



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

Formulaciones de administración vaginal para la prevención del herpes genital

Autor: Raúl Cazorla Luna

D.N.I.: 11864446B

Tutor: María Dolores Veiga Ochoa

Convocatoria: Junio 2015

Índice

Resumen	3
Introducción y antecedentes	4
El herpes genital.....	4
Agente etiológico.....	4
Epidemiología.....	4
Manifestaciones clínicas.....	4
Transmisión	4
Tratamiento.....	5
Formas de prevención	6
Agentes microbicidas	6
Administración por vía vaginal	7
Mucoadhesión.....	8
Cesión sostenida	8
Objetivos.....	8
Metodología.....	8
Resultados.....	9
Polímeros mucoadhesivos.....	9
Polímeros naturales	9
Quitosano.....	9
Pectina	10
Carragenano.....	11
Ácido hialurónico y derivados.....	11
Alginato sódico.....	12
Gelatina.....	12
Polímeros semisintéticos	12
Derivados de celulosa.....	12

Polisacáridos sulfatados.....	13
Polímeros sintéticos.....	13
Poliacrilatos	13
Polietilenglicol (PEG)	13
Mucoadhesividad relativa de los polímeros	13
Métodos de caracterización de los sistemas mucoadhesivos vaginales.....	14
Hinchamiento de las formulaciones	14
Mucoadhesión.....	15
Método del vaso de precipitados	15
Método del cilindro rotativo	16
Cesión del fármaco	16
Conclusiones.....	17
Bibliografía.....	18

Resumen

El herpes genital, producido por el Virus Herpes Simplex (VHS) tipo 2, es una de las enfermedades de transmisión sexual más extendida a nivel mundial. La ineficacia de los sistemas actuales de prevención hace necesario desarrollar nuevas formulaciones, siendo las más estudiadas aquellas que permanecen adheridas en la zona de aplicación y que permitan una liberación sostenida de agentes microbicidas.

Por ello, el objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica para comparar los distintos polímeros empleados como excipientes en dichas formulaciones así como la evaluación de los métodos de caracterización *in vitro* y *ex vivo* de las mismas.

Los polímeros empleados frecuentemente en formulaciones mucoadhesivas vaginales pueden ser de origen natural, sintéticos y semisintéticos. Estos excipientes se emplean con el fin de conseguir formulaciones mucoadhesivas que además modulen la liberación de agentes microbicidas a nivel vaginal, y estas propiedades van a ser directamente dependientes de las características del polímero utilizado.

Los sistemas preparados se someten a varios ensayos *in vitro* que permitan caracterizar sus propiedades. Así, el hinchamiento se evalúa con el fin de determinar las propiedades estructurales del polímero en la formulación, lo cual condiciona los dos estudios siguientes; los de mucoadhesión y los de cesión, que permiten comprobar que la formulación permanece en la zona de aplicación el tiempo necesario y que la cesión del agente microbicida es constante durante el periodo de permanencia en la mucosa.

Introducción y antecedentes

El herpes genital

Agente etiológico

El herpes genital es una enfermedad de transmisión sexual (ETS) cuyo agente etiológico es Herpes Simplex (VHS) tipo 2 (Figura 1), un virus de unos 150 nm de diámetro, con envoltura y ADN lineal de doble cadena en el núcleo (1).

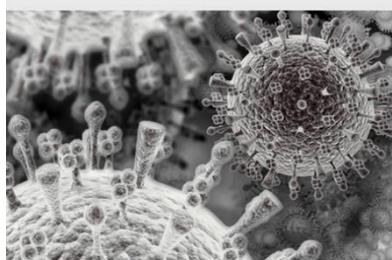


Figura 1- Virus Herpes Simplex al microscopio electrónico

Epidemiología

Desde el punto de vista epidemiológico, es la ETS con mayor número de afectados a nivel mundial, con una prevalencia e incidencia estimadas de 536 millones y 23,6 millones de casos respectivamente. Se calcula que en países en vías de desarrollo, es seropositiva entre el 60 y el 80% de la población en edad fértil. Además, se ha comprobado que la infección con el VHS puede aumentar hasta cinco veces el riesgo de contraer el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) tras un contacto. Teniendo esto en cuenta y dado que se ha comprobado que los niveles séricos y en mucosas de ARN del VIH son mayores en pacientes coinfectados con ambos virus, parece crucial el desarrollo de un sistema eficaz de prevención frente al VHS tipo 2 (2).

Manifestaciones clínicas

Es frecuente que los infectados por el VHS sean totalmente asintomáticos o que presenten síntomas leves que se confundan con otras afecciones de la piel o las mucosas. Cuando aparece la sintomatología, lo más habitual es la presencia de ampollas en el recto, en los genitales o en la boca. Dichas ampollas se abren formando llagas dolorosas que tardan entre 2 y 4 semanas en curarse, en las que la carga viral es elevada. Estos episodios sintomáticos se denominan brotes, y pueden ir acompañados de síntomas pseudogripales (3).

Transmisión

La transmisión del VHS puede ser por vía sexual directa, entendiéndose como tal el contacto vaginal, rectal u oral con la mucosa genital del paciente infectado. Es fácil la

Formulaciones de administración vaginal para la prevención del herpes genital

transmisión a partir de las llagas que aparecen en los brotes, pero también es posible que se produzca a partir de pacientes asintomáticos que no son conscientes de ser portadores de la patología y ésta es una de las razones por las que se están desarrollando nuevos sistemas de prevención. Esta transmisión es más frecuente del hombre a la mujer, lo cual explica que la prevalencia sea mayor en mujeres (1 mujer infectada por cada 4 mujeres entre 14 y 49 años) que en hombres (1 hombre infectado por cada 9 hombres entre 14 y 49 años) (3). Puesto que, además, los sistemas de prevención para uso femenino son ineficaces, esto se traduce en una situación de desprotección para la mujer en riesgo.

La otra vía consiste en la transmisión vertical de madres infectadas al feto o al neonato en el momento del parto. La adquisición del VHS (con la subsiguiente transmisión materno-fetal) durante el embarazo se ha asociado a abortos espontáneos, retrasos en el crecimiento intrauterino, partos prematuros o incluso a la adquisición de un herpes congénito o neonatal, que pese a ser poco frecuente (sólo se produce en un 5% por transmisión vertical) puede ocasionar daños neurológicos severos y permanentes en el neonato. No obstante, en un 85% de los casos de infección durante el embarazo se produce una transmisión intraparto a partir de las secreciones del tracto genital materno (4).

Tratamiento

El tratamiento del herpes genital se basa en el uso de Aciclovir (cada vez más sustituido por su profármaco, el Valaciclovir) o, en segunda línea, de Famciclovir (Figura 2). Estos fármacos son análogos estructurales de desoxiguanosina de forma que, previa fosforilación a través de una quinasa vírica, generan un ADN fraudulento capaz de inhibir la función de la ADN polimerasa. La biodisponibilidad de estos fármacos por vía oral es reducida, por lo que se prefiere el uso de estos principios activos por vía tópica vaginal, siendo eficaces frente al VHS y al Virus Varicela Zoster (VVZ) pero no frente al Citomegalovirus (CMV). En los casos de Herpes Genital Recurrente, se prefiere administrar el profármaco, Valaciclovir.

Este grupo de fármacos ha mostrado efectividad a la hora de reducir la carga viral con un excelente perfil de seguridad. Además, se ha comprobado que, en poblaciones sanas, las resistencias a los mismos son inferiores al 5% tras 20 años de terapia. De hecho, en mujeres infectadas o que presentan un brote recurrente durante el embarazo, se ha comprobado la eficacia sin secuelas del uso de Aciclovir durante las 4 semanas previas al parto.

No obstante, en individuos inmunocomprometidos las resistencias son mayores y se están buscando nuevos fármacos que sustituyan a los tratamientos de elección empleados actualmente (5).

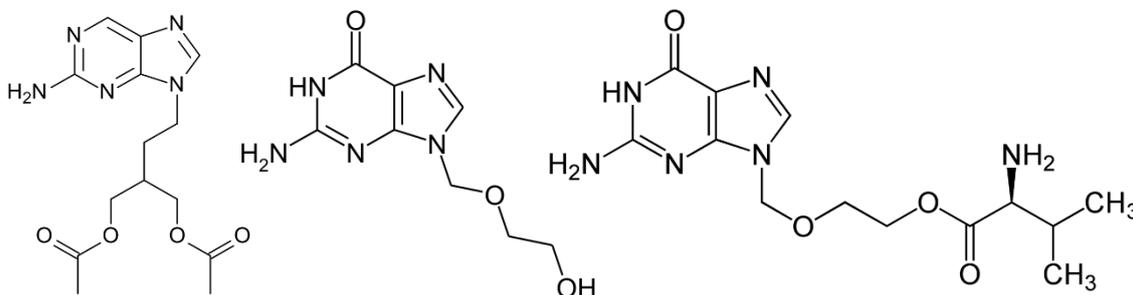


Figura 2 – De izquierda a derecha, estructuras de los fármacos Famciclovir, Aciclovir y Valaciclovir.

Formas de prevención

Se ha comprobado la eficacia del uso del preservativo masculino a la hora de prevenir la transmisión del VHS pero existen barreras culturales que llevan a un uso no sistemático del mismo y a una falta de aceptación por parte de la población en riesgo. Por su parte, los preservativos femeninos podrían resultar útiles para evitar la transmisión de este virus, con la ventaja de que supondrían autonomía para la mujer a la hora de prevenir la enfermedad aunque no existen ensayos clínicos que demuestren su eficacia (2).

Agentes microbicidas

Actualmente se están estudiando posibles sistemas tópicos vaginales que contengan un microbicida adecuado. Un microbicida vaginal se define como *cualquier fármaco o agente que se incorpore en una formulación tópica vaginal y destinado a prevenir patógenos sexuales por inactivación directa del microorganismo, generando barreras físicas entre las células y los patógenos o elevando los mecanismos de protección naturales del cérvix y la vagina* (2)

Entre los microbicidas de mayor interés, se pueden distinguir tres grandes grupos:

- Surfactantes y detergentes que inactivan directamente el virus. Algunos ejemplos son el cloruro de benzalconio, el nonoxynol-9 (N-9) o el laurilsulfato sódico (SDS). Así, el N-9 ha sido muy estudiado por sus propiedades espermicidas. No obstante, se ha comprobado que puede generar citotoxicidad e inflamación significativas.
- Productos que aumentan las defensas naturales de la vagina. El empleo de tampones ácidos evita el aumento en el pH vaginal que se produce en contacto

con el semen. Por ello, se han desarrollado productos como el Acidform® que pueden reducir la posibilidad de infección tras un contacto hasta en un 90%.

- Compuestos que evitan la adhesión y/o fusión del virus con las células del huésped. Dada la capacidad del VHS para establecer latencia, el microbicida ideal será aquel que prevenga la entrada del virus. Entre los agentes capaces de ejercer esta acción, encontramos el Carraguard®, sulfonatos de poliestireno o sulfato de celulosa que se pueden englobar en el grupo de polímeros sulfatados que interaccionan con las glicoproteínas de la cubierta vírica, lo que inhibe la fijación del virus sobre la mucosa vaginal evitando así su entrada en las células (2).

Administración por vía vaginal

La vagina es un órgano del tracto reproductor femenino, potencial vía de administración de fármacos para conseguir efectos tanto locales como sistémicos puesto que el epitelio vaginal se considera una mucosa a pesar de carecer de células de Goblet y liberación de mucina.

Para la prevención del herpes genital se desea una acción local, por lo que se pueden obviar los factores que limitan la absorción por esta vía, pero no los parámetros que condicionan la permanencia de la formulación. Así pues, se estudian excipientes mucoadhesivos, es decir, capaces de adherirse al mucus, compuesto por una mezcla de glicoproteínas, mucinas, agua, electrolitos, células epiteliales, bacterias y productos del metabolismo bacteriano. Al tener una composición tan heterogénea, pequeñas variaciones cuali o cuantitativas pueden alterar los perfiles de adhesión de los sistemas, al igual que las etapas del ciclo menstrual, el periodo climatérico o el flujo constante de secreciones desde el útero o desde el folículo durante la ovulación.

Por tanto, se persigue modificar la composición de los sistemas tradicionales añadiendo polímeros biocompatibles naturales o sintéticos que permitan una mayor residencia del principio activo en la superficie de la mucosa vaginal (6).

Con esta finalidad, se han desarrollado numerosas formulaciones entre las cuales destacan anillos, duchas vaginales, geles, emulsiones, óvulos y comprimidos, y en los que se busca que posean dos propiedades principales, mucoadhesión y cesión sostenida.

Mucoadhesión

Se entiende por bioadhesión a *la capacidad de un sistema para permanecer adherido a una superficie biológica*. Cuando esta bioadhesión se da en mucosas, se prefiere el término mucoadhesión (7).

Actualmente, las formulaciones farmacéuticas empleadas no presentan la eficacia requerida debido a que el flujo vaginal constante arrastra estos sistemas. Por esta razón, se desea obtener sistemas capaces de permanecer adheridos en la mucosa vaginal durante periodos prolongados de tiempo.

Cesión sostenida

Las formas farmacéuticas en estudio persiguen una cesión sostenida de fármaco que se corresponda con el tiempo de bioadhesión para que se consiga una protección frente al patógeno durante el periodo completo que permanezcan mucoadheridas dichas formulaciones.

Objetivos

A la vista de las necesidades terapéuticas en el campo que nos ocupa, el objetivo del presente estudio es la revisión y comparación bibliográfica de los polímeros mucoadhesivos empleados como excipientes en el diseño de distintos sistemas de liberación de agentes microbicidas para la prevención del herpes genital, así como la revisión de los distintos sistemas empleados para la evaluación *in vitro* de dichas formulaciones.

Metodología

Se ha procedido a realizar una minuciosa búsqueda bibliográfica de publicaciones científicas relacionadas con sistemas de liberación sostenida y/o mucoadhesivos vaginales, seleccionando aquellos en los que se evalúa el uso de polímeros naturales, semisintéticos y sintéticos para la administración de fármacos por vía vaginal. Se han empleado como bases de datos PubMed y Cochrane.

Así, en primer lugar se han estudiado los polímeros más empleados en el desarrollo de sistemas mucoadhesivos vaginales analizando las ventajas e inconvenientes que presenta cada uno de ellos. En segundo lugar, se han estudiado los métodos de caracterización utilizados para comprobar la eficacia de esos polímeros a la hora de regular la cesión del

principio activo o del microbicida, así como para evaluar la capacidad mucoadhesiva de los mismos.

Resultados y discusión

Polímeros mucoadhesivos

Hoy en día, las formas empleadas para la liberación de fármacos por vía vaginal presentan limitaciones importantes debido a la salida del principio activo movido por el fluido vaginal, lo que lleva a un escaso tiempo de residencia del fármaco en la mucosa vaginal.

Con el fin de solucionar dicho problema, se buscan nuevos sistemas de liberación vaginal tratando de alcanzar un equilibrio adecuado entre eficacia clínica y comodidad para la paciente.

Con este objetivo, se están investigando formulaciones que contienen polímeros mucoadhesivos y biocompatibles, los cuales presentan hinchamiento en contacto con el mucus (medio acuoso), consiguiéndose de esta forma una cesión controlada. Por otra parte, presentan la capacidad de adherirse a mucosas durante un periodo prolongado, por lo tanto, si la formulación posee un elevado tiempo de residencia en el lugar de acción y la cesión del principio activo es sostenida durante todo ese tiempo, nos encontramos ante excipientes de gran interés a la hora de desarrollar nuevos sistemas de prevención del herpes genital. Entre estos polímeros encontramos:

Polímeros naturales

Quitosano

Es un copolímero policatiónico natural formado por glucosamina y N-acetilglucosamina, que se obtiene por desacetilación parcial de quitina, la cual procede del exoesqueleto de crustáceos (Figura 3).

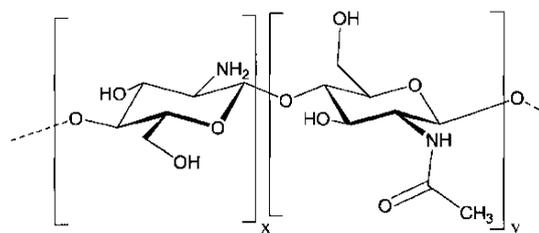


Figura 3 – Estructura química del quitosano

La presencia de grupos amino y grupos hidroxilo permite la adhesión a las mucosas mediante enlaces de hidrógeno. Además, le otorgan al polímero un pKa ácido, de tal

forma que en medio vaginal se protonan mejorando dicha adhesión, ya que la mucosa presenta una superficie de carga negativa.

El quitosano es biocompatible y biodegradable, por lo que se ha empleado en el desarrollo de numerosos sistemas para la administración vaginal, como comprimidos, emulsiones y geles. Además, las formulaciones que contienen este excipiente presentan una cesión sostenida (11,12), propiedades mucoadhesivas y actividad antimicrobiana (13,14).

La introducción de grupos tioles puede mejorar las propiedades mucoadhesivas de la formulación manteniendo la biocompatibilidad (15), lo que puede llevar a liberar el fármaco durante un periodo mayor de tiempo en la zona de aplicación (16). Ésto puede resultar útil en sistemas con una velocidad de cesión menor ya que se obtendrían formulaciones con pautas posológicas más cómodas para el paciente.

Por otro lado, se han desarrollado y evaluado formulaciones a base de sales de quitosano como el citrato de quitosano, obteniéndose geles capaces de modular la liberación de Aciclovir y promover su absorción en la mucosa vaginal. Además presentan propiedades microbicidas gracias a la presencia del citrato, encargado de acomplejar iones de calcio y de zinc, directamente relacionados con el proceso de infección (17).

Pectina

Las pectinas son polímeros naturales obtenidos a partir de la lámina media de la pared celular de numerosos vegetales. Consisten en heteropolisacáridos formados por cadenas lineales de ácido galacturónico 1-4 que intercalan ramnosas 1-2 que a su vez pueden incorporar arabinosas o galactosas. Las ramnosas intercaladas generan codos pépticos, y el número de éstos condiciona la posibilidad de interposición del agua. Esto permite a los sistemas constituidos por pectinas generar geles hinchables, mucoadhesivos y biocompatibles. Por esta razón, estos compuestos parecen ser excipientes de interés a la hora de desarrollar sistemas mucoadhesivos vaginales para la prevención del herpes genital.

Por otra parte, se ha buscado mejorar las propiedades mucoadhesivas y moduladoras de la liberación del fármaco de este polímero. Así, se ha sintetizado pectina tiolada S-protegida, observándose un aumento en el tiempo de disgregación de las formulaciones y unas mejores propiedades reológicas, con lo que la permanencia de la formulación en la zona de aplicación se vio aumentada (18).

Carragenano

Son polímeros sulfatados naturales obtenidos de algas de la familia *Rhodophyceae* (algas rojas). Actualmente se usan ampliamente como aditivos alimentarios, ya que son seguros para el consumo humano.

Los carragenanos están formados por galactosa y/o por anhidrogalaactosa unidas por enlaces alternos $\alpha(1-3)$ y $\beta(1-4)$ dando lugar a polímeros con pesos moleculares variables (por debajo de 100KDa no presentan propiedades gelificantes). En función de las posiciones de sulfatación, encontramos tres tipos principales de carragenanos; el κ -carragenano, el ι -carragenano y el λ -carragenano (Figura 4).

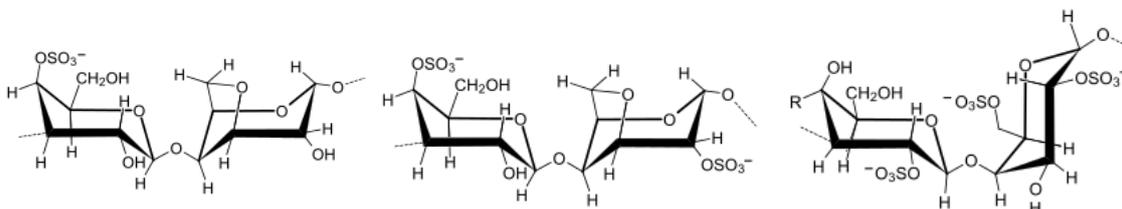


Figura 4 – De izquierda a derecha, estructura química de κ -carragenano, ι -carragenano y λ -carragenano. Estos compuestos presentan ligeras propiedades microbicidas, ya que aunque no inactivan directamente al virus, son capaces de fijarse en la superficie de éste evitando que se produzca su adhesión a la mucosa vaginal.

Los carragenanos presentan una gran estabilidad puesto que conservan sus propiedades a altas temperaturas y en rangos amplios de pH, pudiendo mantener su efectividad durante horas dentro de la vagina. Además, al no absorberse no producen efectos sistémicos (6).

Entre sus usos, se han empleado en la obtención de geles junto a Poloxamer[®]. Los resultados demostraron que cuanto mayor es la concentración del polímero, en mayor medida se reduce la velocidad de cesión del principio activo, más se retrasa la disolución del Poloxamer[®] y más se reduce la erosión del sistema (19).

Ácido hialurónico y derivados

Es un polímero natural del grupo de los glucosaminoglucanos que se encuentra de forma natural en el organismo (Figura 5). Esto supone una absoluta biocompatibilidad además de ser un agente capaz de modular la liberación del fármaco. Así, se han formulado microesferas de ácido hialurónico como sistemas de liberación de fármacos por vía

vaginal. Actualmente se investiga el desarrollo de microesferas constituídas por ésteres hialurónicos para enlentecer la liberación de principios activos por la misma vía (20).

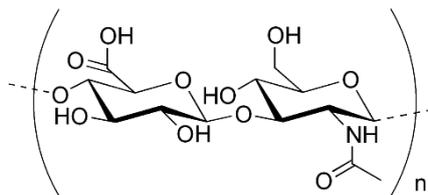


Figura 5- Estructura química del ácido hialurónico

Alginato sódico

Es un polímero procedente de algas de las familias *Laminariaceae* y *Fucaceae*. Está formado por cadenas de ácido D-manurónico y L-gulurónico que se unen entre sí. La disposición de este último condiciona las posibilidades de interposición del agua y por tanto, que se genere un gel de alginato.

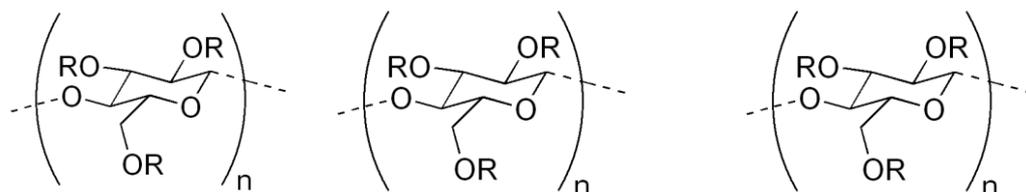
Gelatina

Los sistemas más antiguos conocidos de liberación de fármacos por vía vaginal se basaban en gelatina, por lo que se puede considerar que estos fueron los primeros sistemas de liberación mucoadhesivos.

Polímeros semisintéticos

Derivados de celulosa

Son polímeros obtenidos por tratamiento y modificación de la celulosa. De esta forma se obtienen derivados semisintéticos, de entre los cuales destacan por sus propiedades la carboximetilcelulosa sódica (NaCMC), la metilcelulosa (MC) y la hidroxipropilmetilcelulosa o hipromelosa (HPMC), siendo el primero de ellos de carácter iónico al ser un polianión y los otros dos de carácter neutro.



R = H or CH₂CO₂H

R = H or CH₃

R = H or CH₃ or CH₂CH(OH)CH₃

Figura 6 – Derivados de celulosa. De izquierda a derecha, estructuras químicas de NaCMC, MC y HPMC

En diversos estudios se ha observado que formulaciones de estos polímeros pueden permanecer varios días en la mucosa sin efectos tóxicos ni modificaciones fisiológicas de relevancia, lo que podría aumentar la permanencia del fármaco en el lugar de acción (9).

Formulaciones de administración vaginal para la prevención del herpes genital

Así, formulaciones sólidas obtenidas por compresión y constituidas exclusivamente por HPMC han mostrado tiempos de mucoadhesión superiores a 70 h con una cesión sostenida de fármaco mayor de 40 h. De este modo, estos resultados convierten a este polímero en un interesante excipiente a la hora de desarrollar comprimidos mucoadhesivos de liberación sostenida (10).

Polisacáridos sulfatados

Es extensamente conocida la capacidad de compuestos polianiónicos para inhibir la replicación del VHS. Esto, sumado a la escasa toxicidad de estos compuestos en el organismo los hace candidatos para el desarrollo de nuevas formulaciones para administración vaginal.

Polímeros sintéticos

Poliacrilatos

A este grupo pertenecen los derivados sintéticos de ácidos poliacrílicos procedentes de la polimerización de ésteres y sales de ácido acrílico. Estos polímeros presentan excelentes características reológicas (elevada viscosidad) y de hinchamiento, favoreciendo una cesión prolongada del principio activo que, junto a sus propiedades adhesivas (bien conocidas incluso a nivel industrial), hace que se investigue su eficacia en formulaciones de aplicación ocular, bucal y vaginal obteniéndose resultados prometedores (8).

Polietilenglicol (PEG)

Su uso ofrece múltiples posibilidades, variables en función del peso molecular, de la hidratación específica y del coeficiente de difusión de los geles generados, modificando estos factores el perfil de liberación de los fármacos a partir de la forma farmacéutica que lo incluye (Figura 7).

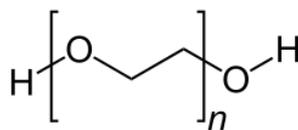


Figura 7- Estructura química del polietilenglicol. El peso molecular dependerá del número de repeticiones del monómero (n)

Mucoadhesividad relativa de los polímeros

La tabla 1 mostrada a continuación representa la capacidad mucoadhesiva de numerosos polímeros de forma cualitativa, ordenados por su fuerza de adhesión (21).

Tabla 1- Clasificación cualitativa de la capacidad adhesiva de polímeros bioadhesivos.

BUENA O EXCELENTE	Ácido poliacrílico	Hidroxietilcelulosa
	Alginato sódico	Homopolímeros y copolímeros de ácido acrílico y butilacrílico
	Carbopol	Metilcelulosa 10 cPs
	Carbopol e Hidroxipropilmetilcelulosa	PEG de peso molecular muy alto
	Carbopol 934 y EX 55	Poliacrilamida
	Carboximetilcelulosa sódica	Policarbofil
	Carragenato	Tragacanto
	Goma guar	
MEDIA	Ácido poliacrílico reticulado con sacarosa	Carbopol base con vaselina/parafina hidrofílica
	Ácido polimetacrílico	Hidroxipropilcelulosa
	Goma de karaya	Gelatina
ESCASA	Acacia	Metilcelulosa, mayor de 100 cPs
	Ácido algínico	Pectina
	Agar-agar	Polietilenglicol
	Amilopectina	Polivinilpirrolidona
	Carboximetilcelulosa sódica	Carragenato degradado
	Polihidroxietilmetacriato (PHEMA)	Dextranos

A la vista de esta clasificación, el uso de mezclas de polímeros puede ser una interesante opción a la hora de desarrollar sistemas con la cesión de fármaco y la mucoadhesión deseadas. Aquellos polímeros que permitan una cesión sostenida prolongada pero con baja adhesión a las mucosas podrían combinarse con aquellos que presentan una fuerte mucoadhesión. De esta forma, podrían obtenerse los sistemas ideales para conseguir la prevención del herpes genital, combinando ambos polímeros en concentraciones ideales.

Métodos de caracterización de los sistemas mucoadhesivos vaginales

Hinchamiento de las formulaciones

En el caso de comprimidos a base de polímeros, es de vital importancia el hinchamiento de los mismos en medio acuoso, ya que es un buen indicador para predecir las capacidades mucoadhesivas y cohesivas del polímero ensayado. Por otra parte, tanto la estabilidad del polímero como la liberación del fármaco introducido en la formulación están directamente relacionados con dicho hinchamiento.

Así, Hintzen *et al* (18) proponen un mecanismo basado en gravimetría para determinar este hinchamiento. Para ello, se toman las formulaciones sólidas y se fijan a una aguja tras haber sido pesadas de forma precisa. Posteriormente, cada una de las formulaciones a ensayar se sumerge en una solución tampón de pH similar al vaginal y a una temperatura constante de 37°C.

A continuación, y a tiempos preestablecidos, se extraen las formulaciones y se retira el exceso de agua haciendo uso de un papel de filtro. Finalmente se pesan las formulaciones y se devuelven a la solución.

Formulaciones de administración vaginal para la prevención del herpes genital

El proceso se repite a tiempos preestablecidos hasta obtener un porcentaje de hinchamiento constante o bien hasta que se haya disuelto o erosionado completamente la matriz.

Para su determinación en cada formulación, se empleó la siguiente ecuación:

$$\text{Hinchamiento } [\%] = \frac{(P_t - P_0)}{P_t} \times 100$$

Donde:

- P_t es el peso del comprimido en cada uno de los tiempos establecidos de medida
- P_0 es el peso inicial del comprimido

Se puede determinar además el porcentaje de erosión o disolución de la matriz (DS) para aquellas formulaciones que no desaparecen por completo durante el ensayo haciendo uso de la siguiente fórmula (9):

$$DS = \frac{(P_0 - P_f)}{P_0} \times 100$$

Donde:

- P_0 es el peso inicial del comprimido
- P_f es el peso del comprimido tras conseguir una desecación completa de la formulación después de llevar a cabo el ensayo

Mucoadhesión

La mucoadhesión se puede determinar por proceso *ex vivo* tras fijar las formulaciones a una muestra de mucosa vaginal de origen animal. Dentro de estos ensayos podemos optar por dos tipos de métodos:

Método del vaso de precipitados

Los tejidos correctamente cortados se fijan a la superficie de un vaso de precipitados mediante un polímero de cianoacrilato de metilo. Tras humedecer con 50 μ L de fluido vaginal simulado los comprimidos, éstos se fijan sobre la superficie de la mucosa aplicando una fuerza constante durante 20 s. El vaso se llena con un volumen de 800 mL de fluido vaginal simulado y se mantiene a 37°C. Una vez iniciado el ensayo, la mucoadhesión se monitoriza hasta observarse la completa disolución o erosión o bien el desprendimiento de la forma farmacéutica (22).

Método del cilindro rotativo

La muestra de mucosa vaginal se fija mediante un adhesivo acrílico a un prisma de acero inoxidable. Sobre esta muestra se coloca cada una de las formulaciones, aplicándose sobre ellas un peso constante durante un tiempo determinado. Posteriormente, el prisma se introduce en un equipo de disolución USP 1 que contiene 500 mL de fluido vaginal simulado a 37 °C, girando el prisma sumergido a una velocidad de agitación constante de 30 rpm. Finalmente, el tiempo en el que se observa el desprendimiento de la mucosa, erosión y/o disolución completa de las formas de dosificación es evaluado visualmente por duplicado (23).

Cesión del fármaco

Es de vital importancia conocer los perfiles de liberación del fármaco a partir de las matrices poliméricas desarrolladas. Por ello, se han desarrollado sistemas cuyo objetivo es caracterizar de forma precisa las cinéticas de liberación del fármaco mediante un procedimiento *in vitro*.

La problemática reside en emular las condiciones exactas que se dan en la vagina para conseguir la mayor verosimilitud en los resultados obtenidos.

Así, se ha desarrollado un sistema ampliamente extendido. Para ello, cada uno de los sistemas se introduce en un recipiente y se fija al fondo del mismo. Una forma de conseguirlo es humectar la formulación con un pequeño volumen de fluido vaginal simulado antes de su colocación.

A continuación, se añade un volumen fijo de fluido vaginal simulado con un pH similar al del fluido vaginal real, es decir, dentro del rango 3,5-4,5. Posteriormente, se introduce el vaso en un baño termostatzado a la temperatura corporal (37 °C) y con una oscilación que simule el movimiento corporal (15 rpm).

Una vez preparado el estudio, se toman alícuotas del medio que contiene las formulaciones, reponiendo el volumen retirado con fluido vaginal limpio. En cada una de estas alícuotas extraídas se cuantifica el fármaco liberado mediante un sistema de detección, como puede ser espectroscopía UV-visible. Así pues, y conociendo el coeficiente de extinción molar del fármaco, se pueden determinar las cantidades de fármaco liberado en cada momento (17)

Conclusiones

1. La cesión del principio activo a partir de los sistemas está condicionada por varios parámetros, los cuales determinan la cinética de liberación. Estos parámetros dependen del tipo de formulación, pero también están fuertemente relacionados con la naturaleza del polímero.
2. La naturaleza del polímero empleado como excipiente en las formulaciones estudiadas condiciona la capacidad mucoadhesiva de las mismas.
3. El hinchamiento en medio acuoso de los sistemas obtenidos es un buen indicador de las propiedades del sistema en cuanto a liberación del fármaco, mucoadhesión y erosión o disolución de la matriz en la zona de aplicación.
4. La combinación de dos o más polímeros permite modular de forma más precisa la cesión del fármaco y la mucoadhesión de la formulación que empleando sólo uno de ellos como excipiente, obteniendo así formulaciones vaginales que pueden prevenir la transmisión sexual del herpes genital.

Bibliografía

1. Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. Brock. *Biología de los microorganismos*. Madrid: Pearson education SA; 2009.
2. Keller MJ, Tuyama A, Carlucci MJ, Herold, BC. *Topical microbicides for the prevention of genital herpes infection*. J Antimicrob Chemother. 2005;55:420-423.
3. Cdc.gov [Internet]. Atlanta: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades [Actualizado 23 Ene 2014, Citado 10 Mar 2015].
Disponible en: <http://www.cdc.gov/std/spanish/herpes/stdfact-herpes-s.htm>
4. Záhumnenský J, Vláčil J, Holub M, Vlasicka I, Sojková N, Halaška M. *Antiviral prophylaxis of Neonatal Herpes Infection*. Prague Med Rep. 2010;111(2):142-147.
5. Field HJ, Hodge AV. *Recent developments in anti-herpesvirus drugs*. Br Med Bul. 2013;106:213-249.
6. Valenta C. *The use of mucoadhesive polymers in vaginal delivery*. Adv Drug Deliv Rev. 2005;57:1692-1712.
7. Rodríguez IC, Cerezo A, Salem II. *Bioadhesive delivery systems*. Ars Pharmaceutica. 2000;41(1):115-128.
8. Dittgen M, Durrani MJ, Lehmann K. *Acrylic polymers: A review of pharmaceutical applications*. STP Pharma. 1997;7:403-437.
9. Ceschel GC, Maffei P, Lombardi BS, Ronchi C, Rossi S. *Development of a mucoadhesive dosage form for vaginal administration*. Drug Dev Ind Pharm. 2001;27:541-554.
10. Perioli L, Amrogi V, Pagano C, Massetti E, Rossi C. *New solid mucoadhesive systems for benzydamine vaginal administration*. Colloids Surf B Biointerfaces. 2011;84:413-420.
11. Illum L. *Chitosan and its use as pharmaceutical excipient*. Pharm Res. 1998;15.
12. Dodane V, Vilivalam VD. *Pharmaceuticals applications of chitosan*. J Pharm Sci Technol. 1998;1:246-253.
13. Kim KW, Thomas RL, Lee C, Park HJ. *Antimicrobial activity os native chitosan, degraded chitosan and O-carboxymethylated chitosan*. J Food Prot. 2003;66:1495-1498.

14. Luessen HL, de Leeuw BJ, Langemeyer MW, de Boer AB, Verhoef JC, Junginger HE. *Mucoadhesive polymers in peroral peptide drug delivery: VI. Carbomer and chitosan improve the intestinal absorption of the peptide drug busserelin in vivo*. Arch Pharm Res. 1996;13:1668-1672.
15. Bernkop-Snürch A, Hornof M, Guggi D. *Thiolated chitosans*. Eur J Pharm Biopharm. 2004;57:9-17.
16. Duchene D, Ponchel G. *Principle and investigation of bioadhesion mechanism of solid dosage forms*. Biomaterials. 1992;13:709-714.
17. Bonferoni MC, Sandri G, Rossi S, Ferrari F, Gibin S, Caramella C. *Chitosan citrate as multifunctional polymer for vaginal delivery. Evaluation of penetration enhancement and peptidase inhibition properties*. Eur J Pharm Sci. 2008;33:166-176.
18. Hintzen F, Hauptstein S, Perera G, Bernkop-Schnürch A. *Synthesis and in vitro characterization of entirely S-protected thiolated pectin for drug delivery*. Eur J Pharm Biopharm. 2013;85:1266-1273.
19. Liu Y, Zhu Y, Wei G, Lu W. *Effect of carrageenan on poloxamer-based in situ gel for vaginal use: Improved in vitro and in vivo sustained-release properties*. Eur J Pharm Sci. 2009;37(3-4):306-12.
20. Richardson JL, Trevor TI. *Vaginal delivery of calcitonin by hyaluronic acid formulations*. Drugs Pharm Sci. 1999;98:563-599.
21. Hunt G, Kearney P, Keallaway IW. *Mucoadhesive polymers in drug delivery systems. En: Jhonson P y Lloyd-Jones JG (eds.). Drug delivery systems. Fundamentals and techniques*. Ellis Horwood, Series in Biomedicine, Chichester. 180-199.
22. Perioli L, Ambrogi V, Pagano C, Massetti E, Rossi C. *Chitosan and a modified chitosan as agents to improve performances of mucoadhesive vaginal gels*. Colloids Surf B Biointerfaces. 2008;66:141-145.
23. Kast CE, Valenta C, Leopold M, Bernkop-Schnürch A. *Design and in vitro evaluation of a novel bioadhesive vaginal drug delivery system for clotrimazole*. J Control Rel. 2002;81:347-354.
24. Martín-Villena MJ, Fernández-Campos F, Calpena-Campany AC, Bozal-de Febrer N, Ruíz-Martínez MA, Clares-Naveros B. *Novel microparticulate systems for the vaginal delivery of nystatin: Development and characterization*. Carbohydr polym. 2013;94:1-11.