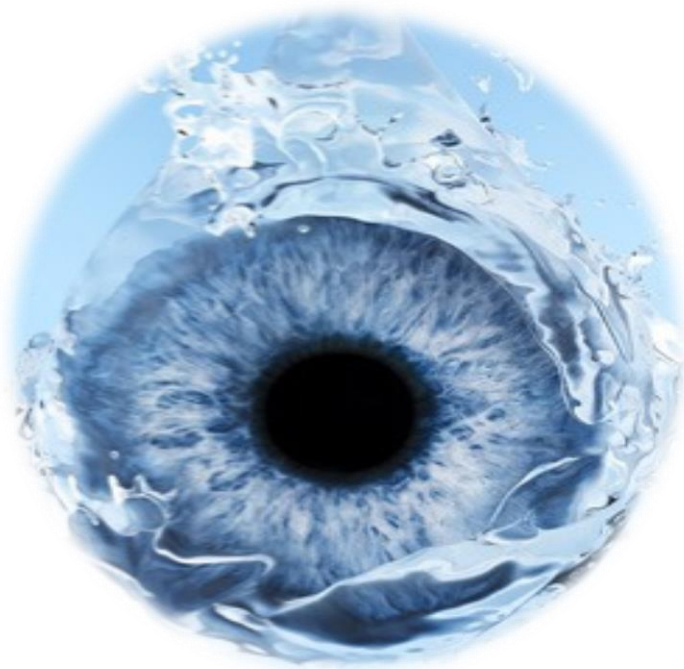




Facultad de Farmacia

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica



TFG

Nuevos sistemas de gelificación in situ en preparados oftálmicos

Concepción Renedo Laguna



UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
TRABAJO FIN DE GRADO
DOBLE GRADO DE FARMACIA Y ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

NUEVOS SISTEMAS DE GELIFICACIÓN IN SITU EN
PREPARADOS OFTÁLMICOS

Concepción Renedo Laguna

Sevilla, julio del 2018

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

Tutor: José Ignacio Pérez Martínez

Revisión Bibliográfica

RESUMEN:

La administración de principios activos mediante la vía tópica ocular supone una disminución considerable de su biodisponibilidad (drenaje naso lacrimal, mecanismos de defensa del ojo como el parpadeo y paso a circulación sistémica), que se traduce en un efecto terapéutico escaso y corto. Actualmente, se están estudiando como nueva alternativa para la vía tópica ocular los sistemas de gelificación *in situ*. Son sistemas de liberación de fármaco que están en fase líquida antes de su administración en el ojo, y que se transforman en gel tras la instilación. Este mecanismo depende de diferentes parámetros como la temperatura, presencia de iones o alteración del pH. Estos sistemas se basan en la utilización de polímeros llamados “estímulo sensible” o “polímeros inteligentes”, dependientes de las condiciones fisicoquímicas del entorno. La gelificación implica un aumento de la viscosidad y, por lo tanto, un aumento de la resistencia al drenaje naso lacrimal. Esto los convierte en sistemas de liberación controlada que consiguen prolongar la acción local del principio activo. En comparación con los sistemas de liberación convencionales presentan las siguientes ventajas: menor frecuencia de la administración de dosis y mayor adherencia terapéutica por parte del paciente. Este trabajo fin de grado consiste en una revisión bibliográfica detallada de los principales polímeros utilizados en estos sistemas. Se ha recopilado información acerca de las concentraciones óptimas de cada polímero. Asimismo, se ha observado como varios autores prefieren la asociación de diferentes materiales poliméricos con el fin de mejorar sus propiedades reológicas y como este efecto sinérgico se traduce en diferentes preparados comerciales. Para su realización se han consultado varios artículos obtenidos de bases de datos científicas, capítulos de libros y páginas webs de instituciones oficiales como la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

PALABRAS CLAVE: gelificación *in situ*, polímeros, ocular, colirio, liberación controlada

ABSTRACT:

The administration of drugs through the ocular topical route supposes a considerable reduction of its bioavailability (naso-lacrimal drainage, protection mechanisms of the eye such as blinking and loss towards systemic circulation), which translates into a short therapeutic effect. Currently, *in situ* gelling systems are being studied as a new alternative for the ocular topical route. They are drug controlled release systems that are in liquid phase before their administration in the eye, and which are transformed into gel after instillation. This mechanism depends on parameters such as temperature, presence of ions or alteration of pH. These systems are based on the use of polymers called "intelligent polymers", depending on the physicochemical conditions of the environment. The gelation involves an increase in viscosity and, therefore, an increase in resistance to naso-lacrimal drainage. This converts them into controlled release systems that prolongs the local action of drugs. Compared with conventional delivery systems, they have the following advantages: lower frequency of dose administration and greater therapeutic adherence by the patient. This final degree project consists of a detailed bibliographic review of the main polymers used in these systems. Information has been gathered about the optimal concentrations of each polymer. Likewise, it has been observed how several authors prefer the association of different polymeric materials in order to improve their rheological properties and how this synergistic effect is translated into different commercial preparations. For its realization, several articles obtained from scientific databases, book chapters and websites of official institutions such as Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios have been consulted.

KEY WORDS:

in situ gelling systems, polymers, ocular delivery, droppable gel, controlled release

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Administración de fármacos por vía tópica oftálmica. Características biofarmacéuticas y farmacocinéticas.....	5
1.1.1 Factores que modifican la biodisponibilidad en la administración tópica ocular.....	5
1.1.2 Penetración Corneal.....	6
1.1.3 Penetración Conjuntival.....	7
1.1.4 Distribución y eliminación.....	8
1.2. Hidrogeles: Nuevas formulaciones oftálmicas por vía tópica.....	8
2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN.....	10
3. METODOLOGÍA.....	10
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
4.1. Gelificación sensible a la presencia de iones.....	11
4.1.1. Goma gellan.....	11
4.1.2. Alginato de sodio.....	14
4.2. Gelificación sensible a la temperatura.....	18
4.2.1. Polímeros naturales y derivados.....	19
4.2.1.1. Celulosa y derivados.....	19
4.2.1.2. Xiloglucan.....	20
4.2.2. Polímeros sintéticos.....	20
4.2.2.1. N- isopropilacrilamida.....	21
4.2.2.2. Poloxamer.....	21
4.3. Gelificación sensible al pH.....	27
4.3.1. Polímeros naturales o semisintéticos.....	27
4.3.1.1. Quitosano.....	27
4.3.1.2. Hidroxipropil goma guar	28
4.3.2. Polímeros sintéticos.....	30
4.3.2.1. Carbómeros.....	30
5. CONCLUSIONES.....	34
6. BIBLIOGRAFÍA.....	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de Goma gellan.....	11
Figura 2. Timoptic XE®.....	12
Figura 3. Timolol GFS.....	13
Figura 4. Estructura química de Alginato de sodio.....	14
Figura 5. Cartens®.....	15
Figura 6. ArteOptic®.....	15
Figura 7. Curvas de disolución de levofloxacin liberado (%CDR) frente al tiempo de las 4 soluciones preparadas (Mahesh et al; 2012).....	17
Figura 8. Estructura química de la celulosa.....	19
Figura 9. Estructura química de Xiloglucan.....	20
Figura 10. Estructura química de N-isopropilacrilamida.....	21
Figura 11. Estructura química de poloxamer.....	21
Figura 12. Esquema de gelificación formando micelas de poloxamer (Ramya et al; 2013).....	22
Figura 13. Imágenes obtenidas mediante microscopio de escaneo criogénico de electrones, de izquierda a derecha: solución 1 (hidrogel de poloxamer al 18%), solución 2 (hidrogel de poloxamer 18% y 0,1% goma gellan) y solución 3 (hidrogel de poloxamer 18% y 0,3% goma gellan) (Dewan et al., 2017).....	26
Figura 14. Azasite®.....	26
Figura 15. Estructura química de quitosano.....	27
Figura 16. Estructura química de la goma guar.....	28
Figura 17. Systane®.....	29
Figura 18. Estructura química del carbómero.....	30
Figura 19. Besivance®.....	32
Figura 20. BromSite®.....	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición cualitativa de Timoptic XE®.....	12
Tabla 2. Composición cualitativa de Timolol GFS®.....	13
Tabla 3. Composición de Cartens®.....	15
Tabla 4. Composición cualitativa de ArteOptic®.....	15
Tabla 5. Porcentaje de liberación de pilocarpina en las 3 formulaciones preparadas (Lin et al; 2004).....	16
Tabla 6. Porcentaje de fármaco liberado in vitro en el preparado comercial y la solución F4 (Mahesh et al; 2012).....	17
Tabla 7. Comparación del porcentaje de fármaco liberado en los tres tipos de soluciones (Liu et al; 2010).....	18
Tabla 8. Resultados obtenidos por Dewan et al. 2017.....	25
Tabla 9. Composición cualitativa de Azasite®.....	26
Tabla 10. Composición cualitativa de Systane® gel drops.....	29
Tabla 11. Composición cualitativa de Besivance®.....	32
Tabla 12. Composición cualitativa de BromSite®.....	33

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Administración de fármacos por vía tópica oftálmica. Características biofarmacéuticas y farmacocinéticas

La administración tópica es la primera línea de tratamiento en la mayoría de los casos pues es la más cómoda para el paciente y la menos invasiva. Sin embargo, esta vía en general conlleva una baja biodisponibilidad ocular cuando se requiere que la sustancia activa llegue al interior del globo ocular.

En el campo de la terapéutica ocular, la administración de fármacos por vía tópica supone un desafío. Por un lado, se busca evitar el efecto de drenaje producido por el pestañeo y la secreción lacrimal que resulta en la eliminación del fármaco y por otro, atravesar las barreras de protección del ojo. La realidad es que la anatomía y fisiología ocular limitan la penetración del fármaco, reduciéndolo a un 3-5% de la dosis administrada (Álvarez-Lorenzo y Concheiro-Nine, 2002).

1.1.1. Factores que modifican la biodisponibilidad en la administración tópica ocular

La Biodisponibilidad constituye la dosis de fármaco que llega al lugar de acción o biofase. Es importante conocer los factores que pueden modificar la biodisponibilidad de las sustancias administradas por esta vía ya que la eficacia terapéutica de la formulación farmacéutica puede verse comprometida.

- La función de protección de la superficie ocular, que impide la entrada de cualquier agente extraño hacia el interior del ojo provoca que la cantidad de fármaco susceptible de atravesar la córnea sea muy inferior a la dosis administrada. Uno de los mecanismos de protección más importantes es el parpadeo. La superficie ocular es continuamente limpiada a través del parpadeo. la frecuencia varía de una persona a otra, pero la media es de 20 parpadeos/ min (Destruel et al; 2017).
- La película lagrimal está compuesta por las lágrimas basales que fluyen constantemente y por las lágrimas reflejas que son secretadas en presencia de estímulos.
- El lagrimeo reflejo ocasionado por el estímulo de la instilación de la formulación diluye la concentración de la sustancia activa administrada. Puede darse en torno a 30-40 segundos después de la instilación del preparado. El volumen secretado de lágrima depende de la irritación producida durante la administración y varía entre 3 μ l/min a 0,4 ml/min este proceso fisiológico provoca una disminución de la biodisponibilidad del fármaco (Andrés et al. 2013).

- La capacidad del saco conjuntival se aproxima a 30 μ l. Una gota de colirio contiene entre 40-60 μ l por lo que una vez instilado, el excedente de volumen es eliminado a través del conducto lacrimonasal, pasando a circulación sistémica y por tanto disminuyendo la biodisponibilidad del fármaco. Esto puede provocar efectos adversos generales y representa uno de los procesos de pérdida de fármaco en la biofase. En un estudio se comprobó que 5 minutos después de la instilación de una solución de timolol para tratar el glaucoma, el 70% de la dosis administrada de éste se encontraba en circulación sistémica (Urtti et al., 1994).
- Unión del fármaco a proteínas presentes en lágrima, córnea y humor acuoso. El porcentaje de unión dependerá de las características del principio activo y del estado ocular: Por ejemplo, los esteroides y antibióticos muestran elevada unión a proteínas. Por otro lado, durante procesos inflamatorios aumenta la concentración de proteínas y, por tanto, incrementa la probabilidad de unión.
- Pérdida por biotransformación del fármaco cuando permanece en contacto con las enzimas de tejidos oculares.

Por todo esto, sólo entre el 3-5% de la dosis de principio activo administrada atraviesa el epitelio corneal y conjuntival y alcanza el segmento anterior del ojo, mientras que el 50-90% llega a circulación sistémica (Tangri y Khurana, 2011). La solución más fácil aparentemente sería aumentar la concentración de fármaco, pero no es factible dado que podría producir efectos tóxicos y daño en las células de la superficie corneal.

1.1.2. Penetración Corneal

Cuando se administra una solución por vía tópica, la formulación entra en contacto con la superficie ocular conformada por los epitelios corneal y conjuntival, las glándulas lagrimales y accesorias y las de Meibomio. Recubriendo esta zona está el film precorneal compuesto por la lágrima. La primera zona con la que entra en contacto es la córnea, por tanto, ésta se considera la ruta principal de penetración de fármacos. La córnea supone una barrera muy efectiva al paso de fármacos: es un tejido con espesor central de 0,5 a 0,67 mm aproximadamente (Hillery et al., 2001), transparente, avascular y muy innervado. Su función es proteger los tejidos que se encuentran en el interior del globo ocular. Está compuesta por 5 capas: el epitelio (capa más externa), la membrana de Bowman, el estroma, la membrana de Descemet y el endotelio (capa más interna). De ellas las que tienen un papel más importante en la penetración de sustancias activas son el epitelio y el estroma.

Existen dos vías por las cuales el fármaco puede traspasar el epitelio: la vía transcelular (el fármaco atraviesa las células epiteliales mediante procesos de difusión pasiva) o la vía paracelular (el fármaco penetra por el espacio de separación entre células epiteliales). Las propiedades del fármaco (lipofilia, carga, grado de ionización, peso molecular...) definen la utilización de una vía u otra.

El factor limitante de la ruta paracelular es el tamaño molecular del principio activo, sobre todo en el caso de macromoléculas. Las uniones intercelulares (zonas donde las membranas plasmáticas están fusionadas mediante proteínas específicas) dificultan el paso de principios activos por esta vía. Por ello, se han desarrollado "promotores de absorción" que alteran dichas uniones y aumentan el paso del fármaco. Sin embargo, al atentar contra la integridad de las células epiteliales se producen daños y reacciones adversas. Se ha estudiado que el diámetro de poro del epitelio corneal es aproximadamente 2nm, de este modo sólo pueden atravesarlo moléculas de pequeño peso molecular (<500 Da) (Hamalainen et al., 1998); mientras que la ruta transcelular está condicionada por el coeficiente de reparto lípido-agua del fármaco y el carácter hidrófilo o lipófilo de las distintas capas de la córnea.

La córnea actúa como una barrera bifásica: el epitelio y el endotelio presentan naturaleza lipofílica y el estroma naturaleza hidrofílica. Por tanto, el paso de sustancias liposolubles está favorecido a través del epitelio y endotelio, mientras que el estroma presenta alta permeabilidad para sustancias hidrosolubles. El epitelio presenta un carácter lipófilo y además sus capas exteriores tienen uniones intercelulares muy fuertes, lo que dificulta el paso de sustancias hidrófilas por vía transcelular y su acceso se limita a los pequeños poros que se encuentran entre las células (vía paracelular). Las sustancias de liposolubilidad elevada favorecen el paso a través del epitelio y endotelio. El paso de sustancias hidrófilas está favorecido en el estroma (Ramsay et al., 2018).

Los principios activos que dependiendo de las condiciones del medio varían su grado de ionización, pasan el epitelio en su forma no ionizada y el estroma en su forma ionizada. Por ejemplo, el alcaloide pilocarpina atravesará como base libre lipófila el epitelio y endotelio mientras que la forma ionizada difundirá más fácilmente por el estroma.

1.1.3. Penetración Conjuntival

La conjuntiva es otra de las primeras zonas donde la formulación entra en contacto. El paso del fármaco a través de la conjuntiva también puede darse por vía transcelular o paracelular. Ésta es más permeable a sustancias hidrófilas que la córnea, debido a que los espacios intercelulares son mayores (5,5 nm frente a 2 nm en la córnea) (Andrés et al., 2013).

1.1.4. Distribución y eliminación

Tras atravesar la córnea o la conjuntiva, el fármaco llega a la cámara anterior. Cuando el fármaco accede al humor acuoso, se establece un equilibrio de concentración del principio activo con los tejidos de la cámara anterior. En este punto, la sustancia activa se enfrenta a mecanismos fisiológicos de eliminación que limitan su acceso a otros tejidos.

Se considerará un proceso eliminatorio todo aquel que conlleve una disminución de la concentración del principio activo en el lugar de acción. El propio flujo del humor acuoso empuja al fármaco hacia la malla trabecular y el conducto de Schlemm provocando su eliminación. Otra vía de eliminación es la distribución a tejidos adyacentes como por ejemplo la vía uveo escleral (Järvinen et al., 1995).

1.2. Hidrogeles: Nuevas formulaciones oftálmicas por vía tópica

La liberación de fármaco en la vía oftálmica es uno de los grandes retos a los que se enfrenta la industria farmacéutica hoy en día. Tal como se ha visto anteriormente, la anatomía y fisiología únicas del ojo dificultan que se alcance una concentración efectiva del fármaco en el lugar de acción. Es por ello por lo que se están desarrollando nuevos sistemas de liberación con los siguientes objetivos: incrementar la permeabilidad corneal y prolongar el tiempo de contacto del fármaco con la superficie ocular para mejorar la biodisponibilidad de la sustancia activa (Mahesh y Manjula, 2012).

Para la optimización de las formulaciones por vía tópica ocular se emplean diferentes estrategias como el empleo de profármacos, el uso de promotores de la penetración, e incluso el empleo de sistemas de transporte coloidales y vesiculares.... En general, con estas estrategias se consigue aumentar la dosis de fármaco que traspasa la córnea, sin embargo, para prolongar el tiempo de contacto del principio activo con la superficie ocular deben mejorarse las propiedades reológicas y mucoadhesivas de la formulación. Para ello la industria farmacéutica se ha centrado en los últimos años en el desarrollo de formulaciones oculares poliméricas o hidrogeles.

Los hidrogeles son dispersiones de polímeros hidrofílicos. Éstos son capaces de atrapar disolventes acuosos o agua en el interior de su estructura tridimensional. La gelificación se da cuando la red de cadenas poliméricas envuelve todo el disolvente y éste queda inmovilizado en su interior, presentando ese aspecto sólido o de gel.

La gelificación o formación de hidrogeles puede darse durante la elaboración (geles preformados) o *in situ* tras la administración (Achouri et al., 2012).

Los hidrogeles pueden clasificarse en 3 categorías:

- Polímeros con alta viscosidad: consiguen disminuir el drenaje lagrimal y aumentan la biodisponibilidad del fármaco.
- Polímeros mucoadhesivos: interaccionan con la mucina ocular aumentando el tiempo de contacto con los tejidos oculares.
- Gelificación *in situ*: Son formulaciones líquidas que contienen polímeros en solución. Al instilarse en el ojo se produce la transición de fase líquida a gel al entrar en contacto con las condiciones fisiológicas oculares. La gelificación es causada por variación en distintos estímulos tales como pH, temperatura o la fuerza iónica (Thrimawithana et al; 2012).

Los polímeros empleados en la elaboración de geles preformados son derivados celulósicos, el polivinilalcohol, los carbómeros y el ácido hialurónico. Los geles preformados son soluciones muy viscosas que no se modifican cuando se instilan en el ojo. Dificultan su administración produciendo sensación de visión borrosa, bordes de los párpados pegados y lagrimeo (Achouri et al., 2012).

La gelificación *in situ* presenta una clara ventaja sobre los geles preformados con polímeros, al igual que los colirios convencionales, son fáciles de administrar y una vez administrados son capaces de prolongar el tiempo de contacto del fármaco con la superficie ocular gracias a la gelificación. Es por ello que este trabajo se centrará en la gelificación *in situ* como técnica novedosa en la administración tópica de fármacos oculares.

Varios estudios preclínicos indican que los sistemas de gelificación *in situ* podrían mejorar el tratamiento de enfermedades que afectan a la superficie o la cámara anterior del ojo, como glaucoma (Gupta y Vyas, 2010; Andrés et al; 2013), cataratas (Wu et al; 2011), ojo seco (Oechsner y Keipert, 1999), uveítis (Song et al; 2013) e infecciones microbianas incluyendo conjuntivitis o queratitis (Sultana et al; 2006; Abraham et al., 2009).

Existen varias formulaciones comercializadas, sobre todo para tratar el glaucoma y la conjuntivitis bacteriana. El glaucoma es una enfermedad crónica cuyo tratamiento consiste en la administración de una gota de solución convencional en el ojo afectado como mínimo dos veces al día. sin embargo, se ha demostrado que una gota al día de una formulación de gelificación *in situ* mantiene e incluso mejora la eficacia del fármaco (Sun y Zhou, 2018).

La otra patología también muy común es la conjuntivitis bacteriana, se trata de una infección aguda que requiere gran cantidad de antibióticos durante un corto periodo de tiempo. En este caso, la utilización de Azasite® basado en la tecnología de gelificación *in situ* permite reducir la posología a una o dos gotas diarias (Opitz y Harthan, 2012).

2. OBJETIVOS

En este Trabajo Fin de Grado se procederá a buscar información sobre los distintos mecanismos de gelificación *in situ*, los excipientes utilizados en este tipo de formulaciones, así como los preparados comerciales ya existentes con el fin de profundizar en esta nueva alternativa terapéutica.

3. METODOLOGÍA

Se trata de un trabajo de revisión bibliográfica, para el cual se han utilizado 37 artículos, 2 libros y 3 páginas web. El proceso de documentación se ha desarrollado entre los meses de septiembre de 2017 y mayo de 2018. Para ello se ha realizado una búsqueda exhaustiva en bases de datos como PubMed o ScienceDirect. Se han seleccionado artículos tanto en inglés como en español y aquellos en los que se pudiera acceder al texto completo.

Se realizó una primera búsqueda que se centró en obtener información general sobre la gelificación *in situ*, para valorar el volumen de información publicado al respecto, que permitió establecer los puntos clave del índice del trabajo.

A continuación, se realizó una segunda búsqueda. Como palabras clave se eligieron: “gel *in situ*, ocular, liberación prolongada” para la búsqueda en español y “droppable gel, ocular delivery, *in situ* systems” para la búsqueda en inglés.

La composición de los diferentes preparados comerciales se ha consultado directamente en la página web de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) y de la US National Library of Medicine y de los laboratorios InSite Vision Incorporated.

Por último, se realizó una búsqueda más específica para buscar información sobre cada apartado del trabajo. El *modus operandi* consistía en buscar varios artículos con información específica, se leían y se descartaban o incluían si el contenido se adaptaba a los requisitos del apartado.

Los criterios de inclusión aplicados son los siguientes: artículos a partir del año 2000, (salvo tres excepciones que tratan sobre la fisiología del ojo que son anteriores), acceso al texto completo, estudios *in vitro* e *in vivo* y contenido.

Los artículos seleccionados son los que se han considerado más relevantes y de mayor interés para el tema que se trata en este trabajo fin de grado.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para desarrollar la técnica de gelificación *in situ*, se necesita un polímero con una conformación dependiente de las condiciones fisicoquímicas del entorno. Teniendo en cuenta la fisiología de la superficie ocular, los inductores más comunes de fenómenos de gelificación *in situ* son pequeños cambios en las siguientes variables fisicoquímicas: temperatura, pH y fuerza iónica cuando la formulación es administrada en el saco conjuntival.

La gelificación se basa en la formación de un entramado tridimensional en el que las cadenas del polímero engloban a la fase hidrofílica aumentando la viscosidad y elasticidad del sistema por lo que presenta una mayor resistencia al flujo lacrimal (Álvarez-Lorenzo y Concheiro-Nine, 2002).

De las siguientes tres variables fisicoquímicas, de la que más estudios se han realizado es sobre gelificación *in situ* variando la fuerza iónica. Por supuesto se han investigado geles termorregulados como Pluronic® (Dewan et al., 2015; Krauland et al; 2003; Dewan et al; 2017) y formulaciones sensibles a los cambios de pH compuestas por quitosano y Carbopol® (Qi et al; 2007).

A continuación, se expondrán los distintos polímeros que se han estudiado para procesos de gelificación *in situ*, dependiendo de las variables fisicoquímico que controlan la gelificación.

4.1. Gelificación sensible a la presencia de iones

La transición de fase líquida a gel de algunos polímeros es provocada por los cationes presentes en el fluido lagrimal. En la lágrima podemos encontrar Ca^{+2} , K^+ , Na^+ , Mg^{+2} . Esta propiedad se ha estudiado en profundidad para el desarrollo de geles *in situ* que permitan la liberación controlada de fármaco a nivel ocular. Principalmente son dos los polímeros que dependen de la fuerza iónica para gelificar: la goma gellan y el alginato de sodio. Veremos sus características por separado:

4.1.1. Goma gellan

La goma gellan es un polisacárido exocelular secretado por *Sphingomonas elodea* (Achouri et al; 2012). Es un heteropolisacárido lineal y aniónico compuesto por glucosa, ácido glucurónico y ramnosa en

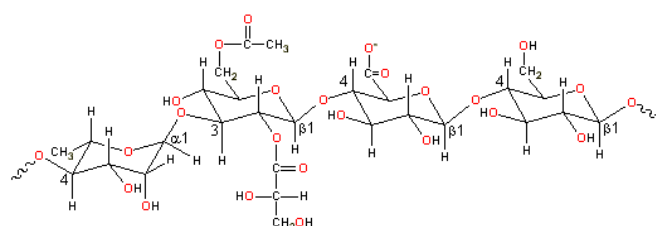


Figura 1. Estructura química de Goma gellan

proporción molecular 2:1:1. Es un polímero con unidad de repetición tetrasacárida (Liu et al., 2010). Químicamente se trata de un hidrocoloide soluble en agua e insoluble en etanol. Su apariencia en seco es la de un polvo blanco. Cuando se añaden cationes tales como potasio, calcio, magnesio y/o sales de sodio, la dispersión de la goma forma geles reversibles.

Anteriormente se utilizaba como aditivo en alimentación (E-418) y actuaba como estabilizador y agente gelificante. A pesar de su origen microbiano resulta ser muy segura y eficaz cuando se utiliza en humanos, por lo que resulta ser un polímero de gelificación *in situ* muy interesante y se ha estudiado en profundidad debido a su biocompatibilidad y baja citotoxicidad.

La solución acuosa de goma gellan presenta baja viscosidad y muestra muy buenas propiedades de flujo. Sin embargo, se convierte en un gel firme y estable cuando entra en contacto con el fluido lagrimal. El mecanismo de gelificación se da por la formación de enlaces entre las hélices del polisacárido cargadas negativamente y los cationes mono y divalentes de la lágrima (Ca^{+2} , K^+ , Na^+). En las condiciones iónicas de las lágrimas se forma una red tridimensional mediante enlaces entre cationes y cargas negativas del polímero y puentes de hidrógeno con el agua presente en la lágrima (Destruel et al; 2017).

Algunos estudios aseguran que la gelificación se produce mejor cuando hay mayor concentración de cationes divalentes como Mg^{+2} y Ca^{+2} en lágrima. Sin embargo, también se ha comprobado que una alta concentración de sodio en el fluido lagrimal (2,6 g/L) es suficiente para inducir la gelificación (Agrawal et al; 2012).

La goma gellan se comercializa como Gelrite®, que es el polisacárido natural deacetilado. Se ha utilizado como excipiente de liberación controlada en el producto comercial Timoptic XE® para el tratamiento del glaucoma (Liu et al., 2010). Debido a la liberación sostenida del fármaco, Timoptic XE® se administra una vez al día mientras que otros preparados anti glaucomatosos deben instilarse como mínimo dos veces al día siendo más tedioso para el paciente.

Tabla 1. Composición cualitativa de Timoptic XE®



Figura 2. Timoptic XE®

Timoptic XE®	
Maleato de Timolol	Principio activo
Goma gellan	Vehículo. Polímero de gelificación <i>in situ</i>
Trometamina	Sistema tampón
Manitol	Agente osmótico
Bromuro de dimetil dodecil-bencil-amonio	Conservante
Agua para inyectables	Vehículo

Otro preparado comercial parecido al anterior es Timolol GFS®.

Tabla 2. Composición cualitativa de Timolol GFS®



Figura 3. Timolol GFS®

Timolol GFS®	
Maleato de Timolol	Principio activo
Goma Xantano	Vehículo. Polímero de gelificación <i>in situ</i>
Trometamina	Sistema tampón
Ácido bórico	Conservante/sistema tampón
Manitol	Agente osmótico
Bromuro de benzododecinio	Conservante
Polisorbato 80	Demulcente/lubricante
Agua para inyectables	Vehículo

Al entrar en contacto con la superficie ocular, Timolol GFS® se convierte en un gel. La goma xantano es un polisacárido de alto peso molecular que gelifica en presencia de lisozima (enzima presenta en la lágrima).

Se disponen de un amplio número de investigaciones donde se utiliza Gelrite® como vehículo de liberación de fármaco (Carlfors et al; 1998; Krauland et al; 2010; Ameetuzzafar et al; 2017). La discusión se restringirá a los descubrimientos más interesantes. Los dos requisitos más importantes en un gel de formación *in situ* son la capacidad de gelificación y viscosidad óptima. El objetivo es que el preparado presente una viscosidad óptima para que sea fácil de administrar en forma de gotas y que a la vez entre en transición de fases de líquido a gel rápidamente al interactuar con los iones de la lágrima. Estas características dependen de la concentración del polímero gelificante. Recientemente se han realizado numerosos estudios para determinar cuál es la concentración adecuada de goma gellan en las preparaciones de gelificación *in situ*.

Uno de ellos es el llevado a cabo por Sun y Zhou en 2018. En su última investigación desarrollan un sistema de liberación controlada de brinzolamida vehiculizada en goma gellan (GG) cuyo objetivo principal es disminuir la frecuencia de las dosis y evitar las reacciones adversas. Sun y Zhou establecen que la concentración óptima del GG debería ser 0,5% p/v. Estos resultados coinciden con los presentados por Dewan y colaboradores en 2017. En los preparados de gelificación *in situ* en solución con fluido lagrimal la liberación del fármaco ocurre durante más de 12 horas después de su administración debido al mecanismo de liberación controlada. La gelificación promueve la retención del principio activo y aumenta la biodisponibilidad. A mayor

concentración de goma gellan, menor resulta ser la velocidad de liberación del fármaco (Sun y Zhou, 2018). El test Draize se utiliza para evaluar en conejos la irritación ocular que se produce al aplicar tanto la solución comercial de brinzolamida como los geles *in situ* y una solución salina como control. Se demostró que los preparados de gelificación *in situ* no alteran los tejidos oculares de los conejos y que son menos irritantes que la solución comercial de brinzolamida.

Con la solución de brinzolamida la presión intraocular se reduce un 27% durante la primera hora tras la administración, pero rápidamente vuelve a su valor original (21,2mmHg) después de 6 horas. Sin embargo, la presión intraocular en los conejos tratados con preparado de gel *in situ* de brinzolamida presenta una leve disminución del 18,2% durante la primera hora tras la administración y va incrementándose poco a poco su valor. 6 horas después de su administración la presión intraocular presenta un valor de 18,6 mmHg (Sun y Zhou, 2018). Es decir, los estudios farmacodinámicos muestran que la reducción de la presión intra ocular en los conejos tratados con la solución de gel *in situ* es mayor que en los conejos tratados con la solución de brinzolamida.

4.1.2. Alginato de Sodio

El alginato es un polisacárido natural extraído de las algas Diatomeas. Pertenece a una familia de polímeros lineales y está compuesto por residuos de β -D ácido Manurónico y α -L ácido Glucurónico. Las características de los

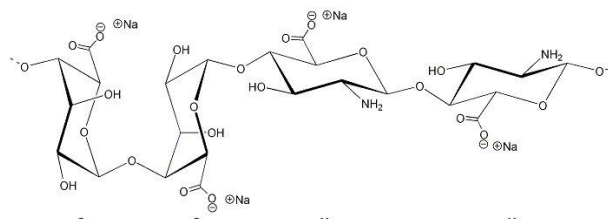


Figura 4. Estructura química de Alginato de sodio

hidrogeles de alginato como la fuerza mecánica y la porosidad dependen de la composición del gel, tipo de enlace iónico y concentración y viscosidad de la solución. El alginato es altamente hidrofílico, biocompatible y bastante económico por lo que es muy utilizado en sistemas de liberación de fármacos. Se produce la formación de hidrogeles estables en presencia de cationes divalentes a bajas concentraciones. El mecanismo de gelificación se basa en la interacción iónica entre los cationes y el grupo funcional carboxilo cargado negativamente presente en los residuos de ácido glucurónico de las cadenas poliméricas (Lin et al; 2004).

En el proceso de gelificación se forma una red tridimensional debido a la preferencia de los iones de calcio por las fracciones de glucurónico. Cuando la concentración de ácido glucurónico en el hidrogel de alginato supera el 65% se ha comprobado que gelifica de forma instantánea y disminuye la velocidad de liberación del fármaco en comparación con otros hidrogeles de alginato donde el contenido en ácido glucurónico sea menor (Agrawal et al; 2012).

Como ejemplos de preparados comercializados, Cartens® y ArteOptic® son sistemas de gelificación *in situ* vehiculizados en ácido algínico. El principio activo es clorhidrato de carteolol, una beta bloqueante utilizado en el tratamiento del glaucoma. Debe aplicarse 1 gota al día en el ojo afectado. Las siguientes tablas muestran su composición.



Figura 5. Cartens®



Figura 6. Arteoptic®

Tabla 3. Composición de Cartens®

Cartens®	
Clorhidrato de carteolol 1,0 g	Principio activo
Ácido algínico 1,0 g	Vehículo. Polímero de gelificación <i>in situ</i> .
Cloruro de sodio 0,124 g	Agente isotonzante
Fosfato de sodio diácido dihidrato 0,790 g	Sistema tampón.
Cloruro de benzalconio 0,010g	Conservante
Solución de hidróxido de sodio al 10% p/v	Ajuste de pH
Agua purificada	Vehículo

Tabla 4. Composición cualitativa de ArteOptic®

ArteOptic®	
Hidrocloruro de carteolol	Principio activo
Ácido algínico	Vehículo. Polímero de gelificación <i>in situ</i>
Cloruro de benzalconio	Conservante
Dihidrogenofosfato de sodio dihidrato	Sistema tampón
Fosfato de sodio dodecahidrato	Sistema tampón
Hidróxido de sodio	Ajuste de pH
Cloruro de sodio	Agente isotonzante
Agua purificada	Vehículo

Se han realizado numerosos estudios sobre el alginato de sodio en el campo de la liberación ocular de fármacos, obteniéndose conclusiones bastante interesantes. Por ejemplo, el sistema de gelificación *in situ* de alginato al 2% con alto contenido en glucurónico parece ser un excelente vehículo para la liberación prolongada de pilocarpina. Concentraciones menores al 2% no formaban un gel estable y firme *in situ* (Lin et al; 2004).

Para estudiar su eficacia en combinación con otros polímeros, Lin et al. prepararon una solución de Pluronic® al 14% y alginato al 0,1% y compararon las propiedades reológicas tanto de la mezcla como de las soluciones de Pluronic® al 14% y alginato al 2% por separado.

En cuanto a la velocidad de liberación de fármaco, la mezcla presenta mejores resultados que las soluciones simples.

Tabla 5. Porcentaje de liberación de pilocarpina en las 3 formulaciones preparadas (Lin et al; 2004)

Formulaciones	% de pilocarpina liberada
2% de alginato de sodio	77% tras 15 min
	100% tras 90 min
14% Pluronic®	21% tras 15 min
	100% tras 4 h
0,1% alginato de sodio / 14% Pluronic®	12% tras 15 min
	90% tras 6 h

Estos resultados muestran que el sistema de combinación de polímeros retiene mejor la pilocarpina que las soluciones individuales.

También se han utilizado promotores de viscosidad como la hidroxipropilmetil celulosa (HPMC) para mejorar las características de gelificación del alginato como vehículo de levofloxacino, un antibacteriano de amplio espectro (Mahesh et al; 2012). Se prepararon 4 soluciones con una concentración de HPMC del 1% y 0,25%, 0,5%, 0,75% y 1% de alginato de sodio. Como era de esperar, se observó que, a mayor concentración de alginato, mayor era la viscosidad de la solución. En la figura 1 se muestran los estudios de liberación de fármaco *in vitro* para las formulaciones ensayadas. Como puede observarse, la solución que contenía el 1% de alginato (F4) tenía el mejor perfil de liberación de fármaco pues lo retenía durante 8 horas (Mahesh et al; 2012).

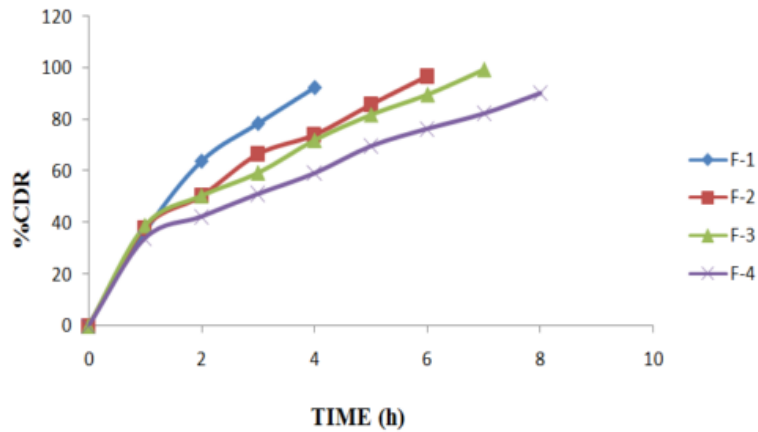


Figura 7. Curvas de disolución de levofloxacin liberado (%CDR) frente al tiempo de las 4 soluciones preparadas

Además, Mahesh et al compararon la formulación 4 que era la que mejor características presentaba con un preparado comercial convencional para comprobar que realmente se trataba de un sistema novedoso. El perfil de liberación de fármaco de ambas se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 6. Porcentaje de fármaco liberado *in vitro* en el preparado comercial y la solución F4 (Mahesh et al; 2012)

	Preparado comercial convencional	Solución F4 (1% alginato/1% HPMC)
60 min. Tras administración	41,69% fármaco liberado	33,98% fármaco liberado
180 min tras administración	99,35% fármaco liberado	51,16% fármaco liberado

Observando los valores presentados en la tabla, se concluye que la solución compuesta por 1% de HPMC y 1% de alginato de sodio presenta el comportamiento adecuado para ser utilizado como vehículo en un sistema de gelificación *in situ* de liberación prolongada de levofloxacin en vía tópica ocular.

Es interesante señalar como en 2010 Liu y colaboradores diseñaron una formulación compuesta por Gelrite® y alginato de sodio (0,2% y 0,6% respectivamente). Además, prepararon dos soluciones de ambos polímeros por separado y establecieron que la concentración óptima de

Gelrite® como vehículo de un sistema de gelificación *in situ* era 0,3% (coincidiendo con el estudio llevado a cabo por Dewan et al; 2017) y que la de alginato era 1,4%.

Evaluaron las propiedades reológicas, la liberación de fármaco *in vitro* y la cinética del fármaco *in vivo* de las tres soluciones. Todas las soluciones de Gelrite® presentan mayor viscosidad que las de alginato. La viscosidad de la solución polimérica puede ser incrementada con la combinación de las dos soluciones individuales. Con la combinación de ambas se consigue una firmeza del gel similar, pero con menor concentración de ambos polímeros y con mayor viscosidad, que disminuye la pérdida del fármaco durante la instilación. En la tabla 4 se resumen los aspectos más significativos del estudio.

Tabla 7. Comparación del porcentaje de fármaco liberado en los tres tipos de soluciones (Liu et al; 2010)

	Solución del alginato 1,4%	Solución de Gelrite® 0,3%	Solución 0,2% Gelrite®/ 0,6% alginato
Tras 1 hora	73,6% de fármaco liberado	47,2% de fármaco liberado	29,8% de fármaco liberado
Tras 6 horas	95,1% de fármaco liberado	94,6% de fármaco liberado	87,8% de fármaco liberado

Tras este estudio queda demostrado que la mezcla de polímeros presenta el mejor perfil de liberación prolongada del fármaco. Aunque las condiciones *in vitro* pueden ser diferentes a las fisiológicas en el propio ojo, no cabe duda de que el sistema Gelrite®/alginato tiene la habilidad de retener el fármaco y que puede ser usado como sistema de gelificación *in situ* para liberación de principio activos en el ojo.

4.2. Gelificación sensible a la temperatura

Estos sistemas de gelificación *in situ* responden a un cambio en la temperatura como estímulo. La temperatura a la cual se produce la transición de líquido a gel se conoce como temperatura de gelificación (TG). Cuando la temperatura es menor de la TG, se favorece la formación de puentes de hidrogeno entre los grupos hidrofílicos de la superficie polimérica y las moléculas de agua, de esta forma se promueve la disolución de las cadenas del polímero y el sistema permanece en forma de solución. Cuando la temperatura es más alta que la TG, los puentes de hidrógeno se ven alterados y como consecuencia aumentan las interacciones hidrofóbicas facilitando la transición entre las fases líquida a gel.

Cabe destacar el creciente interés de la comunidad científica por estos sistemas sensibles a la temperatura durante la última década. Soluciones poliméricas capaces de gelificar a una

temperatura cercana a la fisiológica que, además, liberan el fármaco de forma controlada supone un gran avance para la industria farmacéutica.

4.2.1. Polímeros Naturales y derivados

En la naturaleza existen varios polímeros con capacidad de gelificar *in situ*. Éstos han sido utilizados solos o en combinación para diseñar sistemas novedosos de liberación de fármacos.

4.2.1.1. Celulosa y derivados

La celulosa es un polisacárido insoluble en agua que consiste en una cadena lineal con cientos de unidades de β (1-4) D-glucosa unidas. Se encuentra en los tejidos de sostén de las plantas.

Los derivados de la celulosa consisten en la alquilación del polímero natural y muestran propiedades de gelificación *in situ* a bajas concentraciones (1-10%) (Sultana et al; 2006).

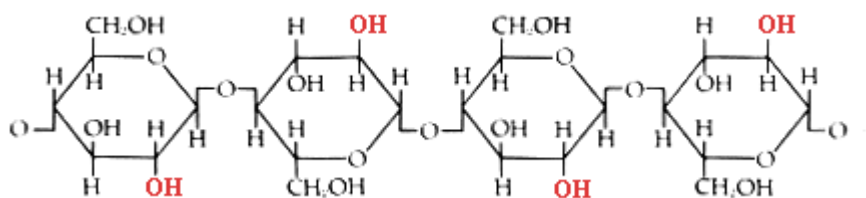


Figura 8. Estructura química de la celulosa

Los derivados de celulosa más utilizados son: Metil Celulosa (MC) y Hidroxipropilmetil celulosa (HPMC). Ambos gelifican a altas temperaturas: entre 40-50°C y 75-90°C respectivamente (Bermúdez et al; 2012). Para que puedan utilizarse en la vía ocular, es necesario disminuir dicha temperatura de gelificación mediante modificaciones de la estructura.

Bhowmik y colaboradores dan solución a este problema mediante la adición de Cloruro sódico (5-7%). Esta sal disminuye la temperatura de gelificación de MC a 32-34°C. El mismo efecto se consigue con la adición de otras sales como cloruro potásico (8-9%) o sodio bicarbonato (5%) que reducen la temperatura de gelificación por debajo de 37°C (Bhowmik et al; 2011). Sin embargo, aunque con la adición de sales se consiga el objetivo, pueden alterar la osmolaridad de la solución y alterar el epitelio corneal. Por ello, no se suelen emplear los derivados de la celulosa único polímero sensible a la temperatura en sistemas de gelificación *in situ*, sino que se utilizan como promotores de la viscosidad en combinación con otros polímeros. Tal es el caso, como se vio en el apartado anterior, de la formulación de levofloxacin compuesta por 1% de HPMC y 1% de alginato de sodio que presentaba mejores propiedades reológicas tanto por aumento de la viscosidad como la liberación sostenida de levofloxacin que las soluciones de ambos polímeros por separado (Mahesh et al; 2012).

El incremento de la viscosidad reforzará el efecto terapéutico prolongando el tiempo de permanencia en la córnea del fármaco en la estructura del gel. Se debe determinar el rango de viscosidad adecuado para combatir el drenaje del gel en la superficie ocular. La retención de fármaco se produce cuando la viscosidad alcanza un valor crítico de 10 mPa. Las formulaciones con viscosidad aproximada de 100mPa son las que mejor perfil reológico presentan (Agrawal et al; 2012).

4.2.1.2. Xiloglucan

Xiloglucan es un polímero natural procedente de las semillas del tamarindo. Su esqueleto está compuesto por residuos de β -(1-4)-glucosa con cadenas laterales de β -(1-2)-galactoxilosa. El xiloglucan sólo es termosensible cuando se elimina más del 35% de los residuos de galactosa mediante una β -galactosidasa procedente de un hongo (Bermúdez et al; 2012). Si este porcentaje aumenta de 35% a 58%, la temperatura de gelificación del xiloglucan desciende de 40°C a 5°C (Klouda y Mikos, 2008).

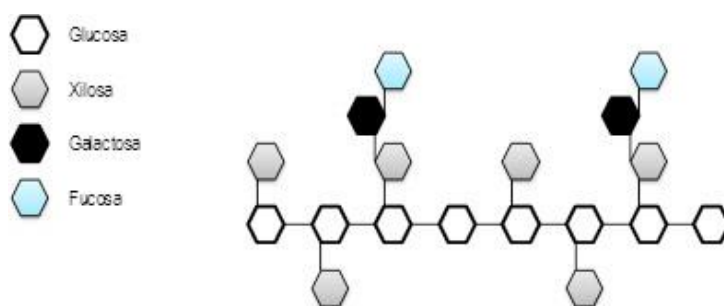


Figura 9. Estructura química de Xiloglucan

Se compara un preparado de xiloglucan al 1,5% con otro preparado de poloxamer 407 para estudiar el perfil de liberación de hidrocloreuro de pilocarpina. Se obtuvieron resultados muy parecidos en ambas soluciones, probando que el xiloglucan podría utilizarse como vehículo de fármacos para liberación controlada ocular (Miyazaki et al; 2001). Esto resulta ser un hallazgo bastante interesante pues xiloglucan es un polímero natural que podría utilizarse como potencial sustituto de los polímeros sintéticos como el poloxamer 407 y además a una concentración mucho más baja.

4.2.2. Polímeros sintéticos

Un gran número de polímeros termosensibles han sido fabricados en la industria. Sin embargo, la discusión se limitará a los utilizados en sistemas de liberación de fármacos a nivel ocular.

4.2.2.1. N-isopropilacrilamida

La solución acuosa del polímero N-isopropilacrilamida sufre una transición termosensible a gel aproximadamente a 32°C (Bermúdez et al; 2012).

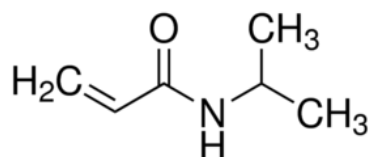


Figura 10. Estructura química de N-isopropilacrilamida

Por debajo de 32°C presenta un comportamiento hidrofílico pues se forman puentes de hidrógeno entre las cadenas poliméricas y el agua y se produce la disolución del polímero. Por encima de 33°C tiene un comportamiento hidrofóbico pues al aumentar la temperatura dichas interacciones se colapsan produciéndose un reordenamiento de las cadenas poliméricas y se forma el gel (Agrawal et al; 2012).

Se pueden incluir otros monómeros como ácido acrílico o acrilamida para obtener una temperatura de gelificación cercana al valor corporal (Bermúdez et al; 2012).

Otra combinación sería la de N-isopropilacrilamida con quitosano (sensible al pH) para vehicular un preparado de timolol maleato para el tratamiento del glaucoma. Cao (2007) determinó que la temperatura de gelificación de la mezcla de polímeros era 32°C. Los estudios de cinética de liberación de fármaco *in vitro* demostraron que dicha solución polimérica era un potencial sistema de gelificación *in situ* pues era capaz de reducir la presión intra ocular durante 12 h, casi el doble de tiempo que el colirio convencional (Cao et al; 2007).

4.2.2.2. Poloxamer

También conocidos como polímeros tribloque o Pluronic®.

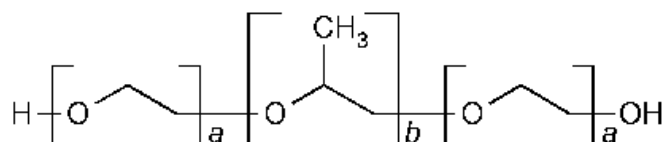


Figura 11. Estructura química de poloxamer

Estos polímeros están formados por dos cadenas laterales hidrófilas de óxido de etileno y una cadena central hidrofóbica de óxido de propileno. Se trata de un polímero anfifílico donde el

número de residuos hidrófilos (óxido de etileno) y el de residuos hidrófobos (óxido de propileno) puede variar. De este modo existe una amplia gama de polímeros con distintos pesos moleculares que varían desde 1.100 a 14.000. Se puede inducir la gelificación a temperatura fisiológica modificando la composición, concentración y peso molecular. De todos ellos, el más estudiado por la tecnología farmacéutica es el Pluronic F127® o poloxamer 407 (Klouda y Mikos, 2008).

Poloxamer 407 a una concentración del 20% p/v se comporta como un líquido viscoso a temperatura ambiente (25°C) y gelifica a la temperatura corporal (37°C) (Bermúdez et al; 2012).

El mecanismo de gelificación es mediante la formación de micelas. La concentración crítica micelar (CMC) es la concentración necesaria para que se formen las micelas. Generalmente el valor de CMC utilizado en la industria farmacéutica es 1 μ M-1 mM a 37°C (Ramya et al; 2013).

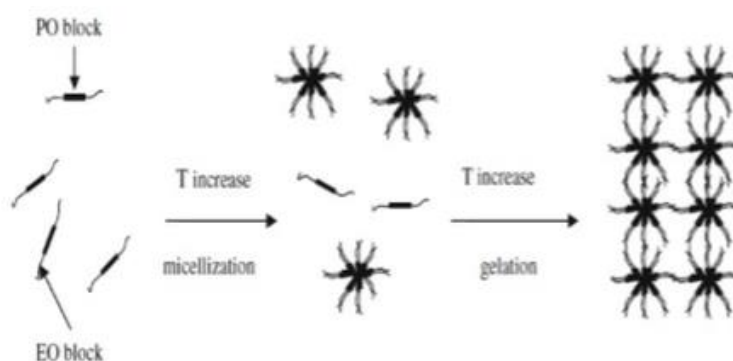


Figura 12. Esquema de gelificación formando micelas de poloxamer (Ramya et al; 2013)

La formación de micelas depende de la temperatura del entorno. Si ésta es inferior a la temperatura crítica micelar (TCM) los bloques de óxido de etileno y óxido de propileno están hidratados y el óxido de propileno presenta una apreciable solubilidad en agua. Sin embargo, cuando la temperatura aumenta y sobrepasa la TCM, las cadenas de óxido de propileno son cada vez menos solubles y se produce la formación de las micelas. El núcleo micelar de óxido de propileno están envuelto por las cadenas hidrófilas de óxido de etileno, separándolo del medio acuoso. De esta forma, se obtiene un núcleo hidrofóbico donde pueden cargarse fármacos lipófilos o de baja solubilidad, o aquellos que sean muy inestables en medio fisiológico (Bermúdez et al; 2012). Dicho mecanismo convierte al poloxamer en un vehículo muy interesante para la industria farmacéutica, así que se han realizado varios estudios sobre ellos para estudiar su concentración óptima, propiedades reológicas, perfil de liberación de fármaco etc.

El poloxamer 407 al 18% p/p es incapaz de gelificar en condiciones fisiológicas debido a que su concentración se diluye en el fluido lagrimal. Para que ocurra la gelificación a temperatura fisiológica se requiere una concentración entre el 20-25% p/p. Esto presenta un inconveniente: el aumento de la concentración trae consigo una disminución de la temperatura de gelificación, por lo que el poloxamer gelifica a temperatura ambiente, provocando dificultades para instilar la solución y daño corneal cuando se consigue debido a la alta concentración de polímero (Dewan et al; 2015). Para disminuir la cantidad total de poloxamer 407 de la formulación y modificar la fuerza del gel, se pueden incluir diferentes excipientes en la formulación: en dicho estudio se decidió añadir metilcelulosa como promotor de la viscosidad. La metilcelulosa es un derivado de la celulosa, soluble en agua y con propiedad de gelificación termo reversible. En dicho estudio se prepararon 4 soluciones de poloxamer 407 al 18%, añadiendo metilcelulosa al 1% de distinto peso molecular en cada preparación. Se comprueba que al añadir metilcelulosa se forma una capa de gel más firme a menor temperatura. A mayor peso molecular de la metilcelulosa, disminuye la temperatura de gelificación de la solución (Dewan et al; 2015).

Con el aumento de la temperatura, los puentes de hidrógeno de las cadenas de poloxamer 407 se descomponen y se agregan en micelas. El número y tamaño de micelas se incrementa con la temperatura y la solución se convierte en un gel más firme. La adición de metilcelulosa promueve la deshidratación. La formulación con metilcelulosa de mayor peso molecular presenta muy alta viscosidad debido al mayor número de grupos hidroxilo que forman enlaces con cadenas de óxido de propileno de poloxamer 407, provocando mayor entrelazamiento entre las moléculas adyacentes. Con el aumento de peso molecular de metilcelulosa, la interacción entre ambos aumenta y la gelificación ocurre a una temperatura menor. El peso molecular de metilcelulosa tiene distintos efectos en la temperatura de gelificación de poloxamer 407. La presencia de grupos hidroxilo en metilcelulosa desfavorece la formación de enlaces entre poloxamer 407 y moléculas de agua. De este modo se requiere menor energía para la formación del gel y la temperatura de gelificación disminuye. La competición entre poloxamer 407 y las moléculas de agua por interactuar con metilcelulosa provoca deshidratación, aumentando el grado de enlazamiento entre moléculas vecinas, aumentando la firmeza del gel formado. La adición de metilcelulosa aumenta la retención del fármaco en la estructura del gel y como consecuencia mejora la biodisponibilidad del principio activo (Dewan et al; 2015).

En otro estudio, se observó como para vehiculizar pilocarpina, la concentración óptima de poloxamer 407 como gel de formación *in situ* es 14% p/p (Lin et al; 2004). Cuando la concentración era igual o menor al 13% p/p la solución permanecía líquida bajo condiciones fisiológicas (37°C, pH: 7,4). Si se aumentaba la concentración al 15% p/p la solución se convertía

en un gel firme en condiciones no fisiológicas (25°C, pH: 4,0). Estos resultados dan valores diferentes de concentración óptima de poloxamer 407 con respecto al estudio de Dewan et al. La diferencia entre 14% a 18% en la concentración es poco significativa y puede deberse a una variación en las condiciones de preparación, distintos pesos moleculares de poloxamer 407 e incluso puede estar afectado por tratarse de principios activos diferentes (ketorolaco y pilocarpina).

La solución de poloxamer al 14% libera casi el 100% de pilocarpina a las 4 horas de su administración, indicando que presenta buenas características para ser utilizado como vehículo de gelificación *in situ*. Sin embargo, Lin et al. buscan mejorar el perfil de liberación de la solución. Por ello se decidió combinar la solución de poloxamer al 14% con una de alginato al 0,1%. Esa cantidad tan pequeña de alginato es muy significativa pues se produce un aumento de la viscosidad del sistema y de la fuerza del gel en condiciones fisiológicas, prolongando el tiempo de permanencia en córnea del fármaco a 6 horas (Lin et al; 2004).

Otro estudio parecido donde se combinan polímeros que gelifican con la variación de dos estímulos fisicoquímicos diferentes (concentración de iones y temperatura) es el realizado por Dewan y colaboradores en 2017. Estos investigadores quieren comprobar el efecto de goma gellan en una solución de pilocarpina vehiculizada por poloxamer 407.

Al igual que en el estudio que realizaron en 2015, concluyen que la concentración óptima de poloxamer 407 debe ser mayor al 18% p/p pues a esta concentración no es capaz de gelificar en condiciones fisiológicas. Sin embargo, al 20% gelifica a temperatura ambiente impidiendo la correcta administración y provocando daños en los tejidos oculares. Por esto, al igual que en 2015 añadieron metilcelulosa, deciden combinar la solución de poloxamer 407 al 18% con distintas concentraciones de goma gellan para estudiar su comportamiento reológico y perfil de liberación de fármaco y verificar si el preparado resultante podría actuar como sistema de liberación prolongada de pilocarpina. Estos autores estimaron que cuando la concentración de goma gellan es mayor de 0,7% p/p, la solución se vuelve muy viscosa en condiciones no fisiológicas. debido a los valores de temperatura de gelificación y viscosidad, el rango óptimo de concentración de goma gellan combinada con 18% de poloxamer es entre 0,1-0,3% p/p (temperatura de gelificación es de 32 y 30°C respectivamente). En ese rango de concentración, la solución presenta un comportamiento líquido muy fluido en condiciones ambientales y se produce la formación de un gel firme y estable en condiciones fisiológicas.

A continuación, se realizan estudios comparativos de 3 soluciones: una de poloxamer al 18% (solución 1) y otras dos de poloxamer al 18% y goma gellan al 0,1% (solución 2) y 0,3% (solución 3) respectivamente.

Tabla 8. Resultados obtenidos por Dewan et al. 2017

Formulaciones	Temperatura de gelificación (°C)	Viscosidad en condiciones no fisiológicas (cP)	Viscosidad en condiciones fisiológicas (cP)	Tiempo de gelificación (s)	% p/p disuelto	% liberado en 5 horas
Solución 1	33,5±0,58	73,49	10841,57	16	91 en 5h	100%
Solución 2	32±0,26	87,66	12540,44	12	78 en 7 h	72%
Solución 3	30±0,42	240,7	15442,69	7	47 en 7 h	69%

Durante el estudio de la viscosidad se concluye que conforme aumenta la temperatura, se produce un incremento en la viscosidad de la solución. Por otro lado, la viscosidad de la solución de poloxamer aumenta con la adición de goma gellan. Se dan interacciones por puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de ambos polímeros que aumentan la viscosidad del gel. El cambio producido en la viscosidad de la solución es proporcional a la concentración añadida de goma gellan que gelifica cuando entra en contacto con los iones presentes en el fluido lagrimal. Además, se produce una disminución de la temperatura de gelificación inversamente proporcional a la concentración de goma gellan. Al añadir goma gellan, la gelificación se produce mucho más rápido pues se da por dos mecanismos distintos (temperatura y concentración de iones). La formación de micelas de poloxamer se ve favorecida por la presencia de goma gellan. Ésta forma enlaces con los iones presentes en el fluido lagrimal contribuyendo a la deshidratación de poloxamer que desemboca en la formación de micelas.

Se observa también que la disolución del gel en el fluido lagrimal disminuye con el incremento de la concentración de goma gellan. Este fenómeno no solo se debe al aumento de la viscosidad del gel, sino también a la formación de enlaces entre la goma gellan y los cationes presentes en el fluido lagrimal.

Se analiza la estructura de poloxamer 407 mediante microscopio electrónico. Con esta técnica se comprueba que todas las soluciones presentan una estructura en forma de red con poros de diferentes tamaños, que deriva de las diferencias en su composición. A mayor contenido en goma gellan, el tamaño de poro disminuye.

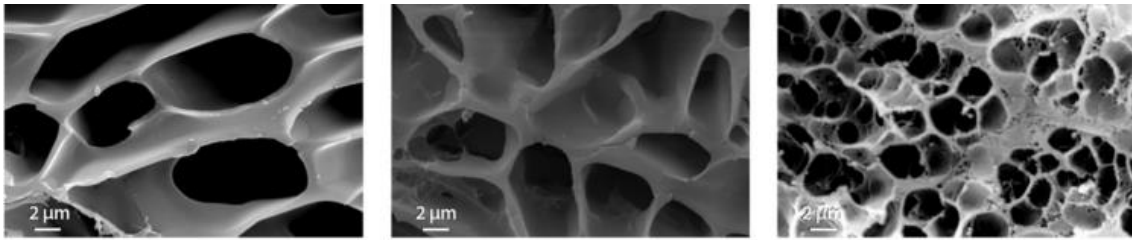


Figura 13. Imágenes obtenidas mediante microscopio de escaneo criogénico de electrones, de izquierda a derecha: solución 1 (hidrogel de poloxamer al 18%), solución 2 (hidrogel de poloxamer 18% y 0,1% goma gellan) y solución 3 (hidrogel de poloxamer 18% y 0,3% goma gellan) (Dewan et al., 2017)

En la tabla 8 se pueden observar que la solución 3 es la que presenta mejor resultado a la hora de retener la pilocarpina. Factores como la viscosidad, la velocidad de disolución del gel y el tamaño de poro de la matriz del gel contribuyen a que la velocidad de liberación de fármaco sea menor que en el resto de las formulaciones. La estructura porosa del gel permite cargar sustancias activas dentro de la matriz y retenerlas prolongando el tiempo de su liberación. Como la solución 3 es la que menor tamaño de poro presenta por tener una alta concentración de goma gellan, la difusión del fármaco a través de su estructura se dificulta y, por tanto, se libera lentamente. Un preparado comercial que contiene poloxamer 407 es Azasite®, un colirio que contiene azitromicina, antibiótico que actúa frente a determinados microorganismos que causan infecciones bacterianas oculares. Suele utilizarse en conjuntivitis bacterianas y su composición se muestra en la tabla 9.

Tabla 9. Composición cualitativa de Azasite®



Figura 14. Azasite®

Azasite® colirio	
Azitromicina	Principio activo
Citrato de sodio	Mezcla tampón/Conservante
Ácido cítrico	Mezcla tampón/Conservante
Poloxamer 407	Vehículo. Polímero de gelificación <i>in situ</i>
Carbopol®	Vehículo. Polímero de gelificación <i>in situ</i>
Hidróxido de sodio	Ajuste de pH
Agua purificada	Vehículo
Manitol	Isotonizante/ humectante
Edetato de sodio (EDTA)	Antioxidante
Cloruro de benzalconio	Conservante
Cloruro de sodio	Agente isotonzante

4.3. Gelificación sensible al pH

El pH es otro parámetro presente en el ojo y puede utilizarse como un bio estímulo para provocar la gelificación *in situ* de polímeros que sean sensibles a cambios en el gradiente de ionización. La discusión se restringirá a los polímeros que han sido estudiados para su administración ocular.

4.3.1. Polímeros Naturales o semisintéticos

4.3.1.1. Quitosano

Quitosano ha sido investigado muy ampliamente como vehículo de liberación ocular. Procede de la deacetilación de la quitina. Es un polímero biocompatible, biodegradable, presenta poca toxicidad y además mucoadhesivo. Sus características le definen como un sistema de gelificación *in situ* ocular en potencia.

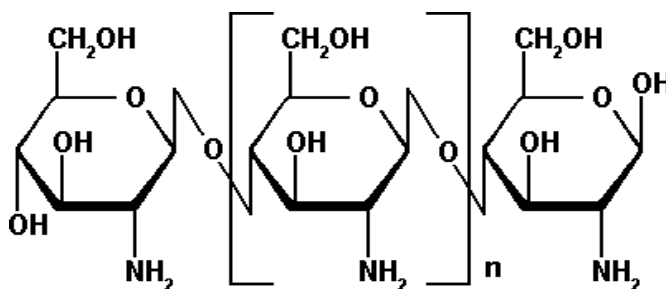


Figura 15. Estructura química de quitosano

La solubilidad del quitosano muestra dependencia del pH. A pH ácido (por debajo de pKa 6,2) permanece como una solución, pero a pH básico o al fisiológico se convierte en gel.

Ameeduzzafar y colaboradores preparan una mezcla sinérgica de quitosano con alcohol polivinílico y goma gellan para vehicular besifloxacin. La solución elegida como la más adecuada por sus características reológicas presenta las siguientes concentraciones: 0,5% de quitosano, 0,25% de Gelrite® y 2% de alcohol polivinílico (Ameeduzzafar et al; 2017).

La formulación resultante no es irritante para la superficie ocular y mejora la retención corneal de besifloxacin, prolongando la eficacia antimicrobiana. Esto se debe al mecanismo dual: por un lado, la gelificación dependiente de la concentración iónica de goma gellan y por otro la naturaleza bioadhesiva del quitosano. La liberación del fármaco se ralentiza hasta 12 horas (Ameeduzzafar et al; 2017), así que minimiza la frecuencia de administración. Por todo ello, la solución puede ser utilizada para sistemas oculares de liberación prolongada de fármaco.

Parece ser que la concentración óptima de quitosano al combinarse con otro polímero es 0,5%, dado que Gupta y Vyas llegan a la misma conclusión que Ameeduzzafar y colaboradores.

Desarrollan una nueva formulación compuesta por quitosano al 0,5% y Carbopol® al 0,4% (el Carbopol® es un polímero de ácido acrílico, su gelificación es dependiente del pH) para vehicular maleato de timolol (Gupta y Vyas, 2010). Dicha formulación permanece líquida a temperatura ambiente al pH formulado (6,0), mientras que al pH del fluido lagrimal (7,4) gelifica rápidamente.

Se compara el perfil de liberación del fármaco de la nueva formulación con otra de Carbopol® al 0,4% p/p. El desarrollo de este sistema de gelificación *in situ* para vehicular maleato de timolol supone un adelanto tecnológico muy interesante debido a que, en soluciones acuosas convencionales donde el fármaco pasa a circulación sistémica, este principio activo causa reacciones adversas muy importantes en el sistema cardíaco, respiratorio y nervioso central, en especial en pacientes con factores de riesgo. Gracias a la nueva formulación, al aumentar la biodisponibilidad y tiempo de permanencia del fármaco en el lugar de acción y se requiere menos frecuencia de administración, se disminuye considerablemente el paso a circulación sistémica y, por tanto, los efectos adversos.

4.3.1.2. Hidroxipropil goma guar

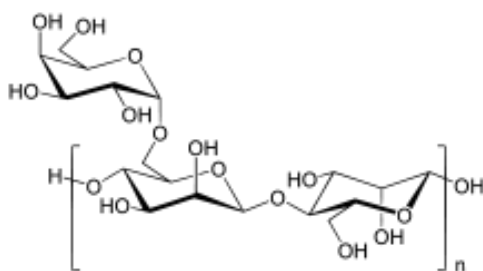


Figura 16. Estructura química de la goma guar

La goma guar es un polisacárido compuesto por una larga cadena de residuos de 1,4-β-D-manosa con cadenas laterales de 1,6-α-D-galactosa. La proporción manosa-galactosa es de 1,5:1 a 2:1. Se obtiene de las semillas de *Cyamopsis tetragonolobus* que es una leguminosa (Thombare et al; 2016).

En su estudio, Bhowmik y colaboradores desarrollan una formulación de gelificación *in situ* vehiculizada en poloxamer 407 (16%), goma guar y goma xantano en proporción 7:3. Al combinar los tres tipos de polímeros consiguen reducir la concentración de poloxamer 407 de 18% a 16%, sin comprometer la capacidad de gelificación, y aumentar el tiempo de permanencia en córnea de fármaco. (Dewan y colaboradores en 2015 obtienen los mismos resultados al combinar poloxamer 407 con metilcelulosa tal como se vio en apartados anteriores). Los estudios *in vivo* e *in vitro* indicaron que la formulación que incluye los tres polímeros presentaba

mejor capacidad de retención que poloxamer 407 solo y que la nueva formulación era una mejor alternativa a las gotas convencionales (Bhowmik et al; 2013).

La hidroxipropil goma guar (HPG) es un derivado de la goma guar preparado a través de una alquilación irreversible con óxido de propileno. HPG presenta mejores propiedades de solubilidad que la goma guar, por lo que se utiliza como agente gelificante versátil para gran variedad de aplicaciones (Kono et al; 2015).

Se trata de un agente espesante que gelifica de forma instantánea en medio prácticamente ácido. Wang y colaboradores clasifican los valores de viscosidad obtenidos en función del pH: de PH=8,5-12 presenta alta viscosidad. De pH= 7-8 y pH= 12,5-13 presenta viscosidad media. De pH=13,5-14 presenta baja viscosidad (Wang et al; 2016).

Un preparado comercial que presenta hidroxipropil goma guar es “Systane® gel drops”. Esta formulación contiene polietilenglicol 400 y propilenglicol como demulcentes y lubricantes para combatir los síntomas del ojo seco. El hidroxipropil goma guar forma un gel parcialmente reticulado con borato para prolongar la retención de los agentes demulcentes en el ojo. De este modo se protege y lubrica la superficie ocular.

Tabla 10. Composición cualitativa de Systane® Gel drops



Figura 17. Systane®

Systane® Gel drops	
Polietilenglicol 400	Demulcente /lubricante
Propilenglicol	Demulcente /lubricante
Hidroxipropil goma guar	Vehículo. Agente gelificante
Sorbitol	Isotonizante/humectante
Edetato de sodio	Antioxidante
Ácido bórico	Conservante/ regulación del pH
Aminometilpropanol (AMP)	Ajuste de pH
Polyquad®	conservante
Agua purificada	Vehículo
Cloruro de sodio	Agente isotonzante
Hidróxido de sodio/ ácido clorhídrico	Ajuste de pH

4.3.2. Polímeros sintéticos

4.3.2.1. Carbómeros

Los carbómeros son polímeros de alto peso molecular compuestos por Poli-acido acrílico. Su nombre comercial es Carbopol®. La solución acuosa de estos polímeros entra en transición a fase de gel cuando el pKa es superior a 5,5. Carbopol® están disponibles en una amplia variedad de pesos moleculares, con cadenas laterales lineales o ramificadas. Presenta excelentes propiedades como mucoadhesivo y se ha estudiado en profundidad para sistemas de liberación prolongada. Carbopol® 934 es el polímero más estudiado. Está compuesto por un 62% de grupos carboxílicos formados por repetición de unidades de ácido acrílico.

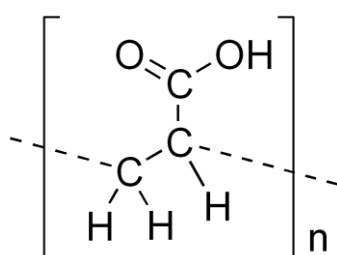


Figura 18. Estructura química del carbómero

Una alta biadhesión caracteriza a estos polímeros causada por la atracción electrostática entre las cargas positivas del ácido siálico del mucus y las cargas negativas de los grupos carboxílicos de las cadenas poliméricas.

La presencia de grupos carboxílicos en la superficie de Carbopol® induce irritaciones oculares cuando es utilizado a altas concentraciones. Para evitar este problema, se han investigado varias combinaciones de Carbopol® con otros polímeros.

Por ejemplo, se intenta combinar Carbopol® 974P con poloxamer 407 y poloxamer 188 para desarrollar un sistema de liberación prolongada de azitromicina (Cao F. et al; 2010). El propósito del estudio es desarrollar un sistema de gelificación *in situ* termosensible y además mucoadhesivo. La azitromicina es hidrofóbica y moderadamente soluble en agua a pH neutro. Para desarrollar un gel *in situ* de azitromicina al 1% p/p, la solubilidad de ésta debe ser como mínimo 10mg/mL (Cao F. et al; 2010).

La baja solubilidad de la azitromicina se soluciona al añadir Carbopol® y formar el complejo azitromicina-Carbopol®. El Carbopol® otorga a la formulación una fuerza de muco-adhesión adecuada. Dicho complejo es formado por las interacciones entre los grupos carboxilo de Carbopol® y los grupos amino de azitromicina.

La adición de Carbopol® 974p al sistema de polímeros de poloxamer disminuyó suavemente la temperatura de gelificación. Esto puede explicarse mediante la interacción entre los polímeros. Se forma una red tridimensional por formación de puentes de hidrogeno entre los grupos carboxílicos de carbopol y los grupos éter de poloxamer, que provocará la gelificación a baja temperatura.

Se elige la solución con las siguientes concentraciones: 21% p/p de poloxamer 407, 5% p/p de poloxamer 188 y 0,3% de Carbopol® 974 debido a que presenta una óptima temperatura de gelificación (34,07°C) y buen comportamiento reológico (Cao F. et al; 2010).

Según los estudios de liberación de fármaco *in vivo*, esta formulación libera el 27% de azitromicina en 2 horas, el 74% después de 8 horas y casi el 90% tras 24 horas (Cao F. et al; 2010). Este resultado indica que la estructura del gel funciona como una barrera de contención, conforme aumenta la concentración de los polímeros, para la liberación del fármaco. Este fenómeno puede ser explicado por la disminución del número de canales de agua en la estructura del polímero y el incremento de viscosidad de la red tridimensional del gel. Cuanto mayor sea la viscosidad, menos distancia hay entre las cadenas de polímero, formándose más enlaces entre ellas lo que conduce a una disminución en la velocidad de liberación del fármaco. Este efecto se ve incrementado por la mucoadhesión de la formulación, que permite la unión a la capa mucosa de la lágrima o los tejidos de la superficie ocular durante un tiempo elevado, aumentando el tiempo de permanencia en córnea de la azitromicina y mejorando su biodisponibilidad.

Cao y colaboradores concluyen que con la administración de la formulación de gelificación *in situ* al 1% de azitromicina dos veces al día, será suficiente para que el poder antibacteriano sea eficaz.

Otra posible combinación sería Carbopol® con Metilcelulosa. Esta combinación presentará gelificación sensible a la temperatura y gelificación dependiente del pH. Es decir, la viscosidad de la misma aumentará cuando haya un incremento de la temperatura o del valor del pH al instilarse en el saco conjuntival.

Por otro lado, el Carbopol® es un polímero bioadhesivo con tendencia a adherirse a la mucina de la capa lagrimal del ojo, prolongando el tiempo de retención del fármaco. Sultana y colaboradores llegan a la conclusión que la formulación con comportamiento reológico más adecuado de las 6 preparadas, es la constituida por 0,3 % de Carbopol® 934 y 1,5 % de Metilcelulosa. Dicha formulación libera un 98% de fármaco en 12 horas (Sultana et al; 2006)

Se demostró que esta formulación era efectiva en el tratamiento de la conjuntivitis debido a su alta viscosidad que ocasiona entre otros factores un largo tiempo de permanencia del fármaco en la superficie corneal y mejor miscibilidad con el fluido lacrimal comparado con las soluciones tradicionales. Esta alta viscosidad resulta en un aumento de la biodisponibilidad (Sultana et al; 2006).

Ambos estudios reflejan que la concentración adecuada de Carbopol® como vehículo de sistemas de gelificación *in situ* a nivel ocular es 0,3% p/p, incluso en combinaciones con polímeros diferentes.

Existen varios preparados comerciales que están vehiculizados por Carbopol® combinado con poloxamer 407. Por ejemplo, Besivance® contiene besifloxacino, un antibiótico que pertenece al grupo de las fluoroquinolonas para tratar la conjuntivitis bacteriana y otras infecciones oculares. Se muestra su composición en la tabla 11.

Por otro lado, también se puede encontrar BromSite® que está compuesto por bromfenaco sódico, un inhibidor de la ciclooxigenasa2. Se utiliza en el tratamiento de la inflamación ocular. Se muestra su composición en la tabla 12.

Tabla 11. Composición cualitativa de Besivance®



Figura 19. Besivance®

Besivance®	
Hidrocloruro de besifloxacino	Principio activo
Carbopol	Vehículo. Gelificación <i>in situ</i>
Poloxamer 407	Vehículo. Gelificación <i>in situ</i>
Manitol	humectante
Edetato de sodio	Sinergia con cloruro de benzalconio: antioxidante
Cloruro sódico	Agente isotonizante
Hidróxido de sodio	Ajuste de pH
Cloruro de benzalconio	conservante
Agua purificada	Vehículo

Tabla 12. Composición cualitativa de BromSite®



Figura 20. BromSite®

BromSite®	
Bromfenaco sódico	Principio activo
Carbopol	Vehículo. Gelificación <i>in situ</i>
Poloxamer 407	Vehículo. Gelificación <i>in situ</i>
Ácido bórico /borato sódico	Mezcla tampón/ conservante
Ácido cítrico anhidro	Mezcla tampón/ conservante
Citrato de sodio trihidratado	Mezcla tampón/ conservante
Edetato de sodio	Sinergia con cloruro de benzalconio: antioxidante
Hidróxido de sodio	Ajuste de pH
Cloruro de benzalconio	conservante
Agua purificada	Vehículo

Actualmente se encuentran en la tercera fase de ensayos clínicos: DexaSite®, AzaSite Xtra® y AzaSite plus®. DexaSite contiene dexametasona y se utilizaría para episodios inflamatorios dolorosos en el ojo. AzaSite Xtra® consistiría en subir la dosis de azitromicina a 2%, mientras que AzaSite plus® presentaría la combinación de azitromicina al 1% con dexametasona al 0,1%. La incorporación de antiinflamatorio esteroídico al antibiótico pretende tratar cuadros donde exista infección acompañada de inflamación. las tres formulaciones contienen poloxamer 407 y Carbopol®. Esto prueba que el laboratorio InSite Vision apuesta por la tecnología de gelificación *in situ* como sistema de liberación por vía tópica ocular.

5. CONCLUSIONES

1. Los sistemas de gelificación in situ para la administración ocular de fármacos han estado en el punto de mira de la investigación científica durante las dos últimas décadas, mejorando el tratamiento de enfermedades del segmento anterior del ojo mediante una administración fácil, segura y reproducible. La proliferación de estudios sobre el tema señala su potencial para la vía tópica ocular. Se trata de una nueva tecnología cuyo modus operandi es tan sencillo como el utilizado para las preparaciones oftálmicas convencionales y relativamente barato por lo que está orientado hacia la industria. Sin embargo, ha sido de gran dificultad encontrar preparados comerciales que gelifiquen al entrar en contacto con el ojo, sólo se han hallado 8 formulaciones comercializadas de las cuales solo 2 están comercializadas en España (Systane® Gel drops y Arteoptic®) y 3 que se encuentran en la tercera fase de los ensayos clínicos (DexaSite®, AzaSite Xtra® y AzaSite plus®).
2. La utilización de estos sistemas incrementa la biodisponibilidad ocular del principio activo disminuyendo el aclaramiento precorneal provocado por el drenaje naso lacrimal y el parpadeo. Asimismo, aumenta el tiempo de permanencia del fármaco en la córnea y por tanto su eficacia terapéutica, disminuyendo el paso a circulación sistémica y reacciones adversas generales debido al incremento que la gelificación provoca en la viscosidad de los preparados oftálmicos. Esta nueva tecnología permitirá reducir la frecuencia de la administración, que se traducirá en un mayor confort y aceptación por parte del paciente, mejorando su adherencia al tratamiento que es fundamental para que sea un éxito.
3. La mayoría de los estudios incluidos en esta revisión hacen especial hincapié en definir la concentración óptima de polímero que sea suficiente para que gelifique en medio fisiológico pero, por otro lado, sin resultar tan viscoso que pueda provocar molestias en el paciente como visión borrosa o bordes de párpados pegados.
4. Es interesante señalar, que en muchas ocasiones se estudian formulaciones que utilizan como base combinaciones de varios polímeros ya que presentan mejores propiedades reológicas y de liberación de fármaco. De esta manera, se consigue reducir la concentración de cada polímero en la mezcla, lo que evita posibles reacciones adversas como irritaciones en la superficie ocular. La industria farmacéutica fructifica dicha sinergia, en algunos de los preparados comercializados como son AzaSite®, BromSite® y Besivance® más los tres que se encuentran en fase 3 de ensayos clínicos, que están aún por comercializar y tienen como base la combinación de Carbopol® con poloxamer 407.
5. Al hilo de la investigación que se ha llevado a cabo, un hallazgo bastante interesante ha sido el xiloglucan, que al ser un polímero natural podría utilizarse como potencial sustituto

de polímeros sintéticos. Esta teoría la avala que se ha demostrado que gelifica a concentraciones mucho menores que el poloxamer 407. Sin embargo, tras una búsqueda exhaustiva, no se han encontrado más estudios que avalen su utilización en vía oftálmica como sistema de gelificación *in situ*. Se considera que podría ser una futura línea de investigación debido a sus propiedades.

6. Es factible pensar que los sistemas de gelificación *in situ* suponen una revolución para la industria farmacéutica pues reúnen los beneficios de las soluciones líquidas y los geles, beneficiando al paciente. Sin duda su campo de investigación es amplio y muy prometedor.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abraham S, Furtado S, Bharath S, Basavaraj BV, Deveswaran R, Madhavan V. Sustained ophthalmic delivery of ofloxacin from an ion-activated *in situ* gelling system. Pak. J. Pharm. Sci. 2009; 22: 175–179.
- Achouri D, Alhanout K, Piccerelle P, Andrieu V. Recent advances in ocular drug delivery. Drug Dev. Ind. Pharm. 2012; 39: 1599-1617.
- Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. CIMA: Centro de Información Online de Medicamentos de la AEMPS [en línea]. [Consultado en mayo de 2018]. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/publico/home.html>
- Agrawal AK, Das M, Jain S. *In situ* gel systems as Smart carriers for sustained ocular drug delivery. Expert Opin. Drug Deliv. 2012; 9(4): 383-402.
- Álvarez Lorenzo C, Concheiro Nine A. Hidrogeles y polímeros sensibles a estímulos. Una herramienta eficaz en la terapéutica ocular. Sociedad española de oftalmología. 2002; 1:5-6.
- Ameduzzafar, Imam, Bukhari, Ali. Preparation and evaluation of novel chitosan: gelrite ocular system containing besifloxacin for topical treatment of bacterial conjunctivitis: scintigraphy, ocular irritation and retention assessment. Artif. cells, nanomed. biotechnol. 2017; 46(5):959-967.
- Andrés Guerreo V, Molina Martines I, Herrero Vanrell R Formulaciones oftálmicas y nuevos vehículos en el tratamiento médico hipotensor y neuroprotector del glaucoma. En: García Sánchez J, Coordinador. Diagnóstico y tratamiento del glaucoma de ángulo abierto. 1ª edición. Madrid: Sociedad española de oftalmología; 2013. 335-347.
- Bhowmik M, Bain MK, Ghosh LK. Effect of salts on gelation and drug release profiles of methylcellulose-based ophthalmic thermo-reversible *in situ* gels. Pharm Dev Technol 2011; 16:1-7.
- Bhowmik M, Kumari P, Gunjan S, Bain MK, Bhowmick B, Mollick MR et al. Effect of xanthan gum and guar gum on *in situ* gelling ophthalmic drug delivery system based on poloxamer-407. Int. J. Biol. Macromol. 2013; 62:117-123.
- Cao Y, Zhang C, Shen W, Cheng Z, Yu LL, Ping Q. Poly (N-isopropylacrylamide)-quitosano as thermosensitive *in situ* gel-forming system for ocular drug delivery. J Control Release 2007; 120: 186-94.
- Cao F, Zhang X, Ping Q. New method for ophthalmic delivery of azithromycin by poloxamer/carbopol-based *in situ* gelling system. Drug Delivery. 2010; 17 (7): 500-507.
- Carlfors J, Edsman K, Petersson R, Jörnving K. Rheological evaluation of Gelrite® *in situ* gels for ophthalmic use. Eur. J. Pharm. Sci. 1998; 6 (2): 113-119.

- Destruel PL, Zeng N, Maury M, Mignet N, Boudy V. *In vitro* and *in vivo* evaluation of *in situ* gelling systems for sustained topical ophthalmic delivery: state of the art and beyond. *Drug Discov Today*. 2017; 22(4): 638-651.
- Dewan M, Sarkar G, Bhowmik M, Das B, Chattoapadhyay AK, Rana D, Chattopadhyay D. Effect of methyl cellulose on gelation behavior and drug release from poloxamer based ophthalmic formulations. *Int. J. Biol. Macromol*. 2015; 72: 706-710.
- Dewan M, Sarkar G, Bhowmik M, Das B, Chattoapadhyay AK, Rana D, Chattopadhyay D. Effect of gellan gum on the thermogelation property and drug release profile of Poloxamer 407 based ophthalmic formulation. *Int. J. Biol. Macromol*. 2017; 102: 258-265.
- Gupta S, Vyas SP. *In situ* Gelling System for Ocular Delivery of Timolol Maleate. *Sci Pharm*. 2010; 78: 959-976.
- Hamalainen KM, Kananen K, Auriola S, Kontturi K, Urtti A. Characterization of paracellular and aqueous penetration routes in cornea, conjunctiva and sclera. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998; 38: 627-634.
- Hillery AM, Lloyd A W, Swarbrick J. *Drug Delivery and Targeting*. 1ª edición. Londres: Taylor & Francis; 2001.
- InSiteVision [en línea]. [Consultado en mayo de 2018]. Disponible en: http://www.insitevision.com/Pipeline_Products.html
- Järvinen K, Järvinen T, Urtii A. Ocular absorption following topical delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 1995; 16: 3-19.
- Klouda L, Mikos AG. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *Eur J Pharm Sci*. 2008; 68: 34-45.
- Kono H, Hara H, Hashimoto H y Shimizu Y. Nonionic gelation agents prepared from hydroxypropyl guar gum. *Carbohydr Polym*. 2015; 117: 636-643.
- Krauland AH, Leitner VM, Bernkop SA. Improvement in the *in situ* gelling properties of deacetylatedgellan gum by the immobilization of thiol groups. *J PharmSci*. 2003; 92: 1234-1241.
- Lin HR, Sung KC, Vong WJ. *In situ* gelling of alginate/pluronic solutions for ophthalmic delivery of pilocarpine. *Biomacromolecules* 2004; 5: 2358-2365
- Liu Y, Liu J, Zhang X, Zhang R, Huang Y, Wu C. *In situ* gelling Gelrite/Alginate Formulations as Vehicles for Ophthalmic Drug Delivery. *PharmSciTech*. 2010; II (2):610-620
- Mahesh NS, Manjula BP. Study of an alginate/HPMC based *in situ* gelling ophthalmic delivery system for levofloxacin hydrochloride. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2012; vol 4 (3): 655-658

- Miyazaki S, Suzuki S, Kawasaki N, Endo K, Takahashi A, Attwood D. *In situ* gelling xyloglucan formulations for sustained release ocular delivery of pilocarpine hydrochloride. *Int J Pharm.* 2001;229(1-2):29-36.
- Oechsner M, Keipert S. Polyacrylic acid/polyvinylpyrrolidone bipolymeric systems. Rheological and mucoadhesive properties of formulations potentially useful for the treatment of dry-eye-syndrome. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1999; 47: 113-118.
- Opitz DL, Harthan JS. Review of azithromycin ophthalmic 1% solution (AzaSite®) for the treatment of ocular infections. *Ophthalmol. Eye Dis.* 2012; 4: 1–14.
- Qi H, Chen W, Huang C, Li L, Chen C, Li W, Wu C. Development of a poloxamer analogs/Carbopol based *in situ* gelling and mucoadhesive ophthalmic delivery system for puerarin. *Int J Pharm* 2007; 337: 178-87.
- Ramsay E, Amo E, Toropainen E, Tengvall-Unadike U, Ranta V, Urtti A, Ruponen M. Corneal and conjunctival drug permeability: Systematic comparison and pharmacokinetic impact in the eye. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2018; 119: 83-89.
- Ramya D, Devi P, Sandhya B, Vedha H. Poloxamer: A novel functional molecule for drug Delivery and gene therapy. *J. Pharm. Sci. & Res.* 2013; 5(8): 159-165
- Song J, Bi H, Xie X, Guo J, Wang X, Liu D. Preparation and evaluation of sinomenine hydrochloride *in situ* gel for uveitis treatment. *Int. Immunopharmacol.* 2013; 17: 99–107
- Sultana Y, Aqil M, Ali A, Zafar S. Evaluation of Carbopol-Methyl Cellulose Based Sustained-Release Ocular Delivery System for Pefloxacin Mesylate Using Rabbit Eye Model. *Pharm Dev Technol.* 2006; 11: 313-319
- Sun J, Zhou Z. A novel ocular delivery of brinzolamide base don gellan gum: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Drug Des, Dev and Th.* 2018; 12: 383-389.
- Tangri, P. and Khurana, S. Basics of ocular drug delivery systems. *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.* 2011; 2: 1541–1552
- Thombare N, Jha U, Mishra S y Siddiqui MZ. Guar gum as a promising starting material for diverse applications: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* 2016; 88:361-372.
- Thrimawithana TR, Rupenthal ID, Young SA, Alany RG. Environment-sensitive polymers for ophthalmic drug delivery. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2012; 22: 117–124.
- Urtti A, Rouhiainen H, Kaila T, Saano V. Controlled ocular timolol delivery: systemic absorption and intraocular pressure effects in humans. *Pharm Res.* 1994; 11: 1278-1282.
- US National Library of Medicine. Daily Med [en línea]. [Consultado en mayo de 2018]. Disponible en: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/>

- Wang S, Tang H, Guo J y Wang K. Effect of pH on the rheological properties of borate crosslinked hydroxypropyl guar gum hydrogel and hydroxypropyl guar gum. *Carbohydr Polym.* 2016; 147: 455-463.
- Wu H, Liu Z, Peng J, Li L, Li N, Li J, Pan H. Design and evaluation of baicalin-containing *in situ* pH-triggered gelling system for sustained ophthalmic drug delivery. *Int. J. Pharm.* 2011; 410: 31–40