al medio rectal, y 3ª absorción del fármaco a través de la mucosa rectal. Por tanto las características fisicoquímicas del fármaco y excipiente juegan un papel importante en la absorción del mismo. Para fármacos hidrosolubles como etosuximida la sedimentación del fármaco hacia la interfaz será el factor limitante de la absorción (1). La etosuximida es un fármaco antiepiléptico utilizado generalmente en niños para el tratamiento de las crisis de ausencia (2). En la actualidad su administración es únicamente por vía oral. Por ello el objetivo de este trabajo es desarrollar una forma farmacéutica rectal eficaz para la etosuximida y que constituya una alternativa a la vía oral. En este sentido se han desarrollado cuatro formulaciones de supositorios utilizando witepsol H19 (excipiente lipófilo de supositorios) y los tensioactivos polisorbato 80 (Ps), docusato sódico (Ds) y tetranyl AT-1/DP (Ty). A los supositorios se le estudiaron sus propiedades farmacotécnicas y la liberación "in vitro" de etosuximida de la forma de dosificación.

Materiales y Métodos

Material

Etosuximida (laboratorios Faes S.A.,Vizcaya), Witepsol H19 (Lemmel, s.a., Barcelona), polisorbato 80(Comercial Química Masso s.a., Barcelona), docusato sodico (Roig Farma s.a., Barcelona) y Tetranyl AT-1/DP (Kao Corporation s.a., Barcelona). La composición de las formulaciones de supositorios y las características farmacotécnicas de los mismos, se recogen en la tabla 1. La elaboración de la forma farmacéutica se realiza por el método de fusión descrito en Margarit M.V. y Caballero J.D.(3).

Estudio farmacotécnico

Se han realizado los ensayos especificados en RFE 3ª Ed.(4): Uniformidad de contenido siguiendo el método descrito en USP 23 (1995, p. 642) para la valoración de la etosuximida. Dureza (Erweka mod. SBT, (Huesenstamm, Alemania) a la temperatura de 25 ± 0,4 ºC. Tiempo de disgregación (Erweka ZT 3, Huesenstamm, Alemania), a la temperatura de 39 ± 0,2 ºC (temperatura del animal de experimentación empleado en los estudios "In vivo"). Uniformidad de masa sobre 20 supositorios. También se les determinó la temperatura de fusión por DSC (calorimetro Mettler FP80 y Mettler FP89 software) y el comportamiento reológico de la masa de supositorios a la temperatura corporal (viscosimetro Brookfield LVT, (Brookfield Engineering Laboratories, MA). Ambos ensayos se describen en Margarit M. V. y Caballero J. D. (3).

Formulaciones (g/100 suppositorios)				
Componentes	A	B	C	D
Ethosuximida	15.0	15.0	15.0	15.0
Witepsol H 10	125.4	118.1	125.3	121.4
Polysorbato 80 (5% m/m)	--	7.01	--	--
Docusato Sódico (0,1% m/m)	--	--	0.14	–
Tetranyl AT-1/DP (3% m/m)	–	--	–	4.1
CARACTERÍSTICAS FARMACOTÉCNICAS				
Color	blanco	beige	blanco	beige
Dosis(mg)(n=10)	149.86±0.57	149.72±1.63	144.26±1.00	154.19± 0.36
Peso(g) (n=20)	1.40±0.005	1.41±0.004	1.40±0.003	1.44±0.004
Dureza(kg) (n=10)	3.62±0.09	3.46±0.12	3.54±0.13	3.52±0.15
Tiempo disgregr. (min)(n=6)	3.4±0.2	3.0±0.2	3.5±0.2	3.2±0.2
Tª de Fusión(ºC)(n=3)	33.83	34.03	33.43	32.53
Viscosidad(Pa·s)	0.038	0.041	0.039	0.042

Tabla 1*. Formulaciones de supositorios y parámetros farmacotécnicos*

Estudios de liberación in vitro

Se utilizó una técnica de diálisis. Se emplearon membranas de diálisis tipo tubo de 10 cm de longitud y 28.6 mm de diámetro (Visking tubing, Medicell International Ltd, Madrid). El ensayo se realizó con 500 ml de agua purificada a 39.0± 0.2 ºC y velocidad de agitación de 75 rpm. La cantidad de etosuximida liberada se determinó espectrofotométricamente a 243 nm (Perkin-Elmer LAMBDA 2). Para describir la cinética de liberación de etosuximida de los supositorios se ha aplicado la función de primer orden, raíz cúbica y ajuste de Weibull.

Resultados y Discusión

Estudio Farmacotécnico: Recién preparados, los supositorios muestran un aspecto uniforme y superficie lisa. Su color depende de la adición de tensioactivos: los supositorios fabricados sin coadyuvantes y adicionados de Ds son blancos,

mientras que los elaborados con Ps o Ty tienen una coloración tostado claro. Todos tienen una longitud de 2,41±0,008 cm y un diámetro de 1,00±0,005 cm. Todos los supositorios satisfacen los ensayos fármaco-técnicos descritos en la RFE 3ª Ed y la presencia de tensioactivos en la formulación no modifica significativamente el valor de estos parámetros. La disgregación de los suposi-torios es por fusión de la forma farmacéutica perdiendo su estructura original. Los suposi-torios sin coadyuvante (fórmula A) funden rápidamente formando una capa oleosa flotando en el medio acuoso de disgregación y los que contienen tensioactivos (fórmula B, C y D) se dispersan en forma de pequeñas gotitas.

Estudio de liberación in Vitro: Las curvas de liberación-difusión de las cuatro fórmulas se muestran en la fig. 1 y en la tabla 2 se recogen los parámetros de liberación. La fórmula A (sin tensioactivo) se usa como fórmula control. Muestra una liberación lenta ($T_{50\%}$=68,4 min) encontrando en el medio receptor, el 86,3% de la dosis. Esta liberación podría justificarse por la presencia en el excipiente de una sustancia protectora de la mucosa (ricinoleato de glicerilo) que actúa cubriendo la membrana de diálisis dificultando la difusión del fármaco.

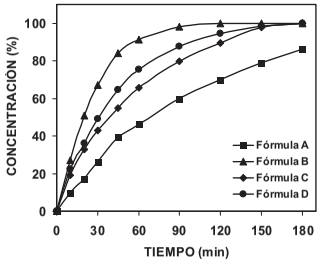


***Figura 1**. Curvas de liberación de etosuximida de los supositorios elaborados con witepsol H19*

La adición de tensioactivos incrementan la liberación del fármaco de los supositorios liberandose el 100% de la dosis al final del ensayo (3 h). La fórmula B es la que muestra mayor velocidad de liberación con un $T_{50\%}$ 3,5 veces más pequeño que el de la fórmula control. Fórmula C y D manifiestan similar comportamiento, liberando el 50% de La dosis alrededor de los 30 min y presentando una eficacia de disolución superior al 70%. Esto podría explicarse atendiendo a la composición compleja del excipiente. Posee un 5% de ricinoleato de glicerilo y tensioactivos de distinta naturaleza y consistencia que actuarían impidiendo la acción del protector de la mucosa.

De acuerdo con el estudio cinético la liberación de etosuximida de los supositorios se realiza según una cinética de primer orden además el parámetro ß (tabla 2), indica que se trata de una cinética rápida.

FORMULACIONES				
Parámetros	**A**	**B**	**C**	**D**
k (min^{-1})	**0,0107 (r^2=0,9963)**	**0,0558 (r^2=0,9689)**	**0,0229 (r^2=0,9535)**	**0,0271 (r^2=0,9863)**
β	**1,02**	**1,19**	**1,01**	**1,03**
Cmáx (%)	**86,27**	**100**	**100**	**100**
T_{max} (h)	**3**	**2,5**	**3**	**3**
ED (%)	**54,37(0,37)**	**85,39(0,14)**	**71,47(0,21)**	**76,57(0,32)**
TMD (h)	**1,37(0,01)**	**0,44(0.004)**	**0,86(0,01)**	**0,70(0,01)**
$T_{50\%}$ (min)	**68,4(1,4)**	**19,6(0,2)**	**38,9(0,4)**	**31,0(0,7)**
$ABC_{in\ vitro}$ (h%)	**163,11(1,1)**	**256,18(0,4)**	**214,36(0,6)**	**229,71(0,9)**

***Tabla 2.** Parámetros de liberación(media (ds), n=6)*

El análisis de ANOVA simple, aplicado a las $ABC_{in\ Vitro}$ y los resultados de la prueba de comparación múltiple, indican que las cuatro fórmulas son distintas pues presentan comportamientos de liberación-difusión del fármaco estadísticamente diferentes (P≤0,05).

Conclusiones

Los supositorios estudiados presentan aspecto físico homogéneo y satisfacen los requisitos farmacotécnicos de la RFE 3ª Ed.

La liberación de etosuximida de los supositorios se realiza según una cinética de oprimer orden y los tensioactivos incrementan la velocidad de liberación del fármaco. Considerando la eficacia de disolución las fórmulas se ordenarán : fórmula A < fórmula C < fórmula D < fórmula B.

Bibliografía

(1) Margarit M.V., Rodríguez I.C. y Cerezo A., Consideraciones sobre la liberación de los fármacos por vía rectal. Ind. Farm. Enero/Febrero, 57 (1991).

(2) Sullivan J. E., Dlugos D. J., Antiepileptic drug monotherapy : Pediatric concerns. Semin. Pediatr. Neurol. 12, 88-96 (2005).

(3) Margarit M.V. and Caballero J.D.. Thermal and rheologycal study of lipophilic ethosuximide suppositories. Eur. J. Pharm. Sci. 10, 123-128 (2003).

(4) Real Farmacopea Española 3ª Ed.. Ministerio de sanidad y consumo. Madrid 2005.

P-34 FORMULACIÓN Y ENSAYOS DE ABSORCIÓN *IN VITRO* DE UN SISTEMA TRANSDÉRMICO DE SUMATRIPTÁN EN METILCELULOSA

Balaguer Fernández, C[1]., Femenía Font, A[1]., del Rio Sancho S[1]., Merino V[2]., López Castellano A[1].

[1]Departamento de Fisiología, Farmacología y Toxicología. Universidad CEU Cardenal Herrera. Av. Seminario s/n. 46113 Moncada-Valencia
[2]Departament de Farmàcia y Tecnologia Farmacèutica. Universitat de València. Av. Vicente Andrés s/n. 46100 Burjassot-Valencia
e-mail: cbalaguer@uch.ceu.es

Introducción

El sumatriptán es un fármaco agonista de los receptores vasculares serotoninérgicos 5-$HT_{1B/1D}$ empleado en el tratamiento de la migraña. La administración del sumatriptán se puede realizar vía oral e intranasal, pero la biodisponibilidad es baja, del orden del 15%. En cambio, la administración subcutánea, que permite alcanzar una biodisponibilidad del 96%, al resultar traumática para el paciente genera rechazo. Este hecho hace relevante el desarrollo de nuevas formas de administración del fármaco como la transdérmica, que puedan mejorar el tratamiento de la migraña (1).

El trabajo que se presenta pretende desarrollar Sistemas Terapéuticos de Administración Transdérmica de sumatriptán (STAT) en metilcelulosa. Además se incluye en su composición Azone®, agente promotor que mejora la absorción transdérmica del fármaco (2,3), así como una lamina protectora oclusiva, la cual se ha demostrado que incrementa el paso del fármaco a través de la piel (4).

Materiales y Métodos

Materiales

Sumatriptán succinato se obtuvo a partir de la forma farmacéutica intranasal comercializada (Imigran® 20mg/0.1mL, GlaxoSmithKline, Reino Unido). Azone® fue suministrado por Netqem, USA. El resto de componentes empleados fueron metilcelulosa (MH 1000 P2), cetrimida, 1-2 propilenglicol, ácido laúrico, glicerol (Laboratorios Guinama, Valencia), ácido adípico (Sigma-Aldrich Co., Reino Unido), Eudragit® E100 (Degussa AG., Dusselford, Alemania), Scotchpack backing 9733 y Scotchpak liner 1022 (3M, USA).

Elaboración de los sistemas transdérmicos

Se prepararon STATs de sumatriptán (tabla 1). Para su preparación se calentó parte del agua a emplear a 70ºC y se disolvió la cetrimida. A continuación, se hidrató la metilcelulosa y se añadió 1,2-propilenglicol con el resto del agua hasta obtener una concentración final de metilcelulosa del 6% (m/m). Una vez gelificado el polímero, y tras 24 horas en imbibición, bajo agitación, se añadieron el Plastoid® E 35L (solución adhesiva elaborada) y el 1,2-propilenglicol a la mezcla.

En los ensayos en los que se empleó Azone® como promotor de la absorción transdérmica del sumatriptán, este fue posteriormente añadido a la formulación. Finalmente se incorporó el fármaco, a la concentración deseada.

Las mezclas obtenidas, se laminaron a 600 µm y se dejaron secar a temperatura ambiente durante 24 horas. Por último, se incorporó la lámina protectora a los STAT de sumatriptán, se envasaron y se almacenaron.

	STAT control	STAT con Azone®
Metilcelulosa MH 1000 P2	73.7	73.7
Plastoid® E 35L	13.2	13.2
1,2- Propilenglicol	3.9	3.9
Succinato de sumatriptán	2.4	2.4
Azone®	-	5
Agua	6.8	1.8

***Tabla 1**. Composición (en húmedo) de los sistemas transdérmicos de sumatriptán (% m/m).*

Estudios de absorción transdérmica *in vitro*

Se realizaron experimentos de difusión transdérmica (a 37ºC) empleando para ello piel de oreja de cerdo (600 µm). Se utilizaron células de difusión horizontal tipo Franz modificadas de 0.6 cm^2 de área de difusión. Cada uno de los dos sistemas elaborados se ensayó sin y con la lámina oclusiva.

El compartimento receptor se llenó con solución tampón HEPES/NaCl (20/150 mM) pH 7.4. Durante las 56 horas que duraron los ensayos se tomaron, a tiempos prefijados, muestras de 200 µL, que se analizaron por HPLC para determinar la cantidad de fármaco acumulada en el compartimento receptor en función del tiempo (5).

Resultados y Discusión

En la figura 1 se muestran las cantidades medias acumuladas de sumatriptán ($\mu g/cm^2$) en el compartimento receptor frente al tiempo (horas).

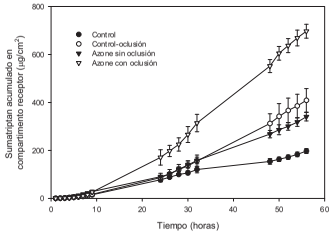


Figura 1. *Cantidades acumuladas de sumatriptán ($\mu g/cm^2$) en el compartimento receptor durante los ensayos de difusión frente al tiempo (horas). (Valor medio ± D.E; n ≥ 3).*

A partir del ajustado de la ecuación de Scheuplein a las cantidades acumuladas de fármaco se calcularon los valores de flujo de sumatriptán a través de la piel. Se utilizó el programa informático Win Nonlin 4.1 (Pharsight corp). Los valores de flujo transdérmico se muestran en la figura 2.

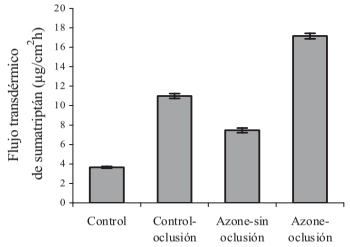


Figura 2. *Flujo transdérmico de sumatriptán en estado estacionario ($\mu g/cm^2h$). (Valor medio ± D.E; n ≥ 3).*

Los valores de flujo transdérmico obtenidos con los STAT se compararon estadísticamente mediante un test de ANOVA. A continuación, se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé. La inclusión de Azone® en los sistemas estudiados ejerce un efecto promotor sobre el fármaco produciendo incrementos estadísticamente significativos en los valores de flujo transdérmico respecto al control. Asimismo la incorporación de la lámina oclusiva en el STAT incrementa significativamente en flujo de sumatriptán ($p<0.05$).

A partir de los valores de flujo se calculó el efecto promotor (EP) desarrollado por el Azone®, la oclusión y la suma de ambas estrategias, calculando el cociente entre el flujo de sumatriptán obtenido con las estrategias utilizadas y el flujo calculado con el STAT control. Como puede observarse en la figura 3 el efecto promotor desarrollado por el Azone® sin oclusión es inferior a la que se obtiene con el STAT sin promotor y con oclusión.

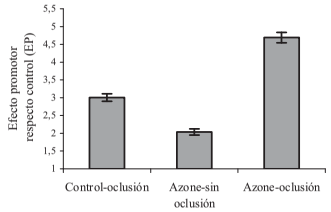


Figura 3. *Efecto promotor respecto control (EP).*

Cuando el sistema transdérmico contiene Azone® y se le incorpora la lamina oclusiva el EP es mayor, próximo a la suma de los dos agentes por separado. En estas condiciones se obtienen flujos de sumatriptán casi 5 veces superiores a los de los sistemas control, la lámina oclusiva potencia el efecto promotor del Azone®.

Conclusiones

Es posible preparar STAT de espesor reducido, prácticamente invisible, que incorporan sumatriptán disperso en una matriz polimérica.

La incorporación de Azone® en la formulación del STAT y la incorporación de una lámina oclusiva al sistema incrementan significativamente la absorción transdérmica del fármaco.

Bibliografía

(1) Tfelt Hansen P. et al. Drugs. 60 (6), 1259-1287. 2000.

(2) Femenía Font A. et al. Eur. J. Pharm. and Biopharm. 61, 50-55. 2005.

(3) Femenía Font A. et al. Int. J. Pharm. 323, 125-130. 2006.

(4) Femenía Font A. et al. J. Pharm. Sci. 95 (7), 1561-1569. 2006.

(5) Femenía Font A. et al. J. Pharm. Biomed. Anal. 37 (3), 621-626. 2005.

Agradecimientos:

Los autores quieren agradecer al Ministerio de Sanidad y Consumo (PI060108) y a la Universidad CEU Cardenal Herrera la financiación del trabajo realizado.

P-35 HIDROGELES A BASE DE GOMAS NATURALES PARA LA LIBERACIÓN COLÓNICA DE FÁRMACOS.

Adawe I., Gago Guillan M., Almeida Prieto S., Otero Espinar F.J.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. Campus Universitario sur s/n. 15782 Santiago de Compostela.
e-mail: ffrotero@usc.es

Introducción

En los últimos años, la liberación selectiva de fármacos en el colon ha alcanzado un notable interés. Esto se debe a que así pueden tratarse de forma más efectiva las patologías colónicas, al permitir una mayor concentración de fármaco en la zona dañada y evitando la absorción en los primeros tramos del tracto gastrointestinal, reduciéndose de esta manera, un gran número de efectos secundarios.
Existen varias alternativas para conseguir este objetivo; la mayoría de ellas se basan en las variaciones de pH; en el tiempo de tránsito relativamente constante a lo largo del intestino delgado, y/o en la presencia de enzimas procedente de la flora bacteriana colónica que permiten degradar productos resistentes a los contenidos gastrointestinales. Este último procedimiento se basa en el empleo de polímeros y macromoléculas naturales para la elaboración de sistemas matriciales o recubrimientos, capaces de resistir al medio gástrico e intestinal pero que son degradados por las enzimas procedentes de la flora colónica, produciéndose así la liberación del principio activo. Entre las macromoléculas susceptibles de ser utilizadas podemos citar diferentes polisacáridos de origen natural entre los que se encuentran las gomas (1).
En este trabajo se proponen y estudian hidrogeles elaborados con goma Xantana, algarrobo o garrofín y sus mezclas como sistemas capaces de resistir y evitar la liberación de acetónido de triamcinolona en el tracto gastrointestinal y de llegar en condiciones adecuadas para su liberación en el colon. Hemos seleccionado estos polisacáridos puesto que se ha descrito un comportamiento sinérgicos entre estas dos gomas naturales como consecuencia de interacciones entre sus estructuras (2, 3)

Materiales y Métodos

Materiales

Acetónido de Triamcinolona (Roig Farma SA, Barcelona), Goma xantana y goma garrofin (suministrado gratuitamente por Inagarbe S.L., Padrón)

Elaboración de los Hidrogeles

Los xerogeles empleados para el estudio de hinchamiento se obtuvieron mediante compresión de 500 g de goma xantana, goma garrofin o una mezcla de ambas al 50%, en una matriz de infrarrojos de 12 mm de diámetro, utilizando una prensa hidráulica Mega 20. Las fuerzas aplicadas y el tiempo durante las que se mantuvo la presión se establecieron en función del diseño factorial incluido en la tabla 1. Para la elaboración de los xerogeles empeados en los estudios de liberación se emplearon condiciones similares, adicionando a los mismos 25 mg de acetónido de triamcinolona.

Estudios de hinchamiento

Los xerogeles se sumergieron en 250 ml de jugo gástrico artificial pH 1.2 o de jugo enterico pH 6.8, a 37±0,5ºC. A tiempos prefijados se retiran los hidrogeles, eliminando el exceso de agua superficial y se procede a la medida de su diámetro, altura y peso. Los ensayos se prolongaron durante 72 horas.
El índice de hinchamiento se calculó como la relación entre el volumen final y el inicial. Asimismo se estimó la cantidad de tampón captado por cada gramo de excipiente seco.
Los resultados fueron analizados mediante un ANOVA multifactorial empleando para ello el software STATGRAPHC plus V 5.1 para Windows

Tabla 1. Composición y condiciones de preparación de los hidrogeles empleados en el estudio de hinchamiento. G: goma garrofín; X: goma Xantana.

Formulación	% G	% X	Fuerza (Tn)	Tiempo (min)
1	0	100	5	5
2	0	100	5	10
3	0	100	7.5	5
4	0	100	7.5	10
5	0	100	10	5
6	0	100	10	10
7	50	50	5	5
8	50	50	5	10
9	50	50	7.5	5
10	50	50	7.5	10
11	50	50	10	5
12	50	50	10	10
13	100	0	5	5
14	100	0	5	10
15	100	0	7.5	5
16	100	0	7.5	10
17	100	0	10	5
18	100	0	10	10

Estudios liberación *in vitro*

Los ensayos de velocidad de liberación se realizaron utilizando un aparato de disolución nº 2 (USP) Prolabo, conectado de forma automática a un espectrofotómetro HP 8452ª (longitud de onda analítica 242 nm). Se empleó una velocidad de agitación de 100 rpm, y una temperatura de 37±0,5ºC. Como medio de disolución se utilizó inicialmente 450 ml de jugo gástrico artificial. Al cabo de dos horas se adicionaron sobre el jugo gástrico 210 ml de tampón fosfato pH 8.0 y 18 ml de hidróxido sódico 2M de forma que el volumen final fueron 678 ml y el pH 6.8.

Resultados y Discusión

Las cinéticas de absorción de agua obtenidas para la mayoría de los hidrogeles sugieren que el principal mecanismo que controla el proceso es la difusión del agua a través del hidrogel. Sin embargo los perfiles sigmoideos que comienzan a aparecen en los hidrogeles elaborados con los mayores tiempos de compresión sugieren que comienza a existir un comportamiento no Fickiano en el proceso de difusión de agua. A partir de las 32 horas de ensayo se

observa una disminución de masa en algunos de los hidrogeles probablemente como consecuencia de un proceso de erosión.
El análisis estadístico de los resultados aplicados a las variables, índice de hinchamiento y gramos de agua captados a las 32 horas mostraron que la composición y la fuerza son factores significativos tanto en medio gástrico como entérico, mientras que el tiempo de mantenimiento de la muestra sólo se mostró significativo para el volumen hinchado a los 30 minutos en jugo gástrico, si bien su interacción con la fuerza y en algún caso con la composición si se mostró significativa. En la figura 1 y 2 se muestra las superficies de respuesta obtenidas para los factores estudiados.
Los resultados muestran que un aumento en la fuerza aplicada reduce el volumen hinchado, aunque afecta en menor medida a la captación de disolvente. A partir de las 7.5 ton las diferencias se reducen no siendo significativas para la mayoría de los casos.

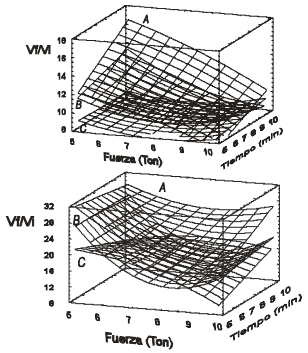


Figura 1. Superficies de respuesta obtenidas para el índice de hinchamiento a las 30 horas. pH 1.2(superior) y 6.8 (inferior). A) xantana,) B) mezcla 50%, C) garrofin

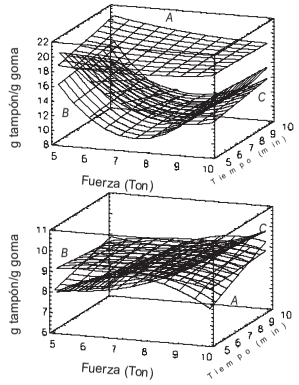


Figura 2. Superficie de respuesta obtenidas para g de agua absorbida a las 30 horas. pH 1.2(superior) y 6.8 (inferior). A) xantana,) B) mezcla 50%, C) garrofin

La reducción en el hinchamiento con la fuerza se debe probablemente al aumento de las interacciones físicas entre las cadenas de los polisacáridos y a las modificaciones que las altas presiones inducen sobre la estructura tridimensional de la goma Xantana (2,3). Se observa un mayor hinchamiento en el medio con pH 6.8 que en el de 1.2. Por último la goma xantana es la que mayor índice de hinchamiento proporciona presentando las mezclas un comportamiento intermedio.
En función de los resultados obtenidos se eligieron ara realizar los ensayos de liberación las formulaciones elaboradas con una fuerza intermedia (7.5 ton) y tiempos de 5 minutos 10 min. La figura 3 muestra los resultados obtenidos.

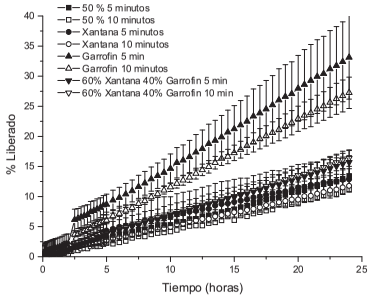


Figura 3. Perfiles de liberación obtenidos para los hidrogeles 3, 9, 10 y 13.(Sólo salen las desv est superiores?)

Tal como se observa, la liberación del fármaco se produce de manera lenta y mediante una cinética de orden 0, no existiendo diferencias significativas entres las formulaciones ensayadas, salvo en aquellos hidrogeles elaborados exclusivamente con garrofin que liberan más rápido. A las 24 horas de ensayo, la liberación del fármaco es muy baja (10-13%), alcanzándose porcentajes liberados del orden del 1 % en medio gástrico (2 horas de ensayo) y entre un 3 y un 6 % de la dosis a las 8 horas, tiempo al que los hidrogeles alcanzarían el tramo colónico.

Los resultados muestran por lo tanto que los hidrogeles elaborados mediante compresión de gomas, son candidatos interesantes para la obtención sistemas simples de liberación selectiva a nivel colónico. En la actualidad estamos estudiando el comportamiento de liberación en presencia de enzimas presentes en medio colónico.

Bibliografía

(1) T. R. Bhardwaj, M. Kanwar, R. Lal, and A. Gupta. Drug Dev. Ind. Pharm., 26(10), 1025–1038, 2000

(2) J. Higiro , T.J. Herald , S. Alavi. Food Research International 39, 165–175, 2006

(3) Henriques P., Almeida Prieto S., Alvarez Lorenzo C, Otero Espinar F.J. Caracterización reológica de mezclas de goma xantana y goma garrofín. Influencia en la difusión de la ciprofloxacina. VIII congreso SEFIG.

P-36 HIDROGELES DE ACIDO ACRÍLICO Y LAURIL ACRILATO SENSIBLES A pH PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS

Mayo-Pedrosa, M., Cachafeiro-Andrade, N., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. 15782-Santiago de Compostela.
e-mail: ffrusdog@usc.es

Introducción

Los hidrogeles son muy útiles como vehículos de fármacos por su biocompatibilidad y sus características físicas y mecánicas similares a las de los tejidos biológicos. La composición del hidrogel condiciona el grado de hinchamiento y la afinidad por el fármaco, por lo que una correcta selección de los monómeros es determinante de la capacidad de incorporación y control de la cesión del fármaco (1). En el caso de los hidrogeles de ácido acrílico, la introducción de comonómeros hidrofóbicos tiene una notable repercusión sobre la dependencia del grado de hinchamiento respecto del pH (2). Sin embargo, se cuenta con poca información acerca del efecto de estos comonómeros sobre los perfiles de cesión. En esta comunicación, se analizan los perfiles de hinchamiento y cesión de fármaco en medios de distinto pH dentro del intervalo fisiológico, de hidrogeles obtenidos por copolimerización de ácido acrílico con lauril acrilato. La información obtenida servirá de base para optimizar la composición de materiales que van a ser utilizados como componentes de distintos sistemas de liberación de fármacos.

Materiales y Métodos

Materiales

Teofilina anhidra y lauril acrilato (LA) suministrados por Sigma-Aldrich, España; ácido acrílico (AA) de Merck; Irgacure® 2959 de Ciba, España; N-N'-metilenbisacrilamida (BIS) de Acros Organics, España.

Síntesis de los hidrogeles

Se prepararon mezclas de AA con LA, en relaciones molares 100:0, 96:4, 92:8, 88:12, 84:16 y 80:20, en 7.5 ml de etanol. La concentración total de monómeros fue 1.76 M. A continuación, se incorporó el reticulante BIS (0.2 g) y el fotoiniciador Irgacure 2959 (0.2 g). Una vez disueltos, se añadieron 2.5 ml de agua y 10 mg de teofilina. Finalmente, las mezclas se transfirieron a recipientes de polietileno y se irradiaron a 366 nm utilizando una lámpara de 8 W (Camag, Suiza) durante 30 minutos. Una vez polimerizados, los hidrogeles se cortaron en discos de 10 mm de diámetro, que se desecaron en estufa a 50˚C durante 24 horas

Caracterización de los hidrogeles

Capacidad de hinchamiento
Se determinó el peso (W_0) y se midió, con un micrómetro Mitutuyo (Japón), el diámetro (d_0) de los discos secos antes de introducirlos en viales con agua, HCl 0.1N o tampón fosfato pH 5.8 ó 7.4. A intervalos de tiempo preestablecidos, se determinó de nuevo el peso (Ws) y el diámetro (d_s) de los discos.

Ensayo de cesión
Los discos secos se introdujeron en viales, termostatizados a 37ºC, con 50-150 ml de HCl 0.1N o tampón fosfato pH 5.8 ó 7.4. A intervalos preestablecidos, se retiraron muestras de cada vial y se determinó espectrofotométricamente la concentración de teofilina (271 nm, Agilent, Alemania). Una vez valoradas, las muestras se reintegraron al vial correspondiente. Los ensayos se llevaron a cabo por triplicado.

Resultados y Discusión

Los hidrogeles preparados con AA sin incorporar comonómero hidrofóbico presentaron un grado de hinchamiento fuertemente dependiente del pH del medio. A pH inferior al pKa (4.74), los grupos ácido carboxílico no están ionizados y pueden interaccionar entre ellos formando puentes de hidrógeno, con lo que el hidrogel presenta un grado de hinchamiento muy bajo. La cantidad de agua que incorporan cuando se sumergen en HCl 0.1M (pH 1) es aproximadamente 1 g/g de hidrogel seco. En medios de pH superior al pKa, los grupos ácido ionizados se repelen y las cadenas poliméricas se hacen más hidrofílicas, lo que da lugar a un notable incremento en la cantidad de agua incorporada, lo que provoca, a pH 7.4, la disgregación de los hidrogeles. A medida que se incrementa la proporción de lauril acrilato, la sensibilidad de los hidrogeles a los cambios de pH se atenúa de una manera muy marcada (Figura 1).

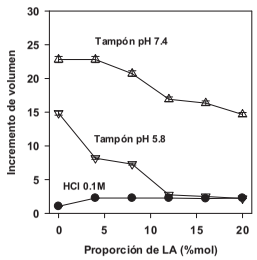


Figura 1. *Influencia de la proporción de comonómero hidrofóbico y de la naturaleza del medio en el grado de hinchamiento de hidrogeles de ácido acrílico.*

La copolimerización del AA con monómeros que cuentan con cadenas hidrofóbicas hace que disminuya la constante dieléctrica en el interior del hidrogel y, consecuentemente, el valor de la constante de disociación del AA se reduce, llegando a alcanzarse valores de pK_a próximos a 7 (2). Los datos de hinchamiento recogidos en la Figura 1 prueban que, a pH 5.8, un 12% de LA es suficiente para impedir completamente la ionización del AA. A pH 7.4 el grado de hinchamiento se reduce como consecuencia de la ionización incompleta del AA y del establecimiento de interacciones hidrofóbicas entre las cadenas alquílicas de los comonómeros, que actúan como puentes de unión entre distintas regiones del hidrogel.

Un incremento en el contenido en comonómero hidrofóbico dio lugar a una ralentización de la cesión de teofilina, que resulta especialmente marcada a pH ácido (Figura 2). Aunque en HCl 0.1M todos los hidrogeles presentan un grado de hinchamiento similar, la velocidad de cesión se redujo notablemente cuando se incrementó la proporción de LA. Este efecto se relaciona con las asociaciones hidrofóbicas que se establecen entre las largas cadenas alquílicas de los comonómeros, que dificultan la difusión de la teofilina en el interior del hidrogel. A pH 5.8, la ralentización en la velocidad de cesión se mantiene, como consecuencia del efecto del comonómero hidrofóbico sobre el grado de ionización del AA. Dado que el tamaño de malla del hidrogel es directamente proporcional al grado de hinchamiento y a pH 7.4 todos los hidrogeles presentan un elevado grado de hinchamiento, en estas condiciones la difusión del fármaco hacia el exterior se ve facilitada.

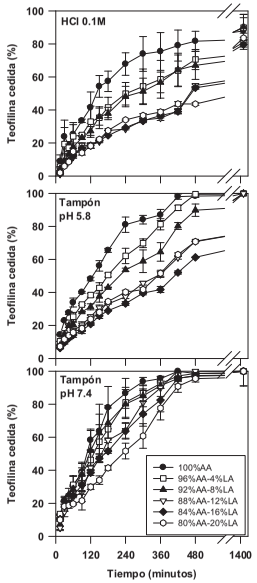


Figura 2. *Influencia de la proporción de lauril acrilato sobre la velocidad de cesión de teofilina a partir de los hidrogeles.*

Conclusiones

Los hidrogeles de AA no proporcionan una cesión selectiva de fármaco en respuesta a cambios de pH dado que, incluso en su estado más contraído, el tamaño de malla no es suficientemente pequeño para modular la difusión de fármacos hidrosolubles. Por el contrario, si se combina AA con LA es posible obtener hidrogeles con capacidad de hinchamiento sensible a pH que resultan adecuados para regular la velocidad de cesión de teofilina. Por lo tanto, estos sistemas encierran un gran interés potencial, como componentes de matrices o de películas de recubrimiento, en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos en lugares específicos del aparato digestivo.

Bibliografía

(1) Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A. J. Control. Rel. 80, 247-257, 2002.

(2) Philippova, O.E. et al. Macromolecules 30, 8278-8285, 1997.

Agradecimientos

MEC (RYC2001-8; SAF2005-01930), FEDER y Xunta de Galicia (PGIDIT05BTF20301PR).

P-37 HIDROGELES DE CICLODEXTRINAS PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE SERTACONAZOL

López-Montero, E., Alvarez-Lorenzo,C., Torres-Labandeira, JJ.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. 15782-Santiago de Compostela.
e-mail: ffjuant@usc.es

Introducción

El sertaconazol es un fármaco antifúngico de amplio espectro, muy eficaz frente a *Candida albicans*, que plantea importantes problemas de formulación debido a su baja hidrosolubilidad. La formación de complejos con ciclodextrinas constituye una vía muy atractiva para solventar este inconveniente, potenciando al mismo tiempo su efectividad antifúngica (1). Aunque la constante de formación del complejo de sertaconazol con hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPBCD) es relativamente alta (636 M^{-1} en tampón fosfato de pH 5.8), existe el riesgo potencial de que el fármaco precipite tras su administración como consecuencia de la dilución de la formulación en los fluidos biológicos una vez administrada (2). La incorporación de las unidades de ciclodextrina a entramados hidrofílicos en los que se encuentran unidas entre sí o a cadenas poliméricas a través de enlaces covalentes podría evitar este inconveniente. La estructura reticulada del hidrogel limita la penetración de agua y, en consecuencia, el efecto de "dilución" es mínimo. El microentorno rico en ciclodextrinas que proporciona un sistema de estas características dota al hidrogel de una elevada capacidad de incorporación de fármaco y le comunica una notable capacidad de control de la cesión (3). En esta comunicación se evalúa la eficacia de hidrogeles preparados con HPBCD o sus combinaciones con polisacáridos para cargar y ceder de manera sostenida sertaconazol (Figura 1), con vistas a su utilización como componente de formas de dosificación de este fármaco.

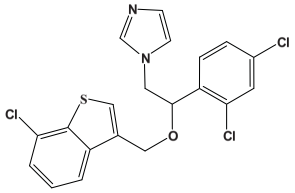


Figura 1. *Estructura del sertaconazol.*

Materiales y Métodos

Materiales

Sertaconazol (Ferrer Internacional, España); HPBCD (Jansen Pharmaceutische, Bélgica); etilenglicol diglicidileter (EDGE 50% en agua, Fluka Chemie GMBH, Alemania); dextrano de *Leuconostoc mesenteroides* y dodecil sulfatos sódico, SDS (Sigma Aldrich, España); hidroxipropil metilcelulosa (HPMC Methocel® K4M, Dow Stade GMBH, Alemania).

Preparación de los hidrogeles

A porciones de 10 ml de una disolución de HPBCD al 20% en NaOH 0.2M, se incorporó HPMC o dextrano en cantidad suficiente para alcanzar una concentración final de 0.4 ó 0.8%. Una vez homogeneizada la mezcla, se le añadieron 4 ml de la disolución de EDGE. Las mezclas se trasfirieron a tubos de ensayo (10 mm de diámetro interno), se cerraron herméticamente y se mantuvieron en estufa a 50ºC durante 24h. Trascurrido este tiempo, los hidrogeles se extrajeron de los tubos y se sumergieron en agua. A continuación, se llevaron a una disolución de HCl 10 mM durante 24h para neutralizar los restos de alcali y finalmente se conservaron en agua destilada.

Incorporación de sertaconazol

Se cortaron seis discos (4-5 mm) de cada hidrogel y se introdujeron en viales conteniendo una suspensión de fármaco en agua (50 mg en 10 ml). La mitad de los viales se sometieron a autoclavado a 121˚C durante 20 minutos. Todas los viales se colocaron, a continuación, en un baño termostatizado a 25ºC y se sometieron a agitación (50 oscilaciones/min) durante 7 días.

Ensayo de cesión

Los hidrogeles cargados de sertaconazol se lavaron con agua y se introdujeron en 30 ml de SDS al 0.3%. A intervalos de tiempo preestablecidos, se tomaron muestras del medio de cesión (3 ml), se determinó espectrofotométricamente la concentración de sertaconazol (302 nm, Agilent, Alemania) y las muestras se reintegraron al medio de cesión. Una vez finalizado el ensayo, se pesaron los discos y se desecaron a 50˚C hasta peso constante.

Resultados y Discusión

La ciclodextrina cuenta con grupos hidroxilo reactivos que pueden dar lugar, en medio alcalino, a enlaces éter con los anillos oxaciclopropano del EDGE. Este agente reticulante puede actuar como puente entre unidades de ciclodextrina promoviendo la formación de una red tridimensional. En la formación de esta red puede intervenir, junto con las unidades de ciclodextrina, cadenas poliméricas preformadas que cuenten en su estructura con grupos hidroxilo reactivos. Este es el caso de polisacáridos como la HPMC o el dextrano (3).

Los hidrogeles preparados con ciclodextrina sola o con HPMC resultaron ser transparentes, mientras que la incorporación de dextrano provocó cierta opalescencia y una pérdida de flexibilidad. Todos ellos presentaron una superficie homogénea y una elevada capacidad de hinchamiento (ca. 10 ml/g). Su capacidad de carga se situó entre 20 y 40 mg de sertaconazol por gramo de gel seco.

Para llevar a cabo los ensayos de cesión se utilizó como medio una disolución de SDS al 0.3%. Esta concentración, superior a la crítica micelar, es la indicada en las farmacopeas para llevar a cabo ensayos de cesión con fármacos de muy baja hidrosolubilidad. Los perfiles de cesión mostraron importantes diferencias entre los hidrogeles ensayados (Figuras 2 y 3)

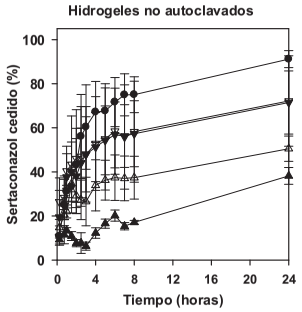


Figura 2. *Perfiles de cesión de sertaconazol a partir de hidrogeles de HPBCD (●), HPBCD con dextrano al 0.4% (Δ) o al 0.8% (▲) y HPBCD con HPMC al 0.4% (∇) o al 0.8% (▼). Los hidrogeles no se sometieron a autoclavado durante la etapa de carga.*

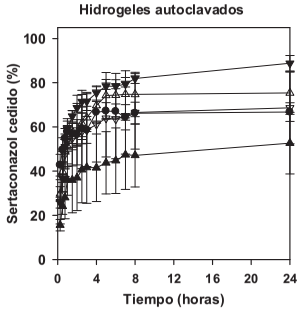


Figura 3. *Perfiles de cesión de sertaconazol a partir de hidrogeles de HPBCD (●), HPBCD con dextrano al 0.4% (Δ) o al 0.8% (▲) y HPBCD con HPMC al 0.4% (∇) o al 0.8% (▼). Los hidrogeles se sometieron a autoclavado durante la etapa de carga.*

Todos los hidrogeles cedieron lentamente el fármaco, prolongando el proceso durante varios días. Los hidrogeles de HPBCD con dextrano al 0.8% fueron los que dieron lugar a una ralentización más marcada del proceso de cesión. Ello puede estar relacionado con la mayor rigidez que comunica este polímero al entramado del hidrogel, que debe dificultar la difusión del fármaco hacia el medio externo.

Conclusiones

La reticulación con EGDE de ciclodextrinas o de sus combinaciones con polisacáridos conduce a la formación de hidrogeles con una elevada capacidad de carga y de control de la cesión de sertaconazol. Una vez optimizada su composición, es previsible que estos hidrogeles abran interesantes posibilidades en la modulación de la cesión de sertaconazol.

Agradecimientos
MEC (SAF2005-01930), FEDER y Xunta de Galicia (PGIDIT04BTF203011PR).

Bibliografía

(1) Perdomo-López, I. et al. J. Pharm. Sci. 91, 2408-2415, 2002.

(2) Stella, V.J. et al. Adv. Drug Deliv. Rev. 36, 3-16, 1999.

(3) Rodríguez-Tenreiro, C. et al. Pharm. Res. 23, 121-130, 2006.

P-38 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA LIBERACIÓN Y LA PERMEACIÓN DEL FILTRO SOLAR ETILHEXYL METOXICINNAMATE EN UNA EMULSIÓN MÚLTIPLE.

Torres, E., Calpena, A., Barbé, C., Aróztegui, M., Halbaut, L., Suñer, J.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona (UB). Avda. Joan XXIII, s/n. 08028. Barcelona
e-mail: etorres@ub.edu

Introducción

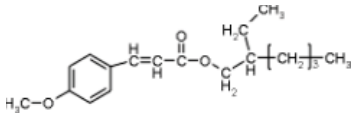
Debido al amplio uso de los productos solares y la relevancia clínica del efecto nocivo de algunos filtros (1), se planteó el estudio de la liberación y permeación del Etilhexyl metoxicinnamate (EHM) en una emulsión múltiple a distintas temperaturas (37º y 42 ºC).

La utilización de estos productos en lugares de alta exposición solar tales como, playa, montaña hizo pensar que la influencia del incremento de temperatura pudiera afectar en la liberación y/o permeación del filtro solar.
El objeto de este trabajo fue estudiar la influencia de la temperatura en la liberación y permeación del filtro solar EHM en una emulsión múltiple $A_1/O/A_2$ (2) en la cual dicho filtro EHM está en la fase oleosa.

Materiales y Métodos

Materiales

-Etilhexyl metoxicinnamate:



Fórmula molecular: $C_{18}H_{26}O_3$

PM: 290.40

Punto ebullición (1 hPa): 160 ºC

- Fórmula emulsión múltiple $A_1/O/A_2$:

EMULSIÓN PRIMARIA A_1/O	
Componentes	**% p/p**
Fase Oleosa	
Aceites	0.5
Tensioactivos no iónicos	2
Etilhexyl metoxicinnamate	20.47
Filtro físico A	16.38
Fase Acuosa	60.5
Filtro físico B	0.15

EMULSIÓN MÚLTIPLE $A_1/O/A_2$	
Componentes	**% p/p**
Fase Oleosa	
Emulsión primaria A_1/O	24
Fase Externa Acuosa	62.65
Filtro físico B	12.35
Tensioactivo anfotérico	1

Elaboración de la emulsión múltiple $A_1/O/A_2$:

La emulsión primaria de fase externa oleosa (A_1/O) se elaboró calentando los componentes de la fase acuosa y los de la oleosa por separado a 70± 5 ºC. Seguidamente, se añadió la fase acuosa sobre la oleosa bajo agitación. Se homogeneizó y se enfrió bajo condiciones estándar hasta temperatura ambiente.

Posteriormente se elaboró la fase externa dispersante y se incorporó la emulsión primaria A_1/O sobre ésta, siempre bajo agitación y a temperatura ambiente. Resultando la emulsión $A_1/O/A_2$.

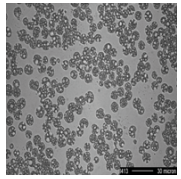


Figura 1. *Microfotografía de la emulsión $A_1/O/A_2$.*

Estudios de estabilidad del EHM

Se sometió una muestra de emulsión a 6 y 24 h y se valoró el filtro EHM de la misma.

Estudios reológicos de la emulsión

Se determinó la viscosidad a 37 º y 42 ºC mediante el viscosímetro de cilindros coaxiales, *Haake VT500*.

A- Estudios de liberación del EHM *in vitro*

- Células de Franz: 17 ml
- Membrana artificial: Polisulfona (0.45µm) superficie de membrana de 2.54 cm^2, elegida previo estudio de selección.
- Temperatura: 37º y 42 º C

- Muestreo: 6 horas
- Medio de disolución: Etanol/agua (60/40) (Condiciones SINK).
- Dosis ≈ 300 mg

* Estudio analítico: espectrofotometría UV: λ= 311nm. Previa validación de la metódica analítica.

B- Estudio de permeación *in vitro* del EHM

- Células de Franz: 17 ml
- Piel abdominal humana (0.4 mm de grosor) y área de 2.54 cm^2.
- Temperatura: 37º y 42 º C
- Muestreo: 24 horas
- Medio de disolución: Etanol/agua (60/40) (Condiciones SINK).
- Dosis ≈ 300 mg

* Estudio analítico: Se determinaron por CLAE (Cromatografía Líquida de Alta Eficacia): λ= 311nm.
Previa validación de la metódica analítica.

Tratamiento estadístico

Apartado A: En los estudios de liberación mediante el ensayo de MAICE (3) se discriminó la función de ajustado, y posteriormente se compararon los parámetros a 37 º y 42 ºC mediante el test *t de Student*. En los estudios de permeación (apartado B) se realiza un test de comparación de medias no paramétricas *Kruskall Wallis* con los parámetros de permeación obtenidos a diferentes temperaturas.

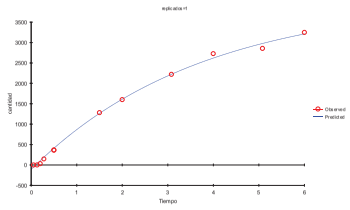
Resultados y Discusión

- Resultados de la liberación (A)

La elección del mejor ajustado no lineal a las cinéticas de liberación se realizó de acuerdo con el ensayo de MAICE. *Ver tabla 1.*

	AIC / 37 º C	AIC / 42 º C
Orden uno	117.4 ± 9.3	107.9 ± 26.8
Raíz cuadrada	142.6 ± 7.0	118.5 ± 23.7

Tabla 1. *Cuadro de cinéticas de la discriminación del modelo (AIC).*



Gráfica 1*. Representación gráfica de la liberación del EHM a 42 ºC.*

Según los datos obtenidos, tanto a 37 º C como a 42 º C, resulta ser la cinética de orden uno con periodo de latencia la elegida para estudiar la influencia de la temperatura, mediante un ensayo de comparación de medias ($p < 0.05$) a partir de sus parámetros. *Ver tabla 2.*

Parámetro	T (ºC)	N	Media	Desviación típica.	p
QMAX	37	7	6603.56	1198.00	0.000
	42	7	2854.74	810.88	0.000
KD	37	7	.181	.0519	0.004
	42	7	.488	.224	0.010
TL	37	7	.067	.034	0.286
	42	7	.044	.040	0.287

Tabla 2. *Valores medios de los parámetros de la función de orden uno.*

- Resultados de la permeación (B)

Con las cantidades permeadas del EHM se realizó el cálculo de parámetros por regresión lineal de acuerdo con un modelo de dosis infinitas (4). *Ver tabla 3.*

Parámetros de permeación del Etilhexyl metoxicinnamate en la emulsión A/O/A			
Parámetros	N	37 ºC	42 ºC
Kp (cm/h)	6	1.06E-04 (1.5E-05 – 3.3E-04)	1.21E-04 (1.91E-05 – 7.02E-04)
J/SUP (µg/h·cm^2)	6	5.13 (0.72 – 16.04)	5.81 (0.91 – 33.75)
Tl (h)	6	6.5 (4.5 – 7.8)	5.6 (2.4 – 13.8)

Tabla 3. *Parámetros de permeación expresados en mediana, límites mínimo y máximo y número de replicados (n) del EHM a las distintas temperaturas.*

Conclusiones

La liberación del filtro solar Etilhexyl metoxicinnamate se ve afectada negativamente por el aumento de la temperatura de 37 a 42 º C y se ha constatado que ello no es atribuible a la degradación del principio activo. Una explicación sería el efecto del aumento de la viscosidad que experimenta la fórmula al aumentar la temperatura. Sin embargo, no se puede extrapolar esta afirmación a la permeación del EHM ya que no se encuentran diferencias significativas entre los valores de los parámetros obtenidos a las distintas temperaturas.

Bibliografía

(1) Jiang R., Roberts M.S., Collins D.M., Benson H. British J. Clinical Pharmacology 48: 4, 635-637 (1999).
(2) E. Torres, C. Barbé, M. Aróztegui, J. Suñer Carbó, L. Halbaut. Formulations of multiple emulsion from stable W/O dispersed systems. 5th World meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Geneva, Switzerland from 27th to 30th march 2006.
(3) J. Doménech, J. Martínez, J.M.Plá, Biofarmacia y Farmacocinética, II, Síntesis. Madrid. Spain. 1998.
(4) Hashida M, Okamoto H, Sezaki H. J Pharmacobio-Dyn, 11, 636-644 (1988).

Agradecimientos: Los autores quieren agradecer a Xavier Lorente y a las empresas Química Massó, Merck, Isisa por su cooperación. Así como agradecer al Dr. Humet del Hospital de Barcelona, SCIAS por proveer muestras de piel humana excedente de cirugía plástica.

P-39 INTERACCION DE PLURONIC CON CICLODEXTRINAS: EFECTO SOBRE LA SOLUBILIDAD DE CICLOPIROX

Nogueiras-Nieto, L., Alvarez-Lorenzo, C., Otero-Espinar, F.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. 15782-Santiago de Compostela.
e-mail: ffrotero@usc.es

Introducción

La combinación de ciclodextrinas con bajas proporciones de polímeros hidrofílicos potencia la estabilidad de los complejos de inclusión y la capacidad solubilizante de las ciclodextrinas (1). No obstante, si se combinan con polímeros anfifílicos, como los Pluronic®, se puede inducir la penetración de la región hidrofóbica del polímero en la cavidad de la ciclodextrina, dando lugar a la formación de pseudopolirotaxanos (2). Los Pluronic® son copolímeros bloque formados por poli(óxido de etileno) (PEO)-co-poli(óxido de propileno) (PPO)-co-poli(óxido de etileno) (PEO) capaces de dar lugar a micelas poliméricas con un gran potencial como portadoras de fármacos hidrofóbicos y de formar geles sensibles a la temperatura y de películas continuas cuando sus disoluciones se extienden y desecan sobre las superficies corporales (3). Su interacción con ciclodextrinas puede producir importantes alteraciones en el proceso de micelización al modificar el balance hidrofílico/lipofílico del polímero, lo que puede alterar su efectividad solubilizante y su aptitud para formar películas. En esta comunicación se analizan las posibilidades que ofrece la formulación conjunta de derivados de β-ciclodextrina con Pluronic® F127, para hidrosolubilizar ciclopirox (Figura 1), fármaco que se aplica en formas líquidas sobre las uñas para el tratamiento de las onicomicosis.

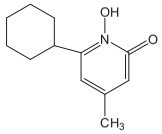


Figura 1. *Estructura del ciclopirox.*

Materiales y Métodos

Materiales

Pluronic® F127 (PF127; PEO_{99}-PPO_{59}-PEO_{99}; 12600 Da) de Sigma-Aldrich (España); ciclopirox olamina de Roig Farma (España); metil-β-ciclodextrina (MBCD, CRYSMEB) e hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPBCD) de Roquette (Francia); agua purificada por ósmosis inversa (MilliQ®, Millipore Spain).

Tensión superficial

Se prepararon disoluciones de PF127 de concentraciones comprendidas entre 10^{-7} y 10^{-2} M en agua o en presencia de ciclodextrina al 5-10%, y se dejaron en reposo al menos 24 horas antes de su caracterización. Las medidas de tensión superficial se llevaron a cabo, por triplicado a 25ºC, en un tensiómetro Lauda TD1 (Alemania).

Calorimetría isoperiférica

La valoración calorimétrica del proceso de micelización del PF127 se efectuó a 310.0K en un calorímetro Tronac-450 (Tronac Inc., Orem, Utah), vertiendo la disolución de PF127 al 10% (2 ml) sobre el vaso de reacción con 47.5 ml de disolución de ciclodextrina al 5%. La entalpía aparente de reacción y los restantes parámetros calorimétricos se estimaron a partir de los cambios de temperatura que se registraron en el vaso y de los datos de calibración térmica obtenidos tras el ensayo (4). El calor integral del proceso de agregación PF127-ciclodextrina (Q_{agg}) se estimó sustrayendo a la energía aparente de reacción (Q_p), la energía correspondiente a los procesos de dilución/desmicelización del PF127 (Q_d) y de dilución de la ciclodextrina (Q_c, que en el caso de MBCD y HPBCD fue indetectable).

Solubilización de ciclopirox

Se prepararon disoluciones saturadas de ciclopirox mezclando cantidades suficientes de principio activo con 5-10 ml de disolución de PF127 al 10%, sin y con ciclodextrina al 5-10%, en tubos con tapón de rosca. Los tubos se sometieron a agitación (20ºC, 70 oscilaciones/min) durante 3 días. La concentración de fármaco disuelto se determinó espectrofotométricamente (308 nm, Agilent 8453, Alemania) en muestras filtradas (acetato de celulosa, 0.45 µm).

Resultados y Discusión

La concentración crítica micelar del PF127 en agua a 25ºC se sitúa en torno al 0.1-0.2% ($7.94 \cdot 10^{-5}$-$1.58 \cdot 10^{-4}$M). La incorporación de un 10% de HPBCD y, en mayor medida, de MBCD provocó un incremento en los valores de tensión superficial de las disoluciones diluidas de PF127. Este efecto se manifestó hasta $5 \cdot 10^{-5}$ M PF127 en

el caso de HPBCD, y hasta $5{\cdot}10^{-4}$ M PF127 en el de MBCD (Figura 1). Este incremento indica que los unímeros de PF127 interaccionan con las ciclodextrinas, abandonando la interfase agua-aire. El incremento que experimenta la CMC pone de manifiesto también una intensa complejación con MBCD.

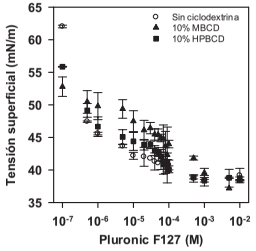


Figura 1. *Influencia de la MBCD o la HPBCD en la tensión superficial de las disoluciones de PF127 a 25ºC.*

En la Figura 2 se muestran las entalpías de desmicelización de PF127 obtenidas al verter una disolución concentrada de copolímero sobre agua o una disolución de ciclodextrina al 5%. En agua se produjo la rotura de las micelas hasta alcanzar una concentración en el dewar del 0.1% (CMC), siendo el proceso de dilución-desmicelización fuertemente exotérmico. Cuando el PF127 se vertió sobre una disolución de ciclodextrina, se registraron valores más elevados de entalpía, lo que indica que ambas ciclodextrinas interaccionan con PF127 y que la formación de complejos incrementa el carácter hidrofílico del copolímero y promueve su interacción con el agua. Este efecto es especialmente manifiesto en el caso de la ciclodextrina más hidrófila, MBCD.

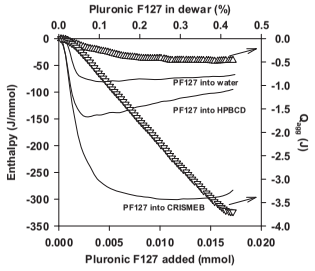


Figura 2. *Perfiles calorimétricos del proceso de dilucíón-desmicelización e interacción del PF127 con MBCD o HPBCD.*

En conjunto, los valores de tensión superficial y los parámetros termodinámicos indican que la MBCD es capaz de alojar espontáneamente segmentos de PF127. En este proceso en el que pueden intervenir interacciones de van der Waals entre los grupos PPO y la superficie interna de la cavidad de la ciclodextrina, y también la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos PEO y los grupos hidroxilo de la superficie externa de la ciclodextrina. Una vez superada la saturación de la unión, 0.3-0.4% PF127, no se producen cambios relevantes en el sistema.

La solubilidad del ciclopirox en agua se incrementó en presencia de PF127. Si bien la incorporación conjunta del copolímero y ciclodextrinas dio lugar a incrementos de solubilidad, un aumento de la concentración de ciclodextrina de un 5 al 10 % proporcionó incrementos menores a los que cabría esperar (Tabla 1). Este hecho está relacionado con la disminución del número de unidades de ciclodextrina libres y de micelas por efecto de la complejación entre ambas especies.

Medio	Solubilidad (mg/ml)
Agua	11.67 (0.40)
10% PF127	19.02 (0.96)
10% PF127+ 5% MBCD	25.20(1.42)
10% PF127 + 5% HPBCD	27.85 (1.36)
10% PF127 + 10% MBCD	29.45 (1.49)
10% PF127 + 10% HPBCD	31.18 (2.72)

Tabla 1*. Solubilidad del ciclopirox en disoluciones de distintas concentración de PF127 y/o ciclodextrina en HCl 0.1N.*

Conclusiones

Aunque la interacción de PF127 con HPBCD y, en especial, MBCD da lugar a un incremento de la CMC y a una disminución del número de ciclodextrinas disponibles para la complejación de fármacos, la combinación de PF127 y ciclodextrinas ofrece la posibilidad de incrementar la solubilidad del ciclopirox sin tener que acudir a proporciones elevadas de cada componente por separado. Además, la interacción PF127-ciclodextrina puede ser útil para modular otras propiedades del sistema que serán objeto de una posterior evaluación.

Bibliografía

(1) Loftsson, T., Masson, M. J. Drug Dev. Sci. Tech. 14, 35-43, 2004.

(2) Rodriguez-Perez, A.I. et al. J. Nanosci. Nanotechno. 6, 3179-3186, 2006.

(3) Kabanov, A.V. et al. J. Control. Release 82 189-212, 2002.

(4) Barreiro-Iglesias, R. et al. Int. J. Pharm. 258, 165-177, 2003.

P-40 LIBERACIÓN IN VITRO DE TEOFILINA EN COMPRIMIDOS DE MATRIZ HIDROFILA A BASE DE POLÍMEROS DE ÓXIDO DE ETILENO

Mozo Casado, M.A., Margarit Bellver, M.V. y Marín Boscá M.T.

Dpto. Farmacia y Tecnología farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja s/n, 18071 Granada (email: mtmarin@ugr.es)

Introducción

Los óxidos de polietileno de alto peso molecular (POEs) se han propuesto recientemente como alternativa a los derivados celulósicos en la formulación de comprimidos matriciales para administración oral, siendo uno de los aspectos más frecuentemente deseables una liberación del fármaco a velocidad constante para mantener sus niveles plasmáticos dentro del margen terapéutico y evitar así los picos y valles característicos de las formas de liberación convencionales con dosis múltiples.

Para evaluar la influencia relativa de los mecanismos de difusión del fármaco y la erosión del polímero en la liberación del fármaco, en este trabajo hemos estudiado el hinchamiento y la erosión de comprimidos matriciales con teofilina y dos tipos de POE, tratando de determinar si los tensioactivos laurilsulfato sódico (LSS) y cetrimida (CTAB) son capaces de alterar dichos mecanismos, modificando la liberación del fármaco.

Materiales y Métodos

Materiales

Como polímeros hidrofílicos se utilizaron dos tipos de POEs de distinto peso molecular (PM) Polyox®WSR 303 (PM=7.10^6) y Polyox®WSR 1105 (PM=9.10^5), suministrados por Dow Chemical Co. El fosfato cálcico dibásico dihidrato (Emcompress®) fue suministrado por Farma-química Sur, S.L. La teofilina anhidra, el estearato magnésico, LSS y CTAB, fueron suministrados por Guinama.

Elaboración de los comprimidos y ensayos

Los componentes de cada formulación (Tabla 1) se comprimieron en una prensa hidráulica a una presión de 4 Tons/3 min. Todos los comprimidos pesaron 500± 2 mg.

Los ensayos de disolución, hinchamiento y erosión se llevaron a cabo utilizando el aparato 2 de la USP 23 (paletas), en las mismas condiciones especificadas en un trabajo anterior (1). Los datos de disolución se ajustaron a las ecuaciones cinéticas propuestas por Peppas, Higuchi, orden cero y cinética mixta y se calculó la eficacia de disolución (ED %) de cada una de las fórmulas. Los porcentajes de erosión (E%) e hinchamiento (H%) se calcularon utilizando las ecuaciones indicadas en el trabajo antes citado (1).

Tabla 1: Composición (%) de las formulacio-nes estudiadas.

FÓRMULAS	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Teofilina	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Polyox® WSR303	30	30	30	30	30	---	---	---	---	---
Polyox® WSR1105	---	---	---	---	---	30	30	30	30	30
Emcompress®	19	14	9	14	9	19	14	9	14	9
Estearato Mg	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
LSS	---	5	10	---	---	---	5	10	---	---
CTAB	---	---	---	5	10	---	---	---	5	10

La correlación de la ED% con la erosión y el hinchamiento se estudió por regresión lineal simple ($p<0.05$).

Para estudiar la significación estadística de la diferencia entre las formulaciones ($p<0.05$) se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y un test de significación estadística de la diferencia entre las medias (L.S.D.).

Resultados y Discusión

Las figuras 1 y 2 muestran los perfiles de disolución de teofilina a partir de las formulaciones estudiadas.

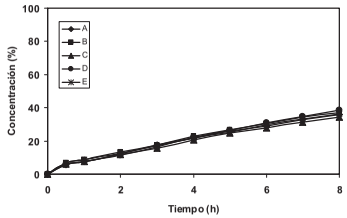


Figura 1: *Curvas de disolución de los comprimidos de Polyox®WSR 303*

En primer lugar se observa que los compri-midos elaborados con los POEs empleados dan lugar a una liberación gradual pero muy lenta para el derivado de alto PM, ya que a las 8 horas

de ensayo sólo se liberó entre un 34 y un 38 % de teofilina. Esto concuerda con los resultados obtenidos por otros investigadores (2) que lo atribuyen a los numerosos entre-cruzamientos de cadenas por unidad de volumen, reduciendo tanto la permeabilidad del medio de disolución que rodea al comprimido como la difusión de las moléculas de fármaco a través del estrato de gel. En el caso del polímero de bajo peso molecular el gel formado es de menor solidez, dando lugar a una mayor erosión al contactar con el medio de disolución y consecuentemente, a una mayor velocidad de liberación del fármaco.

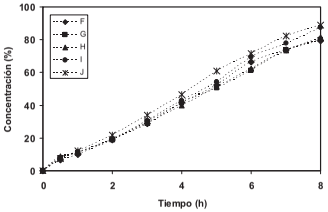


Figura 2: *Curvas de disolución de los comprimidos de Polyox®WSR 1105*

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las ED% de los comprimi-dos elaborados con cada uno de los polímeros, por lo que se podría decir que en ambos casos, las cinco formulaciones tienen un comportamiento de disolución similar.

Por otro lado, la cinética mixta fue la que mejor se ajustó (r^2>0.99) a los resultados de disolución de los comprimidos elaborados con ambos polímeros, predominando la difusión en las fórmulas Polyox®WSR 303 solo o con LSS y la erosión en los que llevan CTAB y en los de Polyox®WSR 1105.

Los resultados de erosión (figura 3) indican, de acuerdo con Maggi, L. (3), que la presencia del POE de alto PM produce un gel más fuerte y con menor tendencia a erosionarse que los de

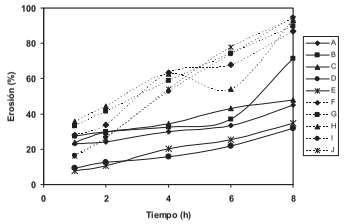


Figura 3: *Erosión (%) de los comprimidos estudiados.*

bajo PM. Además, al ser menor la velocidad de erosión, no se contrarresta la velocidad de hinchamiento, por lo que hay un aumento progresivo de grosor del gel.

El hinchamiento de los comprimidos con Polyox®WSR 303 es mayor que en los de Polyox®WSR 1105 (figura 4).

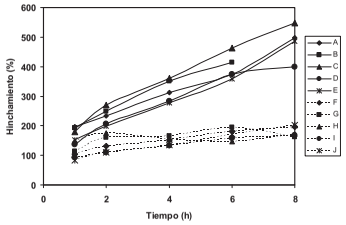


Figura 4*: Hinchamiento (%) de los compri-midos estudiados*

Tabla 2: Coeficientes de determinación de la correlación ED con H% y E%.

	ED- H%	ED- E%		ED- H%	ED- E%
	r^2	r^2		r^2	r^2
A	0,953	0,930	**F**	0,904	0,891
B	0,920	0,914	**G**	0,827	0,960
C	0,960	0,835	**H**	0,742	0,947
D	0,924	0,978	**I**	0,912	0,960
E	0,943	0,973	**J**	0,926	0,948

La correlación de la ED% frente al hincha-miento y la erosión (Tabla 2) coincide con los resultados aportados por Maggi L. (3) y por Wu N. (4), ya que el polímero de alto PM solo o con LSS consigue comprimidos en los que el hinchamiento se correlaciona con la ED% mejor que la erosión. Por el contrario en los que llevan CTAB y en los de Polyox®WSR 1105 la ED% se correlaciona mejor con la E%.

Conclusiones

Los comprimidos elaborados con Polyox®WSR 303 presentan una velocidad de liberación excesivamente lenta. En general, estos comprimidos presentan una liberación que se ajusta a una cinética mixta, predominando la difusión en las fórmulas Polyox®WSR 303 solo o con LSS y la erosión en los que llevan CTAB y en todos los formulados con Polyox®WSR 1105.

Bibliografía

(1) Mozo Casado, M.A., Marín Boscá, M.T. y Margarit Bellver, M.V.,VII Spanish-Portuguese Conference on Controlled Drug Delivery. Pamplona, 2006: p. 49.

(2) Moroni A., Ghebre- Sellassie I., Drug Dev. Ind. Pharm., 21, 12, 1411-1428 (1995)

(3) Maggi L. y cols., Int. J. Pharm., 195, 229-238 (2002)

(4) Wu N. y cols. J. Control. Rel., 102, 569-581 (2005)

P-41 MÉTODO ANALÍTICO POR HPLC PARA DETERMINAR METADONA EN PLASMA HUMANO.

Crivillé, A., Lastra, C. F., Modamio, P., Mariño E.L.

Unidad de Farmacia Clínica y Farmacoterapia (http://www.ub.es/farcli/wp0.htm)
Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia.
Universidad de Barcelona. Av. Joan XXIII s/n. 08028, Barcelona
e-mail: emarino@ub.edu

Introducción

La metadona (Figura 1) es un opioide sintético agonista de los receptores μ, que se introdujo en el mercado para el tratamiento del dolor y la adición a la heroína (1).

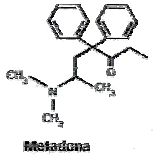


***Figura 1**. Estructura química de la metadona*

A pesar de ser un analgésico potente, en la práctica clínica se emplea fundamentalmente en la deshabituación y rehabilitación de los adictos a la heroína (2-4). Se administra por vía oral y su semivida de eliminación es muy variable, entre 13-100 h (5).

El objetivo del presente estudio ha sido el desarrollo y validación de una metódica analítica para la determinación de metadona en plasma humano, mediante cromatografía líquida de alta eficacia.

Materiales y Métodos

El estudio se llevó a cabo mediante cromatografía líquida en fase reversa acoplada a un detector UV-visible.

El análisis cromatográfico se realizó a temperatura ambiente, con una columna Luna C18 fase reversa, 5μm, 150×4,6 mm (Phenomenex®) y una precolumna C18 ODS, Octadecyl, 4×3,0 mm (Phenomenex®). La fase móvil consistió en acetonitrilo-tampón fosfato ajustado con ácido fosfórico a pH 5 (40:60, v/v), eluida isocráticamente a 1 ml/min. El detector UV-visible se monitorizó a 215 nm.

Previamente al análisis, las muestras se procesaron mediante extracción líquido-líquido, de acuerdo con el procedimiento siguiente: a 1ml de plasma se le añadió 1 ml de tampón borato y se agitó mediante vórtex. A continuación se extrajo con hexano-etilacetato, y se agitó durante 10 min en un mezclador rotatorio. Se descartó la fase acuosa y la orgánica se transfirió a un tubo para ser evaporada en corriente de nitrógeno y a temperatura de 50±1ºC. El residuo se reconstituyó con 100 μl de ácido clorhídrico 0,1 M, y se inyectaron en el cromatógrafo alícuotas de 50 μl.

La validación del método analítico (6) se inició con el ensayo de linealidad. Para éste se prepararon 3 rectas de calibrado en plasma humano proveniente de diferentes donantes, dentro del rango de concentraciones seleccionado de 50-600 ng/ml.

Para los ensayos de precisión y exactitud intra e inter-día se escogieron tres concentraciones (alta, media y baja), dentro del rango de concentraciones de la recta de calibrado, que fueron 100, 300 y 400 ng/ml. Dichas concentraciones se prepararon por quintuplicado (variabilidad intra-día) y se repitió la misma pauta, durante cinco días (variabilidad inter-día).

Resultados y Discusión

En las figuras 2 y 3 se muestran cromatogramas representativos del análisis de metadona, obtenidos con el método analítico desarrollado.

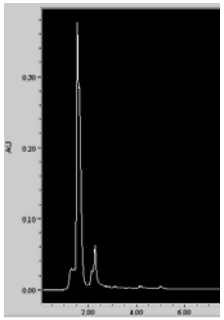


***Figura 2**. Cromatograma representativo del análisis de una muestra blanco de la matriz biológica.*

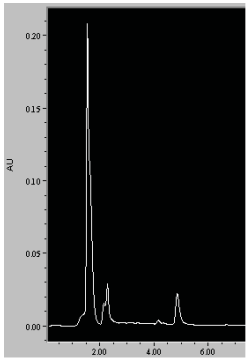


Figura 3. *Cromatograma representativo del análisis de una muestra de metadona en el límite de cuantificación (50 ng/ml).*

El tiempo de retención aproximado de metadona resultó ser de 4,9 min.

Los resultados obtenidos en el ensayo de linealidad (Tabla 1) permitieron comprobar la existencia de una buena correlación entre el área y la concentración dentro del rango de concentraciones estudiado.

Área = -13,799 + 0,787·Concentración		
r	Error estándar de la pendiente	F
0,994	18,56	942,43

Tabla 1. *Resultados del ensayo de linealidad.*

Respecto a la precisión intra-día, el coeficiente de variación (CV) presentó un valor de 9,57% para la concentración de 100 ng/ml y un valor de 5,92% para la de 400 ng/ml.

En el ensayo de precisión inter-día se obtuvo un CV de 9,52% para la concentración de 100 ng/ml, y un CV de 9,28 % para la de 400 ng/ml.
El ensayo de exactitud permitió obtener el porcentaje de desviación o error relativo (ER) en relación al valor de concentración teórico. El ER intra e inter-día presentó un valor máximo de -1,02 % y de 0,39%, respectivamente, ambas para la concentración de 100 ng/ml.

Conclusiones

A la vista de los resultados obtenidos en los ensayos de validación, todos los valores se encuentran dentro de los aceptados cuando se trabaja con muestras biológicas, por lo que se dispone de una metódica analítica apta para la correcta cuantificación de niveles plasmáticos de metadona procedentes, entre otros, de pacientes incluidos dentro de un programa de mantenimiento con metadona.

Bibliografía

(1) Kukanich, B. et al. Ther. Drug Monit. 27, 389-392. 2005.
(2) Rudaz, S. et al. Chirality. 11, 319-325. 1999.
(3) Boulton, D.W. et al. Chirality. 12, 681-687. 2000.
(4) Whittington, D. et al. J. Chromatogr. B. 809, 313-321. 2004.
(5) Foster, D.J.R. et al. Br. J. Clin. Pharmacol. 50, 427-440. 2000.
(6) Modamio, P. et al. in R. Salazar (Editor). Análisis y control de medicamentos. Romargraf, L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona), 689-718. 2005.

P-42 MICELAS POLIMÉRICAS DE TETRONIC QUE RESPONDEN A CAMBIOS DE pH Y FUERZA IÓNICA

González-López, J.,[a] Fernández-Tarrio, M.,[b] Alvarez-Lorenzo, C.,[b] Sández-Macho, I.,[a] Concheiro, A.[b]

[a] Departamento de Química Física y [b] Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. 15782-Santiago de Compostela.
e-mail: ffancon@usc.es

Introducción

Las micelas poliméricas con núcleo hidrofóbico y corona hidrofílica tienen un gran potencial como portadoras de fármacos hidrofóbicos, por su baja concentración crítica micelar (CMC) y su elevada estabilidad frente a la dilución (1). Las micelas sensibles a cambios de pH resultan, además, útiles para ceder fármacos de manera específica en ciertas zonas del tracto gastrointestinal, en tejidos que sufren procesos patológicos acompañados de acidosis o en el interior de determinados compartimentos celulares (2). Los Tetronic® son copolímeros formados por cuatro cadenas de poli(óxido de propileno) (PPO) –co-poli(óxido de etileno) (PEO) unidas entre sí a través de un grupo etileno diamina (Figura 1). Aunque se suelen considerar no iónicos, este grupo central es susceptible de ionizarse lo que puede producir importantes alteraciones en el comportamiento asociativo de los unímeros y en las propiedades de las micelas resultantes (3). Esto sugiere que podrían ser útiles como componentes de sistemas sensibles a estímulos. A diferencia de sus homólogos los Pluronic®, la utilización de los Tetronic® en biomedicina es todavía incipiente y la información acerca de sus propiedades de agregación muy limitada (3). En este comunicación se evalúa la influencia del pH y de la fuerza iónica del medio en la micelización del Tetronic® 904 y en su capacidad de solubilización de un fármaco hidrofóbico.

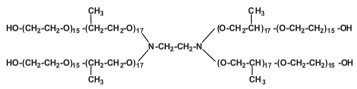


Figura 1. *Estructura del Tetronic® 904 (T904).*

Materiales y Métodos

Materiales

Tetronic® 904 (T904, 6700 Da, HLB 12-18) de BASF Corporation (New Jersey, USA); griseofulvina de Sigma-Aldrich (España); agua purificada por ósmosis inversa (MilliQ®, Millipore Spain).

Valoración potenciométrica

Se registró el cambio de pH (Crison GLP22, Barcelona) producido en mezclas de T904 0.01M (25 ml) y HCl 0.01M (25 ml) al incorporar volúmenes crecientes de NaOH 0.01M.

Preparación de disoluciones de T904

Se prepararon disoluciones de T904 (10-20% p/p) en agua, NaCl 0.9%, HCl 0.1M, HCl 0.01M, NaOH 0.02M, HCl 0.01M/NaCl 0.9% y tampón fosfato de pH 5.8 ó 7.4, y se dejaron en reposo al menos 24 horas antes de su caracterización.

Calorimetría isoperiférica

La valoración calorimétrica del proceso de micelización del T904 se llevó a cabo a 310.0K en un calorímetro Tronac-450 (Tronac Inc., Orem, Utah), vertiendo la disolución de T904 al 10% (previamente cargada en la bureta, 2 ml) en el vaso de reacción conteniendo el medio de disolución (47.5 ml). La entalpía aparente de reacción y los restantes parámetros calorimétricos se estimaron a partir de los cambios de temperatura registrados en el vaso y de los datos de la calibración térmica realizada tras el ensayo (4).

Dispersión de luz laser (DLS)

El tamaño de las micelas se determinó en un equipo de DLS equipado con un sistema óptico ALV-5000F y una fuente laser Nd:YAG (400 mW, 532nm) (Coherent Inc., Santa Clara CA, USA).

Solubilización de griseofulvina

Se añadieron 4 ml de T904 al 10% sobre 40 mg de griseofulvina en ampollas de vidrio. Una vez selladas, las ampollas se sometieron a agitación (25ºC, 50 rpm) durante 5 días. Las muestras se filtraron (acetato de celulosa, 0.45 µm) y se determinó espectrofotométricamente la concentración de griseofulvina disuelta (294 nm, Agilent 8453, Alemania). La capacidad solubilizante por gramo o por mol de T904 se estimó como el incremento en la cantidad de griseofulvina disuelta respecto de la obtenida en los medios correspondientes en ausencia de copolímero.

Resultados y Discusión

El T904 presenta dos pKa_s, 4.0 y 7.9, lo que indica que en medios de pH comprendido entre estos dos valores predomina la forma monoprotonada. Dado que la deprotonización es una condición previa imprescindible para la autoagregación de las cadenas de T904, la posibilidad de que se formen micelas a un determinado pH dependerá del balance entre las energías libres de micelización y protonización (3). Aunque en todos los medios estudiados el proceso de desmicelización fue exotérmico, se observaron notables diferencias tanto en la entalpía como en el valor de la CMC (Tabla 1). A pH ácido, el proceso de micelización se ve dificultado por la ionización del grupo central etileno diamina, con lo que la CMC toma valores más elevados y la entalpía y la entropía asociadas al proceso disminuyen. La presencia de iones atenúa la repulsión electrostática y facilita la micelización.

Medio	X_{cmc}	ΔH_{mic} (KJ/mol)	ΔG_{mic} (KJ/mol)	ΔS_{mic} (J/molK)
Agua (pH 8.5)	$2.69 \cdot 10^{-6}$	168	-49.56	701
Tampón pH 7.4	$2.42 \cdot 10^{-6}$	161	-49.97	680
Tampón pH 5.8	$7.00 \cdot 10^{-6}$	261	-61.15	1039
HCl 0.01M (pH 6.0)	$7.00 \cdot 10^{-6}$	167	-61.15	735
HCl 0.01M + NaCl 0.9% (pH 6.0)	$7.00 \cdot 10^{-6}$	255	-61.15	1019
HCl 0.1M (pH 1.2)	$1.08 \cdot 10^{-5}$	60	-88.40	478

***Tabla 1**. Valores CMC (fracción molar) y parámetros termodinámicos del proceso de micelización del T904.*

El tamaño de las micelas en medio ácido fue significativamente menor que el obtenido en medio neutro-alcalino (Figura 1).

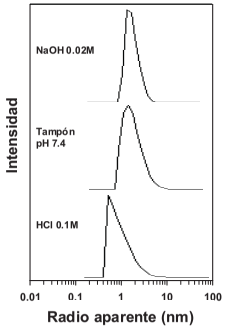


***Figura 1.** Influencia del pH en la distribución de tamaños de las micelas de T904 a 37ºC.*

Los cambios en la CMC y la confomación de las micelas asociados a las modificaciones de pH tienen repercusiones muy acusadas en la capacidad solubilizante del T904 (Figura 2). En medio HCl 0.1M la solubilidad de la griseofulvina se triplica si T904 está presente, mientras que en medios de pH neutro-alcalino, el número de micelas se incrementa y la solubilidad se multiplica por seis.

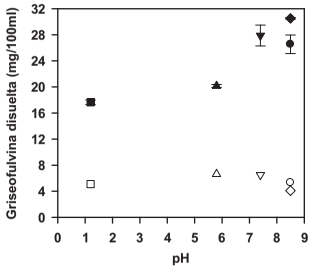


***Figura 2.** Solubilidad de la griseofulvina en medios de distinto pH preparados sin (símbolos vacíos) o con (símbolos llenos) T904 al 10%.*

Conclusiones

T904 no puede ser considerado un copolímero no iónico dado que sus propiedades de agregación están fuertemente condicionadas por el pH y la fuerza iónica del medio. A pH ácido, el grupo central se encuentra protonizado y los unímeros se repelen, lo que dificulta el proceso de micelización. Estas alteraciones en la auto-asociación deben ser tenidas en cuenta cuando se diseñen formulaciones en las que se utilicen Tetronics como portadores de fármacos y, si se modulan convenientemente, pueden servir de base para el desarrollo de sistemas de liberación modificada.

Bibliografía

(1) Kabanov, A.V. et al. J. Control. Release 82 189-212, 2002.

(2) Moghimi, S.M.; Hunter, A.C. TIBTECH 18, 412-420, 2000.

(3) Dong, J. et al. Thermochim. Acta 417, 201-206, 2004.

(4) Fernández-Tarrío, M. et al., J. Thermal Anal. Calorim. (en prensa).

Agradecimientos

MEC (RYC2001-8; SAF2005-01930), FEDER y Xunta de Galicia (PGIDIT05BTF20301PR).

P-43 MICROENCAPSULACIÓN DE INSULINA Y CARACTERIZACIÓN POR RP-HPLC.

Presmanes, C., Torrado, J.J.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid (UCM). Plaza Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid
e-mail: menchupres@hotmail.com

Introducción

Dentro de las moléculas peptídicas activas terapéuticamente, la insulina se considera una molécula modelo. Desde el punto de vista farmacéutico, debido a la corta vida media de las proteínas, es importante conseguir una liberación controlada de las mismas, para mejorar su eficacia terapéutica y al mismo tiempo mejorar el seguimiento posológico por parte del paciente (1, 2). Para ello, uno de los sistemas más difundidos son las microesferas que contienen un polímero biodegradable, como es el caso de los copolímeros de ácido láctico y glicólico. Estos polímeros, aprobados por la FDA para su uso en humanos, se hidrolizan en moléculas que se eliminan fácilmente por el organismo (2). Pero tienen el inconveniente de producir acidificación del medio en el proceso de degradación (3). También hay que tener en cuenta la perdida de eficacia producida por la baja estabilidad de las proteínas durante el proceso de encapsulación (1-2, 4).

La insulina, se caracteriza por su baja estabilidad, ya que es susceptible a la degradación química y física. Una de las principales vías de degradación química es la desamidación, que se produce en medio ácido y básico (1, 5). Por ello, analizamos la molécula por RP-HPLC, puesto que es un método capaz de detectar y cuantificar la insulina y desamido-insulina.

Materiales y Métodos

Materiales

Insulina humana (Humulina® regular, Lilly S.A., Madrid), PLGA (Resomer® 503H, Boehringer Ingelheim, Alemania), diclorometano estabilizado con amileno (Panreac Química S.A., Barcelona), alcohol polivinílico 3-96 (Fluka Chemie, Alemania), acetonitrilo supergradiente (Labscan Ltd., Irlanda), ácido trifluoroacético (Panreac Quimica S.A., Barcelona), Tween 20 (Laboratoriums-Reagenzien).

Elaboración de microesferas.

Las microesferas se elaboraron mediante la técnica doble emulsión-evaporación del solvente. Se preparó una fase interna que contiene una solución de Humulina® liofilizada (33,33 µg/ml insulina) y una fase oleosa con PLGA disuelto en diclorometano que se emulsificaron con un homogenizador Ultraturrax® (13000 rpm, 2 min). Esta primera emulsión obtenida, se homogeneizó de la misma manera con una solución de PVA (2%) en tampón fosfato pH 7,4. La maduración se realizó con agitación a temperatura ambiente durante 4 horas. Después se centrifugaron (6500 rpm, 30 min) con tres lavados con agua. Finalmente, se liofilizó para obtener unas microesferas de insulina completamente secas.

	W1	O	W2
H1	15 mg insulina 150 µl ác. acético 300 µl sol. Tween 20 (15 mg/ml) en t. fosfato pH 6,0	375 mg PLGA 7,5 ml DCM	300 ml PVA (2%) en t. fosfato pH 7,4
H2	15 mg insulina 150 µl ác. acético 300 µl sol. Tween 20 (15 mg/ml) en t. fosfato pH 6,0	750 mg PLGA 15 ml DCM	300 ml PVA (2%) en t. fosfato pH 7,4
H3	15 mg insulina 150 µl ác. acético 300 µl tampon. fosfato pH 6,0 (Sin Tween 20)	375 mg PLGA 7,5 ml DCM	300 ml PVA (2%) en t. fosfato pH 7,4

Tabla 1: Formulaciones de microesferas elaboradas.

Pérdida de insulina en el agua de lavado

En el proceso de centrifugación de las microesferas, se tomaron muestras del agua de lavado para analizarlo por RP-HPLC y calcular el porcentaje de insulina perdido en ese paso del proceso.

Ensayo de riqueza y eficacia de encapsulación.

Se pesan 10 mg de microesferas y se añade un mililitro de diclorometano para disolver el polímero, se agitan en vortex durante 2 minutos y se dejan en reposo 20 minutos. Se añaden 2 ml de HCl 0,01 N para extraer la insulina y se centrifuga (6000 rpm, 3 min) para separar la fase acuosa. Se repite la extracción, se mezclan los dos sobrenadantes, se diluyen con una solución de HCl 0,01 N y se analiza por RP-HPLC.

Análisis de insulina por RP-HPLC.

En el análisis de insulina por RP-HPLC se utilizó una columna C_{18} de pureza ultraelevada (5 µm, 300 Å, 250 x 4,6 mm), dos fases móviles que se van mezclando a lo largo del análisis. La fase

móvil A contiene 0,1% TFA, 30% ACN y agua desionizada; la fase B, 0,1% TFA y ACN. Las características del método analítico son las siguientes: temperatura ambiente, longitud de onda de 220 nm, un flujo de 1,5 ml/min y un volumen de inyección de 100 µl. Se realizó un gradiente diferenciado en dos etapas, en la primera aumenta muy lentamente la fase móvil B para conseguir separar la insulina y desamidoinsulina, mientras que en la segunda aumenta considerablemente la fase móvil B, para eliminar las impurezas que quedan en la columna entre los análisis de las muestras. Después de cada gradiente, es necesario esperar a que la columna se estabilice de nuevo con la fase móvil inicial.

Tiempo (min)	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)
0,0	100	0
20,0	97	3
25,0	50	50

Tabla 2: Gradiente de eluyentes en el análisis de insulina por RP-HPLC.

Resultados y Discusión

En todos los cromatogramas obtenidos del análisis de insulina se identifica claramente el pico de insulina. Cuando se analiza la insulina a partir de la solución de Humulina®, se consigue separar la insulina de uno de los excipientes de la solución (m-cresol), esta posible interferencia ya no aparece al analizar la Humulina® liofilizada, puesto que se volatiliza en el proceso de liofilización. Esto, facilita los análisis de microesferas de insulina, puesto que esta interferencia no existe al analizar dichas muestras.

Además es capaz de detectar y cuantificar la insulina cedida *in vitro* en un medio de cesión que contiene tampón tris pH 7,4; azida de sodio al 0,02% y tween 80 al 0,02%. También, se identifican los productos de desamidación, formados por una acidificación del medio, que se produce por la hidrólisis del polímero.

En la tabla 3, podemos observar los resultados obtenidos en los tres lotes de microesferas del ensayo de riqueza, eficacia de encapsulación y la pérdida de insulina en el agua de lavado

Como podemos observar en la tabla, no se ve diferencia significativa en los resultados de las formulaciones H1 y H2 de eficacia de encapsulación y del porcentaje de insulina perdido en las centrifugaciones durante el proceso de microencapsulación. Por lo tanto, el porcentaje del polímero añadido en la fase oleosa de la formulación no afecta a estos parámetros. Aunque, es posible que afecte al efecto burst que se produce en la cesión de la insulina.

	H1	H2	H3
Pérdida en lavado (%)	28,18	29,5	22,09
Riqueza (%)	2,58	1,36	3,27
E.E. (%)	67,31	69,34	85,19

Tabla 3. Resultados medios de las formulaciones H1, H2 y H3 en los ensayos realizados.

Por el contrario, podemos afirmar que la formulación donde se ha producido menor pérdida de insulina con el agua de lavado y mayor eficacia de encapsulación, es aquella donde no se le ha añadido un tensoactivo en la fase interna acuosa, que teóricamente es un componente que estabiliza la primera emulsión en la formulación y parece ser que empeora la incorporación de la insulina dentro del polímero en la microencapsulación.

Conclusiones

El método de RP-HPLC que hemos puesto a punto es capaz de analizar selectivamente la insulina humana a partir de distintas formulaciones. Podemos analizar la insulina procedente de la formulación de Humulina® regular, de esa formulación liofilizada, la insulina que se pierde en el proceso de lavado, y la que se encuentra encapsulada en las microesferas. Por lo tanto, es un método apto para detectar y cuantificar la insulina como principio activo, cuando se analiza durante el proceso de microencapsulación y en el producto acabado. De tal manera, que podemos cuantificar comparativamente la insulina en los distintos ensayos de la caracterización de microesferas de insulina.

Bibliografía

(1) De Rosa G. et al. Journal of Controlled Release. 69, 283-295. 2000.

(2) Van de Weert, M. et al. Pharm. Res. 17, 1159-1167. 2000.

(3) Fu, K. et al. Pharmaceutical Research. 17, 100-106. 2000.

(4) Pistel, K.F., Kissel, T. Journal of Microencapsulation. 17, 467-483. 2000.

(5) Brange, J. et al. Pharmaceutical Research. 9, 715-726. 1992.

P-44 MICROESFERAS DE ALGINATO – GANTREZ® CONTENIENDO CLORHIDRATO DE LIDOCAÍNA PARA ADMINISTRACIÓN EN MUCOSA BUCAL. ESTUDIO DEL PROCESO DE LIBERACIÓN

Salas, S., Talero, B., Rabasco, A.M., González-Rodríguez, M.L.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/ Prof. García González, 2. 41012 Sevilla. España.
e-mail: amra@us.es

Introducción

Una estrategia para aumentar el tiempo de permanencia del fármaco en la cavidad oral se basa en incorporar en la formulación de las microesferas algún polímero que favorezca la bioadhesión a la mucosa.

En estudios previos llevados a cabo sobre estas formulaciones se han conseguido optimizar diferentes parámetros de formulación y elaboración (Salas y cols., 2006a).

En el presente trabajo se pretende analizar la liberación de estos sistemas mediante la aplicación del diseño experimental.

Materiales y Métodos

- Preparación de las microesferas

Las microesferas de alginato cálcico se prepararon por el método de emulsificación siguiendo las siguientes etapas: **A.** Formación de una emulsión A/O. La fase acuosa consiste en una suspensión acuosa de carbonato cálcico micronizado al 5 % p/v en una solución acuosa con diferentes cantidades de clorhidrato de lidocaína (0,3 %, 0,65 % y 1 % p/v), a la cual se añade alginato sódico (2 % p/v) hasta su completa disolución. La suspensión preparada se adiciona gota a gota en una mezcla de miristato de isopropilo (70 mL), diclorometano (30 mL) y Span® 80 (3 mL) utilizando un homogenizador Eurostar IKA a 1000 r.p.m. Se deja reaccionar durante 20 minutos con el fin de favorecer la formación de la emulsión A/O. **B.** Gelificación iónica, al adicionar a la emulsión 20 mL de miristato de isopropilo en el que previamente han sido disueltos 500 µL de ácido acético glacial, para iniciar así la reacción. En esta etapa tiene lugar la gelificación de las gotículas de la fase interna de la emulsión, tras la reacción entre el alginato sódico y el carbonato de calcio solubilizado en medio ácido. **C.** Separación de fases con la ayuda de 50 mL de acetato de etilo y centrifugación a 3000 r.p.m durante 5 minutos y, lavado con 200 mL de acetato de etilo. Para endurecerlas, se realizaron distintos lavados de 100 mL con acetona (1, 2 o 3). Finalmente, se secan las microesferas a temperatura ambiente hasta peso constante.

La adición del Gantrez® (100, 400 y 700 mg) se realizó de tres formas distintas durante el proceso de elaboración: a) en la disolución acuosa lidocaína-alginato. b) en la fase intermedia, antes de iniciar la gelificación iónica. c) en la fase final del ensayo, después de separar las microesferas de la emulsión formada.

- Estudios de liberación *in vitro*

Se llevaron a cabo utilizando como medio de disolución saliva artificial (100 mL), realizándose por duplicado. La valoración del principio activo en las muestras procedentes de los estudios de liberación se llevó a cabo por HPLC según método validado anteriormente (Salas y cols., 2006b). Se calcularon los parámetros de disolución: Area Bajo la Curva (ABC) y Tiempo Medio de Disolución (TMD).

- Diseño experimental

Se estudiaron cuatro factores y 3 niveles (Tabla 1). Para este estudio se seleccionó una matriz de Plackett – Burmann (9 experimentos). La evaluación estadística de los resultados fue realizada por el análisis de varianza (ANOVA), utilizando el programa estadístico DOE-Pack 2000.

Lote	Cantidad Gantrez®	Modo adición	Cantidad lidocaína	Lavados acetona
1	3	2	3	3
2	3	3	1	1
3	3	1	2	2
4	1	1	3	1
5	1	2	1	2
6	1	3	2	3
7	2	3	3	2
8	2	1	1	3
9	2	2	2	1

Tabla 1. Matriz seleccionada correspondiente al diseño de Plackett-Burman.

Resultados y discusión

La Figura 1 representa los perfiles de liberación obtenidos para cada una de las formulaciones ensayadas, expresadas como porcentaje de liberación de lidocaína acumulado.

Puede apreciarse la existencia de dos tipos de perfiles distintos con existencia de una liberación difusional del fármaco en la mayor parte de los perfiles obtenidos. También se aprecia un efecto "burst", más acusado cuanto menor es la cantidad de polímero de recubrimiento añadido a la formulación (Ensayo 4).

Cuando se analizaron las partículas por Microscopía Electrónica de Barrido (Figura 2), se pudo apreciar la distinta morfología superficial que presentaban las distintas formulaciones, mostrando una superficie más rugosa a medida que se incrementaba la cantidad

de polímero bioadhesivo debido a la interacción del Gantrez® con el alginato durante el proceso de fabricación.

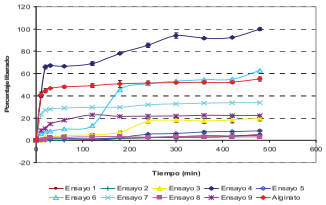


Figura 1. Perfiles medios de liberación de clorhidrato de lidocaína para cada una de las formulaciones estudiadas.

Ello hace que la matriz sea más consistente y dificulte la salida del fármaco (Chang y cols., 2005). En cambio, cuando la cantidad de Gantrez® disminuye, las partículas son totalmente esféricas y de superficie lisa, dando lugar a unas estructuras menos porosas pero más finas, que facilitan la salida del fármaco por difusión (Figura 2B).

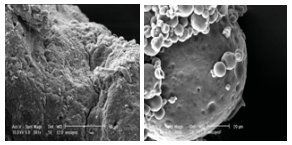


Figura 2. Microfotografías correspondientes a las formulaciones: A) 3 y B) 6.

Con el fin de caracterizar los perfiles de liberación obtenidos, se han calculado los parámetros: Area Bajo la Curva de disolución (ABC) y el momento estadístico de primer orden Tiempo Medio de Disolución (TMD).
Cuando se realizó el análisis de la varianza para estas respuestas, se observó que para el caso de las ABC, todos los factores fueron significativos, mientras que para el caso del TMD, la concentración de lidocaína no ejercía efecto significativo sobre esta variable.
Para el caso del ABC, resulta interesante destacar el efecto de contribución tan elevado que presenta la modificación de la cantidad de Gantrez® y de lidocaína añadido a la formulación, independientemente del modo de adición del mismo durante el proceso de fabricación, además de forma lineal. Puede apreciarse que cuando se incrementa la concentración de Gantrez® en las formulaciones, el ABC disminuye, hecho atribuible al efecto de recubrimiento que ejerce este polímero bioadhesivo sobre las microesferas, y que favorecen el control de la liberación del clorhidrato de lidocaína a partir de las mismas. Por otra parte, cuando se incrementa la cantidad de fármaco en las formulaciones, ocurre lo contrario, es decir, aumenta el ABC. Este resultado no es sorprendente si tenemos en cuenta los datos aportados por otros autores referentes a este fármaco (Cheng y cols., 2004), quienes demuestran que la estructura superficial de las microesferas se modifica aumentando su porosidad en presencia de lidocaína, favoreciendo, por tanto, su salida al medio de disolución.
Cuando se analiza el TMD en los perfiles de liberación obtenidos, se observa que de nuevo es el polímero el que influye mayoritariamente en esta respuesta, pero no de forma lineal como en el caso anterior. En este caso, la principal contribución la aporta el análisis del promedio entre el nivel 1 y 3 respecto al 2, por lo que este nivel medio habrá que tenerse en cuenta a la hora de optimizar esta respuesta.
Cuando se analizan los diagramas de Pareto para los parámetros de liberación estudiados, como interesa maximizar la respuesta ABC y minimizar el TMD, se recogen en la tabla 3 las conclusiones extraídas de dichas gráficas.

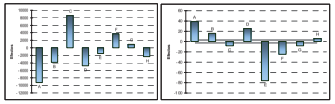


Figura 3. A) *Representación del diagrama de Pareto para el análisis de los efectos del ABC. B) Representación del diagrama de Pareto para el análisis de los efectos del TMD.*

Factor	Cant. polímero (mg)	Modo adición	Cantidad lidoc. (mg)	Lavados acetona
ABC	100	Final / Medio	1000	1
TMD	100 - 400	Final / Medio	1000	1

Tabla 2. Resultados del estudio de screening para los distintos parámetros de formulación.

Conclusiones

Este estudio revela la influencia principal del polímero Gantrez® en el proceso de liberación de lidocaína, tanto la cantidad añadida como el modo de adición durante el proceso de elaboración de las microesferas. Asimismo, hay que destacar el efecto que tiene el fármaco sobre los perfiles de liberación, a causa de la modificación que sufren las partículas en su superficie. Finalmente, el endurecimiento de las microesferas tras los lavados con acetona hace que se fije este parámetro en el número mínimo para posteriores estudios.

Referencias

Chang, J., Haiyan, L., (2005) J. Contr. Rel., **107**, 463–473
Chen, P., Park, P., Chang, L., Kohane, D., Barlett, R., Lauger, R., Yang, V., (2004) J. Biomed. Mater. Res. A. **70**, 412 – 419.
Salas, S., Gonzalez-Rodriguez, M.L., Rabasco, A.M., Fini, A. (2006a) 5th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Geneva.
Salas, S., Gonzalez-Rodriguez, M.L., Talero, B., Rabasco, A.M., (2006b) XV Congreso Nacional Farmacéutico. Cádiz.

P-45 MICROESFERAS DE LIDOCAÍNA-PLGA: INFLUENCIA DEL TIPO DE POLÍMERO

M. Fernández-Arévalo, M.J. Cózar, M.A. Holgado, J. Álvarez-Fuentes

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, c/ Prof. García González nº 2, 41012 Sevilla, Universidad de Sevilla, España.
e-mail: mfarevalo@us.es

Introducción

Los sistemas microparticulares son ampliamente utilizados para el control en la administración y liberación de fármacos. Por vía parenteral local, resultan una estrategia muy interesante en el caso del uso de anestésicos locales, con objeto de posicionar el fármaco y prolongar su acción (1). A modo de fármaco modelo, se utiliza la lidocaína, que se incluye en el grupo de anestésicos de rápida aparición de acción y potencia y duración de acción intermedia (2), usándose diversos tipos de Resomer® como polímeros biocompatibles.

Dentro de un proyecto de investigación PETRI (3), el objetivo del presente trabajo es determinar la influencia del tipo de Resomer® empleado sobre el tamaño y la riqueza en fármaco de micropartículas de lidocaína-PLGA obtenidas por un método tradicional, como es la extracción-evaporación de disolvente.

Materiales y Métodos

Materiales

Lidocaína (LDC) (Sigma Aldrich, Alemania), Resormer® RG 502 - viscosidad inherente, 0.24 dl/g, PLGA, Resormer® RG 502H - viscosidad inherente 0.19 dl/g, Resormer® RG 504 - viscosidad inherente, 0.50 dl/g, Resormer® RG 504H - viscosidad inherente 0.53 dl/g (Boerhringer Ingelheim, Alemania). Mowiol® 3-96 (Fluka, Alemania), etanol absoluto y acetato de etilo (Panreac Química S.A., España).

Preparación de las micropartículas

Fase interna: 250 mg de PLGA y cantidades variables de lidocaína base (6.25–50 mg) en 10 mL de acetato de etilo. Se adiciona sobre la fase acuosa: solución de alcohol polivinílico al 0.3 % p/v. Se mantiene en agitación con un homogenizador (Heidolph DIAX 900) a 8000 r.p.m. durante 8 minutos, para formar así la emulsión O/A. A continuación, el sistema se mantiene bajo agitación (Magnetic stirrer hotplate SM6) durante aproximadamente 12 horas, y se somete a centrifugación, lavándolo posteriormente. El producto obtenido se liofiliza (Telstar Cryodos), obteniéndose las micropartículas.

En la tabla 1 se describen las distintas formulaciones de micropartículas elaboradas.

LOTE	Lidocaína (mg)	PLGA (250 mg)
1	50	502
2	25	502
3	12.5	502
4	6.25	502
5	50	502 H
6	25	502 H
7	12.5	502 H
8	6.25	502 H
9	50	504
10	12.5	504
11	50	504H
12	12.5	504H

Tabla 1*. Descripción de los lotes de micropartículas de lidocaína elaborados.*

Estudio de forma y tamaño

Se realiza mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

Determinación del contenido en lidocaína.

El contenido de fármaco se calcula por HPLC (λ=254 nm) con un equipo Hitachi que consta de: bomba isocrática L-7100, autoinyector L-7200, detector espectrofotométrico L-7455 UV-VIS de diodo, e interfase D–7000. Se empleó una columna de acero inoxidable Merck, LiChrospher 100 RP-18 (125X4 mm) y una fase móvil de acetonitrilo:acetato de amonio 0.0257 M pH=4.85 (70:30) a un flujo de 0.6 mL/min.
Para el tratamiento de los datos se utilizó el programa SPSS versión 14.0 para Windows.

Resultados y Discusión

Estudio de forma y tamaño

En la figura 1 se muestra una microfotografía de uno de los lotes obtenidos, a modo de ejemplo.

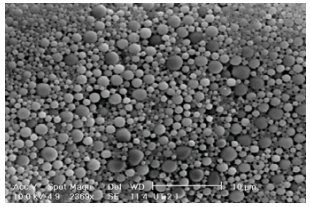


Figura 1. *Microfotografía de micropartículas de lidocaína , 2350x (lote 2)*

Como puede apreciarse, la fotografía muestra homogeneidad de tamaño y partículas esféricas con superficie lisa.

En la tabla 2 se recogen los tamaños obtenidos para cada uno de los lotes descritos.

LOTE	Tamaño (µm)
1	3.22 ± 1.57
2	4.73 ± 1.72
3	3.79 ± 1.69
4	3.90 ± 1.99
5	4.53 ± 1.91
6	3.30 ± 1.51
7	4.82 ± 1.82
8	4.50 ± 1.99
9	3,69 ± 1,42
10	3,86 ± 1,16
11	4,44 ± 1,53
12	4,29 ± 1,09

Tabla 2. *Tamaño medio (µ ± D.E.) de los diferentes lotes de micropartículas elaborados*

En función de estos datos se estima que el tamaño medio de las partículas es reducido y homogéneo. Además, no se ha encontrado influencia con significación estadística ni en función del peso molecular de los polímeros ni por la presencia de grupos carboxílicos finales. La baja viscosidad de los polímeros justifica, junto con las condiciones de producción, los tamaños reducidos obtenidos (4).

Determinación del contenido en lidocaína

Los resultados obtenidos se representan en la figura 2. Además del lógico aumento de riqueza obtenido al aumentar la cantidad inicial de lidocaína utilizada, también se observa un aumento en la riqueza a medida que aumenta la hidrofilia del polímero por la presencia de los grupos carboxílicos finales (Resomer® RG 502H y 504H).

El estudio estadístico de los resultados obtenidos para el contenido en lidocaína se realizó mediante un análisis univariante de la varianza (4 x 4) utilizando como factores de variación el efecto del tipo de polímero y el efecto de la cantidad inicial de fármaco sobre la riqueza en lidocaína (% p/p) de las micropartículas obtenidas.

Los resultados indicaron la existencia de una influencia significativa para el factor tipo de polímero ($F_{(3, 60)} = 114{,}95$, $p < 0.001$) y para el factor cantidad inicial de fármaco ($F_{(3, 60)} = 90{,}51$, $p < 0.001$). Además, el estudio estadístico muestra una interacción significativa entre los dos factores, tipo de polímero y cantidad inicial de fármaco ($F_{(5, 60)} = 17{,}38$, $p < 0.001$), indicando que, según se aprecia en la figura 2, el efecto provocado por emplear diferentes cantidades iniciales de lidocaína (6.25, 12.5, 25 y 50 mg) para preparar las micropartículas no fue el mismo según el tipo de polímero empleado (Resomer® RG 502, Resomer® RG® 502H, Resomer® RG 504 y Resomer® RG 504H).

Por ejemplo, el valor medio del contenido de lidocaína de las micropartículas aumentó un 197.74 % al emplear 50 mg de lidocaína en comparación con 6.25 mg; sin embargo, cuando se empleó Resomer® RG 502H, el valor medio de la carga de fármaco aumentó hasta un 306.40 %.

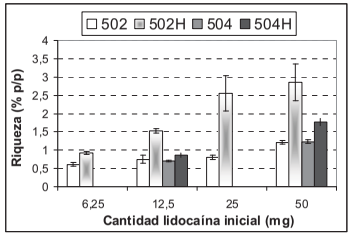


Figura 2. *Diagrama de barras para los valores de contenido en lidocaína (% p/p) de las micropartículas elaboradas.*

Conclusiones

No se han encontrado influencias sobre el tamaño medio de las micropartículas ni en función del peso molecular de los polímeros usados ni en función de la presencia o no de grupos carboxílicos finales en las macromoléculas.

Bibliografía

(1) Görner, T. et al. J. Control. Release, 57, 259 – 268. 1999.

(2) Murdoch Ritchie, J. y Greene, N.M. Farmacología de anestésicos locales. En Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 10ª ed., Ed. McGraw Hill, 2001.

(3) Cózar, M.J. et al., Abstracts Book of VII Spanish-Portuguese Conference on Controlled Drug Delivery, 71-72, 2006.

(4) Prior, S. et al. Int. J. Pharm., 196 115 - 125. 2000.

Agradecimientos. Esta investigación ha sido desarrollada dentro del Proyecto PTR1995-0858-OP (Programa PETRI, Ministerio de Ciencia y Tecnología).

P-46 MICROPARTICULAS GASTRORRESISTENTES COMO VACUNA ORAL INACTIVADA FRENTE AL COLERA

Esquisabel A[1], Año G[2], Hernández RM[1], Talavera A[2], Solís RL[2], Pedraz JL[1]

[1]Laboratorio de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco (UPV/EHU). Paseo de la Universidad 7. 01006 Vitoria-Gasteiz, España
[2]Instituto Finlay. Centro de Investigación – Producción de Vacunas. Ave 27, #19805, La Lisa, Ciudad de la Habana, Cuba
e-mail: amaia.esquisabel@ehu.es

Introducción

En la actualidad, el cólera representa todavía una enfermedad epidémica o endémica en gran parte del mundo (1). A pesar del potencial de las actuales vacunas comercializadas contra el cólera, no se ha conseguido todavía una estrategia ideal (2), ya que según las recomendaciones de la OMS esta vacuna ideal, además de ser bien tolerada y proteger frente a la infección, debe de ser fácil de administrar y conservar y debería requerir una única dosis (3). Teniendo en cuenta que *Vibrio cholerae* (VC) es un microorganismo no invasivo, que genera una respuesta inmune a nivel de la mucosa intestinal, la cual desempeña un papel importante en la protección contra el cólera, una vacuna contra el cólera debe ser oral para ser eficaz (4).

En este contexto, el objetivo del presente estudio se basa en la microencapsulación de VC mediante spray-dryer con el fin de conseguir una formulación gastrorresistente, fácilmente administrable y en una única dosis y que pueda ser dirigida a toda la población, pediátrica y geriátrica incluida.

Materiales y Métodos

Preparación de las micropartículas

Las micropartículas se elaboraron mediante la técnica de secado por atomización (Mini Spray Dryer, modelo B-191, Büchi). Para ello, *Vibrio cholerae* O1 (Biotipo El Tor, serotipo Ogawa) se resuspendió en una dispersión de Eudragit L 30 D-55 (7,5%), con una relación VC: polímero de 1:10. Esta mezcla se atomizó en el spray-dryer en las siguientes condiciones: Tª entrada 60, 80 ó 100 ºC, respectivamente; presión de aire: 600 L/h; flujo bomba peristáltica: 5 L/min y diámetro de la boquilla: 0,7 mm. Cada variante se realizó por triplicado.

Caracterización morfométrica

La morfología de las micropartículas se analizó mediante observación al microscopio óptico de contraste de fases (Olympus CH-2) y mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) (JEOL JSM 6400), para determinar la esfericidad, características de la cubierta de las microcápsulas y presencia de bacterias no encapsuladas. El tamaño de partícula se determinó mediante difracción de rayos láser (Sympa TC Vibri Rodos T 4.1).

Contenido total de VC en las micropartículas

Se pesaron 10 mg de micropartículas por cada lote, y se resuspendieron en 3 mL de PBS pH 7,4, a continuación se incubaron a 37ºC durante 1 hora en un agitador rotatorio. El contenido total de VC se determinó mediante la técnica del ácido bicinconínico (micro BCA).

Determinación de la antigenicidad

Se realizó un ELISA de inhibición para la determinación del lipopolisacárido (LPS). Para ello se recubrieron las placas con LPS 25 µg/mL Se utilizaron el anticuerpo monoclonal anti LPS 4D2G5 (0,625µg/mL) y un conjugado anti IgG de ratón peroxidasa. Las placas se revelaron con OPD + buffer citrato + peróxido de hidrógeno. La reacción se detuvo con H_2SO_4 2,5 N y se leyeron las placas a 492 nm. Se incluyeron un patrón de VC y un patrón de LPS a concentraciones conocidas.

Estudio de disolución *in vitro*

Se determinó según la técnica descrita en la USP XXV mediante la simulación de las condiciones de pH a nivel gastrointestinal. Para ello, se pesaron 10 mg de micropartículas por cada lote y se resuspendieron en 1 mL de HCL, incubándose a 37ºC en un agitador rotatorio (etapa ácida). A los tiempos establecidos (0, 0,5, 1, 1,5 y 2 horas) las muestras se centrifugaron a 2000 g durante 5 minutos y se tomó el sobrenadante para determinar el contenido de proteína mediante microBCA. A las 2 horas el medio ácido fue sustituido por tampón fosfato pH 6,8 (etapa neutra), tomando muestra a las 2,5, 3, 4, 5, 7 y 24 horas.

Resultados y Discusión

En la técnica de preparación de microcápsulas por spray-drying son varios los parámetros que pueden condicionar las propiedades del producto final. En nuestro caso, se ha estudiado la influencia de la temperatura, observando que cuando aumenta la temperatura de 60 a 100ºC, el rendimiento de encapsulación aumenta del 78,44% al 87,22 %. Esto es debido a que a mayores temperaturas se produce una mejor evaporación del polímero, y por ello la humedad

residual de las micropartículas disminuye, aumentando el rendimiento del proceso de microencapsulación.

El análisis de la morfología de las microcápsulas mediante SEM, mostró diferencias entre las diferentes variantes de encapsulación estudiadas. Las micropartículas obtenidas a 60ºC presentan una superficie lisa y esférica (figura 1), mientras que cuando se aumentó la temperatura a 80ºC y 100ºC se observaron deformaciones en las microesferas, con hundimientos o agujeros en su estructura.

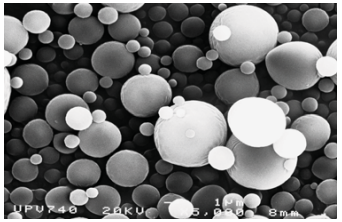


Figura 1. *Microfotografías electrónicas de barrido de microparticulas de Eudragit L30D 55 cargadas con Vibrio cholerae (lote 60ºC).*

En cuanto a los tamaño de partícula obtenidos fueron bastante similares para los lotes preparados, entre 2,71± 0,03 µm (60ºC) y 3,02 ± 0,05 µm (100ºC), tamaños que son adecuados para una adecuada captación por parte de las células M, de las placas de Peyer del intestino delgado (5).

Al analizar el contenido total de VC en las micropartículas, no se observaron diferencias significativas, ya que en los tres casos se obtuvo un valor aproximado de 50 µg de proteína de Vibrio / mg de polímero), siendo la eficacia de encapsulación en los tres lotes estudiados de alrededor de un 98,5%.

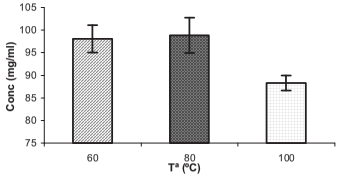


Figura 2. *Concentración de LPS, en las microcápsulas de VC obtenidas a diferentes temperaturas, con respecto al patrón celular sin microencapsular, determinada mediante ELISA de inhibición con AcM anti LPS.*

Se ha observado que el LPS de *Vibrio cholerae* (6), es un factor crítico en el desarrollo de una respuesta inmune protectora. La concentración de LPS en los lotes que se elaboraron a 60 y 80ºC representa aproximadamente un 98% del total de LPS presente en el patrón celular, mientras que en los lotes que se realizaron a 100ºC se obtuvieron valores de un 88% (Figura 2), habiendo diferencias significativas con respecto a los lotes elaborados a menor temperatura. Esto indica que al aumentar la temperatura, la antigenicidad del vibrio se ve afectada.

En el estudio de liberación *in vitro* se pudo comprobar que a pH ácido (HCl pH 1,2), se liberó menos del 10% de proteína durante las 2 horas de incubación a 37ºC. Por el contrario, cuando se resuspendieron en medio intestinal (pH 6,8), se produjo la liberación de *Vibrio cholerae* desde las 0,5 horas, alcanzando entre un 35,96 % y un 47,31% de liberación al cabo de 7 horas, en los 3 temperaturas estudiadas (Figura 3), resultados que demuestran el carácter gastrorresistente de las microesferas preparadas.

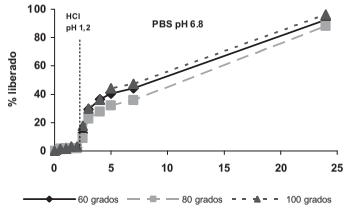


Figura 3. *Liberación de VC a partir de las microcápsulas.*

Conclusiones

Se han obtenido microcápsulas gastrorresistentes conteniendo *Vibrio cholerae* como una alternativa a las vacunas contra el cólera existentes, demostrando que el proceso de microencapsulación es adecuado, la eficacia de encapsulación es de un 98,5%, si el proceso se realiza a 60ºC se mantiene la antigenicidad y las micropartículas obtenidas muestran una morfología esférica y lisa; además, el antígeno se protege frente a pH ácidos y las micropartículas tienen un tamaño adecuado para su captación por las placas de Peyer.

Bibliografía

1) DA Sack, et al.. Cholera, Lancet, 363: 223-233, 2004.
2) Bern C, et al. Bull WHO; 70: 705-714. 1992.
3) Levine MM and Kaper JB. Bull Inst Pasteur; 93: 243-253, 1995.
4) Levine M.M. and Pierce N En Barua D. and Greenough W. B., III. Cholera. Ed. Plenum Medical Book Co. New York. pp. 285-327, 1992.
5) Wyatt B. et al. Adv. Drug Del. Rev. 57: 1362-1380; 2005.
6) Holt J.G. Bergey's Manual of determinative bacteriology. 9th Edition. Ed. Williams & Wilkins. Baltimore. pp. 192-194, 1994.

P-47 MODELO ESTADÍSTICO DE EFECTOS MIXTOS: EVALUACIÓN *IN VIVO* DE IMPLANTES DE HORMONA HUMANA DEL CRECIMIENTO.

Santoveña, A., Fariña, J.B., Llabrés, M.

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de La Laguna, Avda. Astrofísico Francisco Sánchez s/n., 38200, La Laguna, Tenerife, Spain.
Correo electrónico: ansanto@ull.es

Introducción

La evaluación *in vivo* de sistemas de liberación controlada de determinados principios activos en animales de experimentación, conlleva la posterior adaptación de dichos estudios a la evaluación en humanos. El éxito de estos estudios radica en el empleo de un objetivo farmacológico relevante, así como la utilización de un modelo estadístico adecuado para la interpretación de las variables experimentales. Sólo si dichas condiciones se dan, podremos desarrollar adecuadamente el sistema experimental.

Son muchos los estudios desarrollados con hormona humana del crecimiento recombinante (rhGH) (1-5), en los que el objetivo ensayado tras la administración de la hormona es la ganancia de peso corporal de ratas hipofisectomizadas (ratas Hpx). Así mismo, nos encontramos que se han empleado diferentes modelos estadísticos para la evaluación de los resultados obtenidos *in vivo* (3-6), pero ninguno trata la evolución temporal de la respuesta farmacológica estudiada teniendo en cuenta la variabilidad interindividual de los animales.

Nuestro objetivo en este trabajo es estudiar el crecimiento corporal de ratas Hpx tras la administración de implantes biodegradables de rhGH y emplear el modelo estadístico lineal de efectos mixtos para evaluar dicho objetivo farmacológico durante 15 días, teniendo en cuenta la variabilidad entre animales de experimentación.

Materiales y Métodos

Los materiales y métodos empleados en la síntesis y caracterización del polímero biodegradable de poli-lactida-co-glicolida (PLGA), así como la preparación de los implantes laminares biodegradables mediante el método de "solvent-casting", determinación de la carga de principio activo en el implante, así como los estudios de cesión in vitro e in vivo, se recogen en el trabajo previo publicado por García y cols. (7).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se trataron con el modelo estadístico lineal de efectos mixtos con distribución normal (8).

Para cada grupo que recibió una determinada formulación (n), la evolución del peso de las ratas Hpx siguió la siguiente función,

$$y_n(t) = \beta_0 + \beta_1 * t + \beta_2 * t^2 \qquad (1)$$

en la que β_0, β_1 y β_2 son parámetros fijos del modelo dependientes de cada medicación. Por ejemplo, para el grupo 1, que recibió formulación placebo,

$$y_1(t) = \beta_{1,0} + \beta_{1,1} * t + \beta_{1,2} * t^2 \qquad (2)$$

y, considerando dicha función de tratamiento placebo como la evolución normal del peso de las ratas Hpx, los valores de los términos constante, lineal y cuadrático para los otros grupos experimentales varían de la siguiente forma,

$$y_2(t) = (\beta_{1,0} + \beta_{2,0}) + (\beta_{1,1} + \beta_{2,1}) * t + (\beta_{1,2} + \beta_{2,2}) * t^2 \qquad (3)$$

$$y_3(t) = (\beta_{1,0} + \beta_{3,0}) + (\beta_{1,1} + \beta_{3,1}) * t + (\beta_{1,2} + \beta_{3,2}) * t^2 \qquad (4)$$

$$y_4(t) = (\beta_{1,0} + \beta_{4,0}) + (\beta_{1,1} + \beta_{4,1}) * t + (\beta_{1,2} + \beta_{4,2}) * t^2 \qquad (5)$$

Si tenemos en cuenta que las funciones anteriores se emplean con la respuesta promedio para cada grupo, el efecto en cada animal sometido a un determinado tratamiento es, por ejemplo para un animal del grupo 2,

$$y_{2,i,2)}(t) = (\beta_{1,0} + \beta_{2,0} + b_{0,i}) + (\beta_{1,1} + \beta_{2,1} + b_{1,i}) * t + (\beta_{1,2} + \beta_{2,2} + b_{2,i}) * t^2 \qquad (6)$$

donde los efectos aleatorios, debido a cada animal en estudio, son $\mathbf{b}_i = (b_{0,i} + b_{1,i} + b_{2,i})^T \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{\Psi})$, donde ψ es la matriz de varianza-covarianza entre individuos. Los coeficientes del modelo se determinaron empleando la prueba de máxima verisimilitud, permitiendo el empleo de diferentes números de individuos en cada grupo. La evaluación estadística de los resultados se realizó con el software R® versión 2.1.1..

Resultados y Discusión

La figura 1 muestra la evolución del peso individual de cada animal (puntos), los valores predichos para cada uno (línea discontinua) así como los valores predichos para cada grupo experimental (línea continua). Las ratas Hpx fueron distribuidas al azar en cuatro grupos de siete individuos cada uno. Los animales numerados del 15 al 21 recibieron implantes placebo (grupo 1). Los numerados desde el 8 al 14 recibieron una dosis total de 105 µg de rhGH en siete inyecciones (Norditropin®) realizadas en

días alternos (grupo 2). Desde el animal 22 hasta el 27 más el 34, recibieron una dosis total de 85 µg de rhGH en la formulación F_1 (grupo 3). Desde la número 28 hasta la 33 y la 35, recibieron la formulación F_2 con una dosis total de hormona de 85 µg (grupo 4). En éste último grupo se sustituyó al individuo 35 por el 36 ya que el primero estaba muy débil tras la administración del implante y se pensó que no iba a sobrevivir.

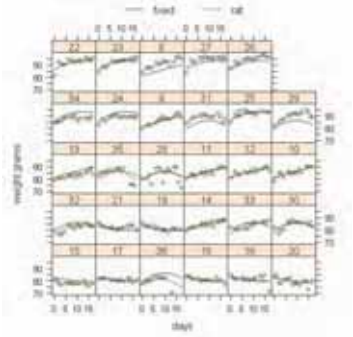


Figura 1. *Evolución in vivo durante dos semanas del peso de cada rata Hpx (puntos), valores predichos para cada una (línea discontinua) y para cada grupo estudiado (línea continua).*

Podemos observar cómo las ratas del grupo 1 pierden peso siguiendo una función casi lineal, y cómo la evolución para los individuos del grupo 2 es lineal. Las formulaciones F_1 y F_2 muestran curvas con diferentes valores máximos. La formulación F_1 muestra un valor máximo estimado de ganancia de peso de 7,18 g a los 12,8 días y la formulación F_2 el máximo lo posee a 9,7 días con una ganancia de peso estimado de 6,69 g. En la tabla 1, se recogen los valores estimados de los parámetros fijos del modelo estadístico.

	valor	Std. error	DF	valor-t	valor-p
Intercept	83.0	1.09	392	76.3	0.00
NR	-1.52	1.57	25	-0.97	0.34
F_1	3.27	1.51	25	2.16	0.04
F_2	-3.36	1.52	25	-2.21	0.04
days	-0.47	0.18	392	-2.57	0.01
days: NR	1.04	0.25	392	4.12	0.00
days: F_1	1.59	0.23	392	6.81	0.00
days: F_2	1.85	0.25	392	7.41	0.00
days^2	0.02	0.01	392	1.66	0.09
days^2: NR	-0.02	0.01	392	-1.61	0.11
days^2: F_1	-0.06	0.01	392	-4.99	0.00
days^2: F_2	-0.09	0.01	392	-6.65	0.00

Tabla 1. *Valores estimados de los parámetros fijos del modelo. NR: Norditropin®, F_1: formulación F_1, F_2: formulación F_2.*

Hemos de resaltar que los coeficientes obtenidos para los tres tratamientos administrados son diferentes a los obtenidos para el grupo control, lo que indica diferencias significativas entre las distintas formulaciones administradas y el grupo placebo en los términos lineales y cuadráticos de la ecuación.

Conclusiones

El modelo estadístico lineal de efectos mixtos permitió la evaluación de los datos de crecimiento de ratas Hpx obtenidos a partir de la cesión de rhGH desde implantes laminares biodegradables. Con este modelo estadístico podemos no sólo observar la variabilidad entre individuos, sino también estimar la ganancia máxima de peso con el tiempo tras la administración de diferentes formulaciones biodegradables de rhGH.

Bibliografía

(1) Van Dy ke, H.B., Wallen-Lawrence, Z.. On the growth promoting hormone of the pituitary body. J. Pharmacol. Exp. Ther. 40, 413-422. 1930.
(2) Evans, H.M., Simpson, M.E., Marx, W., Kibrick, E..Bioassay of the pituitary growth hormone. Width of the proximal epiphysial cartilage of the tibia in hypophysectomized rats. Endocrinology 32, 13-16. 1943
(3) Clark, R.G., Mortensen, D.L., Carlsson, L.M.S., Spencer, S.A., McKay, P., Mulkerrin, M., Moore, J., Cunningham, B.C.. Recombinant human growth hormone (GH)-binding protein enhances the growth-promoting activity of human GH in the rat. Endocrinology 137, 4308-4315.1996.
(4) Carrillo, A., Rising, R., Cole, C., Tverskaya, R., Liftshitz, F.. Low dosages of exogenous growth hormone and its effect on growth in an animal model of suboptimal nutrition. Nutrition 16, 1074-1078. 2000.
(5) Takada, S., Kurokawa, T., Misaki, M., Taira, K., Yamagata Y. A new animal model for evaluation of long-term growth rate over one month by rhGH/PLGA microcapsule formulations. J. Pharm. Pharmacol. 55, 951-961. 2003.
(6) Rising, R., Scaglia, J.F., Cole, C., Tverskaya, R., Duro, D., Lifshitz, F.. Exogenous recombinant human growth hormone effects during suboptimal energy and zinc intake. Nutrition. Metabolism 2, 10-25. 2005.
(7) García, J.T., Dorta, M.J., Munguía, O., Llabrés, M., Fariña, J.B. Biodegradable laminar implants for sustained release of recombinat human growth hormone. Biomaterials 23, 4759-4764. 2002.
(8) Pinheiro, J.C., Bates, D.M. Linear Mixed-effects models. In: Mixed-effects models in S and S-PLUS, Springer-Verlag, New York. 2002.

P-48 PERMEACIÓN TRANSDÉRMICA DE CETIRIZINA FORMULADA EN NANOEMULSIONES CONTENIENDO DIFERENTES N-ALQUIL PIRROLIDONAS

Ciurlizza C, Boix A, Domenech J, Calpena A

Unidad de Biofarmacia y Farmacocinética. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona. Avda. Joan XXIII s/n. 08028 Barcelona
e-mail: anacalpena@ub.edu
Laboratorios Reig Jofré, Av. Gran Capitán 10, 08970 SJD, Barcelona

Introducción

La acción de los promotores químicos en la permeación de fármacos a través del estrato córneo es un tema ampliamente estudiado (1). A pesar de ello no puede extrapolarse qué mecanismo de acción tendrá lugar para un nuevo fármaco, ni mucho menos en presencia otros productos presentes en la formulación. Dado que la permeación intrínseca de la cetirizina HCl a través de piel humana es insuficiente para alcanzar valores terapéuticos, se ha estudiado la posible eficacia promotora de diferentes alquil pirrolidonas formuladas como nanoemulsiones (2).

Materiales y Métodos

Materiales

Cetirizina HCL, N-Metilpirrolidona (ISP), N-Etilpirrolidona (ISP), N-Octilpirrolidona (ISP) y N-Dodecilpirrolidona (ISP).

Preparación de las formulaciones

Las nanoemulsiones se elaboraron al 5% de principio activo y 10% de alquilpirrolidona mediante agitación. Los excipientes utilizados fueron: Propilenglicol, Transcutol, Labrasol, Plurol oleico, Isoestearato de Isoestearilo y agua. La distribución del tamaño de partículas se ha caracterizado mediante técnicas de difracción de láser.

Estudios de permeación *in vitro*

Los estudios de permeación transdérmica se realizaron con células de difusión vertical de 2.54 cm^2. Se utilizó piel humana abdominal (0.4mm) procedente de un único donante. Se determinó la pérdida de agua transepidérmica (TEWL) como test de integridad de la piel.
Solución reguladora tampón fosfato pH 7.4 (condiciones SINK). Temperatura del ensayo fue 37 ± 0.1 ºC. Tiempos de muestreo a 13, 15, 17, 19, 21, y 24 h.

Estudios analíticos

Todas las concentraciones de las muestras de permeación se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución. La metódica analítica fue validada previamente. Las condiciones de la metódica fueron las siguientes: Columna Kromasil 100 C8 (4.6x250) mm, 5µm. Flujo 0.7ml/min. Longitud de onda 232 nm. Volumen de inyección 100 µl. Tiempo de retención aproximado de 6 min. Fase móvil (50/50) Acetonitrilo/Solución reguladora de acetato amónico 10 mM.

Estudio de los parámetros de permeación.

La estimación de los parámetros se ha realizado por regresión lineal entre cantidades perneadas acumuladas y tiempo de muestreo: Flujo (J/S), constante de permeabilidad transdérmica ($K_{p)}$ y periodo de latencia (Tl), de acuerdo con las siguientes ecuaciones:

$$J/S = Kp \cdot C_0 /S, \quad Tl= 1/6P_2 , \quad Kp = P_1 \cdot P_2$$

Siendo: S, Superficie
C_0, Concentración inicial
P_1 y P_2, dos parámetros de ajustado descritos previamente (3).

Tratamiento estadístico de los resultados

El ensayo no paramétrico empleado ha sido el de Kruskal-Wallis Z. El nivel de significación adoptado fue p= 0.05.

El tratamiento estadístico no permite poner de manifiesto diferencias estadísticamente significativas.

Resultados y Discusión

La figura 1 muestra a modo de ejemplo los perfiles promedio de permeación de cetirizina de las diferentes formulaciones.

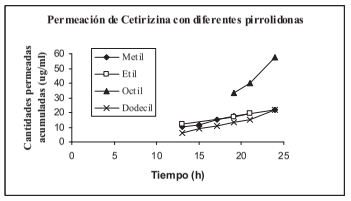


Figura 1. *Perfil de permeación de cetirizina a partir de valores promedio de los replicados de*

las diferentes formulaciones en presencia de promotores.

Los parámetros de permeación calculados a partir de cantidades permeadas a diferentes tiempos de muestra para las formulaciones sometidas al estudio se recogen en la tabla 1.

Promotor	n	J/S (µg/h*cm2)	Tl (h)	Kp (cm/h)
Dodecil	3	0.258070866	8.145	0.000005161
Etil	3	0.000019913	7.942	0.000019913
Metil	3	0.605511811	7.698	0.000012110
Octil	3	1.647244094	13.550	0.000032945

***Tabla 1**. Valores de los parámetros de permeación de cetirizina respecto a cada promotor.*

En la figura 2, se representa la dispersión de valores de las constantes de permeabilidad.

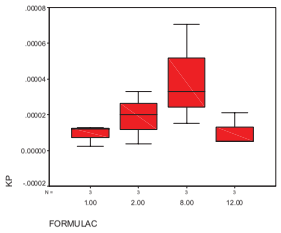


***Figura 2.** Diagrama de cajas de las constantes de permeabilidad para cada una de las formulaciones ensayadas.*

Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que los flujos y las constantes de permeabilidad presentan un valor máximo cuando el promotor ensayado es la N-Octilpirrolidona. Debido al escaso número de replicados y la variabilidad interindividual de dichos ensayos el tratamiento estadístico permite poner de manifiesto diferencias, tal como se muestra en la tabla 2.

	J/S	TL	KP
Chi-cuadrado	4.128	7.308	4.128
gl	3	3	3
Sig. asintót.	.248	.063	.248

***Tabla 2**. Estadísticos de contraste*

Conclusiones

Las alquil pirrolidonas han mostrado ser eficaces en la permeación de moléculas de diferentes grados de polaridad. Al igual que otros autores se observa que el máximo efecto promotor se obtiene con la formulación que contiene N-Octilpirrolidona. Sin embargo, se obtiene a la vez con esta formulación la máxima variabilidad de resultados. En todo caso, el efecto promotor observado no parece ser notable, no manifestándose diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes elementos de la serie.

Bibliografía

(1) Thomas C.K. Chan. Proceedings of a preconference course at the 9th Biennial International Conference of PPP –April 13, 2004.

(2) Tong Hua, et al. Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi 24 (1), 5-7. 2004.

(3) Okamoto H. et al. Int. J. Pharm. 30, 34-45. 1986.

Agradecimientos

Se agradece al Dr. Humet del Hospital de Barcelona SCIAS por la donación de muestras de piel, a Gattefossé por el suministro de excipientes y al Colegio Oficial de Farmacéuticos de Barcelona por la Beca que financia dicha investigación.

P-49 PUESTA A PUNTO Y VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA ANALÍTICA DE HPLC PARA LA DETERMINACIÓN DE SIETE ANTIRRETROVIRALES (ART) EN PLASMA HUMANO

García MJ [1], Cabrera S[1, 2], Lopez FG[1], Domínguez-Gil A[1, 2].

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Salamanca[1]
Servicio de Farmacia. Hospital Clínico Universitario de Salamanca[2]
e-mail: mjgarcia@usal.es

Introducción

Las beneficiosas consecuencias de la generalización de la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) han sido indiscutibles, como lo demuestran los destacables descensos en la incidencia de las diversas infecciones oportunistas y el notable incremento en la supervivencia de los pacientes. Sin embargo, estos importantes logros de la TARGA han puesto de manifiesto otros problemas importantes, que hasta ese momento no habían tenido una gran relevancia, como son la aparición de comorbilidades, las interacciones medicamentosas, los efectos secundarios de los fármacos, aparición de resistencia a los antirretrovirales y la necesidad de conseguir grados óptimos de adherencia al tratamiento, que inexcusablemente ha de ser duradera en el tiempo si se quiere lograr un control efectivo y continuado de la replicación viral (1). Por esta razón, deben optimizarse las estrategias disponibles para lograr una supresión viral a largo plazo y, en este sentido, la evidencia emergente sobre la relación entre la exposición y la eficacia antiviral y la toxicidad ha llevado a centrar la atención en el papel que desempeña la monitorización de las concentraciones plasmáticas de los antirretrovirales (ART) en los pacientes que reciben TARGA.

Objetivo

Desarrollo, puesta a punto y validación de una técnica analítica para la determinación de: atazanavir, efavirenz, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir y saquinavir en plasma humano, como parte de un programa de monitorización de concentraciones plasmáticas de antirretrovirales (ART) en pacientes VIH+.

Materiales y Métodos

Principios activos

Todos los principios activos utilizados han sido de grado analítico, gracias a la gentileza de los siguientes laboratorios:
- Atazanavir y efavirenz: BMS
- Lopinavir y ritonavir: Abbott
- Nelfinavir y saquinavir: Roche
- Indinavir: MSD

Sistema cromatográfico

Equipo Hewlett-Packard 1050, conectado en serie a un detector UV-VIS Kontron programado a una longitud de onda fija de 215 nm. La separación fue realizada en una columna cromatográfica LiChroCART® 55-4 HPLC-Cartridges Purospher® 5 cm STAR RP-18 endcapped (3µm) Merck. El volumen de inyección fue de 20 µL.

Se trabajó en condiciones isocráticas, utilizando para ello un flujo de 1,5 ml/min de una fase móvil binaria compuesta por tampón fosfato 25 mM (ajustado a pH 5,20) y acetonitrilo para cromatografía (Merck) en proporción 55/45 (%V/V) respectivamente.
Se ha utilizado un tratamiento de datos Clarity® que procesa la información (área de integración, cálculo de concentraciones y despliegue de cromatogramas).

Inactivación del virus

Con objeto de provocar la inactivación del VIH, y de esta forma disminuir en cierto modo la peligrosidad en la manipulación de este tipo de muestras, ellas son sometidas a un proceso térmico a 60ºC durante una hora (2).
Como este proceso sólo asegura la inactivación del virus de la inmunodeficiencia humana y no así la estabilidad de los principios activos contenidos en el plasma, fue necesario realizar un estudio de estabilidad, para asegurar que el proceso de termostatización no afectará las concentraciones determinadas.

Tratamiento de muestras

Consiste en una extracción en fase sólida. Tras acondicionar las columnas SPE octadecilsilano con metanol y agua, 2mL de cada uno de ellos, se añaden 1,1 mL de la muestra diluida con tampón Sorensen pH 7,0 y se eluye con 1,5 mL de metanol tras haber lavado previamente el cartucho con 1 mL de tampón Sorensen/MeOH (50:50 V/V). El metanol se evapora a sequedad en corriente de nitrógeno. El residuo seco se reconstituye con 100 µL de fase móvil y se inyectan 20 µL en el cromatógrafo (3).

Validación del método analítico

La validación del método analítico se basó en las guías publicadas en línea por la FDA para la validación de métodos bioanalíticos (4).

Resultados y Discusión

Bajo las condiciones cromatográficas anteriormente descritas, los tiempos de retención obtenidos se muestran en la tabla 1.

Tabla 1 Tiempos de retención de los ART

Antirretroviral	Tiempo de retención (minutos)
Indinavir	0,74
Saquinavir	1,78
Atazanavir	2,46
Ritonavir	3,11
Lopinavir	3,91
Efavirenz	4,52
Nelfinavir	5,71

Linealidad

La técnica resultó ser lineal en el rango de concentraciones estudiado para cada ART, encontrándose valores de los coeficientes de correlación y determinación próximos a uno.

Exactitud y Precisión

La técnica demostró ser exacta y precisa para cada uno de los ART en estudio, debido a que se obtuvieron coeficientes de variación inferiores al 10% (el máximo permitido por la FDA es un 15%). En la tabla 2 se muestran los coeficientes de variación máximos obtenidos para cada ART, tanto en el estudio de exactitud como en el de precisión (intradía e interdía).

Tabla 2. Resultados de la exactitud y precisión

ART	Exactitud	Precisión	
	C.V. (%)	Intradía C.V. (%)	Interdía C.V. (%)
Atazanavir	9,79	6,48	7,03
Efavirenz	5.95	4,01	5,68
Indinavir	6,52	4,08	5,95
Lopinavir	3,9	3,51	3,52
Nelfinavir	5,75	4,00	7,33
Ritonavir	6,84	4,20	4,72
Saquinavir	9,53	6,66	7,69

Sensibilidad

De acuerdo a las normas establecidas por la FDA, se obtuvo para los ART estudiados los límites de detección (LD) y límites de cuantificación (LC) recogidos en la Tabla 3.

Tabla 3. Límites de detección y cuantificación

ART	LD (µg/mL)	LC (µg/mL)
Atazanavir	0,0500	0,0625
Efavirenz	0,20	0,50
Indinavir	0,050	0,125
Lopinavir	0,50	2,00
Nelfinavir	0,10	0,25
Ritonavir	0,25	1,00
Saquinavir	0,0500	0,0625

Estudio de estabilidad

La comparación de las áreas obtenidas con dos rectas de calibrado sometidas al proceso de inactivación, con respecto a las obtenidas en dos rectas control permitió observar una pequeña disminución en la pendiente de las rectas que fueron inactivadas, cercana al 5%.

Recuperación

El porcentaje de recuperación obtenido es bastante adecuado para una técnica de extracción en fase sólida, presentando un valor promedio de 100,2 ± 5,2 %. En la tabla 4 se muestran los porcentajes de recuperación para cada ART.

Tabla 4. Porcentaje de recuperación de los ART

Antirretroviral	Recuperación (%)
Atazanavir	96,6 ± 0,38
Efavirenz	107,46 ± 1,58
Indinavir	100,84 ± 2,68
Lopinavir	106,40 ± 0,25
Nelfinavir	98,19 ± 0,75
Ritonavir	99,12 ± 1,17
Saquinavir	93,11 ± 1,43

Conclusiones

- Se ha puesto a punto una técnica analítica por HPLC-UV para la determinación de siete ART ampliamente utilizados en clínica, con un tiempo total de análisis cromatográfico de 6,5 minutos, bastante inferior a los publicados hasta la fecha para este tipo de análisis. Ello facilita de forma importante su aplicación en la determinación rutinaria de niveles plasmáticos para este tipo de fármacos.

- Se ha validado la técnica propuesta de acuerdo a las normas establecidas por la FDA para la validación de métodos bioanalíticos; se cumplen para cada ART los criterios de selectividad, linealidad, exactitud, precisión, sensibilidad, estabilidad y recuperación de fármacos.

- Se ha implementado una técnica de inactivación viral (para el VIH), que permite trabajar con las muestras de plasma en forma segura tanto para el investigador como para el resto de los integrantes del laboratorio, sin que ello afecte de forma significativa a la determinación de las concentraciones de ART con la técnica propuesta.

Bibliografía

(1) Collazos J, et al. VIH y enfermedades asociadas. Barcelona Grupo Ars XXI de Comunicación, SL; 2005. p. XI-XII.
(2) McDougal JS, et al. J. Clin Invest 1985; 76: 875-877.
(3) Colombo S, et al. J Chromatog B 2004; 810: 25-34.
(4) Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (U.S.). URL: http://www.fda.gov/cder/guidance/4252fnl.pdf

P-50 RELACIÓN ENTRE CONTENIDO EN HUMEDAD, POROSIDAD Y RIQUEZA EN MICROESFERAS DE ALBÚMINA CON ANFOTERICINA B

Valdespina, S., Espada, R., Torrado, J.J.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia.
Universidad Complutense, 28040 Madrid.
e-mail: torrado1@farm.ucm.es

Introducción

En los últimos años se han desarrollado nuevas formulaciones de anfotericina B (AMB) que han supuesto un aumento en la eficacia y una disminución en la toxicidad con respecto a la anfotericina B convencional (Fungizona®). Entre las nuevas formulaciones desarrolladas podemos encontrar AMB encapsulada en liposomas. Estos liposomas resultan muy ventajosos desde el punto de vista terapéutico pero tienen el inconveniente de presentar un elevado coste económico. Con objeto de desarrollar una formulación de anfotericina B con menor coste económico que las ya existentes, una nueva formulación consistente en la inclusión de anfotericina B en microesferas de albúmina obtenidas mediante atomización ha sido propuesta como una formulación prometedora para el tratamiento de la leishmaniasis (1,2).

El objetivo de este trabajo es estudiar la relación existente entre distintas propiedades de las microesferas de albúmina con anfotericina B elaboradas mediante la modificación de los siguientes parámetros:

•Velocidad de la bomba de alimentación.

•Temperatura de salida de la cámara de evaporación.

•Proporción de albúmina empleada en la elaboración de la formulación.

Materiales y Métodos

Materiales

Anfotericina B proporcionada por Bristol-Myers Squibb (Esplugues de Llobregat, Barcelona). Albúmina sérica humana suministrada por Grifols (Parets del Vallès, Barcelona). Resto de reactivos empleados de grado analítico.

Elaboración de las microesferas

Las microesferas de albúmina se obtuvieron mediante el método de atomización previamente descrito (1) empleando para ello un atomizador Buchi B-191. Se prepara una dispersión acuosa de AMB en una solución de albúmina sérica humana. Para ello se emplea desoxicolato de sodio como agente suspensor y fosfatos monobásico y dibásico de sodio como estabilizadores del pH.

La cantidad de albúmina empleada varía dependiendo del experimento entre 10% y 17,5%, la velocidad de bombeo varía entre 3 y 6 ml/min y la temperatura de salida de la cámara de evaporación se mantuvo constante a dos intervalos: uno entre 90-95ºC y otro entre 100-105ºC.

Tras la obtención de las microesferas se calcula el rendimiento del proceso y se procede a la caracterización de las mismas, evaluando:

•Aspecto (microscopio electrónico de barrido).
•Tamaño (difractometría láser).
•Riqueza (espectrofotometría).
•Estado de agregación (espectrofotometría).
•Humedad (pérdida de peso por desecación en desecador de infrarrojos).
•Densidad aparente (probeta).
•Densidad real (picnómetro de helio).
•Determinación de la estructura interna (difracción de rayos X).

Resultados y Discusión

La figura 1 muestra las microesferas obtenidas observándose la presencia de oquedades en algunas de ellas debido a la rápida evaporación del solvente durante el proceso de secado.

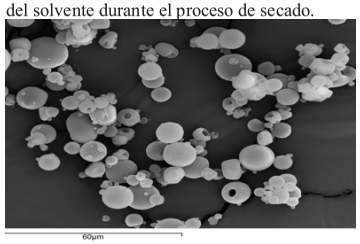


Figura 1. *Microesferas de albúmina obtenidas por atomización.*

Las partículas obtenidas presentan aspecto esférico y un tamaño medio de 4.5 µm. La riqueza de las microesferas varía, en función de la proporción de albúmina empleada en la elaboración de la formulación, entre 2.5 y 3.9%. En todas las condiciones experimentales probadas la anfotericina B aparece en estado poliagregado, siendo esta la forma menos tóxica (3). En el análisis por difracción de rayos X, que se muestra en las figuras 2 y 3, se observa que las microesferas obtenidas por atomización son

amorfas, mientras que la anfotericina B empleada como materia prima es cristalina. La humedad de las microesferas obtenidas varía entre 4 y 5.9% y puede relacionarse con la porosidad de las mismas.

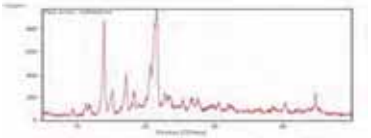


Figura 2. Difractograma de rayos X de la anfotericina B cristalina empleada como materia prima.

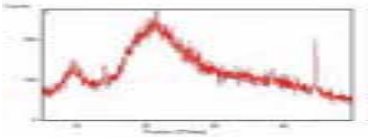


Figura 3. Difractograma de microesferas de albúmina con anfotericina B.

Mediante el empleo del programa estadístico Statgraphics, se puede determinar que:

•No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los tamaños de partícula de los distintos lotes de microesferas fabricados.

•Se puede observar, para un nivel de confianza del 95%, que existen diferencias estadísticamente significativas entre la proporción de albúmina empleada en la elaboración de la formulación y el contenido en anfotericina B de las mismas (riqueza media), de forma que el incremento en la cantidad de albúmina empleada está relacionado con una menor riqueza de las microesferas obtenidas (figura 4).

•Existe relación estadísticamente significativa entre humedad y porosidad para un nivel de confianza del 90% (figura 5).
El coeficiente de correlación indica una relación moderadamente fuerte entre los dos parámetros, de forma que cuanto mayor es la porosidad de las microesferas mayor es su contenido en humedad.

•Dado que el p-valor o nivel de significación empírico, obtenido mediante el análisis de varianza (ANOVA), es inferior a 0.05, podemos decir que existe relación estadísticamente significativa entre humedad y cantidad de albúmina para un nivel de confianza del 95% (figura 6).

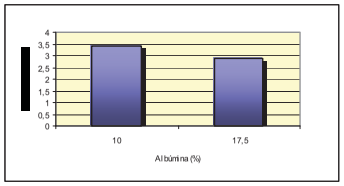


Figura 4. Relación entre la cantidad de albúmina empleada y la riqueza de las microesferas.

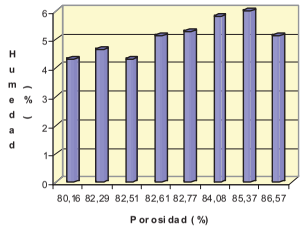


Figura 5. Relación existente entre la porosidad y la humedad de los 8 lotes de microesferas fabricados.

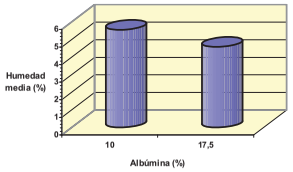


Figura 6. Relación existente entre la cantidad de albúmina y la humedad media.

Conclusiones

Es posible establecer una relación entre humedad, porosidad y riqueza de las microesferas de albúmina con anfotericina B elaboradas, de forma que:
•A menor cantidad de albúmina mayor riqueza presentan las microesferas.
•Cuanto mayor es la porosidad de las microesferas mayor es el contenido en humedad de las mismas.
•A mayor cantidad de albúmina menor humedad presentan las microesferas.

Bibliografía

(1) Sánchez-Brunete J.A. et al. Antimicrob. Agents Ch. 48, 3246-3252, 2004.
(2) Sánchez-Brunete J.A. et al. J. Drug Target. 13, 225-233, 2005.
(3) Sánchez-Brunete J.A. et al. J. Drug Target. 12, 453-460, 2004.

P-51 REOLOGÍA DE DISPERSIONES ACUOSAS DE GOMAS XANTANA Y GARROFÍNA. INFLUENCIA EN LA DIFUSIÓN DE CIPROFLOXACINO

Henriques P., Almeida Prieto S., Alvarez Lorenzo C, Otero Espinar F.J.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. Campus Universitario sur s/n. 15782 Santiago de Compostela.
e-mail: ffrotero@usc.es

Introducción

Las gomas, biopolímeros hidrofílicos de elevado peso molecular, son útiles como agentes viscosizantes y estabilizantes de sistemas dispersos en la industria alimentaria y farmacéutica. Las propiedades reológicas de sus dispersiones acuosas dependen de la concentración y el procedimiento de preparación de sus dispersiones, y de la presencia de cosolutos, especialmente electrolitos (1,2).
La goma xantana es un heteropolisacárido que se obtiene por fermentación del almidón en presencia de *Xanthomonas compestris*. Se disuelve en agua a temperatura ambiente y da lugar a solucionesque se mantienen estables en medio ácido o salinos. Presenta una estructura secundaria helicoidal desorganizada que puede evolucionar hacia conformaciones más rígidas, en las que las cadenas laterales se encuentran plegadas a lo largo de la cadena principal. La forma organizada es estable a bajas temperaturas y a fuerzas iónicas elevadas (3). La goma garrofina (ceratonia o de harina de algarrobo) es un galactomanano formado por una cadena principal de β-D-manano y sustituyentes laterales de β-D-galactosa (4). La capacidad de los galactomananos para interaccionar sinérgicamente con biopolímeros helicoidales como la xantana, dando lugar a geles termoreversibles, se ha puesto de manifiesto por viscosimetría de flujo (5, 6). En este trabajo se estudia por técnicas reológicas la interacción entre las gomas xantana y garrofina, en dispersiones de gomas previamente sometidas a un tratamiento mecánico previo y preparadas a diferentes temperaturas, y se evalúa su repercusión sobre la difusión de ciprofloxacino.

Materiales y Métodos

Materiales

Gomas xantana y garrafina (INAGARBE, España), ciprofloxacino (UQUIFA, España). Los restantes reactivos fueron de calidad analítica.

Preparación de dispersiones de gomas

Se prepararon dispersiones al 0,5% p/p, añadiendo las cantidades correspondientes de cada goma (Tabla 1) sobre agua a temperatura ambiente o en ebullición. Los dispersiones se mantuvieron en agitación durante 24h. También se prepararon, por el mismo procedimiento, dispersiones de los polvos resultantes de pulverizar en mortero compactos de 0.5 g resultantes de la compresión de las mezclas aplicando una fuerza de 5000 kg durante 5 minutos (Prensa hidráulica Mega B-20, matriz de 12 mm).

	% (p/p)						
Xantana	100	75	60	50	40	25	0
Garrofina	0	25	40	50	60	75	100

Tabla 1. Composición de las mezclas de gomas xantana y garrofina utilizadas para preparar las dispersiones

Análisis reológico

El comportamiento reológico de las dispersiones se evaluó en un reómetro AR1000-N (TA Instuments, UK), equipado con un plato Peltier y una geometría tipo cono (6 cm, 2º). Se llevaron a cabo ensayos de oscilación (0,05 a 50 rad/s a 0,1 Pa), fluencia y recuperación (5 minutos a 0,1 Pa y 5 minutos de recuperación), y flujo (0,001 a 10 Pa). Los ensayos se realizaron a 25ºC, o aplicando una rampa de calefacción de 20 a 80º C.

Ensayo de difusión

La difusión de ciprofloxacino a partir de dispersiones de las gomas conteniendo 50 µg/ml de ciprofloxacino se evaluó en células Franz-Chien con membrana separadora de acetato de celulosa (0,45µm, Albet España). Se utilizó 1 ml de gel y 5,5 ml de NaCl al 0,02% de medio receptor. La concentración de ciprofloxacion se determinó espectrofotométricamente (278 nm, Agilent, Alemania).

Resultados y Discusión

Las dispersiones analizadas se comportaron como sistemas pseudoplásticos, presentando la goma xantana una mayor capacidad viscosizante que la garrofina (Fig1). En las mezclas, la viscosidad se redujo al aumentar la proporción de garrofina. Por otra parte, las dispersiones preparadas con gomas previamente comprimidas presentaron una menor viscosidad, especialmente en el caso de la goma xantana. Este efecto se explica por las alteraciones que se producen en su estructura secundaria. La dispersión en agua a 100ºC produjo un efecto similar.

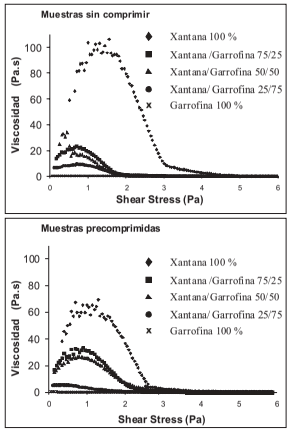


Figura 1. Dependencia de la viscosidad de las dispersiones respecto de la fuerza de cizalla.

Las dispersiones de garrofina mostraron valores más altos de módulo viscoso (G'') que de módulo elástico (G´) en el intervalo de frecuencias angulares ensayado. Este comportamiento es característico de un gel no estructurado. Por el contrario, las dispersiones de xantana presentaron valores de G' superiores a los de G'', e independientes da frecuencia angular, lo que indica que las cadenas poliméricas forman un entramado tridimensional con uniones fuertes. La compresión previa de las gomas dio lugar a incrementos apreciables en los valores de G' y G'' de las dispersiones de las mezclas preparadas con xantana:garrofina 40:60 y 60:40 (Fig. 2). Respecto de las dispersiones preparadas sólo con xantana, estas mezclas mostraron incrementos muy importantes de G' y G'', lo que indica que los cambios en la conformación de los polímeros promueven la interacción entre las dos gomas.

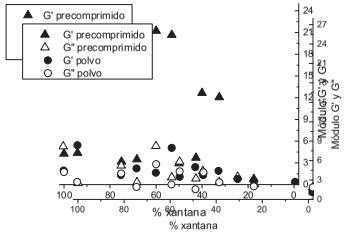


Figura 2. Valores de G' y G´´ de las dispersiones que se indican a 25 ºC y 1 rad/s (superior) ó 10 rad/s (inferior)).

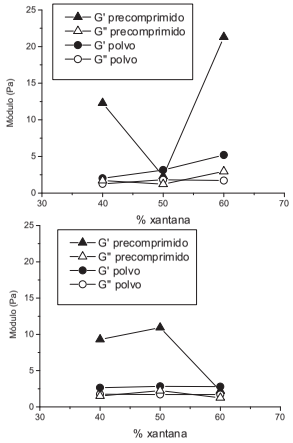


Figura 3. Valores de G' y G' de las dispersiones preparada a 25ºC (A) ó 100ºC (B).

La preparación en agua a 100ºC produce un ligero descenso en G´ y G´´ (figura 3), lo que debe estar relacionado con la alteración irreversible de la estructura secundaria de la xantana.

En los ensayos de fluencia y recuperación se observó que las mezclas xantana:garrfofina 40:60 y 60:40 son las que presentan una mayor capacidad de recuperación elástica. Este parámetro también se vio afectado por la compresión y la temperatura de preparación.

Composición Xantana:garrofina	25 ºC		100 ºC	
	Sin comprimir	comprimido	Sin comprimir	comprimido
40:60	55,3%	14,6%	41,8%	17,2%
50:50	39,9%	48,2%	52,3%	5%
60:40	23,8%	50,8%	53,8%	55,6%

Tabla 2. Porcentaje de recuperación de las dispersiones (contenido total en gomas 0.5%).

En los geles de xantana la difusión de ciprofloxacino fue más lenta que en los geles de garrofina o de mezclas de ambos (Tabla 3). El tratamiento previo de las gomas y de la temperatura de preparación de los geles no afectaron a los valores de los coeficientes de difusión. Esto prueba que, dado el reducido tamaño molecular del fármaco, las modificaciones de la red polimérica no son suficientes para alterar el proceso de difusión del fármaco.

	Composición xantana:garrofina					
	0:100	25:75	40:60	60:40	75:25	100:0
$D(cm^2/s)\cdot 10^3$	6.90	4.96	7.77	7.23	6.94	1.90

Tabla 3. Coeficiente de difusión del ciprofloxaciono en los geles que se indican (contenido total en gomas 0.5%).

Conclusiones

En las mezclas xantana:garrofina se observa un efecto sinérgico en los parámetros reológicos, que se intensifica si los materiales se someten a una compresión previa a la preparación de las dispersiones para promover la interacción entre las cadenas de los polímeros. Los valores más bajos de coeficiente de difusión se obtuvieron con las dispersiones preparadas exclusivamente con goma xantana, lo que se relaciona con su más elevada capacidad viscosizante.

Bibliografía

(1) Marcotte, M. et al. J. Food Eng. 48, 157-167, 2001.
(2) Rao, M. A., Anantheswaran, R. C. Food Technol-Chicago, 36, 116–126, 1982.
(3) Morris, E.R.. En Harris P. (Ed.) Food gels. London: Elsevier Applied Science 1982, pp. 291–360.
(4) Dea, I. C. M., Morrison, A. Adv. Carbohyd. Chem. Bi. 31, 241–312, 1975.
(5) Rocks, J. K. Food Technol-Chicago 25, 476–483, 1971.
(6) Morris, E. R. et al. J. Mol. Biol. 138, 363–374, 1980.

Agradecimientos

MEC (SAF2005-01930), FEDER y Xunta de Galicia (PGIDIT05BTF20301PR).

P-52 REPRODUCIBILIDAD DEL PROCESO DE SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS DE ALMIDÓN E HIDROXIPROPILALMIDÓN DE TAPIOCA Y METACRILATO DE ETILO.

Casas, M., Ferrero, C., Jiménez- Castellanos, M.R.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/ Profesor García González nº2. 41012 Sevilla
e-mail: nmartita@hotmail.com

Introducción

En los últimos años, el interés por la introducción de nuevos materiales para formas farmacéuticas de liberación controlada ha aumentado considerablemente. Con este fin se ha desarrollado una nueva generación de copolímeros de injerto que combinan polímeros semisintéticos (derivados de almidón y celulosa) y sintéticos (acrílicos) (1, 2), y que ofrecen múltiples ventajas, ya que, por un lado, los polímeros naturales modificados son biocompatibles y biodegradables, y por otro, el injerto aporta hidrofobicidad, retardando la liberación del fármaco (3). Además, el tipo de almidón y monómero utilizado influirá en las propiedades de los copolímeros resultantes (4).

El objetivo de nuestro estudio es la síntesis de nuevos copolímeros de injerto de almidón e hidroxipropilalmidón de tapioca con metacrilato de etilo y la valoración de la reproducibilidad de dicho proceso como paso previo a su caracterización como excipientes formadores de sistemas matriciales.

Materiales y Métodos

Materiales

- Almidón de tapioca (TA) (Tapioca Starch, lote KCB 8010, National Starch & Chemical, Manchester, Reino Unido), con un porcentaje de amilosa del 17%.
- Hidroxipropilalmidón de tapioca (THA) (Tapioca Textra, lote MCB 3053, National Starch & Chemical, Manchester, Reino Unido).
- Metacrilato de etilo para síntesis (EMA) (Merck, Hohenbrunn, Alemania).

Síntesis de copolímeros de injerto

El carbohidrato se dispersó en agua bidestilada, a temperatura constante de 30ºC y bajo atmósfera de nitrógeno. A continuación, se añadió el monómero (EMA) y, tras 15 minutos, la solución iniciadora (hexanitrato de amonio y cerio). Se dejó proseguir la reacción durante 4 horas bajo una fuente de luz constante. Tras la filtración, el sólido resultante se lavó con ácido nítrico y agua bidestilada, obteniéndose así los copolímeros TAEMA y THAEMA.

Dichos copolímeros se sometieron a dos métodos alternativos de secado con objeto de valorar posibles diferencias entre ellos: en estufa de vacío (Vacucell 22, Gräfelting, Alemania) a 50ºC y 0.5 Pa hasta peso constante (copolímeros O) o por liofilización (congelación a -80ºC durante 48 horas y sublimación a 0.1 Pa y -80ºC) (liofilizador Cryodos-80, Terrasa, España) (copolímeros L). Los copolímeros de almidón se molturaron en un molino de cuchillas (Retsch, Haan, Alemania) para obtener un sólido pulverulento.

Con objeto de evaluar la reproducibilidad de los procesos de síntesis y secado, se sintetizaron 3 lotes para cada tipo de copolímero.

Rendimientos de reacción

Para caracterizar el proceso de síntesis se calcularon los siguientes parámetros:

- Porcentaje de eficacia de injerto (%EI):

$$\%EI = \frac{copolímero\ \ de\ injerto}{producto\ \ total} \times 100$$

- Porcentaje de injerto (%I):

$$\%I = \frac{polímero\ \ acrílico\ \ injertado}{carbohidrato\ \ injertado} \times 100$$

Espectroscopía de RMN

Las medidas espectrales del ^{13}C se obtuvieron a 30ºC con un espectrofotómetro Bruker Avance 500 (Wissembourg, Francia), preparándose las muestras al 3% p/v en una mezcla de d-DMSO y d-piridina (1/1).

Espectroscopía de Infrarrojo

Los espectros de IR se registraron en un FTIR-Nicolet 510 (California, Estados Unidos). Para la preparación de las muestras se usaron pastillas de bromuro de potasio.

Análisis granulométrico

Los copolímeros se sometieron a un análisis granulométrico por tamización en cascada (Tamizadora Retsch Vibro, Haan, Alemania), utilizando tamices calibrados (Cisa, Barcelona, España).

Microscopía electrónica de barrido

Se tomaron las microfotografías de las partículas de los copolímeros mediante un microscopio electrónico de barrido (Philips XL-30, Eindhoven, Holanda).

Densidad aparente de partícula

Se determinó, por triplicado, la densidad aparente de partícula de los copolímeros usando un picnómetro de helio Ultrapycnometer 1000 (Quantachrome, Florida, Estados Unidos).

Contenido de humedad

El contenido de humedad de las muestras (500 mg) se determinó, por triplicado, en una balanza de infrarrojo (Mettler Toledo LJ16, Zürich, Suiza) a 50°C hasta peso constante.

Resultados y Discusión

Los rendimientos de reacción (Tabla 1) muestran una buena reproducibilidad entre los lotes y un alto porcentaje de injerto. Sin embargo, los copolímeros TAEMA presentan valores inferiores de %EI y %I, en comparación con sus homólogos THAEMA, lo que indica una menor reactividad del almidón no modificado. De la combinación de ambos tipos de rendimientos se deduce que los copolímeros están constituidos por un 30-40% de carbohidrato y un 60-70% de metacrilato de etilo, lo que pone de manifiesto el marcado carácter hidrófobo de estos derivados. Resultados similares han sido hallados por Marinich y col. (5) usando como carbohidrato de partida almidón de maíz céreo (<1 % amilosa).

Copolímero	%EI	%I
TAEMAO	92,3 (3,1)	147,9 (5,5)
	CV=3,4%	CV=3,7%
TAEMAL	91,0 (2,6)	169,6 (5,5)
	CV=2,9%	CV=3,2%
THAEMAO	98,0 (0,0)	229,3 (1,2)
	CV=0,0%	CV=0,5%
THAEMAL	98,3 (0,6)	221,7 (11,9)
	CV=0,6%	CV=5,4%

***Tabla 1**. Rendimientos medios de la reacción de copolimerización para tres lotes de cada copolímero.*

En relación a la espectroscopía de RMN (Figura 1) e Infrarrojo, se observa una superposición espectral entre los diferentes lotes de cada copolímero, indicativo de una gran reproducibilidad del proceso de síntesis.

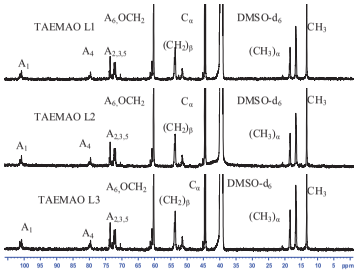


***Figura 1.** Espectro de RMN para los tres lotes de TAEMAO.*

El análisis granulométrico muestra un diámetro medio de partícula superior (Tabla 2) para los derivados THAEMA en comparación con los productos TAEMA, debido a la molturación a la que se someten estos últimos. Este análisis, junto con la microscopía electrónica de barrido, revela un tamaño y morfología similar entre lotes, salvo en el caso del copolímero THAEMAL, que muestra una mayor disparidad para estos parámetros.

Los valores de densidad aparente de partícula (Tabla 2) son muy similares para los tres lotes de los distintos copolímeros, con coeficientes de variación inferiores al 1%. También el contenido de humedad (Tabla 2) es muy semejante para todos los copolímeros, sin apreciar diferencias en cuanto al método de secado.

Copolímero	Tamaño medio de partícula (μm)	Densidad (g/cc)	Contenido de humedad (%)
TAEMAO	120 (5)	1,224 (0,003)	2,00 (0,01)
	CV=4%	CV=0,25%	CV=0,50%
TAEMAL	129 (24)	1,225 (0,009)	1,96 (0,02)
	CV=19%	CV=0,74%	CV=1,02%
THAEMAO	397 (2)	1,231 (0,002)	1,98 (0,02)
	CV=1%	CV=0,16%	CV=1,01%
THAEMAL	413 (111)	1,218 (0,012)	2,00 (0,02)
	CV=27%	CV=0,99%	CV=1,00%

***Tabla 2**. Valores medios del tamaño de partícula, densidad aparente de partícula y contenido de humedad de los tres lotes de los copolímeros bajo estudio.*

Conclusiones

A partir de los parámetros físico-químicos y tecnológicos evaluados podemos concluir que el proceso de síntesis es reproducible, lo que nos permite continuar en la línea de caracterización de estos materiales para su aplicación en la formulación de sistemas matriciales.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado con ayuda de una beca FPI del Plan Propio de la Universidad de Sevilla y es parte del proyecto MAT2004-01599 del Ministerio de Educación y Ciencia.

Bibliografía

(1) Castellano, I. et al. Carbohydr. Polym. 34, 83-89.1997.
(2) Ferrero, C. et al. J. Control. Release. 92, 69-82. 2003.
(3) Echevarría, I. et al. J. Appl. Polym. Sci. 96, 523-536. 2005.
(4) Athawale, V. D. et al. Eur. Polym. J. 33, 1067-1071. 1997.
(5) Marinich, J. A. et al. 5th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology (Ginebra), 154. 2006.

P-53 SAFETY OF LACTOSE AND CHITOSAN TO THE RESPIRATORY SYSTEM WHEN DELIVERED BY INHALATION ROUTE

Jesús Valle M J de[1], Dinis-Oliveira R J[2], Carvalho F[2], Bastos ML[2], Sánchez Navarro A[1]

[1]Pharmacy Department. University of Salamanca. Salamanca. Spain Avenida Campo Charro, s/n 37007
e-mail: asn@usal.es
[2]Department of Toxicology. University of Porto. Porto. Portugal Rua Aníbal Cunha 164, 4099-030

Introduction

Pulmonary delivery has many advantages over other routes though it also exhibits unique limitations. Formulations aimed at pulmonary delivery should include as few as possible additives in order to maintain lung functionality and to avoid respiratory pattern modifications, since administration of substances by inhalation raises specific safety concerns. Lactose and chitosan have been proposed as auxiliary substances for inhalation formulations; the former is widely used in the pharmaceutical industry as excipient in preparations given by other routes of administration. The latter is an approved food additive that has been considered for pharmaceutical formulation and drug delivery applications. Recently, chitosan-based delivery systems have been proposed to increase the bioavailability of drugs at the nasal mucosa and in the lungs (1); also these systems have been reported as efficient vehicles for pulmonary gene delivery (2,3). In spite of this, very sparse data on its pulmonary toxicity are available. Of note is the recent work of Huang *et al.* (4) who found that inhaled chitosan induced dose-dependent pro-inflammatory effects in rat lungs.

Pharmaceutical excipients have a vital role in drug formulations, which has tended to be neglected as evidenced by the lack of studies to assess excipients safety outside a new drug application process. It is surprising how few toxicological data are available for many well-known excipients as those above mentioned. According to this, the present study was aimed at evaluating the effects of lactose and chitosan *per se* on the respiratory system when directly exposed to each product by inhalation route.

Materials and methods

Protein, lipid peroxidation (LPO) and carbonyl groups quantification, as well as the activity of different antioxidant enzymes used as inflammatory biomarkers were determined in the lung tissue of rats exposed to lactose or chitosan by inhalation route. 18 Wistar male rats randomly distributed into the following groups were included in the study:

-Control group: exposed to distilled water
-Lactose group: exposed to 1% w/w lactose in distilled water and
-Chitosan group: exposed to 1% w/w chitosan in 0.1M glutamic acid adjusted to pH 7.4 with 10 M NaOH.

Tracheotomy and tracheal cannulation was performed with animals and immediately the cannula was connected to a mechanical ventilation system set at 60 respirations per minute and 2 mL of tidal volume. Water, lactose or chitosan solution (according to rat group) were nebulized with aid of a nebulizer equipment connected to the artificial ventilation system in such a way that the nebulized product came to the lungs through the cannula for 40 min (total amount of excipient: 20 mg). After this period the nebulizer was disconnected and the animals were kept on mechanical ventilation until the end of experiment. In situ organ perfusion through the portal vein was performed for 3 min with cold 0.9% saline solution at a perfusion rate of 10 mL/min in order to clean the tissues from blood. Then the thoracic cavity was open, the lungs removed, weighed and processed to determine biomarkers.

Results are expressed as means ± S.E.M. (standard error of the mean). Comparison of results from control and excipient groups was performed by application of the nonparametric Kruskal-Wallis test. Statistical significance was established at the standard probability value ($p<0.05$).

Results and discussion

Figures 1, 2, 3, show the most important finding obtained for oxidative stress-related assayed biomarkers in control, lactose and chitosan groups.

For mieloperoxidase (MPO) activity (nmol/g of protein) and glutathione disulfide (GSSG) lung concentrations (nmol/mg of protein) a relevant decrease for chitosan group compared to control was found (4.67±2.27 versus 15.10±7.27; p=0.011

for MPO and 0.89±0.68 *versus* 2.02±0.22; p=0.014 for GSSG). For catalase activity (U/mg protein), statistical significance was found between control and lactose group (18.22±3.72 *versus* 13.25±2.58; p=0.050). For the rest no differences between control and excipient groups were detected.

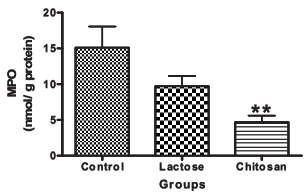


Fig. 1– Characterization of MPO lung activity (nmol/g of protein) of the control, lactose, chitosan groups. Values are given as means ± S.E.M. (n=6).p>0.05, *p<0.05, **p<0.01

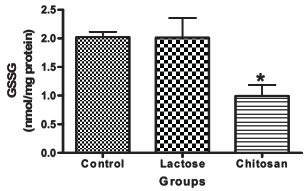


Fig. 2 – Lung antioxidant defenses GSSG (nmol/mg of protein) of the control, lactose, chitosan groups. Values are given as means ± S.E.M. (n=6).p>0.05, *p<0.05.

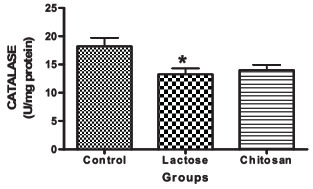


Fig. 3 – Catalasa (U/mg of protein) levels of the control, lactose, chitosan groups. Values are given as means ± S.E.M. (n=6).p>0.05, *p<0.05

According to our results lactose does not affect the pulmonary system of the rat when administered at a dose of 20 mg by inhalation route since all the biomarkers assayed showed values very similar to those corresponding to the control group, with no statistical significance except for CAT activity that showed a slight decrease in animals receiving lactose. These results are in total agreement with previous data on biocompatibility and safety of lactose when used for pulmonary administration.

The information obtained with chitosan, however, might be controversial since significant differences between chitosan and control group were observed for GSSG and MPO with a decrease to values representing 44% and 31% of the reference for the former and latter, respectively. From these results even an oxidative-stress-protective effect might be attributed to chitosan. Relevant discrepancies are found between our results and those previously reported by Huang *et al.* (4). These authors reported significant inflammatory response in the lung of the rats at doses of 2-10 mg/kg of chitosan, while no toxicological effects were detected in our study using a dose of 20 mg which corresponds to 60-70 mg/kg for 308.17±17.64 g of mean body weight. This may be due to administration of chitosan microparticles instead of product dissolution.

Conclusions

-Lactose and chitosan *per se* do not produce oxidative stress or inflammatory effects on the rat lungs after administration of doses as high as 70 mg/kg by inhalation route.

- A protective effect against oxidative stress might even be attributed to chitosan as far as some biomarkers takes values significantly lower than those observed in control group when this product is inhaled.

- High caution must be taken regarding chemical composition (particularly for chitosan) and technological processes applied to these products during drug formulation, in particular for dry powder inhalators.

References

(1) Sakagami M. et. al. J. Control Release 77, 117-129. 2001.
(2) Okamoto H. et. al. J. Pharm Sciences 92, 371-380. 2003.
(3) Yamada K. et. al. J. Pharm. Sciences 94(11), 2432-2440. 2005.
(4) Huang Y.C. et al. J. Biomed. Mat. Res. A. 75(2), 283-287. 2005.

P-54 TERNARY ADMIXTURES OF TRAMADOL, HALOPERIDOL AND HYOSCINE N-BUTYL BROMIDE: COMPATIBILITY AND STABILITY. EVALUATION IN TERMINAL ONCOLOGY PATIENTS

Martín, A[a], Barcia, E [a], Azuara, M.L[b], Sánchez, Y.[b], Negro, S. [a]

a.-Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza de Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid
b.- Unidad de Cuidados Paliativos. Asociación Española contra el Cáncer. Hospital "La Paz", Madrid.
e-mail: alicia_martin@hispavista.com

Introduction

Combination of drugs destined to subcutaneous infusion is a very common practice in Palliative Medicine (1-3) however, there still exists a clear lack of information pertaining the compatibility and stability of the specific drug admixture used. For this, tramadol hydrochloride, haloperidol lactate and hyoscine N-butyl bromide have been examined for compatibility and stability when combined in solution under conditions mimicking their potential use by continuous subcutaneous infusion to terminally ill oncology patients.

Materials and methods

Materials

Ampoules of tramadol HCL (50 mg/ml) (Adolonta®) and tramadol HCL powder (Grünenthal Andrómaco S.A., Spain); ampoules of haloperidol lactate (5 mg/ml) (Haloperidol Esteve®, Spain) and haloperidol lactate powder (Sigma-Aldrich, USA); and ampoules of hyoscine N-butyl bromide (20 mg/ml) (Buscapina®, Boehringer Ingelheim, Spain) and hyoscine N-butyl bromide powder (Sigma-Aldrich, USA); and sodium chloride for injection 0.9% (Antibióticos Pharma, Spain) were used.

Preparation of solutions and conditions of storage

All solutions containing tramadol HCL, haloperidol lactate and hyoscine N-butyl bromide were freshly prepared using commercially available compounds in polypropylene syringes using volumes reflecting those of 5-day infusion pumps (60 ml). The final dose and concentration of each drug included in the admixture were those corresponding to recommendations for use in palliative care patients. The corresponding contents of the ampoules were transferred into 15 ml syringes and made up to a volume of 10 ml, with 0.9% sodium chloride solution. All procedures were done under aseptic conditions in laminar flow hoods and using sterile drug solutions. 18 different admixtures were analyzed (Table 1). Three syringes of each solution were prepared and stored at room temperature (25ºC±0.5, stove) and protected from direct light exposure. Doses are expressed as the active moiety, not the weight of the salt. To assess loss of volume during storage 3 extra syringes were prepared for each drug admixture and checked at times 0 and 15 days by measuring their volumes in Hamilton syringes. Concentrations of tramadol HCL, haloperidol lactate and hyoscine N-butyl bromide in each syringe were determined in duplicate on the day of preparation and at 5, 7 and 15 days thereafter. At each time point, the solutions were also examined for the development of color, cloudiness and precipitation. The pH of each drug admixture was also measured after preparation and on the last day of the study.

Mixture			Tramadol HCL			Haloperidol lactate	Hyoscine N-butyl bromide
			Dose (mg/day)			Dose (mg/day)	Dose (mg/day)
1	2	3	100	200	400	2.5	40
4	5	6	100	200	400	5	40
7	8	9	100	200	400	7.5	40
10	11	12	100	200	400	2.5	60
13	14	15	100	200	400	5	60
16	17	18	100	200	400	7.5	60

Table 1. Drug admixtures assayed at 25ºC.

Analytical method

High performance liquid chromatography (HPLC) was utilized to determine concentrations of tramadol HC, haloperidol lactate and hyoscine N-butyl bromide in the solutions.

Patients

A retrospective study was performed in 8 terminally ill cancer patients followed at home by the Palliative Care Unit (AECC) destined at Hospital "La Paz" (Madrid) Mean age of the patients was 72.4 ± 7.78 years (66-91). All patients were in the final state of the disease exhibiting Karnofsky´s indexes ranging from 10% (7 patients) to 20% (one patient). Primary tumors were gastric, pancreatic, skin and breast cancer. The most frequent symptoms were pain (87.5%), vomiting (50%), agitation (37.5%), death rattles (25%), and regurgitation (12.5%). To treat these

symptoms doses used for s.c. infusion ranged between 100-200 mg/day for tramadol HCL, 1-5 mg/day for haloperidol lactate and, 40-80 mg/day for hyoscine N-butyl bromide. The duration of the s.c. infusion ranged from 1 to 4 days in all the patients.

Results and discussion

Tables 2, 3 and 4 show the percentages of each initial drug concentration (mean of duplicate syringes) at the times indicated following syringe preparation. Mixtures were considered stable if there was less than 10% degradation of the initial drug contents.

Evaluation of the drug admixtures did not reveal any color changes, precipitation and loss of volume. All drug admixtures were slightly acidic with pH values ranging from 4.7 to 5.61 at the beginning of the study and from 4.7 to 5.62 at the end of the storage period (15 days). Lowest pH values (4.7-4.9) were obtained when tramadol HCL was included in the admixtures at lower concentration with a slight increase (non-statistically significant) observed as tramadol HCL concentrations increased (5.43-5.61).

It is well known that when intravenously infused, acidic solutions have a higher irritation potential however, when infused subcutaneously, drug combinations of acidic pH values have been previously reported to be well tolerated.

Concentrations measured for tramadol HCL, haloperidol lactate or hyoscine-N-butyl-bromide in syringes at time of preparation were within 6% of the target value.

After 15 days of storage in polypropylene syringes, the percentages of tramadol HCL remaining in the drug mixtures were close to the initial values with non-statistically significant differences found between admixtures and sampling times (Table 2).

The mean percentages of haloperidol lactate remaining in all the admixtures assayed after storage at 25ºC for 15 days were higher than 92% (Table 3). Haloperidol lactate has been reported to be incompatible with morphine HCL, diamorphine HCL, and hydromorphone HCL [4].

TRAMADOL HCL				
Mixture	Time (days)			
	0	5	7	15
1	100.53	101.97	102.71	103.83
2	100.88	103.64	104.40	102.83
3	101.76	101.19	102.86	102.41
4	103.53	102.48	102.80	103.84
5	101.85	103.83	102.39	103.99
6	102.59	100.18	101.17	104.50
7	100.27	99.98	103.53	99.50
8	101.85	99.26	101.95	99.23
9	101.29	99.28	101.58	102.78
10	103.88	102.28	103.72	102.62
11	102.26	101.39	104.16	103.24
12	102.04	101.52	104.59	102.29
13	102.13	100.99	99.20	101.36
14	100.70	100.82	102.39	98.03
15	101.30	101.15	103.26	102.05
16	99.57	98.51	100.93	102.54
17	102.98	102.63	101.53	104.20
18	100.06	99.63	97.35	97.08

Table 2. Percentages of tramadol HCL remaining in the admixtures at 25ºC.

We have previously showed [5] that precipitation occurred at 4ºC when haloperidol lactate was combined in solution with hyoscine N-butyl bromide as a result of the formation of haloperidol bromide, with lower solubility than haloperidol lactate. However, in the present study the highest concentration of haloperidol lactate assayed was 0.625 mg/ml, lower than 1 mg/ml at which precipitation occurred.

Regarding hyoscine N-butyl bromide, all the admixtures retained at least 92 % of the drug at the end of the study when stored at 25ºC (Table 4).

In summary, maximum losses of 3%, 8% and 8% were obtained for tramadol HCL, haloperidol lactate and hyoscine N-butyl bromide, respectively after storage at 25ºC for 15 days. In all cases maximum standard deviation was 3.04%.

HALOPERIDOL LACTATE				
	Time (days)			
Mixture	0	5	7	15
1	104.40	102.37	96.34	93.54
2	104.07	101.47	93.96	94.03
3	105.90	103.22	94.74	92.28
4	102.07	99.08	102.41	99.93
5	101.29	99.53	102.10	99.83
6	103.30	100.74	99.56	100.55
7	103.62	103.79	98.39	100.75
8	100.50	104.27	102.12	99.30
9	99.63	102.78	100.49	96.61
10	105.08	103.55	104.23	100.97
11	105.22	100.23	100.86	102.77
12	105.58	103.29	101.06	99.56
13	105.67	105.40	100.57	99.84
14	106.00	105.81	102.77	98.16
15	105.35	102.55	101.10	97.61
16	103.40	99.40	98.66	100.38
17	105.13	100.39	99.66	101.49
18	99.31	95.68	96.97	95.94

Table 3. Percentages of haloperidol lactate remaining in the admixtures at 25ºC.

The retrospective study performed in 8 patients showed that the main symptom present was pain; which was mild-moderate visceral pain (5 cases), moderate-severe articular pain (2 cases) and, consequence of cerebral edema (1 patient). Symptom control was rated in a 0-3 scale (0 = no control and, 3 = complete control). The performance of the admixture resulted in a complete control of pain in all the patients. Four patients who suffered from 3-5 vomiting episodes/day and one patient with regurgitation experienced complete control of these episodes after administration of the admixture however, in one patient occasional vomiting still occurred until death. With respect to the other symptoms present, adequate control of death rattles was obtained whereas agitation only partially diminished. None of the patients showed local reactions to s.c. administration of the admixture but in one case marked somnolence appeared. According to the results obtained in this retrospective study the utility of the admixture was confirmed specially in highly vulnerable patients exhibiting moderate symptoms.

HYOSCINE N-BUTYL BROMIDE				
Mixture	Time (days)			
	0	5	7	15
1	101.53	100.10	101.76	97.95
2	100.81	100.55	100.00	95.10
3	102.58	101.95	97.01	96.59
4	102.86	101.70	99.69	99.69
5	102.28	100.06	100.20	98.19
6	104.60	100.91	100.84	100.53
7	99.39	100.82	98.18	99.33
8	98.35	100.89	97.12	98.14
9	102.68	99.53	100.15	95.78
10	99.33	100.27	100.64	98.75
11	102.00	100.50	100.52	95.61
12	100.48	98.20	101.80	96.72
13	100.45	101.19	99.15	97.42
14	103.39	98.88	101.75	98.47
15	101.24	98.77	98.82	100.19
16	98.60	98.10	94.95	93.81
17	98.17	98.94	96.28	95.02
18	99.79	98.68	93.56	92.26

Table 4. Percentages of Hyoscine N- bytil bromide remaining in the admixtures at 25ºC.

Conclusions

According to the results of the compatibility and chemical stability study it thus can be recommended that in clinical practice, the tramadol HCL, haloperidol lactate and hyoscine N-butyl bromide admixtures prepared in polypropylene syringes can be stored for 15 days at 25ºC within the concentration ranges assayed in this study.

References

(1) Ripamonti, C. et al. Cancer Control 3, 204-213.1996.

(2) Vella-Brincat, J. et al. Palliat. Med. 18, 195-201. 2004.

(3) Negro, S. et al. J. Pain Symptom Manage. 30, 192-199. 2005.

(4) Grassby, PF. Palliat. Med. 11, 217-224. 1997.

(5) Barcia, E. et al. Support. Care Cancer, 11,107-113. 2003.

P-55 UTILIDAD DEL CARBOPOL 974P PARA MODULAR LA LIBERACION DE TEOFILINA A PARTIR DE PELETS DE ESTRUCTURA MATRICIAL ELABORADOS POR EXTRUSION-ESFERONIZACION

Gómez-Carracedo, A., Coca, R., Souto, C., Gómez-Amoza, J.L.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. Campus Universitario Sur s/n. 15782 Santiago de Compostela
e-mail: ffjoluga@usc.es

Introducción

El control de la liberación de principio activo a partir de pelets de estructura matricial entraña una gran dificultad. Ello tiene su origen en la ausencia de una cubierta que permita, en función de su solubilidad y/o permeabilidad, modular el proceso y en el reducido tamaño de estos sistemas multiparticulares que proporciona una elevada superficie de contacto con el medio de disolución (1). En estas condiciones, factores como la naturaleza, proporción y propiedades del polímero utilizado, la velocidad de hidratación del sistema, la solubilidad del principio activo, etc, adquieren, si cabe, un mayor protagonismo (2).

El objetivo de este trabajo es evaluar las posibilidades que ofrece el Carbopol 974P para modular el proceso de cesión de teofilina a partir de pelets de estructura matricial elaborados por extrusión-esferonización. En concreto, se pretende delimitar las posibilidades de modulación de la liberación de principio activo en función de la composición de los pelets.

Materiales y Métodos

Materiales

Celulosa microcristalina (Avicel PH 101, FMC, lote 6703C), carbomer NF (Carbopol 974P, BF Goodrich Chem., lote AB17796), fosfato dicálcico dihidratado (Merk, lote 133K16409646), cloruro cálcico dihidratado (Merk, lote TA882282) y teofilina anhidra (Sigma, lote 27H0443).

Elaboración de los pelets

Los pelets, de diferente composición (tabla 1), se elaboraron de acuerdo con la siguiente metodología:
Mezclado de los componentes secos (Turbula T2C, 30 rpm, 10 min), humectación de las mezclas con una disolución acuosa de $CaCl_2$ -relación $CaCl_2$/carbomer=0.38- (Mezcladora planetaria Kenwood, 10 min), extrusión de las masas humectadas (Caleva 35, 60 rpm, malla de 1 mm de luz), esferonización (Caleva 120, plato de fricción circular de 12 cm de diámetro, hendiduras de 1 mm, 575 rpm, 10 min), desecación de los pelets (estufa con circulación forzada de aire, 40ºC, 24 h).

Caracterización de los pelets

Tamaño y forma: Se determinó el diámetro de Feret y la circularidad de, al menos, 600 pelets por microscopía óptica (Estereomicroscopio Olympus SZ-CTV, software PC Imagen VGA 24 v. 2.1). Las distribuciones de tamaño se ajustaron a una distribución log-normal y se estimaron la media y la desviación estándar geométricas.
Microestructura: La distribución de tamaños de poro y el volumen poroso de los pelets se determinaron por porosimetría de intrusión de mercurio en el intervalo de presiones comprendido entre 0.8 y 25000 psi (Micromeritics Pore Sizer 9305).

Velocidad de disolución de teofilina: Se utilizaron muestras de, aproximadamente, 250 mg de pellets –cantidad variable en función del contenido en agua de los pelets determinado por TGA- (contenido teórico en teofilina = 50 mg). Los ensayos se llevaron a cabo en 900 mL de agua a 37ºC y una velocidad de rotación de las paletas de 50 rpm (Turu Grau, aparato II USP). La concentración de teofilina en las muestras se determinó espectrofotométricamente a 271 nm (Agilent 8453). Las curvas de disolución se ajustaron, por regresión no lineal (GraphPad Prism v. 3.02, GraphPad Software Inc., San Diego, USA) a la ecuación de Weibull modificada (3):

$$M = \frac{1}{q}(1 - e^{-at^b})$$

en la que M representa la fracción de dosis de teofilina disuelta, q la relación dosis/ solubilidad del fármaco, expresada como fracción, y a y b los factores de escala y de forma, respectivamente. A partir de estos valores, se estimaron los tiempos medios de disolución (TMD) (3).

Tratamiento estadístico

El estudio se ha planificado de acuerdo con la estrategia impuesta por un diseño de mezclas para tres componentes - Avicel PH101 (A), Carbopol 974P (B) y fosfato dicálcico hidratado (C) -, en el que se incluyeron las siguientes restricciones (tabla 1):

$$20 \le A\ (\%) \le 100$$
$$0 \le B\ (\%) \le 80$$
$$0 \le C\ (\%) \le 16$$
$$A\ (\%) + B\ (\%) + C\ (\%) = 100$$

En todos los casos, el conjunto de los excipientes supuso el 80% del peso de los pelets. El 20% restante es el contenido en teofilina. El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo en dos etapas: inicialmente se identificó, entre los distintos modelos derivados del diseño (lineal, cuadrático y cúbico especial), el modelo polinomial más adecuado para explicar los comportamientos observados para, en una segunda etapa, simplificar dicho modelo por regresión lineal múltiple secuencial "backward" (Design Expert v. 6.0.6, Stat-Easy Inc., Minneapolis 2002). Estos modelos simplificados sirvieron de base para la construcción de las superficies de respuesta.

Form.	A(%)	B(%)	C(%)	D.Feret (μm)[a]	Circ.[b]	Por. (%)[b]	b^c	TMD (h)	R^2
T1	20	72	8	1031.36 (1.25)	0.92(0.03)	7.06(0.12)	0.819(0.071)	0.18	0.996
T2	56	36	8	912.82(1.22)	0.93(0.03)	8.37(0.39)	0.991(0.131)	0.01	0.997
T3	20	80	0	980.60(1.24)	0.90(0.03)	5.91(0.16)	0.840(0.130)	0.11	0.991
T4	60	40	0	810.66(1.17)	0.93(0.03)	9.93(0.79)	0.875(0.170)	0.07	0.997
T5	20	64	16	1013.57(1.21)	0.92(0.03)	5.72(0.28)	0.555(0.075)	0.31	0.993
T6	92	0	8	653.10(1.14)	0.96(0.02)	9.12(0.75)	0.990(0.010)	0.12	0.999
T7	84	0	16	682.62(1.11)	0.96(0.02)	8.75(0.08)	0.895(0.023)	0.12	0.999
T8	52	32	16	897.26(1.24)	0.94(0.02)	7.24(0.25)	0.941(0.064)	0.12	0.999
T9	100	0	0	609.39(1.19)	0.96(0.02)	10.11(0.19)	0.885(0.039)	0.11	0.999

***Tabla 1**. Composición de las formulaciones y resultados correspondientes a los parámetros utilizados para caracterizar las propiedades de los pelets ([a]Media y desviación estándar geométricas. [b]Media y desviación estándar.[c]Media y error estándar de la estimación).*

Resultados y discusión

En la tabla 1 se presentan los valores obtenidos para los distintos parámetros utilizados para caracterizar las propiedades de los pelets. El tamaño oscila, en función de su composición, entre 600 y 1000 μm. La superficie de respuesta (figura 2) pone de manifiesto que un enriquecimiento de los pelets en celulosa conduce a la obtención de pelets de menor diámetro y con formas más esféricas, como consecuencia de la importante contracción volumétrica que experimenta este excipiente durante el secado.

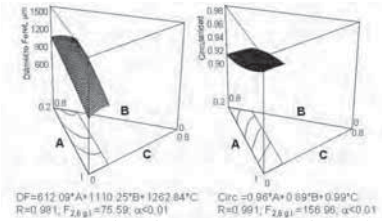


***Figura 1**. Superficies de respuesta correspondientes al diámetro de Feret y a la circularidad de los pelets..*

Además, aunque los pelets presentan, en todos los casos, una microestructura cerrada (tabla 1, figura 3), típica de sistemas obtenidos por desecación convencional en estufa, sus porosidades resultan ser fuertemente dependientes de su composición. Así, el enriquecimiento de los pelets en carbopol conduce a la obtención de sistemas menos porosos como consecuencia de su mayor capacidad aglutinante.

Las curvas de disolución de teofilina (figura 2) ponen de manifiesto la existencia de dos comportamientos claramente diferenciados: un grupo de formulaciones que libera la totalidad de la dosis en aproximadamente 30 min (las que contienen menos de un 60% de carbopol) y un segundo grupo que necesita más de dos horas para completar el proceso (contienen más de un 60% de carbopol). El análisis cinético de los perfiles de disolución (tabla 1, figura 3) también identifica estas dos tendencias (4). La primera, con valores de b próximos a 1, indicativa de que el proceso puede considerarse homogéneo y asimilable a una cinética de orden uno. La segunda, con valores de b cercanos a 0.5, característicos de una liberación fickiana y de procesos de disolución heterogéneos.

Estos resultados parecen indicar que cuando el carbopol es el componente mayoritario de los pelets, la teofilina se disuelve inicialmente de manera rápida para, a continuación, experimentar una importante ralentización como consecuencia de la formación de una película de gel que dificulta la difusión del principio activo. Estas diferencias, aunque se plasman en incrementos importantes en el valor del tiempo medio de disolución –se llega casi a triplicar su valor (tabla 1)-, son claramente insuficientes para conseguir una retención eficaz del principio activo.

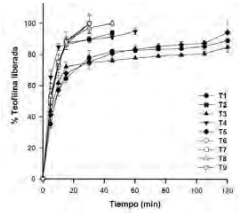


***Figura 2**. Curvas medias de disolución de teofilina correspondientes a las formulaciones indicadas.*

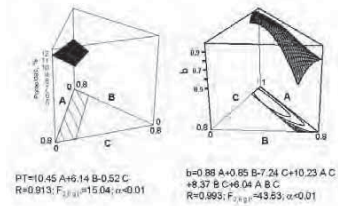


***Figura 3**. Superficies de respuesta correspondientes a la porosidad total y al factor de forma de la ecuación de Weibull.*

Agradecimientos
Trabajo financiado por la Xunta de Galicia (Proyecto PGIDIT05BTF20301PR)

Bibliografía

(1) R.U. Nesbitt, Drug Dev. Ind. Pharm., 1994, 20, 3207-3236
(2) C. Tapia y col., Int. J. Pharm., 1993, 92, 211-218
(3) A. Dokoumetzidis y col., Pharm. Res., 2006, 23, 256-261
(4) P. Macheras y col., Pharm. Res., 2000, 17, 108-112

Biofarmacia y Farmacocinética

P-56 ADMINISTRACIÓN DE GENTAMICINA EN REGIMENES CON AMPLIACION DEL INTERVALO EN SEPSIS NEONATAL

Martínez Lanao J[1], González Martínez S[2] Gil Navarro MV[2], Sánchez Martín A[2], Martín Suárez A[1], Calvo Hernández MV[2].

[1]Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca.
[2]Hospital Clínico Universitario. Salamanca
Campus Unamuno. 37007 Salamanca
e-mail: jmlanao@usal.es

Introducción

Los aminoglucósidos se utilizan muy frecuentemente en el tratamiento de infecciones bacterianas severas en niños recién nacidos, siendo crucial establecer rápidamente el régimen de dosificación adecuado. Sin embargo, la dosificación de gentamicina en estos pacientes está dificultada por la elevada variabilidad inter e intra-individual de su cinética. Diferentes factores y variables de desarrollo pueden alterar los requerimientos de dosificación de gentamicina.

El objetivo de este estudio ha sido evaluar el efecto de la sepsis neonatal en la farmacocinética de gentamicina.

Material y Métodos

Estudio retrospectivo de los resultados de monitorización de gentamicina en 50 niños recién nacidos a término. Todos recibieron gentamicina como único antibiótico, o combinada con β-lactámicos, a la dosis inicial de 10 mg/kg cada 36 h mediante infusión i.v de 60 minutos, ajustándose a los criterios de dosificación con ampliación del intervalo.

Los pacientes se dividieron en dos grupos según la indicación del tratamiento. En el grupo control se incluyeron 22 pacientes que recibieron gentamicina como profilaxis o por sospecha de sepsis sin confirmar, con las siguientes características fisiopatológicas (mediana (rango)): edad 2 (1-4) días, peso 3,4 (2,3-4,4) kg, con valores medios (SD) de proteína C-reactiva (PCR) determinados durante el tratamiento de 1,07(0,7) mg/dl. En el grupo de estudio se incluyeron 28 pacientes con sepsis confirmada clínica y/o microbiológicamente, con las siguientes características fisiopatológicas (mediana (rango)) : edad 3 (2-11) días, peso 3,0 (2,2-3,4) kg con valores medios (SD) de PCR de 1,84(1,45) mg/dl.

La monitorización se realizó en la segunda dosis, obteniendo muestras de sangre a las 2 y 24h después de terminar la infusión, y determinando la concentración sérica de gentamicina mediante inmunoensayo de polarización fluorescente (FPIA, AxSYM Abbott).

Las concentraciones de gentamicina se ajustaron a un modelo monocompartimental abierto con eliminación de primer orden mediante una técnica bayesiana (programa PKS, Abbott), estimándose el aclaramiento plasmático, el volumen aparente de distribución y las concentraciones máximas (Cmax) y mínimas (Cmin).

Posteriormente, para cada paciente se individualizaba el régimen de dosificación modificando, en caso de ser necesario, el intervalo o la dosis para alcanzar concentraciones dentro de los márgenes considerados terapéuticos (Cmax:15-20 mcg/ml y Cmin <0,5 mcg/ml).

Resultados y Discusión

El aclaramiento no presenta diferencias entre ambos grupos, sin embargo en el grupo con sepsis se aprecia un incremento en el volumen de distribución con relación al grupo control,: los valores medios (SD) obtenidos fueron de 0,69 (0,27) y 0,57 (0,07) L/Kg en el grupo con sepsis y grupo control, respectivamente. Este incremento en el volumen de distribución queda reflejado en las Cmax alcanzadas: 15,36 (2,02) y 17,45 (4,14) mcg/ml en el grupo con sepsis y grupo control, respectivamente (p=0,03). Como consecuencia del incremento en el Vd de gentamicina, en los pacientes con sepsis se requiere un incremento de un 20% en las dosis administradas, los valores medios de dosis ajustadas en función de los datos de monitorización fueron de 36,9 (8,4) mg cada 36 h en el grupo con sepsis y de 30,5 (5,3) mg cada 36 horas en el grupo control.

Conclusiones

Como consecuencia de las modificaciones farmacocinéticas que provoca la sepsis, en niños recién nacidos a término es necesario incrementar la dosis de gentamicina en un 20%. En regimenes de dosificación con ampliación del intervalo, nuestra recomendación para la dosis inicial es de 12 mg/kg cada 36 h en pacientes con sepsis y de 10 mg/kg cada 36 h en el tratamiento profiláctico.

Bibliografía

Contopoulos-Ioannidis DG et al. Extended-interval aminoglycoside administration for children: a meta-analysis. Pediatrics 114: 111-8, 2004.
Lanao J M et al. Pharmacokinetic basis for the use of extended interval dosage regimens of gentamicin in neonates. J Antimicrob Chemother 48(8): 1038-8, 2004.
Stickland MD et al. An extended interval dosing method for gentamicin in neonates. J Antimicrob Chemother 48: 887-93, 2001.

P-57 ANALISIS DE MECANISMOS DE DISOLUCION BASADO EN EL AJUSTADO

Garcia Rovira M, Boix Montañés A, Reig López I, Doménech Berrozpe J

Unidad de Biofarmacia y Farmacocinética. Facultad de Farmacia. Av Joan XXIII s/n, 08028 Barcelona
Laboratorio Reig Jofre SA c/ Gran Capitan 10, 08970 Sant Joan Despí (Barcelona)

Introducción

El ajustado de modelos de disolución consituye una herramienta útil para dilucidar mecanismos de liberación de fármaco en formulaciones de comprimidos de liberacion modificada.

En este trabajo, se han formulado diferentes matrices de liberacion modificada de un fármaco hidrosoluble y se ha estudiado su mecanismo de liberacion en base a los resultados del ajustado de dos funciones de disolución representativas de fenómenos de difusió pasiva y/o erosión..

Con este fin se han realizado un estudio de discriminación de modelos utilizando las ecuaciones de Higuchi y de Cattelani (1988):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 \cdot t^{0.5} \qquad (1)$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 \cdot t^{0.5} + k_2 \cdot t \qquad (2)$$

La ecuacion 1 describe una cinética de liberación mediante difusion pasiva desde una membrana de superficie constante. Por su parte la ecuacion 2 añade a la difusion pasiva la contribución de un posible proceso de liberación por erosión.

Materiales y Métodos

Materiales

A partir de una serie de ensayos previos para obtener formulaciones galénicamente correctas se han elaborado siete formulaciones de Fosfato de Codeina sesquihidrato basadas en excipientes celulósicos (Methocel, Ethocel), o bien acrílicos (Eudragit RSPO, NE, S100). En las Tablas 1 y 2 se detalla la composición porcentual de los distintos lotes elaborados:

Componentes	L01	L02	L03
Fosfato de codeína	15	45.5	37.8
Eudragit RS (PO)	76		5.6
Eudragit NE		9	
Eudragit L			18.9
Emcompress		45	37.2
Cloruro sódico	5		
Talco	4		
Estearato Mg		0.5	0.5

***Tabla 1**. Formulaciones con Eudragit.*

Componentes	L04	L05	L06	L07
Fosfato de codeína	15	15	15	15
HPMC (Metochel A15M)	24.5	24.5	-	-
HPMC (Methocel K4M CR)	-	-	30	15
Etilcelulosa 100 FP	-	60	-	-
Avicel pH 101	60	-	54.5	69.5
Estearato magnésico	0.5	0.5	0.5	0.5

***Tabla 2.** Formulaciones con base celulosica*

Todos los comprimidos tienen las mismas dimensiones y los valores de dureza han sido superiores a 20 kN en todos los casos.

Se han realizado doce replicados de disolución de cada formulación usando un gradiente de pH que partiendo de1.2 alcanza el valor de 7.5 al final de la experiencia.

El resto de condiciones del ensayo han sido las siguientes:

Aparato I Eur (palas)
Temperatura: 37ºC
Velocidad: 50 rpm
Volumen vaso: 900 ml
Volumen muestra: 1 ml (con reposición)

Las concentraciones de fármaco en las muestras se cuantificaron con el uso de HPLC.

El ajustado individual de las ecuaciones 1 y 2 a los datos experimentales se ha realizado con el uso de un programa de regresion no lineal (Winnonlin). Se han estimado los valores de cada parámetro así como el valor correspondiente de AIC.

Resultados y Discusión

En la Figura 1se recogen los diferentes perfiles de disolucion obtenidos con cada una de las formulaciones:

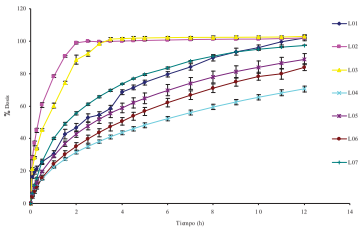


***Figura 1**. Perfiles medios de disolución*

En la Tabla 3 se resumen los parametros finales obtenidos para cada funcion junto con su valor de AIC correspondiente:

.	Higuchi		Cattelani		
	k_1	AIC	k_1	k_2	AIC
L01	0.32305	-40.41	0.32156	0.00101	-38.252
L02	0.87619	-23.79	0.87557	0.00104	-21.763
L03	0.61919	-26.43	0.61841	0.00100	-24.381
L04	0.31214	-67.50	0.29889	0.00873	-67.129
L05	0.33361	-53.32	0.28973	0.03136	-59.634
L06	0.29404	-52.83	0.23887	0.03646	-60.194
L07	0.39418	-33.12	0.29415	0.08813	-37.638

***Tabla 3.** Parámetros de disolución obtenidos con los dos ajustado, acompañados de los correspondientes valores de AIC*

Al comparar en conjunto ambos tipos de polímeros se observa que, en general, los excipientes acrílicos proporcionan una velocidad de liberación rápida para el fosfato de codeína (fármaco hidrófilo) mientras que los excipientes celulósicos retardan más la liberación del fármaco, siendo las formulaciones L04 y L06 las que proporcionan una liberación más lenta.

Con las formulaciones acrílicas se obtienen los valores más bajos de k_2, hecho que confirma su naturaleza de matrices rígidas no hinchables.

La matriz acrílica más rápida ha mostrado ser obviamente la de mayor porcentaje de fármaco y agente no polimérico (L02).

Recíprocamente, los valores más lentos de disolución se han obtenido con el mayor porcentaje de polímero y mínimo de fármaco, valores que se han tomado como referencia para las formulaciones posteriores de hipromelosa.

Con las formulaciones L05, L06 y L07 se observan porcentajes de erosión claramente mayores que con el resto.

Con un mismo tipo de celulosa (L7 y L6), los valores más lentos se han obtenido obviamente con el uso de un mayor porcentaje de polímero.

El efecto de los diferentes tipos utilizados de hipromelosa no se ha mostrado notable en las formulaciones ensayadas (L4 y L6).

De acuerdo con los valores de AIC, puede considerarse que la ecuacion de Cattelani explica ligeramente mejor los resultados experimentales. No obstante, dada la escasa diferencia entre los valores apareados de AIC representativos de cada ecuación, y también el valor claramente menor de k2 respecto a k1, puede considerarse que el proceso de liberación de fármaco se produce mayoritariamente por difusión pasiva.

Conclusiones

La adecuada selección de formulaciones matriciales a ensayar, con un perfil de disolución esperable, ha permitido confirmar la idoneidad de estas dos ecuaciones para discriminar los mecanismos simples de disolución.

Los sistemas de liberación en base celulósica son más idóneos que los acrílicos para formular el fosfato de codeína en formas farmacéuticas de liberación prolongada.

Bibliografía

Cattelani P et al. Acta Pharm Technol 1988; 34:38-41

P-58 ESTUDIO "IN VITRO" DE PERMEACIÓN DE CELIPROLOL Y BISOPROLOL EN PLASMA HUMANO

Braza, A.J., Modamio, P., Lastra, C.F., Mariño, E.L.

Unidad de Farmacia Clínica y Farmacoterapia. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Barcelona. Av. Joan XXIII S/N. Barcelona 08028.
http://www.ub.es/farcli/wp0.htm

Introducción

Se ha realizado un estudio "in vitro" con células de Franz y membranas de silicona con el objetivo de simular la penetrabilidad de celiprolol y bisoprolol a través de piel humana. Los parámetros de permeación obtenidos, aportarán nuevos datos sobre la potencial utilización de la vía transdérmica para dichos β-bloqueantes. (1).

Material y Métodos

Cuantificación de las muestras por HPLC
Los métodos analíticos validados que fueron utilizados, así como los procesos de extracción previos de los fármacos de la matriz biológica, se encuentran detallados en la bibliografía (2,3).

Células de Franz
En los ensayos de permeación se utilizaron 6 células, de 1,5 cm de diámetro, basadas en el modelo de célula propuesto por Franz (4).

Compartimento donante: solución acuosa de los fármacos en estudio a una concentración de 10 μg/ml.

Compartimento receptor: solución receptora previamente atemperada a 32ºC constituida por plasma humano libre de fármaco.

La membrana de silicona ("Short Term Non-Reinforced", Advanced Bio-Technologies, Inc. Silverdale,WA, U.S.A) tenía un espesor de 0,127 mm. El área útil de membrana para la difusión del fármaco entre los dos compartimentos fue de 1,767 cm^2.

Técnica del ensayo de permeación
A tiempo cero se depositó en el compartimento donante 1 ml de solución del fármaco a estudio. A tiempos previamente programados, de acuerdo con experiencias piloto realizadas, (1, 3, 5, 8, 16 y 24 h para celiprolol y 1, 2, 3, 4, 5 y 6 h para bisoprolol) se procedía a la toma de muestras, reponiéndose con plasma humano el volumen extraído.

De igual forma se repone el volumen del compartimento donante con solución de fármaco para asegurar que se cumplan las condiciones "sink" durante toda la experiencia.

Parámetros de permeación.
A partir de la representación grafica de las cantidades acumuladas permeadas por unidad de área en función del tiempo, se selecciono la sección lineal que representaba el flujo en el estado de equilibrio. El tiempo de latencia (T_l) se estimó por extrapolación al eje de ordenadas de la sección lineal. La constante de permeación (K_p) se calculó a partir de la relación entre el flujo y la concentración de la solución de fármaco del compartimento donante.

Resultados y Discusión

En las Figuras 1 y 2 se muestran la media de las cantidades acumuladas permeadas (n=6) frente al tiempo transcurrido y la función que mejor se ajusta a los datos experimentales, para celiprolol y bisoprolol respectivamente.

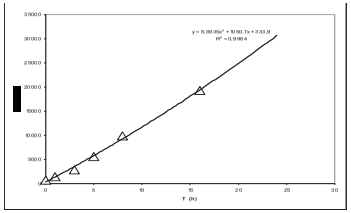


***Figura 1.-** Representación gráfica de la media de la cantidad acumulada permeada de celiprolol en función del tiempo.*

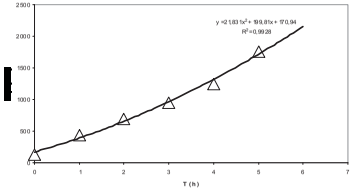


***Figura 2.-** Representación gráfica de la media de la cantidad acumulada permeada de bisoprolol en función del tiempo.*

En la Tabla 1 se muestran los valores medios de los parámetros de permeación para cada uno de los β-bloqueantes ensayados.

	T_l h	J ng/h.cm^2	K_p m/h
Celiprolol	**8,3±0,3**	**1303,3± 197,4**	**1,3E-01± 2,0E-02**
Bisoprolol	**3,6±0,1**	**138,9±15,5**	**1,4 E-02± 1,6 E-03**

Tabla 1.- *Parámetros de permeación de los fármacos estudiados.*

A la vista de los resultados obtenidos podemos observar que celiprolol presentó un tiempo de latencia que es aproximadamente dos veces superior al de bisoprolol. Sin embargo, los valores de flujo y constante de permeación fueron mayores también para celiprolol. Esto hace suponer que celiprolol, aun presentando un tiempo de latencia mayor, podría tener un mejor comportamiento que bisoprolol.
Para finalizar sólo señalar que se ha realizado la comparación con los resultados previamente obtenidos en piel humana (5) y se han establecido las correlaciones posibles con distintos parámetros físico-químicos de los β-bloqueantes estudiados.

Conclusión

El empleo de plasma en el compartimento receptor de las células de Franz en los estudios de penetración transdérmica consideramos que tendría que ser un elemento a tener en cuenta en la realización de los citados estudios.

Bibliografía

(1) Spieker C. et al. Arzneim. Forsch., 39, 1512-1514. 1989.
(2) Braza A.J. et al. Biomed. Chromatogr., 16, 517-522. 2002.
(3) Braza A.J. et al. J.. Chromatogr. B, 718, 267-272. 1998.
(4) Franz T.J. J. Invest. Dermatol., 64, 190-195. 1975.
(5) Modamio P. et al. Int. J. Pharmac. 173, 141-148. 1998.

P-59 ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD DE DIFERENTES PROMOTORES EN LA PENETRACIÓN TRANSDÉRMICA DE LA DOXEPINA

Calpena AC, Escribano E, Lauroba J.

Unidad de Biofarmacia y Farmacocinética. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona. Avda. Joan XXIII s/n. 08028 Barcelona
e-mail: anacalpena@ub.edu

Introducción

La acción de los promotores químicos en la permeación de fármacos a través del estrato córneo es un tema ampliamente estudiado (1, 2, 3). A pesar de ello, no puede extrapolarse qué mecanismo de acción tendrá lugar para un nuevo fármaco, ni mucho menos en presencia otros productos presentes en la formulación. Los promotores pueden actuar produciendo una fluidificación de los lípidos del estrato córneo reduciéndose de este modo la resistencia difusional, pueden incrementar el reparto hacia la piel, pueden incrementar la actividad termodinámica en el vehículo, o pueden producir una extracción de lípidos intercelulares y/o por dilatación entre los corneocitos permitiendo en este caso, el paso de sustancias polares.

Por tanto, el objetivo del presente estudio es la selección de promotores de la permeación transdérmica para la doxepina, así como evaluar el mecanismo de acción.

Materiales y Métodos

Materiales

El principio activo, Doxepina HCL, fue suministrado por Merck S.A. y los promotores utilizados fueron : 1-decanol (Aldrich), Azona (Durham Pharmaceuticals), D-limoneno (Aldrich), N-octilpirrolidona (ISP), dimetilsulfóxido (Sigma), Ácido oleico (Sigma), Ácido l-láctico éster etílico (Sigma). Se ha utilizado el propilenglicol (Panreac Química S.A.) como cosolvente.

Preparación de las formulaciones

Las formulaciones se elaboraron al 4% de principio activo, 5% de promotor y 5% de tensioactivo (tween 20) en propilenglicol/agua (10:90) mediante agitación. También se han preparado dos formulaciones de referencia: una en ausencia de promotor y la otra sin promotor ni tensioactivo.

Estudios de permeación *in vitro*

Los estudios de permeación transdérmica se realizaron con células de difusión de Franz de 2.54 cm^2 de superficie y utilizando piel humana abdominal (0.4mm) procedente de único donante. Se determinó la integridad de la piel mediante el tewl.
La solución receptora fue tampón fosfato pH 7.4 y la temperatura del ensayo 37 ± 0.1 ºC. Los tiempos de muestreo fueron 3, 7, 20, 22, 24, 26 y 28 h.

Estudios analíticos

Las concentraciones de doxepina en las muestras de permeación se analizaron por cromatografía líquida de alta eficacia. La metódica analítica fue validada previamente y las muestras se mantuvieron en viales topacio por tratarse de un fármaco fotosensible, hasta su análisis. Las condiciones analíticas fueron las siguientes: Columna SunFire C18 (4.6 x 150 mm), 5µm. Flujo 1ml/min, longitud de onda 235 nm, volumen de inyección 100 µl, fase móvil (72/28) Metanol/Solución reguladora de acetato amónico 100 mM pH 6.0. El tiempo de retención aproximado fue de 9 min.

Determinación de los parámetros de permeación y cálculo de las concentraciones terapéuticas predichas en estado de equilibrio estacionario.

La estimación de los parámetros se ha realizado por regresión lineal por mínimos cuadrados a partir de las concentraciones en estado de equilibrio estacionario: Flujo (J, pendiente), periodo de latencia (Tl, ordenada en abscisas), y coeficiente de permeabilidad transdérmica K_p , de acuerdo con la siguiente ecuación: $Kp=J/C_0$, donde C_0 es la concentración de doxepina en la formulación aplicada. Las concentraciones predichas en estado de equilibrio estacionario se calcularon asumiendo el área de un parche de 16 cm^2 y el valor del aclaramiento plasmático (Cl_p) mediante la ecuación: $C_{ee} = J \cdot \text{Area parche}/Cl_p$

Resultados y Discusión

La figura 1 muestra a modo de ejemplo los perfiles de permeación de las diferentes formulaciones.
Se observa que la formulación elaborada en presencia de 1-decanol presenta el mayor perfil de permeación en contraposición a la que contiene ácido oleico.

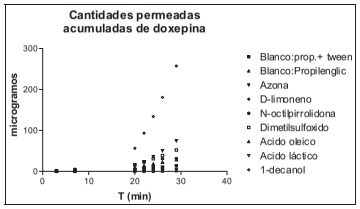


Figura 1. Perfil de permeación de la doxepina HCL a partir de las diferentes formulaciones en presencia de promotores.

Los parámetros de permeación calculados a partir de cantidades permeadas acumuladas a los diferentes tiempos de muestra para las formulaciones sometidas al estudio, así como las concentraciones plasmáticas predichas en estado de equilibrio estacionario se recogen en la tabla 1.

***Tabla 1**. Valores de los parámetros de permeación y concentraciones plasmáticas predichas en estado de equilibrio estacionario.*

	Kp (cm·h^{-1})	T_l (h)	J (µg/h)	C_{ee}(µg/ml)
Propilenglicol+ Tween 20	1.025E-05	15.94	1.04	1.109E-04
Propilenglicol	2.059E-05	15.29	2.09	2.196E-04
Azona	6.579E-05	18.22	6.68	7.018E-04
D-limoneno	4.488E-06	16.03	0.46	4.787E-05
N-octilpirrolidona	3.224E-05	18.69	3.28	3.439E-04
Dimetilsulfóxido	3.948E-05	16.2	4.01	4.212E-04
Ácido Oleico	1.461E-06	17.59	0.15	1.559E-05
Ácido Láctico	2.175E-06	16.81	0.22	2.320E-05
1-decanol	2.200E-04	17.75	22.35	2.346E-03

Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que entre los periodos de latencia alcanzados apenas se presentaban diferencias, mientras que en los valores de flujo y el coeficiente de permeabilidad las diferencias eran notables. Finalmente, en el valor de C_{ee} en todas las experiencias no se alcanzó el valor terapéutico, como se muestra en la tabla 2.

***Tabla 2**. Valores del aclaramiento plasmático y concentración terapéutica de la doxepina.*

Co (µg/ml)	40000
Cl (ml/min)	1000
SAT(cm^2)	16
Concentración terapéutica	0.180-0.350 (µg/ml)

Como se observa en la figura 2, los coeficientes de permeabilidad no son similares indicando las variablilidades de acción de cada uno de los promotores

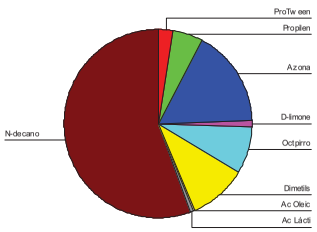


Figura 2. Diagrama sectorial de los coeficientes de permeabilidad para cada una de las formulaciones ensayadas.

Conclusiones

La acción de los promotores ensayados en la doxepina se desarrolla, muy probablemente, en su mayor parte por el efecto de las variaciones en el reparto del fármaco entre el vehículo (formulación) y el estrato córneo, más que por la influencia difusional de los mismos.
A pesar de la notable potencia promotora de muchos productos químicos, algunos de ellos no consiguen mejorar la actividad penetrante del propilenglicol, que posee una acción promotora por incremento de la actividad termodinámica de la fase donadora. De igual modo ocurre con la acción del tensioactivo.
La influencia de ciertos promotores como D-limoneno, ácido láctico y ácido oleico han supuesto un empeoramiento en cuanto a la permeación del fármaco respecto a las formulaciones de referencia.
Se requieren más estudios de selección con nuevos promotores y/o mezclas de ellos, dado que con los ensayados los valores de concentraciones predictivas todavía se hallan lejos de alcanzar valores óptimos.

Bibliografía

(1) Thomas C.K. Chan. Proceedings of a preconference course at the 9th Biennial International Conference of PPP April 13, 2004.

(2) Hadgraft J. Int. J. Pharm. 224, 1-18, 2001.

(3) Williams AC and Barry BW. Adv. Drug Deliv. Rev. 56, 603-618, 2004.

Agradecimientos

Se agradece al Dr. Humet del Hospital de Barcelona SCIAS por el suministro de muestras de piel.

P-60 ESTUDIO DE LA ABSORCIÓN TRANSDÉRMICA DE NORTRIPTILINA MEDIANTE IONTOFORESIS

Merino, V., Micó, T., Miralles, S., Nácher, A., Díez, O., Herráez, M., Merino-Sanjuán, M.

Departament de Farmàcia y Tecnologia Farmacèutica. Universitat de València. Av. Vicente Andrés s/n. 46100 Burjassot-Valencia
e-mail: Virginia.Merino@uv.es

Introducción y objetivo

En el tratamiento de deshabituación al tabaco el empleo de fármacos antidepresivos puede conseguir que hasta un 15-35% de los pacientes se mantengan abstinentes al cabo de un año, triplicando las posibilidades de éxito frente al abandono espontáneo.

La nortriptilina es bien tolerada y puede representar una alternativa de primera línea al bupropion en el tratamiento de la supresión del hábito del tabaco (1,2). La dosificación recomendada, en este tratamiento, es de 25 mg cada 8 h durante 12 semanas, recomendándose iniciarlo con 25 mg durante 3 días, continuar con 50 mg durante 4 días y, finalmente, durante el tiempo restante continuar con 75 mg al día.

Con el fin de reducir las posibilidades de que el paciente abandone el tratamiento por la incomodidad del mismo, el presente trabajo constituye la fase preliminar de un estudio más amplio cuyo objetivo final es elaborar una formulación que permita la administración transdérmica de nortriptilina. Por ello se analiza la difusión pasiva del fármaco a través de la piel, así como la posibilidad de potenciarla mediante iontoforesis.

Materiales y Métodos

Se determinó la absorción transdérmica de la nortriptilina a partir de soluciones de la misma preparadas en una solución tampón de HEPES 25 mM, de pH 5.5 (esta misma solución tampón fue empleada en el compartimento receptor). La piel, de origen humano, obtenida a partir de resecciones quirúrgicas, fue laminada a un espesor de 500 µm con un dermatomo.

Los ensayos de difusión pasiva se llevaron a cabo en células tipo Franz con una solución de concentración 20 mg/mL y se prolongaron durante 52 h.

Los ensayos de iontoforesis se realizaron con células de difusión horizontales con dos compartimentos dadores y uno receptor. Por medio de esta técnica se administraron dos soluciones, de 2 y 20 mg/mL, se empleó una corriente continua de densidad 0.5 mA/cm^2 y la duración de los mismos fue de 8h. Para mantener constante la concentración de fármaco en el compartimento dador, el contenido de dicho compartimento se renovó convenientemente.

Las cantidades de fármaco acumuladas en el compartimento receptor en función del tiempo se emplearon para calcular el flujo de nortriptilina en estado estacionario y el periodo de latencia del proceso de difusión. Para ello se ajustó la ecuación de Scheuplein a los pares de valores indicados, por medio del programa Win Nonlin 4.1 (Pharsight corp).

La comparación estadística de los resultados obtenidos en los diferentes ensayos de difusión se realizó por medio de un análisis ANOVA, seguido de la prueba de Scheffé.

Resultados y Discusión

En la figura 1 se muestran las cantidades medias acumuladas de nortriptilina (mg/cm^2) en el compartimento receptor frente al tiempo (horas).

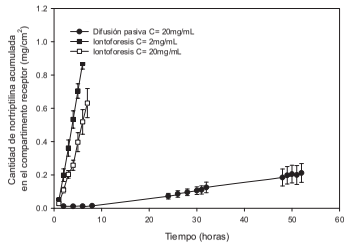


Figura 1. Cantidades acumuladas de nortriptilina (mg/cm^2) en el compartimento receptor durante los ensayos de difusión frente al tiempo (horas). (Valor medio ± DE; n ≥ 3).

Los valores de flujo transdérmico de nortriptilina se muestran en la tabla 1.

Como puede apreciarse, la nortriptilina es capaz de difundir a través de la piel sin la ayuda de promotores de absorción, presenta un valor de flujo en estado estacionario (5µg/cm^2/h) que se puede considerar bastante elevado y similar al de

la escopolamina y clorfeniramina (3), si bien en las condiciones de ensayo se observa un periodo de latencia de 11 horas.

Método	C (mg/mL)	J (DE) (mg/cm²/h)	t_0 (DE) (h)
Difusión pasiva	20	0,005 (0,002)	11.2 (2.5)
Iontoforesis	2	0,178 (0,011)	1.3 (0.5)
	20	0,111 (0,024)	1.0 (0.4)

Tabla 1. *Flujo transdérmico de nortriptilina en estado estacionario (J) y periodo de latencia (t_0). (Valor medio ± DE; n ≥ 3).*

Cuando se aplica la iontoforesis el estado estacionario de la difusión se alcanza en menos de 1 hora. Además, la comparación estadística de los valores de flujo puso en evidencia que la iontoforesis es capaz de incrementar en gran medida el flujo trandérmico de la nortriptilina; el valor del efecto promotor calculado es de 54. Hay que indicar que con objeto de emplear las condiciones óptimas en los ensayos de iontoforesis, éstos se realizaron sin adicionar a la solución ninguna sal que pudiese competir con el fármaco y un valor de pH que garantizase el máximo grado de ionización de la molécula (pH 5.5). Puesto que cuando se aplica la iontoforesis la relación flujo-concentración puede perder linealidad, se decidió determinar la absorción trandérmica del fármaco a una concentración más baja (2 mg/mL). Los valores de flujo determinados en estas condiciones son similares a los obtenidos en los ensayos realizados con la concentración elevada (20 mg/mL). Sería conveniente ensayar concentraciones más bajas del fármaco con objeto de determinar cuál es la concentración óptima del mismo para conseguir el máximo rendimiento del proceso de absorción mediante iontoforesis.

Conclusiones

La nortriptilina puede difundir a través de la piel, y es posible incrementar su penetración por medio de tecnologías como la iontoforesis.

Estos resultados ponen de manifiesto la posibilidad de llegar a obtener un sistema transdérmico para la administración de nortriptilina.

Agradecimientos

Los autores quieren expresar su agradecimiento a la Conselleria d'Empresa, Universitat i Ciència (Generalitat Valenciana) por la financiación recibida que ha hecho posible la realización de este trabajo (GV06/163).

Bibliografía

1. Hughes JR, Stead LF, Lancaster T. Antidepressants for smoking cessation (2004). The Cochrane Database of Systematic Reviews 2004, Issue 4. Art. No.: CD000031. DOI: 10.1002/14651858.CD000031.pub2.
2. Wagena EJ, Knipschild P, Zeegers MP. Should nortriptyline be used as a first-line aid to help smokers quit? Results from a systematic review and meta-analysis. Addiction, 100(3):317-26, (2005).
3. Chien YW, Novel drug delivery systems, 2nd Ed., Marcel Dekker, New York, 1992, pp 322.

P-61 FACTORES ESTIMULANTES DE CÉLULAS SANGUÍNEAS EN EL TRATAMIENTO ADYUVANTE DEL CÁNCER DE MAMA: ANÁLISIS DE COSTES

Jiménez Arenas, V[1]., Olmos Antón, S[2]., Merino Sanjuán, M[3]., Casabó Alós, VG[3]., Jiménez Torres, NV[3,4].

[1]Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Departamento de Ingeniería. Universidad Miguel Hernández de Elche.
[2]Servicio de Oncología Médica. Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia.
[3]Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. Avda. Vicente Andrés Estellés s/n. 46100 Burjassot-Valencia
e-mail: matilde.merino@uv.es
[4]Servicio de Farmacia. Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia.

Introducción

El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente en las mujeres y en España supone la primera causa de mortalidad (1,2).

Los tratamientos adyuvantes en cáncer de mama se corresponden con combinaciones de ciclofosfamida, metotrexato, 5-fluoruracilo, adriamicina, epirubicina y docetaxel. La mielosupresión es la toxicidad limitante de dosis de estas combinaciones de fármacos en algunas pacientes (3), pudiendo desencadenar cuadros de neutropenia febril asociados. Estas situaciones pueden comprometer la administración de las dosis completas planeadas, condicionando así la eficacia de los tratamientos. La alternativa habitual para resolver estos problemas es la administración de factores estimulantes de células sanguíneas, como son la eritropoyetina (EPO) (4) y el filgrastim (G-CSF) (5). Sin embargo, como consecuencia de la administración de estos fármacos, se incrementa de manera significativa el consumo de recursos económicos por el tratamiento adyuvante en pacientes con cáncer de mama.

En este contexto, el objetivo del estudio es cuantificar los costes directos del tratamiento adyuvante de cáncer de mama con y sin factores estimulantes de células sanguíneas en relación al esquema antineoplásico utilizado.

Materiales y Métodos

Estudio observacional y retrospectivo realizado en el Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia durante 6 años, desde el 1 de enero de 1999 hasta el 31 de diciembre de 2004.

Se incluyen pacientes diagnosticados de cáncer de mama que han recibido tratamiento adyuvante con o sin factores estimulantes de células sanguíneas. Se excluyen los pacientes de género masculino, los que participan en ensayos clínicos y los que reciben únicamente farmacoterapia de soporte. Tras la aplicación de estos criterios de selección se incluyeron en el estudio 216 pacientes, que fueron tratadas con los esquemas farmacoterapéuticos (EFT) **AC** (N= 81) (Adriamicina 60 mg/m² i.v. (día 1) Ciclofosfamida 600 mg/m2 i.v. (día 1) Repetir cada 3 semanas x 4 ciclos. Duración total de 9 semanas), **FEC** (N= 123) (Fluoruracilo 600 mg/m² i.v. (día 1), Epirrubicina 75 mg/m² i.v. (día 1) Ciclofosfamida 600 mg/m² i.v. (día 1). Repetir cada 3 semanas x 6 ciclos. Duración total de 15 semanas), **CMF** (N= 7) (Ciclofosfamida 600 mg/m2 i.v. (día 1), Metotrexato 40 mg/m² i.v. (día 1), Fluoruracilo 600 mg/m² i.v. (día 1). Repetir cada 3 semanas x 6 ciclos. Duración total entre 18 y 24 semanas), **TAC** (N= 5) (Adriamicina 60 mg/m² i.v. (día 1) Ciclofosfamida 600 mg/m2 i.v. (día 1) Repetir cada 3 semanas x 4 ciclos, entonces Docetaxel 100 mg/m² cada 3 semanas x 4 ciclos).

La terapia con factores estimulantes de células sanguíneas (eritropoyetina y/o filgrastim) requirió el manejo de ocho presentaciones diferentes entre ambos fármacos, tanto de liberación rápida como de formulaciones pegiladas (liberación sostenida).

Los costes directos de los esquemas farmacoterapéuticos actualizados a la posología recibida por las pacientes se han obtenido de la aplicación informática Oncofarm® y los de factores estimulantes de células sanguíneas se han calculado considerando el coste de cada presentación comercial y el número de dosis (administraciones) recibidas por cada paciente registrada en la aplicación Pharmacist®. Los costes tangibles directos de la medicación recibida se aportan como coste medio por ciclo recibido y coste medio por paciente.

Resultados y Discusión

El coste medio por paciente y el coste total del tratamiento antineoplásico (incluyendo soporte antiemético e hidratación) según el EFT recibido se describen en la tabla 1.

Parámetro	AC (N = 81)	CMF (N = 7)	FEC600 (N = 123)	TAC (N = 5)
Coste medio / paciente(€)	276,9	174,1	1011	5697
CV %	26,40	31,05	17,18	11,06
EE (€)	8,12	20,4	15,66	281,88
IC95%	261-293	134-214	980-1041	5144-6249
Total EFT (€)	22.429,68	1218,18	124.328,8	28.483

***Tabla 1**.Coste de los tratamientos adyuvantes y su variabilidad.*

81 pacientes en tratamiento adyuvante en cáncer de mama (37.5 % del total de pacientes incluidos) recibieron farmacoterapia de soporte a su tratamiento antineoplásico con eritropoyetina y/o filgrastim, lo que supuso un total de 89.870 €. En la tabla 2 se indica la distribución del coste medio (€) de los factores estimulantes de células sanguíneas según el EFT antineoplásico adyuvante recibido.

Parámetro	AC (N = 20)	CMF (N = 3)	FEC600 (N = 53)	TAC (N = 5)
Coste medio /paciente	618,06	2.309,52	934,01	4.215,59
Valor mínimo	37,26	1.425,06	37,26	149,04
Percentil 25	55,89	2.018,83	66,18	386,02
Percentil 50	75,86	2.612,61	132,75	2.388,69
Percentil 75	144,75	2.751,75	520,46	4.818,15
Valor máximo	2.890,89	2.890,89	7.709,04	5.781,78
Total EFT	12.361,25	6.928,56	49.502,53	21.077,96

***Tabla 2.** Distribución de los costes (€) de los factores EPO y G-CSF administrados a las pacientes con cáncer de mama, según el EFT adyuvante.*

El coste medio por paciente en adyuvancia que recibe factor es de 1.137,60 €. Distinguiendo esta forma de expresar el coste por tipo de factor administrado, se tiene que para la EPO es de 637,21 € y para G-CSF es de 1.144,42 €.

De una manera global, el porcentaje de los recursos invertidos en farmacoterapia de soporte con factores de crecimiento hematopoyético sobre el total consumido para cada EFT utilizado en el tratamiento adyuvante del cáncer de mama se representa en la figura 1.

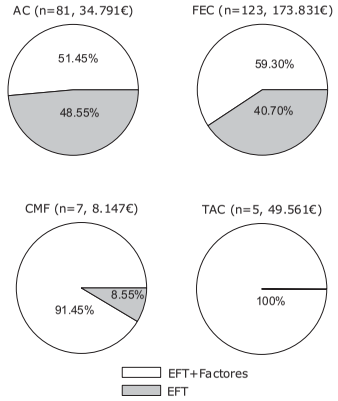


***Figura 1.** Distribución porcentual de costes para los pacientes que han recibido soporte con factores en cada EFT de adyuvancia.*

Para el esquema TAC es necesaria la administración de este tipo de soporte en el 100 % de los pacientes tratados, lo que incrementa de manera notable el coste ya de por sí elevado del propio EFT.

Conclusiones

La importancia de disponer de la información de los costes directos derivados de la utilización de factores estimulantes de células sanguíneas trasciende más allá de disponer de un comparador entre el coste medio por paciente y el coste del tratamiento antineoplásico, ya que el tratamiento con factores tiene una connotación sobre la seguridad de los esquemas farmacoterapéuticos utilizados en el estudio, tanto desde la perspectiva de prevención de toxicidad hematológica como del tratamiento de la misma.

Bibliografía

(1) US Nacional Cancer Institute. SEER Cancer Statistic Review, Section 4. 1993-1995.

(2) La situación del cancer en España. Ministerio de Sanidad y Consumo. 2005.

(3) Chu, E. et al. Cancer chemotherapy drug manual. Jones and Bartlett Publishers. 2004.

(4) Fagnoni, P et al. Support Care Cancer. Oct;14(10):1030-7. 2006.

(5) Krol J et al. Onkologie. Apr;29(4):171-8. 2006.

P-62 FARMACOCINÉTICA DEL SAQUINAVIR ADMINISTRADO POR VÍA IV EN LA RATA

Lledó García, R., Prats, L., Merino Sanjuán, Nácher, A., Casabó, V.G.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. Avda. Vicente Andrés Estellés s/n. 46100 Burjassot-Valencia
e-mail: vicente.casabo@uv.es

Introducción

El saquinavir, antirretroviral perteneciente a la familia de inhibidores de la proteasa (IPs), posee una biodisponibilidad oral absoluta baja e irregular [1], estimada por algunos autores en rata en un 4%[2]. Presenta numerosas interacciones con sustancias de diversa naturaleza por ser sustrato de enzimas metabólicas (citocromo P450) y de secreción intestinal (sistema MRP o la glicoproteína P) [3, 4]. Actualmente, se utiliza potenciado con otro IP, el ritonavir, ya que este último es un potente inhibidor de la isoenzima CYP3A4 [5].

El objetivo de este trabajo, es evaluar la linealidad cinética en la fase de disposición y profundizar en los aspectos farmacocinéticos relacionados con la misma. Asimismo, estudiar la influencia del ritonavir en la etapa de disposición del saquinavir.

Materiales y Métodos

En los **ensayos *in vivo*** se ha utilizado la técnica de canulación de la vena yugular de la rata. Los ensayos, en ratas Wistar, han sido aprobados por el Comité Ético de la Facultad de Farmacia, Universitat de València.

Se ha administrado por vía intravenosa una dosis única de 48 (G1), 24 (G2) y 12 (G3) mg del fármaco puro, y una dosis única de 24 mg en combinación con 6 mg de ritonavir (G9). Se han establecido de forma aleatoria cuatro grupos de animales, uno para cada dosis administrada, siendo el periodo de toma de muestras de 0,25 a 10 h.

La **valoración** de los fármacos en las muestras plasmáticas purificadas se ha realizado mediante cromatografía líquida de alta resolución, utilizando un detector UV (λ= 235 nm) y una columna cromatográfica de fase inversa. La fase móvil empleada ha consistido en una mezcla de acetonitrilo y de una solución formada por un 99% de agua bidestilada y un 1% de tampón fosfato 1/15 M (pH 6.9), en proporciones 57:43 (V/V) para el saquinavir sólo y 53:47 (V/V), para la valoración simultánea de los dos fármacos.

El **tratamiento matemático** de los datos experimentales ha consistido en: a) análisis no compartimental individual de los datos intravenosos de concentración plasmática-tiempo (WinNonlin® 4.1). Comparación de medias de los parámetros farmacocinéticos obtenidos, (ANOVA de una vía o en su caso pruebas no paramétricas). b) caracterización del modelo farmacoestadístico que describe el comportamiento farmacocinético del saquinavir, mediante el modelo no lineal de efectos mixtos a través de la regresión no lineal (NONMEM, 5.0) por mínimos cuadrados extendidos, con doble precisión y estimación de primer orden (FO). El modelado farmacocinético se ha abordado de manera secuencial, implementando mayor grado de complejidad en el modelo escogido y observando si se mejora el ajustado obtenido.

Resultados y Discusión

- **Análisis no compartimental**

❖ *Administración de saquinavir por vía IV*

La linealidad cinética en la fase de disposición, se ha estudiado comparando los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras el análisis no compartimental, para las dosis de 12, 24 y 48 mg de saquinavir administrado por vía intravenosa. El análisis de varianza no encuentra diferencias significativas ni en el AUC^{∞}/D, ni en el *Cl*, para las dosis menores. Sin embargo, sí que las encuentra entre el grupo 1 y los grupos 2 y 3, siendo el AUC^{∞}/D de los grupos 1, 2 y 3 de: 2,639, 1,596 y 1,450 mgh/L, respectivamente; el *Cl*, de los grupos 1, 2 y 3, es 0,421, 0,672 y 0,753 L/h, respectivamente. El aumento de AUC^{∞}/D en la dosis mayor, puede estar relacionado con su menor *Cl*. Asimismo, se encuentran diferencias significativas en el *Vdee* de las distintas dosis (1,703-G.1, 1,253-G.2 y 1,813-G.3 L), y el *Vd* de las dosis menores (1,650-G.2 y 3,050-G.3 L). También se encuentran diferencias significativas en la semivida de eliminación, $t_{1/2\lambda}$. Los parámetros farmacocinéticos IV obtenidos parecen indicar que el proceso de distribución y el de eliminación del fármaco son no lineales.

❖ *Administración IV de 24 mg de SQV sólo y en combinación con RTV*

El análisis de varianza encuentra diferencias significativas entre todos los parámetros IV excepto en el *Vdee* y *Cmax/D*. El AUC^{∞}/D del saquinavir resulta ser de 1,596 cuando se administra sólo, y de 10,984 h/L cuando se coadministra con ritonavir. Este resultado indica que cuando se coadministran ambos fármacos, el

ritonavir disminuye el aclaramiento del saquinavir, de acuerdo a los resultados obtenidos, siendo el *Cl* de 0,672 L/h cuando se administra sólo y de 0,091 L/h cuando se administra en combinación, es decir, el *Cl* del saquinavir disminuye unas seis veces.

- **Análisis compartimental**

En el **modelado empírico** se observa que el proceso de eliminación es no lineal, pero en este caso se observa para el *Cl* la siguiente tendencia: $Cl_{G9}<Cl_{G1}<Cl_{G3}<Cl_{G2}$. Cabría esperar un menor aclaramiento en el grupo administrado con la dosis media de 24mg (G2), en caso de que hubiera una saturación del proceso de biotransformación metabólica. Por otra parte, el hecho de que el grupo administrado con 24 mg de saquinavir y coadministrado con ritonavir (G9), presente aparentemente menor aclaramiento, podría explicarse por una disminución de la eliminación del saquinavir por producirse una inhibición del metabolismo del saquinavir por parte del ritonavir.

Para dar una explicación **mecanicista** a estas observaciones, se desarrollaron diversos modelos no lineales. Entre los modelos que se consideran, se incorpora, un proceso de unión a proteínas plasmáticas y una eliminación con cinética de Michaelis-Menten, entre otros posibles procesos.

En la tabal 1 se muestran los resultados obtenidos para el modelo seleccionado (FMO=483,5), que considera una unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas, y una eliminación con cinética de Michaelis-Menten. Ku y Kb son las constantes cinéticas de desunión y unión a proteínas plasmáticas, respectivamente. Vm y Km, son la velocidad máxima y la constante de Michaelis-Menten, en el proceso de eliminación del fármaco.

Del valor obtenido de cantidad máxima de fármaco que puede unirse a las proteínas plasmáticas (QMA=3710 mg), se desprende que el proceso no se satura a las dosis administradas y el proceso de unión a proteínas plasmáticas actúa como si de otro compartimento periférico se tratase, produciendo un retraso en la distribución. Entre los resultados, se observa que el G9, presenta una Km 5 veces superior al valor obtenido para el resto de grupos. Ello indica una pérdida de afinidad por la enzima implicada en el proceso metabólico cuando se administra el saquinavir junto con ritonavir, por lo que se pone de manifiesto la interacción de ambos fármacos. Este resultado concuerda con los resultados del análisis no compartimental, que ya mostraban una diferencia en *AUC/D* de 6 veces, tras la administración intravenosa del saquinavir sólo y en combinación.

Modelo (ADVAN9)		FMO: 483,533	
Parámetro		**IIV (ω)**	
Vm (mg/h)	45,2	ωVm	6,56E-06
Km (mg/L)	39	ωkm	0
$FKm_{(G9)}$	5,09	ωk12	0
K12 (h^{-1})	2,77	ωk21	0,407
K21 (h^{-1})	1,15	ωVc	0,611
Vc (L)	0,267	ωkb	0,034
Kb (L/mg·h)	9,18E-06	ωku	0,668
Ku (h^{-1})	0,169	ωQMA	0,616
QMA (mg)	3710	**σ exp**	
		σ	0,143

Cuadro 1 *Valores de los parámetros farmacócineticos poblacionales, ω y σ obtenidos tras el ajustado del modelo seleccionado a los datos intravenosos de saquinavir de los grupos 1,2,3 y 9.*

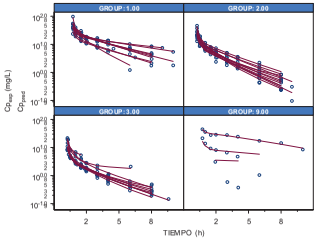


Figura 2 *Representación gráfica de las concentraciones experimentales (Cp_{exp}) vs tiempo y las concentraciones individuales predichas (Cp_{pred}) por el modelo seleccionado.*

Conclusiones

El análisis no compartimental indica que el saquinavir a las dosis administradas por vía intravenosa, sigue una cinética no lineal en la fase de disposición. Y que la interacción del saquinavir y el ritonavir, se situá en el proceso de eliminación.

El análisis compartimental, indica que en la fase de disposición del saquinavir los procesos no lineales se identifican mediante una unión dinámica y saturable a proteínas plasmáticas y una eliminación con cinética de Michaelis-Menten, viéndose aumentada la Km del saquinavir cuando se coadministra ritonavir.

Bibliografía

(1) Guiard-Schmid, J.B. et al. Poirier, et al. Antimicrob Agents Chemother, 47(3), 986-990. 2003.
(2) Flexner, C. et al. Rev Pharmacol Toxicol, 40: p. 649-74, 2000.
(3) Mouly, S.J. et al.. J Pharmacol Exp Ther, 308 (3), 941-948. 2004.
(4) Park, S. et al.. J Pharmacol Exp Ther, 2005. 312 (3): p. 1249-56.
(5) Zeldin, R.K.. et al.. J Antimicrob Chemother, 2004. 53 (1): p. 4-9.

P-63 HOW DPA AND DHA MODULATE CORTISOL TRANSPORT THROUGH BLOOD BRAIN BARRIER

Navarro-Fontestad C[1], Gonzalez-Alvarez I[1], Murck H[2], Merino V[1], Manku M[2], Bermejo MV[1]

[1]Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology. University of Valencia. España.
[2] Amarin Neuroscience Limited. Stirling, FK7 9JQ, UK.
e-mail: m.carmen.navarro@uv.es

Introduction

Transport across the blood brain barrier is a relevant factor in the pharmacological action of many drugs and endogenous substances. Some efflux transporters as P-glycoprotein can affect the permeation of the steroid hormones across the blood brain barrier. Cell culture models, Madin-Darby canine kidney (MDCK and MDCK-MDR1), mimic certain properties of the blood-brain barrier (BBB). These cells display morphological, enzymatic, and antigenic cell markers, also found in cerebral endothelial cells and have been reported as a suitable model for this barrier.

The objective of the present work was to evaluate the influence of different Pufa acids (Docosahexanoic acid, DHA, and docopentanoic acid, DPA) in the transport of cortisol through this membrane model.

Materiales and Methods

MDCK cells grew in a collagen coated polycarbonate membrane until confluence during 5-7 days. Permeability studies were conducted in Hank's balance solution (pH=7.00) at 37ºC and 50 oscillations/min. The integrity of the monolayer was evaluated by measure of the trans-epithelial electrical resistance (TEER). Transport studies were performed in both directions, from apical-to-basolateral (A-to-B) and from basolateral-to-apical (B-to-A) sides. The donor drug concentration ranged from 2μM to 200μM and 20μM or 50μM for DPA and DHA acid.

Results and Conclusion

The *in vitro* experiments showed significant differences between cortisol A-to-B and B-to-A permeabilities ($p<0.05$) and also a concentration-dependent permeation process. Cortisol at concentrations lower than 20microM is actively transported by P-gp, while at higher concentrations, P-gp is saturated and its contribution becomes negligible for the overall transport and the passive component is the main transport mechanism. This fact is only observed in MDCK, however in MDCK-MDR1 cortisol is actively transported by P-gp even at higher concentrations (200 microM). That means that Pgp efflux could be the dominant factor for transport across BBB as the physiological concentrations are in the lower range of the concentrations assayed in this study. The analysis of variance test detected statistically significant differences between cortisol transport in absence or presence of DPA acid. In presence of DPA, (at a low cortisol concentration) the Pab increases and can be assumed that P-glycoprotein efflux has been saturated; but the ratio was below than 1, it can be explained with an absorption process acting at the same time.. In contrast, in presence of DHA no change is observed in permeabilities values of cortisol.

To sum up, cortisol transport is concentration dependent and it is affected by transporter levels (probably P-gp) and DPA seems to inhibit the Pgp secretion process in a concentration dependent fashion, but DHA does not modify cortisol transport.

References

1. Veronesi B. Characterization of the MDCK cell line for screening neurotoxicants. Neurotoxicology. 1996;17(2):433-43.
2. Wang Q, Rager JD., Weinstein K., Kardos PS., Dobson GL., Li J., Hidalgo IJ. Evaluation of the MDR-MDCK cell line as a permeability screen for the blood–brain barrier. International Journal of Pharmaceutics. 2005; 288:349–359.
3. Garberg P., Ball M., Borg N., Cecchelli R., Fenart L., Hurst R.D., Lindmark T., Mabondzo A., Nilsson J.E., Raub T.J., Stanimirovic D., Terasaki T., O¨berg JO., O¨sterberg T. In vitro models for the blood–brain barrier Toxicology in Vitro 2005; 19:299–334.
4. Murck, H., McGregor, K. and Manku, M. Double blind placebo controlled trial of Ethyl-EPA as an adjunct for treatment unresponsive patients with major depression - predictive value of melancholic vegetative characteristics submitted.
5. Murck, H., Song, C., Horrobin, D. F. Uhr, M. Ethyl-eicosapentaenoate and dexamethasone resistance in therapy-refractory depression. Int J Neuropsychopharmacol 2004; 7:341-349.

P-64 INVERSIÓN NUMÉRICA DE LA TRANSFORMADA DE LAPLACE EN EL ESTUDIO DE LOS MODELOS DE DIFUSIÓN

Llabrés, M.

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica
Universidad de La Laguna. La Laguna, Tenerife
mllabres@ull.es

Introducción

La aplicación rutinaria de los modelos de difusión está limitada por la forma que toman las soluciones para el flujo de soluto y la cantidad cedida en función del tiempo. Con la excepción de algunos modelos sencillos, estas soluciones son del tipo

$$J = -AD_M \frac{\partial c(h_M, t)}{\partial x} \qquad (1)$$

$$c(h_M, t) = \sum_{i=1}^{\infty} \frac{P(x, \alpha_i)}{dQ(\alpha_i)/dt} e^{-\alpha_i t} \qquad (2)$$

donde J es el flujo de fármaco ($m\ t^{-1}$), D_M el coeficiente de difusión ($l^2\ t^{-1}$) y h_M el espesor de la membrana (l). α_i son las raices de $Q(\alpha)$. Simon y Loney estudiaron recientemente algunas dificultades encontradas en la evalua-ción numérica de estas funciones (1).

Una alternativa es utilizar la solución obtenida en el dominio de Laplace y proceder poste-riormente a la inversión numérica. La principal ventaja es que las ecuaciones en el dominio de Laplace son notablemente más sencillas, lo que permite simplificar el análisis de la influencia de los parámetros del modelo en la respuesta (análisis de sensibilidad), en la simulación y en la estimación de parámetros.

En esta comunicación se evalúa la importancia del flujo de muestreo en los sistemas para el estudio de la penetración transdérmica *in vitro* utilizando como técnica de simulación la inversión numérica de la transformada de Laplace.

Modelo

El modelo utilizado consta de dos compartimentos, fuente y receptor, separados por una membrana. La fuente, membrana y receptor se identifican en los subíndices de los parámetros con los números 0, 1 y 2 respectivamente Además, el paso del fármaco desde el compartimento fuente hacia la membrana y desde esta hacia el compartimento receptor está regulado por sendas capas estacionarias con constantes de velocidad de transferencia k_{01} y k_{12} respectivamente (dimen-siones $l\ t^{-1}$). p_{10} y p_{20} son los coeficientes de reparto en estado estacionario entre la membrana y el medio en el compartimento fuente y entre los compartimentos receptor y fuente. El aclaramiento del fármaco a partir del compartimento receptor viene dado por q_R ($l^3 t^{-1}$). Este modelo es adecuado para el estudio de la penetración transdérmica tanto *in vitro* como *in vivo* y en general en los ensayos de difusión. La transformada de Laplace de la segunda ecuación de Fick y de las condiciones de contorno son:

$$s\bar{c}_M = D_M \frac{d^2\bar{c}_M(x)}{dx^2} \qquad (3)$$

$$-D_M \left.\frac{d\bar{c}_M}{dx}\right|_{x=h_0} = k_{01}\left(\frac{c_{F0}}{s} - \frac{\bar{c}_M}{p_{01}}\right) \qquad (4)$$

$$-D_M \left.\frac{d\bar{c}_M}{dx}\right|_{x=h_M} = k_{12}\left(\frac{\bar{c}_M}{p_{01}} - \frac{\bar{c}_R}{p_{20}}\right) \qquad (5)$$

$$sv_R\bar{c}_R = -AD_M \left.\frac{d\bar{c}_M}{dx}\right|_{x=h_M} - q_R\bar{c}_R \qquad (6)$$

Para la resolución de este sistema de ecuaciones diferenciales ordinarios hemos utilizado la función **DSolve[ ]** del programa Mathematica. La transformada de Laplace del flujo de fármaco viene dado por (ec. 7),

$$\bar{J}(s) = \frac{k_{11}C_0}{s}\left[\left(\frac{1}{q_N + sV_N t_M} + \frac{1}{K_1} + \frac{1}{K_2}\right)\cosh\sqrt{st_M} + \left(\sqrt{st_M}\left(\frac{1}{K_1(q_N + sV_N t_M)} + \frac{1}{K_1K_2} + \frac{1}{st_M}\right)\right)\sinh\sqrt{sT_M}\right]^{-1}$$

donde $k_{11} = p_{10}\ D_M/h_M$ es el coeficiente de permeabilidad de la membrana; t_M el tiempo de membrana (h^2_M/D_M); $K_1 = k_{01}/k_{11}$ y $K_2 = k_{12}/k_{11}$ las resistencias relativas de las capas estacionarias; $q_N = q_R\ p_{20}/A\ k_{11}$ el aclaramiento normalizado; $V_N = V_R\ p_{20}/A\ h_M\ p_{10}$ el volumen normalizado el compartimento receptor. La transformada de Laplace de la cantidad de fármaco difundida y el flujo en estado estacionario vienen dados por:

$$\bar{Q}(s) = \frac{A\bar{J}(s)}{s} \qquad (8)$$

$$J_{SS} = \lim_{s\to 0} sJ(s) = C_0\ k_{11}\frac{1}{1 + \frac{1}{K_1} + \frac{1}{K_2} + \frac{1}{q_N}} \qquad (9)$$

Para la inversión numérica de las ecuaciones 7 y 8 se utilizó el método de Stehfest (3) implementado por Mallet (4).

Simulación

Simon y Loney (1) resumen los siguientes parámetros relativos a la penetración cutánea: $h_M = 0{,}0125$ cm y $D_M = 7{,}811 \cdot 10^{-12}$ $cm^2 s^{-1}$; en el caso de la piel humana, el valor de k_{12} es notablemente alto (3,5 10^{-3} cm s^{-1} por cm^2, ref. 4); en los sistemas de difusión con agitación en el compartimento receptor puede situarse alrededor de 10^{-4} cm s^{-1} (5); Hemos asumido este último valor para k_{01}. El código Mathematica utilizado para generar y representar los valores del flujo en función del tiempo es sencillo:

```
tx = Table[N[i], {i, 100, 300000, 100}];
Jt = Map[Stehfest[js, s, #, 2] &, tx];
ListPlot[Transpose[{tx/3600, Jt}]
```

donde js es la función definida en la ec. 7.

La ecuación 2 pone de manifiesto que J_{SS} no es estrictamente proporcional a p_{01}, ya que este parámetro participa tanto de k_{11} como de K_1, K_2 y q_N; y que además, q_N depende del flujo de muestreo (q_R)

Las figuras 1 y 2 representan el flujo y la cantidad perneada en función del tiempo para un fármaco hipotético con un coeficiente de partición *stratum corneum*/excipiente alto (5.000) y para tres flujos de muestreo (0,1; 0,5 y 2,0 ml/h). Como puede observarse, el flujo de muestreo tiene una incidencia muy importante tanto en el flujo en estado estacionario como en el tiempo que tarda en alcanzarse, hecho que también se pone de manifiesto en la cantidad perneada en función del tiempo (figura 2). La figura 3 muestra la simulación para $p_{10} = 10$, donde se observa como ahora las curvas se superponen

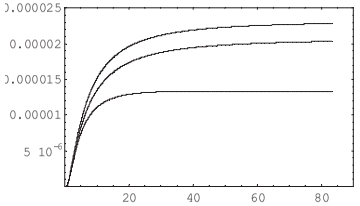


Figura 1. Flujo de fármaco (masa por cm^2 y s) en función del tiempo (h) para un fármaco con $p_{10} = 5.000$ y tres valores de q_R (2,0; 0,5 y 0,1 ml/h; de arriba abajo). $D_M = 8\ 10^{-8}$ $cm^2 s^{-1}$; $p_{20} = 1{,}0$; $A = 0{,}965$ cm^2; $v_R = 3{,}5$ cm^3; $k_{01} = 10^{-2}$ cm s^{-1}; $k_{12} = 10^{-4}$ cm s^{-1}; $c_{F0} = 1$.

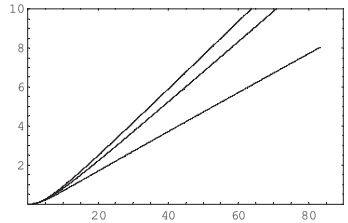


Figura 2. Cantidad acumulada difundida a través de la membrana (tiempo en h; masa en unidades arbitrarias).

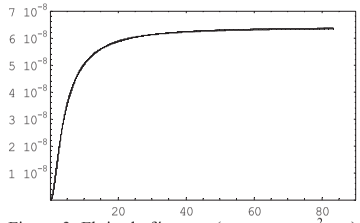


Figura 3. Flujo de fármaco (masa por cm^2 y s) en función del tiempo (h) para un fármaco con $p_{10} = 10$ y tres valores de q_R (2,0; 0,5 y 0,1 ml/h; las tres curvas se superponen).

Conclusiones

A la hora de evaluar estos resultados hemos de tener en cuenta que debido a la extraordinariamente larga duración de los ensayos de penetración transdérmica, el flujo de muestreo suele ser muy bajo. En el caso de fármacos con un coeficiente de reparto *stratum corneum*/excipiente bajo, el flujo estimado en estado estacionario no se ve afectado por q_R; por el contrario, si p_{10} es elevado, el flujo en estado estacionario va a depender en buena medida de q_R. Finalmente queremos resaltar la sencillez con que puede evaluarse el modelo a partir de la ecuación 7.

Bibliografía

(1) Simon, L.; Loney, N. W. Math. Biosci. 197, 119. 2005.

(2) Mathematica

(3) Valkó, P. P.; Abate, T. Comput. Math. Appl. 48, 629. 2004.

(4) Mallet, A. (2000). www.wolfram.com

(5) Tojo, K. en Trasndermal Controlled Medications, Y. W. Chien ed., Marcel Dekker, 1987

P-65 MATHEMATICAL MODELLING TO CALCULATE PHARMACOKINETICS AND BIOAVAILABILITY OF CNV97101

González-Álvarez I[1], Fernández-Teruel C[2], Navarro-Fontestad C[1], Ruiz-Garcia A.[3], Bermejo M[1], Casabó VG[1]

[1]Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology. University of Valencia. Spain.
[2] Intervalence Biokinetics
[3] Amgen Pharmacokinetics Drug Metabolism
e-mail: Isabel.Gonzalez@uv.es

Introduction

A method of deconvolution by curve fitting is presented and applied to the estimation of oral absolute bioavailability of a ciprofloxacin derivative (CNV97101). The aim of the study was to explain the low oral bioavailabity of CNV97101. In the study three different extrabasal routes has been used: oral, intraduodenal and intraperitoneal. Furthermore an in vitro study with the stomach content of fasted rats for 12/24 h was also developed.

Materials and Methods

The concentration versus time plasma levels were obtained by administration of CNV97101 by four different routes: intravenous and the extrabasal routes described before. CNV97101 was dosed at 30mg/Kg, with two additional doses (oral and intravenous) at 15 mg/Kg. The same oral doses were also used to do the in vitro studies. Fitting procedures were performed using a non-linear mixed effect model in NONMEM assuming exponential models for intra and interindividual variability. The absorption phase was modeled considering a passive diffusion with an initial fraction of dose precipitated which was re-dissolved by a zero order process, and an absorption window which limited the absorption time. The fraction precipitated was fixed using the experimental results obtained from the in vitro experiment.

Results and Conclusion

The in vitro results showed the non precipitated fractions were 25% for 30 mg/Kg and 45% for 15 mg/Kg. However values for oral bioavailability were 49% and 58% respectively, furthermore a high fraction is re-dissolved and absorbed. In the case of intraduodenal administration, NONMEM estimates around 40% of the dose precipitates, but its final bioavailability is 93%.

The in vivo studies were developed with rats fasted for 12h, and as the in vitro study demonstrates this is the cause of the low oral bioavailabilty. However, in vitro studies with 24 h fasted rats showed a precipitation lower than 10%. So, the food interacts with CNV97101 making more difficult its absorption. As the proposed model indicates, CNV97101 is re-dissolved and absorbed for 1 hour along the small intestine.

This let explains why the bioavailability of 15 mg/kH is higher than 30 mg/Kg, as the final concentration just after the interaction. When the rats are fasted for 12h CN97101 precipitates in stomach. The classical bioavailability estimation by non-compartmental methods overestimates the parameter in the initial times and therefore values greater than 100% were obtained for the intraperitoneal and intraduodenal routes. Due to the complete availability of the fluoroquinolone following intraperitoneal administration, a first hepatic pass can be excluded. Degradation/precipitation processes in the stomach is the reason for the low bioavailability after the administration by the oral route.

Parameter	Value (RSE%)	Variability (CV%) (RSE%)
k_{01}(OR/ID) (h^{-1})	5.43 (20.4)	86.71 (20.4)
k_{01}(IP) (h^{-1})	8.82 (24.6)	
F_A (OR 8mg)	0.30 (13.4)	-
F_A (ID 8mg)	0.73 (33.2)	-
T_A (h)	1.22 (8.2)	24.22 (83.10)
C_S (OR) ($mg \cdot mL^{-1}$)	0.76 (113.6)	-
C_S (ID) ($mg \cdot mL^{-1}$)	3.05 (184.9)	-
P_A ($mL \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$)	0.58 (213.1)	-
k_{12} (h^{-1})	0.42 (19.6)	62.45 (33.00)
k_{21} (h^{-1})	0.48 (13.3)	-
k_{10} (h^{-1})	0.53 (5.9)	31.18 (42.30)
V_c (L)	0.49 (11.7)	28.12 (29.20)
s^2	-	13.15 (16.90)

Table 1: Parameters obtained for the final model.

References

1. Torres-Molina F, Aristorena JC, Garcia-Carbonell C, Granero L, Chesa-Jimenez J, Pla-Delfina J, Peris-Ribera JE. 1992. Influence of permanent cannulation of the jugular vein on pharmacokinetics of amoxycillin and antipyrine in the rat. Pharm Res 9: 1587-91.
2. Sanchez-Castano G, Ruiz-Garcia A, Banon N, Bermejo M, Merino V, Freixas J, Garrigues TM, Pla-Delfina JM. 2000. Intrinsic absolute bioavailability prediction in rats based on in situ absorption rate constants and/or in vitro partition coefficients: 6-fluoroquinolones. J Pharm Sci 89: 1395-403.

P-66 STUDY IN VITRO OF ABSORPTION OF KAR-2, A NEW VINBLASTINE DERIVATIVE

Gonzalez-Alvarez I[1], Navarro-Fontestad C[1], Merino V[1], Ovadi J[2], Bermejo MV[1]

[1]Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology. University of Valencia. España.
[2] Institute of Enzymology. Biological Research Centre. Hungarian Academy of Sciences.
e-mail: Isabel.Gonzalez@uv.es

Introduction

Vinblastine belongs to the group of medicines known as antineoplastic agents. It is used to treat certain kinds of cancer, including lymphoma and cancer of the breast or testicles, as well as some noncancerous conditions. Its main problems are its toxicity and that it can be only administered by IV route.

The aim of this study is to compare the differences between Vinblastine (a known P-gp substrate) and a new vinblastine derivative (kar-2). For this propose we studied the absorption of vinblastine and kar-2 in several cell lines.

Materiales and Methods

Several cell lines were used (CaCo-2, MDCK, MDCK-MDR1). Cells grew in a collagen coated polycarbonate membrane until confluence, CaCo-2 needed 19-22 days and MDCK and MDCK-MDR1 5-7 days. Permeability studies were conducted in Hank's balance solution (pH=7.00) at 37ºC and 50 oscillations/min. The integrity of the monolayer was evaluated by measure of the trans-epithelial electrical resistance (TEER). Transport studies were performed in both directions, from apical-to-basolateral (A-to-B) and from basolateral-to-apical (B-to-A) sides. The donor drug concentration ranged from 5μM to 1000μM.

Results and Conclusion

The in vitro experiments showed significant differences between A-to-B and B-to-A permeabilities ($p<0.05$) and also a concentration-dependent permeation process for both drugs. The analysis of A-to-B and B-to-A permeabilities suggested the existence of an efflux mechanism in vinblastine absorption but an active transport system in entrance direction in Kar-2 absorption.

Vinblastine at lower concentration than 500 μM is actively transported by P-gp, while at higher concentrations, P-gp is saturated and its contribution becomes negligible for the overall transport and the passive component is the main transport mechanism. Efflux absorption has a remarkable effect in MDCK-MDR1 experiments.

Contrarely, Kar-2 at low concentration (25μM) is actively transported in the absorption direction. Permeabilities values (Pab and Pba) decrease at 100μM and increase at 1000μM. This fact is only shown in ATCC cells.

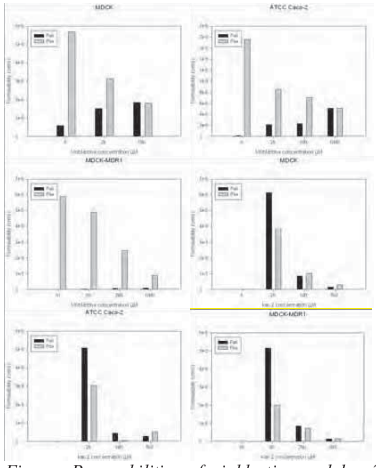


Figure: Permeabilities of vinblastine and kar-2 (Pab and Pba) obtained in the different cell lines.

To sum up, Kar-2, a new vinblastine derivative, is not P-gp substrate, on contrary that vinblastine; moreover its transport is concentration dependent and it is affected by an absorption transporter,

References

1. Comin-anduix B, Agell N, Bachs O, Ovadi J, Cascante M. A New Bis-Indole, KARs, Induces Selective M Arrest with Specific Spindle Aberration in Neuroblastoma Cell Line SHSY5Y. Mol Pharmacol. 2001 60:1235–1242.

2. Horvath I, Harmat V, Perczel A, Palfi V, Nyitray L, Nagy A, Hlavanda E, Naray-Szabo G, Ovadi J. The structure of the complex of calmodulin with KAR-2: a novel mode of binding explains the unique pharmacology of the drug. J Biol Chem. 2005 Mar 4;280(9):8266-74.

3. Artursson P, Magnusson C. Epithelial transport of drugs in cell culture. II: Effect of extracellular calcium concentration on the paracellular transport of drugs of different lipophilicities across monolayers of intestinal epithelial (Caco-2) cells. J Pharm Sci 1990;79:595-600.

Docencia

P-67 ANÁLISIS DE LOS FACTORES QUE CONDICIONAN LA APLICACIÓN DE LAS TIC EN LA DOCENCIA RELACIONADA CON EL ÁREA DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

López FG., Colino Gandarillas C.I., Fernández de Gatta Mª del Mar.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Avda. Ldo. Méndez Nieto s/n 37007 Salamanca.
e-mail: gatta@usal.es

Introducción

El objetivo de la Unión Europea de implantar un Espacio Europeo de Educación Superior ha supuesto la renovación de la metodología docente tradicional y la creciente aplicación de las nuevas tecnologías de la información y la comunicación (TIC) en la enseñanza universitaria (1).

La mayor parte de estas estrategias innovadoras se han centrado en el alumno, obviando el importante papel que el profesorado tiene en su aplicación.

Por otra parte, la previsible dificultad de reducir el número de alumnos por grupo en el proceso de convergencia justifica la implantación y evaluación de las TIC en las condiciones reales en las que se lleva a cabo la docencia actualmente.

A priori, el papel significativo del área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica en la licenciatura de Farmacia permite la aplicación de estas tecnologías sobre un gran número de alumnos (≅ 1600) de diferentes asignaturas proporcionando una información objetiva sobre su utilidad. Con ese fin, se ha diseñado una estrategia global (para todos los alumnos) y uniforme metodológicamente para su implantación parcial en el proceso de enseñanza-aprendizaje de dicha área docente.

Materiales y Métodos

Las asignaturas incluidas en el estudio quedan reflejadas en la figura 1.

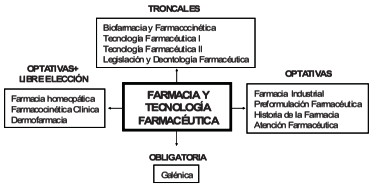


Figura 1.- *Asignaturas incluidas en el estudio.*

La metodología adoptada incluye tres fases:

1.- Identificar, para cada asignatura, qué fracción o contenido del programa se va a impartir con la ayuda de las nuevas tecnologías, debiendo suponer al menos 5 horas de docencia convencional (lección magistral).

2.- Preparación o adaptación del material didáctico necesario para su utilización "on line".

Este material se colocará en la plataforma virtual de la Universidad de Salamanca *Moodle* donde estará disponible para su consulta por parte del alumno. El profesor establecerá el calendario previsto tanto para el autoaprendizaje por parte del alumno como para la resolución de las tareas y actividades propuestas. Durante este periodo el alumno podrá consultar las dudas con el profesor a través del correo electrónico o en las horas de tutoría establecidas.

3.- Aplicación a la docencia de todos los alumnos de cada asignatura y diseño de una tarea o actividad a realizar con el fin de garantizar la implicación de alumno en el proceso de enseñanza-aprendizaje. Asimismo, se incluirá un test de autoevaluación.
Se prevé la sustitución de las clases magistrales por las actividades "*on line*" previstas si bien se realizará, al menos, un seminario presencial con el fin de resolver las dudas planteadas y recabar información sobre el número de horas dedicadas y el grado de satisfacción de los alumnos.

4.- Evaluación de los resultados.
Cada profesor utilizará la misma metodología de evaluación para los conocimientos adquiridos con la enseñanza tradicional y utilizando las nuevas tecnologías, con el fin de poder comparar los resultados obtenidos.

Mediante el análisis estadístico apropiado de los resultados del rendimiento académico se identificarán los factores con influencia más decisiva en la aplicación de las nuevas estrategias docentes.

A partir del cuestionario de opinión de los estudiantes se obtendrá una estimación de la equivalencia entre los créditos teóricos y los nuevos créditos ECTS.

Finalmente, se establecerá un tiempo medio necesario para la adaptación de los materiales docentes convencionales a las nuevas metodologías a partir del tiempo estimado individualmente por cada profesor, así como su grado de aceptación de las nuevas tecnologías.

Resultados y Discusión

La incorporación parcial de las tecnologías "on line" al proceso de enseñanza-aprendizaje es útil tanto para los profesores como para los alumnos. A los profesores les permitirá elaborar nuevo material docente, adquirir experiencia en el uso de dichas tecnologías, identificar los problemas asociados a las mismas y, en definitiva, avanzar en el proceso de convergencia europea.

Este estudio ha abordado especialmente el impacto de su aplicación respecto al profesorado. De este modo, los resultados que se pretenden obtener al implantar las TIC en la docencia ligada al área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica son:

-. Elaborar material didáctico apropiado para la enseñanza "*on line"*
-. Aplicar y evaluar la utilización de dicho material en el proceso de enseñanza-aprendizaje de distintas asignaturas del área.
-. Hacer una estimación de la transformación de los créditos tradicionales en créditos ECTS para asignaturas con diferentes grados de experimentalidad.
-. Estimar el tiempo dedicado por el profesorado en la adaptación de materias de los actuales planes de estudios al sistema de créditos ECTS.
-. Evaluar la percepción de las TIC desde el punto de vista del profesorado y el grado de satisfacción del alumnado.
-. Identificar los factores que pueden condicionar la aplicación de las TIC en la Licenciatura de Farmacia y especialmente en el área docente de Farmacia y Tecnología Farmacéutica.

Debe señalarse que la participación de todos los profesores del área permite no solo un mayor tamaño de muestra sino también una mayor representatividad de la misma.

La evidente heterogeneidad de las asignaturas incluidas en el estudio nos permitirá analizar "a priori" como factores condicionantes de la aplicación de las TIC en la docencia ligada al área de conocimiento los recogidos en la tabla 1.

Factor	Criterios
Grado de madurez del alumno	3º curso 4º curso 5º curso
Tipo de docencia	Anual Cuatrimestral
Nº de alumnos	<40, 40–100 >100
Tipo de asignatura	Troncal Obligatoria de Universidad Optativa Optativa y Libre Elección
Grado de experimentalidad	Grado 1 → Historia de la Farmacia Grado 4→ Biofarmacia y Farmacocinética
Características de los contenidos seleccionados	Esenciales Necesarios De ampliación
Importancia porcentual del contenido *"on line*	% respecto al contenido total* 8 % 11 % 16 % * mínimos

Tabla 1.- *Factores condicionantes de la aplicación de las TIC*

La identificación de los factores que condicionan e influyen en la aplicación de estas tecnologías va a permitir "a posteriori" optimizar la utilización de las mismas al señalar en qué circunstancias concretas (nº de alumnos, grado de madurez, tipo de asignatura, contenido, curso…….) pueden ser más efectivas.

Además, es posible obtener una primera aproximación muy valiosa sobre la transformación de los créditos tradicionales a los créditos ECTS, proceso que depende del grado de experimentalidad de cada asignatura y que requiere experiencia y un proceso de retroalimentación.

Finalmente, la aplicación en un gran número de disciplinas de carácter muy diferente y con un gran peso específico en el segundo ciclo de la Licenciatura de Farmacia (43% de los créditos totales) puede permitir extrapolar los resultados a la totalidad del plan de estudios.

Bibliografía

(1) R. Bonete Perales. La adaptación de la Universidad de Salamanca al Espacio Europeo de Educación Superior: un desafío para todos. Vicerrectorado de Planificación e Innovación docente. Salamanca 2006.

P-68 EXPERIENCIA DOCENTE EN LA ADAPTACIÓN AL EEES: APLICACIÓN A LA TECNOLOGIA FARMACEUTICA II

Hernández R.M., Igartua M., Esquisabel A., Pedraz, J.L.

Laboratorio de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco (UPV/EHU). Paseo de la Universidad 7. 01006 Vitoria-Gasteiz
e-mail: rosa.hernandez@ehu.es

Introducción

La integración en la Unión Europea, ha ampliado las fronteras de la Universidad, permitiendo la libre circulación de titulados superiores entre los países miembros. Esta circunstancia genera la necesidad de establecer un marco de titulaciones común y flexible que garantice la movilidad y competitividad de los titulados superiores en un mercado laboral unificado y sin fronteras. Por este motivo, el reto más importante que debe afrontar la Universidad en los próximos años supone la integración del sistema universitario español en un nuevo marco europeo, actualmente en construcción, denominado Espacio Europeo de Enseñanza Superior (EEES) surgido a raíz de la Declaración de Bolonia (1, 2).

En los últimos años, son numerosas las universidades españolas que han iniciado la adaptación al proceso de Bolonia mediante la organización de jornadas, seminarios y encuentros, así como con el inicio de la preparación de documentos piloto para adaptar las titulaciones. Es el caso de la Universidad del País Vasco que durante el curso 2004/05 puso en marcha Programa de innovación educativa "Asesoramiento para la Introducción del Crédito Europeo (AICRE)" (3). El objetivo de este proyecto fue elaborar un programa docente de la asignatura impartida por cada uno de los profesores participantes, siguiendo las directrices del sistema de créditos ECTS como medida y evaluación del aprendizaje. Este proyecto tuvo su continuación en el Programa de "Seguimiento a la Introducción del Crédito Europeo (SICRE)" desarrollado durante el curso 2005/06, en el cual fue implantado el programa docente propuesto anteriormente (3).

En este trabajo se presentan a modo de ejemplo algunas de las actividades realizadas en la Facultad de Farmacia de la UPV/EHU con objeto de adaptar el programa docente de la asignatura Tecnología Farmacéutica II al sistema de créditos ECTS. Esta asignatura se imparte en castellano, euskera e ingles, siendo el número de alumnos matriculados en cada grupo de 120, 40 y 6, respectivamente.

Metodología de trabajo

Las innovaciones realizadas respecto al programa de años anteriores incluyen la utilización de la plataforma ekasi, la realización de seminarios sobre distintos temas del programa teórico y la evaluación de las prácticas de laboratorio mediante listas de control.

Plataforma ekasi: (http://ekasi.ehu.es/)

Ekasi es la web institucional de la UPV/EHU para el apoyo a la docencia presencial, que permite la gestión de documentos y de los estudiantes de un curso. Esta plataforma ofrece recursos tales como listas de distribución para comunicarse con los alumnos mediante el correo electrónico, un tablón de anuncios, foros de debate, permite insertar las presentaciones mostradas en clase y la posibilidad de crear ejercicios y test de autoevaluación. Asimismo, permite acceder a otras páginas web de interés a través de los enlaces activos. La principal ventaja de estos sistemas es que los usuarios administran su propio aprendizaje, a su ritmo, en cualquier momento y desde cualquier lugar.

Desarrollo del seminario "Control de Calidad de Formas Farmacéuticas Sólidas"

La realización de este seminario tiene como objetivo que el alumno sea capaz de identificar cuáles son los controles que deben realizarse sobre las formas farmacéuticas sólidas (cápsulas y comprimidos) y además que adquiera los conocimientos necesarios para poder aceptar o rechazar un lote de una especialidad farmacéutica en función de los resultados obtenidos en un laboratorio de Control de Calidad.

En primer lugar, utilizando la plataforma virtual ekasi se proporciona al alumno el material necesario para la preparación del seminario: un guión donde se explica detalladamente cómo se realizará ese seminario y los apartados de la Farmacopea Española donde se recogen los controles a realizar sobre las formas farmacéuticas cápsulas y comprimidos.

Inicialmente, el alumno deberá trabajar individualmente y preparar una tabla donde se recojan los ensayos a realizar, una breve explicación de la forma de llevarlos a cabo y las especificaciones indicadas en la Farmacopea Española para cada uno de ellos.

Posteriormente, el día de realización del seminario, el grupo completo se reunirá en el aula procediéndose del siguiente modo:

1.- El profesor recogerá la tabla de especificaciones preparada por cada alumno, recomendándose que el alumno realice una copia de la misma para poder utilizarla durante la realización del seminario.

2.- Exposición, por parte de los alumnos, de los controles a realizar sobre las formas farmacéuticas cápsulas o comprimidos.

Esta parte del seminario permitirá al alumno repasar los conocimientos adquiridos con el trabajo personal realizado al consultar la Farmacopea y completar o corregir los apartados que no haya sido capaz de localizar consultando la bibliografía recomendada.

3.- Se entregará al alumno un boletín con los resultados de los análisis realizados sobre un lote de una formulación de cápsulas o comprimidos.

Los alumnos distribuidos en grupos reducidos procederán a discutir esos resultados, explicando si esa formulación cumple o no las especificaciones marcadas para cada uno de los ensayos a realizar y debe decidir si ese lote puede aceptarse o, por el contrario debe ser rechazado.

4.- Resolución final del ejercicio con aportaciones de cada uno de los grupos.

Evaluación de las prácticas de laboratorio

Como instrumento de evaluación de las prácticas de laboratorio se ha utilizado una lista de control, que nos va a permitir evaluar, además de los conocimientos adquiridos por el alumno sobre la asignatura, su capacidad y destreza para llevar a la práctica las nociones aprendidas, así como el interés y actitud que muestra en el laboratorio.

	Práctica nº	
	SI	NO
1. ¿Trabaja con orden y limpieza y elimina adecuadamente los residuos?		
2. ¿Trabaja en equipo y con actitud participativa?		
3. ¿Muestra destreza para el trabajo en el laboratorio?		
4. ¿Ha realizado correctamente la práctica?		
5. ¿Ha analizado e interpretado correctamente los resultados obtenidos?		
OBSERVACIONES		

Reflexiones sobre la adaptación del programa de la asignatura Tecnología Farmacéutica II al sistema ECTS

La realización de esta experiencia piloto nos ha hecho reflexionar sobre los siguientes aspectos:

- Con este sistema se trabajan además de las competencias específicas de la asignatura las competencias transversales de la titulación: trabajo en equipo, capacidad de síntesis, comunicación oral, capacidad de aplicar los conocimientos a la práctica.
- El alumnado se muestra reticente frente al trabajo individual, prefiere la comodidad de la clase magistral, aún cuando la simple realización de las actividades propuestas permite obtener una buena calificación. A pesar de ello, el alumnado reconoce que aprende más y mejor con la realización de este tipo de actividades.
- Se han observado diferencias en la utilización de estas metodologías docentes en función del tamaño de grupo. La experiencia obtenida pone de manifiesto la dificultad de trabajar en el aula con un número de alumnos elevado. Por lo tanto, consideramos que el tamaño de grupo adecuado para su realización está en torno a 30 alumnos.
- Es un sistema difícil de implantar con las actuales normativas ya que no se puede imponer la asistencia obligatoria, lo cual causa problemas a la hora de evaluar y en cualquier caso el alumno tiene derecho a un examen final.
- Por último, es importante destacar que el tiempo de dedicación del profesor aumenta considerablemente, tanto a nivel de la preparación de las diferentes actividades como a nivel de la atención/ayuda al alumnado.

Bibliografía

1) http://wwwn.mec.es/universidades/eees/index.html. Fecha de acceso Noviembre 2006.
2) http://www.aneca.es/modal_eval/convergencia_bolonia.html. Fecha de acceso Noviembre 2006.
3) http://www.ehu.es/sae-helaz/C/aicre.htm. Fecha de acceso Noviembre 2006.

P-69 INCORPORACIÓN DE LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS A LA DOCENCIA DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

Begoña Calvo

Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco (UPV/EHU).
Paseo de la Universidad 7. 01006 Vitoria-Gasteiz
e-mail: bego.calvo@ehu.es

Introducción

Una de las aplicaciones más interesantes de las nuevas tecnologías en la docencia, es la utilización de plataformas virtuales accesibles por el alumno a través de Internet.

eKASI es una plataforma informática para el apoyo a la docencia presencial, es un LCMS o Sistema Gestor de Contenidos de Aprendizaje, que permite la gestión de los documentos y la gestión de los estudiantes de un curso, así como la comunicación bidireccional profesor-estudiante, lo que facilita el aprendizaje del alumno.

Metodología

La plataforma, accesible en la dirección de Internet http://ekasi.ehu.es (fig.1) , se ha utilizado como soporte a la docencia presencial de la Tecnología Farmacéutica en la Universidad del Pais Vasco desde el curso 2005-06 hasta la actualidad.

***Figura 1**.- Interfaz de la plataforma eKASI*

Esta plataforma permite publicar los materiales relacionados con la asignatura en distintos formatos: documentos de texto, gráficos, documentos con formatos multimedia : animaciones, videos, sonido, etc.

Los alumnos matriculados en la asignatura pueden acceder, mediante una clave, a la información relativa a los diferentes temas: Presentación de los temas expuestos en clase, Ejercicios y tareas propuestas por el profesor, Cuestionario de autoevaluación, Enlaces y recursos de Internet, Videos con demostraciones prácticas, etc.

Otras de las funcionalidades que posee esta herramienta son:

- Crear y gestionar grupos de trabajo
- Gestionar las fichas con los datos y calificaciones de los alumnos.
- Seguir la actividad de los alumnos en el campus virtual.
- Disponer de herramientas de comunicación (foro, correo, etc.) entre el profesor y los alumnos.

Resultados y Discusión

Al conectarse a la plataforma, el alumno de Tecnología Farmacéutica puede acceder a los contenidos recogidos en la fig. 2.

***Figura 2**.-Contenidos incluidos en la plataforma*

La sección "*Aulas virtuales*" de acceso al contenido de la asignatura. Aquí es donde se guardan las lecciones, textos, documentación, ejercicios, etc.

Los contenidos están organizados en niveles, mediante diferentes carpetas. El tipo de material: archivo, enlace, imagen,.. se indica con un icono específico.

Por otra parte, la plataforma dispone de una serie de recursos de seguimiento de trabajo del alumno como son:

- Tests en diferentes modalidades: múltiples alternativas, respuesta corta, verdadero o falso.

- Preguntas al grupo

- Tareas que propone el profesor para entregar dentro de una fecha

En el apartado "*Estudiantes*" se puede acceder a las fichas con los datos personales de los alumnos (Fig. 3). En esta sección el profesor puede comprobar el estado de la entrega de los

Figura 3.- *Fichas personales de los alumnos*

trabajos o ejercicios de cada alumno, permite visualizar su rendimiento y hacer un seguimiento de la evolución de su aprendizaje. (Fig. 4).

Figura 4.- *Apartado "Estudiantes"*

La carpeta de "*Ejercicios*" es un espacio virtual compartido entre el profesor y cada alumno, donde éstos pueden subir contenidos a través del enlace "Entregar ejercicios".

El área de visualización "*Ventana principal*" es la zona de trabajo donde se despliegan los contenidos y se muestran los documentos (Figs. 5 y 6).

Figura 5*.- Visualización de los contenidos*

<u>Ventajas de la plataforma virtual</u>

Entre las ventajas que presenta esta plataforma se encuentran:

- Permite organizar y gestionar los contenidos formativos correspondientes a la materia.
- Disponibilidad horaria para la consulta y entrega de ejercicios por parte de los alumnos y para el trabajo del profesor.
- Mayor interactividad con los alumnos (permite la colaboración y discusión "on line").
- Permite tutorizar y realizar un seguimiento del trabajo de los estudiantes.
- Sencillez de manejo.

Figura 6*.- Demostraciones prácticas en video*

Al finalizar el curso 2005-06 se realizó una encuesta a los alumnos que cursaban Tecnología Farmacéutica I sobre la utilidad y el interés de poder disponer de una plataforma de este tipo. La gran mayoría de los alumnos encuestados ha valorado muy positivamente esta herramienta (87 % han considerado que les resulta útil o muy útil el poder acceder a los contenidos de la asignatura a través de la plataforma eKASI).

Conclusiones

La disponibilidad de una plataforma virtual como herramienta de apoyo a la docencia presencial de la Tecnología Farmacéutica, supone un instrumento de gran utilidad para los alumnos, ya que les permite acceder a toda la información relacionada con la asignatura en cualquier momento y desde cualquier lugar en el que exista acceso a Internet.
Asimismo, facilita al profesor una comunicación más fluida con los alumnos y una mejor evaluación continua, mediante los ejercicios y tareas planteados al grupo.

Bibliografía

(1) eKASI. Versión 1.0. Junio 2005. Entorno web de trabajo colaborativo para apoyo a la docencia presencial. Campus Virtual UPV/EHU.

(2)http://www.verticelearning.com/articulos/el_elearning_y_su_terminologia.html

(3)http://www.unex.es/didactica/Tecnologia_Educativa/mapaweb.htm

P-70 MATERIAL DOCENTE MULTIMEDIA EN ASPECTOS DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA: MONOGRÁFICO CÁPSULAS DE GELATINA BLANDA

Cerezo P., Rodríguez, I.C., Viseras C., Hernández P. y Bedmar C.

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada Campus de Cartuja s/n, 18071, Granada
e-mail: mcerezo@ugr.es

Introducción

El empleo de material docente en soporte multimedia es una herramienta para la transmisión de conocimientos universitarios. Permite representar dinámicamente elementos de texto, imágenes, vídeo, así como sonido. Constituye un material didáctico que aporta numerosas ventajas, no sólo como ayuda a las clases presenciales mostrando de manera visual y con ejemplos los conceptos explicados en clase sino, también, como forma de estimular el autoaprendizaje al estudiante. Por tanto, la tecnología multimedia complementa de forma notable la docencia, la consulta de libros en formato convencional y, así mismo, mejora y refuerza el aprendizaje. (1, 2)

Específicamente, el desarrollo de material docente en formato **CD-ROM** se utiliza en la actualidad muy frecuentemente como soporte para cualquier curso de formación por sus múltiples ventajas. Entre ellas citamos las siguientes: captar fácilmente la atención, aportar mucha información en poco tiempo, permitir visualizar los temas abordados, presentar situaciones difícilmente observables, generar experiencias de grupo inmediatas y otras. Ahora bien, es importante resaltar que esta herramienta debe usarse al servicio de objetivos y planteamientos educativos o de enseñanza previamente diseñados, ya que su éxito no radica en ella misma sino en la forma de utilizarla. (3, 4)

La inminente adaptación de la **docencia universitaria** al Espacio Europeo de Educación Superior (**EEES**) supone un cambio en los sistemas de enseñanza actual. En este sentido el desarrollo de material multimedia en aspectos de Tecnología Farmacéutica viene a cumplir con algunos de los objetivos pretendidos en el contexto de la Convergencia Europea (5):

- Reducción de las horas presenciales y potenciación del aprendizaje.
- Adquisición de competencias de tipo social, intelectual o profesional.
- Incorporación de nuevas tecnologías.
- Máxima coordinación entre los profesores.

El presente material didáctico esta englobado en un proyecto docente bajo el epígrafe general de *Formas Farmacéuticas Sólidas Orales* constituido por distintos Módulos temáticos (6). El Módulo, que presentamos en este trabajo, corresponde a Cápsulas de Gelatina Blanda (CGB). La estructuración del contenido se ha realizado bajo el prisma de un **diseño instructivo**, es decir, se trata de transformar lo que podría ser un simple texto electrónico en un recurso hipertextual adecuadamente organizado y temporizado, donde exista un equilibrio entre los recursos de aprendizaje, ayudas al estudio, actividades y sistemas de autoevaluación. (7)

Materiales y Métodos

<u>Desarrollo del material docente</u>

En la planificación y elaboración de esta parte se consideraron los siguientes puntos:

1. Selección y diseño de los contenidos teóricos. Se trata de analizar las bases teórico-prácticas que deben recogerse para confeccionar los contenidos y los guiones de cada tema.

2. Obtención de ilustraciones sobre los contenidos docentes. Consiste en la realización y selección de material gráfico (fotos, vídeos, dibujos, animaciones 2D y 3D).

3. Selección y diseño de cuestionarios para la autoevaluación del Módulo.

El apartado de desarrollo docente se complementa con la confección de la *guía docente para el alumno* en la que puede encontrar información sobre contenidos, objetivos, metodología, actividades y otros asuntos de interés del material multimedia.

<u>Desarrollo del método informático</u>

La ejecución de la parte informática del proyecto implica las siguientes fases:

1. Elección de la herramienta tecnológica. Reside en elegir el recurso multimedia más adecuado a:
a) tipo de proyecto docente tanto por su contenido, precio y tiempo de realización;
b) conocimientos del profesorado que lo lleva a cabo (ya adquiridos o adquiridos con motivo de) y

c) lo asequible al usuario teniendo en cuenta los conocimientos informáticos del estudiante medio universitario.

Teniendo en cuenta lo anterior se selecciona un formato de herramientas de presentación especializadas (Macromedia Dreamweaver, Flash, PowerPoint).

2. Aprendizaje de las herramientas escogidas y diseño del sistema. Durante este tiempo se realiza el diseño inicial de la interfaz con el usuario y se determina la estructura básica y organización de los contenidos.

3. Realización y verificación de un prototipo. En esta fase se desarrolla un primer prototipo con toda la funcionalidad requerida, se comprueba posibles fallos y puntos de mejora de su funcionamiento.

4. Corrección de fallos en el prototipo e introducción de mejoras encontradas en la fase anterior.

5. Una vez consolidada la estructura básica anterior, se añaden los contenidos previstos.

6. Montaje provisional de CD-ROM. Se llevan a cabo unas pruebas exhaustivas para encontrar posibles fallos y su resolución.

7. Montaje definitivo y grabación del CD-ROM.

Resultados y Discusión

Describimos los resultados de la realización del Módulo correspondiente a Cápsulas de Gelatina Blanda (Fig. 1).

Figura 1. *Captura de pantalla inicial del Módulo correspondiente a CGB.*

Desde cualquier pantalla o página del Módulo encontramos unos menús desplegables en el margen derecho, lo que permite al usuario moverse libremente por todo el contenido del CD-ROM. Seguidamente comentamos los rótulos de Figura 1:

Menú desplegable: Guía para el alumno

Como se refleja en la Figura 2, el accionamiento del botón del menú despliega distintas rutas de acceso.

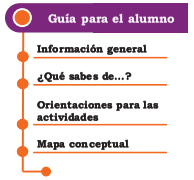


Figura 2. *Menú desplegable de Guía para el alumno.*

En este apartado el alumno puede encontrar información de tipo general (autores, métodos de realización del CD, subvención y colaboraciones), los objetivos perseguidos, la metodología de trabajo aconsejada para el estudio y realización de las actividades y, asimismo, el modo de empleo del mapa conceptual del Módulo en cuestión.

Menú desplegable: Módulo

Este menú contiene los mismos epígrafes en todos los módulos, independientemente de su temática si bien el 1 corresponde a Cápsulas de Gelatina Blandas (Fig. 3).

Figura 3. *Menú desplegable de Módulo 1. Cápsulas de Gelatina Blanda.*

A continuación se comenta, de forma somera, cada uno de los enlaces mostrando en las figuras 4-7 algunas capturas de pantalla para documentar el trabajo.

Contenidos: Índice

La figura 4 presenta el índice del Módulo 1 de CGB, desde el que accede a cualquier punto de los contenidos teóricos que recoge el CD-ROM.

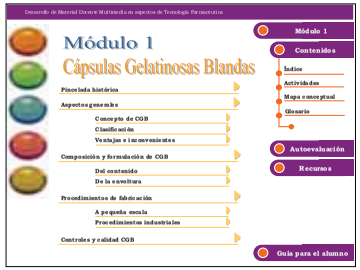


Figura 4. *Captura de pantalla del índice Módulo 1 CGB.*

El usuario puede realizar una navegación simple (entendiendo por ello un avance y retroceso página a página) o seleccionar los epígrafes del índice que le interesen. Así, por ejemplo, si selecciona directamente el apartado "concepto", avanza páginas accediendo de forma inmediata a este lugar, figura 5.

Figura 5. *Captura de pantalla de Concepto de CGB.*

Contenidos: Actividades

El usuario puede encontrar curiosidades e hitos científicos, algún ejemplo práctico virtual y otros.

Contenidos: Mapa conceptual

Cada módulo presenta su mapa conceptual, desde el cual el alumno puede llegar a distintos puntos de los contenidos teóricos. No se trata de un simple índice, ya que el mapa conceptual supone una visión global del tema, lo que facilita al usuario "navegar" e interrelacionar conceptos.

Contenidos: Glosario

Tal y como indica es un listado de términos utilizados en el texto o relacionados con los mismos. La ventaja reside en poder acceder directamente al glosario desde el término en cuestión en cualquier punto del texto o viceversa.

Autoevaluación

Una vez superado cada módulo el alumno tiene la posibilidad de evaluar los conocimientos aprendidos. La autoevaluación permite al alumno autorregular su dedicación y estrategias de aprendizaje con objeto de lograr alcanzar los objetivos propuestos.

Los formatos de preguntas objetivas utilizados son del tipo elección múltiple, empleando para su diseño el programa Hot Potatoes (8).

Recursos: Bibliografía

Se ofrece bibliografía clásica (referencias y siempre que sea posible, archivos en PDF del texto en cuestión) y, así mismo, bibliografía on-line, es decir direcciones de revistas o libros electrónicos, diccionarios en línea, etc. Ejemplo en la figura 6.

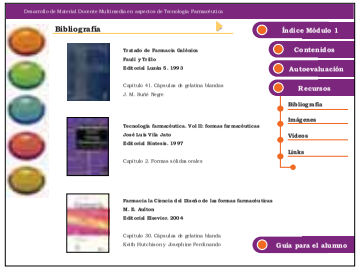


Figura 6. *Captura de pantalla de una de las páginas de bibliografía general (CGB).*

Recursos: Imágenes

En este apartado se recoge, a manera de catálogo, imágenes, figuras y esquemas relacionados e hipervinculados con los contenidos teóricos sobre CGB. La figura 7 muestra un ejemplo.

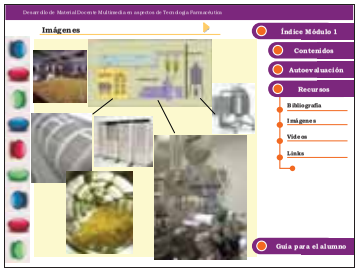


Figura 7. *Captura de pantalla de una de las páginas del catálogo de imágenes (CGB).*

Recursos: Vídeos
Para la selección y diseño de este tipo de material, se han establecido contactos con distintos laboratorios farmacéuticos para poder constituir los correspondientes convenios de colaboración, que permitan el uso de sus instalaciones y el registro en video de los dispositivos y operaciones llevadas a cabo en las mismas. Hasta la fecha se han firmado dos convenios con las Entidades Robis S.A. (Granada) y ASAC Pharma S.A. (Alicante).

Recursos: links
Se incluyen enlaces y direcciones sobre CGB que pueden servir como consulta bibliográfica o para ver gráficos e imágenes de interés.

Conclusiones

Debido al carácter industrial, la elaboración y control de algunas Formas Farmacéuticas no están al alcance de los medios técnicos disponibles en las instalaciones docentes universitarias de Tecnología Farmacéutica. Por ello, la aplicación de las tecnologías de la información y comunicación (**TIC**) al estudio de las Cápsulas de Gelatina Blanda:

- Complementa y refuerza la enseñanza teórico-práctica de Tecnología Farmacéutica y las fuentes bibliográficas en formato convencional.

- Permite suplir la visita guiada a la Industria Farmacéutica que en ocasiones resulta imposible por coste, elevado número de alumnos que cursan la asignatura y el acceso restringido de la propia Industria Farmacéutica

- Desarrolla la iniciativa, motivación, aprendizaje a partir de errores, alfabetización digital y audiovisual, búsqueda y selección de información y otras destrezas inherentes a las TICs.

Bibliografía

(1) Bartolomé, A. (1994) Multimedia interactivo y sus posibilidades en educación superior. Píxel Bit, 1, 693-697.

(2) Hargreaves, A. (2003) Enseñar en la sociedad del conocimiento. Barcelona. Octaedro.

(3) OCDE (2003) Los desafíos de las tecnologías de la información y las comunicaciones en la educación. Madrid. MECD.

(4) Echeverria, J. (2001) Las TIC en educación. Revista Iberoamericana, 24.

(5) Monográfico "EEES" www.educaweb.com/esp/servicios/monografico/eees

(6) Cerezo, P., Viseras, C., Hernández, P., Bedmar, C y Rodríguez, I.C. Desarrollo de material docente multimedia en aspectos de tecnología farmacéutica. I Congreso Internacional de Educación Superior en Ciencias Farmacéuticas. Barcelona, junio 2006-11-10. Actas de Congreso pp. 887-88

(7) Moreno, F., Baillo-Baillière, M. (2002) Diseño instructivo de la formación on-line. Barcelona. Ariel Educación.

(8) Tutorial Hot Potatoes versión 5.5 www.plantea.pntic.mec.es/%7Eiali/CN/HotPot55/contents.htm

Agradecimientos

A la subvención de la Universidad de Granada a través del Proyecto de Innovación Docente (Código: 05-01-28 UGR) destinado al desarrollo de material docente multimedia de empleo en Tecnología Farmacéutica, concedido a los autores por Universidad de Granada.

P-71 SEGURIDAD EN EL USO DE LOS MEDICAMENTOS: APLICACIÓN AL EEES SEGÚN EL DOCUMENTO DE BOLONIA

Mariño, E.L., Modamio, P., Sebarroja, J., Casasin, T., Bonafont, X., Lastra, C.F.

Unidad de Farmacia Clinica y Farmacoterapia. Facultad de Farmacia. Universitat de Barcelona
Avda. Joan XXIII s/n. 08028 Barcelona
http://www.ub.edu/farcli/wp0.htm

Introducción

EDEMED es un programa interactivo accesible vía Internet, subvencionado por la *Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca* (AGAUR) de la *Generalitat de Catalunya,* y diseñado para el estudio de los Errores de Medicación.

Su finalidad es la de disponer de un material docente en soporte digital, con el objetivo de abordar el proceso enseñanza-aprendizaje con una metodología docente centrada en el alumno, de acuerdo con el documento de Bolonia y el nuevo marco de integración en el Espacio Europeo de Educación Superior, (EEES), permitiendo además un aprendizaje personalizado y facilitando el desarrollo del autoaprendizaje a distancia en esta temática.

El objetivo de la presente comunicación es presentar los resultados obtenidos tras la utilización del programa, en el curso académico 2005-06, por los alumnos de la asignatura troncal Farmacia Clínica y Farmacoterapia, que se imparte en el cuarto año de la Licenciatura de Farmacia de la Universitat de Barcelona.

Materiales y Métodos

El programa EDEMED se encuentra ubicado en la página web de la Unidad (http://www.ub.es/farcli/wp0.htm). Se puede acceder a través del icono correspondiente o bien directamente a partir de la dirección web http://www.ub.edu/farmaciaclinica/projectes/errors/.

Está estructurado en dos bloques, correspondiéndose el primero con un módulo de autoaprendizaje mediante el cual el alumno, partiendo de conceptos básicos y sencillos, va profundizando, de una manera secuencial, en la temática de los errores de medicación (EM).
Este módulo incluye ocho apartados que se corresponden con:

- La seguridad del sistema de utilización de medicamentos
- Terminología
- Tipos de EM
- Métodos de detección de EM
- Causas de los EM
- Prevención de EM
- Bibliografía

En las Figuras 1 a 3 se muestran algunas de las páginas de este módulo.

Figura 1.- *Página del apartado de terminología*

Figura 2.- *Página correspondiente a la clasificación de EM según su gravedad.*

Figura 3.- *Página referente al apartado de prevención de EM.*

Este módulo de autoaprendizaje está abierto a cualquier usuario con interés en el tema.

El segundo bloque del programa EDEMED es un sistema de notificación voluntaria de EM mediante el cual el alumno, cuando detecta un

EM, introduce la información en el programa. En el momento actual esta parte del programa sólo es accesible a los alumnos de la asignatura troncal Farmacia Clínica y Farmacoterapia, siendo necesario la utilización del NIUB (número de identificación de la Universitat de Barcelona) y de una clave.

Resultados y Discusión

La implantación por primera vez del programa EDEMED entre los alumnos de la asignatura troncal Farmacia Clínica y Farmacoterapia se ha realizado en el segundo semestre del curso académico 2005-06 (marzo de 2006). El número de alumnos que voluntariamente han participado en este proyecto ha sido 111 (99 alumnas, 12alumnos), lo cual ha supuesto el 33% del total del alumnado matriculado en la asignatura, número que se ha considerado importante dado el carácter voluntario de la actividad. Este aspecto demuestra ya una implicación del alumno en su proceso de aprendizaje.

El total de posibles EM notificados por el alumnado ha sido de 131. Estas notificaciones fueron recibidas, analizadas y posteriormente aceptadas o rechazadas por el profesorado de la Unidad de Farmacia Clínica y Farmacoterapia. Tras el cribaje realizado se consideró que 9 de ellas no se constituían en EM, por lo que el total de notificaciones aceptadas y por lo tanto actualmente en la base de datos es de 122 (105 notificados por alumnas, 17 por alumnos), lo cual supone aproximadamente 1 EM por alumno participante. Indicar que cada alumno recibe un informe de su participación en el programa quedando reflejado el número de EM notificados.

En la Figura 4 se incluye, a modo de ejemplo, alguno de los EM detectados y notificados por los alumnos, con los que se va a ir generando una base de datos que podrá convertirse en material docente para futuros alumnos de la asignatura.

Figura 4.- *Ejemplos de EM notificados por alumnos.*

Estos EM notificados por los alumnos se prevé que entren a formar parte de la base de datos del *Programa de Prevenció de Errors de Medicació del Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya*, en el cual la Unidad de Farmacia Clínica y Farmacoterapia participa.

Además queremos señalar también la importante repercusión que ha tenido el programa EDEMED en diferentes medios de comunicación de ámbito profesional y académico, tanto en formato papel como electrónico, entre los cuales se puede citar el Correo Farmacéutico, las revistas El Farmacéutico, Farmacia Profesional, Industria Farmacéutica y Offarm, Revista de Bioética y Derecho y las páginas web de Universia, Dialogo Iberoamericano y Vilaweb.

Por último indicar que se ha obtenido para el programa el *Identificador d'Objectes Digitals* (DOI), que se corresponde con: DOI 10.1344/0.000000207.

Conclusiones

Dado el interés que el programa ha suscitado entre los alumnos, consideramos que, la utilización de herramientas docentes en la que se favorezca el aprendizaje personalizado y autónomo del alumno, así como su participación activa en el proceso, en temáticas como la seguridad en el uso de medicamentos, claramente orientadas al ejercicio profesional y las respectivas competencias, se constituye en una buena alternativa en el pregrado, pudiendo contribuir claramente a una integración entre teoría y actividades propias de la práctica farmacéutica, todo ello en total sintonía con el actual EEES.

Entidades Colaboradoras

eman ta zabal zazu
Universidad del País Vasco
Euskal Herriko Unibertsitatea

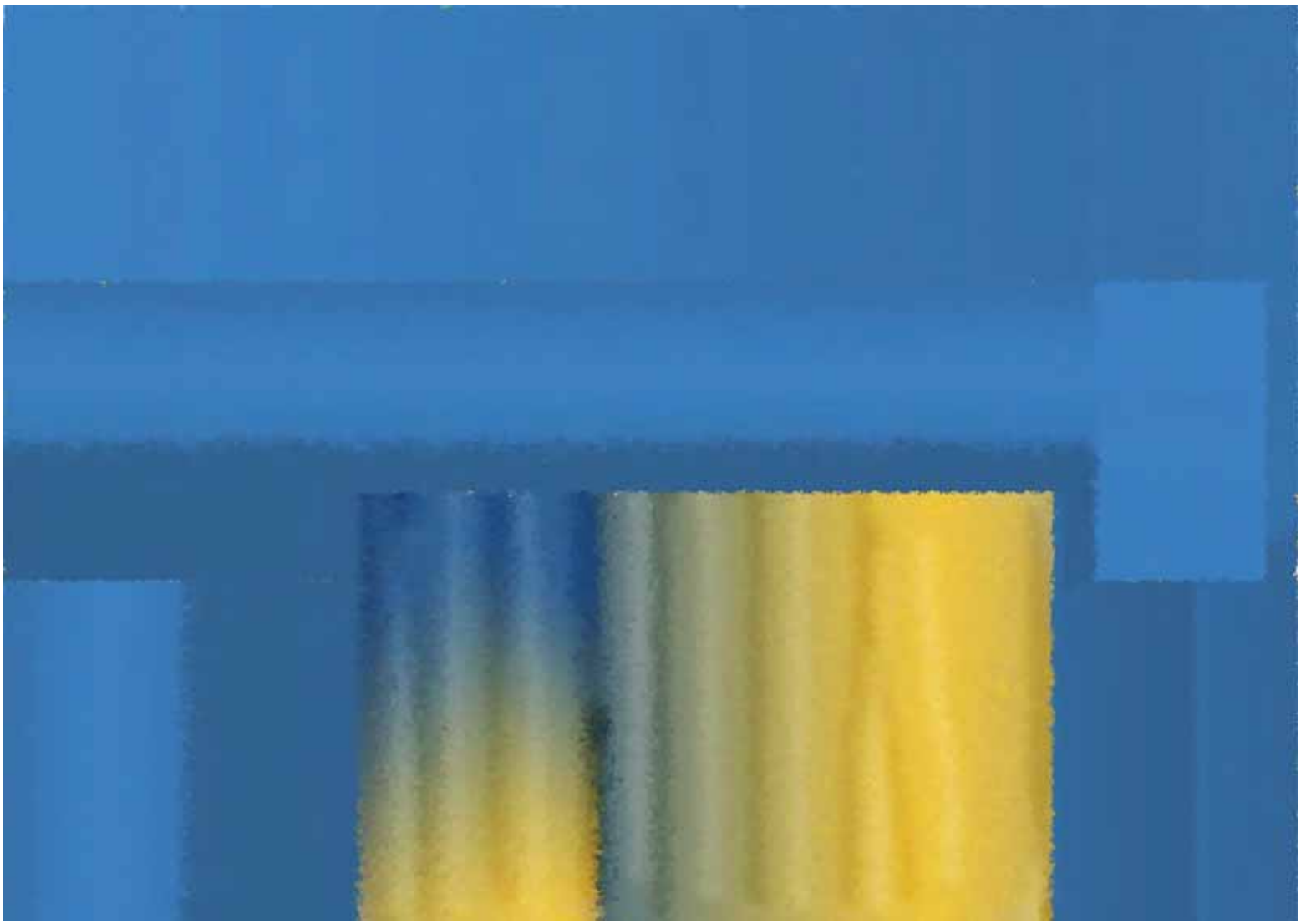
Arabako Foru Aldundia
Diputación Foral de Alava

Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz
Vitoria-Gasteizko Udala

Congresos y Turismo
Biltzar eta Turismoa
Vitoria-Gasteiz

GIZARTE EKINTZA
Obra Social
Caja Vital Vital Kutxa

cinfa

EUDRAGIT®
Pharma Polymers

EAU THERMALE
Avène