

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE FARMACIA**  
**Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica**



**ESTUDIO COMPARATIVO DE PECTINA E  
HIDROXIPROPILMETILCELULOSA EN LA  
FORMULACIÓN DE COMPRIMIDOS MATRICIALES PARA  
LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS  
HIDROSOLUBLES**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR**

**Pseidy Luz Mamani Crispin**

Bajo la dirección de los doctores

María Dolores Veiga Ochoa  
Roberto Ruiz Caro

**Madrid, 2012**



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE FARMACIA**  
**Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica**

***ESTUDIO COMPARATIVO DE PECTINA E  
HIDROXIPROPILMETILCELULOSA EN LA FORMULACIÓN DE  
COMPRIMIDOS MATRICIALES PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA  
DE FÁRMACOS HIDROSOLUBLES***

**PSEIDY LUZ MAMANI CRISPIN**  
**MADRID, 2012**





**MARÍA DOLORES VEIGA OCHOA, Profesora Titular de Universidad y ROBERTO RUIZ CARO, Profesor interino adscritos al Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid**

Informan:

Que la presente Tesis Doctoral titulada ***“ESTUDIO COMPARATIVO DE PECTINA E HIDROXIPROPILMETILCELULOSA EN LA FORMULACIÓN DE COMPRIMIDOS MATRICIALES PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS HIDROSOLUBLES”*** ha sido realizada por la Licenciada de Grado en Farmacia Pseidy Luz Mamani Crispin bajo su dirección, y al estar concluida, autorizan su presentación para que sea juzgada por el tribunal correspondiente. Y para que así conste firman el presente informe en Madrid a 24 de febrero de 2012.



Esta Tesis Doctoral ha sido realizada gracias a una Beca Predoctoral de la Agencia Española de Cooperación Internacional y Desarrollo del Gobierno de España (convocatoria de 2007).



## **AGRADECIMIENTOS**

*En primer lugar, quiero agradecer a la Dra. María Dolores Veiga, por haberme dado la oportunidad de realizar esta tesis bajo su supervisión y sobre todo por haber sido para mí una gran maestra durante los años de mi estancia en España.*

*Al Dr. Roberto Ruiz, por su guía y consejos durante mis años de trabajo en el laboratorio, y sobre todo por haber sido un gran amigo.*

*A la Agencia Española de Cooperación Internacional y Desarrollo del Gobierno de España, ya que este trabajo ha sido realizado gracias a una beca pre-doctoral dentro del programa de Estudios de post-grado.*

*A la Dra. Paulina Bermejo por haber sido la impulsora de la relación entre la Universidad Mayor de San Andrés (Bolivia) y la Complutense de Madrid (España), sin la cual hoy no estaría aquí.*

*Quiero agradecer a la Dra. Irene Teresa Molina, ex-directora del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y al Dr. Juan Torrado, actual director del departamento por haberme permitido realizar este trabajo de investigación disponiéndome de todos los recursos disponibles para su realización.*

*A todas mis compañeras del laboratorio y del Departamentos por haberme acogido con los brazos abiertos y haber sido mi familia durante estos años fuera de casa.*

*A mis amigos de Bolivia, Madrid y otras partes del mundo por haberme dado durante estos años su afecto, comprensión y apoyo ya sea por e-mail, teléfono, postal o personalmente.*

*Y finalmente a mi familia, por haberme dado siempre cariño, comprensión y apoyo a la distancia, siendo los promotores de la fuerza necesaria para realizar el presente trabajo.*

*A mí Familia*



# ÍNDICE

<b>CAPITULO I: INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
1.1. COMPRIMIDOS MATRICIALES HIDROSOLUBLES	5
1.2. PECTINA	8
1.2.1. Usos farmacéuticos	10
1.2.2. Aplicaciones terapéuticas	23
1.3. HIDROXIPROPOLIMETILCELULOSA	29
1.4. TEOFILINA	34
1.4.1. Propiedades farmacológicas	35
1.4.2. Propiedades farmacocinéticas	38
<i>1.4.2.1. Absorción</i>	38
<i>1.4.2.2. Distribución</i>	39
<i>1.4.2.3. Metabolismo</i>	39
<i>1.4.2.4. Eliminación</i>	40
<b>OBJETIVO Y JUSTIFICACIÓN</b>	<b>45</b>
<b>CAPITULO II: COMPRIMIDOS MATRICIALES DE PECTINA/FOSFATO DICÁLCICO PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS HIDROSOLUBLES</b>	<b>47</b>
<b>2.1. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>50</b>

2.1.1. Materiales	50
2.1.1.1. <i>Materias primas</i>	50
2.1.1.2. <i>Enzimas utilizadas</i>	51
2.1.1.3. <i>Reactivos empleados</i>	51
2.1.1.4. <i>Soluciones utilizadas</i>	51
2.1.1.5. <i>Instrumental</i>	53
2.1.2. Métodos	54
2.1.2.1. <i>Elaboración de comprimidos matriciales</i>	54
2.1.2.2. <i>Estudios de hinchamiento</i>	56
2.1.2.3. <i>Ensayos de disolución</i>	57
2.1.2.3.1. <i>Análisis de los datos de disolución</i>	58
2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
2.2.1. <i>Estudios de hinchamiento</i>	62
2.2.2. <i>Ensayos de disolución</i>	67
2.2.2.1. <i>Análisis de los datos de disolución</i>	73
2.3. CONCLUSIONES	81

**CAPITULO III: MATRICES HIDROFILICAS DE  
HIDROXIPROPILMETILCELULOSA/FOSFATO DICÁLCICO  
PARA LA ADMINISTRACIÓN ORAL Y CONTROLADA DE  
FÁRMACOS HIDROSOLUBLES** 83

3.1. MATERIALES Y MÉTODOS	86
---------------------------	----

3.1.1. Materiales	86
3.1.1.1. <i>Materias primas</i>	86
3.1.2. Métodos	87
3.1.2.1. <i>Elaboración de comprimidos matriciales</i>	87
3.1.2.2. <i>Estudios de hinchamiento</i>	88
3.1.2.3 <i>Ensayos de flotabilidad</i>	89
3.1.2.4. <i>Ensayos de disolución</i>	90
3.1.2.4.1. <i>Análisis de los datos de disolución</i>	91
3.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	91
3.2.1. <i>Estudios de hinchamiento</i>	91
3.2.2 <i>Ensayo de flotabilidad</i>	96
3.2.3. <i>Ensayos de disolución</i>	97
3.2.3.1. <i>Análisis de los datos de disolución</i>	104
3.3. CONCLUSIONES	111
<b>CAPITULO IV: MATRICES HIDROFÍLICAS RECUBIERTAS PARA LA LIBERACIÓN ENTÉRICA DE TEOFILINA</b>	113
4.1. MATERIALES Y MÉTODOS	117
4.1.1. Materiales	117
4.1.1.1. <i>Materias primas utilizados en el núcleo o matriz</i>	117
4.1.1.2. <i>Material usados en el recubrimiento</i>	118

4.1.1.3. <i>Reactivos, soluciones e instrumental utilizados</i>	118
4.1.2. Métodos	118
4.1.2.1. <i>Preparación de comprimidos matriciales</i>	118
4.1.3 <i>Recubrimiento entérico</i>	119
4.1.4. <i>Estudios de disolución</i>	120
4.1.4.1. <i>Análisis de los datos de disolución</i>	120
4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	121
4.3. CONCLUSIONES	135
<b>CAPITULO V: DISCUSIÓN GENERAL</b>	<b>137</b>
<b>CAPITULO VI: CONCLUSIONES</b>	<b>149</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>155</b>

*CAPÍTULO I:*

---

*INTRODUCCIÓN*



La Real Farmacopea Española describe las formas farmacéuticas de liberación modificada como aquellas preparaciones en las que la velocidad y el lugar de liberación de la sustancia o sustancias activas, es diferente del de la forma farmacéutica de liberación convencional administrada por la misma vía. Esta modificación deliberada se consigue por una formulación particular o por un método de fabricación especial. Las formas farmacéuticas de liberación modificada incluyen formas farmacéuticas de liberación prolongada, de liberación retardada y de liberación pulsátil [RFE, 2005]

- *Formas farmacéuticas de liberación prolongada:* son las formas farmacéuticas de liberación modificadas para garantizar una liberación más lenta de la sustancia o sustancias activas que la de una forma farmacéutica de liberación convencional administrada por la misma vía. La liberación prolongada se consigue por una formulación particular y un método de fabricación especial. Término equivalente: forma farmacéutica de liberación ampliada.
- *Formas farmacéuticas de liberación retardada:* son las formas farmacéuticas de liberación modificadas para retrasar la liberación de la sustancia o sustancias activas. La liberación retardada se consigue por una formulación particular y por un método de fabricación especial. Las formas farmacéuticas de liberación retardada incluyen preparaciones gastro-

resistentes como se definen en las monografías generales de formas farmacéuticas sólidas para administración oral.

- *Formas farmacéuticas de liberación pulsátil:* son las formas farmacéuticas de liberación modificadas para garantizar una liberación secuencial de la sustancia o sustancias activas. La liberación secuencial se consigue por una formulación particular y por un método de fabricación especial.

Así, las formas farmacéuticas de liberación modificada presentan numerosas ventajas con respecto a las formas farmacéuticas convencionales, entre las que destacan [*Doménech & Escribano, 1998*]:

- Mejor cumplimiento del tratamiento por parte del paciente gracias a una administración más fácil, más adecuada menos frecuente.
- Reducción de los efectos secundarios relacionados con dosis elevadas, es decir, incremento en la seguridad del fármaco al emplearse, en muchos casos, dosis menores y menor distribución del fármaco hacia órganos o tejidos no involucrados en la respuesta farmacológica y reducción de la formación de metabolitos tóxicos.
- Disminución de la fluctuación de niveles plasmáticos al tener la posibilidad de conseguir la velocidad de liberación más adecuada al lugar y al mecanismo de acción del fármaco.

- Efecto terapéutico más uniforme.
- Disminución de trastornos asociados con la intolerancia gástrica cuando se recurre a la administración oral.

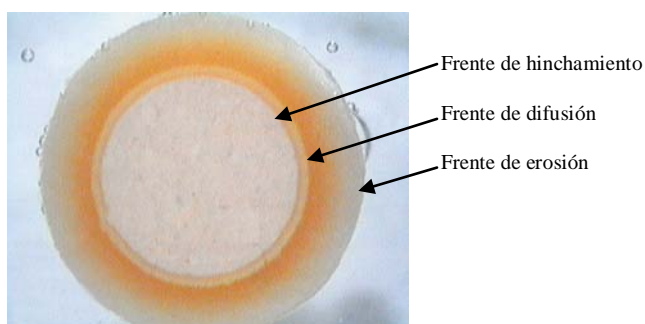
## **1.1. COMPRIMIDOS MATRICIALES HIDROSOLUBLES**

Dentro las diferentes vías de administración de medicamentos, la vía de administración oral sigue siendo la más utilizada en el ser humano, por ello goza de la mayor concentración de esfuerzos investigadores para hallar nuevas formas farmacéuticas de liberación modificada en el TGI [Chien, 1992]. Así, en la actualidad varios trabajos de investigación han centrado su atención en el desarrollo de matrices hidrofílicas o comprimidos matriciales para la liberación controlada de fármacos, debido a que estas formulaciones son sencillas, económicas y de fácil escalado a nivel industrial [Li et al., 2005], además presentan buena correlación de los estudios *in vitro-in vivo*[Maderuelo et al., 2011].

Los comprimidos matriciales se obtienen mezclando el principio activo (p.a.) con polímeros hidrófilos, que en presencia de fluidos acuosos deben ser capaces de formar geles. Se usa la denominación de comprimidos matriciales porque muchas de estas formulaciones se obtienen por compresión, utilizando

las mismas operaciones básicas que en la elaboración de comprimidos convencionales. Además, en algunos casos es necesario el empleo de diluyentes, lubricantes y antiadherentes [Maderuelo *et al.*, 2011].

Los comprimidos matriciales hidrofilicos se caracterizan por hincharse al entrar en contacto con los fluidos acuosos (como consecuencia de la relajación de las cadenas poliméricas), originando la formación de una capa de gel, la cual condiciona: la entrada de medio acuoso en la matriz, la salida de fármaco a partir del sistema y el proceso de erosión de la matriz.



**FIGURA 1.** *Fotografía de una matriz de HPMC después de la entrada de medio de disolución [Colombo, 2000]*

Con la entrada de medio acuoso en la matriz se produce la formación de tres frentes (Figura 1), los cuales desaparecen a lo largo del proceso de disolución de la matriz. La velocidad de formación y desaparición de estos frentes son una parte importante del proceso por el cual se produce la liberación del fármaco a partir de matrices hidrofílicas [Whitehead et al., 1998; Talukder & Fassihi, 2004]. Así, la entrada del medio acuoso en la matriz, el hinchamiento de la misma, la disolución del fármaco, su difusión a través de la matriz y la erosión de la matriz hinchada, son los procesos que regulan la velocidad de liberación del activo a través de la matriz [Colombo et al., 2000].

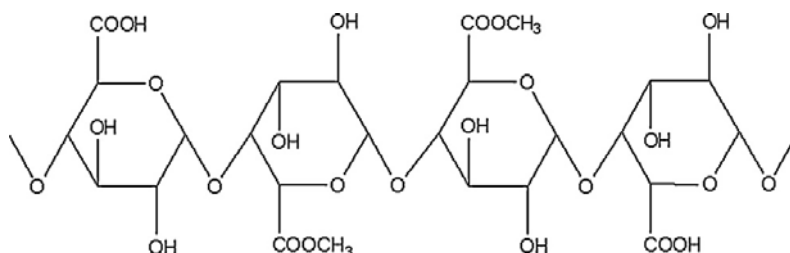
Sin embargo, existen otros factores que condicionan el proceso de liberación de fármaco a partir de la matriz, como son las características propias del polímero utilizado; así, algunos estudios indican que el uso de polímeros no biodegradables conduce a la obtención de cinéticas de primer orden, debido a que la liberación del activo está principalmente contralada por la difusión del fármaco a través de la capa de gel. Por otro lado, la liberación del activo a partir de sistemas elaborados con polímeros biodegradables, está controlada por la entrada de agua dentro del sistema matricial, así como por el hinchamiento del polímero o la disolución de la matriz [Simo et al., 2003].

Además de la naturaleza y características del polímero formador, existen otros factores críticos en el mecanismo de liberación del fármaco a partir de

matrices hidrofílicas, éstos incluyen las características del fármaco (peso molecular, solubilidad, tamaño de partícula y dosis), así como la presencia de diluyentes u otros excipientes [Ebube & Jones, 2004], por lo que son muchos los aspectos a tener en cuenta en el momento de formular una matriz hidrosoluble.

## 1.2. PECTINA

La pectina es una mezcla compleja de polisacáridos que constituye aproximadamente un tercio de las paredes celulares de las plantas superiores. En los últimos años ha adquirido gran interés pues sus aplicaciones pueden ser muy diversas en base a sus parámetros físico-químicos y a su biodegradabilidad. Se extrae de cáscaras de cítricos y de pulpa de manzana en condiciones ligeramente ácidas [May, 1990]. Fuentes alternativas para la obtención de pectina son los residuos provenientes de la industria azucarera (remolacha), aceitera (semillas de girasol), etc [Rolin, 1993].



**FIGURA 2.-** Estructura química de la pectina [Sharma & Ahuja, 2011]

Desde el punto de vista químico la pectina está compuesta por una cadena lineal de restos de ácido  $\alpha$ -(1,4)-D-galacturónico cuyos grupos carboxílicos se encuentran parcialmente metoxilados (Figura 2) [Bourgeois et al., 2006]. Debido a la complejidad de su estructura el peso molecular de la pectina está comprendido entre 50.000 y 180.000 daltons [Sinha & Kumria, 2001]. En un medio con pH neutro las cadenas de este polisacárido se encuentran cargadas negativamente y su pKa es aproximadamente 3,5 [Vandamme et al., 2002].

Las pectinas se dividen en dos grupos principales, en función de su grado de esterificación, clasificándolas en: pectinas de alto grado de metoxilación (HM), pectinas de bajo grado de metoxilación (LM) y en otras sustancias pécticas como las pectinas desmetiladas o moléculas amidadas [Vandamme et al., 2002]. Las pectinas HM presentan valores de metoxilación comprendidos entre el 60 y 75%, mientras que este valor disminuye hasta un 20-40% en las pectinas LM. Esta diferencia en el grado de metoxilación influye directamente en la capacidad formadora de geles de cada pectina. Así, las pectinas HM requieren un intervalo de pH próximo a 3 para formar geles, son en general solubles en agua caliente y deben contener un agente dispersante, como la dextrosa, para evitar la formación de grumos durante el proceso de gelificación. Por el contrario, las pectinas LM producen geles independientemente del pH del medio, pero requieren la presencia de una cantidad controlada de iones calcio u

otros cationes divalentes, por lo cual son de mayor interés que las pectinas HM para su empleo en tecnología farmacéutica [Sriamornsak, 2003].

Así mismo, pueden utilizarse en tratamientos de reducción de peso, ya que su ingesta provoca una sensación de saciedad, por su gran capacidad para absorber líquidos, reduciendo de este modo el consumo de alimentos por parte de los individuos [Di Lorenzo et al., 1988].

### **1.2.1. Usos Farmacéuticos**

La pectina se encuentra inscrita en la FDA como un aditivo seguro sin límites de consumo diario [www.fda.gov], por lo que ha sido ampliamente utilizada como excipiente en la formulación de comprimidos matriciales, geles, cubiertas de formas farmacéuticas, etc.

Kubo y colaboradores [Kubo et al., 2004a,b] han desarrollado formulaciones de pectina, con capacidad de gelificar “*in situ*”, para liberación sostenida de fármacos. Así, se han utilizado diferentes soluciones acuosas diluidas de pectina LM con cationes calcio, para favorecer la complejación, como vehículo para la administración de paracetamol o ambroxol, y se ha comprobado que permanecen en el estómago de rata, mostrando liberación sostenida de ambos fármacos durante períodos de 6 horas. Itoh y colaboradores

[Itoh *et al.*, 2008] estudiaron el posible sinergismo entre pectina y xiloglucano en formulaciones diseñadas para obtener liberación sostenida de paracetamol. Los resultados obtenidos mostraron que la presencia de pectina en la formulación mixta de pectina-xiloglucano es esencial para conseguir controlar la liberación del fármaco debido a la formación del gelificado “*in situ*”.

Éstas y otras investigaciones muestran que la combinación de pectina con iones divalentes puede utilizarse para optimizar el control de la liberación de fármacos en sistemas elaborados con pectina, así como para ajustar la velocidad de liberación del principio activo. También se ha observado que incrementando la cantidad de iones divalentes en la formulación se produce un mayor grado de reticulación y agregación en el sistema [Sinha & Kumria, 2001], sin embargo un exceso de iones calcio origina un fenómeno de pre-gelificación que provoca una mayor velocidad de liberación del fármaco [Vandamme *et al.*, 2002], concluyéndose que la cantidad óptima de iones calcio se encuentra entre 15 y 30 mg por gramo de pectina LM [Liu *et al.*, 2003].

Los hidrogeles formados con polímeros naturales absorben y retienen grandes cantidades de agua y forman un material blando en contacto con los fluidos acuosos del organismo, lo cual contribuye a la biodegradabilidad y biocompatibilidad de este material. Considerando estas características Mishra y colaboradores [Mishra *et al.*, 2008a] han desarrollado hidrogeles de

pectina/polivinil pirrolidona (PVP) utilizando como agente reticulante el glutaraldehído. Los resultados obtenidos mostraron que se produce una interacción por enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la pectina y los carboxilos de la PVP. Este hidrogel presenta hinchamiento pH-dependiente, que a su vez controla la liberación del fármaco modelo (ácido salicílico). Por otro lado, los ensayos de viabilidad sobre células del melanoma murino B16 mostraron que todos los hidrogeles de pectina/PVP estudiados no producen ningún efecto citotóxico significativo en estas células, lo que pone de manifiesto su biocompatibilidad. Los resultados permiten concluir que los hidrogeles elaborados con pectina/PVP son candidatos prometedores para diferentes aplicaciones biomédicas. Posteriormente, estos mismos autores desarrollaron hidrogeles, en medio ácido, a partir de una pectina modificada químicamente con etanolamida, utilizando como agente reticulante el glutaraldehído. El hidrogel obtenido resultó biocompatible y capaz de liberar por difusión el fármaco modelo (ácido salicílico), por lo que los autores consideran que esta membrana puede ser estudiada como sistema transdérmico de liberación de fármacos o como material de apósito para heridas [Mishra *et al.*, 2008b].

Se ha investigado la capacidad que tiene la pectina como vehículo en sistemas de transferencia génica no viral debido a que es un compuesto biodegradable y de baja citotoxicidad e inmunogenicidad. Así, Katav y colaboradores [Katav *et al.*, 2008] han desarrollado sistemas para vehicular

genes a partir de pectina modificada químicamente. La pectina se modificó con diferentes grupos aminos cargados positivamente a pH fisiológico, las cuales se complejaron con DNA de plásmidos. Los resultados obtenidos mostraron que todas las pectinas modificadas fueron capaces de formar complejos con el DNA de plásmido. Sin embargo, la eficacia de complejación y transfección del sistema se vió influenciada por el tipo de grupo amino utilizado en cada modificación, observándose que el mejor fue el de Pectina-NH<sub>2</sub>-Q (Q=N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>). Así mismo, se observó que el peso molecular de la pectina condicionaba la interacción con el DNA y la estabilidad del complejo aumenta con el peso molecular del polímero. Estos resultados ponen de manifiesto que la pectina modificada resultó un vehículo prometedor y atractivo para ser aplicado en transferencia génica no viral.

Algunos polisacáridos naturales de origen vegetal y bacteriano están involucrados en el crecimiento de organismos y en la diferenciación intercelular por la regulación del intercambio iónico en la superficie celular. Además son capaces de proteger organismo vivos al actuar como una barrera frente a las agresiones externas. Se han ensayado microesferas de pectina y pectina-RGD (pectina modificada con la secuencia Arg-Gly-Asp) como vehículo de células capaces de estimular la formación de tejido óseo. Los preosteoblastos inmovilizados en ambos tipos de microesferas mantenían una viabilidad constante de hasta 29 días y eran capaces de diferenciarse. El péptido RGD en la

estructura de la pectina mejoraba la adhesión celular y su proliferación dentro de la microesfera, además no sólo las células crecían en el interior, sino que eran capaces de salir de la microesfera y organizar estructuras tridimensionales produciendo una matriz extracelular mineralizada. Estos prometedores resultados sugieren que la pectina puede ser utilizada como un vehículo celular inyectable para regenerar el tejido óseo [Munarin et al., 2011].

Dentro de las formulaciones de liberación controlada de fármacos, que se administran por vía oral, están adquiriendo gran interés por parte de los investigadores las formulaciones de liberación colónica, las cuales pueden resultar ventajosas para la administración por vía oral de péptidos y otros fármacos, que se degradarían en la zona alta del digestivo, o como medio de vehiculizar fármacos que deban actuar en la zona colónica para el tratamiento de cáncer de colon, enfermedad de colon irritable, enfermedad de Crohn, etc.

La pectina, como otros polisacáridos, es capaz de atravesar de forma inalterada la mayor parte del tracto digestivo, pero al alcanzar el colon va a sufrir una biodegradación específica por las enzimas producidas por las bacterias que forman parte de la flora colónica. Estas enzimas fermentan la pectina originando gases como hidrógeno, dióxido de carbono y metano, y ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato, butirato, lactato), los cuales ejercen un

efecto protector frente a desórdenes intestinales agudos o crónicos [Marti et al., 2003].

Rubinstein y colaboradores [Rubinstein et al., 1993], desarrollaron comprimidos matriciales de pectinato cálcico como vehículo para la liberación colónica de fármacos insolubles. Evaluaron la liberación de indometacina a partir de estos comprimidos en medios con diferentes valores de pH (desde 3,5 a 7,0) en presencia o ausencia de enzimas pectinolíticas, contenido fecal de ratas y *Bacteroides ovatus*. Los resultados obtenidos mostraron que las matrices elaboradas con pectinato cálcico sufren degradación por las enzimas pectinolíticas o bacterias presentes en los diferentes medios, ocasionando una liberación total del fármaco al cabo de 2 horas en presencia de enzimas pectinolíticas (120 FDU/mL), 6 horas en presencia de *B. ovatus* y una liberación más lenta cuando el medio de disolución contiene restos fecales de ratas. Sin embargo, en todos los casos la liberación de indometacina fue superior a la obtenida cuando el ensayo se desarrollaba en medio sin estos agentes capaces de degradar la pectina. Así mismo, se observó que el pH del medio afecta a la liberación de indometacina debido a la solubilidad pH-dependiente del fármaco (insoluble a pH 3,5 y 6,2 y escasamente soluble a pH 7).

Considerando que la liberación de fármacos hidrosolubles a partir de matrices se produce tanto por simple difusión como por erosión de la matriz,

diversos investigadores han estudiado formulaciones elaboradas con pectina o pectinato cálcico, como excipiente potencial para lograr la liberación colónica de fármacos hidrosolubles. Así, Ashford y colaboradores [Ashford et al., 1993] han desarrollado matrices de fluoresceína (modelo de sustancia hidrosoluble) recubiertas con pectinas de diferentes grados de metoxilación, utilizando la técnica de recubrimiento por compresión para proteger la fluoresceína sódica que se encuentra en el núcleo y así asegurar su liberación en el colon. Los resultados obtenidos en los estudios *in vitro* mostraron que los comprimidos que se elaboraron con pectina HM (70% metoxilación) resultaron los más adecuados para conseguir una liberación colónica, ya que después de 5 horas de ensayo de disolución (2h en HCl 0,1M y 3h en medio de pH 7,4) se observó que el núcleo estaba seco y que la liberación de la fluoresceína sólo se produjo cuando en el medio de disolución había enzimas pectinolíticas. Los resultados *in vivo*, usando escintigrafía gamma en voluntarios, confirmaron los resultados *in vitro*, ya que en todos los casos las imágenes obtenidas mostraron que el comprimido se desintegra al llegar al colon ascendente.

Posteriormente, Rubinstein y colaboradores [Rubinstein & Radai, 1995] estudiaron la utilidad de la técnica de recubrimiento por compresión para controlar la liberación de dos fármacos de diferentes solubilidades (indometacina e insulina) en la región del colon, utilizando pectinato cálcico como excipiente en la obtención de comprimidos matriciales y también como

elemento formador de la cubierta. Los resultados *in vitro* mostraron que en el caso de la indometacina tanto los comprimidos matriciales como los comprimidos matriciales recubiertos permanecían inalterados en el medio que simulaba la parte alta del digestivo, pero al ponerlos en contacto con fluido intestinal simulado con enzimas pectinolíticas liberaban rápidamente el fármaco. En el caso de la insulina los ensayos realizados *in vivo* en perros demostraban una liberación prematura de la insulina incluso en la matriz recubierta. A partir de estos resultados los autores concluyeron que la técnica de recubrimiento por compresión para obtener liberación colónica sólo es útil en el caso de fármacos poco hidrosolubles.

Prosiguiendo con el estudio del proceso de recubrimiento con pectina para la obtención de comprimidos de liberación colónica de fármacos, Wakerly y colaboradores [Wakerly *et al.*, 1996] desarrollaron una película de recubrimiento a partir de una dispersión acuosa de pectina/etilcelulosa, para controlar la velocidad de liberación de paracetamol y conseguir una formulación de liberación en el colon. Los resultados obtenidos mostraron una menor velocidad de liberación del fármaco cuanto mayor era la cantidad de etilcelulosa en la película, y cuanto mayor era el grosor de la capa de recubrimiento, demostrando de esta forma que la combinación de pectina/etilcelulosa puede proporcionar la protección necesaria al sistema en la parte superior del tracto

gastrointestinal (TGI), permitiendo la degradación específica de la pectina por las enzimas de la flora colónica.

Dado que la pectina por sí sola no resulta en todos los casos totalmente eficaz para conseguir formulaciones capaces de alcanzar de forma inalterada el colon, algunos autores han recurrido a formulaciones matriciales de pectina recubiertas con polímeros con solubilidad pH-dependiente que protejan la matriz de pectina durante su recorrido por la zona alta del digestivo [Sinha & Kumria, 2001]. Así, Mura y colaboradores [Mura *et al.*, 2003] desarrollaron comprimidos con diferentes pectinas recubiertos con Eudragit® S100 con el fin de conseguir una liberación colónica de teofilina. Para mejorar las características de compresión de la pectinas se prepararon mezclas físicas con Emdex® (dextratos hidrosolubles). Los resultados pusieron de manifiesto que en todos los casos el recubrimiento con Eudragit® S100 permite mantener inalterada la formulación durante las 4 primeras horas del ensayo (2h a pH 1,1 y 2h a pH 6,8) para posteriormente, en el medio con pH 7,4, y en presencia de enzimas pectinolíticas, liberar el 100% del fármaco en un tiempo máximo de 4 horas, no teniendo incidencia el tipo de pectina utilizada (amidada y de alto y bajo grado de metoxilación).

Das y colaboradores [Das & Ng, 2010] obtuvieron cesión sostenida de resveratrol a partir de micropartículas de pectinato de zinc, observando que las

concentraciones del catión zinc y el tiempo de reticulación condicionaban la fuerza del gel formado y su capacidad para controlar la cesión del fármaco vehiculizado. Por otro lado, se observó que la mejor condición de secado para estas formulaciones es en estufa a 37 °C, ya que el proceso de liofilización produce formulaciones porosas que liberan de forma rápida el resveratrol. Posteriormente, estos mismos autores estudiaron la interacción que se produce entre los grupos carboxílicos de la pectina (-) y los grupos amino del quitosano (+), con el fin de obtener un gel más resistente capaz de permitir la liberación del resveratrol en el colon. Los resultados mostraron que el pH de la solución reticulante, solución de acetato de zinc con quitosano, tiene gran influencia en la velocidad de liberación del fármaco, concluyéndose que cuanto menor es el pH de la solución mejor es el proceso de reticulación. Así mismo, se encontró que la concentración de quitosano afecta directamente a la liberación del fármaco. Así, a mayor concentración de quitosano (1%) menor velocidad de liberación (<8% de fármaco liberado después de 5h de ensayo), siendo necesario un tiempo de reticulación de 120 min para formar una matriz suficientemente fuerte capaz de prevenir la liberación del fármaco en el fluido intestinal simulado, pero sensible a la liberación total del resveratrol en fluido colónico. Los resultados *in vivo* confirmaron las observaciones *in vitro*, demostrando que la interacción pectina/quitosano/zinc permite obtener la liberación de resveratrol en la región del colon [Das et al., 2011].

La pectina también se ha utilizado para formular fármacos usados en la terapia del cáncer de colon, como el 5-fluorouracilo (5-FU). Así, Dev y colaboradores [Dev et al., 2011] han estudiado la capacidad que tienen las matrices de pectina recubiertas con Eudragit S 100 para liberar el 5-FU en el colon. Los resultados obtenidos mostraron que esta formulación presenta un período de latencia de 4 horas, tiempo suficiente para que el sistema libere el fármaco en la zona colónica. Así mismo, los estudios de citotoxicidad realizados con una línea celular de cáncer de colon humano (HT29) mostraron que la presencia de pectina en la formulación reduce significativamente la CTC<sub>50%</sub> (Concentración de Citotoxicidad en Células), lo cual potenciaría la actividad de esta formulación en comparación a una formulación sin pectina.

Con el fin de reducir los efectos adversos que puede producir la administración de fármacos en formas farmacéuticas convencionales para el tratamiento del síndrome de intestino irritable u otras enfermedades del colon, y aumentar su eficacia, Chaudhary y colaboradores [Chaudhary et al., 2011] han desarrollado comprimidos de dicitomina clorhidrato y diclofenaco potásico con un doble recubrimiento: una primera capa formada por acetato de celulosa y pectina, y una segunda capa, más externa, formada por Eudragit L-100, para conseguir liberación sostenida en el colon de ambos fármacos. La cubierta de Eudragit L-100 protege la fórmula hasta su llegada al intestino donde se disuelve, quedando únicamente la cubierta formada por acetato de celulosa y

pectina. Al alcanzar el comprimido la zona colónica se disuelve la pectina de la cubierta por la acción de la flora bacteriana del colon y se crean poros a través de los cuales ceden ambos fármacos de acuerdo con una cinética de orden cero, durante un período de tiempo de 24 horas. La metodología descrita puede resultar interesante para fabricar comprimidos osmóticos microporosos que incluyan fármacos útiles en el tratamiento del síndrome de intestino irritable.

En los últimos años se han publicado diversos estudios que muestran las propiedades muco-adhesivas de la pectina, suscitando gran interés en varios equipos de investigación. Así Takeda y colaboradores [*Takeda et al., 2007*] han desarrollado formulaciones de comprimidos bioadhesivos de pectina reticulada con calcio para la liberación sostenida de lactoferrina (B-LF) en la cavidad oral, con el fin de tratar inflamaciones crónicas de la mucosa oral. Los resultados obtenidos demuestran que la pectina con alto grado de esterificación es la que presenta mayor fuerza de bioadhesión y un mejor control en la liberación de lactoferrina, lo cual también está condicionado por la concentración de agente reticulante. Posteriormente, Wattanakorn y colaboradores [*Wattanakorn et al., 2010*] desarrollaron comprimidos mucoadhesivos de liberación sostenida de carbenoxolona, para el tratamiento de úlceras de la cavidad bucal. Los resultados mostraron que la adición de lactosa a la formulación, producía una pérdida en la bioadhesividad de los comprimidos elaborados con pectina de alto grado de esterificación, sin embargo, los comprimidos que fueron elaborados

con pectina de bajo grado de esterificación no se vieron afectados. Otras investigaciones han mostrado que las macromoléculas de pectina pueden difundir a través de la mucosa nasal y así los geles de pectina pueden regular la absorción de los fármacos que incorporan [Liu *et al.*, 2005a,b]. Esta capacidad se encuentra directamente relacionada con la concentración y los grupos funcionales que posea la pectina utilizada en la formulación. Entre las ventajas que presentan las formulaciones con pectina para la administración de fármacos por vía nasal destacan: la permanencia de la formulación en la cavidad nasal, debido a la formación de enlaces de hidrógeno y enlaces de van der Waals entre la pectina y la mucina de la mucosa; la exclusión total de solventes orgánicos durante el proceso de elaboración del sistema; y la fácil incorporación del fármaco mediante diversos métodos físicos como la difusión, el mezclado y la encapsulación o co-precipitación [Liu *et al.*, 2007].

Una gran parte de los pacientes con cáncer padecen dolor, el cual en múltiples ocasiones cursa con la aparición de picos, que la administración oral de sulfato de morfina en formulaciones de liberación inmediata no consigue atenuar hasta que han transcurrido 60 minutos desde su administración. Con el fin de mejorar esta situación se han desarrollado formulaciones de fentanilo (más liposoluble que la morfina) vehiculizado en aerosoles de pectina para su administración por vía nasal (FPNS). El ensayo clínico desarrollado en 110 pacientes con cáncer que sufrían estos picos de dolor puso de manifiesto la

eficacia de esta formulación, pues 10 minutos después de la administración, la disminución del dolor era clínicamente significativa [Fallon *et al.*, 2010]. Estos resultados, junto con la buena aceptación y tolerancia nasal por parte de los pacientes [Davies *et al.*, 2011], han permitido que la EMEA apruebe la comercialización del citrato de fentanilo formulado con pectina en solución para pulverización nasal, y esta formulación se ha registrado con el nombre de PecFent [[www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)].

### **1.2.2. Aplicaciones Terapéuticas**

En el año 1996 se publicó un trabajo en el que se ponía de manifiesto la actividad anticancerígena de una pectina modificada. La estructura ramificada de la pectina de cítricos se puede tratar y obtener así un compuesto de menor peso molecular rico en galactosa, el cual puede ayudar a retrasar la metástasis de las células cancerígenas porque se combina con sus grupos azúcares y bloquea las moléculas de lectina en la superficie de las células que son las que favorecen la metástasis [Kidd, 1996]. Posteriormente Hayashi y colaboradores [Hayashi *et al.*, 2000] estudiaron el efecto de la pectina de cítricos modificada (MCP) y un derivado de quercetina en la reducción del tamaño de tumores implantados en ratones. Los resultados mostraron que la administración diaria de ambos derivados naturales durante 20 días, producía una reducción en el tamaño de los

tumores implantados, entre el 65% y el 70%, con una dosis de 1,6 mg/mL diarios. Este estudio fue el primero en evidenciar la actividad de MCP sobre el crecimiento de tumores primarios sólidos.

Existen en la bibliografía estudios que relacionan la aparición de cáncer de colon con la composición de la dieta en los que se asegura que una ingesta de fibra en la dieta diaria produciría un efecto protector frente al cáncer de colon. Así, se cree que la presencia de fibra en la dieta produciría una dilución del contenido de toxinas fecales, así como una disminución del tiempo de tránsito y un incremento en el peso de las heces, lo cual provocaría un descenso del riesgo de exposición que sufren las células del colon a potenciales mutágenos. Chen y colaboradores [Chen et al., 2010] realizaron estudios *in vitro* e *in vivo* para comparar los efectos de la celulosa y de otras fibras de la dieta (pectina, glucomanano e inulina) frente a la citotoxicidad y el daño genético celular producidos en el cáncer de colon. Los resultados obtenidos mostraron que la pectina y la inulina ejercen un fuerte efecto protector frente a la cito y genotoxicidad del agua fecal, en células Caco-2. Así mismo, la presencia de pectina en la dieta diaria produce un elevado incremento en los ácidos grasos de cadena corta, los cuales a su vez están relacionados con la protección de las células de colon humano frente al daño genético. También se observa una reducción en los niveles de ácido biliar secundario que serían los causantes del daño genético y del estrés oxidativo que sufren las células del colon. Estos

resultados sugieren que fibras como la pectina pueden ser consideradas como agentes quimiopreventivos frente al cáncer de colon.

Entre los usos terapéuticos atribuidos a la pectina y a otras fibras de la dieta está su capacidad para reducir el colesterol. El mecanismo por el cual las fibras solubles reducen el colesterol se debería a un descenso en la absorción de colesterol en el intestino. Para solubilizar y absorber el colesterol en el intestino es necesaria la presencia de ácidos biliares. Al producirse la unión de éstos a las fibras solubles, se reduce la cantidad de ácidos biliares libres y por lo tanto se reduce la absorción del colesterol en el intestino [Deng, 2009]. Recientemente se ha estudiado el efecto de la pectina, celulosa y cromo en el metabolismo de lípidos y carbohidratos, mediante ensayos en ratas, y los resultados obtenidos sugirieron que un suplemento de pectina y cromo en la dieta podría ser beneficioso para corregir ciertos problemas en el metabolismo de lípidos [Krzysika et al., 2011]. Así mismo, Marounek y colaboradores [Marounek et al., 2007] investigaron la acción de la pectina y algunos derivados (pectina amidada) como reguladores del colesterol y del metabolismo en animales; los resultados obtenidos concluyen que tanto la pectina como la pectina amidada producen una reducción en el peso de los animales que recibieron esta dieta en comparación con el grupo control. Sin embargo, al analizar el efecto de este polisacárido y sus derivados sobre los niveles séricos de colesterol HDL, se observó que la pectina con alto grado de amidación produce un descenso significativo del colesterol

total en suero. Se observó que las pectinas de alto y bajo grado de amidación reducen significativamente la concentración de colesterol hepático y las grasas. Estos resultados sugieren que las pectinas amidadas (hidrofóbicas) alteran de forma significativa la homeostasis del colesterol, por lo cual se les podría atribuir un efecto hipocolesterolémico. Con el fin de evaluar el efecto de las pectinas de alto grado de metoxilación (HM) sobre los factores de riesgo cardiometabólicos, Sánchez y colaboradores [Sánchez *et al.*, 2008] realizaron estudios *in vivo* utilizando ratas Zucker, por ser el mejor modelo experimental de obesidad genética ya que estos animales presentan alteraciones similares a las que aparecen en el síndrome metabólico humano. Los resultados obtenidos demuestran que una dieta enriquecida en pectina HM produce una reducción en la glucemia, insulinemia y en los lípidos del plasma, así como una pérdida de peso de los animales tratados con esta dieta en comparación con el grupo control. Así mismo, los autores sugieren que es necesario estudios en humanos para asegurar que la pectina HM reduce los factores de riesgo cardiometabólicos.

Por otro lado, la pectina ha demostrado ser un compuesto capaz de mejorar la estructura de la mucosa del intestino, prolongar el tránsito intestinal, y actuar frente a procesos diarreicos, debido a que incrementa la solidez de las heces y mejora la reabsorción de agua en el colon [Roth *et al.*, 1995]. Así, Rabbani y colaboradores [Rabbani *et al.*, 2004] realizaron un estudio clínico

para evaluar el efecto del plátano verde y la pectina sobre la permeabilidad intestinal y la pérdida de fluidos en 57 niños con diarrea persistente. Los resultados mostraron que la presencia de pectina o plátano verde en la dieta es capaz de revertir las anormalidades en la permeabilidad de la mucosa intestinal ocasionada por la diarrea persistente, esta mejora en la permeabilidad de la mucosa originó un aumento en la consistencia de las heces, así como la reducción del peso de las mismas. El efecto antidiarreico de ambos tratamientos podría deberse a la producción de compuestos como butirato, acetato y propionato, los cuales estimulan la absorción de sales y agua en el colon.

En busca de otras aplicaciones terapéuticas se han evaluado las actividades anticoagulantes y antitrombóticas, así como el efecto de sangrado, de los derivados sulfatados de pectina cítrica, de alto y bajo peso molecular. Ambos polisacáridos presentan actividad anticoagulante “in vitro”, aunque el derivado de pectina de bajo peso molecular ha resultado ser “in vivo” un agente antitrombótico más potente, inhibiendo totalmente la trombosis venosa con una dosis de 3,5 mg/kg de peso. Sorprendentemente, en contraste con la heparina, ambos derivados de la pectina son capaces de inhibir directamente la  $\alpha$ -trombina y el factor Xa por un mecanismo independiente de la antitrombina III y/o el co-factor II de la heparina. Además el derivado de alto peso molecular presenta menor riesgo de sangrado que la heparina a dosis que resultan 100% efectivas frente a la trombosis venosa [Cipriani *et al.*, 2009].

Entre las diversas investigaciones destinadas a estudiar los efectos biológicos de la pectina, Wang y colaboradores [Wang *et al.*, 2005] han realizado estudios *in vitro* para probar la actividad inmunológica de pectina extraída de *Centella asiática*. Los resultados obtenidos sugieren que los restos carboxílicos de las cadenas laterales de pectina son los responsables de su actividad inmunológica.

Así mismo, se ha atribuido a la pectina un cierto efecto protector frente a la intoxicación con metales pesados. Así, Kohn [Kohn, 1982] estudió la posible interacción producida entre los cationes  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y los grupos carboxílicos de diferentes fracciones de pectina.

Datos bibliográficos muestran que la administración de pectina en forma líquida podría mejorar los síntomas digestivos y respiratorios asociados al reflujo gastroesofágico (GER) que sufren los niños con parálisis cerebral. Así, Miyazawa y colaboradores [Miyazawa *et al.*, 2008] realizaron un estudio clínico en 18 niños con esta deficiencia neurológica para probar la eficacia de dos dietas, con diferentes concentraciones de pectina, sobre los síntomas causados por GER. Los resultados mostraron que el número de episodios de reflujo y vómitos por día, así como su duración, disminuyeron significativamente con la dieta que contenía mayor concentración de pectina, sugiriendo que la pectina líquida podría ser considerada como una terapia alternativa para el tratamiento

de GER o como terapia adicional a la administración farmacológica. Estos resultados son prometedores ya que los fármacos convencionales son menos efectivos en este tipo de pacientes y en casos de síntomas persistentes se recurre a la cirugía antirreflujo, que a la vez presenta complicaciones y riesgos para el paciente.

### **1.3. HIDROXIPROPOLIMETILCELULOSA**

La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) es un derivado de celulosa hidrofílico con cargas no iónicas, inerte, inodoro y se obtiene a partir de celulosa purificada [Harwood, 2000]. Para su obtención primero se trata la celulosa con una solución de hidróxido de sodio con el objetivo de producir una celulosa alcalina, la cual es químicamente más reactiva que la celulosa no tratada. Posteriormente, con un tratamiento de clorometano y óxido de propileno la celulosa alcalina se convierte a metilhidroxipropil ester de celulosa y finalmente las fibras resultantes de la reacción son purificadas y convertidas en polvo o gránulos.

Las propiedades fisicoquímicas de la HPMC (es decir su solubilidad, temperatura de transición vítrea y viscosidad) se ven afectadas por la proporción de grupos metoxilo e hidroxipropoxilo que posee, así como por su peso

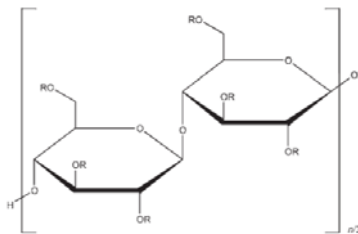
molecular, el cual oscila entre 10 000 a 1 500 000 Daltons [Harwood, 2000]. Por lo que, existen diferentes tipos de HPMC en el mercado, con diversas viscosidades y grados de sustitución.

En la Farmacopea Americana [USP, 2010] se recogen cuatro diferentes tipos de hidroxipropilmetilcelulosa, clasificadas de acuerdo a su contenido de grupos metoxilo e hidroxipropoxilo en: HPMC 1828, HPMC 2208, HPMC 2906 y HPMC 2910, los dos primeros números que siguen al nombre abreviado indican el porcentaje de grupos metoxilo y los dos últimos números indican el porcentaje de grupos hidroxipropoxilo.

La hidroxipropilmetilcelulosa es un material polimérico extremadamente versátil, estable entre un intervalo de pH de 3 a 11 y no tóxico [www.fda.gov], por lo que es utilizado ampliamente en productos farmacéuticos, principalmente como: aglutinante [Chowhan, 1980], formador de películas de recubrimiento [Rowe, 1977; Rowe, 1980; Banker et al., 1981; Okhamafe, 1982; Alderman & Schulz, 1989; Patell, 1990] y como excipiente para modificar la velocidad de liberación de principios activos en matrices poliméricas hidrofílicas [Hardy et al., 1982; Krycer et al., 1983a,b; Shah et al., 1989; Dahl et al., 1990].

Para ejercer como aglutinante la HPMC debe encontrarse en concentraciones del 2 a 5 % (p/p), ya sea en procesos de granulación por vía húmeda o seca [Harwood, 2000]. Cuando se desea utilizar la HPMC como

componente formador de películas de recubrimiento, este polímero debe encontrarse componiendo entre un 2 a 20% de la formulación de la película, dependiendo de la viscosidad del HPMC seleccionado. En formulaciones matriciales de liberación controlada la HPMC puede constituir entre un 10 - 80% del total de la formulación. Por otro lado, algunas investigaciones muestran que este polímero puede utilizarse en formas farmacéuticas líquidas, como agente de suspensión y espesante o como un emulsificante. También se ha encontrado que sin importar la forma farmacéutica en la que esté presente la HPMC no sufre degradación enzimática, por lo que puede provocar un efecto laxante y síndromes metabólicos a dosis elevadas [Lynch *et al.*, 2008; Maki *et al.*, 2008].



**FIGURA 3.** Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), donde  $R = H, CH_3$  ó  $CH_3-CH(OH)-CH_2$ .

La hidroxipropilmetilcelulosa es uno de los polímeros hidrofílicos más populares para la formulación de sistemas de liberación controlada de fármacos desde 1960 [Alderman, 1984; Lapidus & Lordi, 1966, 1968; Huber et al., 1966; Huber & Christenson, 1968; Colombo, 1993; Hogan, 1989; Ferrero Rodriguez et al., 2000]. Entre sus características más importantes están su elevada capacidad de gelificación [Lee et al., 1999; Sako et al., 2002; Ebube & Jones, 2004] e hinchamiento, que a su vez tiene un significativo efecto en la cinética de liberación del fármaco incorporado en el sistema, es de fácil compresión y tiene la capacidad de albergar una gran cantidad y diversidad de fármacos. También no se ha encontrado que este polímero influya en las variables del proceso de fabricación de comprimidos matriciales para la liberación de fármacos [Vázquez et al., 1992; Li et al., 2005; Sung et al., 1996].

Al exponer las matrices formuladas con HPMC a soluciones acuosas termodinámicamente compatibles, se observó que el disolvente penetra en los espacios que forman las cadenas macromoleculares de este polímero en la superficie de la matriz. Así, cuando el disolvente ha penetrado lo suficiente en el interior de la matriz, la temperatura de transición vítrea (T<sub>g</sub>) del polímero se ve disminuida a nivel de la temperatura experimental, lo que produce una relajación de las cadenas poliméricas [Siepmann & Peppas, 2001].

Además de utilizar HPMC en la formulación de comprimidos matriciales para controlar la liberación de fármacos, existen otras formulaciones de administración oral en las que este polímero ha resultado eficaz para modular la cesión de moléculas activas, como son las cápsulas duras, rellenas de HPMC en polvo [Alderman, 1984; Ojantakanen, 1992; Ojantakanen et al., 1993; Eerikäinen et al., 1996; Leino et al., 1997], los sistemas multi-particulares [Jalil & Ferdous, 1993; Cox et al., 1999; Pandey et al., 2002; De Brabander et al., 2003] y otros que se han desarrollado en los últimos años.

La hidratación de la HPMC produce la formación de una capa de gel en la superficie de la matriz, la cual regula la entrada del líquido exterior y la disolución del fármaco desde el interior del comprimido matricial [Colombo et al., 2000]. Así, la liberación del fármaco a partir de este tipo de matrices poliméricas se produce mediante procesos de difusión, erosión, o una combinación de ambos [Lee & Peppas, 1987; Narasimhan & Peppas, 1997].

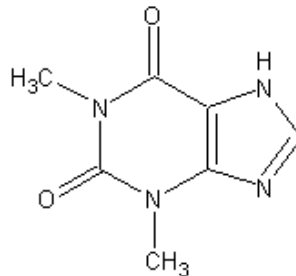
Entre otros factores que modifican la liberación del fármaco a partir de estas matrices se han encontrado, el tipo y la concentración de polímero seleccionado, el tamaño de partícula del fármaco o la presencia de otros excipientes en la formulación [Ford et al., 1985; Feely & Davis, 1988; Hogan, 1989].

Además, algunos investigadores mostraron que el tamaño de los comprimidos matriciales puede influenciar la velocidad de liberación del fármaco y en la cantidad de polímero necesaria para modular la cesión de la molécula activa. A mayor tamaño de comprimido menor velocidad de liberación del fármaco, esto debido a los cambios en las proporciones superficie/volumen y al grado inicial de formación de gel. Así mismo, Alderman y colaboradores han demostrado que para modular la cesión de un fármaco a partir de matrices hidrofílicas pequeñas es necesario utilizar mayor cantidad de HPMC [Alderman, 1984].

#### **1.4. TEOFILINA**

En el presente trabajo se ha seleccionado como fármaco modelo a la teofilina, ya que moléculas hidrosolubles como ésta son relativamente más sensibles a pequeños cambios en la formulación de matrices hidrofílicas. Así mismo, esta molécula presenta buenas propiedades farmacológicas, frente a enfermedades como el asma. Sin embargo, actualmente su uso clínico está limitado, debido a que sufre extensamente los efectos del metabolismo de primer paso [Jacobs, *et al.*, 1977], lo que conduce a una reducción significativa de su tiempo de vida media, produciendo un estrecho índice terapéutico [Horai *et al.*,

1983]. Por todo ello desde un punto de vista tecnológico se podría mejorar su aplicabilidad clínica mediante su inclusión en formulaciones de liberación modificada.



**FIGURA 4.** Estructura química de teofilina [USP, 20]

#### 1.4.1. Propiedades Farmacológicas

La teofilina (THE) es un alcaloide de la familia de metilxantinas, que produce de manera directa la relajación del músculo liso bronquial y de los vasos pulmonares. Actúa principalmente como broncodilatador y vasodilatador. Otros efectos sobre el sistema respiratorio, incluyen: mejoría en el aclaramiento mucociliar, inhibición de la liberación de mediadores a partir de mastocitos y otras células inflamatorias, disminución en la respuesta a la bronco-constricción provocada y las reacciones asmáticas inmediatas y tardías. Además, también presenta otras acciones propias de los derivados de las xantinas como:

vasodilatador coronario, estimulante cardíaco y cerebral, estimulante del músculo esquelético y efecto diurético.

El mecanismo de acción no es del todo conocido y entre los sugeridos están: 1) inhibición de las fosfodiesterasas y con ello incremento del cAMP intracelular; 2) efectos directos en la concentración de calcio intracelular; 3) acciones indirectas en las cifras de calcio intracelular por hiperpolarización de membranas celular; 4) el desacoplamiento del calcio intracelular que aumenta los elementos contráctiles del músculo, y 5) antagonismo de los receptores de adenosina. Sin embargo, un cúmulo importante de datos sugiere que el antagonismo del receptor de adenosina constituye el factor de mayor importancia que explica casi todos los efectos farmacológicos de las metilxantinas, a las dosis que se usan en terapéutica [Goodman & Gilman, 1996].

La teofilina ha sido eficaz como broncodilatador en asmáticos, siendo considerada alguna vez como fármaco de primera elección en esta patología. En la actualidad ocupa un sitio menos importante, posiblemente debido a los pocos beneficios que produce su pequeña ventana terapéutica y la necesidad de efectuar mediciones seriadas de los valores de este fármaco en sangre [Stoloff, 1994; Nasser & Rees, 1993]. Se ha demostrado que el asma nocturna mejora con formulaciones de liberación sostenida de teofilina [Self et al., 1992], pero

quizá sean más eficaces el uso de glucocorticoides o salmeterol inhalados [Meltzer et al., 1992]. Aunque, algunos pediatras prefieren el uso de THE sobre los glucocorticoides porque estos presentan un riesgo de supresión del crecimiento en niños.

Debido a las grandes variaciones interindividuales en la eliminación de la teofilina, el ajuste de dosis debe realizarse de forma individualizada. El cálculo de la dosis se debe realizar según el peso “ideal” del paciente. El efecto broncodilatador máximo, asociado a una mínima incidencia de efectos adversos, se produce con niveles plasmáticos de teofilina comprendidos entre 10 y 20  $\mu\text{g/ml}$ .

Se aconseja comenzar el tratamiento con la mitad de las dosis máximas recomendadas. Si la respuesta clínica es insuficiente a los 3 días y el fármaco es bien tolerado, estas dosis puede incrementarse a razón de un 25% cada 3 días, sin sobrepasar las dosis máximas recomendadas. Si la respuesta clínica no es adecuada, se deberá determinar la concentración plasmática de teofilina 3 días después del último incremento de dosis y ajustar la posología.

En adultos se recomienda una dosis inicial de 5 mg/kg/día, si esta dosis es bien tolerada, puede aumentarse a 10 mg/kg/día, si el paciente no la tolera bien se realiza la monitorización de los niveles séricos de teofilina, la dosis no debe nunca superar los 20mg/kg/día o los 700 mg/día.

En pacientes ancianos puede ser necesaria dosis inferiores de THE, por su menor aclaramiento. Dado que la teofilina se metaboliza más rápidamente en los niños, igualándose las concentraciones plasmáticas a las del adulto de forma progresiva, alrededor de los 16 años, las dosis máximas recomendadas son: para niños de 12 a 16 años (36kg – 55kg): 13 mg/kg/día.

## **1.4.2. Propiedades farmacocinéticas**

### *1.4.2.1. Absorción*

Las metilxantinas, y entre ellas la teofilina, se absorben con facilidad después de su administración oral, rectal o parenteral. La teofilina en líquidos o comprimidos sin recubrimiento se absorbe en forma rápida y completa. También es completa la absorción de algunas de las presentaciones de liberación sostenida [*Hendeles & Weinberger, 1982*]. En ausencia de alimentos, las soluciones o comprimidos de teofilina sin recubrimiento producen concentraciones máximas en plasma en términos de dos horas.

#### *1.4.2.2. Distribución:*

Las metilxantinas se distribuyen en todos los compartimentos corporales, cruzan la placenta y pasan a la leche materna. El volumen de distribución por lo común es de 0,4 a 0,6 L/Kg de peso (estos valores son mayores en prematuros). La teofilina se une a proteínas plasmáticas en un promedio de 60%, pero disminuye a 40% en neonatos y en adultos cirróticos [Hendeles & Weinberger, 1982]. La proporción de fármaco libre se distribuye desde el plasma a todos los compartimentos orgánicos, excepto en el tejido graso. La vida media plasmática oscila entre 3 y 9 horas, siendo mayor en adultos asmáticos no fumadores, menor en niños y adultos fumadores, y por encima de las 24 horas en niños prematuros y pacientes con patologías cardiopulmonares.

#### *1.4.2.3. Metabolismo:*

Se metaboliza principalmente a nivel hepático por el CYP450, a ácido 1,3-dimetilúrico (40%), 3-metilxantina (36%), ácido 1-metilúrico (17%) y pequeñas cantidades de cafeína. El único metabolito farmacológicamente activo en menor grado que la teofilina, es la 3-metilxantina. La tasa de metabolización hepática de teofilina, varía de forma interindividual, afectándose por factores como la edad, el consumo de tabaco, las enfermedades concomitantes, la dieta y

otros medicamentos, lo que puede dar lugar a variaciones similares en el aclaramiento, concentración sérica y semivida de eliminación del fármaco.

#### *1.4.2.4. Eliminación:*

Se elimina principalmente en forma de metabolitos, y aproximadamente un 10% de forma inalterada por la orina. Se observa una enorme variación interindividual en la velocidad de eliminación, por factores genéticos y ambientales, observándose una relación de excreción metabolitos/fármaco inalterado mayor en ancianos y menor en neonatos, en quienes la metilación de teofilina a cafeína está aumentada. El aclaramiento de teofilina puede verse disminuido por el ejercicio físico, el hipotiroidismo grave, comorbilidad cardíaca (ICC, edema pulmonar, cor pulmonar), pulmonar (hipoxia, insuficiencia respiratoria aguda, EPOC) o hepática, e infecciones víricas del tracto respiratorio; y aumentado en niños desde 1 año de edad hasta la adolescencia (generalmente los niños necesitan una dosificación más frecuente), en la psoriasis severa y el tabaquismo. Los datos más recientes indican que el aclaramiento de teofilina no se ve afectado por insuficiencia renal, peso o estado nutricional.

**TABLA 1.** Especialidades farmacéuticas de teofilina recogidas en la página oficial de la AEMPS

MEDICAMENTO	LABORATORIO TITULAR	FECHA DE AUTORIZACIÓN	ESTADO	FORMA FARMACÉUTICA
ELIXIFILIN SOLUCION	Tora Laboratories, S.L	01/12/1967	comercializada	Solución
EUFILINA VENOSA	Nycomed Gmbh	01/02/1922	comercializada	Solución de uso parenteral
PULMENO 200 mg	Artis Pharma, S.L.	01/05/1988	comercializada	cápsulas
PULMENO 350 mg	Artis Pharma, S.L.	01/05/1988	comercializada	cápsulas
TEROMOL RETARD	Laboratorio Aldo Union, S.A.	01/06/1959	comercializada	Comprimidos
THEO-DUR 100 mg Comprimidos	Vegal Farmaceutica, S.L.	01/02/1984	comercializada	Comprimidos
THEO-DUR 200 mg Comprimidos	Vegal Farmaceutica, S.L.	01/02/1984	comercializada	Comprimidos
THEO-DUR 300 mg Comprimidos	Vegal Farmaceutica, S.L.	01/02/1984	comercializada	Comprimidos
THEOLAIR 175 mg Comprimidos De Liberación Prolongada	Meda Pharma S.A.U	01/03/1983	comercializada	Comprimidos de liberación prolongada
THEOLAIR 250 mg Comprimidos De Liberación Prolongada	Meda Pharma S.A.U	01/03/1983	comercializada	Comprimidos de liberación prolongada
THEOPLUS 300	Pierre Fabre Iberica, S.A.	01/11/1987	comercializada	Comprimidos
UNILONG 250	Altana Pharma, S.A.	01/03/1991	No comercializada	Cápsulas
UNILONG 375	Altana Pharma, S.A.	01/03/1991	No comercializada	Cápsulas

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) tiene registradas y aprobadas para su comercialización numerosas especialidades farmacéuticas de teofilina (Tabla 1) desde hace muchos años, entre estas están

soluciones, comprimidos y cápsulas. Aunque están comercializadas dos presentaciones de teofilina en forma de comprimido de liberación prolongada, hasta la actualidad no existe una especialidad farmacéutica de teofilina que muestre una protección entérica, la cual podría mejorar la biodisponibilidad del fármaco reduciendo su degradación a su paso por el TGI [[www.aemps.es](http://www.aemps.es)].

---

*OBJETIVO Y JUSTIFICACIÓN*



El objetivo de esta Tesis es comparar la pectina con la hidroxipropilmetilcelulosa como elementos moduladores de la cesión de fármacos hidrosolubles incluidos en matrices, en las que se combina cada uno de estos excipientes con un componente estructural con solubilidad pH-dependiente como el fosfato dicálcico.

Para cumplir este objetivo, se desarrollaron diferentes etapas. La primera de ellas, la constituye el estudio bibliográfico de la pectina, con el fin principal de conocer sus características físico-químicas, comportamiento en medios acuosos, sus usos farmacéuticos y sus aplicaciones terapéuticas.

La segunda etapa, es el diseño, elaboración y evaluación, mediante diversos ensayos *in vitro*, de comprimidos matriciales de pectina/fosfato dicálcico, en diferentes proporciones, con el fin de obtener la liberación controlada de fármacos hidrosolubles como la teofilina en distintas partes del tracto gastrointestinal.

Para comparar las propiedades de la pectina como polímero hidrófilo fundamental en la elaboración de comprimidos matriciales, se ha seleccionado otro polímero de amplia utilización en matrices hidrofílicas (hidroxipropilmetilcelulosa), con el que se desarrollaron comprimidos matriciales de HPMC/DCP, en las mismas proporciones anteriormente

estudiadas con la pectina y se procedió a su caracterización por medio de diversos ensayos *in vitro*.

Por último dado que la teofilina se utiliza en el tratamiento del asma se han diseñado formulaciones cronoterapéuticas de liberación entérica para controlar los ataques de asma matutina, partiendo de algunas de las formulaciones pectina/DCP y HPMC/DCP estudiadas en las fases anteriores, a las que se las ha recubierto con un derivado del ácido acrílico y metacrílico con solubilidad pH-dependiente (Eudragit S 100).

*CAPÍTULO II:*

---

*Comprimidos matriciales de  
pectina/DCP para la liberación  
controlada de fármacos hidrosolubles*



Como se ha expuesto previamente un aspecto clave en el desarrollo de comprimidos matriciales es la selección del polímero, sin embargo, existen otros aspectos de la formulación que influyen en la liberación del fármaco a partir de estas matrices, como son: la solubilidad y el tamaño de partícula del fármaco, la presencia de otros excipientes en la formulación y las características morfológicas de la matriz, como la superficie y forma. Además, se ha encontrado que parámetros del método de fabricación como: el orden de incorporación de los componentes, el tiempo de mezclado, la fuerza de compresión y las condiciones utilizadas en los ensayos de disolución [*Sia Heng et al., 2001*] son aspectos que afectan el mecanismo de liberación del fármaco a partir de comprimidos matriciales hidrosolubles. Otro aspecto a tener en cuenta a la hora de evaluar las matrices hidrofílicas es el hecho de que éstas se encontrarán expuestas a un peristaltismo continuo y a una variación de pH del medio durante su paso a través del TGI, por ello, es importante considerar que estos cambios químicos y mecánicos podrían afectar la forma de la matriz, así como modificar el mecanismo y la velocidad de liberación de fármaco [*Abrahamsson et al., 1998*], para conseguir una buena correlación *in vitro-in vivo* algunos investigadores ven necesario modificar los parámetros utilizados en los ensayos de disolución [*Mudie et al., 2010*].

Considerando todo lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente capítulo es obtener comprimidos matriciales hidrosolubles mediante la

combinación de diferentes proporciones de pectina, como agente gelificante, y DCP, como posible diluyente o agente disgregante pH-dependiente, para conseguir la liberación de moléculas hidrosolubles en diferentes partes del tracto gastrointestinal.

## **2.1. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1.1. Materiales**

Se ha agrupado el material en: materias primas, enzimas, reactivos, soluciones e instrumental.

#### *2.1.1.1. Materias primas*

- Teofilina anhidra (THE) (Sigma-Aldrich, EE.UU.).
- Pectina, con 60-70% de ácido galacturónico (Guinama, España).
- Fosfato dicálcico (DCP) (Mendell, Alemania).
- Estearato de magnesio PRS-CODEX (MgSt) (Panreac, España).
- Polivinilpirrolidona Kollidon<sup>®</sup> 30 (PVP K30) (BASF, Alemania).

### *2.1.1.2. Enzimas*

- Pepsina (Guinama, España).
- Pancreatina calidad USP (Acros Organic, EE.UU.).
- Pectinasa, extraídas de *Aspergillus niger* con una actividad de 26.000 FDU/mL a pH 3,5 (Pectinex ultra SP-L) (Novozymes, Dinamarca).

### *2.1.1.3. Reactivos*

- Ácido acético glacial. Calidad PA-ACS-ISO (Panreac<sup>®</sup>, Barcelona).
- Ácido clorhídrico 37 %. Calidad PA (Panreac<sup>®</sup>, Barcelona).
- Ácido orto fosfórico 85% (p/v) (Panreac<sup>®</sup>, Barcelona).
- Hidróxido sódico PRS (Panreac<sup>®</sup>, Barcelona).
- Potasio dihidrógeno fosfato. Calidad PA-ACS (Panreac<sup>®</sup>, Barcelona).
- Cloruro de sodio (Panreac<sup>®</sup> Química S.A., Barcelona).
- Agua desmineralizada obtenida con un equipo Elix<sup>®</sup> Essential-Millipore Progard<sup>®</sup>2.

### *2.1.1.4. Soluciones utilizadas*

- Medio de pH progresivo (pH 1,5 → 4 → 6,8) : se compone de una mezcla acuosa de ácido clorhídrico (0,05 M), ácido orto-fosfórico (0,05

M) y ácido acético glacial (0,05 M), la cual tiene un pH de 1,5, que se mantiene durante las primeras 2 horas de los ensayos (Fase I). Después se añade una alícuota de NaOH (10 M) al medio de disolución hasta obtener un aumento del valor de pH hasta 4,0; el cual se mantiene durante las 2 horas siguientes (Fase II). Por último, se añade otra alícuota de NaOH (10 M) hasta obtener un valor de pH de 6,8, que se mantiene hasta finalizar las 24 horas de ensayo (Fase III) [Ruiz-Caro y Veiga, 2009].

- Los fluidos gástrico simulado con pepsina (FGS) e intestinal simulado con pancreatina (FIS) se elaboraron de acuerdo a lo establecido en la Farmacopea de los Estados Unidos 34<sup>a</sup> (USP 34) [2011].
- Fluido colónico simulado (FCS) (2 horas a pH 1,5 → 2 horas a pH 4 → 2 horas a pH 6,8 → 18 horas a pH 6,8 con enzimas pectinolíticas): Las 6 primeras horas del ensayo de disolución en FCS se realizaron en un aparato de disolución Sotax<sup>®</sup> AT7 equipado con paletas. La fase ácida (2 horas a pH 1,5), que simula el estómago vacío, se compone de una mezcla acuosa de ácido clorhídrico (0,05 M), ácido orto-fosfórico (0,05 M) y ácido acético glacial (0,05 M), la cual tiene un pH de 1,5. La fase intermedia (2 horas a pH 4), pH del estómago lleno, se obtiene mediante la adición de una alícuota de NaOH (10 M) al medio hasta obtener un

valor de pH de 4,0. La fase que simula el pH del intestino delgado (2 horas a pH 6,8) se obtiene mediante por la adición de otra alícuota de NaOH (10 M) al medio hasta obtener un valor de pH de 6,8. Al finalizar las 6 horas de ensayo, los comprimidos fueron trasladados del equipo de disolución a vasos más pequeños, que contenían 100 mL de medio de disolución (pH 6,8) con una concentración de 4 mL/L de enzimas pectinolíticas, esta concentración de enzimas simula la acción enzimática producida por *Bacteroides ovatus* presente en el colon humano [Wakerly et al., 1996]; esta última fase del ensayo de disolución en FCS se llevó a cabo en un baño de agua termostatzado ( $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ) con una velocidad de agitación de 42 U/min.

#### *2.1.1.5. Instrumental*

- Aparato de disolución SOTAX<sup>®</sup> AT7 (Basel, Suiza)
- Baño de agua con agitación termostatzado Selecta<sup>®</sup> UNITRONIC320 O (Barcelona, España),
- Balanza de precisión Mettler<sup>®</sup>, modelo AJ 100 (Greifensee, Suiza)
- Espectrofotómetro Shimadzu<sup>®</sup> UV-1700 (Kyoto, Japón)
- Estufa J. Bonals<sup>®</sup> model 15 tipo III (Barcelona, España).
- Filtros Whatman<sup>®</sup> tipo 42 (New Jersey, USA).

- Máquina de compresión excéntrica J. BONALS<sup>®</sup> modelo B tipo 40 (Barcelona, España).
- pH-metro METER GLP22 Crison<sup>®</sup> (Barcelona, España).
- Durómetro Pharma Test-PTB 311 (Hainburg, Alemania).
- Cámara digital, Panasonic<sup>®</sup> Lumix DMC-FZ28 con 10,0 mega píxeles, (Osaka, Japón).

## **2.1.2. Métodos**

### *2.1.2.1. Elaboración de comprimidos matriciales*

Todas las matrices hidrofílicas con diferentes proporciones de pectina/DCP (Tabla 2) se elaboraron de la misma forma. La pectina, el DCP y la teofilina fueron mezclados y posteriormente humectados con una solución etanólica de PVP para obtener una masa, la cual fue forzada a pasar por un tamiz de luz de malla de 0,5 mm, el granulado obtenido fue desecado en estufa a 40 °C durante 12 horas.

Antes de realizar la compresión se añadió 2% (p/p) de MgSt al total de granulado seco, posteriormente se pesaron 600 mg de la mezcla y con la ayuda de una máquina excéntrica, equipada con punzones cóncavos de 13 mm de diámetro, se obtuvieron los comprimidos matriciales. La fuerza de compresión

aplicada fue la máxima aceptada por la formulación y se mantuvo constante durante la preparación de cada lote. Por otra parte, se preparó un lote de control (C) sin polímero, mediante compresión directa, bajo las mismas condiciones descritas anteriormente.

**TABLA 2:** Composición de los diferentes lotes elaborados.

Lote	Componentes (mg)				Mg. St.	Pectina/DCP
	Pectina	DCP	THE	PVP		ratio
<b>P1</b>	440	48	50	50	12	9,17
<b>P2</b>	300	188	50	50	12	1,6
<b>P3</b>	200	288	50	50	12	0,69
<b>P4</b>	100	388	50	50	12	0,26
<b>P5</b>	50	438	50	50	12	0,11
<b>P6</b>	30	458	50	50	12	0,07
<b>C</b>	-	488.0	50	50	12	-

Todos los lotes de comprimidos matriciales elaborados en este capítulo han cumplido con los ensayos de dureza, peso medio, homogeneidad de contenido, diámetro y espesor.

### 2.1.2.2. Estudios de hinchamiento

Con el fin de estudiar la influencia de la composición y el pH del medio acuoso en el comportamiento de hinchamiento de las matrices, cada lote ha sido evaluado en distintos medios: agua desmineralizada, medio de pH progresivo (pH 1,5 → 4 → 6,8), FGS y FIS.

Las pruebas de hinchamiento se llevaron a cabo en un baño de agua con agitación, con una temperatura experimental de  $37 \pm 0,1$  °C y una velocidad de agitación de 42 U/min. Un tiempo antes de comenzar cada ensayo los comprimidos a evaluar fueron fijados a un disco metálico de 20 mm de diámetro con un adhesivo de cianoacrilato (Loctite<sup>®</sup>, Henkel, Austria), con el fin de mantener constante el contacto entre la superficie del comprimido y el medio acuoso, además de mejorar la manipulación de la muestra durante la prueba.

A intervalos específicos de tiempo, los comprimidos fueron extraídos del medio de ensayo, puestos sobre un papel de filtro, para absorber el exceso de líquido de la superficie, y pesados en una balanza de precisión. El porcentaje de hinchamiento (SR%) para cada muestra se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación (1) [Haupt et al., 2006]:

$$SR\% = [(L_s - L_d) / L_d] \times 100 \quad (1)$$

donde  $L_s$  y  $L_d$  corresponden al peso del comprimido hinchado y seco, respectivamente. Todas las pruebas de hinchamiento se realizaron por triplicado.

De forma paralela al ensayo de hinchamiento se tomaron fotografías con una cámara digital, con el fin de observar el aspecto y la evolución de los comprimidos al ponerlos en contacto con los diferentes medios acuosos, los tiempos seleccionados fueron:  $t = 120, 240, 480$  y  $1440$  min.

### *2.1.2.3. Ensayos de disolución*

Todos los ensayos de disolución se realizaron en agua desmineralizada, medio de pH progresivo, FGS, FIS y FCS en un aparato de disolución Sotax® AT-7 equipado con paletas. La velocidad de las paletas, el volumen del medio de disolución y la temperatura experimental fueron de: 50 rpm, 900 mL y  $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ , respectivamente. En los ensayo de disolución se adicionó el medio de FCS con el objetivo de simular el paso de las matrices desde su administración oral hasta su llegada al colon.

Para determinar la cantidad de fármaco cedido, se tomaron muestras del medio a tiempos específicos, las muestras se filtraron por un filtro Wattman y se cuantificaron por espectroscopía UV a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 271 nm,

(cada lote se evaluó por triplicado). No se encontraron cambios en la  $\lambda_{\max}$  de THE debido a la presencia de los excipientes ni al cambiar la naturaleza del medio de disolución.

### 2.1.2.3.1. Análisis de los datos de disolución.

Con el fin de comparar los perfiles de disolución obtenidos a partir de todos los lotes ensayados en los diferentes medios de disolución y para conocer el efecto de la composición de cada lote sobre la velocidad de liberación del fármaco, se utilizaron los índices propuestos por Moore y Flanner [Moore J. & Flanner H, 1996]. Este modelo independiente, utiliza dos índices matemáticos para calcular los factores de diferencia  $f_1$  (Ecuación 2) y similitud  $f_2$  (ecuación 3) entre los perfiles de disolución:

$$f_1 = \frac{\sum_{j=1}^n |R_j - T_j|}{\sum_{j=1}^n R_j} \times 100 \quad (2)$$

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[ 1 + \left( \frac{1}{n} \right) \sum_{j=1}^n w_j |R_j - T_j|^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\} \quad (3)$$

donde  $R_j$  y  $T_j$  son los porcentajes de fármaco disuelto a cada tiempo para la referencia (por ejemplo el perfil obtenido a partir de P1) y el lote a evaluar (por ejemplo el perfil de disolución obtenidos a partir de P2), respectivamente,  $n$  es el número de muestras tomadas durante el ensayo de disolución;  $t$  es el índice de tiempo de muestreo, y  $W_j$  es un factor de peso opcional (en este trabajo es  $W_j = 1$ ).

Para garantizar la igualdad entre dos perfiles de disolución,  $f_1$  debe estar en el intervalo de 0 a 10, y  $f_2$  debe ser mayor a 65 (esto significa que los perfiles son similares con un 95% de confianza) [Shah et al., 1998], por lo que valores de  $f_2$  menores de 65 significan perfiles distintos.

Con el fin de investigar el modelo de liberación del fármaco a partir las matrices elaboradas en este trabajo, los datos de disolución obtenidos a partir de las matrices hidrofílicas, se analizaron de acuerdo a los siguientes modelos matemáticos: orden cero ( $M_t \leq 1, 0$ ) (4) [Costa & Sousa, 2001], de primer orden ( $M_t \leq 1, 0$ ) (5) [Costa & Sousa, 2001], Hixson-Crowell ( $M_t/M_\infty = 1 - W_t/W_0 \leq 1, 0$ ) (6) [Hixson & Crowell, 1931], Hopfenberg ( $M_t/M_\infty \leq 1, 0$ ) (7) [Hopfenberg, 1976; Katzhendler et al., 1997], Higuchi ( $M_t/M_\infty \leq 0, 6$ ) (8) [Higuchi, 1963], y Korsmeyer-Peppas ( $M_t/M_\infty \leq 0, 6$ ) (9) [Korsmeyer et al., 1983] ecuaciones cinéticas:

$$M_t = M_o + Kt \quad (4)$$

$$\ln M_t = \ln M_o + K_1 t \quad (5)$$

$$M_\infty^{1/3} - (M_\infty - M_t)^{1/3} = K_s t \quad (6)$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - [1 - K_{HF} t]^{n_{HF}} \quad (7)$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_H t^{1/2} \quad (8)$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_{KP} t^n \quad (9)$$

Donde:

- $M_t$  es la cantidad de fármaco disuelto a tiempo  $t$ .
- $M_o$  es la cantidad inicial de fármaco en la solución (la mayoría de veces,  $M_o=0$ ).
- $K$  es la constante liberación de orden cero.
- $K_1$  es la constante de liberación de primer orden.
- $M_\infty$  es la cantidad inicial de fármaco en el comprimido.

- $M_{\infty}-M_t$  es la cantidad restante del fármaco en el comprimido a tiempo  $t$ .
- $M_t/M_{\infty}$  es la fracción de fármaco liberado a tiempo  $t$  (la dosis total de fármaco fue considerada como  $M_{\infty}$ ).
- $K_{HF}$  es igual a  $K_0/C_0a_0$ , donde  $K_0$  es igual a la constante de la velocidad de erosión,  $C_0$  equivale a la concentración inicial del fármaco en el comprimido y  $a_0$  representa el radio inicial de la matriz (en nuestro caso será 2).
- $K_H$  es la constante de disolución de Higuchi.
- $K_{KP}$  es la constante de Korsmeyer-Peppas que incorpora características estructurales y geométricas de la forma farmacéutica.
- “ $n$ ” es el exponente de liberación, que caracteriza el mecanismo de liberación del fármaco, y cuyos valores dependen de la forma de la matriz [Peppas, 1985]. Por lo tanto, para el presente trabajo si “ $n$ ” tiene un valor de 0,45 la liberación del fármaco está producida por difusión, si el valor de “ $n$ ” es igual o mayor a 0,89 se produce el caso II de transporte, donde la liberación está controlada por la relajación de las cadenas poliméricas y cuando el valor de “ $n$ ” está entre 0,45 y 0,89 indica que se produce un transporte anómalo (transporte no-Fickiano) que corresponde a la combinación de los procesos de difusión y relajación del polímero.

Para determinar el ajuste de los datos de disolución, obtenidos para cada lote, a los diferentes modelos matemáticos se utilizó la regresión lineal o no regresión lineal siguiendo el método de mínimos cuadrados con la ayuda del software Statgraphics® Plus Versión 5.1. Para seleccionar el mejor ajuste de los datos a un modelo matemático se utilizó el coeficiente de determinación ( $r^2_{adj}$ ) [Costa & Sousa, 2001].

## **2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### *2.2.1. Estudios de hinchamiento*

En la Tabla 3 se recogen los datos de SR% obtenidos a partir de las matrices evaluadas en los diferentes medios, donde cada valor positivo indica que el porcentaje de hinchamiento o aumento de peso es mayor al peso inicial de de la matriz seca ( $t = 0$ ). Por otro lado, cada valor negativo de SR% indica que el peso de la matriz hinchada es menor al peso de la matriz seca ( $t = 0$ ).

**TABLA 3.** Valores de porcentaje de hinchamiento (SR%) obtenidos a partir de las matrices (P1-P6) y C a tiempos: 2, 4, 8 y 24 horas, evaluadas en diferentes medios.

Lote	SR% en agua desmineralizada				SR% en medio de pH progresivo			
	2 h	4 h	8 h	24 h	2 h	4 h	8 h	24 h
P1	173,6 ± 1,8	215,9 ± 0,4	301,6 ± 1,7	579,8 ± 5,5	169,1 ± 3,3	203,8 ± 2,5	286,0 ± 0,2	557,2 ± 9,1
P2	160,4 ± 5,0	193,9 ± 5,9	265,5 ± 3,4	469,6 ± 4,8	157,2 ± 6,9	188,0 ± 4,3	253,1 ± 6,1	473,6 ± 31
P3	144,4 ± 1,7	185,7 ± 8,0	251,7 ± 19	432,1 ± 54	143,8 ± 2,3	168,0 ± 1,6	231,8 ± 18	410,3 ± 59
P4	126,7 ± 1,0	156,3 ± 2,8	197,7 ± 7,0	269,5 ± 2,8	120,0 ± 4,9	146,8 ± 4,6	189,5 ± 5,4	275,9 ± 5,4
P5	108,2 ± 2,0	119,7 ± 4,6	139,4 ± 5,2	131,5 ± 5,0	81,8 ± 4,5	92,3 ± 11	109,1 ± 11,	55,9 ± 19
P6	85,7 ± 5,8	95,8 ± 1,7	45,0 ± 11	33,0 ± 7,6	56,9 ± 6,7	58,3 ± 4,4	-76,4 ± 7,4	-100,0
C	21,0 ± 3,5	27,0 ± 9,6	21,3 ± 3,4	19,2 ± 2,4	-8,6 ± 0,6	-18,5 ± 2,2	-44,7 ± 5,6	-46,9 ± 5,5

Lote	SR% en FGS				SR% en FIS			
	2 h	4 h	8 h	24 h	2 h	4 h	8 h	24 h
P1	172,0 ± 4,0	205,9 ± 2,7	283,3 ± 1,4	463,6 ± 0,9	166,2 ± 4,3	210,1 ± 0,9	297,4 ± 1,5	522,0 ± 4,7
P2	150,2 ± 4,3	185,9 ± 1,6	255,1 ± 5,9	382,1 ± 26	148,7 ± 1,1	191,6 ± 4,6	270,7 ± 16	429,9 ± 65
P3	128,1 ± 1,0	154,8 ± 0,9	206,8 ± 1,9	295,2 ± 8,6	132,7 ± 3,2	176,1 ± 3,5	244,1 ± 12	373,0 ± 41
P4	111,3 ± 2,1	134,9 ± 3,5	160,0 ± 3,7	170,4 ± 1,0	110,0 ± 1,4	135,1 ± 0,6	171,5 ± 1,9	219,8 ± 19
P5	80,6 ± 2,1	86,8 ± 1,6	37,9 ± 64	-100,0	99,2 ± 6,0	109,9 ± 4,8	109,1 ± 6,7	65,8 ± 13
P6	54,0 ± 6,9	12,2 ± 33	-100,0	-100,0	89,7 ± 1,6	91,9 ± 1,6	21,3 ± 12	-100,0
C	-24,4 ± 3,4	-61,8 ± 4,4	-96,8 ± 0,6	-98,1 ± 1,8	15,0 ± 1,2	17,3 ± 1,4	12,1 ± 4,5	-4,5 ± 13

A partir de los resultados obtenidos en los diferentes medios se puede observar que existe una relación directa entre la cantidad de pectina en las matrices y su porcentaje de hinchamiento. Así, a mayor cantidad de pectina los valores de SR% también son más elevados. El análisis de varianza (ANOVA) pone de manifiesto que existe una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre los datos de SR% obtenido a partir de P1, P2, P3, P4, P5 y P6, lo que indica que todos los lotes son diferentes entre sí.

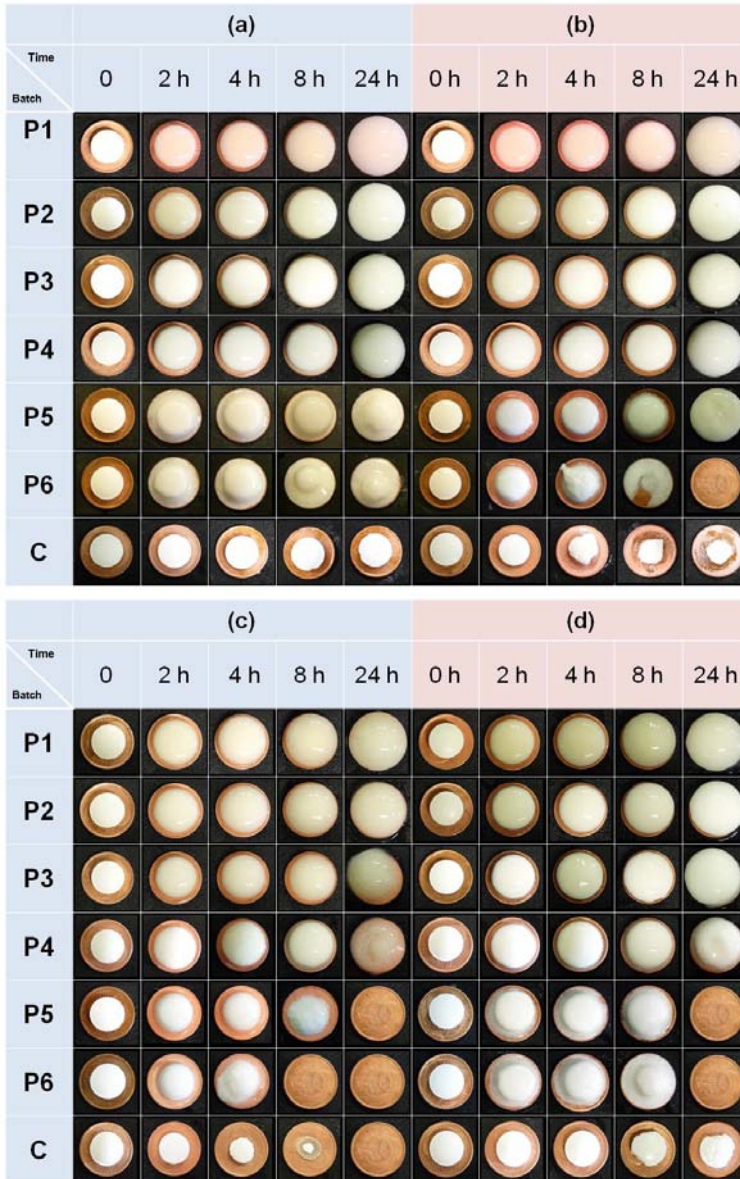
Por otro lado, no se pudieron observar diferencias estadísticamente significativas en los valores de SR% a partir de las matrices P1, P2, P3 y P4, durante las primeras 8 h de ensayo al cambiar la naturaleza del medio, lo que sugiere que el comportamiento de hinchamiento de estas matrices es independiente de la composición del medio. Por el contrario, cuando el medio utilizado es agua desmineralizada (a) o FIS (d), los lotes P5 y P6 mostraron un ligero porcentaje de hinchamiento, mostrando valores positivos de SR% durante las primeras 8 h de ensayo. Sin embargo, cuando el medio utilizado es ácido (medio de pH progresivo o FGS) las matrices aumentan ligeramente de peso durante las primeras horas de ensayo, para posteriormente sufrir una pérdida de peso ocasionada por la desintegración de estas matrices, esta observación es más evidente en las matrices P6 (mostrando valores negativos a partir de las 6 h de ensayo con una desintegración total a las 8 horas del ensayo).

Los resultados obtenidos sugieren que el estado ionizado (pH-dependiente) de los grupos carboxílicos de pectina, observado por Sriamornsak y Kennedy [Sriamornsak & Kennedy, 2006], no tiene un efecto significativo sobre el comportamiento de hinchamiento de las matrices elaboradas con alta proporción de pectina, como son P1, P2, P3 y P4. Sin embargo, las matrices P5 y P6 expuestas a medios con pH ácidos muestran una clara erosión de la matriz, la cual puede estar producida por la combinación de la no-ionización de los grupos carboxílicos de pectina y la solubilidad pH-dependiente del DCP; así,

cuando el pH del medio es mayor (cercano al pH neutro) estas matrices muestran un ligero hinchamiento, producto de la ionización de los grupos carboxílicos de la pectina.

Los datos de SR% obtenidos a partir del lote C, evaluados en todos los diferentes medios, muestran un comportamiento pH-dependiente. Obteniendo valores positivos (constantes y similares) cuando el medio de ensayo es agua desmineralizada o FIS; y valores negativos, que indican un proceso de erosión constante, cuando el medio es FGS o medio de pH progresivo.

Las observaciones visuales recogidas en la Figura 5 confirman los resultados de hinchamiento obtenidos a partir de los diferentes lotes. Las matrices P1, P2, P3 y P4 evaluadas en agua desmineralizada (a), medio de pH progresivo (b), FGS (c) y FIS (d) muestran un aumento de peso de la matriz desde el comienzo al final de la prueba, en las imágenes es posible apreciar la formación de una capa de gel en la superficie de la matrices desde el momento en que éstas entran en contacto con el medio acuoso.

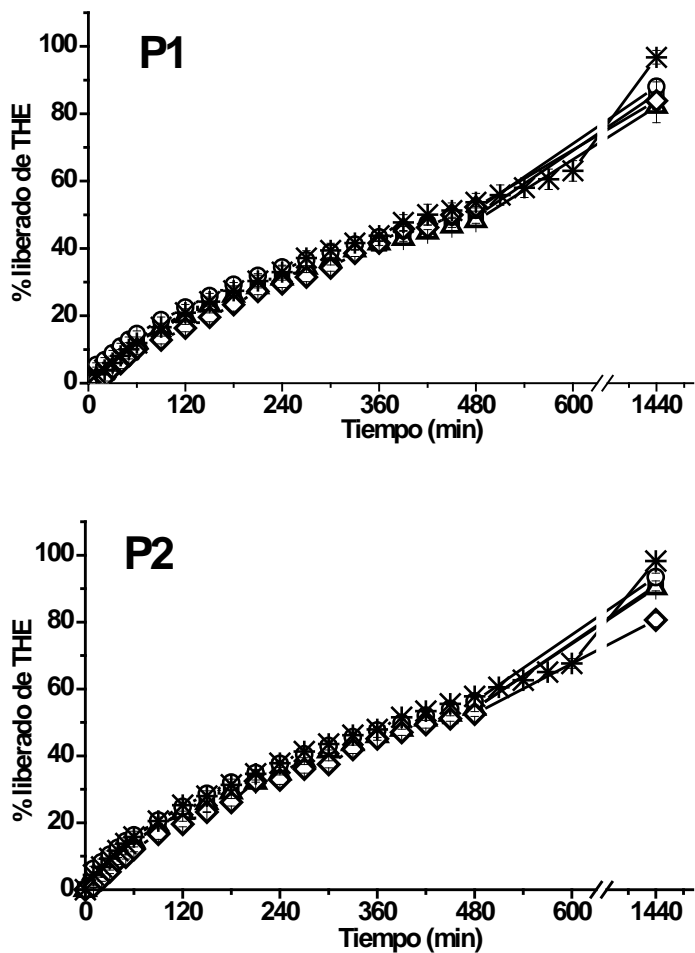


**FIGURA 5.** Evolución visual de las matrices de pectina/DCP (P1-P6) y C en diferentes medios: agua desmineralizada (a), medio de pH progresivo (b), FGS (c) y FIS (d) a tiempos de 2, 4, 8 y 24 h.

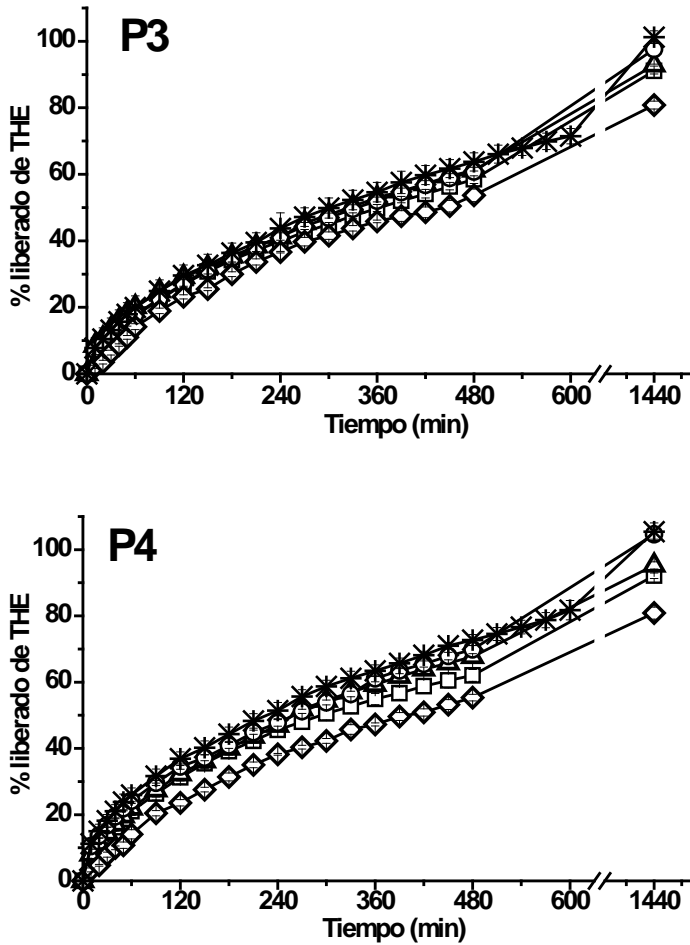
Así mismo, se observa una erosión rápida de las matrices P5 y P6 cuando el medio de ensayo es ácido (b y c); sin embargo estas matrices permanecen casi intactas o ligeramente erosionadas cuando el medio acuoso tiene mayor pH (a y d). El comportamiento pH-dependiente observado en estas matrices puede deberse a la solubilidad pH-dependiente del DCP.

### *2.2.2. Ensayos de disolución*

Las Figuras 6 y 7 recogen los perfiles de liberación de THE a partir de las matrices P1, P2, P3 y P4 evaluadas en agua desmineralizada, medio de pH progresivo, FGS, FIS y FCS. En todos los casos es posible apreciar una liberación sostenida e incompleta del fármaco durante las 8 primeras horas del ensayo. Así mismo, se observa claramente que la naturaleza del medio no afecta los perfiles de disolución de THE a partir de P1, P2 y P3. Sin embargo, en el caso de P4 se observa una ligera diferencia ocasionada por la naturaleza del medio de disolución. Estos resultados sugieren que la liberación de fármaco pH-independiente que se observa a partir de las matrices con proporciones de pectina/DCP superiores a 0,69 (P1, P2 y P3) se debe a que en estas matrices predomina la capacidad formadora de gel de la pectina sobre las características de solubilidad pH-dependientes del DCP.



**FIGURA 6.** Perfiles de disolución de THE a partir de P1 y P2 evaluados en agua desmineralizada (□), medio de pH progresivo (D), FGS (○), FIS (◇) y FCS (x).



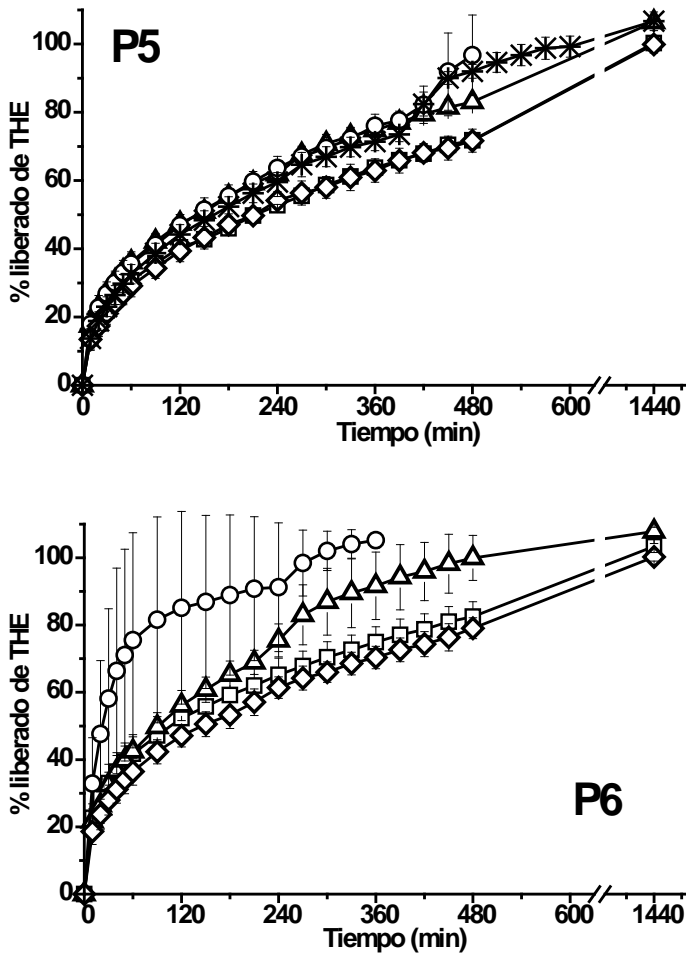
**FIGURA 7.** Perfiles de disolución de THE a partir de P3 y P4 evaluados en agua desmineralizada (□), medio de pH progresivo (D), FGS (○), FIS (◇) y FCS (x).

En la Figura 8 se recogen los perfiles de disolución obtenidos a partir de las matrices P5 y P6 ensayadas en los diferentes medios. P5 muestra un perfil

de liberación de THE similar en agua desmineralizada y FIS, con un 70% de fármaco liberado a las 8 horas del ensayo. Sin embargo, cuando el medio de disolución es ácido como el FGS, o con una fase ácida, como en el caso del medio de pH progresivo, se observa un ligero incremento en la cantidad de fármaco liberado, dando entre 80 y 90% de THE liberada en 8 horas. Cuando las matrices se exponen al FCS se observa un incremento más evidente en la velocidad de cesión, liberando el total de la dosis en 8 horas. Los resultados sugieren que los comprimidos del lote P5, con proporciones de pectina/DCP= 0,11, son capaces de formar una débil capa de gel en la superficie de la matriz, la cual erosiona con el tiempo. Este produce un aumento en la velocidad de liberación del fármaco con respecto a las matrices que contienen mayores cantidades de pectina.

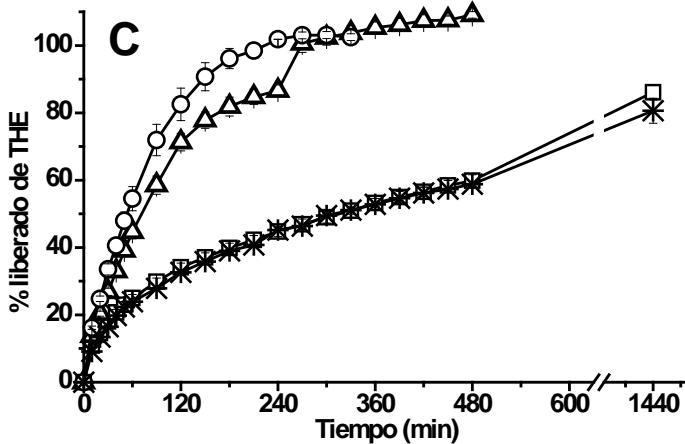
Los datos de disolución obtenidos a partir de los comprimidos del lote P6 (con una proporción de pectina/DCP de 0,06), muestran que en agua desmineralizada y SIF la liberación del fármaco es sostenida y constante, dando 80% THE liberada en las 8 primeras horas del ensayo. Por el contrario, cuando el medio de disolución es medio de pH progresivo o SCF, la liberación del fármaco es más rápida y casi completa en 6 horas. Cuando el medio de disolución es FGS se observan datos individuales de disolución de THE heterogéneos, que se reflejan en unos valores altos de desviación estándar entre

las matrices de este lote. Esto se atribuye a la desintegración irregular d las matrices, consecuencia de la solubilidad ácida del DCP.



**FIGURA 8.** Perfiles de disolución de THE a partir de P5 y P6 evaluados en agua desmineralizada (□), medio de pH progresivo (D), FGS (○), FIS (◇) y FCS (×).

La Figura 9 recoge los perfiles de liberación de THE a partir del lote C. Cuando el medio de disolución es agua desmineralizada o FIS, se observa una cesión controlada e incompleta durante las 8 primeras horas de ensayo, debido a que en estos medios el DCP no se solubiliza y permite mantener la integridad de la matriz. Como era de esperar, cuando el medio de disolución es ácido, la liberación de THE se produce a través de un proceso de erosión, que en este caso es homogénea dada la composición (sin pectina) de la matriz. Todos los datos de disolución están en concordancia con los datos del ensayo de hinchamiento y la evaluación visual que se muestra en la Figura 5.



**FIGURA 9.** Disolución de THE a partir del lote C ensayado en: agua desmineralizada (□), medio de pH progresivo (D), FGS (○), FIS (◊) y FCS (x).

### *2.2.2.1. Análisis de los datos de disolución*

Los datos de disolución obtenidos a partir de P1, P2, P3 y P4 fueron analizados con el modelo independiente de los factores de similitud ( $f_2$ ) y diferencia ( $f_1$ ) con el objetivo de determinar la influencia que tiene la cantidad de pectina en el comportamiento de liberación de THE en los diferentes medios. De acuerdo a los datos obtenidos del análisis de similitud o diferencia (Tabla 4), los perfiles de disolución de THE a partir de P1 y P2, evaluados en los 5 medios, son considerados similares ( $f_1 < 15$  y  $f_2 > 65$ ). Así mismo, el perfil de disolución de THE a partir de P1 es diferente (95% de confianza) al perfil obtenido a partir de las matrices P3 y P4 ( $f_1 > 15$  y  $f_2 < 65$ ); y el perfil obtenido a partir de P2 es similar al obtenido a partir de P3 ( $f_1 < 15$  y  $f_2 > 65$ ), excepto cuando estas matrices se evalúan en un medio de pH progresivo.

Además, se encontraron diferencias entre los perfiles de THE liberada a partir de P2 y P4, sin embargo P3 y P4 resultaron ser similares. No se consideró necesario realizar los análisis de similitud y diferencia para los datos de disolución obtenidos a partir de las matrices P5 y P6, por las evidentes diferencias encontradas previamente, las cuales muestran una gran influencia del pH del medio en la velocidad de liberación de THE a partir de estas matrices.

**TABLA 4.** Factores de similitud ( $f_2$ ) y diferencia ( $f_1$ ) para los perfiles de liberación en diferentes medios: agua desmineralizada (a), medio de pH progresivo (b), FGS (c), FIS (d) y FCS (e).

R.	P.	(a)		(b)		(c)		(d)		(e)	
		$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$
P1	P2	<b>12,4</b>	<b>69,9</b>	<b>13,3</b>	<b>68,3</b>	<b>9,7</b>	<b>72,7</b>	<b>11,6</b>	<b>68,9</b>	<b>10,8</b>	<b>69,4</b>
P1	P3	22,0	58,1	33,3	50,1	19,2	58,5	15,0	65,5	24,7	52,2
P1	P4	35,5	47,9	47,2	42,0	40,9	43,4	19,6	61,1	50,1	38,6
P2	P3	<b>8,7</b>	<b>74,4</b>	17,7	61,6	<b>8,7</b>	<b>73,0</b>	<b>7,5</b>	<b>74,4</b>	<b>12,5</b>	<b>64,3</b>
P2	P4	20,6	56,7	29,9	48,9	28,3	49,4	11,3	69,8	34,0	44,4
P3	P4	<b>11,1</b>	<b>68,1</b>	<b>10,6</b>	<b>65,9</b>	18,1	57,6	<b>4,1</b>	<b>87,2</b>	18,0	55,3

(R) es el perfil de disolución considerado referencia y (T) el perfil considerado el problema.  $f_2 > 65$  sugiere que los perfiles de disolución comparados son similares (95% de confianza).  $f_1$  cercano a cero significa que el perfil de referencia y el problema son idénticos.

Por último, para comprender el mecanismo de liberación de THE a partir de las matrices formuladas en este capítulo, los datos de disolución fueron ajustados a los siguientes modelos matemáticos: orden cero, primer orden, Hixson-Crowell, Hopfenberg, Higuchi y Korsmeyer-Peppas.

En las Tablas 5 y 6, se recogen sólo los parámetros de las cinéticas que se han obtenido de los mejores resultados del ajuste de los datos de disolución. En general todos los datos de disolución obtenidos a partir de las formulaciones elaboradas se ajustan a las ecuaciones de Higuchi y Korsmeyer-Peppas.

**TABLA 5.** Ajustes a modelos cinéticos obtenidos a partir de los datos de disolución de las matrices P1-P6 y C ensayadas en agua desmineralizada y medio de pH progresivo.

Lote	Agua desmineralizada								
	Hixson-Crowell		Hopfenberg		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	$K_o$	$r^2_{adj}$	$K_s$	$r^2_{adj}$	$K_H$	$r^2_{adj}$	$n$	$K_{KP}$	$r^2_{adj}$
P1	0,0015	0,9907	-0,1950	0,9873	0,0254	<b>0,9981</b>	0,7058	0,0066	0,9979
P2	0,0017	0,9896	-0,1950	0,9864	0,0273	<b>0,9971</b>	0,6286	0,0114	0,9941
P3	0,0018	0,9861	-0,2275	0,9826	0,0288	<b>0,9996</b>	0,6180	0,0133	0,9977
P4	0,0019	0,9768	-0,2275	0,9707	0,0307	<b>0,9985</b>	0,5858	0,0181	0,9957
P5	0,0022	0,9864	-0,2600	0,9806	0,0308	0,9961	0,4221	0,0527	<b>0,9981</b>
P6	0,0026	0,9821	-0,2925	0,9743	0,0341	0,9922	0,3319	0,1063	<b>0,9994</b>
C	0,0017	0,9725	-0,195	0,9666	0,0257	0,9972	0,437	0,04084	<b>0,9989</b>
Medio de pH progresivo									
P1	0,0015	0,9902	-0,1950	0,9876	0,0249	<b>0,9972</b>	0,6999	0,0067	0,9966
P2	0,0017	0,9943	-0,1950	0,9919	0,0272	0,9965	0,6345	0,0109	<b>0,9994</b>
P3	0,0019	0,9925	-0,2275	0,9892	0,0287	<b>0,9982</b>	0,5295	0,0231	0,9979
P4	0,0022	0,9903	-0,2600	0,9857	0,0331	0,9987	0,5673	0,0212	<b>0,9995</b>
P5	0,0029	0,9902	-0,3250	0,9833	0,0363	0,9972	0,4007	0,0693	<b>0,9994</b>
P6	0,0056	0,9664	-0,5525	0,9930	0,0437	<b>0,9970</b>	0,3920	0,0854	0,9970
C	0,0129	0,9239	-0,845	0,9616	0,0718	0,9918	0,667	0,02861	<b>0,9969</b>

Constante de Hixson-Crowell ( $K_o$ ), constante de Hopfenberg ( $K_s$ ), constante de Higuchi ( $K_H$ ), contante de Korsmeyer-Peppas ( $K_{KP}$ ), exponente de liberación “n”; coeficiente de determinación del ajuste  $r^2_{adj}$ .

La liberación de THE a partir de las matrices P1, P2, P3 y P4, evaluadas en los diferentes medios, se ajustan al modelo propuesto por Higuchi, lo que sugiere que la liberación se produce por un mecanismo de difusión, así mismo se observa que el valor de la constante de Higuchi ( $K_H$ ) aumenta a medida que disminuye la cantidad de pectina en la formulación, lo que justifica la mayor velocidad de liberación de THE observada cuando el DCP sustituye la pectina. Los valores de “n” obtenidos a partir de la ecuación de Korsmeyer-Peppas

aplicadas a estas matrices revelan un mecanismo de liberación controlado principalmente por difusión.

Los cambios más importantes en las constantes cinéticas se observan en los datos obtenidos a partir de las matrices P5, P6 y C, donde los valores de  $K_H$  y  $K_{KP}$  (modelos de Higuchi y Korsmeyer-Peppas, respectivamente), son mayores a los obtenidos a partir de P1-P4, sin embargo éstos se ven condicionados por el pH del medio de disolución, así el valor de  $K_H$  obtenido a partir de los datos de disolución de P6 ensayado en medio de pH progresivo es de 0,0437, y es de 0,0335 cuando el medio es FIS, estos cambios en el valor de la constante están en concordancia con el comportamiento de liberación observado en la Figura 8.

Como era de esperar, los datos de disolución del lote C evaluado en agua desmineralizada y FIS se ajustaron mejor a la ecuación de Korsmeyer-Peppas, dando valores de “n” de 0,44 y 0,47, respectivamente, estos resultados confirman que la liberación de THE a partir de las matrices C se realiza por un proceso de difusión. Sin embargo, cuando el medio de disolución es ácido (FGS o medio de pH progresivo), los datos de disolución del lote C se ajustan mejor a los modelos propuestos por Hixson-Crowell y Hopfenberg, lo que sugiere que la etapa limitante de la liberación del fármaco es la erosión de la matriz y que el

tiempo de difusión no se encuentra influenciado por la resistencia interna o externa a la erosión que presenta la matriz.

**TABLA 6.** Ajustes a modelos cinéticos obtenidos a partir de los datos de disolución de las matrices P1-P6 y C ensayadas en: FGS, FIS y FCS.

LOTE	FGS								
	Hixson-Crowell		Hopfenberg		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	$K_D$	$r^2_{adj}$	$K_s$	$r^2_{adj}$	$K_H$	$r^2_{adj}$	$n$	$K_{KP}$	$r^2_{adj}$
P1	0,0015	0,9898	-0,1950	0,9868	0,0253	<b>0,9985</b>	0,6121	0,0118	0,9972
P2	0,0017	0,9916	-0,1950	0,9884	0,0274	<b>0,9986</b>	0,5939	0,0144	0,9984
P3	0,0019	0,9927	-0,2275	0,9893	0,0298	<b>0,9982</b>	0,5873	0,0163	0,9972
P4	0,0022	0,9945	-0,2600	0,9913	0,0309	<b>0,9993</b>	0,4926	0,0321	0,9988
P5	0,0037	0,9331	-0,3900	0,9611	0,0367	<b>0,9995</b>	0,4013	0,0691	0,9989
P6	0,0067	0,8973	-0,6500	0,8724	*	*	*	*	*
C	0,0129	<b>0,9997</b>	-1,3325	0,9929	*	*	*	*	*
	FIS								
P1	0,0017	<b>0,9973</b>	-0,1950	0,9971	0,0279	0,9852	0,9639	0,0015	0,9819
P2	0,0017	0,9914	-0,1950	0,9888	0,0285	<b>0,9958</b>	0,9364	0,0020	0,9608
P3	0,0017	0,9782	-0,1950	0,9737	0,0283	<b>0,9973</b>	0,8154	0,0040	0,9803
P4	0,0017	0,9829	-0,2275	0,9786	0,0290	<b>0,9978</b>	0,7418	0,0062	0,9910
P5	0,0022	0,9842	-0,2600	0,9780	0,0316	<b>0,9984</b>	0,4392	0,0478	<b>0,9995</b>
P6	0,0025	0,9830	-0,1625	0,8585	0,0335	<b>0,9953</b>	0,3714	0,0789	<b>0,9992</b>
C	0,0017	0,9697	-0,1950	0,9638	0,0264	<b>0,9962</b>	0,4701	0,0335	<b>0,9966</b>
	FCS								
P1	0,0015	0,9955	-0,1950	0,9930	0,0276	<b>0,9958</b>	0,7823	0,0042	<b>0,9952</b>
P2	0,0018	0,9954	-0,2275	0,9926	0,0292	<b>0,9983</b>	0,6613	0,0067	<b>0,9983</b>
P3	0,0019	0,9940	-0,2275	0,9896	0,0306	<b>0,9982</b>	0,5603	0,0201	<b>0,9989</b>
P4	0,0023	0,9940	-0,2600	0,9888	0,0334	<b>0,9991</b>	0,4919	0,0348	<b>0,9990</b>
P5	0,0042	0,9479	-0,4225	0,9471	0,0404	<b>0,9901</b>	0,4833	0,0440	<b>0,9955</b>
P6	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Constante de Hixson-Crowell ( $K_D$ ), constante de Hopfenberg ( $K_s$ ), constante de Higuchi ( $K_H$ ), constante de Korsmeyer-Peppas ( $K_{KP}$ ), exponente de liberación “n”; coeficiente de determinación del ajuste  $r^2_{adj}$ .

\*los datos de disolución son insuficientes para realizar el ajuste de cinética.

Los datos de disolución a partir de las matrices P1, P2, P3, P4, P5 y P6 evaluadas en FCS se ajustaron mejor al modelo de Higuchi y Korsmeyer-Peppas, con valores de “ $n$ ” de 0,7823, 0,6613, 0,5603, 0,4919 y 0,4833 para P1, P2, P3, P4 y P5, respectivamente. Los valores de “ $n$ ” obtenidos a partir de los datos de disolución de P1 y P2 indican un mecanismo de liberación es anómalo, estos datos muestran un buen ajuste a los modelos propuestos por Hopfenberg e Higuchi. En el caso de P3, P4 y P5, los valores de “ $n$ ” señalan un mecanismo de liberación de THE anómalo o puramente Fickiano (difusión), respectivamente; las constantes de Higuchi observadas para estas matrices son ligeramente elevadas en comparación a las constantes obtenidas cuando el medio es de pH progresivo.

A la luz de estos resultados se puede sugerir que la presencia de pectinasa en el medio de disolución no es suficiente para producir un cambio dramático en el mecanismo de liberación de THE a partir de las matrices formuladas, pero si un ligero incremento en la velocidad de liberación, probablemente porque el mecanismo fundamental que controla la liberación del THE a partir de estas matrices es la difusión.

Los resultados obtenidos del análisis de los perfiles de liberación, así como los ajustes a modelos matemáticos indican la existencia de un punto crítico situado entre las proporciones de 0,26 y 0,11 (pectina/DCP). Esto sugiere

que cuando la proporción pectina/DCP es  $\geq 0,26$  (P1, P2, P3 y P4), el mecanismo de liberación del fármaco está controlado principalmente por la difusión de THE a través de la capa de gel formada en la superficie de la matriz; y cuando la proporción pectina/DCP es  $\leq 0,11$  (P5 y P6) el mecanismo de liberación del fármaco está influenciado por la naturaleza a medio.

Las constantes cinéticas obtenidas del modelo matemático, que mejor se ajusta a los datos de disolución reales, se han utilizado para predecir el tiempo teórico necesario para obtener la liberación total de THE a partir de las diferentes formulaciones (Tabla 7). A la vista de los resultados los lotes P1, P2 y P3 formulados en este capítulo resultarían útiles cuando es necesario obtener una liberación lenta y sostenida del fármaco por encima de 24 horas. Las matrices del lote P4 pueden ser utilizadas para obtener una liberación sostenida de fármacos hidrosolubles a nivel gástrico o a lo largo del TGI, siempre que sea necesario una liberación sostenida del fármaco en 24 horas, ya que los ensayos *in vitro* muestran que en 24 horas las matrices se desintegran parcialmente, dejando residuos blandos que pueden ser fácilmente degradados en el tracto gastrointestinal. Así mismo, los resultados obtenidos para P5 y P6 sugieren que estas formulaciones son las más versátiles y útiles para obtener una liberación total y controlada de fármacos hidrosolubles a través del digestivo o a nivel gástrico, los resultados *in vitro* muestran que la liberación total de la dosis se produce en un tiempo de 13 y 10,5 horas, respectivamente; por último estas

matrices resultaría útiles para liberar el fármaco a nivel entérico si se aplica un recubrimiento capaz de impedir la liberación de THE en el estómago, dado que los resultados teóricos calculados para el FIS muestran una liberación total de la dosis en 15,5 y 12,2 horas, respectivamente. Los valores teóricos obtenidos para P2, P3, P4 y P5 en FCS muestran que para obtener la liberación del total de la dosis son necesarios tiempos más cortos que los observados cuando el medio de disolución es otro, debido probablemente a la presencia de las enzimas que degradan la pectina.

**TABLA 7.** *Tiempo teórico necesario para liberar el total de la dosis de THE a partir de las matrices P1-P6 y C, evaluadas en: agua desmineralizada (a), medio de pH progresivo (b), FGS (c), FIS (d) y FCS (e).*

Lote	Tiempo teórico para liberar el 100% de THE				
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
P1	29,4 h	30,6 h	28,5 h	35,9 h	26,3 h
P2	25,0 h	25,3 h	24,3 h	24,9 h	22,2 h
P3	22,0 h	21,1 h	20,6 h	23,0 h	19,1 h
P4	18,8 h	16,3 h	17,4 h	22,0 h	15,0 h
P5	17,9 h	13,0 h	10,8 h	15,5 h	10,6 h
P6	10,5 h	7,3 h	*	12,2 h	*
C	25,1 h	*	*	22,9 h	*

\*la liberación total de la dosis se produce antes de finalizar las 8 horas de ensayo.

## **2.3. CONCLUSIONES**

El comportamiento de liberación del fármaco a partir de las matrices elaboradas en éste capítulo se ve claramente influenciado por la proporción de pectina/DCP, observándose mayor velocidad de liberación de THE cuando la cantidad de pectina disminuye. Así mismo, se encontró que el comportamiento de las matrices con proporciones de pectina/DCP  $\geq$  a 0,26 está principalmente controlado por la propiedad formadora de geles de la pectina, sin embargo cuando la proporción pectina/DCP es  $\leq$  a 0,11, la naturaleza del DCP es la que determina el comportamiento de la matriz. En consecuencia una adecuada elección de la proporción pectina/DCP permitiría obtener una formulación matricial capaz de liberar un fármaco hidrosoluble de manera controlada en una zona específica del tracto gastrointestinal.



*CAPÍTULO III:*

---

*MÁTRICES HÍDROFILICAS DE  
HÍDROXIPROPILMETILCELULOSA  
/FOSFATO DICÁCICO PARA LA  
ADMINISTRACIÓN ORAL DE  
FÁRMACOS HÍDROSOLUBLES*



Como se ha descrito en el capítulo I de esta Tesis Doctoral la HPMC se ha utilizado ampliamente en formulaciones de comprimidos matriciales para la liberación controlada de fármacos por sus buenas características de gelificación [Lee et al., 1999; Sako et al., 2002; Ebube & Jones, 2004]. En ocasiones cuando la liberación de algunos fármacos incluidos en matrices de HPMC era excesivamente lenta, se han incluido otros excipientes capaces de modular la potente barrera del gel que forma este derivado celulósico. Así, se ha estudiado sustituir parcialmente la HPMC en comprimidos matriciales por lactosa, celulosa microcristalina, sucrosa, dextrosa, fosfato dicálcico con resultados dispares [Vargas & Ghaly, 1999; Williams, et al., 2002; Jamzad et al., 2005]. Por otro lado las condiciones del tracto digestivo, pH, composición y volumen del medio acuoso, peristaltismo [Abrahamsson et al., 1998], pueden condicionar la liberación del fármaco desde los comprimidos matriciales. Así, Viridén y colaboradores han demostrado que las matrices de HPMC se hidrolizan por acción selectiva de endoglucanasas producidas por *Trichoderma reesei* [Viridén et al., 2010], lo que sugiere que el estudio de la actividad enzimática sobre las formulaciones de HPMC podría ser crucial para conocer los efectos de las condiciones fisiológicas en el comportamiento de las matrices.

Con estas consideraciones, el objetivo del presente capítulo es conocer el comportamiento de comprimidos matriciales de HPMC/DCP en las diferentes

condiciones del tracto digestivo a través de los estudios de hinchamiento y liberación de un fármaco hidrosoluble como la teofilina.

## **3.1. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1.1. Materiales**

En este apartado sólo se indican las materias primas, porque las soluciones, reactivos, enzimas e instrumental utilizados en este capítulo fueron los mismos que se describen en la *sección 2.2* del capítulo II.

#### *3.1.1.1. Materias primas*

- Teofilina anhidra (THE) (Sigma-Aldrich, EE.UU.).
- Hidroxipropilmetilcelulosa-Methocel K15M CR Premiun (HPMC) (Colorcon Ltd, Inglaterra).
- Fosfato dicálcico (DCP) (Mendell, Alemania).
- Estearato de magnesio PRS-CODEX (MgSt) (Panreac, España).
- Polivinilpirrolidona Kollidon<sup>®</sup> 30 (PVP K30) (BASF, Alemania).

### 3.1.2. Métodos

#### 3.1.2.1. Elaboración de comprimidos matriciales

Los diferentes lotes de comprimidos matriciales se prepararon siguiendo el mismo proceso (compresión por vía húmeda) descrito en la *sección 2.2.1* del capítulo II, los componentes y cantidades utilizados para cada lote se ven reflejados en la Tabla 8. Al igual que en el capítulo anterior todos los comprimidos matriciales se elaboraron con un peso teórico de 600 mg, utilizando una máquina de comprimir excéntrica, con punzones cóncavos de 13 mm de diámetro. La fuerza de compresión aplicada fue la máxima aceptada para cada formulación. También se elaboró un lote control “C” sin polímero y todos los lotes obtenidos mostraron ser homogéneos en cuanto a peso, contenido y forma.

**TABLA 8:** Composición de los diferentes lotes elaborados.

Lote	Componentes (mg)				Mg. St.	HPMC/DCP
	HPMC	DCP	THE	PVP		ratio
<b>H1</b>	440	48	50	50	12	9,17
<b>H2</b>	300	188	50	50	12	1,6
<b>H3</b>	200	288	50	50	12	0,69
<b>H4</b>	100	388	50	50	12	0,26
<b>H5</b>	50	438	50	50	12	0,11
<b>H6</b>	30	458	50	50	12	0,07
<b>C</b>	-	488.0	50	50	12	-

### 3.1.2.2. Estudios de hinchamiento

Los estudios de hinchamiento de las matrices con diferentes proporciones de HPMC/DCP se realizaron en los mismos medios descritos en la *sección 2.2.2* del capítulo II (agua desmineralizada, medio de pH progresivo, FGS y FIS); con el objetivo de mantener las mismas condiciones de evaluación *in vitro* para todas las matrices elaboradas en este trabajo. El ensayo de hinchamiento se realizó en un baño de agua con agitación termostatazido, con una temperatura experimental de  $37 \pm 0,1$  °C y una velocidad de agitación de 42 U/min. Las matrices de HPMC/DCP también fueron fijadas a un disco metálico, con el fin de mejorar la manipulación de las muestras.

Los tiempos de extracción de la muestra para determinar el porcentaje de hinchamiento, así como la ecuación utilizada para ello, fueron los mismos que se emplearon en el capítulo II *sección 2.2.2*. Todas las pruebas de hinchamiento se realizaron por triplicado.

La evolución visual de los comprimidos fue registrada con una cámara digital como se describió en la *sección de métodos* del capítulo II, los tiempos de elegidos fueron:  $t = 120, 240, 480$  y  $1440$  min.

### *3.1.2.3 Ensayos de flotabilidad*

Todos los comprimidos matriciales elaborados en este capítulo, fueron evaluados visualmente con el fin de determinar su capacidad de flotación. Estos ensayos se realizaron en un aparato de disolución Sotax<sup>®</sup> AT-7, método de las paletas, con una velocidad de rotación de 50 rpm y 900 mL de medio a  $37\pm 0,1$  °C. Los medios utilizados en esta prueba fueron los mismos que se emplearon en el estudio de hinchamiento.

Se comprobó visualmente cada hora la posición del comprimido matricial, durante un total de 8 horas. Las pruebas se realizaron por triplicado para cada lote y cada medio.

### *3.1.2.4. Ensayos de disolución*

Todos los ensayos de disolución se realizaron en un equipo de disolución Sotax<sup>®</sup> AT-7 equipado con paletas, bajo las mismas condiciones y medios de disolución utilizados en el anterior capítulo.

- Agua desmineralizada
- Medio de pH progresivo (pH 1,5, 2 horas → pH 4 2 horas → pH 6.8 20 horas).
- FGS

- FIS
- FCS (pH 1,5, 2 horas → pH 4 2 horas → pH 6.8 2 horas → pH 6.8 con enzimas pectinolíticas 18 h)

Las muestras tomadas fueron filtradas y la cantidad de fármaco disuelto se determinó por espectroscopia UV a una longitud de onda de 271 nm con un espectrofotómetro Shimadzu® UV-1700. Todas las pruebas se realizaron por triplicado. No se encontraron cambios en la  $\lambda$  max de THE por la presencia de los excipientes.

#### *3.1.2.4.1. Análisis de los datos de disolución.*

Para comparar los perfiles de disolución obtenidos a partir de cada lote elaborado en este capítulo y con el fin de determinar la influencia del medio de disolución y la proporción de HPMC/DCP de cada lote sobre el perfil de disolución del fármaco, se calcularon los índices matemáticos propuestos por Moore y Flanner [*More & Flanner, 1996*], como se describe en la *sección 2.2.3.1* del capítulo II.

Los datos de disolución obtenidos a partir de los diferentes lotes fueron analizados con el fin de determinar el modelo de liberación que se ajusta a cada perfil, como se describe el capítulo II.

## **3.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### *3.2.1. Estudios de hinchamiento*

Los porcentajes de hinchamiento (SR%) obtenidos a partir de las formulaciones H1-H6 y C evaluadas en los diferentes medios se ven reflejados en la Tabla 9. Los valores positivos de SR% indican que el peso de la matriz hinchada es mayor al peso de la matriz seca ( $t=0$ ); y los valores negativos de SR% indican que el peso de la matriz hinchada es menor al peso del sistema seco.

Los resultados de SR% obtenidos a partir de todas las matrices estudiadas en los diferentes medios de ensayo ponen de manifiesto la existencia de una relación directa entre el valor de SR% y la cantidad de HPMC en la formulación. El primer hecho a constatar es un aumento en el valor de SR% al aumentar el porcentaje de HPMC en la matriz. Además, el comportamiento de hinchamiento/erosión viene condicionado no solo por la proporción de HPMC en la matriz sino también por la naturaleza del medio. De acuerdo a los datos reflejados en la Tabla 9, las matrices H1 y H2 muestran un aumento constante del peso de la matriz durante todo el experimento (24 h), independientemente de la naturaleza del medio acuoso utilizado. Lo que indica que en los comprimidos matriciales con proporciones de  $\text{HPMC/DCP} \geq 1,6$ , predomina el poder gelificante pH independiente del HPMC. La matriz H3 presenta valores de SR%

parecidos en agua desmineralizada, medio de pH progresivo y FIS, aunque menores que los observados a partir de H1 y H2, por el contrario en FGS los valores de SR% aumentan de forma contante durante las primeras 8 horas de ensayo, seguidos de una lenta erosión (valores menores de SR%).

Las matrices H4 presentan valores similares de hinchamiento en agua desmineralizada, medio de pH progresivo, FGS y FIS. Sin embargo, los datos obtenidos en FGS a las 24 h de ensayo fueron menores que los obtenidos en el resto de los medios acuosos, mostrando valores negativos inclusive. El comportamiento de hinchamiento obtenido a partir de las matrices H5 y H6 fue similar en agua desmineralizada, medio de pH progresivo y FIS, sin embargo cuando se utilizó FGS como medio de ensayo se observó una desintegración parcial (H5) o total (H6) de las matrices a las 8 horas del ensayo.

Estos últimos resultados podrían explicarse teniendo en cuenta que en las matrices con proporciones de HPMC/DCP inferiores a 0,69 la acción disgregante de DCP prevalece sobre la propiedad formadora de geles del HPMC, produciendo una capa de gel débil incapaz de evitar la desintegración del comprimido. Por otro lado, como era de esperar los datos de SR% obtenidos a partir del lote C mostraron un comportamiento pH-dependiente, debido a la solubilidad pH dependiente del DCP, observándose valores positivos similares en agua desmineralizada y FIS, y valores menores o negativos cuando el pH del

medio era ácido (FGS o medio de pH progresivo), lo que indica que estas matrices sufren un constante proceso de erosión.

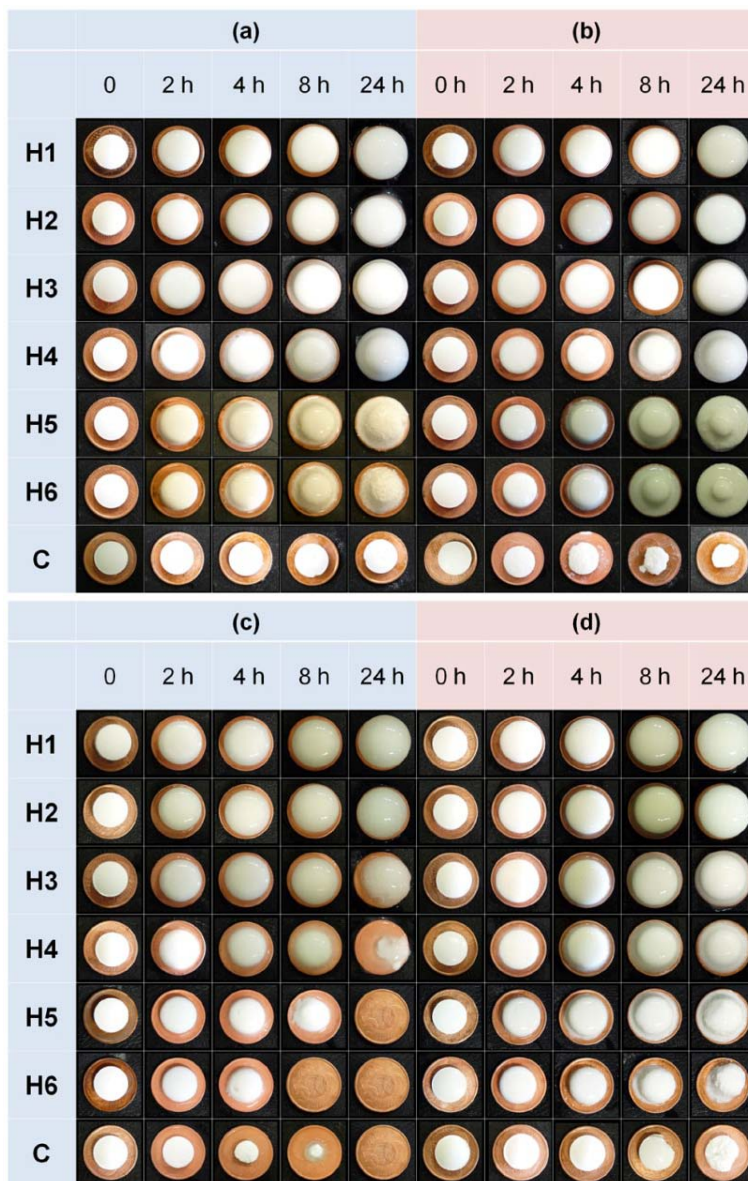
**TABLA 9.** Valores de porcentaje de hinchamiento (SR%) obtenidos a partir de las matrices (H1-H6) y C a tiempos: 2, 4, 8 y 24 horas, evaluadas en diferentes medios.

LOTE	SR% en agua desmineralizada				SR% en medio de pH progresivo			
	2 h	4 h	8 h	24 h	2 h	4 h	8 h	24 h
H1	184,2 ± 4,2	251,9 ± 4,7	336,1 ± 3,2	485,8 ± 9,4	177,5 ± 1,6	240,9 ± 9,4	314,2 ± 8,2	482,7 ± 4,3
H2	149,3 ± 2,2	205,2 ± 2,5	268,3 ± 1,4	350,2 ± 3,4	152,1 ± 3,2	202,7 ± 1,8	262,7 ± 3,6	368,5 ± 5,6
H3	133,6 ± 2,9	176,6 ± 3,1	219,9 ± 1,7	280,0 ± 1,6	136,4 ± 1,3	174,4 ± 3,3	217,3 ± 1,2	282,4 ± 4,8
H4	78,1 ± 1,1	105,3 ± 1,2	117,2 ± 1,8	169,6 ± 8,4	79,8 ± 1,6	101,1 ± 1,4	112,3 ± 0,8	183,2 ± 3,0
H5	75,1 ± 0,9	90,0 ± 0,8	90,4 ± 1,5	99,5 ± 5	71,1 ± 1,1	80,3 ± 1,5	82,6 ± 3,4	72,5 ± 3,4
H6	57,9 ± 1,3	65,1 ± 0,9	52,1 ± 2,2	37,3 ± 4,1	44,1 ± 1,2	49,1 ± 1,9	44,0 ± 2,0	21,9 ± 4,7
C	21,0 ± 3,5	27,0 ± 9,6	21,3 ± 3,4	19,2 ± 2,4	-8,6 ± 0,6	-18,5 ± 2,2	-44,7 ± 5,6	-46,9 ± 5,5

LOTE	SR% en FGS				SR% en FIS			
	2 h	4 h	8 h	24 h	2 h	4 h	8 h	24 h
H1	174,9 ± 1,3	239,6 ± 8,7	314,5 ± 5,8	463,9 ± 5,2	169,4 ± 6,4	237,6 ± 12	321,1 ± 8,6	509,3 ± 13
H2	159,5 ± 1,8	217,3 ± 3,0	280,8 ± 7,0	357,3 ± 27	142,5 ± 0,7	196,5 ± 1,6	252,6 ± 3	370,7 ± 8,3
H3	138,3 ± 2,5	180,4 ± 1,2	226,7 ± 0,8	189,9 ± 37	126,7 ± 2,4	167,1 ± 1,0	208,2 ± 2,5	230,4 ± 9,4
H4	83,2 ± 2,2	109,1 ± 4,5	122,3 ± 9,8	-33,8 ± 5,3	76,8 ± 1,2	104,1 ± 1,4	124,1 ± 3,6	115,6 ± 7,5
H5	74,9 ± 0,8	72,6 ± 3,9	-36,5 ± 9,5	-100,0	71,1 ± 0,5	85,9 ± 1,4	89,5 ± 1,4	97,8 ± 3,2
H6	53,6 ± 4,1	25,4 ± 2,8	-100,0	-100,0	54,7 ± 0,9	60,6 ± 0,9	54,6 ± 0,6	41,6 ± 0,9
C	-24,4 ± 3,4	-61,8 ± 4,4	-96,8 ± 0,6	-98,1 ± 1,8	15,0 ± 1,2	17,3 ± 1,4	12,1 ± 4,5	-4,5 ± 13

Las observaciones visuales reflejadas en la Figura 10 confirman los resultados obtenidos en los ensayos de hinchamiento. Así, el comportamiento de hinchamiento pH-independiente de las formulaciones H1, H2, H3 y H4, donde la proporción de HPMC/DCP era superior al 0,25.



**FIGURA 10:** Evolución visual de las matrices de HPMC/DCP (H1-H6) y C a tiempos: 0, 2, 4, 8 y 24 h en diferentes medios: agua desmineralizada (a), medio de pH progresivo (b), FGS (c) y FIS (d).

Por el contrario, las formulaciones H5 y H6 (proporción de HPMC/DCP <0,12) mostraron un comportamiento de hinchamiento pH-dependiente, pudiéndose observar, después de 4 h de ensayo, un evidente proceso de erosión en las matrices, al terminar las primeras 8 horas de ensayo se observa un pequeño núcleo restante en H5 y una total desintegración de H6. Los resultados de la matriz C muestran una erosión completa de la matriz, cuando el medio es ácido, sin embargo esta queda casi intacta cuando el medio de ensayo tiene un pH neutro.

### 3.2.2 Ensayo de Flotabilidad

El ensayo de flotabilidad *in vitro* de las matrices mostró un comportamiento de flotabilidad condicionado por la proporción de HPMC/DCP utilizada en cada lote, así mismo no se observó ninguna influencia de la naturaleza del medio sobre la flotabilidad de las matrices. En consecuencia, las matrices H1, H2, H3 y H4 flotarón de manera continua desde el momento de entrar en contacto con el medio de ensayo hasta la finalización del mismo (8 horas), lo cual sugiere que estas matrices tienen buenas propiedades de flotabilidad, y no presentan tiempos de retraso (*lag time*) en su flotabilidad. La característica de flotación de estas matrices podría ser resultado del proceso de elaboración, ya que el etanol utilizado en la etapa de granulación podría ser el responsable de producir un hinchamiento del HPMC, causando la flotabilidad de

las matrices con mayores proporciones de HPMC, esta observación está de acuerdo con las observaciones realizadas por Yamashita y colaboradores [Yamashita *et al.*, 2003].

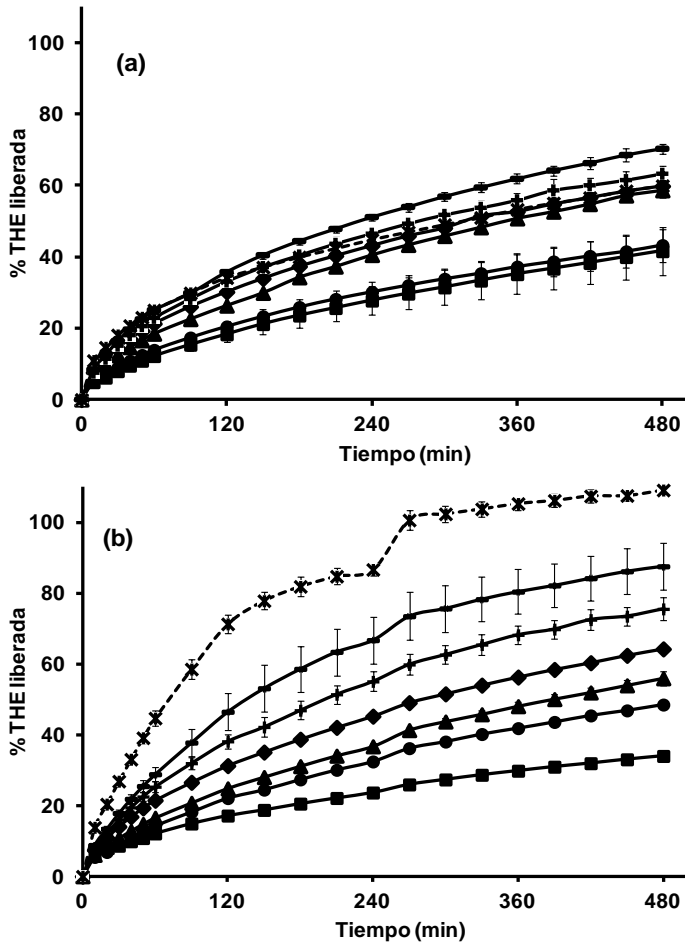
Por el contrario, las matrices H5 y H6 con baja proporción de HPMC con respecto al DCP no flotaron en ninguno de los medios utilizados. Igualmente, el lote C carecía de flotabilidad debido a la ausencia total del polímero hidrófilo en su formulación.

### *3.2.3. Ensayos de disolución*

La Figura 11 recoge los perfiles de liberación obtenidos a partir de los lotes H1-H6 y C evaluados en agua desmineralizada (a) y medio de pH progresivo (b) como medio de disolución. En agua desmineralizada los perfiles de liberación se ven ligeramente influenciados por la proporción HPMC/DCP, así al reducir el contenido de HPMC se observa una mayor velocidad de liberación del fármaco. Los perfiles de disolución a partir de las matrices H1 y H2 resultaron similares entre sí, pudiéndose observar una liberación sostenida pero incompleta del fármaco, dando porcentajes menores al 100% de la dosis liberada al finalizar las 24 horas de ensayo. Por el contrario, los lotes H3, H4, H5 y H6, mostraron una liberación controlada y casi completa del fármaco en un

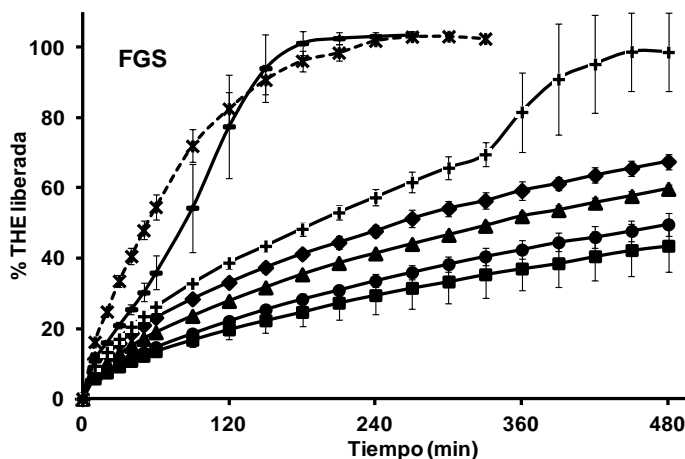
período de tiempo de 24 h. El perfil de disolución de THE a partir del lote C muestra una velocidad de liberación intermedia, ya que la solubilidad del DCP en agua desmineralizada no permite la desintegración del comprimido.

En medio de pH progresivo las matrices H1-H6 y C mostraron una velocidad de liberación del fármaco claramente dependiente de la proporción de HPMC/DCP (Figura 11b). Además, todas las formulaciones elaboradas fueron capaces de controlar de manera eficiente la liberación del fármaco durante un período de 8 horas, a excepción del comprimido C, donde se aprecia una rápida liberación del activo (total del fármaco liberado en 5 h), la cual se debe a la erosión del comprimido en este medio (Figura 10).



**FIGURA 11:** *Perfiles de disolución a partir de las matrices H1 (■), H2 (●), H3 (▲), H4 (◆), H5 (+), H6 (-) y C (x) evaluadas en agua desmineralizada (a) y medio de pH progresivo (b). Las barras de error representan la desviación estándar (en algunos casos estas son más pequeñas que el tamaño del símbolo).*

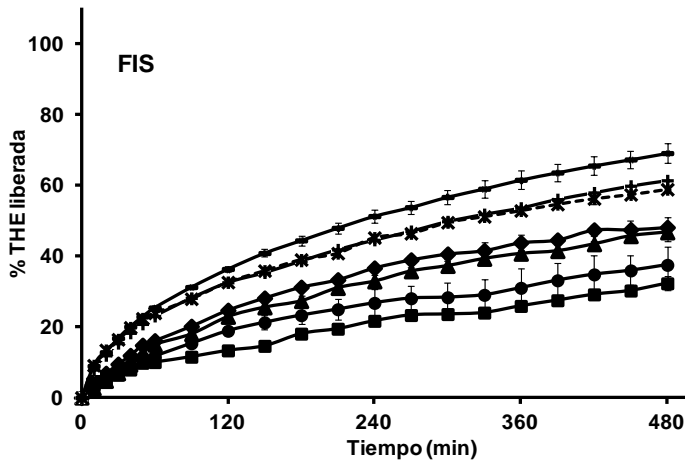
La Figura 12, recoge los perfiles de disolución obtenidos a partir de las matrices evaluadas en FGS, donde las matrices H1, H2, H3 y H4 mostraron una liberación lenta y sostenida de THE, con porcentajes de 43.5, 49.6, 59.7 y 67,5% de fármaco disuelto al finalizar las 8 horas del ensayo, respectivamente. Por el contrario, la velocidad de liberación de fármaco obtenida a partir de H5 y H6 fue mayor, dando un 100% de THE liberada en 8 horas para H5 y en 3 horas para H6, estos resultados podrían explicarse por la alta proporción de DCP que presentan estas formulaciones, produciendo una desintegración de la matriz debido a la solubilidad en soluciones ácidas de este excipiente [Rowe *et al.*, 2001].



**FIGURA 12:** Perfiles de disolución a partir de las matrices H1 (■), H2 (●), H3 (▲), H4 (◆), H5 (+), H6 (-) y C (x) evaluadas en FGS. Las barras de error representan la desviación estándar (en algunos casos estas son más pequeñas que el tamaño del símbolo).

Así la solubilidad del DCP junto con la reducción en la cantidad del agente gelificante justifica el incremento en el porcentaje total de fármaco liberado, lo cual está de acuerdo con los datos expuestos por Chaturvedi y colaboradores en trabajos anteriores para otro tipo de fármaco soluble en agua [Chaturvedi et al., 2010].

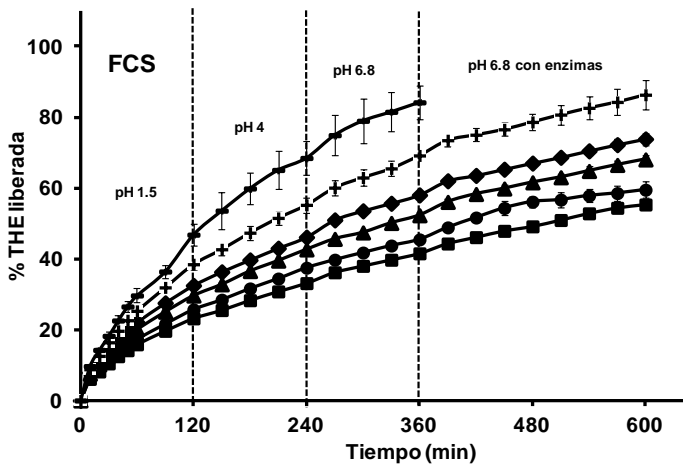
En la Figura 13 se ven reflejados los perfiles de liberación de THE a partir de todos los lotes evaluados en FIS. En estas condiciones todas las matrices ensayadas fueron capaces de producir una liberación sostenida del fármaco. Además, se puede establecer una relación directa entre la velocidad de liberación del fármaco y la proporción de HPMC, ya que se observa en una disminución de liberación del fármaco cuando aumenta la concentración de polímero. Los resultados obtenidos en este medio difieren de los obtenidos en agua desmineralizada, probablemente debido a la naturaleza iónica del medio de disolución, como aseguran anteriores investigaciones, donde se pone de manifiesto la existencia de una interacción entre el agua y polímeros no iónicos como los éteres de celulosa hidrofólicamente modificados (HPMC) [Ebube & Jones, 2004; Sarkar, 1979; Doelker, 1993; Haque & Morris, 1993; Yuasa et al., 1997; Pygall et al., 2009]. Por otro lado, los datos de disolución a partir del lote C fueron similares a los obtenidos en agua desmineralizada, pero diferentes de los obtenidos en medios ácidos, lo que confirma la liberación pH dependiente de estas formulaciones.



**FIGURA 13:** Perfiles de disolución a partir de las matrices H1 (■), H2 (●), H3 (▲), H4 (◆), H5 (+), H6 (-) y C (x) evaluadas en FIS. Las barras de error representan la desviación estándar (en algunos casos estas son más pequeñas que el tamaño del símbolo).

Los perfiles de disolución observados a partir de H1, H2, H3, H4, H5 y H6 evaluados en FCS se recogen en la Figura 14. Donde se observa que la presencia de enzimas colónicas en el medio de disolución produce un cambio en la velocidad de liberación del fármaco en los lotes H1 y H2; para H1 se observa 49,2% de fármaco liberado a las 8 h de ensayo en presencia de enzimas, frente a un 34% obtenido en el mismo tiempo en ausencia de las enzimas. De igual forma se observa un aumento de la liberación de THE a partir de H2 en presencia de enzimas con respecto al medio sin enzimas, a las 8 h de ensayo. Sin embargo, el aumento de cantidad de fármaco liberado, producido por la

presencia de enzimas colónicas, no se observa en las formulaciones H3, H4, H5 y H6. La hipótesis planteada sugiere que el ligero incremento en la velocidad de liberación de fármaco, observada en las formulaciones H1 y H2 se podría originar por una posible hidrólisis parcial del polímero producida por la actividad hemicelulósica de las enzimas pectinasas, sin embargo estudios realizados por Viridén y colaboradores indican que la HPMC se hidroliza específicamente por acción de endoglucanasas [Viridén et al., 2010].



**FIGURA 14:** Perfiles de disolución a partir de las matrices H1 (■), H2 (●), H3 (▲), H4 (◆), H5 (+), H6 (-) y C (x) evaluadas en FCS. Las barras de error representan la desviación estándar (en algunos casos estas son más pequeñas que el tamaño del símbolo).

3.2.3.1. Análisis de los datos de disolución.

Para realizar la comparación de los perfiles de disolución obtenidos en los diferentes medios utilizados en este trabajo se eligió el modelo independiente de los factores de similitud ( $f_2$ ) y diferencia ( $f_1$ ) propuestos por Moore y Flanner [More & Flanner, 1996] y aprobado por la FDA-CDER.

**TABLA 10:** Valores de los factores de diferencia ( $f_1$ ) y similitud ( $f_2$ ) al comparar los perfiles de liberación de las matrices H1-H6 y C en diferentes medios: agua desmineralizada (a), medio de pH progresivo (b), FGS (c), FIS (d) y FCS (e).

R.	P.	(a)		(b)		(c)		(d)		(e)	
		$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$
H1	H2	<b>7,1</b>	<b>83,3</b>	33,1	52,3	<b>13,0</b>	<b>67,7</b>	20,3	67,0	<b>9,7</b>	<b>70,2</b>
H1	H3	41,9	46,2	50,7	43,3	37,5	47,1	48,3	47,6	25,5	51,9
H1	H4	50,6	42,8	78,7	34,7	62,4	38,6	60,7	43,6	37,6	43,5
H1	H5	65,9	39,0	121	27,4	109	24,7	95,8	33,9	57,9	33,5
H1	H6	82,2	34,1	162	21,0	236	14,8	140	28,4	101	27,8
H2	H3	32,5	49,7	<b>13,9</b>	<b>66,1</b>	21,6	56,9	23,7	57,8	13,6	63,3
H2	H4	40,7	45,8	35,7	47,0	43,7	44,1	33,9	52,0	24,6	50,6
H2	H5	53,9	41,6	65,3	35,1	84,5	27,4	68,7	37,8	46,4	36,7
H2	H6	69,0	36,0	96,7	26,4	201	15,9	96,2	32,2	82,3	30,1
H3	H4	<b>6,5</b>	<b>78,2</b>	19,1	57,9	16,6	60,7	<b>8,7</b>	<b>77,1</b>	<b>9,6</b>	<b>67,5</b>
H3	H5	14,3	64,1	44,3	40,7	49,8	33,4	36,9	47,6	28,8	44,0
H3	H6	25,5	51,6	71,6	30,0	139	18,4	59,1	38,9	58,6	34,2
H4	H5	<b>6,7</b>	<b>77,0</b>	19,8	53,3	28,9	39,6	26,0	53,0	17,5	52,7
H4	H6	17,2	57,6	42,5	36,8	101	20,9	44,8	42,5	43,7	38,3
H5	H6	<b>9,8</b>	<b>67,6</b>	18,9	50,2	74,3	24,3	<b>13,1</b>	<b>62,4</b>	22,3	49,1

(R) es el perfil de referencia y (T) el perfil problema.

$f_2 > 65$  sugieren que los perfiles comparados son similares (con 95% de confianza)

$f_1$  cercano a cero indica que los perfiles son idénticos.

De acuerdo con los datos que se ven reflejados en la Tabla 10, cuando el medio de disolución es agua desmineralizada, los perfiles de disolución obtenidos a partir de H1 y H2 son considerados similares ( $f_1 < 15$  y  $f_2 > 65$ ), pero diferentes a los obtenidos a partir de H3, H4 H5 y H6 ( $f_1 > 15$  y  $f_2 < 65$ ). Por otra parte, los perfiles obtenidos a partir de H3, H4 y H5 se consideran similares entre sí, y H5 similar a H6. Por otro lado, los datos de  $f_1$  y  $f_2$  en medio de pH progresivo demostraron que todos los perfiles obtenidos a partir de los distintos lotes eran diferentes, con excepción de H2 y H3 que resultaron similares entre sí ( $f_1 < 15$  y  $f_2 > 65$ ).

Cuando el FGS fue utilizado como medio de disolución, se observaron diferencias significativas entre los perfiles de liberación del fármaco a partir de todos los lotes ( $f_1 > 15$  y  $f_2 < 65$ ), con excepción de los perfiles obtenidos a partir de H1 y H2. Por otro lado, los perfiles de liberación del fármaco obtenidos a partir de las matrices H1, H2, H3, evaluados en FIS, fueron diferentes, sin embargo los perfiles de H3 y H4, H5 y H6 fueron similares entre sí ( $f_1 < 15$  y  $f_2 > 65$ ).

Finalmente, los parámetros de  $f_1$  y  $f_2$  obtenidos de la comparación de los perfiles de liberación a partir de todas las matrices elaboradas y evaluadas en FCS mostraron que el comportamiento de la liberación de las matrices H1 y H2 fue similar entre sí, pero diferentes a las otras formulaciones. Por otra parte, los

perfiles de disolución de H3 y H4 son similares entre sí y diferentes a las otras matrices.

Para determinar el modelo matemático que mejor se ajusta a los datos de disolución de cada formulación, todos los datos fueron tratados de acuerdo a las ecuaciones de orden cero, primer orden, Hixson-Crowell, Hopfenberg, Higuchi y Korsmeyer-Peppas. En las Tablas 11 y 12 sólo se ven reflejados los ajustes que proporcionaron mejores resultados para cada lote.

En general, los perfiles de liberación del fármaco a partir de todas las formulaciones se ajustan mejor a las cinéticas de Higuchi y Korsmeyer-Peppas. Cuando el medio de disolución es agua desmineralizada, todos los datos se ajustan mejor a la ecuación de Higuchi (Tabla 11a) y los valores de las constantes  $K_H$  son similares para H1 y H2 (0.0200 y 0.0206), y cercanas a 0,0300 para H3, H4, H5 y H6. Estas observaciones confirman que el mecanismo de liberación de THE a partir de todas las matrices se produce por difusión y que las variaciones en las proporciones de HPMC/DCP no producen un cambio trascendental en la velocidad de liberación del fármaco en este medio.

**TABLA 11:** Modelo matemático y cinética de liberación del fármaco a partir de las matrices H1-H6 y C estudiadas en: agua desmineralizada (a) y medio de pH progresivo (b).

LOTE	Agua desmineralizada (a)								
	Hixson-Crowell		Hopfenberg		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	$K_o$	$r^2_{adj}$	$K_s$	$r^2_{adj}$	$K_H$	$r^2_{adj}$	$n$	$K_{KP}$	$r^2_{adj}$
H1	0,0011	0,9876	-0,1300	0,9852	0,0200	<b>0,9982</b>	0,5808	0,0114	<b>0,9975</b>
H2	0,0012	0,9786	-0,1625	0,9752	0,0206	<b>0,9997</b>	0,5617	0,0137	<b>0,9989</b>
H3	0,0017	0,9882	-0,1950	0,9844	0,0268	<b>0,9996</b>	0,5495	0,0192	<b>0,9998</b>
H4	0,0018	0,9802	-0,2277	0,9749	0,0282	<b>0,9992</b>	0,5288	0,0236	<b>0,9986</b>
H5	0,0020	0,9749	-0,2275	0,9684	0,0304	<b>0,9983</b>	0,5465	0,0232	<b>0,9958</b>
H6	0,0023	0,9835	-0,2600	0,9767	0,0343	<b>0,9991</b>	0,5574	0,0243	<b>0,9973</b>
C	0,0017	0,9725	-0,1950	0,9666	0,0257	<b>0,9972</b>	0,4370	0,0408	<b>0,9989</b>
Medio de pH progresivo (b)									
H1	0,0008	0,9839	-0,0975	0,9821	0,0151	<b>0,9950</b>	0,4442	0,0211	0,9748
H2	0,0014	0,9867	-0,1625	0,9836	0,0240	<b>0,9979</b>	0,5964	0,0121	0,9971
H3	0,0017	0,9913	-0,1950	0,9882	0,0274	<b>0,9975</b>	0,5909	0,0147	<b>0,9990</b>
H4	0,0020	0,9860	-0,2600	0,9808	0,0312	<b>0,9996</b>	0,5622	0,0209	<b>0,9993</b>
H5	0,0027	0,9851	-0,3250	0,9684	0,0389	<b>0,9993</b>	0,6045	0,0206	<b>0,9984</b>
H6	0,0037	0,9831	-0,4225	0,9585	0,0501	<b>0,9964</b>	0,6682	0,0186	<b>0,9993</b>
C	0,0129	0,9239	-0,8450	0,9616	0,0718	<b>0,9918</b>	0,6670	0,0286	<b>0,9969</b>

Constante de Hixson-Crowell ( $K_o$ ), constante de Hopfenberg ( $K_s$ ), constante de Higuchi ( $K_H$ ), contante de Korsmeyer-Peppas ( $K_{KP}$ ), exponente de liberación “ $n$ ”; coeficiente de determinación del ajuste  $r^2_{adj}$ .

Sin embargo, en medio de pH progresivo (Tabla 11b), los datos se ajustan mejor a las ecuaciones de Higuchi y Korsmeyer-Peppas; al analizar las constantes obtenidas se observa que la constante de Higuchi ( $K_H$ ) es mayor cuando la cantidad de HPMC disminuye, lo cual sugiere que la concentración de polímero en la formulación es la responsable de modular la velocidad de

liberación del fármaco. Por otra parte, los cambios observados en los valores de " $n$ " (0,44 a 0,66) a partir del ajuste a la ecuación de Korsmeyer-Peppas, sugiere que el mecanismo de liberación del fármaco pasa de un proceso de difusión a un proceso de transporte no Fickiano o anómalo (combinación de difusión y erosión), cuando la cantidad de polímero disminuye. Estos resultados confirman que la proporción de HPMC/DCP empleada en cada lote es la responsable de los cambios en la velocidad de liberación. Estas observaciones coinciden con resultados obtenidos por otros autores [*Williams et al., 2002; Vargas & Ghaly, 1999; Jamzad et al., 2005; Lotfipour et al., 2004*].

En la Tabla 12 se recogen los ajustes obtenidos para los datos de disolución de las matrices H1-H6 y C estudiadas en FGS, FIS y FCS. Las constantes de Higuchi ( $K_H$ ) y Korsmeyer-Peppas ( $K_{KP}$ ) obtenidas del ajuste cinético a partir de las matrices evaluadas en FGS (Tabla 12a) resultan ser mayores que los valores obtenidos cuando las matrices se estudian en medio de pH progresivo, lo que indica que la velocidad de liberación de THE a partir de todos los lotes evaluados en FGS es mayor que la observada en los demás medios y que el proceso que condiciona la liberación del fármaco es el de difusión anómala. Por otro lado, cuando el medio de disolución es FIS se observa un buen ajuste a la ecuación de Higuchi (Tabla 12b), lo que indica que la liberación del fármaco a partir de todos los lotes evaluados en este medio está condicionada por el proceso de difusión Fickiana principalmente.

**TABLA 12:** Modelo matemático y cinética de liberación del fármaco a partir de las matrices H1-H6 y C estudiadas en: FGS (a), FIS (b) y FCS (c).

LOTE	FGS (a)								
	Hixson-Crowell		Hopfenberg		Higuchi		Korsmeyer		
	$K_o$	$r^2_{adj}$	$K_s$	$r^2_{adj}$	$K_H$	$r^2_{adj}$	$n$	$K_{KP}$	$r^2_{adj}$
H1	0,0012	0,9896	-0,1625	0,9873	0,0207	<b>0,9981</b>	0,5452	0,0148	<b>0,9978</b>
H2	0,0014	0,9896	-0,1625	0,9868	0,0241	<b>0,9984</b>	0,5749	0,0142	<b>0,9978</b>
H3	0,0018	0,9893	-0,2275	0,9855	0,0286	<b>0,9995</b>	0,5559	0,0195	<b>0,9994</b>
H4	0,0021	0,9912	-0,2600	0,9868	0,0315	<b>0,9981</b>	0,4981	0,0309	<b>0,9916</b>
H5	0,0052	0,9112	-0,5200	0,9419	0,0396	<b>0,9991</b>	0,5766	0,0243	<b>0,9995</b>
H6	0,0218	0,8418	-1,5925	0,9610	0,0668	0,9508	0,7168	0,0192	<b>0,9825</b>
C	0,0129	<b>0,9997</b>	-1,3325	<b>0,9929</b>	*	*	*	*	*
FIS (b)									
H1	0,0008	0,9828	-0,0975	0,9812	0,0149	<b>0,9922</b>	0,5694	0,0092	<b>0,9931</b>
H2	0,0010	0,9593	-0,1300	0,9558	0,0179	<b>0,9941</b>	0,6180	0,0088	0,9831
H3	0,0014	0,9669	-0,1625	0,9622	0,0240	<b>0,9962</b>	0,7150	0,0064	0,9797
H4	0,0014	0,9617	-0,1625	0,9569	0,0243	<b>0,9944</b>	0,5956	0,0134	<b>0,9922</b>
H5	0,0018	0,9784	-0,2275	0,9727	0,0285	<b>0,9984</b>	0,5178	0,0262	<b>0,9962</b>
H6	0,0022	0,9796	-0,2600	0,9727	0,0335	<b>0,9987</b>	0,5375	0,0270	<b>0,9974</b>
C	0,0017	0,9697	-0,1950	0,9638	0,0264	<b>0,9962</b>	0,4701	0,0335	<b>0,9966</b>
FCS (c)									
H1	0,0013	0,9893	-0,1625	0,9858	0,0236	<b>0,9989</b>	0,5512	0,0164	<b>0,9994</b>
H2	0,0015	0,9849	-0,1950	0,9808	0,0261	<b>0,9978</b>	0,5624	0,0170	<b>0,9990</b>
H3	0,0018	0,9878	-0,2275	0,9826	0,0295	<b>0,9985</b>	0,5574	0,0204	<b>0,9990</b>
H4	0,0019	0,9803	-0,2275	0,9731	0,0321	<b>0,9992</b>	0,5600	0,0278	<b>0,9991</b>
H5	0,0025	0,9824	-0,2925	0,9650	0,0388	<b>0,9992</b>	0,5874	0,0225	<b>0,9992</b>
H6	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Constante de Hixson-Crowell ( $K_o$ ), constante de Hopfenberg ( $K_s$ ), constante de Higuchi ( $K_H$ ), contante de Korsmeyer-Peppas ( $K_{KP}$ ), exponente de liberación “n”; coeficiente de determinación del ajuste  $r^2_{adj}$ .

\*los datos de disolución son insuficientes para realizar el ajuste de cinética.

Los datos de disolución obtenidos a partir de las matrices H1, H2, H3, H4 y H6 evaluadas en FCS, obtuvieron un buen ajuste a las ecuaciones propuestas

por Higuchi y Korsmeyer-Peppas (Tabla 12c); en el caso de Higuchi las constantes cinéticas ( $K_H$ ) fueron de 0,0236, 0,0261, 0,0295, 0,0321 y 0,0388, respectivamente, lo que sugiere que la cantidad de polímero es la responsable de la velocidad de liberación del fármaco. Sin embargo, los valores de "n" obtenidos a partir del modelo de Korsmeyer-Peppas se encontraban alrededor de 0,55-0,59, lo que sugiere que el mecanismo de liberación de fármaco se produce principalmente por difusión Fickiana, con una ligera influencia de un proceso de erosión. Además, los resultados confirman que la modificación en el método de disolución y la degradación enzimática que sufre el HPMC en el FCS, son los parámetros responsables de incrementar la velocidad de liberación del fármaco a partir de todos los lotes ensayados en este medio.

Para finalizar con el análisis de datos, las constantes obtenidas del mejor ajuste de cinética obtenido para cada lote, se utilizaron para predecir el tiempo teórico necesario para obtener la liberación total de la dosis, en cada caso particular (Tabla 13). Así, el análisis de estos datos nos permiten confirmar que las formulaciones H1, H2 y H3 se puede utilizar para obtener una liberación controlada de fármacos hidrosolubles a nivel gástrico, cuando es necesaria la administración de una sola dosis de fármaco como tratamiento, ya que estas formulaciones son capaces de liberar el fármaco en un período de tiempo aproximado de 48 h. Las matrices H5 y H6 podrían utilizarse para liberar fármacos hidrosolubles de manera controlada a través del TGI. Además, éstas

pueden ser utilizadas para obtener una liberación entérica o colónica del fármaco, si se aplica un recubrimiento adecuado.

**TABLA 13:** *Tiempo teórico necesario para liberar el total de la dosis de THE a partir de las matrices H1-H6 y C, evaluadas en: FGS, FIS y FCS.*

LOTE	Theoretical time for 100% drug released		
	FGS	FIS	FCS
H1	40,7 h	78,0 h	31,5 h
H2	30,8 h	54,0 h	25,9 h
H3	21,6 h	31,8 h	20,5 h
H4	17,1 h	29,7 h	16,9 h
H5	9,7 h	20,4 h	*
H6	*	15,2 h	*
C	*	22,9 h	*

\*la liberación total de las dosis se produce antes de finalizar las 8 horas del ensayo.

### 3.4. CONCLUSIONES

La presencia simultánea de HPMC y DCP permite obtener comprimidos matriciales capaces de producir diferentes perfiles de disolución de fármacos hidrosolubles, y la velocidad de liberación del fármaco depende de la proporción HPMC/DCP en la formulación. Este comportamiento sugiere que la capacidad formadora de gel propia de la HPMC puede ser modulada por las características

de disolución ácida del DCP, según la proporción de ambos componentes. En consecuencia, cuando la proporción de HPMC/DCP es  $\geq 0,69$  (H1, H2 y H3), el fármaco se libera muy lentamente, dando lugar a formulaciones no adecuadas para la administración. Para una proporción de HPMC/DCP  $\leq 0,11$ , se obtiene una liberación controlada del fármaco a través de todo el tracto gastrointestinal (H5 y H6), y cuando la proporción de HPMC/DCP está entre 0,11 y 0,69 se obtiene una liberación controlada de fármacos a nivel gástrico (H4).



*CAPÍTULO IV:*

---

*MÁTRICES HÍDRÓFÍLICAS  
RECUBIERTAS PARA LA  
LIBERACIÓN ENTÉRICA DE  
TEOFILINA*



Numerosos estudios han revelado que el inicio o extensión de los síntomas de algunas enfermedades como el asma bronquial [Chan et al., 1988; Ballard et al., 1989, 1990], la artritis, las úlceras duodenales, el cáncer, la diabetes y los desórdenes neurológicos, se encuentran relacionados con el ritmo circadiano. En el caso de asma los ataques se ven exacerbados durante la noche ocasionando un incremento de los síntomas, mala respuesta respiratoria y/o mal funcionamiento del pulmón. Numerosos estudios recogen que la mayoría de los paros respiratorios y muertes súbitas que produce esta enfermedad ocurren entre la medianoche y las 8:00 de la mañana [Sutherland, 2005]. Así, algunas investigaciones ponen de manifiesto que una liberación sostenida de teofilina, en casos de asma, mejora los síntomas matutinos, disminuyendo las interrupciones de sueño, el uso de inhaladores y mejorando subjetivamente los síntomas [Barnes et al., 1982; Goldenheim et al., 1987; Matin et al., 1989; Elias-Jones et al., 1984]. Sin embargo, debido a la baja semivida de este fármaco [Horai et al., 1983] y a su buena absorción en la región del colon [Staib et al., 1986], esta molécula podría ser una buena candidata para su administración de acuerdo a una estrategia cronofarmacológica.

Los tratamientos cronoterapéuticos tienen el objetivo de proporcionar al paciente una dosis apropiada de fármaco cuando ésta sea requerida. Así, en el campo de la tecnología farmacéutica se han diseñado formas farmacéuticas

capaces de liberar de forma programada el principio activo, donde después de su administración se observa una fase de retraso o nula liberación del fármaco para posteriormente liberar el activo de forma controlada o pulsátil dependiendo de las características de la formulación, este tipo de sistemas se consideran como instrumentos potencialmente disponibles para las demandas crono-farmacéuticas [Maroni et al., 2005; Gazzaniga et al., 2008]. Además de las aplicaciones cronoterapéuticas, los sistemas de liberación retardada o pulsátil podrían ofrecer numerosas y variables ventajas como la prevención de la aparición de interacciones entre fármacos que podrían perjudicar el esquema de administración de medicamentos combinados, produciendo efectos negativos en participación del paciente [Sawada et al., 2003].

Por lo anteriormente expuesto, el propósito de este capítulo será desarrollar y evaluar formulaciones orales de THE capaces de liberar el fármaco, de forma controlada, a nivel intestinal. Los resultados de liberación de THE obtenidos en los capítulos anteriores a partir de comprimidos matriciales basados en la combinación de un polímero hidrófilo hinchable como la pectina o HPMC y un diluyente pH dependiente como el DCP muestran que determinadas formulaciones (P5, P6, H5 y H6) podrían ser adecuadas para, después de aplicar un recubrimiento pH-dependiente, obtener liberación entérica y sostenida de THE. En consecuencia para lograr el objetivo arriba expuesto se ha seleccionado

como polímero de recubrimiento de las formulaciones matriciales el Eudragit S 100.

## **4.1. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1.1. Materiales**

#### *4.1.1.1. Materias primas utilizados en el núcleo o matriz*

- Teofilina anhidra (THE) (Sigma-Aldrich, EE.UU.).
- Pectina, con 60-70% de ácido galacturónico (Guinama, España).
- Hidroxipropilmetilcelulosa-Methocel K15M CR Premiun (HPMC) (Colorcon Ltd, Inglaterra).
- Fosfato dicálcico (DCP) (Mendell, Alemania).
- Estearato de magnesio PRS-CODEX (MgSt) (Panreac, España).
- Polivinilpirrolidona Kollidon® 30 (PVP K30) (BASF, Alemania).

#### *4.1.1.2. Materiales usados en el recubrimiento*

- Copolímero aniónico de ácido metacrílico y metilmetacrilato (Eudragit® S100), soluble en medio con pH superior a 7 (Röhm PharmaGmbH, Alemania).
- Acetona calidad USP (Panreac, España).

#### *4.1.1.3. Reactivos, soluciones e instrumental utilizados*

Los mismos que se describieron para la elaboración del medio de pH progresivo en la *sección 2.2.1* y *sección 2.2.1.5-instrumentos* del capítulo II.

#### **4.1.2. Métodos**

##### *4.1.2.1. Preparación de comprimidos matriciales*

Se prepararon comprimidos matriciales con 50 mg de teofilina, pectina o HPMC y DCP en diferentes proporciones (Tabla 14). Para obtener el granulado se procedió como se describe en la *sección 2.2.1* del Capítulo II. Previa a la compresión se añade 2% (p/p) de MgSt al granulado obtenido. Los comprimidos matriciales de 600 mg (peso teórico) se obtienen utilizando una máquina de comprimir excéntrica equipada con punzones cóncavos de 13 mm de diámetro.

**TABLA 14.** Componentes y cantidades de los comprimidos matriciales, y sus propiedades.

Lote	Componentes (mg)						Parámetros				
	HPMC	Pectina	DCP	THE	PVP	Mg St	Peso (mg)	Contenido THE (mg)	Espesor (mm)	Diámetro (mm)	Dureza (N)
<b>H5</b>	50	-	438	50	50	12	592,8 ± 1,9	51,2 ± 0,6	4,7 ± 0,0	13,0 ± 0,0	50,6 ± 3,3
<b>H6</b>	30	-	458	50	50	12	593,3 ± 2,0	51,2 ± 0,7	4,6 ± 0,0	13,0 ± 0,0	78,0 ± 3,4
<b>P5</b>	-	50	438	50	50	12	592,2 ± 1,5	51,5 ± 0,4	4,4 ± 0,0	13,0 ± 0,0	87,6 ± 4,3
<b>P6</b>	-	30	458	50	50	12	593,6 ± 1,7	51,6 ± 0,4	4,4 ± 0,0	13,0 ± 0,0	80,9 ± 6,4

Para realizar las pruebas de caracterización se tomó una muestra de 10 comprimidos de cada lote y se realizaron las pruebas de uniformidad de peso (CV<0.4%), diámetro, espesor (CV <0,3%) y dureza (≈ de 70 N).

#### 4.1.3 Recubrimiento entérico

La solución de recubrimiento entérico se preparó disolviendo Eudragit® S100 en acetona al 10% (p/v). Se seleccionó acetona porque permite disolver el polímero entérico, manteniendo la integridad de las matrices. El recubrimiento de las matrices se realizó mediante el método de inmersión hasta obtener la cantidad deseada de recubrimiento por comprimido. Los niveles de recubrimiento utilizados fueron de 3, 5, 8 y 10 % (p/p) con respecto al peso del comprimido. Las matrices recubiertas se denominan incorporando al nombre de la matriz desnuda un guión y a continuación un guarismo que indica el

porcentaje de recubrimiento. Así, el lote H5 ha originado los comprimidos con recubrimiento: H5-03, H5-05, H5-08 y H5-10.

#### *4.1.4. Ensayos de disolución*

Se llevaron a cabo en un equipo Sotax<sup>®</sup> AT7 equipado con paletas a  $37 \pm 0,5$  ° C, con una velocidad de agitación de 50 rpm en 900 mL de medio de disolución de pH progresivo [Ruiz- Caro y Veiga, 2009], con el fin de simular el tránsito gastrointestinal. A intervalos específicos de tiempo se tomaron muestras, las cuales se filtraron por un filtro de papel Whatman<sup>®</sup> (tipo 42). La cantidad de fármaco disuelto se determinó mediante espectroscopía de UV a una longitud de onda de 271 nm. Se realizaron tres repeticiones de cada prueba de disolución y no se encontraron cambios en la longitud de onda  $\lambda_{\max}$  de THE debido a la presencia de los excipientes utilizados.

##### *4.1.4.1. Análisis de los datos de disolución*

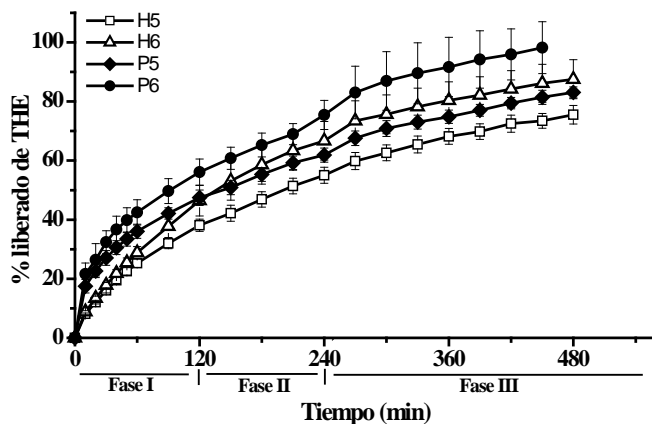
Para comparar los perfiles de disolución obtenidos a partir de cada lote con los diferentes niveles de recubrimiento o proporción de polímero/DCP

utilizada se emplearon los índices o factores propuestos por Moore y Flanner [*J. Moore, Flanner H, 1996*] descritos en la *sección 2.2.5* del capítulo II.

Con el fin de investigar el mecanismo de liberación de THE a partir de las matrices recubiertas y comparar el mismo con el obtenido a partir de las matrices no recubiertas, se ajustaron los datos de disolución obtenidos en la fase III (18 horas de ensayo a pH 6,8) a los modelos matemáticos descritos en la *sección 2.5.1* del Capítulo II.

## **4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

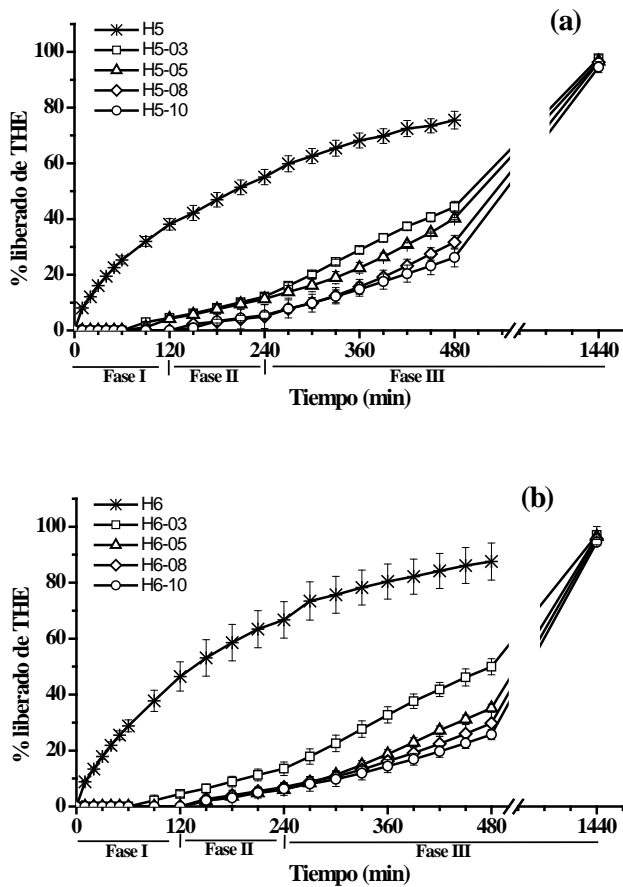
A modo de recordatorio en la Figura 15 se recogen los perfiles de liberación de THE, a partir de las matrices sin recubrimiento con diferentes proporciones de polímero/DCP (H5, H6, P5 y P6), ya descritas y discutidas en los capítulos correspondientes.



**FIGURA 15.** Perfiles de liberación de THE a partir de matrices H5, H6, P5 y P6 sin recubrimiento, ensayadas en medio de pH progresivo.

Al comparar las trayectorias de liberación de THE obtenida a partir de las matrices desnudas H5 y H6 con los perfiles correspondientes a cada formulación con diferentes grados de recubrimiento (Figura 16a,b) se observa una clara modificación en la liberación de fármaco, incluso en los lotes con menor grado de recubrimiento (H5-03, H5-05, H6-03 y H6-05), lo que indica el poder protector frente al pH ácido del Eudragit S 100. Los grados de recubrimiento del 8 y 10% impiden totalmente la liberación del fármaco en la Fase I del ensayo (2 horas), pero si el recubrimiento de cada lote es de un 5 o 3% se produce una liberación de fármaco, aunque ésta sea mínima. A partir de las 2 horas y debido al aumento del pH del medio (1,5-4), lo que simula el paso del estómago

vacío a lleno, se aprecia como era de esperar una liberación progresiva de THE la cual es inversamente proporcional a la cantidad de película protectora, obteniéndose en todos los casos al finalizar el ensayo (24 horas) cerca al 100% de fármaco disuelto.



**FIGURA 16.** Perfiles de liberación de THE a partir de las matrices H5 y H6 desnudas o con varios niveles de recubrimiento (3, 5, 8 y 10%), evaluadas en medio de pH progresivo.

Para comprobar la influencia del grado de recubrimiento en la liberación de THE a partir de las formulaciones H5 y H6 recubiertas se han determinado los factores de similitud y diferencia, los cuales aparecen recogidos en la Tabla 15a,b. Los resultados ponen de manifiesto que el perfil de disolución obtenido a partir de H5-03 es similar al obtenido a partir de H5-05(Tabla 15a), pero diferente a los obtenidos a partir de H5-08 y H5-10. Además, el perfil de THE liberada a partir de H5-05 es diferente a H5-08 y H5-10 y los perfiles de disolución obtenidos de H5-08 y H5-10 resultaron ser similares entre sí. Por otro lado, al aplicar los factores de similitud y diferencia a los perfiles obtenidos a partir de las matrices H6 con diferentes niveles de recubrimiento (Tabla 15b) se observa que los datos de disolución de THE obtenidos a partir de H6-03 son diferentes a H6-05, H6-08 y H6-10. Sin embargo, la cesión de THE a partir de H6-05 resulta similar a la obtenida a partir de H6-08 y H6-10 y el perfil de disolución de THE a partir de H6-08 es similar al obtenido a partir de H6-10. De donde se deduce que para ambos tipos de matrices H5 y H6 un grado de recubrimiento del 3% con Eudragit S 100 es suficiente para impedir la liberación de THE en el estómago vacío (pH 1,5), para permitir que se inicie la cesión del fármaco con el estómago lleno (pH 4) y conseguir una total liberación de THE a pH intestinal. Por el contrario un recubrimiento del 8 al 10% permite obtener perfiles de disolución similares entre sí, pero totalmente diferentes a los obtenidos con el 3% de recubrimiento, aunque en todas las situaciones se

obtiene una protección gástrica de la formulación y una cesión total del fármaco en tiempos menores a 24 horas.

**TABLA 15:** Valores de los factores de diferencia ( $f_1$ ) y similitud ( $f_2$ ) al comparar los perfiles de liberación de las matrices H5 y H6 con diferentes niveles de recubrimiento.

(a)				(b)			
R	T	$f_1$	$f_2$	R	T	$f_1$	$f_2$
H5-03	H5-05	<b>12,1</b>	<b>72,9</b>	H6-03	H6-05	32,8	52,7
H5-03	H5-08	33,3	54,4	H6-03	H6-08	37,9	48,6
H5-03	H5-10	37,7	51,2	H6-03	H6-10	42,9	45,8
H5-05	H5-08	24,1	64,6	H6-05	H6-08	<b>11,7</b>	<b>78,3</b>
H5-05	H5-10	29,2	59,2	H6-05	H6-10	16,7	<b>70,3</b>
H5-08	H5-10	<b>7,6</b>	<b>84,7</b>	H6-08	H6-10	<b>7,9</b>	<b>86,9</b>

(R) es el perfil de referencia y (T) el perfil problema.

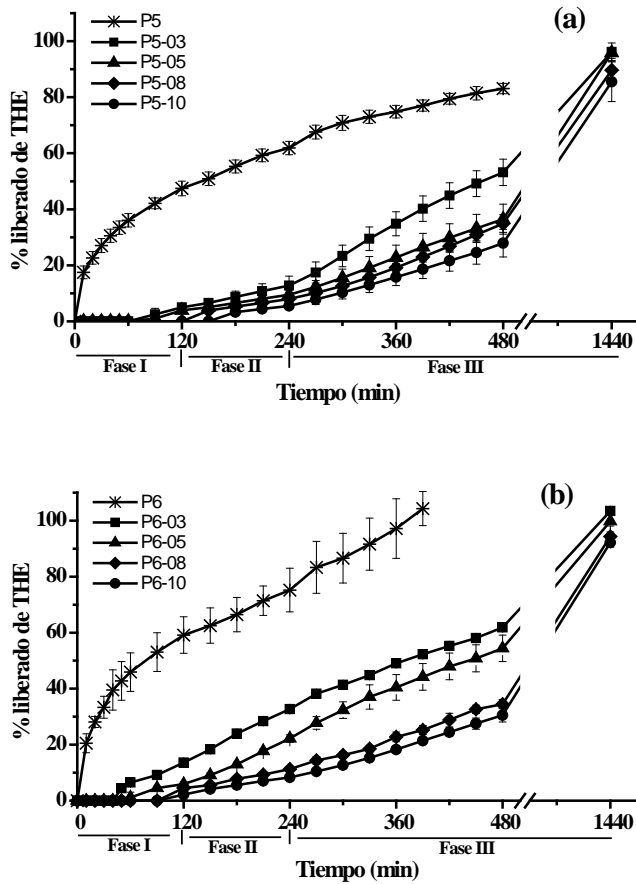
$f_2 > 65$  sugieren que los perfiles comparados son similares (con 95% de confianza)

$f_1$  cercano a cero indica que los perfiles son idénticos.

En la Figura 17 aparecen los perfiles de liberación de THE obtenido a partir de las matrices P5 y P6 con diferentes grados de recubrimiento. Como en el caso de las matrices de HPMC el Eudragit S 100, incluso aplicado con una baja proporción, dota a la formulación de un cierto carácter impermeable frente al pH ácido de estomago vacío, aunque en este caso no sólo el grado de recubrimiento sino también la proporción de pectina presente en el núcleo condiciona la velocidad de liberación del fármaco. Las matrices P5 desnudas

liberan la THE de manera homogénea, pero al recubrirlas se retrasa el inicio de la liberación, dado a que en medio pH 1,5 la cesión es prácticamente nula, iniciándose lentamente al modificar el pH del medio desde 1,5 a 4. En cualquier caso, en esta segunda fase el porcentaje de fármaco liberado no supera el 10%, pero al modificar de nuevo el pH se produce un punto de inflexión y aumenta la velocidad de cesión del fármaco separándose las trayectorias en función del grado de recubrimiento. Las matrices P6 antes de su recubrimiento presentaban un proceso de cesión de THE heterogéneo y el recubrimiento con Eudragit S 100 al 8 y 10% permite obtener perfiles de liberación sostenidos y homogéneos, aunque no se produce la liberación total de fármaco en las 24 horas de ensayo.

Los grados de recubrimiento aplicados a las matrices P6-03 y P6-05 no presentan la impermeabilidad requerida en medio gástrico (pH1, 5) para impedir la liberación de THE, en cantidad suficiente, antes de alcanzar la zona intestinal. Al finalizar la fase ácida del ensayo de disolución (Fase I y Fase II) el porcentaje de fármaco cedido supera el 20%.



**FIGURA 17.** Perfiles de liberación de THE a partir de las matrices P5 y P6 desnudas o con varios niveles de recubrimiento (3, 5, 8 y 10%), evaluadas en medio de pH progresivo.

Aunque es evidente en algunos casos la diferencia de comportamiento que muestran las matrices recubiertas, se han determinado los factores de

similitud y diferencia en los perfiles con diferentes niveles de recubrimiento, cuyos resultados se ven reflejados en la Tabla 16. De donde se deduce que en las matrices con pectina el recubrimiento con Eudragit S 100 condiciona el perfil de liberación del fármaco a diferencia de lo observado en las matrices con HPMC. En general la similitud en las formulaciones recubiertas de P5 y P6 son menores que en las formulaciones H5 y H6. Es decir el grado de recubrimiento le afecta más a la cesión de fármaco cuando las matrices presentan pectina que en las elaboradas con HPMC.

**TABLA 16:** Valores de los factores de diferencia ( $f_1$ ) y similitud ( $f_2$ ) al comparar los perfiles de liberación de las matrices P5 y P6 con diferentes niveles de recubrimiento.

(a)				(b)			
R	T	$f_1$	$f_2$	R	T	$f_1$	$f_2$
P5-03	5-05	25,1	54,9	P6-03	P6-05	20,7	56,6
P5-03	P5-08	34,1	50,2	P6-03	P6-08	49,1	36,9
P5-03	P5-10	45,2	44,5	P6-03	P6-10	56,3	33,9
P5-05	P5-08	<b>12,1</b>	<b>78,6</b>	P6-05	P6-08	35,8	46,7
P5-05	P5-10	26,8	63,2	P6-05	P6-10	44,9	42,1
P5-08	P5-10	16,8	<b>73,9</b>	P6-08	P6-10	<b>14,1</b>	<b>76,3</b>

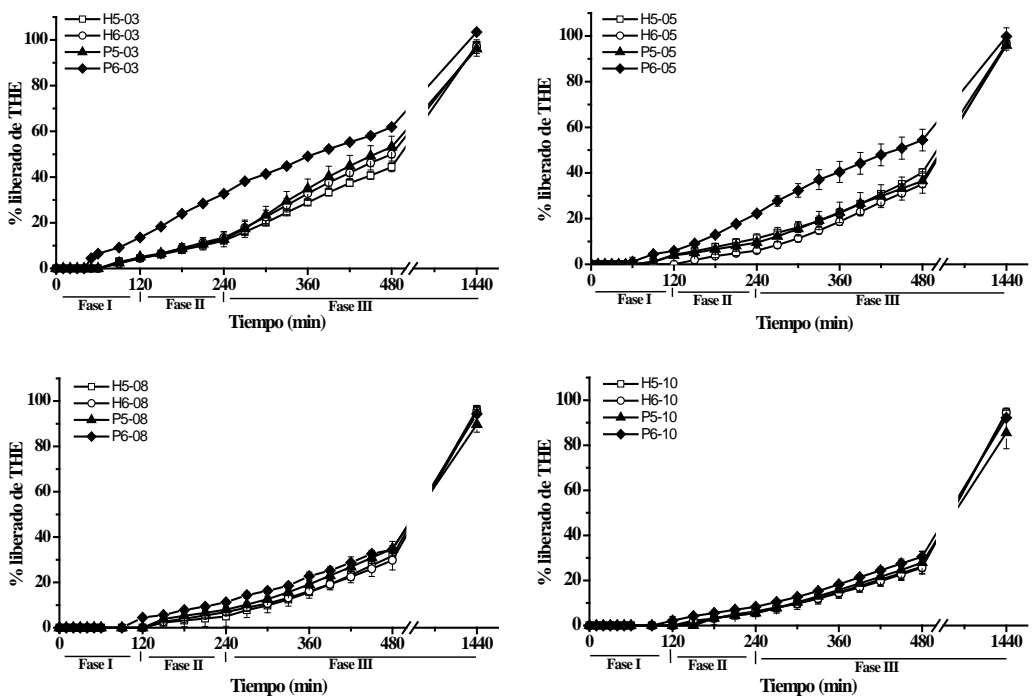
(R) es el perfil de referencia y (T) el perfil problema.

$f_2 > 65$  sugieren que los perfiles comparados son similares (con 95% de confianza)

$f_1$  cercano a cero indica que los perfiles son idénticos.

Una vez discutida la influencia del grado de recubrimiento sobre la cesión de fármaco para cada tipo de comprimido matricial, se hace necesario

comprobar la influencia de la naturaleza de la matriz. Así, en la Figura 18 aparecen los perfiles de liberación de THE obtenidos a partir de las matrices con diferente naturaleza de núcleo e igual grado de recubrimiento, donde se observa que con grados de recubrimiento del 8 y 10% los perfiles de liberación de fármaco son superponibles, como lo corroboran los factores de similitud calculados a partir de las correspondientes trayectorias (Tabla 17) que en todos los casos son  $f_2 > 65$ .



**FIGURA 18.** Perfiles de liberación de THE a partir del lote P6 desnuda y P6 con varios niveles de recubrimiento (3, 5, 8 y 10 % p/p con respecto al comprimido sin recubrimiento), evaluadas en medio de pH progresivo.

En el caso de grados de recubrimiento del 3 y 5%, muestran perfiles de liberación distintos del resto de las matrices, P6-03 y P6-05, dado que en estas matrices el recubrimiento de Eudragit S 100 resulta insuficiente para controlar el comportamiento heterogéneo que mostraba la formulación desnuda como se refleja en los datos de  $f_2$  de la Tabla 17.

**TABLA 17.** Valores de los factores de diferencia ( $f_1$ ) y similitud ( $f_2$ ) al comparar los perfiles de liberación de las matrices H5, H6, P5 y P6 con diferentes niveles de recubrimiento.

3% de recubrimiento				5 % de recubrimiento			
R	T	$f_1$	$f_2$	R	T	$f_1$	$f_2$
H5-03	H6-03	<b>9,4</b>	<b>77,9</b>	H5-05	H6-05	<b>16,9</b>	<b>72,3</b>
H5-03	P5-03	<b>13,6</b>	<b>69,3</b>	H5-05	P5-05	<b>4,5</b>	<b>90,6</b>
H5-03	P6-03	65,8	41,8	H5-05	P6-05	49,5	48,3
H6-03	P5-03	<b>4,8</b>	<b>87,4</b>	H6-05	P5-05	<b>15,7</b>	<b>77,1</b>
H6-03	P6-03	52,9	45,1	H6-05	P6-05	79,8	42,8
P5-03	P6-03	47,4	46,4	P5-05	P6-05	56,0	46,9
8% de recubrimiento				10% de recubrimiento			
R	T	$f_1$	$f_2$	R	T	$f_1$	$f_2$
H5-08	H6-08	<b>4,9</b>	<b>93,7</b>	H5-10	H6-10	<b>2,6</b>	<b>98,0</b>
H5-08	P5-08	16,1	<b>77,1</b>	H5-10	P5-10	<b>7,4</b>	<b>81,7</b>
H5-08	P6-08	27,9	<b>67,5</b>	H5-10	P6-10	18,3	<b>77,5</b>
H6-08	P5-08	<b>14,4</b>	<b>77,5</b>	H6-10	P5-10	<b>9,9</b>	<b>80,6</b>
H6-08	P6-08	25,9	<b>68,7</b>	H6-10	P6-10	18,5	<b>76,7</b>
P5-08	P6-08	<b>14,0</b>	<b>78,3</b>	P5-10	P6-10	17,4	<b>77,8</b>

(R) es el perfil de referencia y (T) el perfil problema.

$f_2 > 65$  sugieren que los perfiles comparados son similares (con 95% de confianza)

$f_1$  cercano a cero indica que los perfiles son idénticos.

Con el fin de conocer el mecanismo de liberación de THE a partir de las matrices recubiertas se procedió al ajuste de los datos de disolución a los diferentes modelos cinéticos establecidos. Como el proceso de recubrimiento tiene como finalidad anular o minimizar la liberación del fármaco en medio ácido se han ajustado los datos de fármaco disuelto a partir de los 240 min de ensayo, momento en el que la formulación se encuentra expuesta a un medio con pH 6,8.

En la Tabla 18 aparecen las constantes de las cinéticas ajustadas para cada lote evaluado, junto a sus correspondientes coeficientes de correlación  $R^2_{adj}$ . Los datos de liberación de las matrices H5 y H6 con grados de recubrimiento del 3% se ajustan con la misma precisión a Hixson-Crowell, Hopfenberg e Higuchi, lo que indica que la liberación del fármaco transcurre mediante procesos de erosión y de difusión (Higuchi). En el caso de recubrimientos de 5, 8 y 10% la cesión desde las matrices H5-05, H5-0, H5-10, H6-05, H6-08 y H6-10 se ajustan a los modelos propuestos por Korsmeyer-Peppas, con valores de “n” > 1, lo que indica que la liberación de THE se produce por un tipo de transporte *SuperCaso II*, donde la liberación del fármaco se produce de forma proporcional al hinchamiento del polímero, por lo tanto, este tipo de transporte está controlado por la relajación de las cadenas del polímero.

Las matrices de pectina P5 con diferentes cantidades de recubrimiento presentan perfiles de liberación que se ajustan de manera general a la cinética de Hopfenberg lo que indica una liberación del principio activo mediante la erosión de la superficie de la formulación. Por el contrario, al disminuir la proporción de pectina en la matriz P6, el fármaco se libera con perfiles que se ajustan preferentemente a Korsmeyer-Peppas, con un valor de “n” de 0,84 para un 3% de recubrimiento lo que indica que el proceso de liberación del fármaco se asocia a un mecanismo de difusión anómalo (no Fickiano), los datos de disolución de las matrices P6 con mayores cantidades de recubrimiento se ajusta al modelo propuesto por Korsmeyer-Peppas con un valor de  $n > 1$ , lo que indica que la cesión de THE a partir de estas matrices recubiertas se produce por un proceso de transporte de *SuperCaso II* (relajación de las cadenas poliméricas).

En general los recubrimientos del 3 % permiten liberación del p.a. por difusión, atribuible al pequeño espesor de la cubierta. Por el contrario los recubrimientos más gruesos dificultan la difusión del fármaco y la liberación se ve condicionada por el proceso de relajación de las cadenas poliméricas.

**TABLA 18:** Parámetros cinéticos obtenidos a partir de los datos de disolución de las matrices H5, H6, P5 y P6 con diferentes grados de recubrimiento.

LOTE	Orden Cero		Primer Orden		Hixson-Crowell		Hopfenberg		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	$K$	$R^2_{adj}$	$K_I$	$R^2_{adj}$	$K_O$	$R^2_{adj}$	$K_S$	$R^2_{adj}$	$K_H$	$R^2_{adj}$	$K_{KP}$	$n$	$R^2_{adj}$
P5-3 (Fase III)	0,086	0,995	0,002	0,995	0,003	<b>0,999</b>	-0,358	<b>0,999</b>	0,066	<b>0,999</b>	4,3E-06	1,909	0,979
P5-5 (Fase III)	0,058	<b>0,999</b>	0,002	0,974	0,002	<b>0,999</b>	-0,228	<b>0,999</b>	0,045	<b>0,999</b>	3,2E-06	1,893	0,994
P5-8 (Fase III)	0,060	0,995	0,003	0,990	0,002	0,990	-0,228	0,991	0,046	0,987	5,2E-07	2,179	<b>0,999</b>
P5-10 (Fase III)	0,048	<b>0,999</b>	0,003	0,979	0,001	0,99	-0,163	<b>0,997</b>	0,037	0,994	2,1E-07	6,431	0,996

LOTE	Orden Cero		Primer Orden		Hixson-Crowell		Hopfenberg		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	$K$	$R^2_{adj}$	$K_I$	$R^2_{adj}$	$K_O$	$R^2_{adj}$	$K_S$	$R^2_{adj}$	$K_H$	$R^2_{adj}$	$K_{KP}$	$n$	$R^2_{adj}$
P6-3 (Fase III)	0,056	<b>0,998</b>	0,001	0,990	0,002	<b>0,998</b>	-0,260	<b>0,998</b>	0,043	<b>0,998</b>	0,0034	0,843	<b>0,998</b>
P6-5 (Fase III)	0,063	0,995	0,001	0,974	0,002	<b>0,999</b>	-0,260	<b>0,998</b>	0,048	<b>0,999</b>	0,0005	1,149	0,993
P6-8 (Fase III)	0,051	0,992	0,002	0,988	0,002	0,990	-0,195	0,991	0,039	0,987	1,7E-05	1,606	<b>0,994</b>
P6-10 (Fase III)	0,049	<b>0,998</b>	0,002	0,988	0,001	0,996	-0,163	0,997	0,037	0,993	2,6E-06	1,891	<b>0,999</b>

LOTE	Orden Cero		Primer Orden		Hixson-Crowell		Hopfenberg		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	$K$	$R^2_{adj}$	$K_I$	$R^2_{adj}$	$K_O$	$R^2_{adj}$	$K_S$	$R^2_{adj}$	$K_H$	$R^2_{adj}$	$K_{KP}$	$n$	$R^2_{adj}$
H5-3 (Fase III)	0,068	<b>0,998</b>	0,002	0,969	0,002	<b>0,999</b>	-0,260	<b>0,999</b>	0,053	<b>0,999</b>	8,2E-06	1,772	0,991
H5-5 (Fase III)	0,063	0,987	0,002	<b>0,998</b>	0,002	0,979	-0,228	0,981	0,048	0,977	3,6E-06	1,881	<b>0,997</b>
H5-8 (Fase III)	0,058	0,988	0,003	0,993	0,002	0,981	-0,195	0,983	0,044	0,977	3,6E-06	2,493	<b>0,999</b>
H5-10 (Fase III)	0,044	<b>0,997</b>	0,003	0,986	0,001	0,995	-0,163	0,996	0,034	0,991	5,6E-07	2,117	<b>0,999</b>

LOTE	Orden Cero		Primer Orden		Hixson-Crowell		Hopfenberg		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	$K$	$R^2_{adj}$	$K_I$	$R^2_{adj}$	$K_O$	$R^2_{adj}$	$K_S$	$R^2_{adj}$	$K_H$	$R^2_{adj}$	$K_{KP}$	$n$	$R^2_{adj}$
H6-3 (Fase III)	0,077	<b>0,998</b>	0,002	0,967	0,003	<b>0,999</b>	-0,325	<b>0,999</b>	0,060	<b>0,999</b>	8,5E-06	1,787	0,990
H6-5 (Fase III)	0,065	0,997	0,003	0,977	0,002	0,994	-0,228	<b>0,995</b>	0,050	0,992	7,2E-08	2,502	<b>0,995</b>
H6-8 (Fase III)	0,050	0,991	0,003	0,994	0,001	0,986	-0,163	0,983	0,038	0,981	5,8E-07	2,129	<b>0,999</b>
H6-10 (Fase III)	0,042	0,993	0,002	0,994	0,001	0,990	-0,163	0,991	0,032	0,985	9E-07	2,035	<b>0,999</b>

Constante de orden cero ( $K$ ), constante de primer orden ( $K_I$ ), constante de Hixson-Crowell ( $K_O$ ), constante de Hopfenberg ( $K_S$ ), constante de Higuchi ( $K_H$ ), contante de Korsmeyer-Peppas ( $K_{KP}$ ), exponente de liberación “n”; coeficiente de determinación del ajuste  $r^2_{adj}$ .

Dado que los datos experimentales a las 24 horas no son significantes por no permitir diferenciar las formulaciones entre sí, con el fin de estimar en que parte del proceso finaliza la liberación del fármaco, se ha calculado teóricamente este tiempo aplicando en cada caso la cinética que más se ajustaba, obteniendo los resultados de la Tabla 19.

Lo que pone de manifiesto que en todas las formulaciones a un período aproximado de 12+4 horas a partir de la administración se consigue la liberación total del fármaco, mostrando que el porcentaje cedido a nivel intestinal (pH 6,8) es mayor al 90% en todos las formulaciones, excepto con P6-03 y P6-05.

**TABLA 19.** *Tiempo teórico necesario para liberar el total de la dosis de THE a partir de las matrices H5, H6, P5 y P6 con diferentes porcentajes de recubrimiento entérico.*

	<b>Tiempo Teórico para 100% de THE liberada</b>			
	<b>3%</b>	<b>5%</b>	<b>8%</b>	<b>10%</b>
H5	12,1	12,6	14,9	17,9
H6	11,5	11,9	14,1	15,6
P5	11,8	13,2	12,9	14,1
P6	13,6	13,4	15,3	14,8

### **4.3. CONCLUSIONES**

El Eudragit S 100 ha demostrado ser un material idóneo en el recubrimiento de matrices hidrofílicas de pectina o hidroxipropilmetilcelulosa, para la liberación entérica sostenida de teofilina en las 24 horas posteriores a su administración



*CAPÍTULO V:*

---

*DISCUSIÓN INTEGRADORA*



En el momento actual los excipientes han adquirido una gran importancia en el desarrollo de nuevas formulaciones. Inicialmente se les otorgaba a estos materiales el papel de adecuar un fármaco a la vía de administración posibilitando la obtención de una forma farmacéutica que contuviese la dosis de principio activo exacta y se mantuviese estable hasta su administración, se liberase y pudiera alcanzar el lugar de acción. Los excipientes se seleccionaban por su inercia respecto a su combinación con el principio activo, su atoxicidad, disponibilidad en el mercado y bajo coste.

Con el desarrollo de formulaciones con las que se pretende modular la liberación de un fármaco, son los excipientes los que han adquirido un peso específico en los estudios de diseño y optimización de formulaciones medicamentosas. Hoy en día es tal la importancia que determinados materiales, de uso en industria farmacéutica, han cobrado en el campo de la investigación que existen publicaciones exclusivamente orientadas a la divulgación de trabajos científicos en los que se exploran la utilidad y las aplicaciones de dichos materiales. Así, son de gran interés las publicaciones como: *Biomaterials*, *Polymer Science*, *Polysaccharides*, etc, en los cuales se observa un crecimiento exponencial de los trabajos destinados a poner de manifiesto las diversas aplicaciones de estos materiales en la formulación de diferentes fármacos y alcanzar así nuevos objetivos terapéuticos.

En esta época en la que los excipientes han cobrado tal importancia se ha escogido para el desarrollo de esta Tesis Doctoral la pectina como excipiente fundamental para diseñar comprimidos capaces de modular la liberación de sustancias hidrosolubles. Una de las características de la pectina que orienta a su elección es su carácter natural, pues formar parte de diferentes alimentos presentes en la dieta diaria asegura su total biocompatibilidad, bajo coste y su facilidad de adquisición, lo hace de este material el candidato idóneo para iniciar los estudios que conforman la presente Tesis Doctoral.

Para poder trabajar con un material es necesario realizar una búsqueda bibliográfica adecuada que permita validar los conocimientos de este material antes del desarrollo de los estudios experimentales. Fruto de esta búsqueda bibliográfica es el primer capítulo de esta Tesis, en el que también se indican algunos datos de un excipiente de referencia, hidroxipropilmetilcelulosa, con el que también se ha trabajado.

El desarrollo de comprimidos matriciales de pectina para modular la liberación de un fármaco hidrosoluble, teofilina, constituye la primera fase experimental de esta Tesis. Se prepararon diferentes lotes de comprimidos matriciales de pectina a partir de un granulado en el que el polímero se combina con un agente estructural como el fosfato dicálcico (DCP) para optimizar el proceso de la compresión. Las proporciones pectina/DCP han resultado claves

para modular la liberación de teofilina desde los diferentes lotes de matrices fabricados, la capacidad de hinchamiento de la pectina en medio acuoso, junto con la solubilidad pH-dependiente del DCP han permitido obtener matrices con muy diferentes comportamientos en cuando a los perfiles de liberación de THE en los fluidos de disolución utilizados.

Los estudios de hinchamiento en diferentes medios: agua desmineralizada, medio de pH progresivo, FGS, FIS, FCS se llevaron a cabo para caracterizar las matrices preparadas, dado que el hinchamiento de la pectina en estas matrices podría ser el mecanismo limitante de la liberación del fármaco. Los resultados demuestran que las matrices con una relación pectina/DCP  $\geq 0,69$  (Lotes P1, P2 y P3) presentan un proceso de hinchamiento constante a lo largo de de 24 horas no influenciado por la naturaleza del medio, mientras que cuando la relación pectina/DCP es  $\leq 0,26$  (lotes P4, P5 y P6) presentan un hinchamiento condicionado por la naturaleza del medio, debido a la solubilidad pH-dependiente del DCP, el cual predomina en estas formulaciones sobre el hinchamiento pH-independiente de la pectina. Además, las formulaciones con menores cantidades de pectina (P5 y P6) presentan una erosión total en períodos de tiempo que oscilan entre  $<$  de 6 y 24 horas en función de la naturaleza del medio.

Esta amplia versatilidad en cuanto a comportamiento de hinchamiento tiene una continuidad en los estudios de liberación de THE llevados a cabo con estas matrices en diferentes medios. De tal forma, en términos generales se puede decir que el proceso de hinchamiento de la pectina controla la liberación del fármaco, y al estar modulado el hinchamiento por la cuantía de DCP presente en la matriz, se obtienen perfiles de liberación de THE que ponen de manifiesto las diferentes aplicaciones de las matrices pectina/DCP para la administración oral de fármacos hidrosolubles y su liberación en las diferentes zonas del digestivo con diferentes velocidades de cesión. Los resultados obtenidos de los perfiles de liberación se han ajustado a diferentes modelos matemáticos para estimar los tiempos necesarios para la liberación de toda la dosis de fármaco a partir de cada tipo de comprimido matricial, detectándose la existencia de un punto crítico en las proporciones pectina/DCP entre 0,26 y 0,11 que condiciona el comportamiento de estos comprimidos. Así, con un  $\text{ratio} \geq 0,26$  las formulaciones permiten una cesión sostenida a lo largo del tracto digestivo durante un período comprendido entre 15 y 26 horas, debido a que la proporción de pectina no permite que la matriz se desmorone y se produce la liberación controlada del fármaco. Las formulaciones con un  $\text{ratio} \leq 0,11$  se desmoronan en medio ácido, pero en medio intestinal, al no disolverse el DCP se mantendría la integridad de la matriz cediendo el fármaco de manera

sostenida durante 12-15 horas. Para corroborar la hipótesis se realizó posteriormente el estudio de recubrimiento de ambos lotes (P5 y P6).

En la segunda etapa experimental de esta Tesis Doctoral se han elaborado diferentes lotes de comprimidos matriciales de HPMC/DCP (H1, H2, H3, H4, H5 y H6) con las mismas proporciones polímero/DCP utilizadas en las matrices preparadas con pectina, con el fin de evaluar su influencia en el comportamiento de liberación de teofilina.

Para caracterizar estas matrices se realizaron ensayos de hinchamiento y flotabilidad en los mismos medios utilizados en el estudio de las matrices de pectina/DCP. A diferencia de las matrices con pectina, los comprimidos matriciales de HPMC mostraban una flotabilidad continua durante las 8 primeras horas de ensayo cuando la proporción HPMC/DCP era  $\geq 0,26$  (H1, H2, H3 y H4). Sin embargo, con menores proporciones no se evidenció en ningún caso flotación, lo que sugiere que la flotabilidad de las matrices está condicionada por la proporción de HPMC/DCP en cada lote.

Los resultados de los ensayos de hinchamiento en los diferentes medios mostraron que el hinchamiento o desmoronamiento de las matrices viene condicionado por la proporción HPMC/DCP. Así cuando esta relación es  $\geq 1,6$  el hinchamiento continuo durante todo el ensayo. Sin embargo, cuando la proporción de DCP era mayor (H3, H4, H5 y H6), predominaba la solubilidad

de este excipiente en medio ácido, produciéndose una pérdida de peso en los medios de pH ácido (FGS y primera fase del medio de pH progresivo). En cambio, cuando el medio posee un pH próximo al valor neutro (agua desmineralizada y FIS), las matrices H3 y H4 evidencian una mínima erosión en su forma a las 24 horas de ensayo y las matrices H5 y H6 muestran un mayor proceso de erosión al finalizar las primeras 8 horas del ensayo quedando sólo restos en H5 debido a que la cantidad de DCP en estos comprimidos era menor respecto a H6.

Asimismo, los resultados de disolución están influenciados por la naturaleza del medio de disolución y la proporción de HPMC/DCP de los comprimidos matriciales. En agua desmineralizada se obtuvieron 2 tipos de perfiles de cesión, el primero observado en H1 y H2, sugiere que con proporciones de HPMC/DCP  $\geq 1,60$  la velocidad de cesión de THE es prácticamente similar ( $\approx 40\%$  liberado en 8 horas), mientras que, con proporciones menores a 1,60 (H3, H4, H5 y H6), se aprecia velocidades de cesión mayores (60-80% de THE cedida en 8 horas de ensayo).

En FIS se observa una correlación directa entre la cantidad de HPMC presente en los sistemas y la velocidad de cesión de la THE, por lo que cuanto mayor es la cantidad de HPMC en la formulación, menor es la velocidad de liberación de la sustancia activa. Esta correlación también se detectó cuando el

medio de ensayo era FGS y medio de pH progresivo, donde se podía apreciar una menor velocidad de liberación controlada del fármaco cuando la proporción de HPMC/DCP era  $\geq 0,26$  (H1, H2, H3 y H4), una mayor velocidad de cesión controlada cuando la proporción de HPMC/DCP era de 0,11 y una cesión casi completa del fármaco en 2 horas cuando la proporción HPMC/DCP era de 0,07.

Al comparar estas matrices con las de pectina/DCP, se observa que las formulaciones con  $\text{HPMC/DCP} \geq 0,26$  producen una liberación de THE influenciada por la naturaleza del medio de disolución, con una velocidad de cesión menor que la observada en las matrices de pectina con las mismas proporciones. Por otro lado, las matrices de HPMC/DCP con proporciones menores o iguales a 0,11 muestran una liberación de THE similar a la obtenida a partir de los comprimidos de pectina de iguales proporciones (P5 y P6), por lo que estas matrices H5 y H6 se han seleccionado para su posterior recubrimiento.

A la vista de los resultados obtenidos en las etapas anteriores, se planteó la posibilidad de aplicar un recubrimiento entérico a aquellas matrices que mostraron una liberación de fármaco dependiente de la naturaleza del medio de disolución (H5, H6, P5 y P6), con el objetivo de desarrollar formulaciones orales capaces de liberar de forma controlada THE en la zona intestinal, evitando la liberación prematura del fármaco en el estómago y mejorar así los síntomas matutinos del asma nocturno.

Para ello, se ha seleccionado Eudragit S100 como polímero de recubrimiento el cual se ha aplicado en porcentajes del 3, 5, 8 y 10% (p/p) respecto al peso de la matriz sin recubrir (núcleo). Los resultados obtenidos mostraron que todos los grados de recubrimiento aplicados a las matrices de HPMC lograron retrasar la liberación de THE durante las 2 primeras horas de ensayo en medio ácido (pH 1,5), impidiendo que se cediera parte de la dosis del fármaco (H5-08, H5-10, H6-05, H6-08 y H6-10), o liberándose una mínima cantidad de THE, inferior al 5%, (H5-03, H5-05, H6-03). Además, todas las formulaciones de HPMC recubiertas, presentan a partir de las 4 horas de ensayo una cesión sostenida e inversamente proporcional al grosor de la película protectora, liberando aproximadamente el 100% de la dosis en 24 horas.

En las matrices de pectina (P5 y P6) recubiertas con diferentes porcentajes de Eudragit S100 se observó que sólo con los recubrimientos del 8 y 10% se lograba una impermeabilidad total del comprimido durante las primeras dos horas de ensayo (Fase I pH 1,5), evitando así la liberación de parte de la dosis de THE por exposición del núcleo al medio de disolución. Al modificar el valor de pH del medio de 1,5 a 4, el grosor de la cubierta de Eudragit S100 va disminuyendo progresivamente hasta que aparecen pequeñas zonas de núcleo en contacto con el medio de disolución iniciándose la liberación sostenida de una cantidad mínima de fármaco, menor al 10% de la dosis total al medio. Posteriormente, al cambiar de nuevo el pH del medio de 4 a 6,8 la velocidad de

liberación de THE aumentaba en función a la cantidad de recubrimiento aplicado pudiéndose distinguir cesiones de fármaco más rápidas cuanto menor es el grado o porcentaje de Eudragit S100 en la película de recubrimiento.

En cambio, al recubrir las matrices de pectina con un 3 o 5% de Eudragit S100 se detectó que en los comprimidos con menor cantidad de pectina (lote P6), la cantidad de recubrimiento aplicado no permitía retrasar la liberación de THE suficientemente, produciendo perfiles de liberación de fármaco más rápidos y lineales que los observados en H5, H6 y P5 con los mismos grados de recubrimiento. Sin embargo, las formulaciones P5-08 y P5-10 fueron capaces de retrasar el inicio de la cesión del fármaco, el cual era posterior a la fase ácida del ensayo (pH 1,5), mostrando un comportamiento similar al mostrado por las matrices de HPMC/DCP con los mismos niveles de recubrimiento, liberando menos del 5% de la dosis total de THE. Por lo tanto, estos resultados demuestran que la cesión de THE a partir de las matrices de pectina era sensible al grosor de la capa de recubrimiento y a la cantidad de pectina presente en el núcleo de la matriz hidrofílica.



*CAPITULO VI:*

---

*CONCLUSIONES*



1. La combinación de pectina y fosfato dicálcico permite obtener comprimidos matriciales capaces de modular la liberación de fármacos hidrosolubles. La proporción pectina/DCP resulta ser determinante en la velocidad de liberación del fármaco, con valores pectina/DCP  $\geq 0,26$  las matrices liberan el fármaco a baja velocidad (< a 60% de fármaco liberado en 8 horas) y cuando la relación pectina/DCP es  $\leq 0,11$ , es la solubilidad pH dependiente del DCP la que determina el comportamiento de la matriz.
2. La capacidad formadora de gel propia de la hidroxipropilmetilcelulosa puede ser modulada por las características de disolución ácida del DCP, según la proporción de ambos componentes en cada lote de comprimidos matriciales. En consecuencia, cuando la proporción de HPMC/DCP  $\geq 0,69$  (H1, H2 y H3), el fármaco se libera muy lentamente, dando lugar a formulaciones no adecuadas para la administración oral de fármacos. Sin embargo, con proporciones menores (HPMC/DCP  $\leq 0,69$ ) se obtiene formulaciones capaces de liberar de manera sostenida y controlada el principio activo en distintas zonas del tracto gastrointestinal.

3. La capacidad de flotabilidad que presentan algunas matrices de HPMC, es un factor diferenciador respecto de las de pectina, lo que puede condicionar su aplicabilidad.
  
4. El Eudragit S 100 ha demostrado ser un material idóneo en el recubrimiento de las matrices hidrofílicas de pectina o hidroxipropilmetilcelulosa, para obtener liberación entérica sostenida de teofilina en las 24 horas posteriores a su administración.

---

*BIBLIOGRAFÍA*



- Abrahamsson A, Alpsten M, Bakec B, Larsson A, Sjögren J. *In vitro* and *in vivo* erosion of two different hydrophilic gel matrix tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **1998**; 46: 69-75.
- Alderman DA, Schulz GJ. *Method of making a granular, cold water dispersible coating composition for tablets.* US Patent 4816298, **1989**.
- Alderman DA. A review of cellulose ethers in hydrophilic matrices for oral controlled release dosage forms. *Int. J. Pharm. Technol. Prod. Manuf.* **1984**; 5: 1-9.
- Ashford M, Fell J, Attwood D, Sharma H, Woodhead P. An evaluation of pectin as a carrier for drug targeting to the colon. *J. Control. Release* **1993**; 26: 213-220.
- Ballard RD, Saathoff MC, Patel DK, Kelly PL, Martin RJ. Effect of sleep on nocturnal bronchoconstriction and ventilatory patterns in asthmatics. *J Appl Physiol.* **1989**; 67: 243-249.
- Ballard RD, Irvin CG, Martin RJ, Pak J, Pandey R, White DF. Influence of sleep on lung volume in asthmatic patients and normal subjects. *J Appl Physiol.* **1990**; 68: 2034-2041.

- Banker G, Peck G, Ja S, Pirakitikulr P, Taylor D. Evaluation of hydroxypropyl cellulose and hydroxypropyl methyl cellulose as aqueous based film coatings. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1981**; 7: 693-716.
- Barnes PJ, Greening AP, Neville L, Timmers J, Poole GW. Single-dose slow-release aminophylline at night prevents nocturnal asthma. *Lancet.* **1982**; 1:299-301.
- Bourgeois S, Gernet M, Pradeau D, Andremont A, Fattal E. Evaluation of critical formulation parameters influencing the bioactivity of  $\beta$ -lactamases entrapped in pectin beads. *Int. J. Pharm.* **2006**; 324: 2-9.
- Chan CS, Woolcock AJ, Sullivan CE. Nocturnal asthma: role of snoring and obstructive sleep apnea. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988; 137: 1502-1504.
- Chaturvedi K, Umadevi S, Vaghani S. Floating Matrix Dosage Form for Propranolol Hydrochloride Based on Gas Formation Technique: Development and *In Vitro* Evaluation. *Sci. Pharm.* **2010**; 78: 927-939.
- Chaudhary A, Tiwari N, Jain V, Singh R. Microporous bilayer osmotic tablet for colon-specific delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2011**; 78: 134-140.

- Chen HL, Lin YM, Wang YC. Comparative Effects of Cellulose and Soluble Fibers (Pectin, Konjac Glucomannan, Inulin) on Fecal Water Toxicity toward Caco-2 Cells, Fecal Bacteria Enzymes, Bile Acid, and Short-Chain Fatty Acids. *J. Agr. Food Chem.* **2010**; 58: 10277-10281.
- Chien Yie W., “*Novel Drug Delivery Systems*”, Second Edition, Revised and Expanded, New York, (1992).
- Chowhan ZT. Role of binders in moisture-induced hardness increase in compressed tablets and its effect on *in vitro* disintegration and dissolution. *J. Pharm. Sci.* **1980**; 69: 1-4.
- Cipriani TR, Gracher AH., de Souza LM, Fonseca RJ, Belmiro CL, Gorin PA, Sasaki GL, Iacomini M. Influence of molecular weight of chemically sulfated citrus pectin fractions on their antithrombotic and bleeding effects. *Thromb. Haemostasis* **2009**; 101: 860-866.
- Colombo P, Bettini R, Catellani PL, Santi P, Peppas NA. Drug volume fraction profile in the gel phase and drug release kinetics in hydroxypropylmethyl cellulose matrices containing a soluble drug. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1999**; 9: 33-40.

- Colombo P, Bettini R, Catellani PL, Santi P, Peppas NA. Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance. *Pharm. Sci. Technol. Today* **2000**; 3: 198-204.
- Colombo P. Swelling-controlled release in hydrogel matrices for oral route. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1993**; 11: 37-57.
- Costa P, Sousa Lobo JM. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2001; 13: 123-133.
- Cox PJ, Khan KA, Munday DL, Sujja-Areevath J. Development and evaluation of a multiple-unit oral sustained release dosage form for S(+)-ibuprofen: preparation and release kinetics. *Int. J. Pharm.* **1999**; 193: 73-84.
- Dahl TC, Calderwood T, Bormeth A, Trimble K, Piepmeier E. Influence of physicochemical properties of hydroxypropyl methylcellulose on naproxen release from sustained release matrix tablets. *J. Control. Release* **1990**; 14: 1-10.
- Das S, Chaudhury A, Ng KY. Preparation and evaluation of zinc-pectin-chitosan composite particles for drug delivery to the colon: role of chitosan

in modifying *in vitro* and *in vivo* drug release. *Int. J. Pharm.* **2011**; *406*: 11-20.

- Das S, Ng KY. Colon-specific delivery of resveratrol: Optimization of multi-particulate calcium-pectinate carrier. *Int. J. Pharm.* **2010**; *385*: 20-28.
- Davies A, Sitte T, Elsner F, Reale C, Espinosa J, Brooks D, Fallon M. Consistency of efficacy, patient acceptability, and nasal tolerability of fentanyl pectin nasal spray compared with immediate-release morphine sulfate in breakthrough cancer pain. *J. Pain Symptom Manage.* **2011**; *41*: 358-366.
- De Brabander C, Vervaet C, Remon JP. Development and evaluation of sustained release mini-matrices prepared via hot melt extrusion. *J. Controlled Release.* **2003**; *89*: 235-247.
- Deng R. Food and Food Supplements with Hypocholesterolemic Effects. *Recent Pat. Food Nutr. Agr.* **2009**; *1*: 15-24.
- Dev RK, Bali V, Pathak K. Novel microbially triggered colon specific delivery system of 5-Fluorouracil: Statistical optimization, *in vitro*, *in vivo*, cytotoxic and stability assessment. *Int. J. Pharm.* **2011**; *411*: 142-151.

- Di Lorenzo C, Williams CM, Hajnal F, Valenzuela JE. Pectin delays gastric emptying and increase satiety in obese subjects. *Gastroenterology* **1988**; 95: 1211-1215.
- Doelker E. Cellulose derivatives. *Adv. Polym. Sci.* **1993**; 107: 199-265.
- Doménech J, Escribano E. *Preparados orales de cesión modificada: cinética*. In: Doménech J, Martínez J, Pla JM. (Eds.), *Biofarmacia y Farmacocinética*. Vol II. Síntesis: Madrid, **1998**; pp. 317-347.
- Dongowski G, Anger H. *Metabolism of pectin in the gastrointestinal tract*. In: Visser J, Voragen AGJ. (Eds.), *Pectins and pectinases*. Elsevier: Amsterdam, **1996**; pp. 659-666.
- Dow Commercial Information. *Using methocel cellulose ethers for controlled release of drugs in hydrophilic matrix systems*. The Dow Chemical Company: USA, **2002**; pp. 1-34.
- Ebube NK, Jones AB. Sustained release of acetaminophen from a heterogeneous mixture of two hydrophilic non-ionic cellulose ether polymer. *Int. J. Pharm.* **2004**; 272: 19-27.

- Eerikäinen S, Leino J, Harjula M, Klinge E, Marvola M. Use of a hard gelatin capsules as a rectal dosage form. *S.T.P. Pharma Sci.* **1996**; 6: 435-440.
- EMEA. *The European public assessment report (EPAR) for PecFent on European Medicines Agency web site.*  
[http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/001164/human\\_med\\_001387.jsp&murl=menus/medicines/medicines.jsp&mid=WC0b01ac058001d124&jsenabled=true](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/001164/human_med_001387.jsp&murl=menus/medicines/medicines.jsp&mid=WC0b01ac058001d124&jsenabled=true) (consultado en febrero de 2012).
- Escudero JJ, Ferrero C, Jiménez-Castellanos MR. Compaction properties, drug release kinetics and fronts movement studies from matrices combining mixtures of swellable and inert polymers: Effect of HPMC of different viscosity grades. *Int. J. Pharm.* **2008**; 351: 61-73.
- Escudero JJ, Ferrero C, Jiménez-Castellanos MR. Compaction properties, drug release kinetics and fronts movement studies from matrices combining mixtures of swellable and inert polymers. II. Effect of HPMC with different degrees of methoxy/hydroxypropyl substitution. *Int. J. Pharm.* **2010**; 387: 56-64.

- Fallon M, Gatti A, Davies A, Lux EA, Kumar K, Galvez R. Fentanyl pectin nasal spray provides clinically meaningful pain relief and a more rapid onset of analgesia compared with immediate-release morphine sulphate in breakthrough cancer pain. *Palliative Med.* **2010**; *24*: S24.
- FAO/WHO. Evaluation of certain food additives and contaminants. Thirty-fifth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. World Health Organ. Tech. Rep. Ser. **1990**; *789*: 1-48.
- FDA. *Pectin on Generally Recognized as Safe (GRAS), Alphabetical List of SCOGS Substances.*  
<http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/Gen>
- Feely LC, Davis SS. The influence of polymeric excipients on drug release from Hydroxypropylmethylcellulose matrices. *Int. J. Pharm.* **1988**; *41*: 83-90.
- Ferrero Rodriguez C, Bruneau N, Barra J, Alfonso D, Doelker E. *Hydrophilic cellulose derivatives as drug delivery carriers: influence of substitution type on the properties of compressed matrix tablets.* In: Handbook of pharmaceutical controlled release technology. Wise D.L. (ed.). Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, 2000; pp. 1-30.

- Ford JL, Rubinstein ML, Hogan JE. Propranolol hydrochloride and aminophylline release from matrix tablets containing hydroxypropylcellulose. *Int. J. Pharm.* **1985**; 24: 339-350.
- Gazzaniga A, Palugan L, Foppoli A, Sangalli ME. Oral pulsatile delivery systems based on swellable hydrophilic polymers. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2008**; 68: 11-18.
- Haque A, Morris ER. Thermogelation of methylcellulose. Part 1. Molecular structures and processes. *Carbohydr. Polym.* **1993**; 22: 161-173.
- Hardy IJ, Windberg-Baarup A, Neri C, Byway PV, Booth SW, Fitzpatrick S. Modulation of drug release kinetics from hydroxypropyl methyl cellulose matrix tablets using polyvinyl pyrrolidone. *Int. J. Pharm.* **2007**; 337: 246-253.
- Hardy JG, Kennerley JW, Taylor MJ, Wilson CG, Davis SS. Release rates from sustained-release buccal tablets in man. *J. Pharm. Pharmacol.* **1982**; 34: 91P.
- Harwood R.J., Hydroxypropyl methylcellulose. In: Handbook of pharmaceutical excipients, **2000**.

- Haupt S, Zioni T, Gati I, Kleinstern J, Rubinstein A. Luminal delivery and dosing considerations of local celecoxib administration to colorectal cancer. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2006**; 28: 204-211.
- Hayashi A, Gillen AC, Lott JR. Effects of Daily Oral Administration of Quercetin Chalcone and Modified Citrus Pectin on Implanted Colon-25 Tumor Growth in Balb-c Mice. *Altern. Med. Rev.* **2000**; 5: 546-552.
- Hendeles L, Weinberger M. Improved efficacy and safety of theophylline in the control of airways hyperreactivity. *Pharmacol. Ther.* **1982**; 18: 91-105.
- Higuchi T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci.* **1963**; 52: 1145-1149.
- Hixson AW, Crowell JH. Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. *Ind. Eng. Chem.* **1931**; 23: 923-931.
- Hogan JE. Hydroxypropyl methylcellulose sustained release technology. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1989**; 15: 975-999.

- Hopfenberg HB. In: Paul DR, Harris FW. (Eds.), *Controlled Release Polymeric Formulations*. ACS Symposium Series 33. American Chemical Society: Washington, DC, **1976**; pp. 26-31.
- Horai Y, Ishizaki T, Sasaki T, Chiba K, Suganuma T, Echizen H, Ohnishi A. Bioavailability and pharmacokinetics of theophylline in plain uncoated and sustained-release dosage forms in relation to smoking habit I. Single dose study. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1983**; *24*: 79-87.
- Huber HE, Christenson GL. Utilization of hydrophilic gums for the control of drug substance from tablet formulations II. Influence of tablet hardness and density on dissolution behavior. *J. Pharm. Sci.* **1968**; *57*: 164-166.
- Huber HE, Dale LB, Christenson GL. Utilization of hydrophilic gums for the control of drug release from tablet formulations I. Disintegration and dissolution behavior. *J. Pharm. Sci.* **1966**; *55*: 974-976.
- Itoh K, Yahaba M, Takahashi A, Tsuruya R, Miyazaki S, Dairaku M, Togashi M, Mikami R, Attwood D. *In situ* gelling xyloglucan/pectin formulations for oral sustained drug delivery. *Int. J. Pharm.* **2008**; *356*: 95-101.

- Jacobs MH, Senior RM, Kessler G. Clinical experience with theophylline. Relationships between dosage, serum concentration, and toxicity. *JAMA* **1977**; 235: 1983-1986.
- Jalil R, Ferdous AJ. Effect of viscosity increasing agent and electrolyte concentration on the release rate of theophylline from a HPMC based sustained release capsules. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1993**; 19: 2637-2643.
- Jamzad S, Tutunji L, Fassihi R. Analysis of macromolecular changes and drug release from hydrophilic matrix systems. *Int. J. Pharm.* **2005**; 292: 75-85.
- Katav T, Liu L, Traitel T, Goldbart R, Wolfson M, Kost J. Modified pectin-based carrier for gene delivery: cellular barriers in gene delivery course. *J. Control. Release* **2008**; 130: 183-191.
- Katzhendler I, Hofman A, Goldberger A, Friedman M. Modeling of drug release from erodible tablets. *J. Pharm. Sci.* **1997**; 86: 110-115,
- Kidd P. A New Approach to Metastatic Cancer Prevention: Modified Citrus Pectin (MCP), A Unique Pectin that Blocks Cell Surface Lectins. *Altern. Med. Rev.* **1996**; 1: 4-10.

- Kohn R. Binding of toxic cations to pectin, its oligomeric fragments and plant tissues. *Carbohydr. Polym.* **1982**; 2: 273-275.
- Korsmeyer RW, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas NA. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.* **1983**; 15: 25-35.
- Krycer I, Pope DG, Hersey JA. An evaluation of tablet binding agents. Part I. Solution binders. *Powder Technol.* **1983a**; 34: 39-51.
- Krycer I, Pope DG, Hersey JA, An evaluation of tablet binding agents. Part II. Pressure binders. *Powder Technol.* **1983b**; 34: 53-56.
- Krzysika M, Grajeta H, Preschaa A, Weber R. Effect of cellulose, pectin and chromium (III) on lipid and carbohydrate metabolism in rats. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2011**; 25: 97-102.
- Kubo W, Konno Y, Miyazaki S, Attwood D. *In situ* gelling pectin formulations for oral sustained delivery of paracetamol. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2004a**; 30: 593-599.
- Kubo W, Miyazaki S, Dairaku M, Togashi M, Mikami R, Attwood D. Oral sustained delivery of ambroxol from in-situ gelling pectin formulations. *Int. J. Pharm.* **2004b**; 271: 233-240.

- Lapidus H, Lordi NG. Some factors affecting the release of a water-soluble drug from a compressed hydrophilic matrix. *J. Pharm. Sci.* **1966**; 55: 840-843.
- Lee BJ, Ryu SG, Cui JH. Formulation and release characteristics of hydroxypropyl methylcellulose matrix tablet containing melatonin. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1999**; 25: 493-501.
- Lee PI, Peppas NA. Prediction of polymer dissolution in swellable controlled-release systems. *J. Control. Release* **1987**; 6: 207-215.
- Leino J, Haavisto H, Tomminen T, Heinilä K, Eerikäinen S, Klinge E, Marvola M. Development of rectally administered prolonged-release hard gelatin capsules using different polymers as diluents. *S.T.P. Pharma Sci.* **1997**; 7: 348-353.
- Li CL, Martini LG, Ford JL, Roberts M. The use of hypromellose in oral drug delivery. *J. Pharm. Pharmacol.* **2005**; 57: 533-546.
- Liu LS, Fishman ML, Hicks KB, Kende M. Drug Delivery Systems from Pectin Formulations. Pecifichem Conference, #166970, Honolulu, Hawaii, USA, 15-20 diciembre, **2005a**.

- Liu LS, Fishman ML, Hicks KB, Kende M. Interaction of various pectin formulations with porcine colonic tissues. *Biomaterials* **2005b**; 26: 5907-5916.
- Liu LS, Fishman ML, Hicks KB. Pectin in controlled drug delivery - a review. *Cellulose* **2007**; 14: 15-24.
- Liu LS, Fishman ML, Hicks KB. Pectin, a polysaccharide for drug delivery systems. 8<sup>th</sup> US–Japan Symposium on Drug Delivery Systems, Maui, Hawaii, USA, 19-22 diciembre, **2005**.
- Liu LS, Fishman ML, Kost J, Hicks KB. Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route. *Biomaterials* **2003**; 24: 3333-3343.
- Lotfipour F, Nokhodchi A, Saeedi M, Norouzi-Sani S, Sharbafi J, Siahi-Shadbad MR. The effect of hydrophilic and lipophilic polymers and fillers on the release rate of atenolol from HPMC matrices. *Il Farmaco* **2004**; 59: 819-825.
- Lynch SK, Turowski M, Yokoyama WH, Hong Y, Conklin JR, Hung S, Young SA. *Use of water-soluble cellulose derivatives for preventing or treating metabolic syndrome*. Int Patent WO 2008051794 A2, **2008**.

- Maderuelo C, Zarzuelo A, Lanao JM. Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. *J. Control. Release* **2011**; 25: 2-19.
- Maki KC, Carson ML, Miller MP, Turowski M, Bell M, Wilder DM, Rains TM, Reeves MS. Hydroxypropylmethylcellulose and methylcellulose consumption reduce postprandial insulinemia in overweight and obese men and women. *J. Nutr.* **2008**; 138: 292-296.
- Maroni A, Zema L, Cerea M, Sangalli ME. Oral pulsatile drug delivery systems. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2005**; 2: 855-871.
- Marounek M, Volek Z, Synytsya A, Copíková J. Effect of pectin and amidated pectin on cholesterol homeostasis and cecal metabolism in rats fed a high-cholesterol diet. *Physiol. Res.* **2007**; 56: 433-442.
- Marti del Moral A, Moreno-Aliaga MJ, Martínez Hernández A. Efecto de los prebióticos sobre el metabolismo lipídico. *Nutr. Hosp.* **2003**; 18: 181-188.
- May CD. Industrial Pectins: Sources, Production and Applications. *Carbohydr. Polym.* **1990**; 12: 79-99.

- Meltzer EO, Orgel HA, Ellis EF, Eigen HN, Hemstreet MPB. Long-term comparison of three combinations of albuterol. *Allergy Clin. Immunol.* **1992**; *90*: 2-11.
- Mishra RK, Datt M, Banthia AK. Synthesis and characterization of pectin/PVP hydrogel membranes for drug delivery system. *AAPS PharmSciTech* **2008a**; *9*: 395-403.
- Mishra RK, Datt M, Pal K, Banthia AK. Preparation and characterization of amidated pectin based hydrogels for drug delivery system. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2008b**; *19*: 2275-2280.
- Miyazawa R, Tomomasa T, Kaneko H, Arakawa H, Shimizu N, Morikawa A. Effects of pectin liquid on gastroesophageal reflux disease in children with cerebral palsy. *BMC Gastroenterol.* **2008**; *16*: 8-11.
- Moore JW, Flanner HH. Mathematical comparison of dissolution profiles. *Pharm. Tech.* **1996**; *20*: 64-74.
- Mudie DM, Amidon GL, Amidon GE. Physiological Parameters for Oral Delivery and *in Vitro* Testing. *Mol. Pharm.* **2010**; *7*: 1388-1405.

- Munarin F, Guerreiro SG, Grellier MA, Tanzi MC, Barbosa MA, Petrini P, Granja PL. Pectin-based injectable biomaterials for bone tissue engineering. *Biomacromolecules* **2011**; *12*: 568-577.
- Mura P, Maestrelli F, Cirri M, González-Rodríguez ML, Rabasco Alvarez AM. Development of Enteric-coated Pectin-based Matrix Tablets for Colonic Delivery of Theophylline. *J. Drug Target.* **2003**; *11*: 365-371.
- Narasimhan B, Peppas NA. Molecular analysis of drug delivery systems controlled by dissolution of the polymer carrier. *J. Pharm. Sci.* **1997**; *86*: 297-304.
- Nasser SS, Rees PJ. Theophylline. Current thoughts on the risks and benefits of its use in asthma. *Drug Safety* **1993**; *8*: 12-18.
- Ojantakanen S, Marvola M, Hannula A-M, Klinge E, Naukkarinen T. Bioavailability of ibuprofen from hard gelatin capsules containing different viscosity grades of hydroxypropylmethylcellulose and sodium carboxymethylcellulose. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1993**; *1*: 109-114.
- Ojantakanen S. Effect of viscosity grade of polymer additive and compression force on release of ibuprofen from hard gelatin capsules. *Acta Pharm. Fenn.* **1992**; *101*: 119-126.

- Okhamafe AO, York P. Moisture permeation mechanism of some aqueous-based film coats. *J. Pharm. Pharmacol.* **1982**; *34*: 53P.
- Pandey VP, Phanindrudu A, Manavalan R, Livingston J. In vitro study on capsule formulations of omeprazole containing enteric coated granules. *Boll. Chim. Farm.* **2002**; *141*: 419-422.
- Patell MK. *Taste masking pharmaceutical agents*. US Patent 4916161, **1990**.
- Peppas NA. Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers. *Pharm. Acta Helv.* **1985**; *60*: 110–111.
- Pygall SR, Kujawinski S, Timmins P, Melia CD. Mechanisms of drug release in citrate buffered HPMC matrices. *Int. J. Pharm.* **2009**; *370*: 110-120.
- Rabbani GH, Teka T, Saha SK, Zaman B, Majid N, Khatun M, Wahed MA, Fuchs GJ. Green banana and pectin improve small intestinal permeability and reduce fluid loss in Bangladeshi children with persistent diarrhea. *Dig. Dis. Sci.* **2004**; *49*: 475-484.
- rallyRecognizedasSafeGRAS/GRASSubstancesSCOGSDatabase/ucm084104.htm (consultado en febrero de 2012).

- Real Farmacopea Española (RFE), 3<sup>a</sup> ed, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (Ministerio de Sanidad y Consumo): Madrid, 2005.
- Rolin C. *Pectin*. In: Whistler RL, BeMiller J. (Eds.), *Industrial gums. Polysaccharides and Their Derivates* (3<sup>a</sup> ed). Academic Press: San Diego, CA, **1993**; pp. 257-293.
- Roth JA, Frankel WL, Zhang W, Klurfeld DM, Rombeau JL. Pectin improves colonic function in rat short bowel syndrome. *J. Surg. Res.* **1995**; 58: 240-246.
- Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ. *Calcium Phosphate, Dibasic Dihydrate*. In: *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (4<sup>a</sup> ed.). Pharmaceutical Press: London, **2001**; pp. 96-99.
- Rowe RC. The adhesion of film coatings to tablet surfaces – the effect of some direct compression excipients and lubricants. *J. Pharm. Pharmacol.* **1977**; 29: 723-726.
- Rowe RC. The molecular weight and molecular weight distribution of hydroxypropyl methylcellulose used in the film coating of tablets. *J. Pharm. Pharmacol.* **1980**; 32: 116-119.

- Rubinstein A, Radai R, Ezra M, Pathak S, Rokem JS. *In vitro* evaluation of calcium pectinate: a potential colon-specific drug delivery carrier. *Pharm. Res.* **1993**; *10*: 258-263.
- Rubinstein A, Radai R. *In vitro* and *in vivo* analysis of colon specificity of calcium pectinate formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **1995**; *41*: 291-295.
- Ruiz-Caro, Veiga-Ochoa. Characterization and dissolution study of chitosan Freeze-dried systems for drug controlled release. *Molecules.* **2009**; *14*: 4370-4386.
- Sako K, Sawada T, Nakashima H, Yokohama S, Sonobe T. Influence of water soluble fillers in hydroxypropylmethylcellulose matrices on *in vitro* and *in vivo* drug release. *J. Control. Release* **2002**; *81*: 165-172.
- Sánchez D, Muguerza B, Moulay L, Hernández R, Miguel M, Alexandre A. Highly methoxylated pectin improves insulin resistance and other cardiometabolic risk factors in Zucker fatty rats. *J. Agr. Food Chem.* **2008**; *56*: 3574-3581.
- Sarkar N. Thermal gelation properties of methyl and hydroxypropyl methylcellulose. *J. Appl. Polym. Sci.* **1979**; *24*: 1073-1087.

- Sawada T, Sako K, Yoshihara K, Nakamura K, Yokohama S, Yokohama S, Hayashi M. Timed-release formulation to avoid drug–drug interaction between diltiazem and midazolam. *J. Pharm. Sci.* **2003**; 92: 790-797.
- Self TH, Rumbak MJ, Kelso TM, Nicholas RA. Reassessment of the role of theophylline in the current therapy for nocturnal asthma. *J. Am. Board Fam.* **1992**; 5: 281-288.
- Shah VP, Tsong Y, Sathe P, Liu JP. *In vitro* dissolution profile comparison-statistics and analysis of the similarity factor,  $f_2$ . *Pharm. Res.* **1998**; 15: 889-895.
- Sharma R, Ahuja M. Thiolated pectin: Synthesis, characterization and evaluation as a mucoadhesive polymer. *Carbohydr. Polym.* **2011**; 85: 658-663.
- Sia Heng PW, Chan LW, Easterbrook MG, Li X. Investigation of the influence of mean HPMC particle size and number of polymer particles on the release of aspirin from swellable hydrophilic matrix tablets. *J. Control. Release* **2001**; 76: 39-49.

- Siepmann J, Peppas NA. Modelling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**; *48*: 139-157.
- Simo C, Cifuentes A, Gallardo A. Drug delivery systems: polymers and drugs monitored by capillary electromigration methods. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **2003**; *797*: 37-49.
- Sinha VR, Kumria R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. *Int. J. Pharm.* **2001**; *224*: 19-38.
- Sriamornsak P, Kennedy RA. A novel gel formation method, microstructure and mechanical properties of calcium polysaccharide gel films. *Int. J. Pharm.* **2006**; *323*: 72-80.
- Sriamornsak P. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review. *Silpakorn Univ. Int. J.* **2003**; *3*: 206-228.
- Staib AH, Loew D, Harder S, Graul EH, Pfab R. Measurement of theophylline absorption from different regions of the gastrointestinal tract using a remote controlled drug delivery device. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1986**; *30*: 691-697.

- Stoloff SW. The changing role of theophylline in pediatric asthma. *Am. Fam. Physician* **1994**; 49: 839-844.
- Sung KC, Nixon PR, Skoug JW, Ju TR, Gao P, Topp EM, Patel MV. Effect of formulation variables on drug and polymer release from HPMC-based matrix tablets. *Int. J. Pharm.* **1996**; 142: 53-60.
- Sutherland ER. Nocturnal asthma. *J Allergy Clin Immunol.* **2005**; 116:1179-1186.
- Takeda C, Takahashi Y, Seto I, Kawano G, Takayama K, Onishi H, Machida Y. Influence of pectins on preparation characteristics of lactoferrin bioadhesive tablets. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**; 55: 1164-1168.
- Talukder R, Fassihi R. Gastroretentive delivery systems: hollow beads. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2004**; 30: 405-412.
- The United States Pharmacopeial Convention. The United States Pharmacopeial/The National Formulary. USP 34/NF 29. National Publishing: Philadelphia, PA, **2011**.
- Vandamme TF, Lenourry A, Charrueau C, Chaumeil, JC. The use of polysaccharides to target drugs to the colon. *Carbohydr. Polym.* **2002**; 48: 219-231.

- Vargas CI, Ghaly ES. Kinetic release of theophylline from hydrophilic swellable matrices. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1999**; 25: 1045-1050.
- Vázquez MJ, Pérez-Marcos B, Gómez-Amoza J-L, Martínez-Pacheco R, Souto C, Concheiro A. Influence of technological variables on release of drugs from hydrophilic matrices. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1992**; 18: 1355-1375.
- Viridén A, Larsson A, Schagerlöf H, Wittgren B. Model drug release from matrix tablets composed of HPMC with different substituent heterogeneity. *Int. J. Pharm.* **2010**; 401: 60-67.
- Wakerly Z, Fell JT, Attwood D, Parkins DA. *In vitro* evaluation of pectin-based colonic drug delivery systems. *Int. J. Pharm.* **1996**; 129: 73-77.
- Wang XS, Liu L, Fang JN. Immunological activities and structure of pectin from *Centella asiatica*. *Carbohydr. Polym.* **2005**; 60: 95-101.
- Wattanakorn N, Asavapichayont P, Nunthanid J, Limmatvapirat S, Sungthongjeen S, Chantasart D, Sriamornsak P. Pectin-based bioadhesive delivery of carbenoxolone sodium for aphthous ulcers in oral cavity. *AAPS PharmSciTech* **2010**; 11: 743-751.

- Whitehead L, Fell JT, Collett JH, Sharma HL, Smith AM. Floating dosage forms: an *in vivo* study demonstrating prolonged gastric retention. *J. Control. Release* **1998**; 55: 3-12.
- Williams III RO, Reynolds TD, Cabelka TD, Sykora MA, Mahaguna V. Investigation of excipient type and level on drug release from controlled release tablets containing HPMC. *Pharm. Dev. Technol.* **2002**; 7: 181-193.
- Yamashita K, Nakate T, Okimoto K, Ohike A, Tokunaga Y, Ibuki R, Higaki K, Kimura T. Establishment of new preparation method for solid dispersion formulation of tacrolimus. *Int. J. Pharm.* **2003**; 267: 79-91.
- Yuasa H, Nakano T, Kanaya Y. Suppression of agglomeration in fluidized bed coating I. Suppression of agglomeration by adding NaCl. *Int. J. Pharm.* **1997**; 158: 195-201.

