



Universidad de Sevilla

Facultad de Farmacia

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARÍA GENERAL

Queda registrada esta Tesis Doctoral
 al folio 063 número 216 del libro
 Correspondiente. 21 ENE. 2003
 Sevilla,

El Jefe del Negociado de Teala,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jose Maria'.

**DISEÑO DE SISTEMAS DISPERSOS
 DE HPMC Y EUDRAGIT® PARA LA
 LIBERACIÓN TÓPICA DE FOSCARNET**

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Francisco'.

Francisco Javier García Andreu
 Sevilla, 2003



C/ Profesor García González, s/n
41012 Sevilla (España)
Teléfono: 954556137
Fax: 954556726

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACEUTICA

DISEÑO DE SISTEMAS DISPERSOS DE HPMC Y EUDRAGIT® PARA LA LIBERACIÓN TÓPICA DE FOSCARNET



Memoria presentada por Francisco Javier García Andreu
para optar al grado de Doctor en Farmacia
Sevilla, enero del 2003



C/ Profesor García González, s/n
41012 Sevilla (España)
Teléfono: 954556137
Fax: 954556726

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACEUTICA

María Jesús Lucero Muñoz, Profesora Titular de Universidad adscrita al Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla,

CERTIFICA: Que la memoria que se presenta para optar al Grado de Doctor, titulada "Diseño de sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® para la liberación tópica de foscarnet", ha sido realizada bajo su dirección, por el Licenciado en Farmacia D. Francisco Javier García Andreu, y reúne los requisitos necesarios para su defensa y calificación.

Para que conste a los efectos oportunos, expido y firmo la presente certificación en Sevilla a 14 de enero de dos mil tres.

Fdo. M^a Jesús Lucero Muñoz

El desarrollo de una tesis doctoral es un largo camino no exento de dificultades. Son muchos los esfuerzos compartidos que ayudaron al que suscribe a hacer de éste más llevadero. Mi agradecimiento a Conso, mi mujer, que durante estos años tuvo la comprensión necesaria para llevar a cabo la difícil tarea de la educación de nuestros hijos no siempre compartida. A mis hijos, Paula y Daniel, perdón por el tiempo no dedicado en la feliz etapa de su infancia. A mis padres y hermanos por el apoyo recibido.

Mis sinceros agradecimientos al grupo de investigación de la Dra. María José León y, en particular, a mi directora de tesis la Dra. María Jesús Lucero, por su paciencia infinita y estímulos continuos para que el destino final de esta tesis fuera el que finalmente ha sido. Al personal del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Juan Ramón Jiménez de Huelva, y en particular a la Dra. Poly Márquez Ronchel de la Sección de Cromatografía, por su inestimable ayuda en la validación del método analítico de detección por HPLC. Al grupo de Reología del Departamento de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Sevilla, de manera especial al Dr. José Muñoz y a la Dra. María del Carmen Alfaro, por su orientación en el desarrollo de las técnicas reométricas. Al Dr. Luis Fernando López Cortés de la Unidad de Infecciosos del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla y a la Fundación Andaluza para el Desarrollo de la Medicina por la beca recibida durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral. Al Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Sevilla representado en la persona de "Asun" por el entusiasmo que contagia en el desarrollo de su trabajo. A mis compañeros del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, y en particular al grupo de trabajo del Dr. Angel Muñoz Ruiz, a Charo y Evelyn, por su ayuda en el desarrollo de las técnicas de DSC y TGA. A mis amigos del Departamento por los buenos momentos vividos y por su colaboración desinteresada. De forma especial a Fernando, Puri, Teresa, Carmen, Jorge, Carolina y Juanma. ¿Qué decir a Juanma?, alguien que físicamente ya no está con nosotros pero que siempre estará en la mente y en el corazón de todos aquellos que le conocieron. Al "niño que surgió de las estrellas", a mi compañero Juan Manuel Flores Jimeno. Sin él esta tesis no hubiera sido posible.

**"....Y no sé cómo saltar desde la orilla de hoy a la orilla de mañana".
Juan Ramón Jiménez**

ÍNDICE

I. - INTRODUCCIÓN	9
1. Aspectos farmacotécnicos y clínicos de una forma de dosificación	10
1.1. Herpesvirus	13
1.2. Fármacos antivirales	19
1.3. Reología de fluidos	21
1.3.1. Propiedades reológicas	22
1.3.2. Conceptos de interés	23
1.3.3. Clasificación reológica de los fluidos	26
1.3.4. Materiales viscoelásticos	32
1.3.5. Utilidades farmacéuticas de las determinaciones reológicas	36
2. Sistemas poliméricos en la liberación tópica de fármacos	37
2.1. Materiales poliméricos de interés	37
2.2. Sistemas poliméricos gelificados	39
2.3. Equilibrio dinámico de hidratación y técnicas analíticas utilizadas	42
2.4. Mecanismos físicos implicados en la liberación de fármacos	46
2.5. Leyes generales del proceso de difusión	48
2.5.1. Factores relacionados con el medio donador	51
2.5.2. Factores relacionados con la membrana	52
2.5.3. Factores relacionados con el medio receptor	53
3. Relación entre las propiedades reológicas y de liberación de fármacos	57
II. - OBJETIVOS	61

III. - MATERIALES Y MÉTODOS	63
1. Polímeros acrílicos de Eudragit®	64
2. Hidroxipropilmetilcelulosa	68
3. Foscarnet	71
4. Elaboración de sistemas dispersos de HPMC y Eudragit®	83
5. Determinación de pH de los sistemas dispersos	84
6. Ensayos reológicos en condiciones destructivas	85
6.1. Deformación por cizalla	85
6.2. Deformación por compresión	87
7. Ensayos reológicos en cizalla oscilatoria	88
8. Análisis de textura (Adhesión/Cohesión)	90
9. Calorimetría Diferencial Barrido (DSC) y Análisis Termogravimétrico (TGA)	91
10. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	92
11. Método analítico de detección de foscarnet	94
12. Ensayos de difusión "in vitro"	96
IV. - RESULTADOS Y DISCUSIÓN	98
1. Estudios reológicos	99
1.1. Deformación por cizalla en condiciones destructivas	100
1.1.1. Curvas de fluidez	100

1.2. Deformación por compresión	103
1.3. Deformación por cizalla en condiciones no destructivas	108
1.3.1. Barridos de esfuerzos	108
1.3.1.1. Influencia de la incorporación de foscarnet	113
1.3.2. Barridos de frecuencias	118
1.3.2.1. Influencia de la incorporación de foscarnet	131
1.3.3. Curvas de viscosidad	133
1.4. Análisis de textura (adhesión/cohesión)	137
2. Calorimetría Diferencial de Barrido	142
3. Análisis Termogravimétrico	148
4. Microscopía Electrónica de Barrido	151
5. Validación del método analítico	156
6. Estudio " <i>in vitro</i> " de liberación-difusión de foscarnet	160
6.1. Cinéticas de liberación-difusión	168
6.2. Relación con otros parámetros en los sistemas dispersos	171
V. - CONCLUSIONES	174
VI. - BIBLIOGRAFÍA	177

INTRODUCCIÓN

1. Aspectos farmacotécnicos y clínicos de una forma de dosificación.

El desarrollo de una nueva forma de dosificación, frecuentemente supeditada a exigencias clínicas, debe ir precedido del conocimiento de determinadas propiedades físicas, químicas y biofarmacéuticas del principio activo [Jenquin et al., 1990; Kotiyan & Vavia, 2001], de la influencia sobre éstas de los excipientes [Eyjolsson, 1999; Ofiri-Kwakye & Fell, 2002] y del proceso tecnológico empleado [Morton et al., 1990; Friess & Schalapp, 2001].

El correcto diseño de una forma de dosificación depende, en gran medida, de una cuidadosa selección de los excipientes, cuyos principales objetivos son facilitar la administración del fármaco y protegerlo de su degradación [Sarisuta et al., 1999], promoviendo una adecuada liberación y biodisponibilidad [Welin-Berger et al., 2001]. Esta selección debe ir precedida de los correspondientes estudios que confirmen la ausencia de cualquier tipo de interacción entre los distintos componentes de la formulación [Jiménez-Kairuz et al., 2002]. El conocimiento de las propiedades fisicoquímicas del principio activo y excipientes permite, "a priori", deducir la presencia de potenciales interacciones entre ellos [Ford, 1999]. Aunque, en general, los excipientes deberían ser sustancias inertes, algunos pueden presentar una cierta reactividad frente a determinados fármacos [Narisawa et al., 1996; Sarisuta et al., 1999; Ford, 1999; Grassi et al., 2000; Jiménez-Kairuz et al., 2002].

Los recientes avances tecnológicos y las características especiales de muchos fármacos obliga a estudiar cuidadosamente la influencia de los procesos de fabricación en la estabilidad de los principios activos [Kotiyan & Vavia, 2001].

Entre las técnicas que permiten analizar las interacciones existentes entre fármaco-polímero y polímero-polímero destacan por su simplicidad las técnicas reológicas [Grassi et al., 2000; Woolfson et al., 2000; Barreiro-Iglesias, et al., 2001; Pelletier et al., 2001 et al., Riley et al., 2001; Jimenez-Kairuz et al., 2002], y otras como la calorimetría diferencial de barrido (DSC) y el análisis térmico diferencial (TGA) permiten caracterizar el equilibrio dinámico de hidratación y su implicación en los mecanismos de liberación de fármacos desde sistemas poliméricos [Khare & Peppas, 1993; Mitchell et al., 1993; Ford & Mitchell, 1995; Aoki et al., 1995; Ford, 1999; DiMartino et al., 2001; Steendam et al., 2001; Naima et al., 2001; Muralli et al., 2002].

La caracterización de estas propiedades constituye la etapa de preformulación farmacéutica necesaria para conseguir tres cualidades fundamentales del medicamento: estabilidad, seguridad y eficacia. Estas propiedades son de obligado cumplimiento según queda recogido en el texto de la Ley 25/1990, de 20 de diciembre, del Medicamento.

Este tipo de estudios, incluidos tradicionalmente dentro de la investigación preclínica, aportan la información necesaria para el correcto diseño de una forma de dosificación que se adapte a unas necesidades clínicas concretas [Siepmann et al., 1999; Welin-Berger et al., 2001 a,b; Proniuk et al., 2002].

Así, el punto de partida en el diseño racional de una forma de dosificación parte de la necesidad de dar solución a una problemática clínica que no se encuentra cubierta [Hellidi & Schubert, 2001; Gilbert et al., 2002]. En este sentido, uno de los campos que ha quedado rezagado frente a otras áreas es el de la terapia

antiviral. Ello se ha debido a una serie de factores, entre los que cabe destacar [Maroto & Piédrola, 1999; Piret et al., 2000; 2001; Fillet, 2002; Gilbert et al., 2002]:

- ✓ La falta de conocimientos fundamentales relacionados con el ciclo de replicación viral.
- ✓ La dificultad de identificar con exactitud la etiología vírica de una enfermedad específica basada exclusivamente en criterios clínicos.
- ✓ La falta de desarrollo de pruebas diagnósticas rápidas y sensibles para la identificación de agentes antivirales virales y que permitan instaurar un tratamiento óptimo.
- ✓ La incapacidad para desarrollar agentes antivirales con una actividad selectiva frente al virus, y a su vez inocuos para las células huésped necesarias para la replicación viral.

A pesar de ello en los últimos años, el número de agentes antivirales se ha incrementado rápidamente. En este sentido, el principal progreso se ha producido en el área de los inhibidores de los herpes virus, debido a:

- ✓ La alta prevalencia de este tipo de infecciones con repercusión médica [López-Cortés et al., 2000; Piret et al., 2001; Bausal et al., 2002].
- ✓ La ausencia de una vacuna eficaz frente a este grupo de virus [Maschake et al., 2002].
- ✓ El avance en el conocimiento de las enzimas timidin-kinasa y DNA-polimerasa, vitales en el ciclo de replicación de los herpes virus [Limaye et al., 2000; Hammond et al., 2001; Bausal et al., 2002].

1.1. Herpesvirus.

Las infecciones por los virus herpéticos están causadas por integrantes de la familia *Herpesviridae*, que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, donde producen infecciones en una gran variedad de especies animales. Además de los virus Herpes simplex (VHS) tipos 1 (VHS-1) y 2 (VHS-2), Varicela-Zoster (VVZ) y Citomegalovirus (CMV), existen otros capaces de producir infecciones en seres humanos: el virus de Epstein-Barr (VEB) y los Herpes humano tipo 6 (VHH-6), tipo 7 (VHH-7) y tipo 8 (VHH-8) [Bedard et al, 2000; Leach, 2000; De Clerq et al., 2001; Bausal et al., 2002; Kimberlin, 2002; Luppi Et al., 2002].

La estructura de los herpesvirus (Figura 1) es muy similar en todos ellos y está constituida por [Laskin et al, 1991].

- ✓ El *core*, que conteniendo al ácido nucleico viral, está formado por un núcleo de ADN de doble cadena y morfología lineal.
- ✓ La *cápside* constituida por 162 capsómeros de simetría icosadeltahédrica.
- ✓ El *tegumento*, estructura fibrosa, situado entre la cápside y la envoltura del virus.
- ✓ La *envoltura viral* de estructura lipídica trilaminar, muy similar a la de las membranas celulares. En esta envoltura destacan numerosas protusiones (también denominadas "spikers") constituidas por glucoproteínas, que desempeñan un papel fundamental durante las primeras fases de replicación.

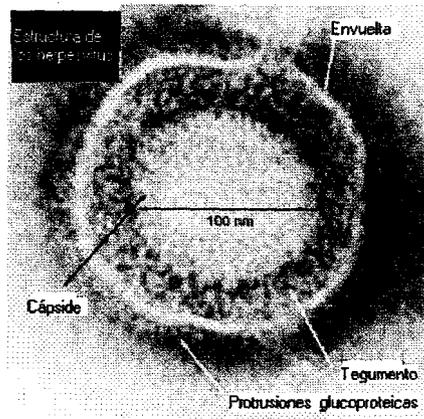


Figura 1. Imagen por microscopía electrónica de la estructura de los herpesvirus.

Los herpes virus se clasifican en tres grandes grupos [De Clerq et al., 2001].

- *α-herpesviridae*. Se caracterizan por ciclos de reproducción cortos, crecimiento rápido en cultivos celulares, destrucción rápida de las células que infectan y por su capacidad de inducir infección latente en los ganglios sensitivos del SNC. Pertenecen a este grupo el VHS y VVZ.

- *β-herpesviridae*. Se caracterizan por ciclos reproductivos largos, crecimiento lento en cultivos celulares, transformación de las células infectadas en gigantes (citomegálicas) y capacidad de producir infección latente en múltiples tejidos (renal y glandular) y en células del sistema retículo-endotelial. Pertenece a este grupo el CMV.

- *γ-herpesviridae*. Los virus de este grupo se caracterizan por afectar células de la estirpe linfoide. Pertenecen a este grupo los virus VEB y los VHH-6, VHH-7 y VHH-8.

El conocimiento de los mecanismos básicos de replicación de los herpesvirus en el interior de las células es importante para la comprensión de su patogenia y tratamiento. Sigue un esquema general en el que se distinguen varias fases [Roizman & Sear, 1990; Crumpacker et al., 1992; Arribas et al., 1998; Beadle et al., 1998; Cotarelo et al., 1999; Limeye et al., 2000; De Clerq et al., 2001; Gilbert Et al., 2002]:

- ✓ Unión del virus a receptores celulares.
- ✓ Penetración del virus en la célula mediante la fusión de la envoltura viral con la membrana citoplasmática seguida de la liberación de la cápside en el citoplasma celular.
- ✓ Transporte de la cápside hacia el núcleo de la célula infectada y penetración del DNA en el interior del núcleo a través de los poros existentes en la membrana nuclear. Al entrar en el núcleo de la célula, el DNA viral pierde su morfología lineal y adopta una conformación circular cerrada que es capaz de actuar de forma independiente del genoma celular.
- ✓ Transcripción del DNA viral en múltiples ARNm. Esta función está regulada estrechamente por ARN-polimerasas celulares, así como por factores virales.
- ✓ Síntesis de proteínas virales con actividad reguladora que controlan la propia replicación viral.
- ✓ Replicación del DNA viral.
- ✓ Síntesis de proteínas estructurales, fundamentalmente aquéllas que van a integrar la cápside viral.

- ✓ Formación de nuevas partículas virales. Los fragmentos de DNA que codifican el genoma viral se empaquetan en el interior de las cápsides previamente sintetizadas.
- ✓ Maduración de las partículas virales que adquieren el resto de sus componentes (tegumento y envoltura) al pasar a través de las membranas del núcleo de la célula infectada.
- ✓ Liberación de nuevas partículas virales al exterior de la célula infectada.

Es importante señalar que la transcripción del DNA viral, la síntesis del ARNm, la síntesis de proteínas y la maduración de las partículas virales tienen lugar en el núcleo de la célula infectada [Gilbert et al., 2002].

Desde el punto de vista de la patogenia de los virus herpéticos, éstos comparten una serie de propiedades que, en su conjunto, son prácticamente exclusivas de esta familia. Todos se encuentran ampliamente distribuidos entre los huéspedes inmunocompetentes y en ellos la infección suele ser asintomática o clínicamente banal [Hardy, 1992; Safrin et al., 1994; Andrei et al., 1995; Kimberlin, 2002]. Por el contrario son capaces de producir infecciones graves, de tipo oportunista, en los huéspedes inmunodeprimidos [Balfour 1999; Ljungman, 2001; Maschake et al., 2002].

Todos los virus herpéticos son capaces de persistir en el huésped de forma latente (verdadera latencia virológica) tras la primoinfección [Laskin et al., 1991]. Los VHS y VVZ persisten en los ganglios sensitivos del SNC, el CMV en múltiples tejidos y tipos celulares incluyendo tejido renal, tejidos glandulares y células del

sistema retículo endotelial y el VEB en el tejido linfático [Smith, 1998]. De igual forma, los virus herpéticos, son también capaces de reactivarse de forma sintomática o asintomática [Crumpacker, 1992]. En los huéspedes inmunodeprimidos, la reactivación suele coincidir con las fases de mayor alteración de la inmunidad celular [Fong et al., 2000]. Por el contrario, cuando ésto ocurre en los huéspedes inmunocompetentes, la mayoría de las veces es imposible identificar ningún desencadenante aparente [Hirsch, 1981; Douglas et al., 1985; Piret et al., 2001; Bausal et al., 2002].

Con excepción de los fármacos antivirales utilizados exclusivamente en el tratamiento de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo-1 (VIH-1) y tipo-2 (VIH-2), la Food and Drug Administration (FDA) recoge, entre otros, una serie de fármacos de utilidad en el tratamiento de infecciones virales (Tabla 1).

Fármaco	Indicación clínica aceptada (según FDA)
Aciclovir	Herpes simplex, Varicella-zoster y Citomegalovirus.
Valaciclovir	
Ganciclovir	Citomegalovirus
Penciclovir	Herpes simplex
Famciclovir	Herpes simplex y Varicella-zoster.
Foscarnet	Herpes simplex resistente a aciclovir, Varicella-zoster resistente a aciclovir y Citomegalovirus.
Rivavirina	Fiebre Lassa y Hepatitis C crónica (asociado a IF- α) y Síndrome de fiebre renal hemorrágica por hantavirus.
Lamivudina	Hepatitis B (casos crónicos) y VIH-1
Amantadina	Influenza A
Rimantadina	
Interferón- α	Hepatitis B y C, Herpes virus humano tipo 8 y Papilomavirus.

Tabla 1. Indicaciones aceptadas por la FDA para los distintos fármacos de utilidad en el tratamiento de infecciones virales.

De todos ellos, la mayoría son análogos de nucleósidos (aciclovir, ganciclovir, valaciclovir, penciclovir, famciclovir, zidofovir, ribavirina y lamivudina), dos son aminos cíclicas de 10 átomos de carbono (amantadina y rimantadina), análogo de pirofosfato (foscarnet) y proteína recombinante producida por bacterias (interferón- α).

Dentro de las infecciones virales, las causadas por los virus del herpes simplex (VHS-1, VHS-2) y Varicella-zoster (VVZ) ocupan un especial interés debido fundamentalmente a:

- ✓ La alta prevalencia de infecciones de interés clínico causadas por estos virus [*Alvarez-McLeod, et al., 1999; Bausal et al., 2002*].
- ✓ El amplio espectro clínico: infecciones bucofaciales, genitales, oculares, viscerales, del SNC y SNP, panadizo herpético, así como la infección neonatal por VHS [*Bernstein et al., 1997; López-Cortés et al., 2000; Fillet, 2002; Maschake et al., 2002*].
- ✓ La frecuente aparición en los últimos años de *resistencias al fármaco antiviral aciclovir* [*Breton et al., 1998; Balfour, 1999; Javaly et al., 1999; Keating, 1999; Morfin et al., 1999; Visse et al., 1999; Schmit & Boivin, 1999; Andrei et al, 2000; Chakrabarti et al., 2000; Hellidi & Schubert, 2001; Piret et al., 2001; Reusser Et al., 2002*].

1.2. Fármacos antivirales.

Tanto la FDA como la Sociedad Española de Quimioterapia recogen el uso de aciclovir como fármaco de elección en el tratamiento de las infecciones víricas causadas por VHS y VVZ.

Aciclovir es un derivado acíclico de la base púrica guanosina, que para ejercer actividad terapéutica necesita fosforilarse mediante la incorporación de 3 moléculas de fosfato [Hellidi & Schubert, 2001]. La timidin-kinasa (TK) viral, presente en VHS y VVZ y no en CMV, es la enzima responsable de la primera fosforilación que sufre el aciclovir. Las siguientes moléculas de fosfato las incorporan enzimas celulares [Bausal et al., 2002]. Tras la fosforilación el aciclovir-trifosfato inhibe de manera selectiva a la DNA polimerasa viral, impidiendo su ulterior elongación tras incorporarse a la cadena de DNA viral [Dorsky & Chumpacker, 1987; Balfour, 1999; Hellidi & Schubert, 2001; Bausal et al., 2002].

La mayor parte de las cepas de VHS y VVZ resistentes al aciclovir tienen que consta de detectores de electrones secundarios con una resolución máxima de 3.5 nm. una especificidad de sustrato alterada para la fosforilación del fármaco [Morfin et al., 1999; Schmit & Boivin, 1999; Hellidi & Schubert, 2001; Bausal et al., 2002]. En este sentido, la reactivación frecuente del virus, el elevado número de virus en las lesiones de enfermos y el tratamiento concomitante de distintos fármacos antivirales hace posible la selección de variantes resistentes [Snoeck et al., 1999; Gilbert et al., 2002]. En estos casos se ha propuesto la utilización de otros fármacos antivirales con otro mecanismo de acción. De todos ellos, el fármaco antiviral que ha demostrado mayor eficacia frente a variantes resistentes al aciclovir es el

foscarnet [Awan et al., 1998; Breton et al., 1998; Pechere et al., 1998; Alvarez-McLeod et al., 1999; Javalý et al., 1999; Piret et al., 2000; Leung & Sacks, 2000; Ljumann, 2001; Piret et al., 2001; Bausal et al., 2002; Gilbert et al., 2002; Losada et al., 2002].

Foscarnet es químicamente el fosfonoformato trisódico, un análogo orgánico del pirofosfato, con capacidad para formar complejos con la DNA-polimerasa viral a nivel del sitio de unión del pirofosfato [Chrisp & Clissold, 1991]. La acción mimética del fármaco impide que las moléculas de pirofosfato se unan para formar los nucleósidos trifosfatos y bloquea la extensión del DNA viral. Por tanto, el foscarnet no necesita activarse (fosforilarse) para poder actuar y su acción se basa en el bloqueo directo de la DNA-polimerasa de los virus herpéticos y de otros virus [Aweeka, 1989; Crumpacker, 1992; Piret et al., 2001; Bausal et al., 2002].

Sin embargo, el foscarnet presenta una biodisponibilidad oral nula que no mejora con la modificación del pH gástrico [Barditch-Crovo et al., 1998; Noormohamed et al., 1998] o tras la obtención de profármacos [Meier et al., 1998; Beadle et al., 1998] sin embargo, si ha mostrado eficacia por vía intravítrea en forma de liposomas [Omar et al., 1995; Cheng et al., 1999] o profármacos intraoculares [Chet et al., 1999]. En la actualidad, únicamente existe comercializada una forma farmacéutica de administración por vía parenteral [Kimberlin, 2002].

Recientes estudios han revelado su interés en el tratamiento tópico de infecciones por VHS y VVZ resistentes a aciclovir [Bernstein et al., 1997; Awan et al., 1998; Pechere et al., 1998; Javalý et al., 1999; Wharton et al., 1999; Piret et al., 2000; 2001].

1.3. Reología de fluidos.

Las sustancias con actividad farmacológica sólo excepcionalmente se administran de forma directa con fines terapéuticos. En términos generales, los principios activos se incorporan a una forma farmacéutica o unidad posológica que le confiere unas características adecuadas para su administración y correcta dosificación, asegurando una liberación completa que garantice su eficacia terapéutica [Chang et al., 2002; Chataplapalli & Rohera, 2002].

Así, una exigencia fundamental para iniciar los estudios de un diseño racional de una determinada forma farmacéutica es la disponibilidad de técnicas analíticas que permitan caracterizar de forma correcta las propiedades de los excipientes utilizados y establecer así, la influencia que éstos ejercen sobre la liberación del fármaco [Caramella et al., 1989; El Kattan et al., 2000; Gasperlin et al., 2000; Korhonen et al., 2000; 2001; Hino & Ford, 2001; Gupta et al., 2002; Sanz-Taberner et al., 2002; Wagner & McGinity, 2002]. El conocimiento de las características de disposición permite establecer estrategias adecuadas para mejorar el grado y velocidad de liberación o seleccionar posibles candidatos para el diseño racional de formulaciones de liberación controlada [Hennig & Kala, 1985; Marton et al., 1990; Jenquin et al., 1990; Jones et al., 1999; Sarisuta et al., 1999; Siepmann et al., 1999; Farkas et al., 2000; Grassi et al., 2000; Michailova et al., 2001; Welin-Berger et al., 2001; Wagner & McGinity, 2002].

Entre los materiales que han despertado mayor interés en la formulación de sistemas de liberación tópica se encuentran los materiales poliméricos. La

complejidad de sus estructuras [Valenta et al., 1999], las posibles interacciones con el fármaco [Jenquin et al., 1990; Sarisuta et al., 1999; Kotiyan & Vavia, 2001], con distintos solventes [Simovic et al., 1999], con otros polímeros presentes en la formulación [Pillay & Fassihi, 1998], ha generado la necesidad de disponer de ensayos capaces de caracterizar este tipo de sistemas [Pasquali et al., 2001; Welin-Berger et al., 2001 a,b; Cadee et al., 2002]. En este sentido, la caracterización reológica de sistemas poliméricos permiten describir las posibles interacciones intra e intermoleculares de los polímeros en la formulación [Rainer et al., 1996; Zauscher et al., 2000; Liverpool et al., 2001], así como establecer las posibles influencias que sobre las características del sistema puedan ejercer el fármaco incluido en dicha formulación [Jenquin et al., 1990; Siepmann et al., 1999; Rossi et al., 2001; Hellidi & Schubert; Piret et al., 2001; Proniuk et al., 2002].

1.3.1.- Propiedades reológicas.

La reología (del griego rhéos, corriente, y lógos, tratado) es la ciencia que estudia la deformación y el flujo de la materia. Este término fue introducido por Bingham y Crawford en 1929 [Chevalier, 1994] con el fin de describir de la forma más amplia la mecánica de los cuerpos deformables, que hasta entonces se reducía a la elasticidad clásica y a la mecánica de fluidos.

El nacimiento de la reología como ciencia diferenciada es consecuencia del interés industrial de algunos materiales cuyo comportamiento dinámico no podía ser explicado mediante las leyes clásicas, esto es, la ley de Hooke para sólidos

elásticos enunciada en 1678 y la ley de Newton para fluidos viscosos, formulada en 1687 [Chevalier, 1994].

La reología encuentra numerosas aplicaciones en la industria, incluida la farmacéutica. La optimización de parámetros reológicos puede utilizarse como control de calidad de procesos [Shigeto et al., 1997], efectos provocados por la temperatura [Cordobés et al., 1997] y estabilidad durante el transporte de materiales [Hsu et al., 1996]. En el campo farmacéutico, la reología encuentra su aplicación en el diseño, desarrollo, optimización y control de calidad de nuevas formulaciones o sistemas de interés en terapéutica [Valenta et al., 1999; Mura et al., 2000; Woolfson et al., 2000; Ferrari et al., 2001; Jones et al., 2001; Realdon et al., 2001; Rossi et al., 2001; Chang et al., 2002; Chataplapalli & Rohera, 2002; Contreras & Sánchez, 2002; Jiménez-Kairuz et al., 2002].

1.3.2.-Conceptos de interés.

Las propiedades reológicas de un material se definen a partir de la relación existente entre una fuerza o sistema de fuerzas externas que se aplican sobre el material y su respuesta, ya sea ésta como deformación o flujo [Chevalier, 1994]. Para ello, la reología se apoya en las leyes básicas de la mecánica. En este sentido, todo material se deformará en mayor o menor medida cuando se somete a un sistema de fuerzas externas. Si el material es un fluido se deformará continuamente, esto es, fluirá [Schott, 1987].

Dicho sistema de fuerzas externas se representa matemáticamente por el esfuerzo (τ), mientras que la respuesta dinámica del material se cuantifica mediante la deformación (d) o la velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$).

El esfuerzo se define como una fuerza por unidad de superficie. Debido a que ambas magnitudes tienen características direccionales pueden representarse por sendos vectores. Por tanto, el esfuerzo físicamente vendrá definido por un tensor de segundo orden.

Sobre un material pueden actuar dos tipos de esfuerzos, el de cizalla o cortante (τ_c) y el normal o de compresión (τ_p). En el primer caso, el esfuerzo es aplicado en la componente tangencial al plano del material, mientras que en el segundo dicha aplicación es perpendicular a la dirección del movimiento del fluido [Shama & Sherman, 1973; DeMartine & Cussler, 1975; Kokini et al., 1977; 1984; Banker & Chalmers, 1981; Kokini & Cussler, 1983; Campanella & Peleg, 1987; García et al., 1987; Deem, 1988; Dolz, 1988; Lucero et al., 1991; 1994 a, b, c; 1995; 1996; 1998; 2000; 2001].

La deformación y la velocidad de deformación son la expresión matemática de la respuesta de un material al esfuerzo aplicado sobre él [Bordi et al., 1994]. Si una ecuación relaciona componentes específicos del tensor esfuerzo y los tensores deformación o velocidad de deformación, se denomina función del material. Por el contrario, si se trata de una ecuación que implique todos los componentes de los correspondientes tensores, se denomina ecuación reológica de estado o ecuación constitutiva [Deem, 1988]. Se puede considerar que una deformación tiene lugar siempre que ocurra un cambio en la separación entre dos puntos de un elemento del material. La magnitud de esa deformación viene dada por el desplazamiento relativo de los puntos. Por tanto, la deformación es una magnitud adimensional. Igual que en el caso del esfuerzo, se consideran los tensores deformación y velocidad de deformación.

Una de las situaciones más sencillas de deformación es el denominado cizalla simple [Chevalier, 1994], que es un modelo idealizado apropiado para describir correctamente los conceptos de esfuerzo, deformación y velocidad de deformación. Se define como el tipo de deformación generada cuando un material está comprendido entre dos placas paralelas de forma que la placa superior es sometida a una fuerza, F , que le obliga a desplazarse linealmente a una distancia, x , mientras que la placa inferior se mantiene en reposo (Figura 2).

En ausencia de desplazamiento en la superficie de las placas cada elemento del material será sometido a la misma deformación local, y viene expresada por:

$$\gamma = dx/dy \quad [\text{Ec. 1}]$$

Siendo: γ , la deformación por cizalla, dx , el desplazamiento de la capa superior del elemento con respecto a la inferior en la dirección x , y dy , la altura del elemento de material considerado.

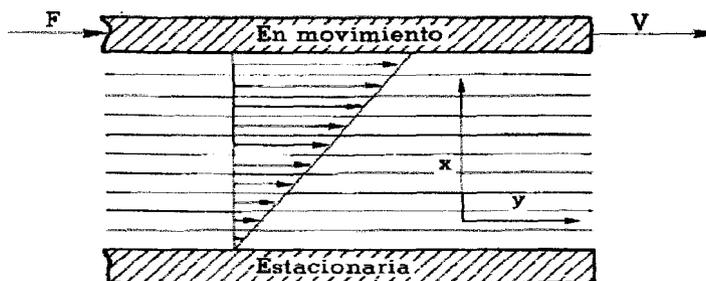


Figura 2. Flujo laminar de un fluido contenido entre dos placas paralelas.

En un fluido en estado estacionario, un esfuerzo constante sobre el plano ocasionará una velocidad constante, v . Es decir, la velocidad de cizalla es constante

a través del material [Banker & Chalmers, 1981; García et al., 1987; Deem, 1988; Bordi et al., 1994; Chevalier, 1994].

El tiempo es el tercer parámetro que afecta de forma importante a las propiedades reológicas del material. La influencia de este parámetro va a ser función de la naturaleza intrínseca del material así como de la magnitud del esfuerzo aplicado [Deem, 1988; Mohamed et al., 1994].

1.3.3.-Clasificación reológica de los fluidos.

Se puede establecer una clasificación reológica de los materiales bajo un estado de cizalla simple, con respecto a su comportamiento esfuerzo cortante/deformación por cizalla (Tabla 2),

Sólidos rígidos (Euclides). $\gamma = 0$
Sólido elástico lineal (Hooke). $\tau = G \gamma$; siendo: $G = \text{cte.}$
Sólido elástico no lineal. $\tau = G(\gamma) \gamma$
Viscoelástico. $\tau = f(\gamma, \dot{\gamma}, t)$.
Fluido viscoso no lineal (no newtoniano). $\tau = \mu(\dot{\gamma})$.
Fluido viscoso lineal (newtoniano). $\tau = \mu(\dot{\gamma})$; siendo $\mu = \text{cte.}$
Fluido no viscoso (Pascal). $\tau = 0$

Tabla 2.- Clasificación reológica de los materiales en cizalla simple.

- ✓ **Fluidos newtonianos:** Se caracterizan reológicamente por su viscosidad (η) constante [Wood, 1986; Schott, 1987; Deem 1988]. Dicha magnitud viene definida por la relación entre el esfuerzo de cizalla (τ_c) y la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$):

$$\tau_c = \eta \dot{\gamma} \quad (\text{Ley de Newton}) \quad [\text{Ec. 2}]$$

Las unidades del esfuerzo cortante y la velocidad de cizalla en el S.I. son respectivamente el Pascal (Pa) y los ciclos/segundo (s^{-1}), por lo que la viscosidad se medirá en (Pa.s) [Bordi et al., 1994].

La viscosidad físicamente representa la fuerza necesaria para vencer la resistencia opuesta al rozamiento [Voigt, 1979] y, en los fluidos newtonianos, como son la mayoría de los fluidos de estructura sencilla y compuestos de moléculas relativamente simples en una sola fase [Chevalier, 1994], es independiente de la velocidad de cizalla, así como del tiempo de cizalla, [Hino & Ford, 2001], dependiendo sólo de la temperatura (T) y de la presión (P) [Sanz-Taberner et al., 2002].

- ✓ Fluidos no newtonianos: son todos aquellos fluidos que no cumplen la ecuación anterior. En ellos el concepto de viscosidad como propiedad del material carece de sentido y en su lugar se define una viscosidad aparente que es función de la velocidad de cizalla [Chevalier, 1994]. Así:

$$\eta_{ap}(\gamma) = \tau_c / \gamma \quad [\text{Ec. 3}]$$

Este comportamiento es el que presentan muchos fluidos complejos, suspensiones, emulsiones y sistemas poliméricos empleados en la industria, incluyendo la farmacéutica [Mohamed et al., 1994; Woolfson et al., 2000; Pelletier et al., 2001; Realdon Et al., 2001].

Los fluidos no newtonianos se clasifican atendiendo a la forma en que varía el esfuerzo cortante con la velocidad de cizalla (curvas de flujo), o bien en términos de la variación de la viscosidad aparente con la velocidad de cizalla (curvas de viscosidad) (Figura 3) [Lucero et al., 1998].

En fluidos no newtonianos, la descripción del comportamiento esfuerzo cortante/velocidad de cizalla, en cizalla estacionaria ha sido fundamentalmente empírica. La mayoría de los materiales de mayor interés son extremadamente complejos y actualmente las teorías moleculares muy simplificadas son inadecuadas para describir el comportamiento real. De ahí que, las observaciones experimentales representen la información reológica más fiable [Jones et al., 2001].

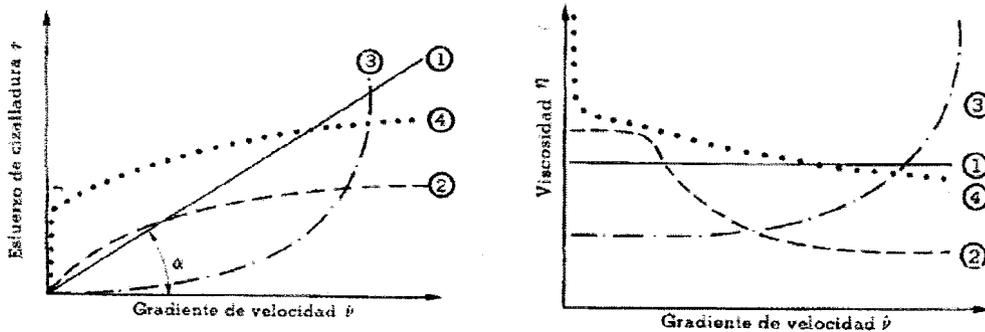


Figura 3. Curvas de fluidez y viscosidad de los distintos fluidos: 1-fluido newtoniano. Fluidos no newtonianos: 2-con viscosidad estructural, 3-dilatante, 4-plástico.

El modelo de Ostwald-DeWaele, aunque presenta ciertas limitaciones, es el modelo empírico que más comúnmente se ha utilizado para representar las diversas clases de comportamiento no newtoniano observadas [Pugnetti, 1982; Sherman, 1983; Wood, 1986; Schott, 1987; Deem, 1988; Lucero et al., 1991; 1994 a, b, c; 1995; 1996; 1998; 2000; 2001].

Matemáticamente, se puede expresar como:

$$\tau = k \dot{\gamma}^n \quad \text{[Ec. 4]}$$

donde: n , es el índice de flujo o índice de la desviación del comportamiento newtoniano de flujo, k , índice de consistencia que varía según el valor de n . Para $n=1$, el modelo es newtoniano, siendo el índice de consistencia la viscosidad del fluido ($k=\eta$). Para valores de $n < 1$, el modelo es pseudoplástico y para valores de $n > 1$, el modelo es dilatante.

- a) Comportamiento pseudoplástico: son aquellos materiales que muestran un descenso de la viscosidad al aumentar la velocidad de cizalla [Sherman, 1983; Voigt, 1979; Wood, 1986; Vemuri, 1988]. Las causas del flujo pseudoplástico son la ruptura progresiva de la estructura cuando el esfuerzo aumenta y su reconstrucción mediante movimiento browniano [Schott, 1987]. Presentan este comportamiento los sistemas coloidales [Ceulemans & Ludwig, 2002], las soluciones poliméricas [Lucero et al., 1991; 1994 a, b, c; 1995; 1996; 1998; 2000; 2001] y las dispersiones sólido/líquido floculadas [Sanz-Taberner et al., 2002].
- b) Comportamiento dilatante: se trata de un comportamiento menos frecuente que el pseudoplástico. Se caracteriza por la tendencia que presentan determinados materiales a aumentar su viscosidad aparente con la velocidad de cizalla [Voigt, 1979; Puggetti, 1982; Sherman, 1983; Wood, 1986]. Este fenómeno se manifiesta en algunas suspensiones concentradas de sólidos, proteínas y ciertas disoluciones de polímeros y detergentes [Wood, 1986].
- c) Comportamiento plástico: la plasticidad es un fenómeno que muestran ciertos materiales que se comportan como sólidos elásticos, almacenando

una cierta capacidad de esfuerzo cuando se someten a una tensión de empuje más pequeña que un cierto valor umbral (τ_0) [Sherman, 1983; Deem, 1988]. Para esfuerzos superiores al umbral, el material se deforma continuamente como un fluido, siendo la tensión de empuje una función lineal de la velocidad de cizalla para fluidos de Bingham [Sherman, 1983; Voigt, 1979; Wood, 1986; Schott, 1987; Deem, 1988], o no lineal para los de Casson [Voigt, 1979]. Un fluido de Bingham puro es el ejemplo más simple de plasticidad. El comportamiento plástico se puede atribuir a la destrucción del entramado estructural de un fluido cuando una fuerza externa aplicada supera el valor de las fuerzas atractivas que mantienen la red tridimensional de estos sistemas [Lang, 1981]. Este tipo de flujo, está normalmente asociado con partículas floculadas o coaguladas en soluciones concentradas [Deem, 1988].

- d) Fluidos estructurales: este tipo de materiales presentan un flujo con tres regiones diferenciadas [Ferrari et al., 2001; Rossi et al., 2001].
- zona newtoniana a velocidades de cizalla suficientemente bajas donde la variación estructural no es significativa, por lo que la dependencia de la viscosidad aparente con la velocidad de cizalla puede desaparecer (salvo si el material tiene un umbral de fluencia o esfuerzo cortante umbral). A este valor de viscosidad aparente se le denomina viscosidad límite a velocidad de cizalla cero (γ_0).

- zona intermedia de velocidades de cizalla, donde la variación no es lineal.
- zona newtoniana a altas velocidades de deformación, caracterizada por un valor constante de viscosidad aparente. Este valor se conoce por viscosidad lineal a velocidad de cizalla infinita (γ_{∞}).

Las distintas zonas apreciables se relacionan con cambios estructurales según aumenta el valor de γ , así al aplicar una determinada cizalla se produce una deformación u orientación de la estructura del fluido que se traduce en un descenso de la viscosidad. Para valores pequeños de γ , la tensión aplicada no es suficiente como para provocar esta deformación, y cuando los valores de γ son altos, la estructura está totalmente orientada [Rossi et al., 2001].

Tixotropía: los fluidos no newtonianos muestran generalmente una viscosidad no sólo dependiente de la velocidad de cizalla sino también un comportamiento reológico asociado al tiempo de cizalla [Lapasin, 1980; Rizvi, 1981; Deem, 1988; Korhonen et al., 2000; 2001]. Si la viscosidad desciende con el tiempo, el material se define como tixotrópico [Voigt, 1979; Wood, 1986; Schott, 1987; Lucero et al., 1998; 2000; 2001], por el contrario, si aumenta se dice que es reopéctico o antitixotrópico [Lucero et al., 1998].

En el momento presente existe un acuerdo generalizado en denominar Tixotropía a un descenso continuado de la viscosidad aparente con el tiempo de cizalla y la subsiguiente recuperación de la viscosidad cuando cesa el flujo [Lucero

et al., 1991; 1998; 2000; 2001]. En el caso de que no se produzca una recuperación estructural en su totalidad debe aplicarse el término destrucción estructural y no el de tixotropía [*Dolz, 1980*].

1.3.4. - Materiales viscoelásticos.

Sin duda el comportamiento que mejor puede definir, desde un punto de vista reológico, a un sistema polimérico es el comportamiento viscoelástico [*Madsen et al., 1998; Mura et al., 2000; Woolfson et al., 2000; Ferrari et al., 2001; Jones et al., 2001; Pelletier et al., 2001; Jiménez-Kairuz et al., 2002*]. Un fluido newtoniano o viscoso puro no recupera nada de su forma inicial al retirar el esfuerzo aplicado sobre él, porque toda la energía mecánica suministrada se disipa en forma de calor. En el extremo opuesto, un material elástico ideal recupera su forma original al retirar el esfuerzo aplicado, ya que la energía se almacena y posteriormente se recupera [*Tamburic & Cragig, 1996*]. Este tipo de fenómeno se puede definir como de memoria infinita [*Schramm, 1994*].

Un material viscoelástico es aquel que posee componentes viscosas y elásticas en diversos grados [*Flugge, 1975; Ferry, 1980; Deem, 1988; Barnes, 1989; Hsu et al., 1994; 1996; Schramm, 1994; Undar et al., 2000; Ferrari et al., 2001; Rossi et al., 2001*]. En éstos, los esfuerzos no sólo son función de la deformación instantánea, sino de la historia de la deformación, es por ello que se denominan "fluidos con memoria" [*Murat et al., 2000*].

El estudio de viscoelasticidad implica establecer relaciones entre el esfuerzo, la deformación y el tiempo en el que se aplica dicho esfuerzo [*Qian,*

2000]. En el caso que las variaciones tanto del esfuerzo como de la deformación sean infinitesimales y las relaciones entre ambas magnitudes en función del tiempo puedan describirse mediante ecuaciones diferenciales lineales de coeficientes constantes, el comportamiento se define como viscoelástico lineal [Bland, 1960; Deem, 1988; Schramm, 1994; Yu, 1994; Moe & Rippie, 1997; Qian, 2000]. Ello implica que la relación entre la deformación y el esfuerzo es sólo función del tiempo y no de la magnitud del esfuerzo aplicado [Murat et al., 2000].

Las propiedades viscoelásticas de los distintos materiales pueden ser evaluadas a través de los denominados ensayos dinámicos en cizalla oscilatoria [Deem, 1988; Schramm, 1994; Yu, 1994; Bonferoni, 1995; Valenta et al., 1999; Murat et al., 2000; Ferrari et al., 2001; Rossi et al., 2001; Jiménez-Kairuz et al., 2002]. Éstos consisten en aplicar una función sinusoidal (deformación) de determinada frecuencia con una amplitud tal que se asegure la existencia de rango lineal (área donde el esfuerzo es proporcional a la deformación), y estudiar la respuesta también sinusoidal (esfuerzo). Para conseguir este rango lineal es necesario someter al material a deformaciones muy pequeñas [Cordobés et al., 1997]. En estas condiciones las medidas dinámicas permiten determinar de un modo prácticamente no destructivo las componentes elástica y viscosa de un material [Valenta et al., 1999].

El esfuerzo y la deformación tienen siempre la misma frecuencia y están en fase en un sólido elástico, desfasados $\Pi/2$ radianes en un fluido viscoso puro o desfasado un ángulo comprendido generalmente entre 0 y $\Pi/2$ radianes en un material viscoelástico [Fuji et al., 1996].

La caracterización reológica de los materiales viscoelásticos puede establecerse gracias a la utilización de las denominadas magnitudes complejas [Valenta et al., 1999]. En este sentido el módulo complejo, G^* , que define la naturaleza viscoelástica de un material, puede expresarse como:

$$G^* = G' + i G'' \quad [\text{Ec. 5}]$$

Matemáticamente, los números complejos son la suma de una parte real y una parte imaginaria. La parte imaginaria está compuesta por un número real multiplicado por i . Este hecho permite, en un material viscoelástico, individualizar matemáticamente el módulo elástico (G') del módulo viscoso (G''). En realidad, el uso de los números complejos sólo supone una herramienta matemática para tratar de forma individualizada las componentes que se encuentran en fase (componente elástica) de las que se encuentran en desfase (componente viscosa) [Schramm, 1994]. Existe un ángulo de desfase, δ , entre las componentes elástica y viscosa cuya tangente, que se conoce como factor de pérdida, viene dada por la expresión:

$$\tan \delta = G'' / G' \quad [\text{Ec. 6}]$$

Este parámetro ha sido relacionado por algunos autores con la resistencia mecánica en sistemas gelificados [Ferrari et al., 2000; Rossi et al., 2000].

Los módulos G' y G'' vienen determinados respectivamente por las siguientes ecuaciones:

$$G' = |G^*| \cos \delta \quad [\text{Ec. 7}]$$

$$G'' = |G^*| \sin \delta \quad [\text{Ec. 8}]$$

Igualmente, se define la viscosidad dinámica compleja, η^* , por la ecuación:

$$\eta^* = G^*/\omega \quad [\text{Ec. 9}]$$

Donde ω , es la frecuencia del seno de la onda expresada en radianes por segundo.

La componente de la deformación que está en fase, G' , es una medida de la naturaleza elástica del material y se denomina módulo de almacenamiento. Se define así porque toda la energía de deformación (excepto aquella que se pierde por fricción) puede ser recuperada a modo de muelle [Quian, 2000]. La componente de la deformación que está desfasada en 90° , G'' , es una medida de la naturaleza viscosa y se denomina como módulo de pérdida. Tal denominación hace referencia a que la energía no es recuperada en su totalidad [Rossi et al., 2001].

Aquellos sistemas que presentan un comportamiento exclusivamente viscoso se caracterizan por una viscosidad denominada, η' , que se define a partir de la siguiente ecuación:

$$\eta' = G''/\omega \quad [\text{Ec. 10}]$$

Los ensayos de viscoelasticidad lineal son adecuados para relacionar los parámetros reológicos con la estructura del sistema en un estado cercano al de reposo, [Flory, 1986; Deem, 1988; Schramm, 1994; Hsu et al., 1996; Cordobés et al., 1997; Valenta et al., 1999; Murat et al., 2000; Qian, 2000; Pasquali et al., 2001; Chang et al., 2002]. Sin embargo, no tienen utilidad para describir las modificaciones estructurales que la mayoría de los fluidos viscoelásticos experimentan durante su procesado, envasado o utilización [Hsu et al., 1994; 1996].

1.3.5. - Utilidades farmacéuticas de la determinaciones reológicas.

Las determinaciones reológicas pueden llevarse a cabo con objeto de [Jones et al., 1999; 2001; Sanz-Taberner et al., 2002]:

- ✓ Cuantificar los efectos del tiempo y temperatura de almacenamiento.
- ✓ Determinar la influencia de los excipientes sobre la formulación.
- ✓ Describir el comportamiento de fluidez de un material con el propósito de realizar un control de calidad.
- ✓ Diseñar y optimizar una nueva forma de dosificación.
- ✓ Medir la extensibilidad como capacidad de deformación tras la aplicación de un esfuerzo de compresión.
- ✓ Conocer la naturaleza fundamental del sistema. Este último factor es probablemente el más importante para la formulación.

El primer objetivo de cualquier experimentación reológica es determinar la función que relaciona el esfuerzo con la deformación o la velocidad de deformación y, en el caso de la viscoelasticidad, la frecuencia [Muret et al., 2000].

Independientemente de la instrumentación utilizada, el material objeto de una medida reológica debe cumplir una serie de características [Lucero et al., 1998].

- El fluido debe ser incompresible, esto es, el material no debe sufrir cambios en el volumen tras ser sometido a una fuerza de cizalla.
- Sobre el material no deben actuar fuerzas adicionales (fuerzas corporales). El fluido está sujeto no sólo a fuerzas de superficie, sino

también a la gravedad o la inercia. Algunas de estas fuerzas están siempre presentes pero son generalmente pequeñas respecto a las fuerzas viscosas. Sin embargo, pueden llegar a ser importantes cuando el material se somete a elevadas fuerzas centrífugas poco tiempo antes de la realización de la medida, o bien, cuando la fase dispersada tiene una densidad apreciablemente diferente con respecto a la fase continua.

- La viscosidad debe ser independiente de la presión generada en el instrumento de medida.
- La temperatura del material debe ser constante a lo largo de toda la experiencia reológica, ya que la viscosidad es un parámetro dependiente de la temperatura.

2.- Sistemas poliméricos en la liberación tópica de fármacos.

2.1.- Materiales poliméricos de interés.

Entre los principales vehículos utilizados en el diseño de sistemas de liberación de fármacos de naturaleza semisólida de administración por vía tópica se encuentran los materiales poliméricos. Entre otros polímeros de interés en Tecnología Farmacéutica se encuentran los derivados celulósicos y los polímeros acrílicos [Aiache et al., 1983; Caramella et al., 1989; Gehrke & Lee, 1990; Bhardwaj & Blandchard, 1996; Narisawa et al., 1996; Talukdar et al., 1996; Knorst et al., 1997; Fang et al., 1999; Sarisuta et al., 1999; Siepmann et al., 1999; Zauscher et al., 2000; Reason et al., 2001; Proniuk et al., 2002]:

Los éteres celulósicos son derivados semisintéticos de la celulosa, donde parte de los átomos de hidrógeno de los tres grupos hidroxilo en la unidad repetitiva de anhidroglucosa se sustituyen por grupos etilo, hidroxietilo, hidroxipropilo, carboximetilo o grupos alquílicos mixtos [Gehrke & Lee, 1990]. Como resultado se obtienen polímeros lineales de carácter termoplástico, solubles en agua y muy adecuados para el diseño de sistemas poliméricos destinados a la vía tópica: metilcelulosa, e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) entre otros, debido fundamentalmente a [Gehrke & Lee, 1990; Bhat et al., 1996; Eyjolfsson, 1999; Fang et al., 1999; Jones et al., 1999; Nagarsenker et al., 1999; Sarisuta et al., 1999; Reason et al., 2001; Luukkonen et al., 2001; Picker et al., 2002].

- ✓ Control de los perfiles de liberación de fármacos.
- ✓ Independencia del pH.
- ✓ Capacidad para incorporar grandes cantidad de principios activo.
- ✓ Mejorar la estabilidad del fármaco que vehiculizan.
- ✓ Características de biocompatibilidad.
- ✓ Propiedades mucoadhesivas.
- ✓ Permeabilidad a fármacos y otros solutos fácilmente ajustable en base a sus condiciones de síntesis. Este hecho tiene especial relevancia en el diseño, previamente establecido, de perfiles de liberación de fármacos.

De todos los derivados celulósicos utilizados, uno de los más utilizados es la HPMC ya que, además de las ventajas anteriores, presenta mayor compatibilidad con los electrolitos [Mohammed, 2001].

Así mismo, el desarrollo de polímeros y copolímeros acrílicos es un campo en continuo crecimiento. En este sentido, bajo la denominación de Eudragit® se conocen a una serie de copolímeros de síntesis constituidos por ácido metacrílico, dimetilaminoetilmetacrilatos y ésteres del ácido metacrílico en proporciones variables. Los polímeros acrílicos de Eudragit® se consideran polímeros amorfos, lineales, con ausencia de estructuras ordenadas cristalinas ("tactic structures"), no reticulados ("not cross-linked") y de carácter termoestable [Lin et al., 2000; Nyamweya et al., 2001]. Entre las propiedades que justifican su caracterización se encuentran [Lehmann, 1989; Li et al., 1989; Jenquin et al., 1990; Amighi & Möes, 1996; Hosny et al., 1998; Leopold et al., 1998; Minghetti et al., 1999; Sarisuta et al., 1999; Siepmann et al., 1999; Lin et al., 2000; Murat et al., 2000; Nyamweya et al., 2001; Sanz-Taberner et al., 2002]:

- ✓ Monómeros disponibles para la síntesis de nuevos polímeros.
- ✓ Estructura estable y químicamente inerte.
- ✓ Control de la liberación del principio activo.
- ✓ Capacidad de combinación con otros excipientes como forma de ampliar las formas de actuación de los sistemas poliméricos.

2.2. Sistemas poliméricos gelificados.

Los materiales poliméricos dan lugar, con cierta frecuencia, a sistemas gelificados que se utilizan en la formulación de formas farmacéuticas de

naturaleza semisólida, con aplicaciones diversas en el campo de la Dermatología y la Oftalmología [Rossi et al., 2000; Ferrari et al., 2000].

En la literatura consultada, con el término de gel se recogen dos tipos de sistemas semisólidos: los "geles verdaderos" y las soluciones poliméricas coloidales. La diferencia fundamental entre ambos sistemas radica en sus diferentes características estructurales [Rossi et al., 2000].

- ✓ **Geles verdaderos.** Son sistemas semisólidos formados por dos fases, una sólida caracterizada por una red coherente de cadenas poliméricas que determinan un entramado tridimensional en un medio líquido representado por el solvente. Los hidrogeles son, por tanto, un ejemplo de gelificación de un material polimérico dispersable o soluble en un medio acuoso. Los geles verdaderos se clasifican de acuerdo con el origen natural o sintético del polímero que se dispersa y del medio de gelificación. Los polímeros sintéticos dan lugar a hidrogeles que se caracterizan por presentar una disposición de las macromoléculas unidas por enlaces covalentes. La naturaleza de esas uniones determina, por un lado, la naturaleza irreversible del gel, y por otro, una alta resistencia mecánica de los mismos [Jones et al., 1997]. Los polímeros de origen natural, como alginatos, carrageninas, pectinas, o gomas naturales como el guar o tragacanto, dan lugar a la formación de geles caracterizados por una red tridimensional sensibles a la temperatura y a la concentración de polímero [Tamburic & Cragig, 1996]. A diferencia de los geles sintéticos irreversibles, definidos como rígidos y de alta resistencia mecánica, los geles naturales son reversibles, de naturaleza viscolástica [Tonnesen & Karlsen, 2002] y su

estructura está influenciada por un equilibrio dinámico sol-gel [Dayal et al., 2002].

- ✓ Soluciones poliméricas coloidales. Son sistemas semisólidos en los que no existe una estructuración tridimensional definida [Hino & Ford, 2001]. Como ejemplo de polímeros formadores de estos sistemas, se encuentran los derivados celulósicos como la HPMC [El Kattan et al., 2000; Mohamed, 2001; Ofori-Kwakye & Fell, 2002]. Dependiendo de la concentración del polímero y de propiedades fisico-químicas del solvente tales como: grado de hidratación [Gasperlin et al., 2000], temperatura [Sanz-Taberner et al., 2002], pH [Riley et al., 2001] y fuerza iónica [Rossi et al., 2001], se van a establecer uniones de naturaleza débil del tipo fuerzas de Van der Waals o puentes de hidrógeno que van a determinar un cierto grado de estructuración en este tipo de sistemas [Hino & Ford, 2001].

Las uniones entre las cadenas poliméricas que integran la estructura de un sistema gelificado se pueden establecer por mecanismos físicos o químicos [Dittgen et al., 1997].

- ✓ Reticulación física: la reticulación física se produce por simple entrecruzamiento si la concentración polimérica es alta o incluso para concentraciones relativamente bajas, se pueden establecer interacciones débiles por puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals o uniones de carácter hidrofóbico o iónico.
- ✓ Reticulación química. En los geles reticulados químicamente, las uniones entre las cadenas se establecen por enlaces covalentes. La reticulación se

produce durante la síntesis del polímero por acción de agentes reticulantes sobre determinados grupos funcionales de las cadenas poliméricas.

De acuerdo con sus propiedades reológicas, los sistemas gelificados no se comportan como sólidos ideales ni como líquidos viscosos puros, sino como materiales viscoelásticos. De ahí que la caracterización de este tipo de sistemas deberían incluir no sólo medidas de viscosidad aparente sino también medidas de viscoelasticidad. La reticulación de las cadenas poliméricas en dispersión acuosa permiten aumentar su consistencia y la elasticidad del sistema, dotándolo de unas propiedades mecánicas muy adecuadas para su utilización como vehículos de fármacos, al tiempo que permite modular la velocidad de difusión a su través. Las propiedades reológicas, incluida la resistencia mecánica, el equilibrio de hidratación y los perfiles de liberación son propiedades relevantes que se hacen necesarias caracterizar de acuerdo con las múltiples aplicaciones farmacéuticas de estos sistemas.

2.3. - Equilibrio dinámico de hidratación y técnicas analíticas utilizadas.

Las propiedades de hidratación no sólo ocupan un aspecto importante dentro del proceso tecnológico o de manufactura en la formulación de los sistemas gelificados, sino que adquieren un papel relevante en las propiedades biofarmacéuticas, ya que pueden influir de forma determinante en los perfiles de liberación de los fármacos vehiculizados en dichos sistemas [*Gasperlin et al., 2000; Mohamed, 2001; Kim et al., 2001; 2002*].

Los polímeros con grupos hidrófilos, como son los grupos hidroxilo o amonio cuaternario, establecen fuerzas de unión con el agua, modificando las características mecánicas y reológicas de estos sistemas [Sung, 1978; Nakamura et al., 1981; Mitchell et al., 1989; Robitaille et al., 1991; Sarkar, 1991; Sarkar & Walker, 1995; McCrystal et al., 1997; Hino & Ford, 2001; Gupta et al., 2002]. El agua puede llegar a plastificar el polímero [Sakellariou et al., 1985] o bien dar lugar a la formación de enlaces estables como consecuencia de la formación de puentes de hidrógeno [Nakamura et al., 1983], resultando un producto más viscoso [Haque & Morris, 1993; Haque et al., 1993; Ford, 1999; Hino & Ford, 2001].

En la caracterización de los sistemas de dosificación poliméricos es de especial importancia la caracterización del equilibrio dinámico de hidratación en el análisis de los mecanismos de liberación del fármaco [Khare & Peppas, 1993]. Las interacciones agua-polímero asociado al conocimiento de los cambios físicos del agua ligada a la estructura polimérica pueden ser de utilidad para determinar las características de permeabilidad de los fármacos dispersados en la matriz polimérica [Ford & Mitchell, 1994]. Estos cambios pueden influir de forma determinante en el valor de los coeficientes de difusión y de permeabilidad del fármaco debido a que la movilidad del soluto depende no sólo del grado de hidratación del sistema polimérico sino de la naturaleza del agua constituyente del mismo [El Kattan et al., 2000; Mohamed, 2001; McCrystal et al., 2002]. Las propiedades físicas del agua, las interacciones agua-polímero, la viscosidad del agua que aumenta en la vecindad de las cadenas poliméricas modifican la movilidad de los fármacos a través de los sistemas poliméricos [Doelker, 1987; Zang et al., 1989;

Roorda, 1994; Aoki et al., 1995; Ford, 1999; Rossi et al., 2001; Dayal et al., 2002]. Así, para muchos autores la caracterización de la naturaleza del agua en los sistemas poliméricos es importante en el control del mecanismo difusional de fármacos [*Nakamura et al., 1987; Roorda et al., 1988; Joshi & Wilson, 1993; Roorda, 1994; Ford, 1999; Mohamed, 2001; Dayal et al., 2002*].

Jhon y Andrade (1973), propusieron un modelo estructural para sistemas gelificados en el que era posible distinguir hasta tres fracciones diferenciadas de agua:

- ✓ Agua tipo I o agua libre. Este tipo de agua no interacciona con las cadenas poliméricas y posee las mismas propiedades físicas que el agua pura, con un punto de fusión próximo a los 0°C.
- ✓ Agua tipo II, agua intersticial o agua ligada congelable. Esta fracción de agua se caracteriza por distribuirse alrededor de los grupos hidrofóbicos del entramado polimérico interaccionando débilmente con ellos. Posee un punto de fusión muy inferior al del agua pura (< 0°C).
- ✓ Agua tipo III, agua estructural, agua ligada o agua no congelable. Se corresponde con una fracción de agua que interacciona fuertemente con los grupos hidrofílicos e iónicos de la matriz polimérica a través de enlaces de naturaleza polar o por puentes de hidrógeno. Esta fracción de agua no es congelable.

Las medidas del contenido de las distintas fracciones de agua de un sistema polimérico puede ser realizada por diversas técnicas como: (DSC) [*Ford & Timmins, 1989; Hatakeyama & Quinn, 1992; Khare & Peppas, 1993; Ford et al., 1998;*

McPhillips et al., 1999; Vesu et al., 2000;; Gupta et al., 2002], Espectroscopía RMN [*Aoki et al., 1995; Ford, 1999*] o Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier [*McCrystal et al., 2002*].

En la DSC, la muestra es enfriada por debajo de 0°C. A esta temperatura, el agua libre y el agua interfacial congelan mientras que el agua ligada permanece en estado líquido debido a que se asocia fuertemente a las cadenas del polímero a través de enlaces de naturaleza polar [*Ford & Timmins, 1989*]. Los resultados experimentales se representan en un termograma que mostraría un pico a una temperatura significativamente inferior a los 0°C correspondiente con la fracción de agua intersticial y un segundo pico en torno a los 0°C característico de la fracción de agua libre [*Bond et al., 2002*]. El contenido de agua estructural o no congelable, se obtendría por diferencia del total menos las fracciones de aguas tipos I y II. Para el cálculo del contenido de agua total, la técnica más utilizada es el TGA [*Vesu et al., 2000*].

La proporción de las distintas fracciones de agua dentro un sistema polimérico es función del tipo de copolímero [*McCrystal et al., 1997; Hatakeyama & Hatakeyama, 1998*], grado de entrecruzamiento [*Roos & Karel, 1991; Hancock & Zografi, 1994*], y naturaleza de los iones presentes en el medio [*Wagner & McGinity, 2002*].

Para algunos autores, la suma de las fracciones de agua tipos II y III, se conoce como contenido de agua ligada o unida [*Khare & Peppas, 1993*]. Muchos son los estudios en la literatura que relacionan a las fracciones de agua tipos I y II, con la difusión de fármacos [*Mitchell et al., 1989; Zang et al., 1989; Bouwstra et al., 1995*;

McCrystal et al., 1997, Hatakeyama & Hatakeyama, 1998; Mc Phillips et al., 1999; Kim et al., 2002].

2.4. -Mecanismos físicos implicados en la liberación de fármacos.

El establecimiento de los perfiles de liberación de un fármaco desde un sistema polimérico constituye un aspecto de especial interés en los estudios de preformulación en este tipo de sistemas [*Lehmann, 1989; Li et al., 1989; Valenta & Almasi-szabo, 1995; Bhardwaj & Blanchard, 1996; Talukdar et al., 1996; Realdon et al., 1998; Siepmann et al., 1999; Lucero et al., 2000; Michailova et al., 2001; Wagner & McGinity, 2002].*

Entre los factores determinantes de la liberación de un fármaco desde sistemas dispersos se han indicado: la naturaleza y tipo de polímeros [*Bell & Peppas, 1996; Colombo et al., 1997; Simovic et al., 1999; Murat et al., 2000; Chang et al., 2002], las características mecánicas de los sistemas [Gasperlin et al., 1997; Jones et al., 1999; Valenta et al., 1999; Michailova et al., 2000; 2001], las propiedades físicoquímicas del fármaco [Peck et al., 1995; Am-Ende & Peppas, 1997; Eyholfsson, 1999; Hino & Ford, 2001] y la presencia de interacciones polímero-fármaco [Narisawa et al., 1996; Am-Ende & Peppas, 1997; Realdon et al., 1998; Sarisuta et al., 1999; Hino & Ford, 2001; Gupta et al., 2002]. Las interacciones polímero-polímero tienen gran interés científico y práctico. Para estudiar los procesos de interacción polímero-polímero se puede acudir a varias técnicas entre las que cabe destacar la microscopia electrónica [*Chellat et al., 2000]* y la reometría [*Andrade et al., 2000].**

La liberación de un fármaco desde un sistema de dosificación puede ser descrita atendiendo a una diversas cinéticas [*Addicks et al., 1995].* Los modelos

cinéticas permiten describir la liberación de un fármaco desde una forma de dosificación en la unidad de tiempo. En función de la dependencia con la constante de liberación y del número de moléculas de fármaco disponibles en el proceso, se define el orden de la cinética. Así, la cinética de orden uno se caracteriza por una liberación del fármaco en la unidad de tiempo que depende de la constante de liberación así como del número de moléculas disponibles. Cuando todas las moléculas de fármaco se encuentran disponibles, la cantidad de ellas se liberan a una mayor velocidad al principio, sin embargo, cuando el número desciende la velocidad de liberación decrece. Esto es, la velocidad de liberación es directamente proporcional a la cantidad de fármaco disponible.

$$dC/dt = KC \quad [\text{Ec. 11}]$$

Como se observa el proceso de liberación es exponencial y se representa mediante una curva, que puede linalizarse en escala semilogarítmica en ordenadas. Esta representación lineal resulta de integrar la Ec. 11.

$$\ln C = \ln C_0 + Kt \quad [\text{Ec.12}]$$

Siendo: C , la concentración de fármaco liberada; C_0 , la concentración inicial de fármaco; K , la constante de liberación; t , el tiempo.

Pero hay formas de dosificación de fármacos en el que el número de moléculas disponibles para la liberación permanece constante. Este tipo de cinética de liberación, en el que la cantidad liberada de fármaco es constante e independiente de la cantidad del mismo que quede por liberarse, se denomina de orden cero.

$$dC/dt = K \quad [\text{Ec. 13}]$$

La representación de C vs. t , determina una recta de pendiente K .

Los órdenes de las cinéticas de liberación no son siempre números enteros. Cuando la liberación del fármaco desde una forma de dosificación es función de la raíz cuadrada del tiempo, se denomina cinética de Higuchi [Higuchi, 1961] y la expresión matemática que la describe:

$$C = 2A C_0 \sqrt{\frac{Dt}{\pi l}} \quad [\text{Ec. 14}]$$

donde: C : es la cantidad de fármaco liberado; A , el área de la membrana utilizada en la experiencia; C_0 , la concentración inicial del fármaco en el sistema disperso; D , el coeficiente de difusión del fármaco en el sistema; l , la longitud difusional y t , el tiempo experimental.

La representación de C vs. $t^{1/2}$, determinará igualmente una recta. De todos los métodos disponibles, el método gráfico de determinación del orden de la cinética de liberación es el más utilizado [Sclafani et al., 1993].

2.5. - Leyes generales del proceso de difusión.

El mecanismo más frecuente implicado en la liberación de fármacos por parte de un sistema polimérico es la *difusión* [Higuchi, 1961; Aiache, 1983; Akhter et al., 1984; Bronaugh & Stewart, 1985; Akazawa et al., 1989; Gehrke & Lee, 1990; Choi & Angello, 1994; Bhat et al., 1996; Zang et al., 1996; Knorst et al., 1997; Eyjolfsson, 1999; Fang et al., 1999; Siepmann et al., 1999; Michailova et al., 2001]. Los fenómenos difusivos

son caracterizados por las *leyes de Fick* [Bronaugh & Stewart, 1985; Addicks et al. 1987; 1990; Reinferath et al., 1994; Ogiso et al., 1996; Siepmann et al., 1999].

Si admitimos que la interacción principio activo/disolvente y disolvente/disolvente no tiene una influencia importante sobre el flujo del principio activo, se puede describir la difusión en régimen constante por la primera ley de Fick:

$$J = dQ/dt = P' A (C_d - C_r) / h \quad [\text{Ec. 15}]$$

donde: J , es el flujo o cantidad (Q) de fármaco transferido por unidad de tiempo (t); A , es la superficie efectiva de la membrana; P' es el coeficiente de permeabilidad; h , es el espesor de la membrana y C_d y C_r , son las concentraciones a nivel de la superficie de la membrana, en los compartimientos donador (d) y receptor (r).

Debido a la dificultad que representa determinar experimentalmente el coeficiente de reparto en un sistema biológico por un método de equilibrio o método dinámico, se recurre al coeficiente de permeabilidad, P' , para caracterizar los fenómenos de transporte según la relación general [El Kattan et al., 2000].

$$P' = D K_p / h \quad [\text{Ec. 16}]$$

El coeficiente de permeabilidad, P' , es un parámetro que incluye el coeficiente de difusión acuosa, D , y el de reparto del fármaco entre ambas fases, K_p , cuando la membrana es la única barrera que se opone a la difusión [Morita et al., 2000]. El coeficiente K_p , es importante para describir este proceso cuando la velocidad de difusión a través de la membrana es más pequeña que en el medio

adyacente [Kubota & Maibach, 1994]. El coeficiente D expresa la cantidad de fármaco que difunde por unidad de superficie cuando el gradiente de concentración es igual a la unidad [El Kattan et al., 2000].

En una membrana, P' , es función de D, de la tortuosidad y de la superficie de los poros [Touiton & Abed, 1985]. Incluso, para la mayoría de los procesos de transporte biológicos o biofarmacéuticos, este coeficiente de permeabilidad depende de la concentración de principio activo [Aiache, 1983].

Cuando C_d y C_r varían en función del tiempo y cuando los volúmenes (V) de las soluciones a cada lado de la membrana son iguales, la primera ley de Fick se puede ordenar de la siguiente forma:

$$\log (C_d - C_r) = -2DAK/2.3Vh t + C \quad [\text{Ec. 17}]$$

Al determinar experimentalmente C_d , C_r y t y representando gráficamente el $\log (C_d - C_r)$ en función del tiempo (t), se obtiene una recta en la que la pendiente es igual a $-2DAK/2.3Vh$ ó, en otros términos, es igual a una constante de velocidad de primer orden que comprende un conjunto de parámetros inherentes a la membrana y al principio activo [Knorst et al., 1997].

Los coeficientes D de fármacos pueden determinarse a través de ensayos de permeación a través de membranas [Aiache, 1983; Gehrke & Lee, 1990; Babar et al., 1990; Rodriguez-Bayón et al., 1993; Kubota & Maibach, 1994; Xiang & Anderson, 1994; Reifenrath et al., 1994; Knorst et al., 1997; Fang et al., 1999; Gasperlin et al., 2000; Lieb et al., al., 2002; Wagner & McGinity, 2002]. Para ello se deben cumplir una serie de condicionantes:

- ✓ Una condición indispensable debe ser que la membrana no constituya un elemento limitante del proceso de cesión.
- ✓ La membrana debe ser resistente desde un punto de vista mecánico para soportar al sistema disperso.
- ✓ El estado estacionario debe establecerse en un periodo de tiempo razonable para su determinación experimental.

Estos problemas pueden ser minimizados con un diseño experimental apropiado. Así es fundamental tener en cuenta la naturaleza de la membrana [Babar et al., 1990; Rodríguez-Bayón et al., 1993] y los problemas se pueden plantear con fármacos de elevado peso molecular y bajo coeficiente de difusión, especialmente si la membrana tiene un espesor elevado [Harlan & Peppas, 1983].

2.5.1.- Factores relacionados con el medio donador.

- ✓ Concentración: De la expresión matemática de la primera ley de Fick, se deduce que la diferencia de concentración (el término actividad sería más preciso) a ambos lados de la membrana es el parámetro fundamental de la difusión pasiva que define la velocidad, la cantidad y la dirección del transporte de un determinado fármaco [Kundu et al, 1993]. Cuando el gradiente de concentración es cero ($dC/dt=0$) durante toda la experiencia el transporte se realiza a régimen constante. Estas condiciones determinan el establecimiento de un estado estacionario caracterizado por un proceso de orden cero [Siepmann et al., 1999]. Las concentraciones crecientes del

principio activo en el medio donador, provocan cambios en la actividad termodinámica y consecuentemente un aumento del coeficiente de difusión [El Kattan et al., 2000]. Cuando la concentración en el medio donador es muy baja, el coeficiente de difusión es independiente de la concentración [Aiache, 1983].

- ✓ Viscosidad. La viscosidad del compartimento donador influye de forma determinante en la difusión del principio activo [Lee et al., 1988; Kundu et al., 1993; Minghetti et al., 1999] y ésta a su vez depende del grado de interacción entre el principio activo y el vehículo [Sarisuta et al., 1999]. Sin embargo, el efecto de la viscosidad, así como de todas las características estructurales de un medio receptor, en la capacidad de liberación por difusión de un determinado principio activo, no se encuentran bien caracterizadas.

Temperatura. La temperatura influye sobre el coeficiente de difusión de forma exponencial de ahí que en los ensayos de difusión debe llevarse a cabo un control exhaustivo de la temperatura [El Kattan et al., 2000].

2.5.2. - Factores relacionados con la membrana.

Los factores más importantes relacionados con la membrana que influyen en la difusión de fármacos son:

- ✓ Porosidad. En general, las moléculas pasan a través de los poros de la membrana sin ser verdaderamente solubilizados en sus constituyentes. En

estos casos, la facilidad de transporte de un soluto depende, en gran parte, de la dimensión de los poros [Peck et al., 1995], de las moléculas penetrantes y de la composición, estructura y viscosidad del compartimento donador [Lee et al., 1988; Kundu et al., 1993; Narisawa et al., 1996; Jones et al., 1999]. Para la interpretación de los resultados de permeabilidad es necesario conocer la superficie efectiva de la membrana. [Peck et al., 1995].

- ✓ Tortuosidad: Se denomina así al alargamiento efectivo de las vías de difusión provocado por la estructura de la membrana de difusión [Aiche, 1983].

En general, los resultados derivados de los ensayos difusivos suelen ser interpretados desde un punto de vista comparativo, de forma que, al utilizar el mismo tipo de membrana en todos los ensayos, la influencia de la misma en el proceso difusivo queda minimizado [Caramella et al., 1989]

2.5.3.- Factores relacionados con el compartimento receptor.

- ✓ Coefficiente de reparto membrana/compartimento receptor. Si un soluto se introduce en un sistema que contiene dos fases no miscibles (por ejemplo, membrana hidrófoba y medio acuoso adyacente), se distribuye entre ellas hasta el establecimiento de un equilibrio donde, a tiempo constante, la relación de las dos concentraciones también es una constante [Mohammed, 2001]. En el caso de una membrana no porosa, el transporte de fármaco

depende de la difusión de las moléculas en la superficie proximal de la membrana, de la adsorción y de su solubilidad en los constituyentes de la membrana [Kubota & Maibach, 1994]. Este fenómeno de reparto es, respecto de una membrana porosa, la diferencia principal.

- ✓ Tiempo de Latencia. Se define como el periodo de tiempo que precede a la aparición del principio activo en el medio receptor. Este tiempo de latencia refleja la retención inicial por parte de la membrana [El Kattan et al., 2000]. La ecuación clásica que describe los procesos de transporte estacionarios de un soluto a través de una membrana homogénea en el periodo inicial, es la siguiente [Dayal et al., 2002].

$$t_{lag} = h^2 / 6 D \quad \text{[Ec. 18]}$$

siendo: t_{lag} , tiempo de latencia; h , espesor de la membrana; D , coeficiente de difusión en los constituyentes de la membrana.

Esta ecuación muestra que si la difusión en el interior de una membrana de elevado espesor es pequeña, el tiempo necesario para el establecimiento de las condiciones estacionarias puede ser elevado. El tiempo de latencia está totalmente definido por los parámetros propios de la membrana [Touiton & Abed, 1985]. Para aquellas de bajo espesor y cierta lipofilia, la resistencia a la difusión se encuentra en primer lugar en las capas acuosas adyacentes a la membrana [El Kattan et al., 2000]. Estas capas de difusión no agitadas se encuentran en la interfase de cada membrana y su espesor depende de la viscosidad [Lee et al., 1990], de la velocidad de agitación del medio [Aiache,

1983], de la temperatura [Kundu et al., 1993] y del volumen molecular del soluto [Ogiso et al., 1996].

3- Relación entre propiedades reológicas y liberación de fármacos.

Han sido muchos los intentos por caracterizar estructuralmente a los sistemas dispersos en general, a través de ensayos que se basan en la caracterización reológica [Caramella et al., 1989; Macosko, 1994; Kobach, 1996 Bhat et al., 1996; Pérez-Marcos et al., 1996; Rainer et al., 1996 Tulukdar et al., 1996; Cordobés et al., 1997; Valenta et al., 1999; Murat et al., 2000; Qian, 2000; Michailova et al., 2001; Reason et al., 2001; Chang et al., 2002; Chatlapalli & Rohera, 2002].

El conocimiento de los factores que potencialmente puedan influir en los perfiles de liberación de un fármaco desde un sistema polimérico han sido objeto de estudio por parte de muchos autores que se han dedicado a este tema.

El Fattah et al. (1984) en un estudio de liberación controlada del aminosalicilato de feniramina desde sistemas poliméricos tópicos de Eudragit® RL y RS, concluyen que la velocidad de liberación del fármaco estaba influenciada por la naturaleza y tipo de polímero. La liberación del 100% del fármaco ocurría en las 7 horas en las que habían diseñado el ensayo.

Dittgen (1985) en un estudio diseñado sobre la base de sistemas poliméricos tópicos de Eudragit® NE, y fármacos con distintas propiedades fisico-químicas, afirma que los perfiles de liberación están más influenciados por las propiedades físico-químicas del fármaco liberado que por las características mecánicas de los sistemas poliméricos ensayados.

Kassen et al. (1986) en un intento de determinar el mecanismo implicado en la liberación de la dexametasona desde diferentes sistemas poliméricos de Eudragit® NE, RL y RS, realizó un tratamiento matemático de los datos obteniendo ajustes a un proceso mediado por un mecanismo difusivo.

Armand et al. (1987) estudiaron la liberación del salicilato sódico desde sistemas poliméricos de Eudragit® RS30D, reflejando la existencia de interacciones fármaco-polímero. Concluyeron igualmente que el principal mecanismo implicado en la transferencia del fármaco era un proceso mediado por la difusión.

Caramella et al. (1989) describen un modelo matemático de liberación de distintos fármacos desde matrices poliméricas hidrófilas de polivinil alcohol de acuerdo con sus propiedades reológicas.

Jenquin et al. (1990) evaluaron la influencia de distintos factores sobre la liberación de ácido salicílico y maleato de clorfeniramina desde sistemas poliméricos tópicos de Eudragit®RS y RL. Los patrones de liberación de estos fármacos se relacionaron con las propiedades físico-químicas de éstos, así como del tipo de polímero base de cada sistema ensayado. Los perfiles de liberación observados fueron explicados sobre la base de la existencia de interacciones fármaco-polímero. Se observaron fenómenos de adsorción entre el ácido salicílico y los polímeros Eudragit® RL y no así con el fármaco antihistamínico. Este fenómeno de adsorción se explicó como el resultado de interacciones electrostáticas entre los grupos aniónicos del ácido salicílico y las cargas positivas de los grupos amonio cuaternario contenidos en dichos polímeros. Este hecho se vió

apoyado por la mayor capacidad adsortiva del Eudragit® RL, que posee un mayor porcentaje de grupos amonio así como una permeabilidad al agua superior al Eudragit® RS.

Yu et al. (1994) destacan la importancia de la determinación de parámetros viscoelásticos en sistemas poliméricos de liberación controlada a fin de obtener información a nivel molecular del entramado polimérico. El diseño en condiciones no destructivas de los ensayos viscoelásticos permitiría obtener información sobre las características mecánicas y estructurales de los sistemas ensayados.

Bonferoni et al. (1995), en un intento de explicar los perfiles de liberación de diprofilina y acetazolamida desde sistemas poliméricos tópicos de HPMC, destacan la importancia de las propiedades reológicas de los sistemas poliméricos. En este sentido, el análisis viscoelástico de estos sistemas permitiría describir las interacciones entre las cadenas de polímeros y posibles interacciones fármaco-polímero.

Bell & Peppas (1996), estudiaron modelos de permeación de distintos solutos desde hidrogeles tópicos de polímeros acrílicos concluyendo que los perfiles obtenidos eran función de la naturaleza y tipo de polímero.

Narisawa et al. (1996), en un estudio de permeabilidad desde sistemas poliméricos tópicos de Eudragit® RS, indican la interacción del segmento hidrofóbico del polímero con la forma no disociada del ácido succínico y de interacciones electrostáticas de los grupos amonio cuaternario del polímero con la forma disociada del ácido. Ambos efectos se aceleran con el grado de hidratación del sistema polimérico y condiciona sus características mecánicas.

Delalonde et al. (1997), en un estudio sobre el diseño de un polímero celulósico con determinadas características mecánicas, destaca la importancia de los ensayos reométricos como guías indispensables de estudios de preformulación.

Gasperlin et al. (1997), en un estudio de cizalla oscilatoria sobre la base de preparados semisólidos en el que utilizan HPMC como agente viscosizante, concluyen que la incorporación de este derivado celulósico determina una respuesta viscoelástica de los sistemas poliméricos indicativo de un mayor grado de estructuración.

Sarisuta et al. (1999) describen la existencia de interacciones entre el macrólido eritromicina y varios polímeros entre los que se encuentran Eudragit®RL y HPMC. En estas interacciones fueron implicados el grupo carboxilo de los grupos ácidos de los polímeros y el átomo de nitrógeno del fármaco.

Siepmann et al. (1999) presenta un modelo matemático teórico que permite predecir la cinética de liberación de los fármacos diltiazem y teofilina desde sistemas tópicos de liberación controlada de etilcelulosa y Eudragit®RS100 de acuerdo con las concentraciones de polímero utilizadas.

Gasperlin et al. (2000) describen un modelo polinómico de predicción de las propiedades reológicas de sistemas semisólidos a partir de medidas obtenidas en ensayos dinámicos.

Qian (2000) desarrolla un modelo teórico en el que establece relaciones entre parámetros microscópicos y propiedades macroscópicas de distintos materiales a partir de medidas de viscoelasticidad lineal.

Grassi et al. (2000) presentan un modelo de liberación aplicable a polímeros entrecruzados para los fármacos acetato de medroxiprogesterona y temacepam. Determinan la influencia de factores como: las características viscoelásticas del polímero, las propiedades difusivas del fármaco así como la concentración y el estado cristalino o amorfo de dicho fármaco.

Michailova et al. (2001) describen la influencia de la reología de la HPMC y el mecanismo de liberación por difusión del fármaco molsidomina.

Riley et al. (2001) destacan la importancia de los ensayos reológicos dinámicos en la caracterización del sinergismo reológico o interacciones entre polímeros de distinta naturaleza fisico-química.

Contreras & Sánchez (2002) presentan un diseño factorial sobre la influencia de la concentración polímero en geles de Carbopol ETD 2020 a partir de medidas reológicas experimentales.

Sanz Taberner et al. (2002) destacan la adecuada correlación entre las características reológicas teóricas en sistemas gelificados de Carbopol 971-P para administración tópica y sus propiedades de consistencia y bioadhesividad.

El conocimiento de las características reológicas de un determinado sistema polimérico y su relación con los perfiles de liberación de un fármaco permitiría establecer un diseño y desarrollo racional de sistemas poliméricos de liberación tópica basado en las características reológicas óptimas [*McNair, 1996; Morris et al., 1996; Delalonde et al., 1997; Qian, 2000; Michailova et al., 2001; Ofori-Kwakye & Fell, 2002*].

Si bien los ensayos de viscoelasticidad lineal en cizalla oscilatoria son considerados no destructivos y permitiría obtener información a nivel molecular en un estado próximo al de reposo [Yu et al., 1994; Moe & Rippie, 1997; Quian, 2000], no permiten obtener información sobre el comportamiento de estos sistemas en procesos destructivos tales como procesado, manufactura y almacenamiento [Hiestand, 1997; Segers et al., 1997; Lucero et al., 2000].

Por tanto, para llevar a cabo un estudio reológico completo de un sistema disperso es necesario llevar a cabo un seguimiento de las deformaciones tanto por cizalla como por compresión en condiciones tanto destructivas como no destructivas [García et al., 1977; Deem, 1988; Dolz, 1988; Lucero et al., 1991; 1994 a, b, c; 1995; 1996; 1998; 2000].

OBJETIVOS

El objetivo principal de esta Tesis Doctoral es el diseño de sistemas dispersos para la administración de foscarnet por vía tópica. Para ello, procederá a realizar el estudio en distintas etapas:

- A. Formulación de distintos sistemas dispersos conteniendo polímeros de distinta naturaleza, con el fin de obtener una asociación hidrófoba/lipófila y propiedades sustantivas con la piel.
- B. Caracterización de las estructuras de los distintos sistemas dispersos de HPMC y Eudragit®.
- C. Determinación de las propiedades reológicas y del equilibrio dinámico de hidratación de los distintos sistemas dispersos de HPMC y Eudragit®.
- D. Estudio de la influencia de la incorporación de foscarnet sobre las propiedades reológicas de los sistemas dispersos.
- E. Realización de ensayos de liberación-difusión "in vitro" de foscarnet desde los sistemas dispersos formulados.
- F. Evaluación de la influencia de las propiedades reológicas sobre los perfiles de liberación-difusión de foscarnet.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Polímeros acrílicos de Eudragit®.

Bajo la denominación de Eudragit® se conocen a una serie de polímeros de síntesis constituidos por ácido metacrílico, dimetilaminoetilmetacrilatos y ésteres del ácido metacrílico en proporciones variables [Lehmann, 1989; Li et al., 1989; Jenquin et al., 1990; Amighi & Möes, 1996; Jovanovic et al., 1997; Leopold & Eikeler, 1998; Minghetti et al., 1999; Murat et al., 2000; Palmieri et al., 2001; Lieb et al., 2002].

En la Real Farmacopea Española (1997) no se recoge el término de Eudragit® como tal, si bien sí se describen copolímeros del ácido metacrílico y acrilato de etilo (1:1) y su correspondiente dispersión al 30 % (p/v) así como los copolímeros de ácido metacrílico y metacrilato de metilo (1:1) y (1:2).

De acuerdo con la naturaleza química de sus radicales se distinguen diversos tipos de Eudragit®. En la Figura 4, se recogen las diferencias químicas fundamentales entre los tipos RL30D, RS30D y NE30D, objeto del presente estudio [Ghebre-Sellassie et al., 1986, 1987, 1989; Jenquin et al., 1990; Otsuka et al., 1993; Kotiyan & Vavia, 2001; Lieb et al., 2002].

Eudragit® NE30D (NE30D) es una dispersión acuosa de un copolímero neutro constituido por el éster etílico del ácido acrílico y el éster metílico del ácido metacrílico en proporción 70:30 [Valenta et al., 1995; Leopold & Eikeler, 1998; Minghetti et al., 1999; Lieb et al., 2002]. En este sentido, en Ph.Eur. (2002) se describe como dispersión poliacrílica al 30 % (p/v).

En cambio, Eudragit® RL30D (RL30D) y Eudragit® RS30D (RS30D) son copolímeros catiónicos de polietilacrilato, polimetilmetacrilato y

politrimetilaminoetilmetacrilato en proporciones de 1:2:0.2 y 1:2:0.1, respectivamente. Esto es, la diferencia entre ambos, en cuanto a la composición química, radica en el porcentaje de grupos amonio cuaternario, que es del 10% (p/v) para el tipo RL30D y del 5% (p/v) para el tipo RS30D [Chang et al., 1984; Chang y Hsiao, 1989; Jenquin et al., 1990; Otsuka et al., 1993; Schmidt et al., 1993; Valenta et al., 1995; Amighi & Möes, 1996; Wagner et al., 1996; Kotiyan & Vavia, 2001].

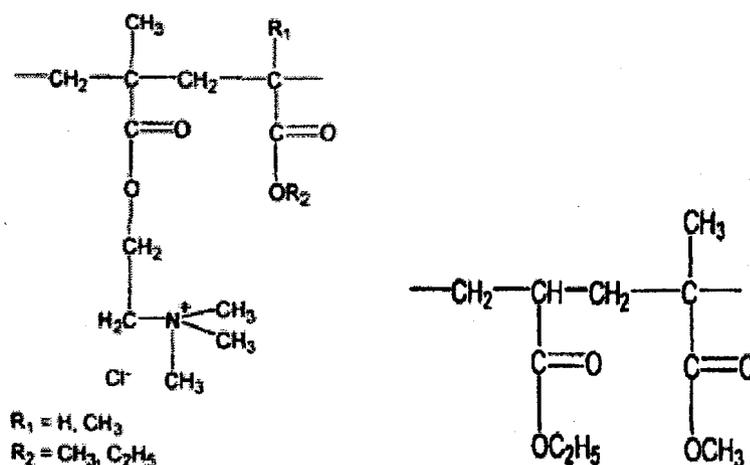


Figura 4. Estructura química de los tipos de Eudragit® RL30D, RS30D (izqda) y NE30D (dcha).

La USP XXV-NF 25 (2002) los describe como copolímeros de metacrilato de amonio tipo A (Eudragit® RL) y tipo B (Eudragit® RS).

En el mercado, estos tres tipos de Eudragit® se presentan como dispersiones acuosas con un contenido en resina seca del 30%. Son líquidos blanquecinos, de aspecto lechoso y baja viscosidad [Verma & Iyer, 2000].

La estabilidad de estos polímeros se mantiene al menos 18 meses a temperaturas no superiores a 30°C, y a pesar de ser productos sensibles a temperaturas extremas no son combustibles [Palmieri et al., 2001].

Las solubilidades de los distintos tipos de Eudragit® en disolventes orgánicos son similares. Una parte de RL30D ó RS30D se disuelve en cinco partes de acetona, etanol o alcohol isopropílico [Sarisuta et al., 1999]. En cuanto al NE30D se disuelve en cinco partes de acetona, etanol o alcohol isopropílico y aunque inicialmente, el polímero precipita, posteriormente se disuelve en exceso de disolvente orgánico [Leopold & Eikeler, 1998]. Cuando son mezclados con metanol en proporción 1:5, RL30D se disuelve completamente mientras que RS30D, sólo es soluble parcialmente [Baidya et al., 1999].

La capacidad de absorción de agua por parte de estos polímeros es función del pH de la disolución a que dan lugar [Jenquin et al., 1990]. En este sentido, la capacidad de hinchamiento en medio acuoso es mayor para el RL30D debido al mayor porcentaje de grupos amonio cuaternario presentes en su estructura [Jenquin et al., 1990; Otsuka et al., 1993].

Los copolímeros NE30D y RS30D son insolubles en el pH fisiológico del tracto gastrointestinal, mientras que el RL30D se disuelve a un pH de 5.5 unidades [Jenquin et al., 1990]. Así mismo, ambos polímeros permiten diseñar perfiles de liberación controlada "in vitro" independientes del pH [Wagner et al., 1996; Siepman et al., 1999], si bien la presencia de determinados aniones (como el lactato o el fosfato), pueden afectar a dichos perfiles de liberación [Wagner et al., 1996].

Los estudios de toxicidad aguda realizados en ratas, ratones y perros reflejan la ausencia de efectos tóxicos para los distintos tipos de Eudragit® administrados por vía oral a dosis de resina seca en valores de 6-28 g/Kg de peso a lo largo de 2 semanas de estudio [Nazzal et al., 2002].

Los estudios de toxicidad crónica fueron realizados en ratas durante un periodo de 3 meses, en los que no se encontraron cambios significativos en los órganos de los animales objeto de estudio [Nazzal et al., 2002]. La evaluación del test Ames no reflejó actividad mutagénica para ninguno de ellos [Horisawa et al., 2000].

Entre las aplicaciones en la Industria Farmacéutica de los distintos tipos de Eudragit®, se encuentra su utilidad en la formulación de sistemas orales de liberación controlada [Aulton et al., 1994; Khan et al., 1996; Jovanovic et al., 1997; Lee et al., 1999; Horisawa et al., 2000; Palmieri et al., 2001; Nazzal et al., 2002], microcápsulas [Lehmann, 1989; Badawi, 1992; Baidya et al., 1999; Bedi et al., 1999], preparados de administración rectal [Kim et al., 1991 a, b; 1992 a, b; Umejima et al., 1993, 1995] y sistemas de administración tópica [Jain, 1990; Thassu, 1991; Vyas, 1991 a, b, 1994; Valenta et al., 1995; Leopold & Eikeler, 1998; Minghetti et al., 1999a,b; Siepman et al., 1999; Verma & Iyer, 2000].

2. -Hidroxipropilmetilcelulosa.

La Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) es un polímero éter celulósico de carácter no iónico [Ebube et al., 1996], cuya fórmula empírica es: $C_8H_{15}O_6-(C_{10}H_{18}O_6)_n-C_8H_{15}O_5$.

Se trata de un derivado semisintético de la celulosa donde parte de los átomos de hidrógeno de los tres grupos hidroxilo en la unidad repetitiva de anhidroglucosa se han sustituido por un grupo metilo y por un grupo hidroxipropilo (Figura 5) [Nakano & Yuasa, 2001].

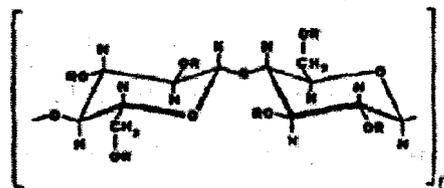


Figura 5. Estructura química de la HPMC.

Se incluye en distintas Farmacopeas con varios usos en Tecnología Farmacéutica. En la Real Farmacopea Española (1997), HPMC se recoge con el término de Hipromelosa, definiéndose como una celulosa parcialmente o-metilada y o-(2-hidroxipropilada). Entre las características galénicas recogidas en la citada Farmacopea se describe a la HPMC como: "polvo o gránulos blancos, blanco amarillentos o blanco grisáceos, higroscópicos después de la desecación y prácticamente insolubles en agua caliente, en acetona, en etanol, en éter y en tolueno. Se disuelven en agua fría dando lugar a disoluciones coloidales."

La HPMC al incorporarse en agua fría da lugar a soluciones coloidales de viscosidad variable [Joshi & Wilson, 1993; Wong y Bodmeier, 1996; Hino & Ford, 2001]. También se recoge que la HPMC es insoluble en alcohol, éter y cloroformo, pero soluble en mezclas de alcohol metílico y cloruro de metileno. Por último, es parcialmente soluble en acetona y mezclas de cloruro de metileno y alcohol isopropílico u otros solventes orgánicos. Así mismo, en solución no dan lugar a complejos en presencia de sales metálicas [El kattan et al., 2000].

La USP XXV-NF25 (2002) describe tres tipos de HPMC que vienen definidos por cuatro dígitos: 2208, 2906 y 2910. Los dos primeros dígitos hacen referencia al contenido de grupos "metoxi" presentes en la molécula de HPMC, mientras que los dos últimos dígitos al contenido de grupos "hidroxipropoxi" en la molécula de HPMC. Entre las aplicaciones de la HPMC recogidas se encuentra la de ser agente suspensor y viscosizante.

Las soluciones de HPMC son estables a pH comprendidos entre 3.0 y 11.0 unidades [Riley et al., 2001]. Igualmente, son especialmente estables en ausencia completa de humedad [Nagarsenker & Hegde, 1999]. En presencia de humedad son susceptibles de ser alteradas por diversos microorganismos. En este sentido, cuando la HPMC es utilizada como agente viscosizante de preparados oftalmológicos es necesario incorporar un agente antimicrobiano como el cloruro de benzalconio [Jones et al., 1999].

Debido a su naturaleza celulósica, los preparados galénicos en los que la HPMC se encuentra presente proporcionan una magnífica biocompatibilidad [Ferdous, 1993; Fang et al., 1998; Velasco et al., 1999].

Entre las razones que justifican el interés por los derivados celulósicos, en concreto la HPMC, se encuentran su disponibilidad para diseñar perfiles de liberación deseados [El Kattan et al., 2000; Kim et al., 2001; Mohammed, 2001], su independencia del pH [Tonnesen & Karlsen, 2002], su capacidad para incorporar grandes cantidades de principios activos [Hino & Ford, 2001] y su compatibilidad con gran cantidad de electrolitos [Lucisano et al., 1989; Sarisuta et al., 1999; Siepman et al., 1999; Velasco et al., 1999; Farkas et al., 2000]. Es por ello que la HPMC tiene multitud de aplicaciones dentro de la Tecnología Farmacéutica como diluyente y aglutinante de formas farmacéuticas de administración oral tales como comprimidos [Ebube et al., 1996; Chary et al., 1999; Cilurzo et al., 2002], tabletas [Dahl et al., 1990; Gao et al., 1996 a,b; Eyjolfsson, 1999; Lee et al., 1999; Solinis et al., 2002], grageas [Shenouder et al., 1990; Guo et al., 2002] y microcápsulas [Hilton & Dealy, 1993]. Igualmente, se ha utilizado como vehículo en el control de la liberación de fármacos solubles en agua [Reddy & Bodor, 1994]. Poseen gran utilidad como agente viscosizante de preparados oftálmicos a concentraciones de 0.45-1.0 %(p/v) [Kumar & Himmelstein, 1995]. También son ampliamente utilizados como agentes suspensores, emulgentes y estabilizantes en la formulación de sistemas de liberación tópica [Ferdous, 1993; Vennat et al., 1995; Lucero et al., 1995; 1996; 1998; Jones et al., 1999; Nagarsenker & Hegde, 1999; Mohammed, 2001]. Por último, debido a sus propiedades mucoadhesivas, en la actualidad se han propuesto como polímeros de utilidad en sistemas transdérmicos de liberación controlada de fármacos [Kim et al., 2001; Nakano & Yuasa, 2001; Reason et al., 2001; Ofori-Kwakye & Fell, 2002].

3.-Foscarnet.

EL foscarnet (fosfonoformato o ácido fosfonofórmico) es químicamente la sal trisódica del ácido fosfonofórmico. Presenta tres características que le convierten en un fármaco antiviral de interés desde un punto de vista terapéutico:

- ✓ **Amplio espectro antiviral.** Muestra actividad frente a virus ADN como ARN. Incluye a todos los virus herpéticos (VHS tipos 1 y 2, VVZ, CMV, VEB y VHH tipo 6), al VIH tipos 1 y 2 y otros retrovirus, al virus de la hepatitis B y a los virus de la influenza [Balfour et al., 1999].
- ✓ **Mecanismo de acción.** El mecanismo de acción consiste en la inhibición competitiva, selectiva y reversible de la DNA-polimerasa de los virus herpéticos y de la transcriptasa inversa del VIH-1 [Chrip & Clissold, 1991]. La enzima DNA-polimerasa cataliza la incorporación a la cadena de DNA de nuevos desoxinucleósidos-trifosfato. Para poder incorporarse a la cadena de DNA, éstos lo hacen en forma de monofosfato, perdiendo en el proceso una molécula de pirofosfato. El foscarnet, un análogo químico de los pirofosfatos, posee capacidad de unión al "locus" de éstos en la DNA-polimerasa y de esta manera impedir que las anteriores operaciones pudieran realizarse, evitando con ello la elongación de la cadena de DNA neoformada y, en definitiva, bloqueando la replicación viral [Gilbert et al., 2002]. En realidad, el locus de unión del foscarnet no es exactamente el de los pirofosfatos, pero sí debe estar suficientemente cerca como para que la unión enzima-foscarnet impida el intercambio de pirofosfatos y por tanto, la elongación del DNA [Wahren &

Öberg, 1980; Chrisp & Clissold, 1991; Chumpacker, 1992; Jacobson, 1997; Balfour, 1999. Hay que tener en cuenta que la DNA-polimerasa es esencial para la replicación viral, por lo que las mutaciones que comporten resistencias al foscarnet no han de impedir su normal funcionamiento, lo que posiblemente explique la menor frecuencia de mutantes [*Morfin et al., 1999; Brand et al., 2001*]. Si a ello se une, que el "locus" de unión del foscarnet y otros antiherpéticos análogos de nucleósidos con la DNA-polimerasa no tienen porqué ser exactamente el mismo, se explicaría la ausencia de resistencia cruzada y, cuando se combinan, pueden presentarse efectos aditivos o incluso sinérgicos. De hecho, la combinación de foscarnet con zidovudina, aciclovir y ganciclovir es sinérgica para los virus VIH y CMV [*Öberg, 1989; Chrisp y Clissold, 1991; Visse et al., 1999; Schmit & Boivin, 1999; Kimberlin, 2002; Maschake et al., 2002*].

- ✓ Estructura química. El foscarnet no está relacionado químicamente con ningún otro agente antiviral empleado en clínica. Estructuralmente, se caracteriza por la presencia de un resto de ácido fosfórico que en el proceso de elongación de la cadena de DNA es el responsable directo del efecto mimético del grupo pirofosfato con el que compite en su unión al enzima DNA-polimerasa [*Balfour et al., 1999*]. Entre las propiedades físico-químicas a destacar del foscarnet se encuentran la inestabilidad de su forma ácida, por lo que su forma habitual es la sal trisódica hexahidrato (peso molecular de 300,1) [*Balfour, 1999*] y la solubilidad en agua a pH 7 es de aproximadamente del 5% (p/p) [*Öberg, 1989*] y la quelación de metales (Ca, Mg, Fe, Zn) formando complejos que incluyen varias moléculas de foscarnet [*Chrisp & Clissold, 1991*]. En la estructura química

del foscarnet (Figura 6) se distingue la presencia de tres grupos ionizables, con valores de pK_a de 0.49, 3.41 y 7.27 y, por tanto, el número de cargas de los grupos ácidos va a depender del pH de la solución [Öberg, 1989]. El pH de la solución isotónica que se administra vía parenteral es de 7.4 unidades. A pH ácido, el foscarnet se descompone en dióxido de carbono y ácido fosfórico atendiendo a una cinética de primer orden. Este hecho explica que en medio gástrico se altere aproximadamente del 18 al 36 % de la dosis de foscarnet administrada por vía oral [Bundgaard, 1990]. Igualmente, las soluciones de foscarnet son químicamente estables en soluciones de dextrosa al 5% (p/v) y cloruro sódico al 0.9% (p/v) e inestables en dextrosa al 30% (p/v) [Outman et al., 1993; Mathew et al., 1994].

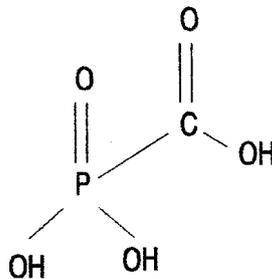


Figura 6.- Estructura química del foscarnet.

Dentro de las propiedades farmacocinéticas, destacar que tras la administración de foscarnet por vía oral se absorbe aproximadamente del 10 al 22% de la dosis inicial [Tsuji & Tamai, 1989]. Esta escasa absorción está asociada a la ineficacia del mecanismo de transporte común para el fósforo inorgánico en el borde en cepillo de la membrana intestinal y a la dependencia del gradiente de Na^+ y del pH

[*Tsuji & Tamai, 1989*]. Foscarnet es inestable a pH 2 [*Bundgaard & Mork, 1990*], sin embargo, la neutralización de la acidez gástrica con ranitidina aumenta la absorción de foscarnet únicamente en el 50% y de forma errática [*Barditch-Crovo et al., 1998*]. El desarrollo de profármacos que aumenten la liposolubilidad a través de la formación de derivados de alquilglicerol mejora significativamente la biodisponibilidad oral del fármaco [*Kini et al., 1997; Beadle et al., 1998; Noormohamed et al., 1998; Ferguson et al., 2000*], a pesar de ello en la actualidad sólo se dispone de foscarnet comercializado para la administración parenteral por perfusión intravenosa, en el que el tratamiento más comunmente aceptado implica [*Balfour, 1999*]:

-Tratamiento de inducción (2-3 semanas) por infusión iv (1 h) a dosis de 60 mg/Kg/8 h.

-Tratamiento de mantenimiento por infusión iv (2 h) a dosis de 90-120 mg/Kg/24 h.

Bajo este régimen de dosificación, el estado estacionario se alcanza aproximadamente a los 2 días.

Otra de las vías de administración utilizadas es la vía intravítrea, bien de forma directa a una dosis de 1.2 mg de la presentación comercial [*Engstrom & Holland, 1995; Jacobson, 1997*], en liposomas [*Cheng et al., 1999 a,b; Murin et al., 1999*] o como gotas oftálmicas en la profilaxis de la queratitis por herpes simplex [*Fabricius, 1998*].

En los últimos años, han sido muchos los trabajos publicados acerca de la utilidad tópica de foscarnet en el tratamiento de infecciones por herpes simplex con falta de respuesta a aciclovir [*Awan et al., 1998; Pechere et al., 1998; Javalay et al., 1999; Wharton et al., 1999; Piret et al., 2000; 2001; Hellidi & Schubert, 2001; Gilbert et al., 2002*].

La farmacocinética de foscarnet, cuando éste se administra por vía parenteral, se caracteriza por una distribución extravascular, si bien, su volumen de distribución es variable en función del régimen y la dosis de administración [Balfour, 1999]. Administrado tras perfusión iv de forma intermitente, a dosis de 120 mg/Kg repartidos en 3 dosis, el volumen de distribución varía de 0.3 a 0.61 L/Kg [Sjovall et al., 1988]. La tasa de unión a proteínas plasmáticas es del 14 al 17%. En el líquido cefalorraquídeo se alcanzan valores en torno al 5-70% de los niveles plasmáticos [López-Cortés et al., 2000], sin embargo, estos niveles son suficientes para inhibir al CMV. Esta variación se debe probablemente a alteraciones en la barrera hematoencefálica determinadas por la patología de base [Sjovall et al., 1989; Hengge et al., 1993; Raffi et al., 1993; Maschake et al., 2002].

Por otra parte, los niveles óseos son sustancialmente superiores a los plasmáticos; aproximadamente del 10 al 30 % del foscarnet se deposita en la matriz del hueso supuestamente de forma análoga a como ocurre el depósito del fósforo inorgánico como componente de la matriz ósea [Öberg, 1989].

No se metaboliza y se excreta, casi exclusivamente, por vía renal de forma inalterada. El filtrado glomerular es responsable del 44% del aclaramiento renal, mientras que la secreción tubular lo es del 56% aproximadamente ya que su reabsorción tubular es mínima [Sjovall et al., 1988]. En pacientes con función renal normal, tras administración iv, el aclaramiento plasmático varía entre 130-160 mL/min con un aclaramiento renal de 130 mL/min. La semivida biológica oscila entre 3.3-6.5 horas [Taburet et al., 1992]. La semivida biológica y el aclaramiento plasmático se relacionan con la función renal, por lo que debe realizarse un ajuste posológico en base

a los correspondientes aclaramientos de creatinina de cada paciente [Aweeka et al., 1989]. En los pacientes sometidos a hemodiálisis se recomiendan dosis suplementarias del fármaco en cada sesión, ya que esta técnica tiene una capacidad de eliminación de 108 mL/min [MacGregor et al., 1991].

Realizados los estudios de toxicidad aguda de foscarnet administrado por infusión iv en ratón, rata y perro se detectaron niveles bajos de DL₅₀ [Helgstran et al., 1980].

El factor limitante del tratamiento con foscarnet es su potencial efecto nefrotóxico. Estudios histológicos revelan la presencia de cristales en la luz de los capilares glomerulares [Beaufils et al., 1990]. Además se ha sugerido que el foscarnet pudiera ser responsable de necrosis tubular aguda [Cacoub et al., 1988] y nefritis túbulointersticial [Wong et al., 2000]; si bien, estos efectos nefrotóxicos se pueden reducir ajustando la dosis en función del aclaramiento de creatinina, además de mantener un estado de hidratación adecuada en el paciente [Deray et al., 1990].

El foscarnet no afecta al metabolismo de la vitamina D ni a la incorporación del ión sulfato dentro del tejido cartilaginoso [Helgstran et al., 1980]. No se han encontrado modificaciones en la excreción de los iones Ca²⁺, Na⁺, K⁺ o Cr³⁺ [Webster et al., 1986]. Por último, da lugar a una inhibición reversible de tipo competitivo sobre el cotransporte Na⁺-P_i en la membrana renal de borde en cepillo [Szczepanska-konkel et al., 1986].

Estudios "in vivo" realizados en ratas paratirectomizadas sometidas a dieta pobre en fósforo revelaron que el foscarnet incrementa selectivamente la excreción

de fósforo. Una posible explicación podría ser la inhibición competitiva del gradiente de Na⁺ utilizado en el cotransporte con P_i a través de la membrana del túbulo proximal. Sin embargo, estas desviaciones no se han encontrado en otros estudios con animales normales sometidos a una dieta normal. En los estudios de toxicidad crónica realizados en rata y perro, tras una administración subcutánea e iv no se detectaron síntomas adversos atribuibles al tratamiento. Se han estudiado los posibles efectos carcinogénicos de este fármaco y no se han obtenido resultados positivos en ningún caso. En cuanto a los ensayos de reproducción y teratología realizados en rata y conejo se han detectado evidencias de alteraciones esqueléticas en la descendencia, aunque sin signos evidentes de efectos adversos en las madres durante el parto y el postparto [Öberg, 1989].

Los estudios de toxicidad dérmica del foscarnet tras una aplicación tópica no revelaron reacciones adversas importantes en la mayoría de los casos [Alenius & Öberg, 1978; Mayo et al., 1983; Javalý et al., 1999; Piret et al., 2000; 2001; Bausal et al., 2002].

La FDA recoge al foscarnet como el fármaco de elección en el tratamiento de las infecciones por VHS y VVZ cuando se precisa terapia por vía sistémica y hay mala respuesta o resistencia demostrada al aciclovir. Esta resistencia, que en la mayoría de los casos se relaciona con tratamientos previos con este fármaco o ganciclovir, parece un fenómeno relativamente frecuente y clínicamente valorable en los pacientes con SIDA [Breton et al., 1998; Alvarez-McLeod et al., 1999], ocasional en pacientes con otros tipos de inmunodepresión [Gaudreau et al., 1998; Chakrabarti et al., 2000], y cada vez más frecuente en huéspedes inmunocompetentes [Pechere et al., 1998; Morfin et al., 1999; Visse et al., 1999; Schmit & Boivin, 1999; Andrei et al., 2000; Piret et al., 2000; 2001; Bausal

et al., 2002; Gilbert et al., 2002. Se han descrito casos aislados de buena respuesta al foscarnet en pacientes con hepatitis fulminante por el virus B y coinfección por el virus- δ [*Balfour, 1997; Dumortier et al., 1997*].

Los efectos secundarios principales del foscarnet son: nefrotoxicidad, alteraciones del metabolismo fosfocálcico y úlceras en las mucosas (peneana y oral fundamentalmente).

La nefrotoxicidad es el efecto secundario más frecuente, si bien en la mayoría de los casos revierte tras interrumpir el tratamiento y, en general, se previene mediante el control de los niveles de creatinina sérica con la consiguiente modificación de la dosificación conjuntamente con una buena hidratación del paciente (1.5 a 2.5 L de suero fisiológico distribuido antes y durante el tratamiento) [*Deray et al., 1989*].

El mecanismo más aceptado de la nefrotoxicidad parece deberse a una lesión tubular aguda debido a la presencia de cristales del fármaco en el interior de los capilares glomerulares [*Beaufils et al., 1990*]. Asimismo, se ha sugerido que el depósito de estos cristales sea responsable de la aparición de úlceras genitales y orales que se asocian al tratamiento con foscarnet [*Jacobson, 1992*]. Éstas aparecen después de la primera semana de tratamiento y suelen cicatrizar al cabo de unos días tras suspender la administración. La higiene personal puede disminuir la incidencia de las mismas.

Aunque se han descrito aumentos de los niveles de Ca^{2+} , es el descenso de los mismos el efecto tóxico más frecuente asociado al tratamiento con foscarnet. Clínicamente se asocia con parestesias, temblores, arritmias y convulsiones. Ello obliga

a la determinación del Ca^{2+} al final de la infusión de foscarnet y siempre que el paciente presente síntomas de hipocalcemia o alteraciones neurológicas y del ritmo cardiaco [Jacobson et al., 1991]. Se han descrito otras alteraciones del equilibrio hidroelectrolítico que incluyen hipopotasemia, hipomagnesemia, hipofosfatemia e hiperfosfatemia. En general, todas ellas de carácter transitorio [Palestine et al., 1991; Matarese et al., 2000].

Otros efectos tóxicos descritos son las náuseas, probablemente asociadas a la hipocalcemia, la diabetes insípida nefrogénica [Faresse et al., 1990] y el rash cutáneo [Blandshard, 1991].

Por último, la administración de foscarnet por vía iv rápida (bolus) provoca tromboflebitis superficial, mientras que la administración por vía intravítrea no supone un deterioro adicional de la retina [Berthe et al., 1994; Díaz-Llopis et al., 1994; López-Cortés, et al., 2000].

Foscarnet se debe administrar con especial precaución y bajo un estricto control médico en pacientes con insuficiencia renal manifiesta y minimizar el potencial de afectación renal, manteniendo un estado de hidratación adecuado de los pacientes. No se aconseja la administración en pacientes con un aclaramiento de creatinina inferior a 0.4 mL/min/Kg [Deray et al., 1990]. Debido a la tendencia a quelar iones metálicos bivalentes, se recomienda especial precaución en pacientes con niveles bajos de calcio antes del inicio del tratamiento, así como en aquéllos con tratamientos que afecten a los niveles de calcio sérico. Se deben controlar los electrolitos incluyendo calcio y magnesio, si existen factores que predispongan a presentar convulsiones [Gearhart & Sorg, 1993].

En pacientes varones se recomienda extremar la higiene tras la micción a fin de disminuir la posibilidad de irritación local que puede incluso manifestarse en forma de ulceraciones penianas [Gilquin et al., 1990; Moyle et al., 1990; Van Der Pijl; 1990].

Debido a una experiencia insuficiente, el foscarnet no se debe emplear en: pacientes menores de 18 años por el riesgo de alteraciones osteoarticulares, en mujeres en períodos de gestación debido a las evidencias de alteraciones esqueléticas, observadas en animales de experimentación o en madres lactantes por la capacidad del fármaco de concentrarse en la leche materna [García-Andreu et al., 1998].

No se recomienda la inclusión de ninguna sustancia en la misma solución de foscarnet, pues presenta incompatibilidad de tipo físico-químico con muchos fármacos, entre ellos: anfotericina, aciclovir, ganciclovir, pentamidina, vancomicina, sulfametoxazol-trimetoprim y sales de calcio. El tratamiento concomitante con pentamidina (iv) presenta riesgo de hipocalcemia excesiva con afectación renal. La asociación con otros fármacos nefrotóxicos, como los aminoglucósidos o la anfotericina, no es aconsejable por la potenciación en la toxicidad renal [Chrisp & Clissold, 1991].

Aunque no existe un antídoto específico, la hemodiálisis aumenta la eliminación del foscarnet, pudiendo ser una medida beneficiosa en el caso de una intoxicación grave [Sam et al., 2000].

Actualmente sólo existe comercializada la forma farmacéutica inyectable presentada en un vial de 250 mL, en el que cada mL contiene 24 mg de foscarnet trisódico hexahidrato. La solución es estéril, apirógena, limpia e isotónica, con un pH de 7,4 unidades.

Esta especialidad farmacéutica de uso hospitalario se administra por infusión intravenosa bien mediante un catéter venoso central o en una vena periférica. Por esta última vía, e inmediatamente antes de su administración, la solución de foscarnet debe diluirse en dextrosa al 5 % (p/v) o en suero salino hasta alcanzar una concentración de 12 mg/mL [Kimberlin et al., 2002]. Cuando se administra mediante un catéter venoso central, puede hacerse sin dilución. El tratamiento recomendado consiste en una dosis de ataque de 24 mg/mL, con una dosis de mantenimiento de 12 mg/mL [Maschake et al., 2002].

Otra vía de administración es la intravítrea en la que se administra una dosis de 2.4 mg/mL [Engstrom & Holland, 1995; López-Cortés et al., 2000].

Estudios recientes han demostrado la eficacia de foscarnet cuando se administra por vía tópica en el tratamiento de infecciones por herpesvirus resistentes a aciclovir [Piret et al., 2000; 2001; Bausal et al., 2002; Gilbert et al., 2002]. La administración de una crema de foscarnet al 1% (p/p), 5 veces/día durante 1 mes, permitió resolver el 65% de las lesiones mucocutáneas por herpes simplex en pacientes con serología positiva para el VIH [Javaly et al., 1999]. Sobre la base de un modelo murino, preparados tópicos de foscarnet al 3% (p/p) en asociación con hidrocortisona (0.5 % (p/p)) administrado durante 6 días permiten reducir la replicación del virus del herpes simplex y la inflamación asociada a estas infecciones [Awan et al., 1998]. Análisis de la sensibilidad antiviral en pacientes VIH positivos que presentan úlceras mucocutáneas persistentes han permitido evaluar la eficacia de preparados tópicos de foscarnet (2.4 % (p/p)) tras administrarse dos veces al día durante 6 semanas. El efecto se mantuvo después de 50 días tras suspender el

tratamiento [Pechere et al., 1998], o tras la incorporación de foscarnet al 5% (p/p) en un sistema polimérico (polioxipropileno/polioxietileno) tres veces al día durante 4 días con posterioridad a las 24 h de la aparición de los síntomas, dando lugar a la reducción de los títulos virales a niveles indetectables. Esta mayor eficacia fue atribuida al carácter viscoso del polímero que permite mejorar la penetración del fármaco en la piel [Piret et al., 2000].

Estos autores describen, igualmente, la eficacia de geles tópicos conteniendo foscarnet, sólo o en combinación con lauril sulfato sódico, contra el establecimiento y la reactivación de la infección latente por VHS-1 [Piret et al., 2001].

Se han empleado distintos métodos para determinar el foscarnet:

- ✓ **Métodos electroforéticos:** isotacoforésis. Este método es útil para la determinación tanto del foscarnet como de sus productos de descomposición, fosfitos y fosfatos. Consiste en la oxidación post-columna del foscarnet o el fosfito por acción de la bromina. El fosfato generado es detectado por la adición del reactivo molibdo-vanadato que produce color amarillo que se mide posteriormente por espectrofotometría [Öberg, 1989].
- ✓ **Métodos cromatográficos:** HPLC. Aunque se pueden utilizar la cromatografía en capa fina y la cromatografía gaseosa, es la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) la más utilizada en la determinación de foscarnet en fluidos orgánicos. Consiste en la separación en fase reversa de plasma ultrafiltrado u orina diluida. El detector más empleado es el electroquímico. Los límites de detección en plasma y orina están en torno a 5×10^{-7} y 3×10^{-5} mol/L respectivamente [Öberg, 1989, Hassanzadeh et al., 1990; Woods et al., 1994].

También se han descrito métodos que suponen como paso previo una extracción con fase sólida y detección amperométrica [Ba et al., 1999].

- ✓ Métodos espectrofotométricos. Consiste en medir la absorbancia a una longitud de onda previamente establecida. El valor más aceptado es el de 232 nm [Öberg, 1989; Mathew et al., 1994].
- ✓ Fragmentografía de masa. Se basa en la separación en columna de intercambio iónico con ácido clorhídrico, evaporación del eluato a sequedad y posterior siliación del fosfito formado utilizando foscarnet marcado con $^{18}\text{O}_3$ como patrón interno. Este método es útil en la determinación de foscarnet en plasma y hueso, encontrándose sus límites de detección entre 3×10^{-6} y 3×10^{-3} mol/Kg respectivamente [Öberg, 1989].

4. Elaboración de sistemas dispersos de HPMC y Eudragit®.

Se han elaborado sistemas dispersos semisólidos de polímeros acrílicos de Eudragit® RS30D, RL30D Y NE30D (27% p/p) (Röhm Pharma, Hüls Gruppe, G-Darmstadt). En cada formulación se incluyen hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) en cantidades variables (1.25% p/p, 1.50% p/p ó 1.75% p/p) (Hipromelosa 4000, Acofarma, E-Tarrasa), etanol ACS ISO (Merck, G-Darmstadt) y agua purificada. Así mismo, se elaboraron otros tantos sistemas dispersos incluyendo en su formulación el fármaco antiviral foscarnet (F) a una concentración final de 0.07 % (p/p) (Foscavir®, Astra) (Tabla 3).

	RS30D			RL30D			NE30D		
Eudragit®	27.00			27.00			27.00		
Foscarnet	0.07			0.07			0.07		
HPMC	1.25	1.50	1.75	1.25	1.50	1.75	1.25	1.50	1.75
Etanol Absoluto	15.05	15.00	14.95	15.05	15.00	14.90	15.05	15.00	14.90
Agua purificada	56.70	56.50	56.30	56.70	56.50	56.30	56.70	56.50	56.30

Tabla 3.- Composición expresada en %p/p de los sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® elaborados.

Para llevar a cabo la elaboración de cada sistema disperso se procedió a incorporar la HPMC en agua purificada durante un tiempo de 30 min. en un recipiente cerrado en situación de reposo. Por otro lado, se procedió a incluir la cantidad de etanol ACS ISO con la dispersión polimérica de Eudragit®. El sistema se ha homogeneizado con ayuda de un magnetoagitador (*SBS Mod. A-06*) a 700 rpm durante 30 min. Los fluidos poliméricos que en su formulación incluyen F, se elaboraron de igual forma, si bien dicho fármaco fue previamente disuelto en la fase acuosa de la formulación.

Una vez elaboradas las distintas formulaciones, se mantuvieron en reposo durante 24 h en recipientes cerrados de pequeño volumen, protegidas de la luz y a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se realizaron los distintos ensayos.

5.- Determinación de pH de los sistemas dispersos.

Las determinaciones experimentales de pH de los sistemas dispersos se realizaron con un medidor Crison modelo GLP22 (España) equipado con un electrodo selectivo de vidrio y un electrodo de calomelanos saturados con electrodo de referencia.

6. - Ensayos reológicos en condiciones destructivas.

6.1. - Deformación por cizalla.

Para realizar este estudio se ha utilizado un viscosímetro rotatorio tipo Searle (*Brookfield Mod. RVT*), con spindles nº 5 ó 6 según la consistencia de cada fluido. Las velocidades de deformación seleccionadas fueron 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20, 50 y 100 r.p.m. El viscosímetro Brookfield [Pugnetti, 1982; Barracó, 1985; Deem, 1988; Dolz et al, 1988; Lucero et al., 1991; 1994 a, b y c, 1995; 1996; 1998; 2000] mide la tracción viscosa ejercida sobre un huso que gira (spindle rotacional) en el seno de un fluido contenido en un vaso, siendo la velocidad de deslizamiento muy variable en toda la muestra. El spindle es impulsado por un rotor sincrónico a través de un eje de torsión de berilio-cobre de $7187 \cdot 10^3$ Pa.

El grado en el que el resorte se une a un número dado de r.p.m., está señalado por un indicador sobre un dial calibrado en unidades de fuerza de rotación [Wood, 1988; Lucero et al., 1991; 1994 a, b y c; 1995; 1996; 1998; 2000].

Para este aparato, la velocidad y el esfuerzo de cizalla se determina como se indica a continuación:

$$\gamma = 2 \omega R_c^2 R_b^2 / X (R_c^2 - R_b^2) \quad [\text{Ec. 19}]$$

$$\tau = T / 2 \pi R_b^2 L \quad [\text{Ec. 20}]$$

donde: ω , es la velocidad angular del spindle; R_c , el radio del recipiente; R_b , el radio del spindle (nº6, $0.75 \cdot 10^{-2}$ m; nº5, $1.125 \cdot 10^{-2}$ m); X , el radio de un punto determinado; T , la torsión ($7187 \cdot 10^3$ Pa) y L , la longitud efectiva del spindle ($5 \cdot 10^{-2}$ m).

Los fluidos no newtonianos pueden ser caracterizados aplicando el modelo de Ostwald-De Waele [Pugnatti, 1982; Sherman, 1983; Wood, 1986; Deem, 1988; Lucero et al., 1991, 1993 a, b y c, 1995; 1996; 1998; 2000].

$$M = K D^n \quad [\text{Ec. 21}]$$

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad [\text{Ec. 22}]$$

donde, n , es el índice de flujo, K , el índice de consistencia, M , el momento de rotación y D la velocidad de deformación (r.p.m.).

Finalmente, la viscosidad aparente, η_{ap} , se define como:

$$\eta_{ap} = K \dot{\gamma}^{n-1} \quad [\text{Ec. 23}]$$

La metodología fue estandarizada para la consecución de este ensayo. En todos los casos, el viscosímetro giró durante 1 min. permaneciendo en reposo durante 30 s. Tras alcanzar la velocidad máxima (100 r.p.m.), cada preparación se mantuvo en reposo (15 min.), con el objetivo de que la muestra recuperase la estructura inicial. Pasado este tiempo, se volvió a repetir la medición, si bien se empezó por la velocidad de deformación superior y se concluyó con la inferior. La temperatura se mantuvo de forma aproximada a 37°C.

Las viscosidades aparentes fueron determinadas por el cálculo de los siguientes parámetros:

- Momento de giro (M), a partir de la torsión del viscosímetro y de la lectura del dial.

- Índice de flujo (n) e índice de consistencia (K).
- Esfuerzo de cizalla o cortante (τ_c).
- Velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$).

En la realización de las curvas de fluidez y de viscosidad se han tomado los datos correspondientes a las velocidades de deformación comprendidas entre 5 y 50 r.p.m., ya que las mediadas realizadas a mayores o menores velocidades suponen errores experimentales [Lucero et al., 2000].

6.2. - Deformación por compresión.

El modelo matemático utilizado para el cálculo de los distintos parámetros reológicos por compresión ha sido el desarrollado por Lucero et al. (1995), que estima los esfuerzos de compresión necesarios para causar deformaciones longitudinales de un modo teórico a partir de los valores de esfuerzos de cizalla. La existencia de una relación directa entre los esfuerzos de compresión (τ_p) y de cizalla (τ_c) en sistemas dispersos de HPMC y Eudragit[®], han permitido obtener las superficies de extensión (Sup) en cada caso [Lucero et al., 1994 a,c; 1995; 1996; 1998; 2000].

$$\tau_c = K \dot{\gamma}^n \quad [\text{Ec.24}]$$

$$\tau_c = A \tau_p + B \quad [\text{Ec.25}]$$

$$A_{5\text{rpm}} = 0.000552 \eta_{5\text{rpm}} + 0.00274 \quad [\text{Ec.26}]$$

$$A_{10\text{rpm}} = 0.000918 \eta_{10\text{rpm}} + 0.00264 \quad [\text{Ec.27}]$$

$$A_{20\text{rpm}} = 0.000151 \eta_{20\text{rpm}} + 0.00325 \quad [\text{Ec.28}]$$

$$A_{50rpm} = 0.000271 \eta_{50rpm} + 0.00140 \quad [\text{Ec.29}]$$

$$B = (1.5907 K + 30.4478) / 2 \pi r^2 l \quad [\text{Ec.30}]$$

$$\tau_c = J \text{ sup} + L \quad [\text{Ec.31}]$$

$$J_{5rpm} = 3.9084 \eta_{5rpm} - 69.0201 \quad [\text{Ec.32}]$$

$$J_{10rpm} = 6.5239 \eta_{10rpm} - 71.0771 \quad [\text{Ec.33}]$$

$$J_{20rpm} = 10.6424 \eta_{20rpm} - 56.3760 \quad [\text{Ec.34}]$$

$$J_{50rpm} = 19.1919 \eta_{50rpm} + 9.8571 \quad [\text{Ec.35}]$$

$$L = 0.8236 \tau_k + 183.1894 \quad [\text{Ec.36}]$$

donde: τ_c , esfuerzo de cizalla (dinas/cm²); K, índice de consistencia (dinas/cm².s); γ , velocidad de cizalla (s⁻¹); n, índice de fluidez; τ_p , esfuerzo de compresión (dinas/cm²); A (dinas/cm²) y J (dinas/cm⁴), constantes dependientes de la viscosidad aparente de cada fluido, B y L constantes para cada fluido (dinas/cm²); η_{rpm} , viscosidad aparente (poises), τ_k esfuerzo de cizalla correspondiente al índice de consistencia (dinas/cm²) y Sup, superficie de extensión obtenida en la compresión (cm²).

7. - Ensayos reológicos en cizalla oscilatoria.

La naturaleza viscoelástica de los distintos sistemas dispersos fue determinada mediante ensayos de cizalla oscilatoria en zona de viscoelasticidad lineal.

Para la caracterización viscoelástica lineal mediante ensayos dinámicos en cizalla oscilatoria se ha empleado un reómetro de esfuerzo controlado (Haake® RS-

100 Rheometers). La principal característica de este aparato es el sistema sensor, el cual puede ser intercambiado en la cabeza de medida. El sensor utilizado en todas las mediciones fue del tipo cono-placa. Estos tipos de sensores se caracterizan por el radio de su cono y el ángulo del mismo. En nuestro caso, fue de 60 mm de diámetro y 4° de ángulo ($C_{60/4}$). La incorporación del sistema sensor a la cabeza de medida requiere ajustar previamente la altura de la parte inferior del eje interno respecto de la superficie base del sistema sensor. Para el sensor cono-placa utilizado la altura se ajustó a 0.14 mm.

La temperatura se mantuvo constante a 37°C, haciendo uso para ello, de un termostato/criostato de circulación de agua (*Haake® F₃*) conectado al sistema de medida. El error asociado al sistema es de $\pm 0.1^\circ\text{C}$. Se ha estudiado el comportamiento viscoelástico lineal mediante ensayos dinámicos para cada uno de los sistemas poliméricos.

En el presente estudio, las medidas reológicas fueron efectuadas en las 24 h posteriores a la preparación de las muestras.

Los resultados de los ensayos de cizalla oscilatoria que se obtienen a través del reómetro RS-100 son registrados automáticamente en un ordenador y analizados posteriormente mediante el programa *Haake® Osc (versión 1.1)*.

La zona viscoelástica lineal se ha determinado aplicando una historia termomecánica igual para todas las muestras. Las muestras se cargaron en el sistema sensor y se esperó un tiempo de 20 min. para asegurar que todas las preparaciones presentasen un proceso de relajación estructural similar. Transcurrido este tiempo se efectuó el barrido de esfuerzo de cizalla a una frecuencia de 1 Hz. El intervalo de

esfuerzos de cizalla es variable dependiendo de los casos, pero en general, se trata de una subida del esfuerzo con valores comprendidos entre 0.02 y 10 Pa.

El tiempo de duración de los ensayos está impuesto por el sistema de medida, y es función del intervalo de esfuerzos considerado y el número de puntos de medida deseados.

Para determinar la influencia de la frecuencia se sigue el procedimiento previo explicado, y se utiliza un programa de subida de frecuencias de 0.002 a 100 rad/s a un esfuerzo fijado que se localiza dentro de la zona viscoelástica lineal determinada con anterioridad. Al igual que antes, el tiempo de medición está determinado por el programa siendo función del intervalo de frecuencias considerado.

En todos los casos se han efectuado al menos tres ensayos de cada muestra, tomándose los valores medios para el análisis y discusión de los resultados.

8. - Análisis de Textura (Adhesión/Cohesión).

Para el análisis de las propiedades mecánicas de los sistemas poliméricos se ha empleado un analizador de textura (Modelo TA-XT2, Stable Micro Systems, Surrey, UK). La sonda utilizada ha sido TTC Spreadability Rig (HDP/SR) con un ángulo de 90°, que se ha colocado sobre una base Heavy Duty Platform (HDP/90°) donde se encuentra la muestra.

Las características del ensayo han sido las siguientes:

- Célula de carga: 5 Kg
- Velocidad ensayo: 3.0 mm/s
- Distancia de ensayo: 17 mm

- Superficie de la sonda: 1284 mm²
- Temperatura: 22±1°C

Los datos se han obtenido usando el software XTR. De todos los parámetros posibles se han seleccionado: fuerzas y trabajos de cohesión y de adhesión. Se realizaron al menos 5 determinaciones por muestra obteniendo coeficientes de variación inferiores al 5%.

9. - Calorimetría Diferencial de Barrido y Análisis Termogravimétrico.

La calorimetría diferencial de barrido fue realizada en un equipo Perkin Elmer DSC 7 (Beaconsfield, UK) controlado por un dispositivo Perkin-Elmer TAC 7/DX. El sistema se calibró para la temperatura a cada velocidad de calentamiento usando como estándares indio y zinc. El peso total de muestra, osciló en todos los casos entre 5-10 mg. Para la realización de la técnica, las muestras se incorporaron en pocillos de aluminio de 40 µL cerrados por compresión. Previo a la incorporación de las muestras, la temperatura del calorímetro se ajustó a -20°C con ayuda de nitrógeno líquido. Una vez alcanzada esta temperatura, se realizó una isoterma de 30 minutos de duración. Por último, se procedió a incrementar la temperatura desde los -20°C a los 30°C a una velocidad de 2°C/min. con el fin de medir la entalpía de fusión del agua libre. Dichas entalpías fueron calculadas de modo automático por el sistema de medida, integrando el área de los picos correspondientes a las endotermas de fusión. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

Para llevar a cabo la termogravimetría se utilizó un equipo Perkin-Elmer TGA 7 (Beaconsfield, UK). Las muestras (15-20 mg) se dispusieron en pocillos abiertos y se

evaluó la pérdida de peso experimentada por las mismas en el intervalo de 20-100°C. La velocidad de calentamiento fue de 2°C/min.

10.- Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

El microscopio óptico ordinario tiene un límite de utilización que viene determinado por su poder separador. La teoría ondulatoria de la materia según la cual una partícula de masa "m" y velocidad "v", se comporta como una onda de longitud de onda $\lambda = h/mv$ (siendo λ , longitud de onda y h, constante de Planck), lleva a la idea de reducir indefinidamente esa longitud de onda y aumentar, por tanto, el poder separador utilizando partículas aceleradas hasta adquirir la velocidad deseada. Este es el fundamento del microscopio de transmisión [Reason et al., 2001]. Consiste en un tubo en el que se ha practicado un alto vacío (10^{-4} a 10^{-5} mm Hg), un cátodo productor de electrones por efecto termoelectrónico y un ánodo (conectado a unos 30-100 kV) acelerador de los mismos que les comunica una determinada velocidad. Le sigue una lente condensadora que envía los electrones en forma de haz paralelo sobre la muestra y a continuación las correspondientes lentes objetivo y ocular. Todas las lentes están constituidas por campos magnéticos que ejercen sobre el haz de electrones las mismas acciones que las ordinarias sobre la luz [Murali et al., 2002]. La imagen se forma sobre una pantalla fluorescente o sobre una placa fotográfica. Los instrumentos de este tipo permiten alcanzar 500.000 aumentos, con un poder de resolución inferior al nanómetro [Shin & Zhin, 2002].

La Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, "Scanning Electron Microscope") se basa en la utilización de un haz electrónico incidente que se enfoca sobre una

región muy pequeña de la superficie de la muestra objeto de estudio. Este haz se va desplazando de forma adecuada a lo largo de la superficie de la muestra provocando que los electrones dispersados y emitidos por la misma (electrones secundarios), se empleen para determinar imágenes de dicha superficie con una resolución próxima a los 100 Å [Shin & Zhin, 2002]. La caracterización de la superficie de sistemas poliméricos a partir de las imágenes obtenidas por SEM pueden ser utilizadas en la evaluación de sus estructuras [Baidya et al., 1989; Horisawa et al., 2000; Reason et al., 2001; Lieb et al., 2002; Murali et al., 2002; Shin & Zhin, 2002].

El protocolo de preparación de muestras para SEM, se ha realizado en base a la eliminación del contenido de agua libre de la muestra respetando la estructura original de la misma.

- 1- Fijación en glutaraldehído al 2.5% (p/v) en tampón cacodilato 0.1 M durante un tiempo de 2 h y a una temperatura de 4°C.
- 2- Lavados en tampón cacodilato 0.1 M (2 veces) durante 5 min. cada uno.
- 3- Fijación en tetróxido de osmio al 2% (p/v) en tampón cacodilato 0.1 M durante un máximo de 1 h a temperatura de 25°C.
- 4- Lavados en tampón cacodilato 0.1 M (2 veces) durante 5 min. cada uno.
- 5- Deshidratación en etanol a una temperatura de 4°C. En primer lugar, en etanol al 30% (v/v) durante 15 min. (2 veces), posteriormente en etanol al 50% (v/v) durante 30 min. (2 veces) y por último, en etanol al 70 % (v/v) durante 30 minutos.

- 6- Deshidratación en acetona a una temperatura de 4°C. Esta etapa comenzará con una diferencia temporal con la anterior de 24 h. Primero en acetona al 70%(v/v) durante 30 min., posteriormente en acetona al 90% (v/v) durante 30 min. y, por último, en acetona al 100% (v/v) durante 30 minutos.
- 7- Control del punto crítico.
- 8- "Sputtering" con oro.
- 9- Observación en Microscopía Electrónica de Barrido (S.E.M.).

Una vez preparadas las muestras fueron analizadas en un microscopio de barrido PHILIPS XL-20, que consta de detectores de electrones secundarios con una resolución máxima de 3.5 nm. En todos los casos se ha aplicado un voltaje de 10.0 KV, y se han seleccionado los aumentos en función de los sistemas.

11.- Método analítico de detección de foscarnet.

La detección de foscarnet se llevó a cabo mediante un nuevo método de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) con detección ultravioleta a una longitud de onda establecida a 232 nm, que ha sido convenientemente validado.

Los agentes utilizados en la elaboración de la fase móvil fueron agua purificada de calidad HPLC, metanol en grado HPLC (*Merk®*, *G-Darmstadt*), monohidrógeno fosfato disódico (*Merk®*, *G-Darmstadt*), dihidrógeno fosfato monosódico (*Merk®*, *G-Darmstadt*), ácido pirofosfórico 0.2 mM (*Fluka®*, *Switzerland*), a fin de evitar las colas de los picos cromatográficos, y tetrahexilamonio hidrógeno

sulfato (THAHSO₄) (*Fluka®*, *Switzerland*) como agente formador de un par iónico. Como patrón interno se ha utilizado hidroclorotiazida (HCTZ. *Fluka®*, *Switzerland*). La fase móvil consiste en una mezcla de metanol:agua (30:70)(v/v), conteniendo una concentración 1 mM de THAHSO₄. La fase móvil se ajustó a pH 5.8 unidades con un buffer fosfato 60 mM, obtenido tras mezclar cantidades suficientes de un buffer 60 mM de Monohidrógeno fosfato disódico y otro buffer 60 mM de Dihidrógeno fosfato monosódico. La fase móvil fue filtrada y desgasificada previa a su introducción en el cromatógrafo. Así mismo, se utilizó como estándar interno una solución de HCTZ de concentración 671.8 mM, preparada en un vehículo de metanol:agua desionizada (50:50) (v/v).

En orden a establecer una línea de base estable se hizo pasar fase móvil a un flujo de 0.3 mL/min durante 24 h con recirculación de dicha fase móvil. Igualmente el detector fue conectado a fin de conseguir una estabilización adecuada. Posteriormente, y durante toda la experiencia cromatográfica, la fase móvil se hizo pasar a través de columna a un flujo de 0.7 mL/min a una presión de 1.5 Pa. El detector se fijó a una longitud de onda de 232 nm.

La columna utilizada fue una C₁₈ de fase reversa, que consta de un empaquetado de partículas esféricas de 4 µm (3.9 x 150 mm) de octadecilsilano (*Nova-Pack®*. *Waters Assoc. Milford, Ma, USA*). El Cromatógrafo utilizado (*Beckman®*, *Fullerton, USA*) consta de dos bombas Sistem Gold Mod. 126, equipada con un amortiguador de pulsos, un inyector automático Sistem Gold Mod. 502, un detector Ultravioleta-Visible Sistem Gold Mod. 166 y un Integrador Mod. FX-850 (*Epson®*).

12. Ensayos de difusión "in vitro".

Para estudiar la capacidad de difusión de foscarnet en cada uno de los sistemas poliméricos considerados, se han utilizado células Valia Chien (Lab. Crown Glass) conectadas en serie (Figura 7).

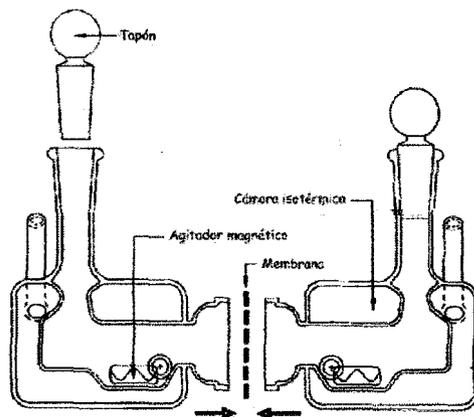


Figura 7. Células de difusión del sistema Valia Chien (Lab.Crown Glass).

Como se observa en esta Figura, cada célula de difusión consta de dos receptáculos o compartimentos:

- Compartimento donador: se colocaron 3.5 mL de cada uno de los sistemas dispersos ensayados. Durante el depósito de la muestra en dicho compartimento se evitó la incorporación de aire.
- Compartimento receptor: igualmente, se incluyeron 3.5 mL de cloruro sódico 0.9 %(p/v).

- **Membrana:** se ha utilizado una membrana hidrófila de nitrato de celulosa (*Whatman® International Ltd, Maidstone, England*), de espesor, h , 0.0145 cm, con 0.45 μm de tamaño de poro y un área, A , de 0.785 cm^2 .

Previamente a la realización del ensayo, las membranas permanecieron durante un tiempo de 1 hora en solución salina 0.9 % (p/v) para facilitar su humectación.

Se conectaron las 5 células en serie y se han mantenido a temperatura aproximada de 37 °C gracias a un sistema de recirculación de agua a través de una cámara térmica. Los tiempos establecidos para este ensayo fueron: 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 horas. El volumen de muestra extraído del compartimento receptor fue de 20 μL para cada uno de los tiempos establecidos e inmediatamente después se ha repuesto con igual volumen de solución salina fisiológica. Cada una de las soluciones extraídas del compartimento receptor fueron analizadas por HPLC, con detección ultravioleta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. -Estudios reológicos.

El conocimiento de las características reológicas de un determinado sistema polimérico y su relación con los perfiles de liberación de un fármaco permiten establecer un diseño optimizado del medicamento [McNair, 1996; Morris et al., 1996; Talukdar et al., 1996; Delalonde et al., 1997; Siepmann et al., 1999; Garassi et al., 2000; Michailova et al., 2001; Wellin-Berger et al., 2001; Chatlapalli & Rohera, 2002].

Para llevar a cabo el estudio reológico de un fluido, es necesario realizar un seguimiento de las deformaciones por cizalla, en condiciones destructivas y no destructivas, y por compresión [Lucero et al., 2000]. Los estudios derivados de métodos destructivos permiten caracterizar el comportamiento de estos sistemas en procesos tales como el procesado, manufactura y almacenamiento [Bonferoni et al., 1995; Hiestand, 1997; Segers et al., 1997; Lucero et al., 1998; 2000]. Por otra parte, los ensayos de viscoelasticidad lineal en cizalla oscilatoria son considerados no destructivos y, debido a la forma característica de variación de los módulos de almacenamiento y pérdida con la frecuencia, proporcionan información a nivel molecular en un estado próximo al de reposo [Suki et al., 1994; Yu et al., 1994; Fujii et al., 1996; Moe & Rippie, 1997; Qian, 2000; Reason et al., 2001; Chang et al., 2002], así como establecer la presencia de interacciones intermoleculares en la estructura polimérica del producto final [Qian, 2000]. Por último, la deformación por compresión va a proporcionar información sobre las propiedades mecánicas que se van a manifestar en la extensibilidad [Lucero et al., 1995; 2000] y la textura del preparado tras su aplicación sobre la piel [Jones et al., 1997, Tan et al., 2000].

1.1.-Deformación por cizalla en condiciones destructivas.

1.1.1.- Curvas de fluidez.

Las Figuras 8 a 10 muestran las curvas de fluidez obtenidas para los distintos sistemas dispersos ensayados. En la mayoría de los casos, se observa un aumento del esfuerzo de cizalla conforme aumenta la velocidad de deformación, característico de los fluidos no newtonianos y con comportamiento pseudoplástico.

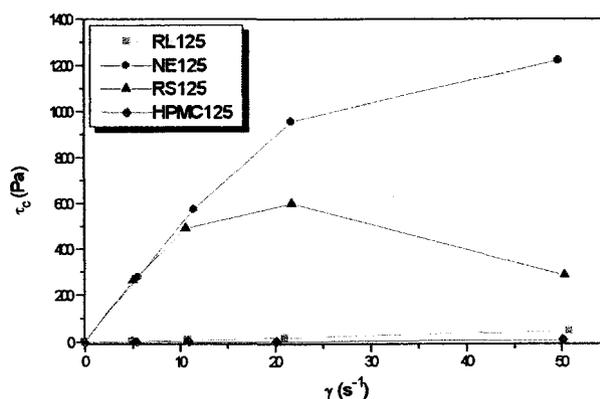


Figura 8. Curvas de fluidez para los distintos sistemas dispersos de HPMC al 1.25 % (p/p) y Eudragit® indicados.

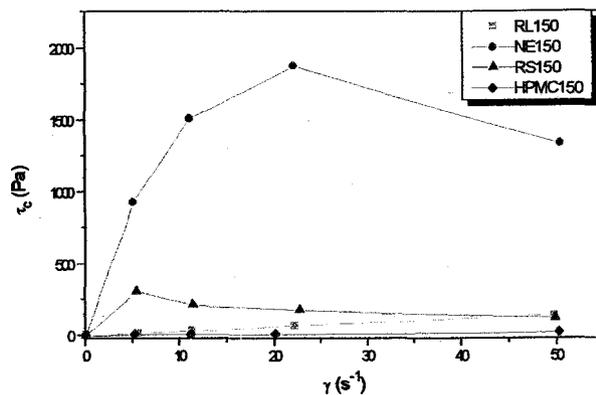


Figura 9. Curvas de fluidez para los distintos sistemas dispersos de HPMC al 1.50 % (p/p) y Eudragit® indicados.

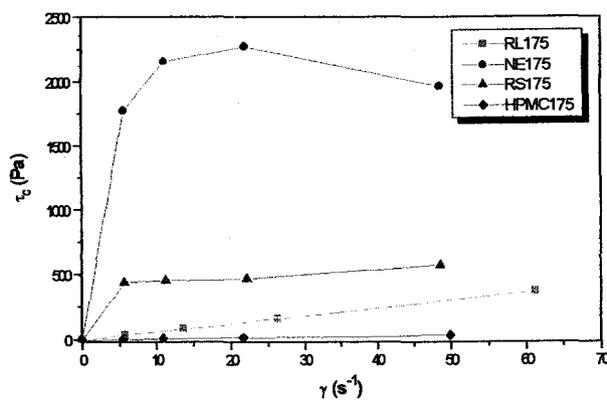


Figura 10. Curvas de fluidez para los distintos sistemas dispersos de HPMC al 1.75 % (p/p) y Eudragit® indicados.

A partir de las curvas experimentales de fluidez y utilizando la zona descendente de los reogramas [Lucero et al., 1989] se han determinado los índices de

flujo (n) y de consistencia (K) aplicando el modelo de Ostwald-De Waele [Ec. 19] (Tabla 4).

Sistema	n	K	r_{xy}	Sistema	n	K	r_{xy}	Sistema	n	K	r_{xy}
HPMC125	0.989	0.8	0.999	HPMC150	0.994	2.2	0.999	HPMC175	0.999	3.3	0.999
RL125	0.917	1.3	0.997	RL150	0.951	3.5	0.999	RL175	0.996	6.1	0.999
NE125	0.672	101.9	0.969	NE150	0.480	443.1	0.985	NE175	0.180	1338.6	0.953
RS125	0.554	116.7	0.962	RS150	0.409	611.2	0.995	RS175	0.117	1349.8	0.902

Tabla 4. Índices n , y K , (dinas/cm^2) y coeficientes de regresión, r_{xy} , de los distintos sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® indicados.

El estudio del comportamiento en flujo estacionario de los sistemas que únicamente poseen HPMC como polímero base refleja que, independientemente de su concentración, existe un comportamiento de fluido próximo al comportamiento newtoniano con índices de flujo muy próximos a la unidad y viscosidades con escasa dependencia de la velocidad de cizalla [Lucero et al., 2000]. Este mismo comportamiento se observa en los sistemas RL125, RL150 y RL175, donde se obtuvieron igualmente valores de índices de flujo próximos a la unidad.

Los distintos sistemas de HPMC/NE30D y HPMC/RS30D, presentan valores de índices de flujo claramente inferiores a la unidad, característicos de fluidos no newtonianos y pseudoplásticos. Este comportamiento se explica por la ruptura progresiva de la estructura interna del sistema a consecuencia del incremento de la deformación por cizalla y su posterior recuperación debido al movimiento browniano [Jones et al., 1999].

Al mismo tiempo, no se han detectado fenómenos de tixotropía en las condiciones experimentales ensayadas. Este comportamiento se caracteriza por el descenso de la viscosidad aparente cuando aumenta el tiempo a velocidad de deformación constante [Vemuri et al, 1988; Lucero et al, 1995].

Independientemente del tipo de sistema disperso considerado, los valores de índices K son estrictamente dependientes de la concentración de HPMC presentes en la formulación. A medida que se incrementa la concentración del derivado celulósico, se incrementa el valor de K, siendo el valor mayor el del sistema RS175.

1.2.- Deformación por compresión.

El modelo matemático utilizado para el cálculo de los distintos parámetros reológico obtenidos en deformación por compresión ha sido el desarrollado por Lucero et al. (1995) [Lucero et al., 1995; 1996; 1998; 2000].

En las Tablas 5 a 7, se recogen los resultados experimentales obtenidos para los distintos sistemas dispersos ensayados. Así mismo, en las Figuras 11 a 13, se recogen las superficies de extensión obtenidas para los sistemas de HPMC y de Eudragit® cuando se someten a deformación por compresión, es decir, cuando se aplica una fuerza perpendicular al plano. Para ello, se ha tomado como referencia una superficie de extensión de 5 cm², por ser un ya que es un área normal dentro de la aplicación de un preparado tópico [Lucero et al., 1995].

Resultados y discusión

Sistema	τ_p (Pa)	A	B (Pa)	J (Nm ⁴)	L (Pa)
HPMC125	33.6	0.0038	0.126	53.74	18.22
	89.2	0.0043		59.53	
	126.7	0.0058		38.39	
	98.8	0.0082		40.18	
RL125	76.2	0.0034	0.326	64.41	18.19
	216.9	0.0036		64.36	
	345.9	0.0046		46.58	
	226.8	0.0061		24.83	
NE125	123.4	0.0038	0.566	61.71	18.06
	290.5	0.0040		61.23	
	422.0	0.0051		42.97	
	261.4	0.0066		28.67	
RS125	120.0	0.0038	0.489	61.71	18.10
	297.8	0.0041		60.57	
	478.3	0.0053		41.58	
	316.7	0.0071		32.31	

Tabla 5. Esfuerzos de compresión, τ_p , y las constantes, A, B, J y L obtenidos para los sistemas dispersos de HPMC al 1.25 % (p/p) y Eudragit® indicados.

Sistema	τ_p (Pa)	A	B (Pa)	J (Nm ⁴)	L (Pa)
HPMC150	32.7	0.0030	0.190	66.83	18.16
	118.7	0.0031		67.81	
	184.8	0.0039		51.48	
	121.7	0.0150		17.53	
RL150	128.6	0.0035	0.360	63.27	18.18
	300.0	0.0039		62.20	
	267.3	0.0052		42.97	
	313.7	0.0171		31.93	
NE150	114.3	0.0042	0.857	58.66	17.97
	320.0	0.0046		57.44	
	498.3	0.0058		38.18	
	525.1	0.0175		35.38	
RS150	255.9	0.0059	1.609	46.51	17.56
	539.7	0.0070		40.22	
	793.7	0.0092		14.44	
	484.0	0.0295		71.16	

Tabla 6. Esfuerzos de compresión, τ_p , y las constantes, A, B, J y L obtenidos para los sistemas dispersos de HPMC al 1.50 % (p/p) y Eudragit® indicados.

Sistema	τ_p (Pa)	A	B (Pa)	J (N/m ⁴)	L (Pa)
HPMC175	100.0	0.0034	0.29	64.56	18.10
	243.8	0.0036		64.16	
	392.9	0.0048		45.73	
	262.2	0.0164		27.51	
RL175	175.0	0.0042	0.64	58.27	17.97
	466.6	0.0047		56.59	
	474.9	0.0061		36.15	
	473.6	0.0181		39.41	
NE175	195.5	0.0049	0.84	53.31	17.75
	417.0	0.0056		50.07	
	616.8	0.0072		28.71	
	439.6	0.0195		48.82	
RS175	175.2	0.0042	1.27	58.27	17.97
	398.7	0.0047		56.59	
	606.2	0.0061		36.15	
	673.6	0.0181		39.41	

Tabla 7. Esfuerzos de compresión, τ_p , y las constantes, A, B, J y L obtenidos para los sistemas dispersos de HPMC al 1.75 % (p/p) y Eudragit® indicados.

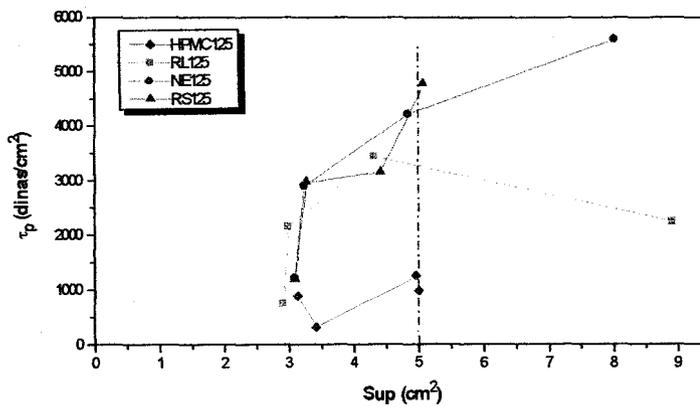


Figura 11.- Superficies de extensión (cm²) y τ_p (dinas/cm²) de los distintos sistemas dispersos de HPMC al 1.25% (p/p) y Eudragit® indicados.

Resultados y discusión

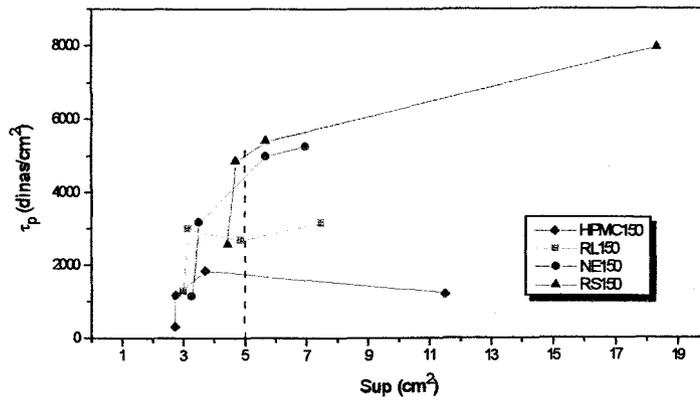


Figura 12.- Superficies de extensión (cm²) y τ_p (dinas/cm²) de los distintos sistemas dispersos de HPMC al 1.50% (p/p) y Eudragit® indicados.

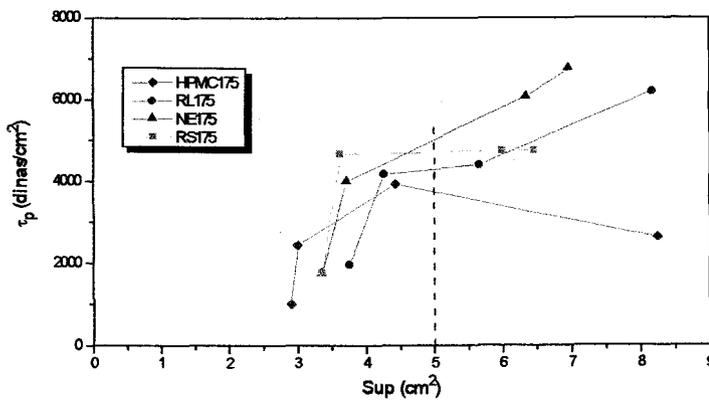


Figura 13.- Superficies de extensión (cm²) y τ_p (dinas/cm²) de los distintos sistemas dispersos de HPMC al 1.75% (p/p) y Eudragit® indicados.

De análisis de las curvas de extensibilidad, se pueden observar dos comportamientos bien diferenciados, el que muestran los sistemas que tienen una fluidez próxima a la de los fluidos newtonianos y, por otro lado, el que muestran aquellos con un comportamiento pseudoplástico. Cuando un fluido newtoniano se somete a la acción de una fuerza, se deforma a una velocidad que es proporcional a la fuerza aplicada y fluye. Por el contrario, el flujo de los sistemas pseudoplásticos se inicia cuando la fuerza aplicada supera un valor que coincide con el proceso de ruptura de la estructura [Lucero et al., 1995]. Los sistemas de HPMC o las asociaciones de HPMC y RL30D, con unas propiedades reológicas próximas a la de los fluidos newtonianos, muestran un comportamiento caracterizado por superficies de extensión que experimentan un rápido incremento tras la aplicación de un esfuerzo de compresión de cierta magnitud. La naturaleza exclusivamente viscosa de estos sistemas justificaría este comportamiento reológico. La magnitud de estos esfuerzos deben ser más elevados a medida que aumenta la viscosidad, coincidiendo con la mayor concentración de polímero celulósico presente en la formulación. Sin embargo, las asociaciones de HPMC/RS30D ó HPMC/NE30D determinan sistemas con comportamiento pseudoplástico con independencia de la concentración del derivado celulósico presente en la formulación. Este comportamiento, se caracteriza por la necesidad de incrementar la magnitud de los esfuerzos de compresión para generar superficies de extensión superiores. Para una concentración dada de HPMC, el comportamiento de estos sistemas es muy similar. El mayor carácter viscoelástico de estos sistemas, a medida que se incrementa la concentración de HPMC, se traduce en una menor extensibilidad de los mismos.

1.3. - Deformación por cizalla en condiciones no destructivas.

1.3.1. Barridos de esfuerzos.

El objetivo del análisis de las curvas de barridos de esfuerzo es definir las denominadas zonas viscoelásticas lineales para cada sistema polimérico. Estas zonas se caracterizan por valores constantes en la respuesta viscoelástica de los sistemas independientemente del valor de esfuerzo aplicado [Ferrari et al., 2000]. El valor de esfuerzo a partir del cual se produce un descenso en la magnitud de al menos una de las componentes del sistema viscoelástico, ya sea G' o G'' , se denomina $\tau_{(\text{crítico})}$. Este parámetro reológico se corresponde con el máximo valor de esfuerzo aplicable a un sistema sin que pierda su estructura original [Ferrari et al., 2000; Rossi et al., 2000]. El valor de $\tau_{(\text{crítico})}$ es un parámetro inherente a cada sistema en las condiciones del ensayo [Schramm, 1994].

Como quiera que no se obtuvieron respuestas en ensayos de este tipo para los distintos polímeros acrílicos, no se ha podido caracterizar el comportamiento reológico de éstos de forma aislada. La incorporación del derivado celulósico permitió obtener una respuesta viscosa y/o elástica en los distintos sistemas dispersos ensayados. A partir de las curvas de barridos de esfuerzo (Figuras 14 al 16), se ha evaluado la influencia de la concentración de HPMC sobre la reología de los distintos sistemas poliméricos con Eudragit®, observándose que el comportamiento reológico está modulado por la adición de la HPMC.

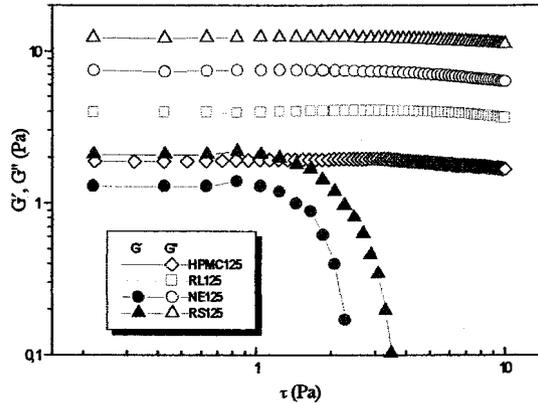


Figura 11. Barridos de esfuerzo obtenidos, a frecuencia constante de 0.5 Hz, para los sistemas dispersos de HPMC al 1.25 % (p/p) y Eudragit® indicados.

Si se comparan las respuestas viscosas de los distintos sistemas respecto a la del sistema HPMC125 (Figura 14), se observa un incremento general en el módulo de pérdida, G'' , siendo su magnitud función del polímero acrílico considerado, mayor para RS125 y menor para RL125.

Los sistemas HPMC125 y RL125 muestran una respuesta exclusivamente viscosa con valores de G'' escasamente dependientes de la magnitud del esfuerzo aplicado. Este comportamiento es característico de los sistemas newtonianos donde los valores de G'' no dependen del esfuerzo aplicado [Schramm, 1994]. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Talukdar *et al.*, (1996) que describen un comportamiento de soluciones de HPMC al 4% (p/p) y 7 % (p/p) en agua, cuando se someten a cizalla oscilatoria, de solución polimérica coloidal con escasa estructuración y respuesta viscoelástica que se incrementa en magnitud al aumentar la concentración

del derivado celulósico. Igualmente, *Rossi et al., (2000)*, sobre la base de un sistema gelificado de HPMC al 3% (p/p) en agua, describen un comportamiento viscoelástico con escasa estructuración característico de sistemas poliméricos coloidales.

Los sistemas NE125 y RS125, en cambio, presentan una respuesta en cizalla oscilatoria de zonas viscoelásticas lineales definidas por la componente elástica (G'). Este comportamiento es indicativo de un mayor grado de estructuración relativo [*Ferrari et l., 2000*].

El análisis de las curvas de barridos de esfuerzo en los sistemas en los que se adiciona HPMC a una concentración al 1.50 % (p/p) (Figura 15), indican comportamientos con tendencia similar a los señalados para los sistemas poliméricos al 1.25 % (p/p). La incorporación de concentraciones crecientes de HPMC únicamente determinan un aumento en las magnitudes de G' y G'' , con aproximación de las primeras respecto a las segundas.

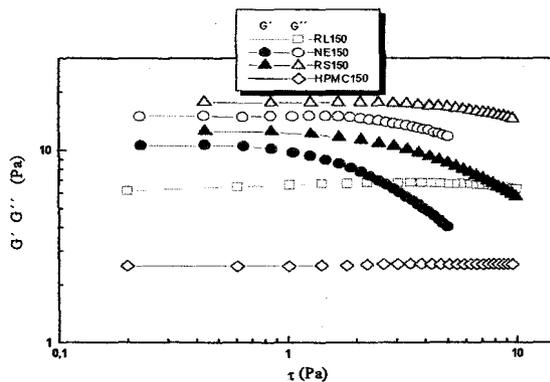


Figura 15. Barridos de esfuerzo obtenidos, a frecuencia constante de 0.5 Hz, para los sistemas dispersos de HPMC al 1.50 % (p/p) y Eudragit® indicados.

Sin embargo, la asociación de HPMC, a una concentración al 1.75 % (p/p), con los distintos tipos de Eudragit® (Figura 16) determina un comportamiento caracterizado por magnitudes de G' superiores en magnitud a las de G'' para los sistemas NE175 y RS175, indicativo de un mayor grado de estructuración de estos sistemas [Talukdar et al., 1996].

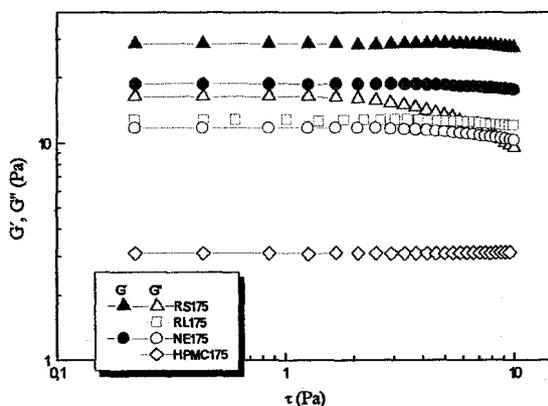


Figura 16. Barridos de esfuerzo obtenidos, a frecuencia constante de 0.5 Hz, para los sistemas dispersos HPMC al 1.75 % (p/p) y Eudragit® indicados.

De los datos experimentales obtenidos se determina que, dependiendo de la concentración de polímero celulósico y de las propiedades fisicoquímicas del polímero acrílico, se obtienen desde sistemas poliméricos newtonianos (RL125, RL150 y RL175) hasta sistemas poliméricos gelificados con cierto grado de estructuración (NE175 y RS175).

A partir de las curvas de barrido experimentales se procedió al ajuste las mismas con el fin de obtener la extensión de las zonas viscoelásticas lineales, y por ende, de los valores de $\tau_{(crítico)}$ para cada sistema. En la tabla 8, se exponen los valores de $\tau_{(crítico)}$ para cada uno de los sistemas poliméricos ensayados.

Sistema Polimérico	τ_c (Pa)	τ_c^* (Pa)
NE125	0.7	1.9
NE150	0.9	2.4
NE175	1.7	3.0
RS125	1.1	2.8
RS150	1.3	3.2
RS175	2.9	5.0

Tabla 8. $\tau_{(crítico)}$ para los distintos sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® obtenidos a frecuencia constante de 0.5 HZ.

Los ajustes de las curvas experimentales obtenidas a partir de los ensayos de barridos de esfuerzo para los sistemas HPMC125, HPMC150, HPMC175, RL125, RL150 y RL175, no permitieron obtener un valor mínimo en la curva que se correspondiera con los valores de $\tau_{(crítico)}$ y, por tanto, delimitar la extensión de las zonas viscoelásticas lineales. Estos sistemas muestran un comportamiento compatible con el de los fluidos newtonianos, en los que no existe dependencia del los módulo G'' respecto del esfuerzo aplicado [Schramm, 1994].

En el caso de los sistemas cuyos polímeros base son Eudragit® NE30D ó RS30D, la incorporación de cantidades crecientes de HPMC se traduce en un incremento de los valores de $\tau_{(crítico)}$ y, por tanto, de la extensión de las zonas viscoelásticas lineales. Los fluidos resultantes tienen una menor tendencia a la

deformación y, cuando se aplican esfuerzos superiores al valor de $\tau_{(\text{crítico})}$ ocasionan la pérdida de su estructura original.

De forma análoga, y para una concentración constante de HPMC, las zonas viscoelásticas de los sistemas de RS30D poseen mayor extensión que los correspondientes sistemas NE30D.

Las propiedades reológicas derivadas de la asociación de HPMC con los distintos polímeros acrílicos es función del tipo de Eudragit® considerado y, a medida que se incrementa la concentración de HPMC, las interacciones intermoleculares entre ambos polímeros determinan unos sistemas dispersos con mayor grado de estructuración.

La HPMC, utilizado de forma clásica en Tecnología Farmacéutica como agente viscosizante [Rossi et al., 2000], presenta una capacidad de incrementar la viscosidad que es función no sólo de la concentración en la que se encuentre en la formulación [Talukdar et al., 1996] sino de la presencia de otros polímeros en la misma. Al mismo tiempo, se ha observado que en asociación con otros polímeros puede no sólo originar un incremento de la respuesta viscosa sino la aparición de respuestas viscoelásticas.

1.3.1.1.-Influencia de la Incorporación de foscarnet.

El foscarnet es un fármaco con actividad antiviral que químicamente se corresponde con el ácido fosfonofórmico. Es un ácido débil que posee tres grupos ionizables, con valores de pK_a de 0.49, 3.41 y 7.27. El número de cargas de dichos

grupos va a depender, por tanto, del pH del medio que actúa como solvente [Talukdar et al., 1996].

Por otro lado, entre los polímeros acrílicos utilizados, los Eudragit® RL30D y RS30D son polímeros catiónicos que contienen distinto porcentaje de grupos amonio cuaternario siendo del 10% para el tipo RL30D y del 5% para el tipo RS30D [Jenquin et al., 1990; Valenta et al., 1995; Amighi & Möes, 1996; Wagner et al., 1996], mientras que el NE30D es un polímero neutro [Lehmann, 1989; Valenta et al., 1995].

Las determinaciones experimentales de pH de los sistemas poliméricos de HPMC/Eudragit®/foscarnet quedan reflejados en la Tabla 9. Estos datos permiten establecer, de acuerdo con los valores de pH del medio y de pKa del fármaco, una aproximación cualitativa del grado de disociación de foscarnet en los distintos sistemas dispersos. En todos los casos, el fármaco se presenta en su forma disociada con predominio de la forma triplemente cargada para los sistemas NE30D y doblemente cargada para los sistemas RL30D y RS30D.

Sistema Polimérico	pH (Unidades)
RL125	5.05
RL150	4.93
RL175	4.81
NE125	8.30
NE150	8.04
NE175	7.55
RS125	4.94
RS150	4.91
RS175	4.70

Tabla 9. pH de los distintos sistemas dispersos indicados.

Algunos autores han intentado evaluar el efecto que sobre la reología de sistemas poliméricos tiene la inclusión de fármacos con distintas propiedades fisicoquímicas como consecuencia de posibles interacciones de éstos con los polímeros constituyentes de la formulación a partir de ensayos dinámicos en cizalla oscilatoria [Jenquin et al., 1990; Bonferoni et al., 1995; Narisawa et al., 1996; Sarisuta et al., 1999].

Sobre la base de establecer diferencias en el comportamiento reológico de los distintos sistemas y determinar la posible presencia de interacciones entre los polímeros constituyentes de la formulación y el foscarnet, se procedió al ajuste de las distintas curvas de barridos de esfuerzo de los distintos sistemas dispersos ensayados (Figuras 17 a 19).

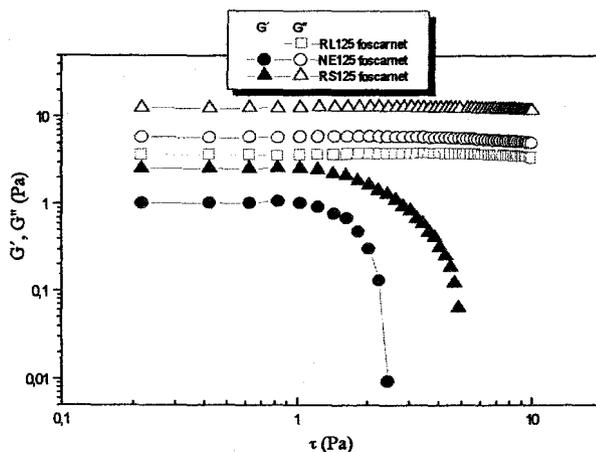


Figura 17. Barridos de esfuerzo obtenidos, a frecuencia constante de 0.5 Hz, para los sistemas dispersos de HPMC al 1.25 % (p/p) / Eudragit® / foscarnet indicados.

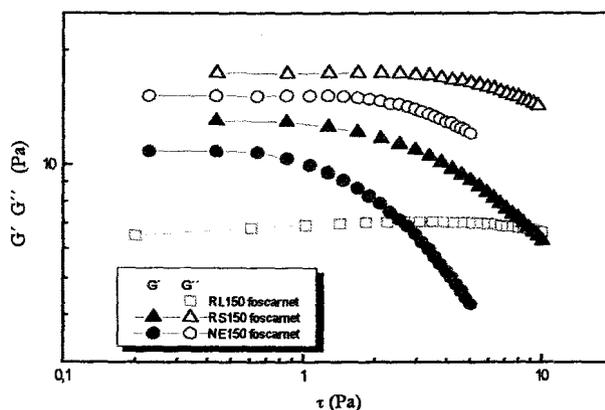


Figura 18. Barridos de esfuerzo obtenidos, a frecuencia constante de 0.5 Hz, para los sistemas dispersos de HPMC al 1.50 % (p/p) / Eudragit® / foscarnet indicados.

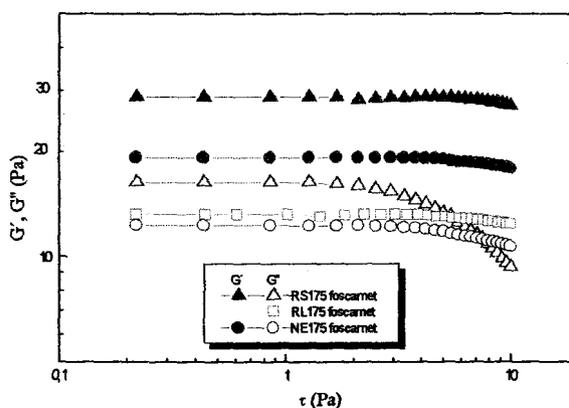


Figura 19. Barridos de esfuerzo obtenidos, a frecuencia constante de 0.5 Hz, para los sistemas dispersos de HPMC al 1.75 % (p/p) / Eudragit® / foscarnet indicados.

Se procedió a comparar los valores medios de las magnitudes G' y/o G'' de las dos poblaciones (sistemas dispersos sin fármaco y sistemas dispersos con fármaco).

Para ello, se utilizó el test no paramétrico de Wilcoxon para variables cuantitativas relacionadas y con distribución normal o no. Los resultados derivados de dicho análisis estadístico ($n = 100$) reflejaron en todos los casos, para un nivel de significación < 0.05 ($IC \geq 95\%$) que no existen diferencias significativas entre las dos variables comparadas (Tabla 10).

Sistema	Z	Prob. < 0.05
RL125/RL125F	-0.6625	0.5076
NE125/NE125F	-1.4270	0.1536
RS125/RS125F	-0.8664	0.3863
RL150/RL150F	-1.1202	0.2626
NE150/NE150F	-0.3501	0.7263
RS150/RS150F	-0.7001	0.4838
RL175/RL175F	-0.9802	0.3270
NE175/NE175F	-1.0502	0.2936
RS175/RS175F	-0.7702	0.4412

Tabla 10. Estadísticos de significación del Test de Wilcoxon para los barridos de esfuerzo en los sistemas dispersos indicados.

Por tanto, con un 95% de confianza puede inferirse que la incorporación de foscarnet a la concentración ensayada, en cada uno de los sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® en las condiciones del ensayo, no modifica su comportamiento reológico.

1.3.2. - Barridos de frecuencias.

Una vez fijado un valor de esfuerzo dentro de la zona viscoelástica lineal (en todos los casos el valor ha sido de 0.5 Pa), se procedió a determinar las curvas experimentales de barridos de frecuencia en la que se representan la variación de los módulos G' y G'' con la frecuencia aplicada. Estos ensayos permiten obtener información respecto al grado de estructuración en condiciones no destructivas de los sistemas dispersos ensayados mediante la aplicación de un esfuerzo en condiciones de viscoelasticidad lineal [Bonferoni et al, 1995].

Para optimizar las características de un sistema gelificado es necesario definir, en primer lugar, la cinética de reticulación del polímero y los factores que condicionan el proceso [Nakamura, 2001]. A este respecto la reometría oscilatoria es una herramienta muy útil puesto que, a través de la evolución de los módulos elástico y viscoso, es posible obtener información acerca de la evolución de la estructura del entramado polimérico. En general, el módulo elástico experimenta cambios más importantes en el transcurso del proceso que el módulo viscoso con lo que, aunque inicialmente toma valores más bajos, lo supera en el transcurso del proceso. El punto en el que los dos módulos toman el mismo valor se conoce como punto de gelificación [Sarkar, 1995].

Los ensayos en cizalla oscilatoria, en los que se recogen la variación de los módulos G' y G'' con la frecuencia, permiten caracterizar a un sistema bien como "gel verdadero" o como solución polimérica coloidal [Rossi et al., Ferrari et al., 2000]. Los primeros se caracterizan por presentar una estructura tridimensional definida por una

red coherente de partículas poliméricas y cuando se someten a cizalla oscilatoria presentan valores de G' superiores a los de G'' , que se mantienen aproximadamente constantes e independientes del valor de la frecuencia aplicada [Talukdar et al., 1996; Ferrari et al., 2000]. Las soluciones poliméricas coloidales son sistemas gelificados de naturaleza viscoelástica en las que no es posible distinguir una estructura tridimensional definida y con un comportamiento reológico caracterizado por valores de G' y G'' que se incrementan a medida que aumenta la frecuencia, y aproximándose en magnitud, hasta alcanzar el punto de gelificación [Rossi et al., 2000].

El análisis de dichas curvas para los sistemas dispersos de HPMC al 1.25% (p/p) y Eudragit® (Figura 20) permite evaluar el grado de estructuración que determina la asociación de HPMC con los distintos polímeros acrílicos. Los sistemas HPMC125 y RL125 muestran un comportamiento caracterizado por una respuesta exclusivamente viscosa que se incrementa con el valor de la frecuencia aplicada. Este comportamiento es compatible con el de los fluidos viscosos con escasa estructuración. Los sistemas NE125 y RS125, en cambio, presentan un comportamiento viscoelástico con magnitudes de G'' superiores a las de G' en la que ambos parámetros se incrementan a medida que lo hace la frecuencia. En ambos sistemas se observa una tendencia a alcanzar el punto de gelificación en torno a los 20.10 Hz para el sistema NE125 y los 9.95 Hz para el sistema RS125. Este comportamiento es compatible con el de soluciones poliméricas coloidales.

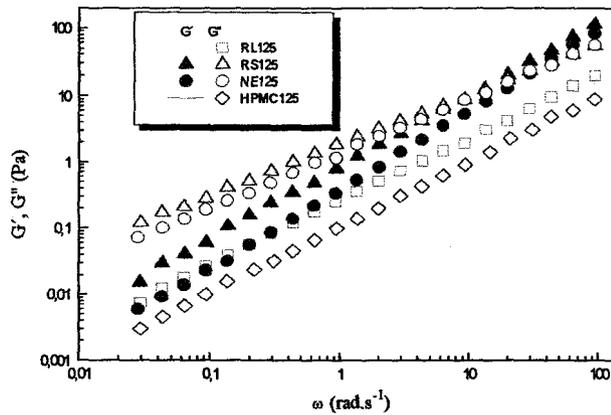


Figura 20. Curvas de barridos de frecuencia a esfuerzo constante de 0.5 Pa, para los sistemas dispersos de HPMC al 1.25 %(p/p) y Eudragit® indicados.

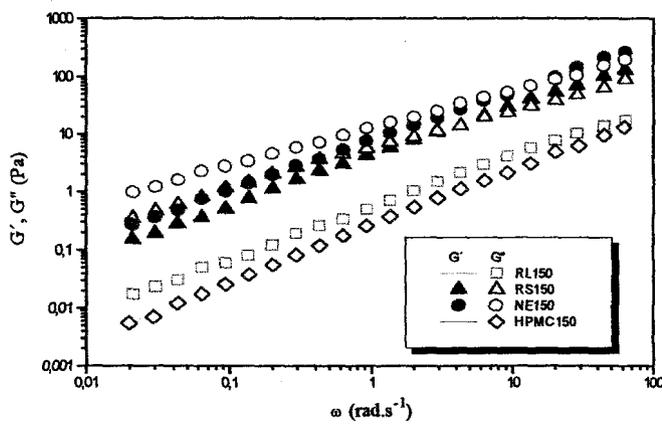


Figura 21. Curvas de barridos de frecuencia a esfuerzo constante de 0.5 Pa, para los sistemas dispersos de HPMC al 1.50 %(p/p) y Eudragit® indicados.

Los sistemas en los que se incorporan concentraciones de HPMC al 1.50 % (p/p), Figura 21, muestran un comportamiento similar a los descritos para los sistemas

al 1.25 % (p/p), si bien se observa un incremento en los valores de las magnitudes G' y G'' en todos los sistemas respecto de sus análogos de menor concentración en HPMC. Así, los sistemas NE150 y RS150, igualmente, muestran un comportamiento exclusivamente viscoso. Los sistemas RS150 y NE150 reflejan una cinética de gelificación caracterizada por presentar puntos de gelificación en torno a los 4.25 Hz y los 13.50 Hz, respectivamente. Si bien los valores de G' y G'' a partir del punto de gelificación continúan dependiendo del valor de la frecuencia aplicada, por lo que su comportamiento se aproxima al de soluciones poliméricas coloidales [Talukdar et al., 1996].

En los sistemas en los que se incorpora HPMC al 1.75 % (p/p) (Figura 22), se observa un comportamiento similar para los sistemas HPMC175 y RL175; es decir, siguen presentando un comportamiento de fluidos viscosos. Los sistemas NE175 y RS175 presentan valores de puntos de gelificación en torno a 1.30 Hz y 0.30 Hz, respectivamente. Especial consideración merece el sistema RS175 que muestra valores de G' superiores en magnitud a los de G'' a partir de una frecuencia de 0.3 Hz, y que posteriormente se mantienen constantes y, por tanto, independientes de la frecuencia aplicada.

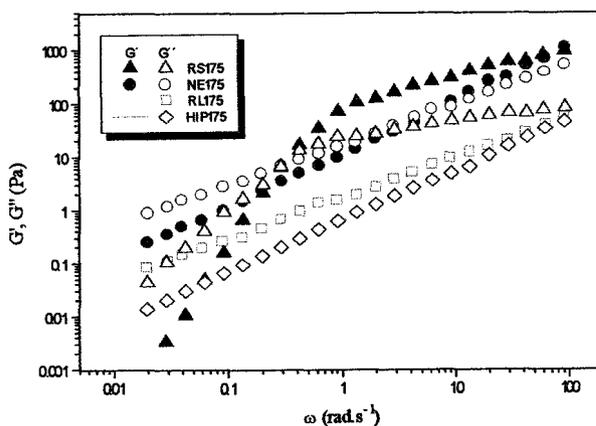


Figura 22. Curvas de barridos de frecuencia a esfuerzo constante de 0.5 Pa, para los sistemas dispersos de HPMC al 1.75 % (p/p) y Eudragit® indicados.

El comportamiento reológico del sistema RS175 se aproxima al de una estructura de "gel verdadero". Ello indica que las cadenas presentan un mayor número de puntos de entrecruzamiento y, por tanto, una capacidad superior para almacenar energía, lo que hace que las dispersiones sean más elásticas y que los tiempos de relajación de los enlaces sean más prolongados que en las soluciones poliméricas coloidales [Picton & Müller, 1996]. En este sistema RS175, G' es mayor que G'' incluso a valores de frecuencias angulares bajas, lo que indica que la vida media de los enlaces polímero celulósico/polímero acrílico es relativamente alta, y que la interpenetración de las cadenas impide su estiramiento [Bothner-Wik & Wik, 1993; Carlfors et al., 1999].

En resumen, el incremento de la concentración de polímero celulósico se traduce en un incremento de las magnitudes de G' y/o G'' independientemente del tipo

de polímero acrílico considerado. Estos datos pueden ser explicados sobre la base de un fenómeno de interacción macromolecular entre las cadenas poliméricas. El incremento en la concentración polimérica se traduce en la mayor probabilidad de número de unidades de contacto por volumen [Talukdar et al., 1996]. Sin embargo, de acuerdo con las propiedades fisico-químicas del polímero acrílico considerado, el comportamiento reológico de los sistemas dispersos resultantes es muy distinto. El peso molecular o la presencia de grupos amonio cuaternario influyen en dicho comportamiento.

Entre los objetivos en el desarrollo de sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® se han considerado utilizar en la formulación polímeros que incluyeran grupos amonio cuaternario por su capacidad de incrementar el tiempo de residencia medio del vehículo en la piel, como consecuencia de interacciones de tipo electrostático que se establecen con los constituyentes de la misma [Yu et al., 1994]. Aunque la estructura y la composición de la piel y mucosas varían de un individuo a otro, éstas se caracterizan por ser relativamente hidrofóbicas y por presentar una elevada cantidad de grupos aniónicos. Por lo tanto, la presencia de grupos catiónicos en los polímeros acrílicos de Eudragit® RS30D y RL30D, hacen que tengan una marcada afinidad por los componentes de la piel y mucosas (sustantividad), lo que los dota de cierta capacidad bioadhesiva. Esta mayor sustantividad de los polímeros catiónicos por la piel y mucosas determinan un mayor valor del tiempo de residencia del fármaco que potencialmente puedan vehicular.

Sin embargo, la naturaleza de los geles polielectrolíticos hacen que sus propiedades reológicas sean muy sensibles a la proporción de cargas existentes y al

pH del medio [Khare & Peppas, 1993; Yu et al., 1994; Talukdar et al., 1996; Rossi et al., 2000]. En este sentido, si se comparan las curvas de barridos de frecuencia en condiciones de viscoelasticidad lineal de los sistemas RL30D y RS30D (Figuras 20 a 22) observamos comportamientos reológicos totalmente diferentes. Los sistemas RL30D (10 % de grupos amonio cuaternario) muestran un comportamiento de fluido exclusivamente viscoso, independientemente de la concentración de polímero celulósico considerado. Sin embargo, los sistemas RS30D muestran un comportamiento viscoelástico, en los que el módulo de almacenamiento se incrementa a medida que se aumenta la concentración de HPMC. Como quiera que, ambos sistemas poseen una distribución de pesos moleculares en torno a los 150.000 Da [Monografía Eudragit®, 2000], las diferencias observadas en el comportamiento reológico podrían justificarse por la desigual proporción de grupos amonio cuaternario existente entre ambos tipos de sistemas. En cambio, para los sistemas con Eudragit® NE30D, polímero neutro con una distribución de pesos moleculares en torno a los 800.000 Da [Monografía Eudragit®, 2000], se observa un comportamiento reológico característico de soluciones poliméricas coloidales con valores de G' y G'' comprendidas en magnitud entre los sistemas RS30D (superiores) y RL30D (inferiores). En estos preparados sólo cabría esperar la existencia de interacciones de naturaleza hidrofóbica entre las cadenas de polímero que se incrementarían como consecuencia del aumento relativo del peso molecular [Talukdar et al., 1996].

A partir de los resultados experimentales de barridos de frecuencias obtenidos en condiciones de viscoelasticidad lineal, resulta de interés analizar una

serie de parámetros reológicos entre los que cabe señalar: el factor de pérdida ($\text{tg } \delta$) y la viscosidad compleja (η^*).

✓ Factor de pérdida ($\text{tg } \delta$).

El factor de pérdida ($\text{tg } \delta$) expresa la relación entre los valores de G'' y G' [Ec. 6]. Por tanto, es un parámetro que permite evaluar de forma conjunta la naturaleza viscoelástica de un determinado sistema polimérico. Valores de $\text{tg } \delta > 1$, son indicativos de la prevalencia del carácter viscoso de un sistema mientras que los valores de $\text{tg } \delta < 1$ indican un predominio de las propiedades elásticas [Yu et al., 1994; Talukdar et al., 1996; Rossi et al., 2000; Ferrari et al., 2000]. La estimación de $\text{tg } \delta$ es de gran utilidad pues permite evaluar dos propiedades de gran interés en los sistemas gelificados: el tiempo de gelificación y su resistencia mecánica.

En sentido estricto, el tiempo de gelificación se define como el tiempo necesario para que el factor de pérdida ($\text{tg } \delta$) se haga independiente de la frecuencia angular aplicada [Hong & Chou, 2000], y el procedimiento a seguir en la estimación de este tiempo es un ensayo multicurva [Mours & Winter, 2000]. Una aproximación muy utilizada consiste en asociar este parámetro al tiempo en el que se cruzan las curvas correspondientes a G' y G'' en los reogramas de cizalla oscilatoria ($\text{tg } \delta = 1$) obtenidos a una frecuencia angular fija [Nishinari, 1997]. Dado que estas aproximaciones conducen a resultados similares [Agren & Rosenholm, 1998; Volgelsberger et al., 2000] se ha considerado conveniente seguir este procedimiento (Figuras 23 y 24).

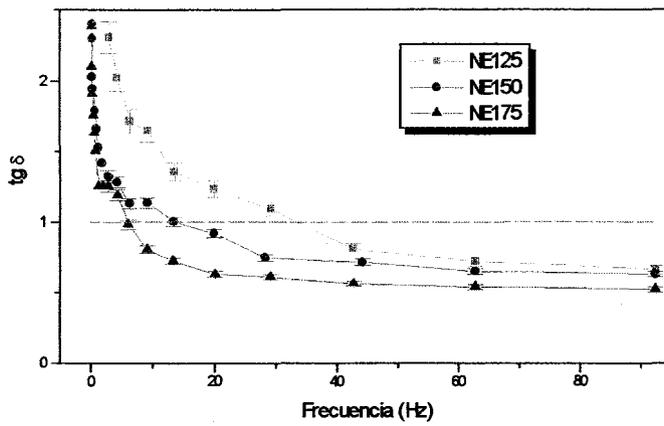


Figura 23. tg δ en función de la frecuencia para los sistemas dispersos de HPMC/NE30D.

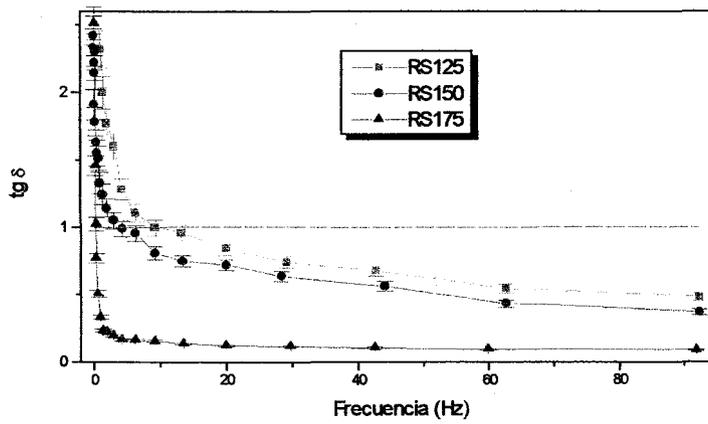


Figura 24. tg δ en función de la frecuencia para los sistemas dispersos de HPMC/RS30D.

A pesar de que en sentido estricto únicamente el sistema RS175 puede considerarse como gel verdadero, se observa que los tiempos de gelificación descienden a medida que se incrementa la concentración de HPMC, si bien este descenso es más marcado en los sistemas de HPMC/ RS30D que en los sistemas de HPMC/NE30D.

Por otro lado, la resistencia mecánica de un gel es un parámetro reológico de gran importancia ya que determina las posibilidades de aplicación de los sistemas gelificados en el campo médico y farmacéutico. El uso de estos sistemas se ha incrementado de manera muy rápida debido a su capacidad para compatibilizar un elevado contenido de agua, que facilita la difusión de fármacos, con un comportamiento viscoelástico adecuado para minimizar las fricciones con los tejidos con los que entra en contacto y mantener su ubicación en el organismo.

Algunos autores [Rossi et al., 2000; Ferrari et al., 2000] han relacionado el valor de $\text{tg } \delta$ con el de la resistencia mecánica ("gel strenght") en sistemas gelificados que incluyen como polímero HPMC al 3 % (p/p). Se ha descrito una relación inversa entre los valores de $\text{tg } \delta$ y la resistencia mecánica, lo que sugiere que a partir de ensayos dinámicos en cizalla oscilatoria es posible determinar la resistencia mecánica de distintos sistemas gelificados bajo las mismas condiciones de ensayo.

En las Figuras, anteriormente comentadas, 23 y 24, se observa que los sistemas que incluyen una mayor concentración del derivado celulósico presentan valores de $\text{tg } \delta$ inferiores y, por tanto, con un mayor grado de resistencia mecánica que el resto de sistemas en las condiciones del ensayo. Igualmente, si se comparan los valores de $\text{tg } \delta$ para los sistemas de NE30D vs. RS30D para una concentración de

HPMC determinada, se observan valores de $\text{tg } \delta$ inferiores para los RS30D indicativos de un mayor grado de entrecruzamiento y resistencia mecánica que sus análogos NE30D. Por tanto, el sistema RS175 es aquel que presenta un mayor grado de entrecruzamiento entre las cadenas poliméricas que determinan un sistema gelificado de mayor resistencia mecánica.

✓ Viscosidad compleja, η^* .

Las curvas de viscosidad compleja de los distintos sistemas dispersos de HPMC/ NE30D o HPMC/RS30D (Figuras 25 a 27), muestran un comportamiento reológico no-newtoniano, compatible con el de fluidos estructurales de naturaleza viscoelástica, en donde es posible distinguir para valores de frecuencia bajos, una zona de rango newtoniano y posteriormente un descenso progresivo de esta magnitud conforme se incrementa el valor de la frecuencia. La extensión de frecuencias para esta zona de rango newtoniano es función de la concentración de HPMC presente. Para todos los sistemas es posible, a partir del ajuste de las curvas, obtener un valor límite de viscosidad compleja para un valor de frecuencia cero (η_0^*). Por otra parte, los sistemas de Eudragit® RL30D (Figura 25) muestran un comportamiento compatible con el de los fluidos newtonianos donde el valor de la viscosidad (η') [Ec. 10] no depende de la magnitud de la frecuencia aplicada (Tabla 11).

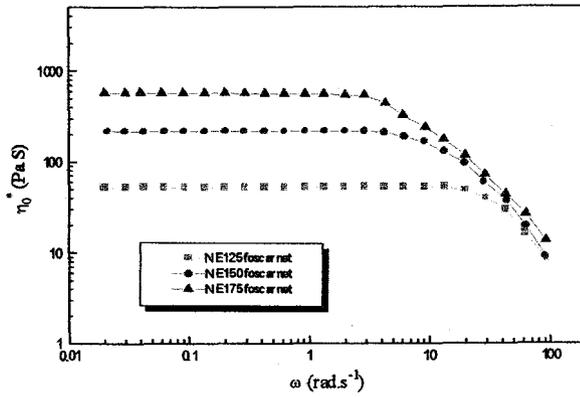


Figura 25 .Curvas de viscosidad compleja de los sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® NE30D indicados.

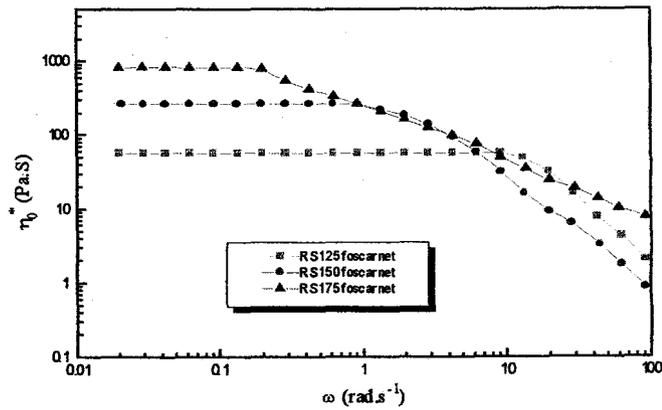


Figura 26 .Curvas de viscosidad compleja de los sistemas dispersos de HPMC Y Eudragit® RS30D.

Resultados y discusión

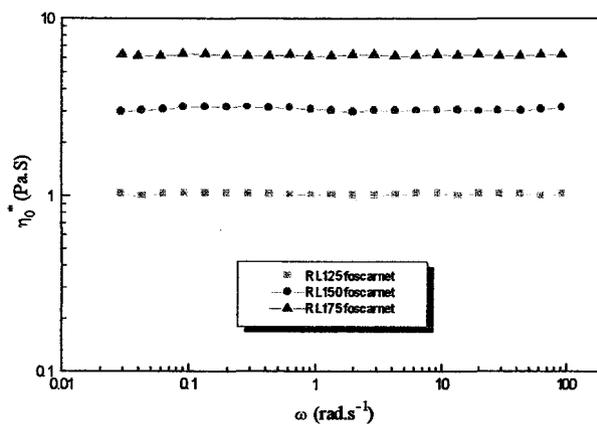


Figura 27. Curvas de viscosidad de los sistemas poliméricos de HPMC Y Eudragit® RL30D.

Sistema	η_0^*/η' (Pa.S)	Rango newtoniano (Hz)
NE125	51.0	0-2.4
NE150	221.1	0-4.0
NE175	560.7	0-16.2
RS125	55.3	0-0.9
RS150	255.1	0-12.4
RS175	755.2	0-0.2
RL125	1.1	0-100
RL150	2.9	0-100
RL175	6.2	0-100

Tabla 11. Viscosidad compleja a frecuencia límite cero (η_0^*) y rango newtoniano para los distintos sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® indicados.

1.3.2.1. Influencia de la incorporación de foscarnet.

Con el fin de evaluar el efecto que sobre la reología de los barridos de frecuencia ejerce el foscarnet se ha procedido a comparar los valores medios de las magnitudes G' y/o G'' , de las dos series de muestras (sistemas dispersos sin fármaco y sistemas dispersos con fármaco).

Se ha utilizado el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas. Los resultados derivados de dicho análisis estadístico ($n = 100$) han reflejado en todos los casos que para un nivel de significación del 0.05% (IC=95%) no existían diferencias significativas entre las dos muestras comparadas ($P > 0.1$).

Sistema	Z	Prob.<0.05
RL125/RL125F	-0.4587	0.6465
NE125/NE125F	-0.8293	0.4069
RS125/RS125F	-1.1212	0.2622
RL150/RL150F	-0.9102	0.3627
NE150/NE150F	-0.7702	0.4412
RS150/RS150F	-0.6516	0.5147
RL175/RL175F	-0.1777	0.8590
NE175/NE175F	-0.0592	0.9528
RS175/RS175F	-0.4739	0.6356

Tabla 12. Estadísticos de significación del Test de Wilcoxon en barridos de frecuencias para los sistemas indicados.

Por tanto, con un 95% de confianza puede inferirse que la adición del foscarnet a la concentración indicada y en las condiciones del ensayo no modifica el comportamiento reológico de los distintos sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® y su respuesta en los ensayos de barridos de frecuencia.

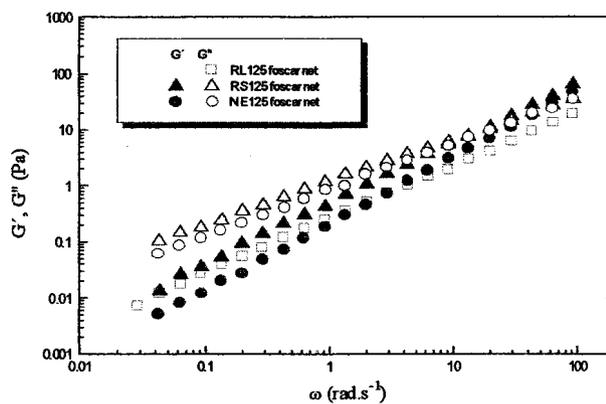


Figura 28. Curvas de barrido de frecuencias a esfuerzo constante de 0.5 Hz, para los sistemas dispersos de HPMC al 1.25 % (p/p)/Eudragit®/foscar net indicados.

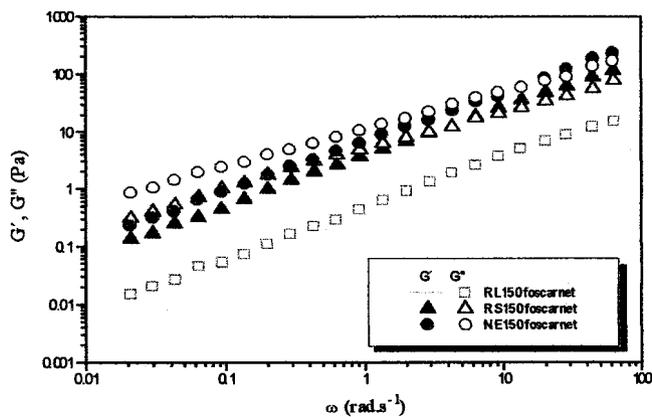


Figura 29. Curvas de barrido de frecuencias a esfuerzo constante de 0.5 Hz, para los sistemas dispersos de HPMC al 1.50 % (p/p) /Eudragit® /foscar net indicados.

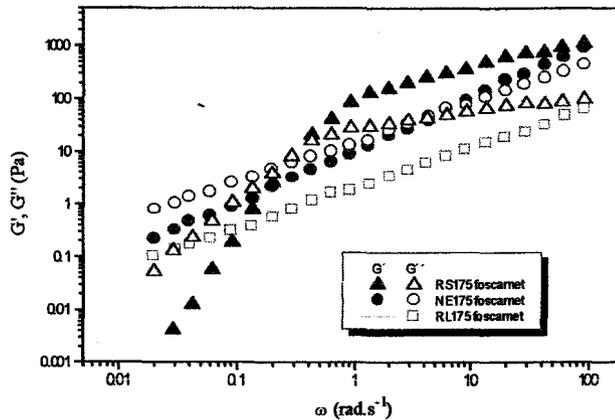


Figura 30. Curvas de barrido de frecuencias a esfuerzo constante de 0.5 Hz, para los sistemas dispersos de HPMC al 1.75 % (p/p) /Eudragit®/foscamet indicados.

1.3.3. Curvas de viscosidad.

A partir de los valores de viscosidad compleja se pueden estimar los valores de viscosidad aparente en flujo por cizalla estacionaria. Es evidente que en un ensayo de flujo estacionario, la viscosidad aparente es función de la velocidad de cizalla y que en uno oscilatorio, la viscosidad compleja es una magnitud dependiente de la frecuencia angular. De hecho, la viscosidad aparente y la viscosidad compleja se aproximan al valor de viscosidad límite, η_0 , cuando la velocidad de cizalla o la frecuencia angular cuando tienden a cero. Esta similitud ha hecho que Cox y Merz [Yu et al., 1994], propongan una relación empírica entre las magnitud viscoelástica, η^* , en condiciones de viscoelasticidad lineal, y la viscosidad aparente, η_{ap} , en condiciones de flujo estacionario. Esta relación establece que para materiales viscoelásticos, el parámetro

η^* tiene igual magnitud que η_{ap} en cizalla estacionaria para valores de frecuencia angular y velocidades de cizalla idénticas, permitiendo predecir los valores de η_{ap} a partir de valores derivados de ensayos de viscoelasticidad lineal.

En las Figuras 31 a 33, se representan los datos experimentales de η^* y los de η_{ap} en condiciones de flujo estacionario. Se observa que es posible hacer una predicción de forma aproximada

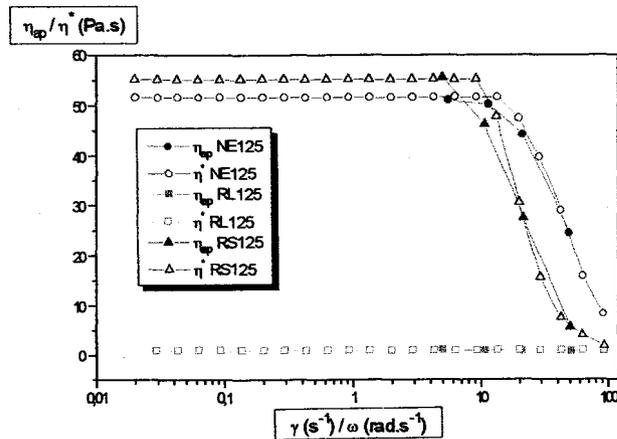


Figura 31.- Curvas de viscosidad de los distintos sistemas dispersos de HPMC al 1.25 % (p/p) y Eudragit® indicados.

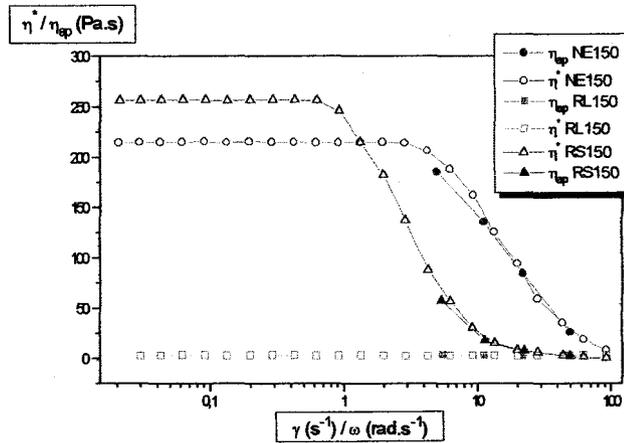


Figura 32. Curvas de viscosidad de los distintos sistemas dispersos de HPMC al 1.50 % (p/p) y Eudragit® indicados.

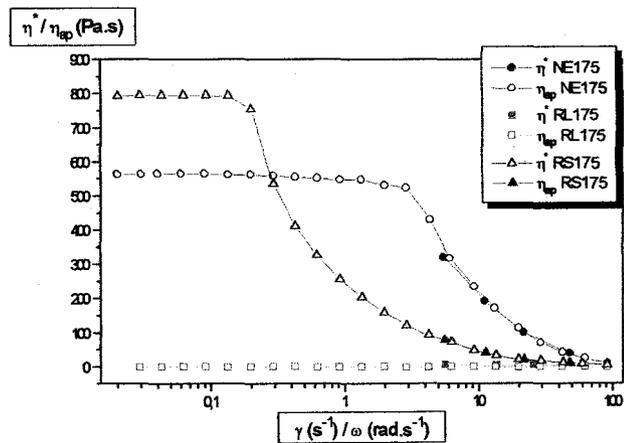


Figura 33. Curvas de viscosidad de los distintos sistemas dispersos de HPMC al 1.75 % (p/p) y Eudragit® indicados.

Esta relación es importante desde un punto de vista experimental ya que en muchas ocasiones es más informativo llevar a cabo ensayos reológicos en condiciones

dinámicas. Si bien la existencia de esta correlación empírica presenta la limitación que únicamente se establece para ciertos valores de frecuencia angular y velocidad de cizalla [Yu *et al.*, 1994]. Los sistemas dispersos de HPMC/NE30D y HPMC/RS30D muestran un comportamiento reológico compatible con el de fluidos estructurales en cizalla oscilatoria. Para frecuencias (velocidades de cizalla) superiores al rango newtoniano estos sistemas muestran un comportamiento en cizalla estacionaria compatible con el de fluidos pseudopásticos. Los sistemas HPMC/RL30D presentan un comportamiento reológico compatible con el de fluidos newtonianos independientemente del intervalo de frecuencias (velocidades de cizalla) considerado.

La asociación de las distintas concentraciones de la HPMC con los polímeros acrílicos de Eudragit® da lugar a un incremento en las viscosidades de los sistemas dispersos. Si bien, este aumento es también función de la naturaleza del polímero considerado. Así, el menor incremento es observado en los sistemas RL30D, polímero cargado positivamente. Los sistemas dispersos con NE30D, polímero acrílico neutro, reflejan valores de viscosidades superiores a los anteriores sistemas independientemente del contenido de HPMC. La excepción en esta tendencia se observa en los sistemas que incorporan el RS30D, polímero cargado positivamente. El sistema RS175 posee menores valores de viscosidad que el correspondiente RS150, debido al mayor carácter elástico del primer sistema.

1.4. ANÁLISIS DE TEXTURA (ADHESIÓN/COHESIÓN).

Se acepta que las propiedades reológicas tanto estáticas, dinámicas como mecánicas, permiten caracterizar a los sistemas poliméricos [Jones, 1999]. Dentro de las propiedades mecánicas, la bioadhesión se puede definir como la capacidad de un material biológico o sintético para pegarse sobre la epidermis o mucosas humanas [Repka & McGinity, 2001]. La mucoadhesión es un fenómeno complejo que depende de las propiedades del polímero, del tejido biológico y del ambiente circundante [Tamburic et al., 1997].

Los polímeros que pueden dar lugar a interacciones de tipo adhesivo con sustratos biológicos se han citado por presentar ventajas en la liberación de fármacos por vía tópica o a nivel de mucosas, debido fundamentalmente al incremento del tiempo de residencia del mismo en el lugar de aplicación [Nagai et al., 1984; Chang et al., 1985; Bouckaert et al., 1992; Woolfsoon et al., 1995; Jones et al., 1996; 1997]. Los polímeros celulósicos como la HPMC son ejemplos de materiales que poseen propiedades adhesivas [Jones, 1997].

El análisis de textura es una técnica muy utilizada en la caracterización mecánica de productos alimentarios y también se ha descrito su utilidad en la caracterización de sistemas gelificados formulados por la industria farmacéutica [Tobyn et al., 1995; Jones et al., 1996; 1997; Tamburic et al., 1996; 1997], así como medida de bioadhesividad [Tobyn et al., 1995].

Entre los objetivos iniciales que se consideran cuando se asocian polímeros en una misma formulación es obtener sistemas dispersos que formen estructuras

Resultados y discusión

tridimensionales con el fin de controlar la liberación del fármaco [Lucero et al., 1995; García et al., 2002]. Es igualmente de gran interés, caracterizar la naturaleza de los enlaces que se establecen. Mediante el análisis de textura es posible llevar a cabo el estudio de la naturaleza de los enlaces presentes en dicha estructura [Jones et al., 1999].

En las Figuras 34 a 36 se representan las curvas de cohesión adhesión que recogen los perfiles de la fuerza (F) necesaria para deformar longitudinalmente a los sistemas dispersos ensayados, o lo que es lo mismo, la fuerza de cohesión. Una vez alcanzada la fuerza máxima se recoge aquella que opone el preparado a la retirada de la sonda, es decir, la fuerza de adhesión.

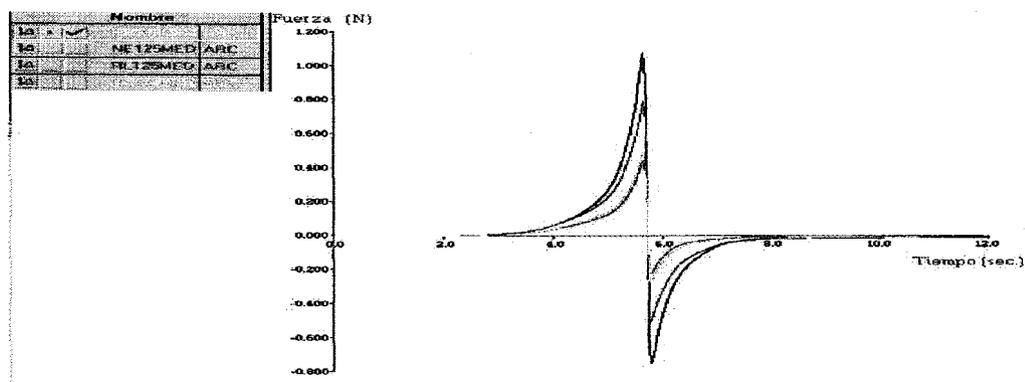


Figura 34. Perfiles de Fuerza de cohesión/adhesión (N) en función del tiempo (s) para los sistemas dispersos de HPMC al 1.25%(p/p) y Eudragit® indicados.

En la Figura 34, se muestra que la mayor fuerza de cohesión (+) y de adhesión (-) corresponde al sistema que incluye únicamente HPMC al 1.25 % (p/p) como polímero, seguido de los sistemas NE125, RS125 y RL125. Según estos resultados, las cadenas de HPMC se encuentran unidas por enlaces de naturaleza hidrofóbica sin llegar a formar un entramado tridimensional [Jones, 1997], confiriéndole mayor fuerza de cohesión/adhesión que a las asociaciones con los distintos polímeros acrílicos. Así, cuando la HPMC se asocia con el polímero no iónico se produce un cierto grado de entrecruzamiento entre las cadenas de HPMC y las macromoléculas de NE30D mediante interacciones de naturaleza débil, bien por puentes de hidrógeno y/o fuerzas de Van der Waals, manifestándose en una menor fuerza de cohesión/adhesión. Por otra parte, la HPMC en asociación con RS30D y RL30D, pierde parte de su cohesión/adhesión, ya que se produce una reticulación física de carga neta positiva con enlaces de naturaleza más débiles que en el caso del derivado no iónico. Así mismo, se puede apreciar que los sistemas dispersos RS30D presenta una ligera mayor fuerza de cohesión que los RL30D, como consecuencia de su menor carga neta positiva. Por tanto, a mayor carga positiva presente en el sistema polimérico, menor va a ser la fuerza de cohesión/adhesión.

De lo anteriormente expuesto se deduce que la ausencia de cargas en los polímeros excluye la posibilidad de interacciones de naturaleza iónica, si bien no excluye la existencia de puentes de hidrógeno entre los grupos carbonilo del metacrilato de metilo y los hidroxilo de la HPMC. Los derivados catiónicos muestran menor cohesión/adhesión (disminuyendo a medida que aumenta la carga positiva) que los no iónicos, como consecuencia de la debilidad de los enlaces que se originan en la

Resultados y discusión

reticulación física. En los sistemas dispersos estudiados no parece existir una reticulación química ya que, si así fuera, los enlaces formados entre las cadenas serían de tipo covalente y ello determinaría una elevada fuerza de cohesión.

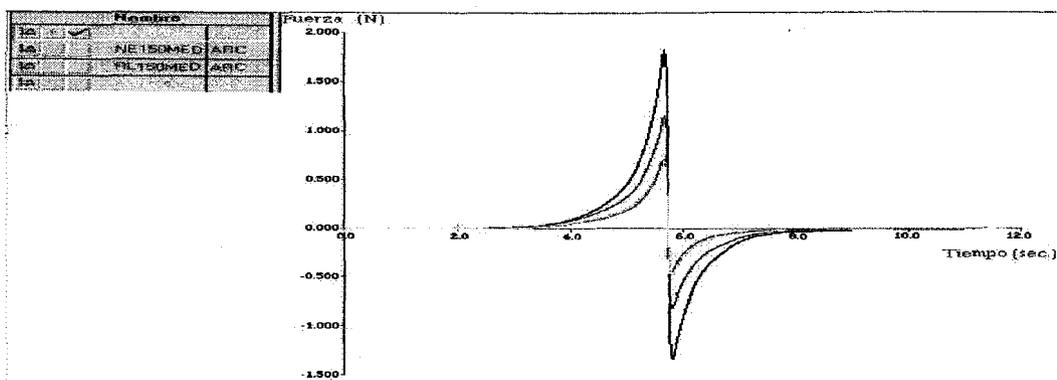


Figura 35. Perfiles de Fuerza de cohesión/adhesión (N) en función del tiempo (s) para los sistemas dispersos de HPMC al 1.50% (p/p) y Eudragit® indicados.

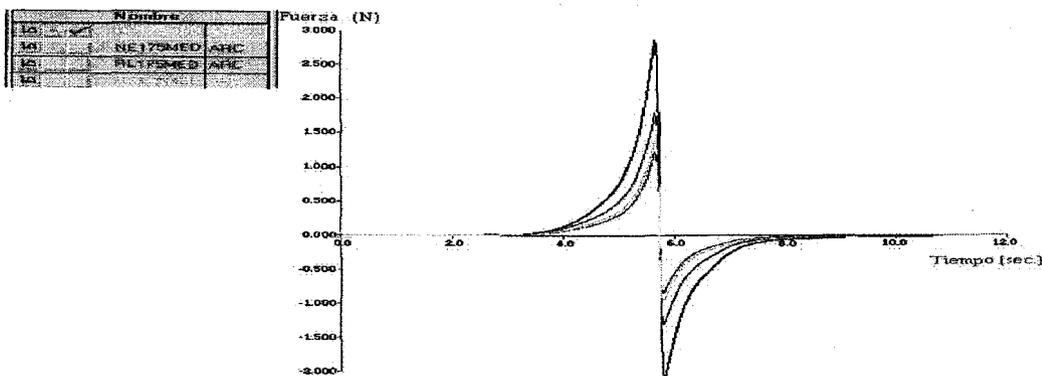


Figura 36. Perfiles de Fuerza de cohesión/adhesión (N) en función del tiempo (s) para los sistemas dispersos de HPMC al 1.75% (p/p) y Eudragit® indicados.

Cuando se incrementa la concentración de HPMC al 1.50 ó 1.75 %(p/p) (Figuras 35 y 36, respectivamente) se observa que aumentan las fuerzas de cohesión en todos los sistemas estudiados. Este hecho es indicativo de la mayor reticulación física que se produce a medida que se incrementa la concentración de HPMC. De forma análoga, se observa que las fuerzas de cohesión originadas son tanto menores cuanto más cargado es el polímero acrílico integrante del sistema disperso.

En la Figura 37 se recogen los trabajos (W) de cohesión/adhesión obtenidos para cada sistema disperso estudiado. En ella, se recoge la influencia de la concentración de HPMC y la pérdida de cohesión/adhesión de los sistemas cuando se asocian con el polímero neutro NE30D o con los polímeros cargados positivamente (RL30D y RS30D).

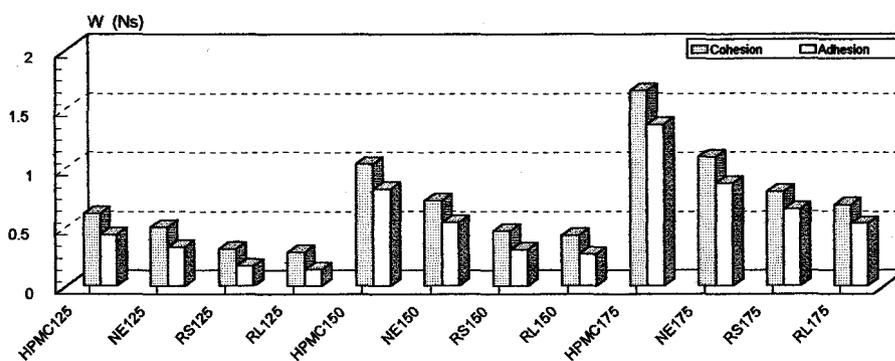


Figura 37. Trabajos de cohesión/adhesión (N.s) de los sistemas dispersos indicados.

2.-CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC).

La caracterización de las fracciones de agua que constituyen los sistemas gelificados es de gran importancia en la comprensión del equilibrio dinámico de hidratación y del análisis del transporte de fármacos, incluyendo las propiedades de difusión en estos sistemas dispersos [Khare & Peppas, 1993]. Las interacciones polímero-agua, así como los cambios en las propiedades físicas del agua asociada con la estructura, pueden determinar las características de permeabilidad de un fármaco a través de estos sistemas [Ford et al., 1995]. El contenido de agua libre de los distintos sistemas poliméricos ha sido determinado mediante DSC, siguiendo el método de Khare & Peppas (1993), según el cual la entalpía de fusión (ΔH_F) de la fracción de agua congelable de los distintos sistemas dispersos se puede cuantificar a partir de la entalpía de fusión del agua pura, $\Delta H_F=320 \text{ J/g}$. En las Figuras 38 a 40, se recogen los termogramas correspondientes a los distintos sistemas dispersos ensayados.

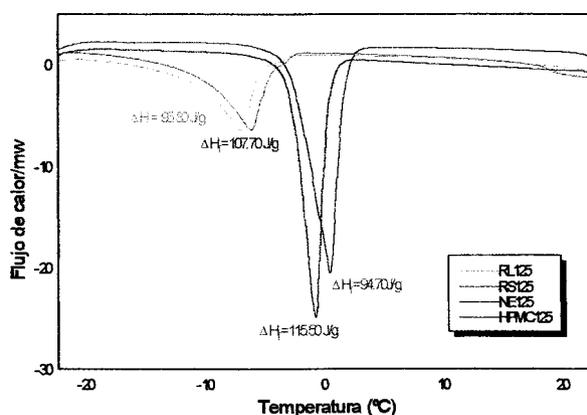


Figura 38. Termogramas de los sistemas dispersos de HPMC al 1.25 % (p/p) y Eudragit® indicados.

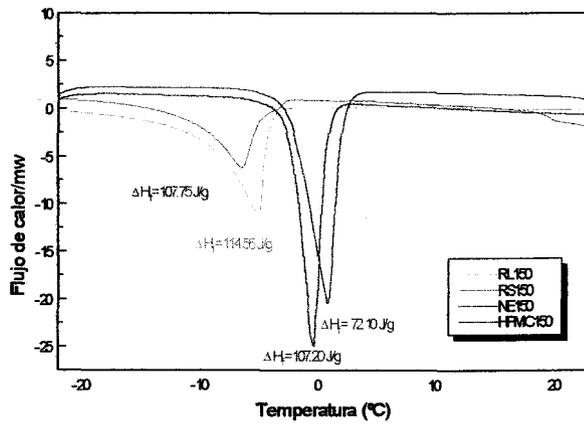


Figura 39. Termogramas de los sistemas dispersos de HPMC al 1.50 % (p/p) y Eudragit® indicados.

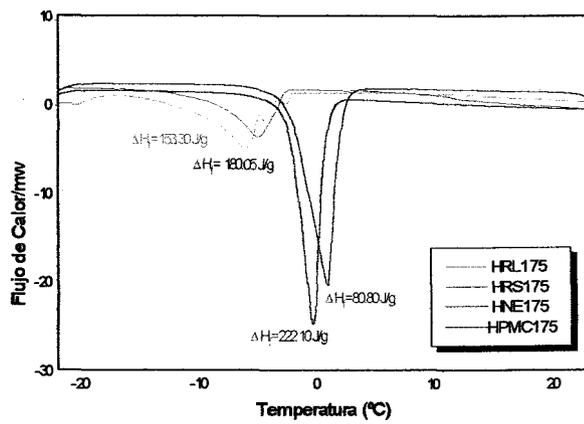


Figura 40. Termogramas de los sistemas dispersos de HPMC al 1.75 % (p/p) y Eudragit® indicados.

En los termogramas se observa que los sistemas constituidos por polímeros neutros como la HPMC y el sistema HPMC/NE30D, a sus distintas concentraciones, presentan endotermas de fusión en torno a los 0°C, mientras que los sistemas de

HPMC/RS30D y HPMC/RL30D presentan endotermas de fusión a temperaturas inferiores (en torno a los -8°C). Las interacciones del agua con los grupos amonio presentes en los polímeros acrílicos determinan que la temperatura de fusión de la fracción de agua tipo I, que se une a estos grupos ionizados, requiera una temperatura inferior a la del agua pura. La presencia de grupos amonio determinan sistemas dispersos con un mayor grado de adsorción y de permeabilidad al agua. Las propiedades fisicoquímicas de un sistema gelificado dependen de la estructura molecular de los polímeros, de su grado de reticulación además del contenido en agua y el estado en el que ésta se encuentra en el sistema polimérico. La caracterización de las distintas fracciones de agua es de especial importancia para el análisis del equilibrio hidrodinámico [Aoki *et al.*, 1995]. Las Figuras de la derivada del flujo de calor frente a las temperaturas experimentales (Figuras 41 a 44) indican la presencia de un único pico, indicativo de la escasa o nula existencia de fracción de agua tipo II en los sistemas dispersos ensayados.

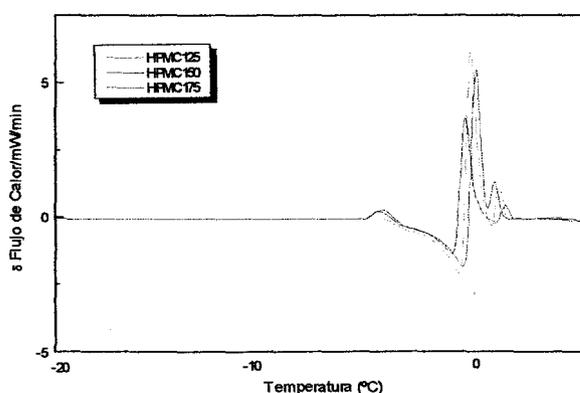


Figura 41. Derivada del flujo de calor para los sistemas poliméricos de HPMC.

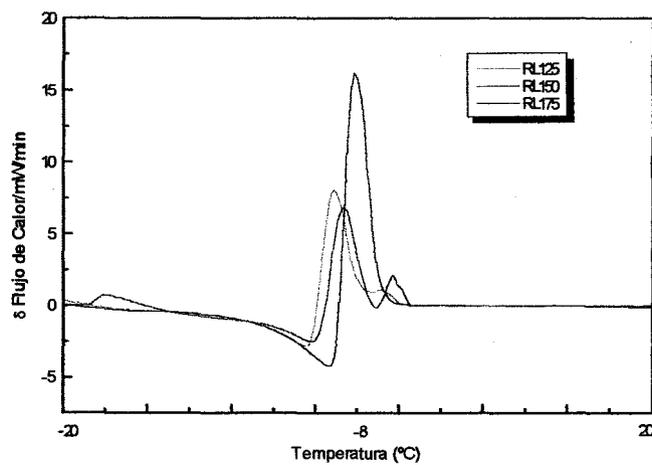


Figura 42. Derivada flujo de calor de sistemas dispersos de HPMC/RL30D indicados.

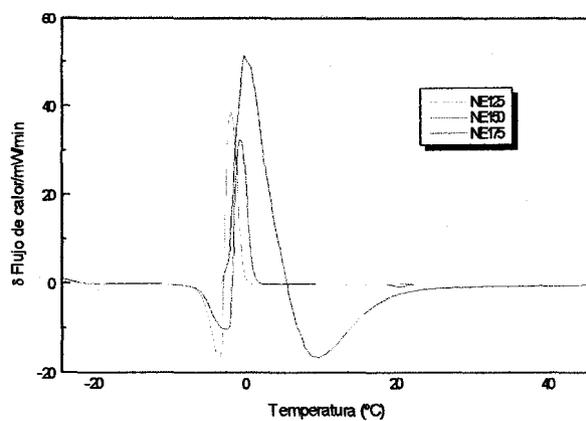


Figura 43. Derivada flujo de calor de sistemas dispersos de HPMC/NE30D indicados.

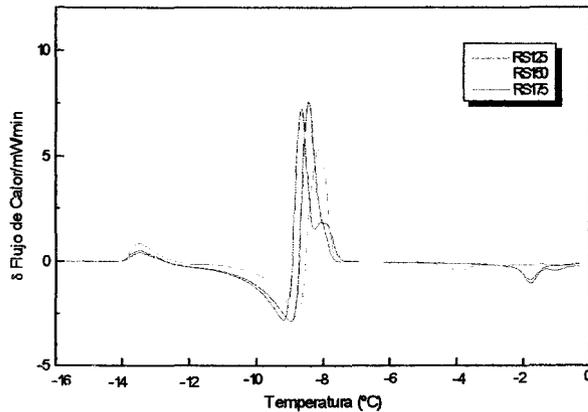


Figura 44. Derivada flujo de calor de sistemas dispersos de HPMC/RS30D indicados.

La utilidad de un sistema polimérico gelificado como soporte de un forma de dosificación dependen de su permeabilidad y de su capacidad para hinchar, características que vienen condicionadas por la naturaleza química de los polímeros integrantes del gel y por la estructura tridimensional de la red [Aoki *et al.*, 1995]. Los sistemas gelificados constituidos por polímeros sin carga su capacidad de hinchamiento es poco dependiente de las condiciones del medio y dependen fundamentalmente de la naturaleza química del polímero [Stoy, 1999]. Sin embargo, en sistemas gelificados catiónicos, el grado de hinchamiento está gobernado por la afinidad entre el polímero y el líquido. Esta afinidad viene determinada por la presencia de sus grupos químicos que pueden originar importantes fuerzas osmóticas [Qiu & Park, 2001].

En la Figura 45, donde se recogen las fracciones de agua libre de los distintos sistemas dispersos (expresadas como gramos de agua libre/gramos de polímero), se puede observar que éstas son función de la concentración de polímero celulósico así como de la naturaleza del polímero acrílico considerado.

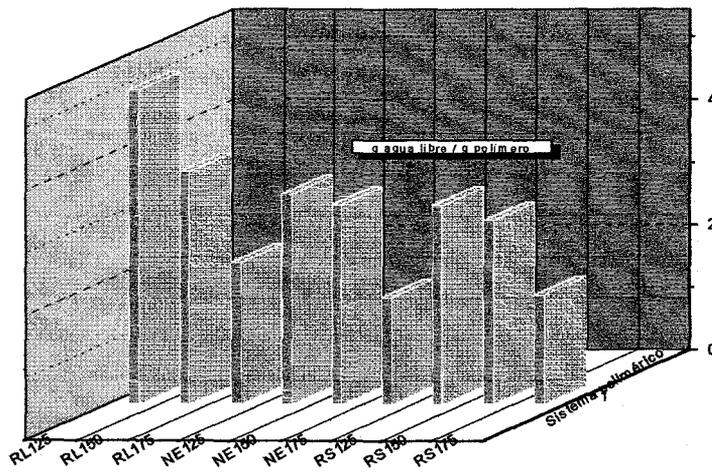


Figura 45. Fracciones de agua libre (g agua libre/g polímero) de los sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® indicados.

Los sistemas de RL30D/HPMC, son los que presentan una mayor fracción de agua libre. La permeabilidad al agua de estos polímeros acrílicos es elevada debido a la presencia de grupos amonio en su estructura. Los sistemas de RS30D/HPMC y NE30D/HPMC, presentan fracciones de agua libre muy similares pero inferiores a los correspondientes sistemas de RL30D/HPMC. A medida que se incrementa la concentración de HPMC en la formulación y con independencia del sistema considerado, se produce un descenso del contenido de agua libre.

3. - Análisis Termogravimétrico (TGA).

Los porcentajes de pérdida de peso obtenidos por TGA hasta una temperatura de 100°C, se asociaron al contenido de agua libre (más intersticial) en los sistemas dispersos ensayados. Los resultados obtenidos quedan reflejados en las Figuras 46 a 48. Estos resultados fueron coincidentes con los obtenidos por DSC a partir del método de Khare & Peppas (1993) (Figura 49).

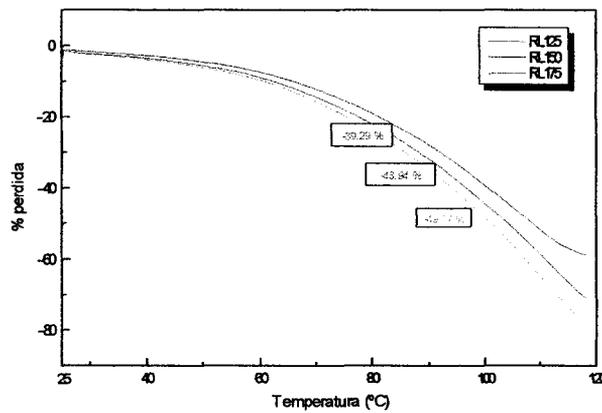


Figura 46. TGA de los sistemas dispersos de HPMC/RL30D indicados.

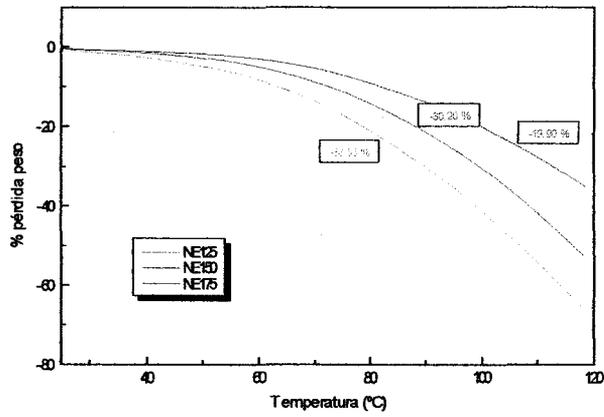


Figura 47. TGA de los sistemas dispersos de HPMC/NE30D indicados.

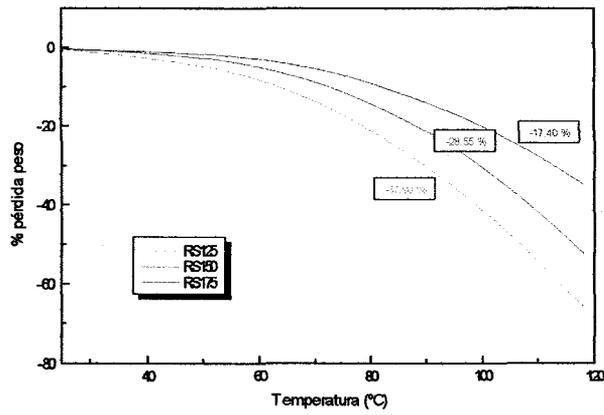


Figura 48. TGA de los sistemas dispersos de HPMC/RS30D indicados.

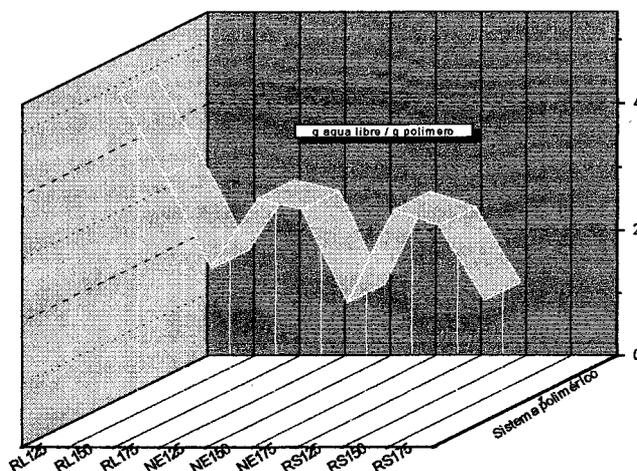


Figura 49. % pérdida de agua en los sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® indicados.

Los sistemas poliméricos gelificados se caracterizan por presentar sus cadenas entrelazadas e inmersas en una fase líquida, que evita que la malla polimérica se contraiga para dar lugar a un sistema compacto y las cadenas de polímero impiden que el líquido fluya libremente [Tanaka, 1981]. Las propiedades resultantes dependen estrechamente de la interacción entre estos dos componentes. Los sistemas constituidos por polímeros hidrofílicos, que incorporan un volumen importante de agua, presenta una consistencia semisólida y, como consecuencia de su estructura tridimensional, una viscosidad y elasticidad notables. Las cadenas de los polímeros que lo forman se unen mediante puntos de reticulación, dando lugar a la formación de una red tridimensional. Cuanto mayor es el grado de reticulación de una dispersión polimérica, o lo que es lo mismo, cuanto mayor es la relación entre el número de puntos de reticulación y la longitud de las cadenas, menor será la movilidad de éstas y,

consecuentemente, la tendencia del sistema a hinchar [Ford, 1999]. Este hecho justificaría que el sistema RS175, que reológicamente se comporta como "gel verdadero", y por tanto, con mayor grado de reticulación presente una menor fracción de agua libre.

4.- Microscopía electrónica de barrido (SEM).

Siguiendo la metodología señalada, las imágenes obtenidas por SEM de los distintos sistemas dispersos ensayados muestran una estructura en superficie que es función del polímero acrílico considerado. Las imágenes de la HPMC muestran la presencia de un polímero filamentoso que se dispone a modo de fibras con una superficie estriada en la que el incremento de la concentración únicamente supone un aumento del número de fibras poliméricas sin ordenación alguna. En ninguno de los sistemas de HPMC elaborados se han observado estructuras ordenadas lo que descarta la presencia de reticulación física (Figuras 50 y 51).

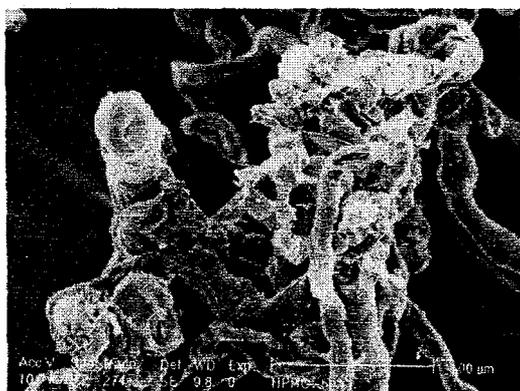


Figura 50. Imagen por SEM a 274x del HPMC150.

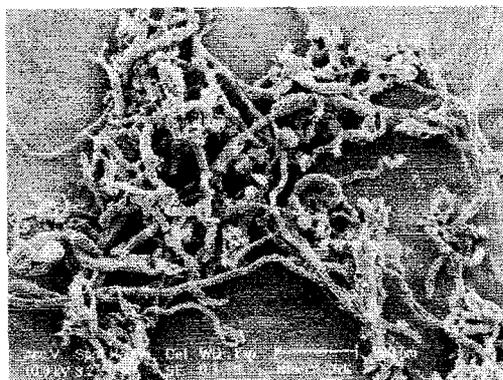


Figura 51. Imagen por SEM a 69x del HPMC175.

Los distintos tipos de Eudragit® proporcionan unas imágenes por SEM, independientemente del tipo considerado, de polímeros amorfos de superficies lisas y sin ordenación estructural alguna (Figuras 52 a 54).



Figura 52. Imagen por SEM a 4086x del Eudragit® RS30D.

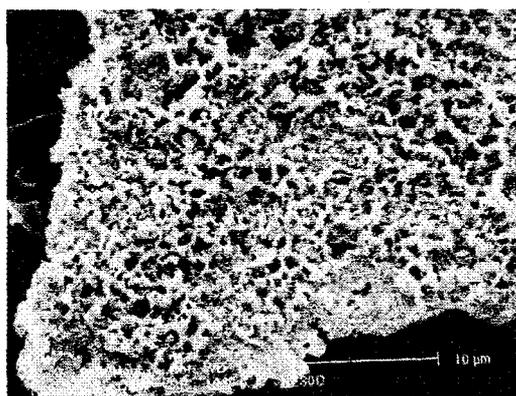


Figura 53. Imagen por SEM a 2750x del Eudragit® NE30D.

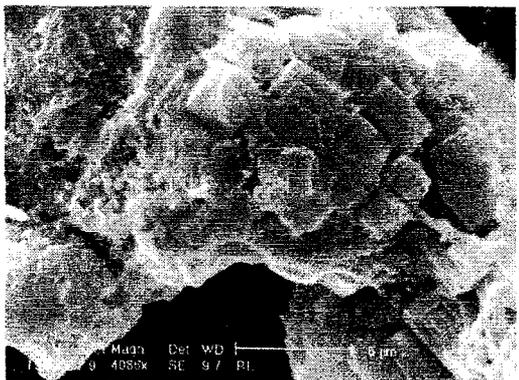


Figura 54. Imagen por SEM a 4086x del Eudragit® RL30D.



Figura 55. Imagen por SEM a 1563x del sistema RL125.

Cuando ambos polímeros se asocian en una misma formulación se obtienen imágenes por SEM que son compatibles con su desigual comportamiento reológico. La justificación de la diferencia de comportamiento en microscopía electrónica de los distintos sistemas dispersos, se ha realizado desde la perspectiva de la distinta

composición química de los polímeros acrílicos de Eudragit® y sus potenciales interacciones con las cadenas poliméricas de HPMC. Los sistemas dispersos de HPMC/RL30D muestran una estructura con ausencia de reticulación en la que es posible distinguir las cadenas poliméricas de HPMC que se disponen con ausencia de ordenación alguna. El polímero acrílico se distribuye recubriendo a las cadenas del derivado celulósico que pasan a presentar una superficie lisa (Figura 55). Estas imágenes son compatibles con el hecho de que se establezcan interacciones de naturaleza hidrofóbica entre las cadenas de HPMC y los polímeros acrílicos, mientras que los grupos amonio cuaternario, de elevado impedimento estérico, se dispondrían hacia el exterior en contacto con el medio acuoso. El porcentaje de grupos amonio cuaternario presente en la estructura del Eudragit® RL30D determina la existencia de repulsiones de tipo electrostático entre las macromoléculas de polímero acrílico impidiendo el entrecruzamiento entre cadenas poliméricas de HPMC. El resultado final es el de una solución polimérica coloidal con ausencia de reticulación física. El comportamiento reológico próximo al de un fluido newtoniano estaría justificado por la presencia de interacciones electrostáticas de los grupos amonio cuaternario que determinan que las cadenas de polímero se dispongan de forma desordenada y sin estructuración alguna comportándose como un fluido viscoso.

En los sistemas de HPMC/RS30D, con menor porcentaje de grupos amonio cuaternario, el acercamiento de las cadenas se encuentra menos limitado (debido al menor impedimento estérico) permitiendo que se produzcan no sólo interacciones de tipo hidrofóbico entre las cadenas de HPMC y las macromoléculas de polímero acrílico, sino también interacciones de naturaleza iónica entre los grupos carboxilo de la HPMC

y los grupos amonio del Eudragit® RS30D. En presencia de pequeñas cantidades de HPMC, el sistema adquiere un cierto grado de entrecruzamiento, que se va incrementando a medida que se eleva la concentración del polímero celulósico como consecuencia de la mayor densidad de cadenas poliméricas (Figura 56). El resultado final es el sistema RS175, que muestra una estructura tridimensional con un comportamiento reológico compatible con el de un gel verdadero de naturaleza viscoelástica. Las imágenes de microscopía electrónica muestran una estructura laminar con presencia de reticulación que aumenta a medida que se incrementa la concentración de derivado celulósico en la fórmula (Figura 57).



Figura 56. Imagen por SEM a 279x del sistema RS150.



Figura 57. Imagen por SEM a 1149x del sistema RS175.

En los sistemas de Eudragit® NE30D, la ausencia de cargas excluye la posibilidad de interacciones de naturaleza iónica entre ambos polímeros, si bien no excluye la existencia de puentes de hidrógeno entre los grupos carbonilo de los Eudragit® NE30D y de los grupos hidroxilo de la HPMC. Estos grupos se dispondrían

hacia el exterior dando un grado de hidrofilia muy similar a los sistemas poliméricos que incluyen únicamente HPMC en su formulación.

En cualquier caso, la existencia de interacciones de tipo hidrofóbico entre las cadenas de HPMC y las macromoléculas de NE30D, y la ausencia de cargas en este último, hacen que se produzca un cierto grado de entrecruzamiento que se incrementa a medida que la concentración de HPMC se eleva en la formulación (Figuras 58 y 59). El mayor grado de entrecruzamiento entre cadenas, consecuencia del mayor número de cadenas poliméricas, determina que estos sistemas muestren un comportamiento de solución polimérica coloidal de naturaleza viscolástica.

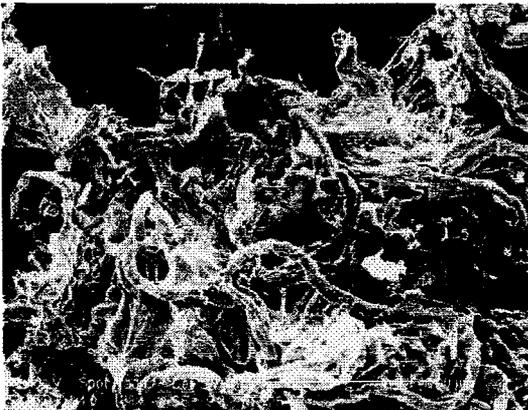


Figura 58. Imagen por SEM a 138x del sistema NE125.



Figura 59. Imagen por SEM a 1104x del sistema NE175.

De todos los resultados obtenidos se puede indicar que la asociación de HPMC y el copolímero neutro NE30D determina la existencia de interacciones de tipo hidrofóbico entre las cadenas de ambos polímeros, siendo posible la existencia de interacciones por puentes de hidrógeno entre los grupos carbonilo del derivado celulósico y los grupos hidroxilo del polímero acrílico.

Los termogramas obtenidos por DSC (Figuras 34-36), son compatibles con estas consideraciones. La asociación de HPMC y Eudragit® RL30D, debido a la presencia de grupos amonio permite probablemente un menor grado de entrecruzamiento limitando la expansión de las cadenas poliméricas. Este hecho, se traduciría en un mayor grado de permeabilidad al agua de estos sistemas. La asociación de HPMC y Eudragit RS30D, que presentan una mayor distancia en la estructura entre grupos amonio cuaternario lo que determina una optimización de las interacciones entre ambos polímeros, por descensos en la repulsión electrostática y en el impedimento estérico. El resultado final, representado por el sistema RS175 muestra un comportamiento reológico con mayor grado de entrecruzamiento.

5. -VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.

Fijadas las condiciones cromatográficas, se procedió a la validación del método analítico para la cuantificación de foscarnet (F) por detección ultravioleta. Se prepararon estándares de foscarnet a partir de un vial de Foscovir® (24 mg/mL de la sal trisódica del ácido fosfonofórmico en solución salina 0.9% p/v). Las concentraciones utilizadas fueron 4000, 2000, 1000, 500, 250 y 125 µg/mL. Así mismo, se utilizó como estándar interno (SI) una solución de Hidroclorotiazida (HCTZ) con una concentración 671.8 mM, preparada en un vehículo de metanol:agua desionizada (50:50) (v/v). En las condiciones cromatográficas anteriormente descritas, se analizaron 200 µL de cada una de los estándares de foscarnet y 25 µL de la solución del estándar interno HCTZ. El "loop" de muestra del sistema ha sido de 20 µL. En estas condiciones, los tiempos de retención obtenidos fueron de 5.6 minutos para el F y 8.6 minutos para la HCTZ.

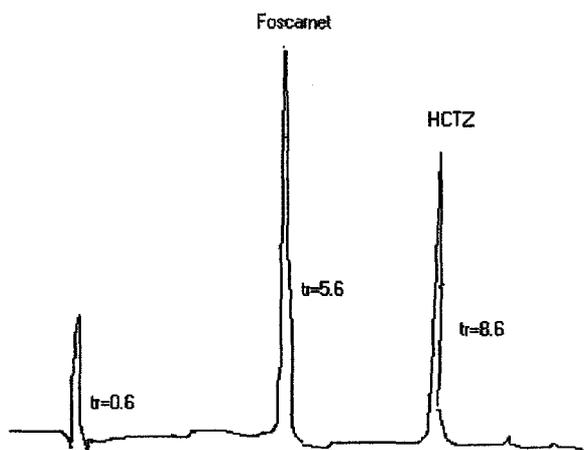


Figura 60. Cromatograma del F y HCTZ (SI).

Los parámetros que recogen la validación del método son:

- ✓ Linealidad.

Regresión lineal. Las curvas estándar han sido obtenidas por análisis del cociente de áreas de picos de solución salina de F/HCTZ utilizando el programa SPSS vs.8.0, asumiendo un modelo lineal ($y=1.707 \cdot 10^{-3} x - 6.706 \cdot 10^{-4}$). Se han calculado igualmente los coeficientes de correlación ($r=0.999$) y de determinación ($r^2=0.999$).

Test de linealidad. Se ha calculado el coeficiente de variación de los factores relativos de respuesta como $[AF]/[ASI]$. Este valor se ha estimado a partir de estos cocientes con un valor de 4.93% (0.351-0.017) inferior al 5% máximo admisible, por lo que se considera aceptable.

Varianza de la pendiente. Se han determinado los límites de confianza de la pendiente de $1.723 \cdot 10^{-3}$ a $1.690 \cdot 10^{-3}$, con un valor de t_{exp} de 214.29, ($t_{\text{exp}} > t_{\text{tab.}}$) por lo que la probabilidad de que la pendiente sea distinta de cero es muy elevada. Respecto al análisis de la varianza de la regresión, se ha obtenido un valor de $F=45919.46$ y una probabilidad de 0.0000. El valor de la sensibilidad de calibrado coincidente con el valor de la pendiente es de $1.707 \cdot 10^{-3}$.

Proporcionalidad. Para la estimación del valor de la ordenada en el origen, indicativo del error sistemático del método, se han calculado los límites de confianza de ésta ($9.90 \cdot 10^{-3}$ a $-8.56 \cdot 10^{-3}$), entre los cuales se encuentra comprendido el cero, por lo que se considera que se cumple el test de proporcionalidad. El valor de la varianza se estima en $2.03 \cdot 10^{-5}$ y la SD en $4.51 \cdot 10^{-3}$. La t_{exp} es de 0.149, inferior al tabulado para una $p=0.05$ n-2 grados de libertad, por lo que la probabilidad de que la ordenada en el origen sea igual a cero es muy elevada ($p=0.8827$).

- ✓ Precisión. Se han calculado los valores del coeficiente de variación para las concentraciones de 1200, 600, 300, 150, 75 y 37.5 $\mu\text{g/mL}$, obteniéndose valores que oscilan entre (0.47-3.06) %, inferiores al 5% máximo de aceptabilidad.
- ✓ Repetitividad. Se ha evaluado para las concentraciones de 1200, 600, 300, 150, 75 y 37.5 $\mu\text{g/mL}$, obteniéndose unos valores para el coeficiente de variación de 0.71, 0.56, 0.63, 1.97, 0.47 y 0.57 %, todos inferiores al 5%.

- ✓ Reproducibilidad. Se ha llevado a cabo con las mismas concentraciones anteriores y los coeficientes de variación obtenidos han sido 1.0, 0.99, 1.52, 2.73, 0.75 y 3.06, todos inferiores al 5% de aceptabilidad.
- ✓ Exactitud. Se han determinado los valores de recuperación media para comprobar la exactitud del método. A tal fin se comprobó si estos valores eran estadísticamente diferentes de 100. Los resultados obtenidos tanto en las concentraciones bajas, medias y altas, demuestran que no hay diferencias significativa con el 100% de la recuperación de foscarnet. Los valores del porcentaje de recuperación son:
 - Concentraciones bajas: 101.24 %.
 - Concentraciones medias: 99.87 %.
 - Concentraciones altas: 103.03 %.
- ✓ Sensibilidad. Se refiere la sensibilidad del método a los límites de confianza y de detección.

Límite de detección. Viene dado por la ecuación:

$$\text{Area} = 0.001707 [F] - 0.000671$$

Donde, la $t_{exp}=214.29$, con 28 grados de libertad y una p de 0.0000 (<0.00001), siendo la pendiente de la recta significativamente distinta de cero. El límite de detección obtenido se estimó en 50 µg/mL.

Límites de confianza. Para la recta anteriormente descrita los límites de confianza fueron (0.00172-0.00169).

6. ESTUDIO "IN VITRO" DE LIBERACIÓN-DIFUSIÓN DE FOSCARNET.

Los preparados de administración tópica presentan una serie de ventajas en el tratamiento de las infecciones herpéticas mucocutáneas con respecto a las formas de dosificación con acción sistémica. Entre ellas cabe citar, la liberación del fármaco en el lugar específico de la infección, mayor concentración de fármaco a nivel de los tejidos afectados, así como mejor tolerancia y menor coste de los tratamientos [Spruance & Freeman, 1990]. Sin embargo, la eficacia de las formulaciones tópicas se encuentra frecuentemente limitada por la disponibilidad de agentes antivirales con capacidad para penetrar en la piel.

De forma general, en la piel se divide en dos zonas denominadas epidermis y dermis, siendo el estrato córneo la capa más externa de la epidermis que a su vez actúa como barrera limitante de la penetración de las sustancias en la piel. Esta capa de naturaleza hidrófoba, está constituida por células denominadas corneocitos que se encuentran incluidas en una doble matriz lipídica compuesta de esteroides libres, ácidos grasos saturados, triglicéridos y ceramidas [Lampe et al., 1983]. Por tinción con inmunoperoxidasa del antígeno viral, se ha descrito que la epidermis es el sitio de localización del VHS-1 [Piret et al., 1999].

Se ha relacionado el parámetro, $\log P$, (siendo P el coeficiente de reparto octanol/agua) con la capacidad de un fármaco para difundir a través del estrato córneo hasta la epidermis. Se considera que un valor de $\log P > 2$, limita el paso del fármaco a través del estrato córneo [Kubota & Maibach, 1994]. A pesar de que foscarnet posee un valor de $\log P = -0.36$ [Lucero et al., 1999], varios estudios han

demostrado su utilidad por vía tópica en el tratamiento de las infecciones mucocutáneas por VHS-1 [Chatis et al., 1989; Verdonck et al., 1993; Piret et al., 1999; 2000 a, b; 2001] y VHS-2 [Walin et al., 1985; Burton et al., 1986; Sacks et al., 1987; Safrin et al., 1990].

El VHS-1 produce una infección latente a nivel de ganglios sensitivos, que puede ser recurrente tras reactivación por estímulos inespecíficos tales como: estrés emocional o físico, fiebre, exposición a la luz UV, daños tisulares y supresión de la inmunidad [Whitley, 1990]. El herpes labial recurrente tiene una prevalencia aproximada del 50-70% en la población estadounidense y es la manifestación clínica más común de este virus. El herpes genital representa la manifestación clínica más común del VHS-2 y la prevalencia de infecciones recurrentes es del 23%. En ambos casos, el cuadro mucocutáneo consiste en un eritema que evoluciona con la aparición de una pápula y lesión vesicular (Figura 61) [Spruance & Freeman, 1990]. Las concentraciones de foscarnet medidas en epidermis y dermis fueron mayores en tejidos infectados respecto a los sanos. Este hecho sugiere que la pérdida de integridad del estrato córneo de la piel es lo que determina el acceso del mismo a su lugar de acción [Piret et al., 2000].

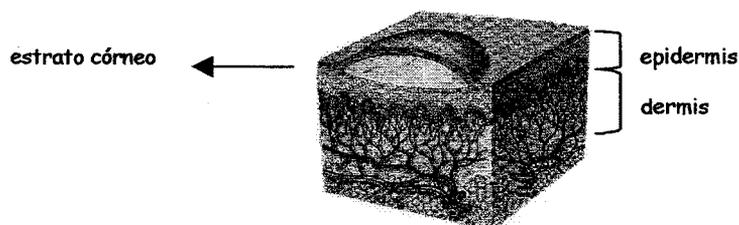


Figura 61. Estructura general de la piel en una vesícula.

La eficacia y la disminución de toxicidad (irritación local y ulceraciones) de foscarnet por vía tópica se ha asociado con la formulación del fármaco en sistemas poliméricos gelificados [Piret et al., 1999; 2000 a, b; 2001]. En este sentido, la capacidad de los sistemas gelificados para modular la liberación de fármacos de diferentes propiedades fisicoquímicas, así como para incrementar el tiempo de residencia de la formulación en el lugar de aplicación, les dota de gran interés en el diseño de sistemas de dosificación tópica [Jones et al., 1997; 1999]. La estructura y la morfología de la red polimérica afecta de manera significativa a la capacidad del fármaco para difundir a través de estos sistemas. Su liberación desde sistemas poliméricos hidrófilos, tales como la HPMC, es rápida [Alderman, 1984; Dahl et al, 1990; Doelker, 1990; Malamataris & Karidas, 1994]. Para llegar a obtener unos perfiles de liberación más prolongados se necesita limitar el hinchamiento del polímero, disminuir la superficie de difusión o restringir la movilidad de las cadenas macromoleculares [Dittgen et al, 1997]. Esto se puede conseguir alcanzando una cierta ordenación macromolecular en los sistemas poliméricos empleados por reticulación física o por reticulación química entre las cadenas poliméricas. Otra forma de controlar la liberación puede ser por sustitución de cierta cantidad del constituyente hidrófilo del polímero por unidades de naturaleza más hidrófoba [Pascual et al., 1999].

Con el fin de conseguir un control de la liberación del F se ha procedido a incorporar en la formulación polímeros acrílicos de Eudragit®, de naturaleza más hidrófoba, y estudiar la influencia de éstos sobre los perfiles de liberación del fármaco.

La dosis inicial de F se seleccionó de acuerdo con su uso en clínica. Un agente antiviral ideal debería ser efectivo contra un determinado virus a concentraciones que no interfieran con los procesos celulares del huésped. Por ello, la fase de preformulación de un sistema de dosificación, en el que se incluya un fármaco antiviral, constituye un punto crucial. Por tanto, la dosis inicial de F incluida en la formulación, así como la cantidad liberada del mismo, deben ser seleccionadas de forma que permitan inhibir la DNA-polimerasa viral, respetando la actividad celular en el huésped. En este sentido, la actividad "in vitro" del F frente a las DNA-polimerasas de los herpesvirus (Tabla 13), estimada como concentración para inhibir el 50% de dicho sistema enzimático (IC₅₀), puede ser utilizada como orientación válida en el establecimiento de la dosis inicial en las formas de dosificación ensayadas [Öberg, 1989].

Virus	IC ₅₀ (µg/L)	IC ₅₀ (µM)
Citomegalovirus	90	0.3
Herpes simplex tipo-1	120-1050	0.4-3.5
Herpes simplex tipo-2	180-6602	0.6-22.0
Varicella-zoster	120	0.4
Epstein-Barr	150-900	0.5-3.0

Tabla 13. Valores de IC₅₀ del foscarnet para los distintos Herpesvirus.

Respecto a la dosis máxima capaz de inhibir a la DNA-polimerasa humana se han considerado los datos de Piret et al. (2000). Estos autores describen que la concentración citotóxica de F (CC₅₀) para cultivos de fibroblastos de piel humana es de 28 mM. La dosis inicial de F incorporada en los distintos sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® ha sido de 700 mg/L (2.33 mM) claramente inferior a la concentración de 28 mM y muy superior

en cualquier caso a los valores de IC_{50} de las DNA-polimerasas de los virus herpéticos indicados.

En el momento presente no existe un método oficial que permita evaluar "in vitro" la liberación de fármacos desde sistemas semisólidos de liberación tópica. En la literatura consultada, son muchas las referencias que en su metodología incluyen células de difusión y membranas de distinta naturaleza [Touitou & Abed, 1983; Babar et al., 1990; Kundu et al., 1993; Kubota & Maibach, 1994; Aspe et al., 1995; Knorst et al., 1997; Wellin-Berger et al., 2001]. El principal inconveniente de estos métodos radica en la variabilidad de los resultados experimentales entre células de difusión para un mismo sistema, lo que obliga a utilizar un análisis estadístico de los mismos.

En el tratamiento de los datos experimentales se utilizó el factor de similitud, f_2 , como análisis de comparación estadística de los perfiles de liberación "in vitro". Este factor es recomendado por la FDA como guía de la industria para la comparación de perfiles de disolución [Shah et al., 1998]. La utilidad de f_2 se centra en la comparación estadística de los perfiles de liberación de dos células que se han realizado bajo las mismas condiciones experimentales. Se considera que: μ_{r_1} , μ_{r_2} , μ_{r_3} ,....., μ_{r_p} son las medidas de cantidad liberada para los valores de los P tiempos experimentales utilizados μ_{t_1} , μ_{t_2} , μ_{t_3} ,....., μ_{t_p} . Las diferencias entre los dos perfiles para ese determinado tiempo, P, ($|\mu_{r_1} - \mu_{t_1}|$, $|\mu_{r_p} - \mu_{t_p}|$), permiten definir el valor de D_2 como:

$$D_2 = [(|\mu_{r_1} - \mu_{t_1}|)^2 + (|\mu_{r_2} - \mu_{t_2}|)^2 + \dots + (|\mu_{r_p} - \mu_{t_p}|)^2]^{1/2}$$

Finalmente se define f_2 como:

$$f_2 = 50 \log \{ [1 + (1/p) D_2^2]^{-1/2} \} 100$$

Desde un punto de vista teórico, f_2 es una medida de la similitud en el porcentaje de liberación existente entre dos curvas. De tal forma que, cuando los dos perfiles son idénticos el valor de $f_2 = 100$, mientras que si es totalmente diferente el valor de f_2 tendería a cero. Por tanto, los valores de f_2 oscilan entre 0-100, indicando que valores más altos de este factor representan mayor similitud entre los perfiles comparados. Empíricamente, una variación no superior al 10% entre células de difusión para todos los tiempos experimentales es aceptable [Shah et al., 1998]. Si esta condición se aplica, la ecuación anterior determina que $f_{2,10} = 49.89$. Este valor se suele aproximar a 50 para mayor simplicidad, de tal forma que para un test de perfiles de liberación se considera que son similares si el valor de f_2 es superior a 50. En todos los casos los valores de f_2 para los distintos sistemas dispersos ensayados fueron superiores a 50 (Tabla 14).

Sistema	Célula 1	Célula 2	Célula 3	Célula 4	Célula 5
RL125	68	75	79	89	77
RL150	71	59	60	70	76
RL175	85	79	59	56	84
NE125	73	73	61	53	78
NE150	86	54	84	59	77
NE175	91	83	65	62	64
RS125	59	79	78	75	74
RS150	76	66	91	87	56
RS175	67	55	63	76	59

Tabla 14. Valores de f_2 para los perfiles de liberación en los sistemas dispersos ensayados.

Se procedió a representar la cantidad acumulada de F liberado (Q_F) desde los distintos sistemas dispersos frente al tiempo (t) (Figuras 62 a 64).

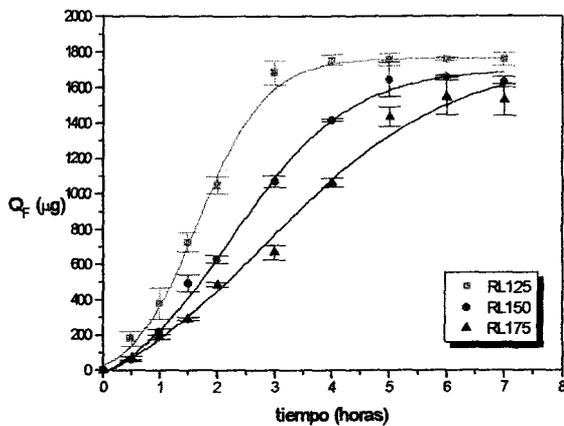


Figura 62. Perfiles de liberación de F desde los sistemas dispersos de HPMC/RL30D indicados.

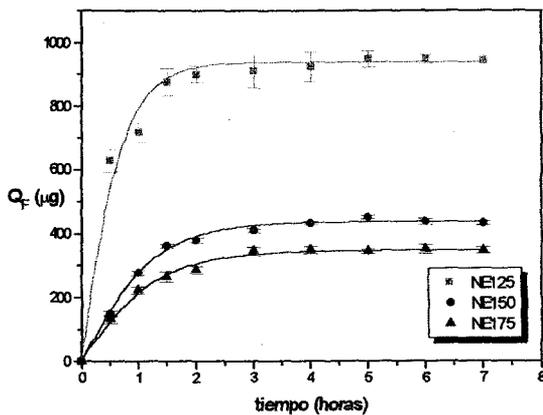


Figura 63. Perfiles de liberación de F desde los sistemas dispersos de HPMC/NE30D indicados.

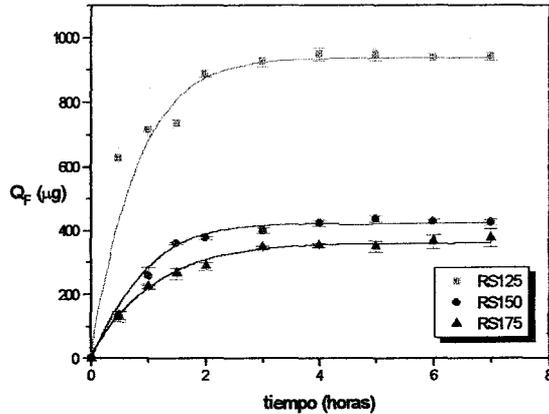


Figura 64. Perfiles de liberación de F desde los sistemas dispersos de HPMC/RS30D indicados.

Se han calculado las concentraciones máximas liberadas de F (F_{lib}) en cada uno de los sistemas dispersos ensayados (Tabla 15).

Sistema	F_{lib} (mmol/L)
RL125	1.73
RL150	1.64
RL175	1.58
NE125	0.92
NE150	0.43
NE175	0.34
RS125	0.91
RS150	0.41
RS175	0.35

Tabla 15. F_{lib} para los sistemas dispersos indicados.

Se puede observar como en todos los casos los valores de F_{lib} han sido superiores a las IC_{50} de los distintos herpesvirus (Tabla 14). Así mismo, en ningún caso se alcanzaron niveles superiores a los 28mM, concentración que inhibe la síntesis de DNA en fibroblastos de piel humana.

6.1. Cinéticas de liberación.

Los resultados experimentales obtenidos se ajustaron por métodos matemáticos con el fin de determinar el orden de liberación en cada sistema disperso. Para obtener el mejor ajuste a los distintos modelos se han utilizado las cantidades de F medidas en el compartimento receptor antes de alcanzar la velocidad constante de liberación [Babar et al., 1990]. Los parámetros estadísticos de la regresión lineal utilizados para seleccionar el mejor ajuste han sido: r^2 , F y Prob [Costa & Sousa, 2001].

Sistema	Orden 0			Orden 0.5			Orden 1		
	r^2	F	Prob	r^2	F	Prob	r^2	F	Prob
RL125	0.980	144.035	0.001	0.830	14.596	0.032	0.979	91.669	0.011
RL150	0.990	510.958	0.000	0.849	28.083	0.003	0.829	18.894	0.012
RL175	0.983	293.691	0.000	0.834	25.133	0.004	0.890	32.403	0.005
NE125	0.780	10.621	0.047	0.959	69.893	0.004	0.935	28.579	0.033
NE150	0.752	15.147	0.012	0.938	75.984	0.000	0.639	7.085	0.056
NE175	0.868	26.203	0.007	0.990	405.625	0.000	0.818	13.527	0.035
RS125	0.751	9.066	0.057	0.938	45.662	0.007	0.934	28.080	0.034
RS150	0.755	15.368	0.011	0.929	65.520	0.000	0.616	6.403	0.065
RS175	0.874	27.750	0.006	0.992	470.391	0.000	0.831	14.781	0.031

Tabla 16. Parámetros estadísticos de ajuste a los distintos modelos cinéticos para los sistemas dispersos indicados.

Los sistemas dispersos de HPMC/RL30D, con un comportamiento reológico próximo al de los fluidos newtonianos y mayores fracciones de agua tipo I, muestran

cinéticas de liberación de orden cero [Ec. 13], con independencia de la concentración de polímero celulósico presente en la formulación. Por tanto, la cantidad de F liberada en la unidad de tiempo es constante e independiente de la cantidad remanente de F en el compartimento donador. Por el contrario, los sistemas de HPMC/RS30D y HPMC/NE30D, fluidos estructurales de carácter viscoelástico y menor contenido en agua libre, muestran un mejor ajuste a una cinética de difusión de Higuchi [Ec. 14] y se liberación es función de la raíz cuadrada del tiempo.

Se han calculado los D, P' y Kp de los distintos sistemas dispersos de HPMC/Eudragit® a partir de las ecuaciones 14 a 17 (Tabla 17).

Sistema	D (cm ² /h)	P' (cm/h)	Kp
RL125	1.09 10 ⁻²	2.90 10 ⁻²	1.168
RL150	7.75 10 ⁻³	1.89 10 ⁻²	0.851
RL175	5.46 10 ⁻³	1.33 10 ⁻²	0.704
NE125	1.61 10 ⁻⁴	1.26 10 ⁻²	0.613
NE150	2.94 10 ⁻⁵	1.23 10 ⁻²	0.934
NE175	2.29 10 ⁻⁵	1.13 10 ⁻²	0.993
RS125	1.39 10 ⁻⁴	1.25 10 ⁻²	0.594
RS150	2.88 10 ⁻⁵	1.22 10 ⁻²	0.941
RS175	2.24 10 ⁻⁵	1.12 10 ⁻²	0.990

Tabla 17. Parámetros difusivos de F desde los sistemas dispersos de HPMC y Eudragit® indicados.

Entre los factores que influyen en los valores de D, se han citado: las características inherentes al fármaco, como Kp y el peso molecular, así como factores inherentes al medio de difusión y la presencia de interacciones fármaco-polímero [Caramella et al., 1989]. La caracterización reológica del vehículo en el que se incluye el

fármaco constituye una aproximación a la influencia de dicho medio en el proceso difusivo [Talukdar et al., 1996].

La eficacia del F por vía tópica, es un proceso complejo en el que no sólo va a influir los valores de D y P' . La liberación de F desde los sistemas de HPMC/NE30D y HPMC/RS30D muestran valores de D y P' muy similares para la misma concentración de polímero celulósico, pero inferiores a los de los sistemas de HPMC/RL30D, consecuencia del modelo cinético al que se ajusta cada uno de los sistemas.

Como quiera que la concentración de fármaco incluida en cada sistema disperso ha sido la misma junto a las condiciones experimentales de los ensayos de difusión, los distintos parámetros, D , P' y F_{lib} se encuentran modulados por la naturaleza y tipo de Eudragit® utilizado, así como por la concentración de HPMC incluida en la formulación. Este comportamiento diferente se explica desde la base de las características estructurales de los sistemas dispersos que actúan como medio difusivo y de la diferencia de porcentaje de las fracciones de agua libre en los sistemas. Por ello, la eficacia de F se encuentra influenciada por las propiedades reológicas de la formulación. El mayor carácter viscoso de los sistemas permite incrementar la penetración y, por tanto, la eficacia del F en lesiones mucocutáneas por VHS-1 [Piret et al., 2000; 2001]. Los sistemas de HPMC/RL30D que son fluidos "ideales", exclusivamente viscosos, liberan mayor cantidad de F hasta alcanzar una velocidad constante de liberación aproximadamente entre las 4-7 h, en función de la concentración de HPMC presente en la formulación. Además, las características mecánicas de los sistemas de HPMC/RL30D, con un comportamiento próximo al de los

fluidos newtonianos y mayor extensibilidad permitirían una adecuada aplicación por parte del paciente.

Por el contrario, los sistemas HPMC/RS30D y HPMC/NE30D, de naturaleza viscoelástica, alcanzan la velocidad constante de liberación en torno a las 2 horas, siendo su F_{lib} menor. En cualquiera de los sistemas dispersos que se ajustan a una cinética de Higuchi no se aprecia influencia de la concentración de HPMC.

Los sistemas con grupos amonio cuaternario (sistemas HPMC/RL30D y sistemas HPMC/RS30D) presentan menor cohesividad/adhesividad aunque mayor sustantividad con la piel, permitiendo incrementar el tiempo de residencia del F en el lugar de acción y, por tanto, aumentar su eficacia [Jones et al., 1997].

La eficacia de un fármaco por vía tópica se ha relacionado igualmente con el carácter iónico del F. La localización intracelular del VHS-1 implica que cuanto menor sea la disociación del F en la formulación mayor será la penetración [Duserre et al, 1995]. En los sistemas de HPMC/RL30D y HPMC/RS30D, con valores de pH muy similar al de la piel (pH=5.5 unidades), el F se encuentra con menor grado de disociación que en los sistemas de HPMC/NE30D (en torno a pH=8.0) en los que se favorecería la disociación del F.

6.2. Relación con otros parámetros en los sistemas dispersos.

El comportamiento reológico de los sistemas dispersos ensayados se caracteriza por presentar curvas de viscosidad compleja en las que, para valores bajos de frecuencia, es posible definir una zona de valores constantes de viscosidad. El valor que tomaría esta función viscoelástica cuando la frecuencia fuese nula

corresponde a η_0^* . Tras el ajuste de las distintas curvas de viscosidad compleja y el cálculo de los valores de η_0^* (o en su caso η'), se procedió a representar el $\ln \eta_0^*$ frente a la cantidad acumulada de F liberada, una vez alcanzada la velocidad constante de liberación (F_{lib}). La regresión lineal de ambos parámetros se representa en la Figura 64.

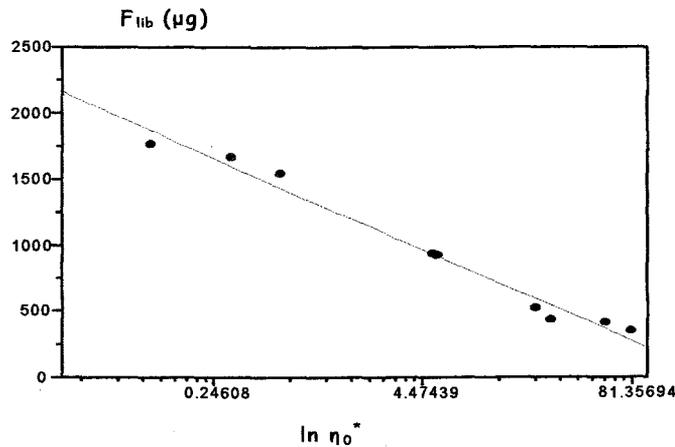


Figura 65. Regresión lineal de η_0^* de los distintos sistemas de HPMC/Eudragit® y la cantidad de F liberado (F_{lib}).

Los sistemas poliméricos de HPMC/Eudragit®, en las condiciones del ensayo, presentan unos perfiles de liberación que pueden ser evaluados de acuerdo con su comportamiento en cizalla oscilatoria. Existe una relación lineal entre $\ln \eta_0^*$ y F_{lib} , $F_{lib}=1877.39 - 238.10 \ln \eta_0^*$, siendo los estadísticos de significación: $r^2 =0.9997$; $F=456.98$ y $p=0.0001$. Por tanto, a partir de los ensayos en cizalla oscilatoria en condiciones de viscoelasticidad lineal permiten determinar para este tipo de sistemas la cantidad acumulativa de foscarnet una vez alcanzada la velocidad constante de

liberación. A partir de estos datos es posible establecer un diseño racional en función de las características reológicas de los sistemas dispersos ya que "a priori" se podrían establecer los niveles de foscarnet de acuerdo con unas necesidades clínicas previamente establecidas.

Se procedió a representar los valores de $\log D$ de los distintos sistemas dispersos obtenidos frente a las fracciones de agua libre (expresadas como g agua libre/g de polímero) obtenidos por medidas de DSC a partir del método de Khare & Peppas (1993) (Figura 65).

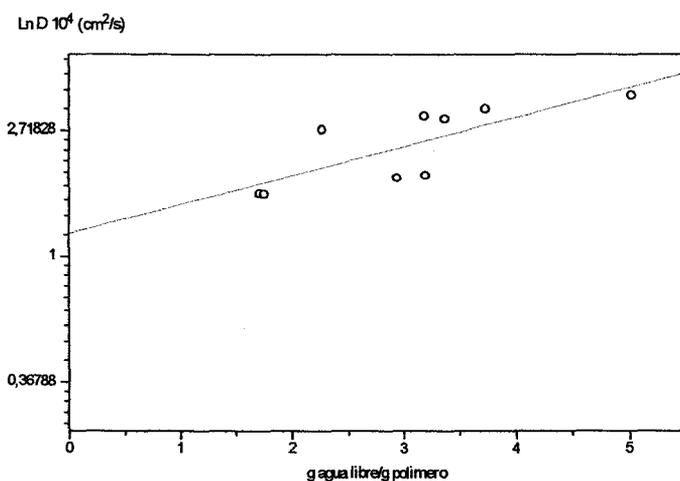


Figura 66. Regresión lineal de $\ln D$ de F y las fracciones de agua libre para los sistemas de HPMC/Eudragit®.

CONCLUSIONES

1. El comportamiento reológico de los sistemas dispersos elaborados con HPMC se encuentra modulado por el tipo de polímero acrílico incorporado. Así, los sistemas dispersos HPMC/RL30D muestran un comportamiento exclusivamente viscoso, similar al de los fluidos newtonianos, mientras que los sistemas dispersos de HPMC/NE30D y HPMC/RS30D muestran un comportamiento reológico no newtoniano y de naturaleza viscoelástica.
2. El incremento de la concentración de HPMC se traduce en una mayor respuesta viscosa o viscoelástica en función del tipo de polímero acrílico presente en la formulación.
3. La inclusión de foscarnet en los sistemas dispersos ensayados no modifica su comportamiento reológico.
4. La asociación de HPMC y Eudragit® RL30D determina sistemas dispersos con escasa reticulación física y enlaces de naturaleza débil, como consecuencia de las cargas positivas presentes en el polímero acrílico. Las propiedades reológicas de estos sistemas son compatibles con los de una solución polimérica coloidal de baja viscosidad, cohesividad y adhesividad.
5. La asociación de HPMC y Eudragit® RS30D determina sistemas dispersos con elevada reticulación física aunque con enlaces de naturaleza débil, como consecuencia de las cargas positivas presentes en el polímero acrílico. La máxima reticulación física se observa en el sistema RS175 que muestra un comportamiento, desde un punto de vista reológico, de gel verdadero.

6. La asociación de HPMC con Eudragit® NE30D determina sistemas dispersos con reticulación física media y enlaces de naturaleza moderada, que se corresponden, desde el punto de vista reológico, con soluciones poliméricas coloidales de alta viscosidad, cohesividad y adhesividad.
7. Las imágenes obtenidas por Microscopia Electrónica de Barrido ponen de manifiesto que las estructuras de los distintos sistemas dispersos vienen determinadas principalmente por la HPMC. Los distintos tipos de polímeros acrílicos se disponen sobre la base de los filamentos del polímero celulósico modificando sus estructuras.
8. La cinética de liberación-difusión de foscarnet desde los sistemas dispersos elaborados está relacionada con su comportamiento reológico. Así, los sistemas newtonianos liberan el fármaco siguiendo una cinética de orden cero, es decir, la cantidad de fármaco liberada por unidad de tiempo es constante. Por otro lado, los sistemas dispersos de HPMC/NE30D y HPMC/RS30D liberan el foscarnet siguiendo una cinética de Higuchi, es decir, la cantidad liberada es función de la raíz cuadrada del tiempo.
9. Las cantidades de foscarnet, una vez alcanzada la velocidad constante de liberación, se relacionan linealmente con el logaritmo neperiano de las viscosidades complejas a tiempo cero de los sistemas dispersos ensayados.
10. Las fracciones de agua libre de los sistemas dispersos ensayados están relacionadas linealmente con el logaritmo neperiano de los coeficientes de difusión del fármaco, lo que sugiere que es a partir de la fracción de agua tipo I desde donde se produce el proceso de difusión de foscarnet.

BIBLIOGRAFÍA

Andrei G, Snoeck R, De Clercq E. Susceptibilities of several drug-resistant herpes simplex virus type 1 strains to alternative antiviral compounds. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 39: 1632-1635 (1995).

Anónimo. Foscarnet. *P.A.M.*, 18: 605-612 (1994).

Aoki S, Ando H, Ishii M, Watanabe S y Ozawa H. Water behavior during drug release from matrix as observed using differential scanning calorimetry. *J. Control. Release.*, 33: 365-374 (1995).

Arrizabalaga J, Iribarrren JA, Rodríguez F y Garde C. Enfermedad por Citomegalovirus y SIDA. *Microbiol. Clin.*, 12: 297-311 (1994).

Aschan J, Ringden O, Ljungman P, Lonqvist B y Ohlman S. Foscarnet for treatment of cytomegalovirus infections in bone marrow transplant recipients. *Scand. J. Infect. Dis.*, 24: 143-150 (1992).

Aweeka F, Gambertoglio J, Mills J y Jacobson MA. Pharmacokinetics of intermittently administered intravenous foscarnet in the treatment of Acquired Immunodeficiency syndrome patients with serious Cytomegalovirus retinitis. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 33: 742-745 (1989).

Baidya S, Bedi S y Gupta BK. Preparation and biopharmaceutical evaluation of nitrofurantoin loaded EudragitRS100 and Eudragit RL 100 micropellets. *Boll. Chim. Farm.*, 138: 211-216 (1999).

- Bajardi M, Pitarresi G, Roccaro A, Giammona G y Palazzo S.** *In vitro* release of ketoprofen and ibuprofen from viscoelastic gels. *Boll. Chim. Farm.*, 134: 312-315 (1995).
- Balfour HH, Benson C, Braun J, Cassens B, Erice A y Friedman A.** Management of acyclovir resistant herpes simplex and varicella zoster virus infections. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, 7: 254-260 (1994).
- Banker GS y Chalmers RK.** *Pharmaceutics and Pharmacy Practice.* Lippincott JB, Philadelphia, (1981).
- Bansal R, Tutrone WD, Weinberg JM.** Viral skin infections in the elderly: diagnosis and management. *Drugs Aging.*, 19: 503-514 (2002).
- Barnes HA, Hutton JF y Walkers K.** *An Introduction to Rheology.* Elsevier: New York, (1989).
- Barreiro-Iglesias R, Alvarez-Lorenzo C y Concheiro A.** Incorporation of small quantities of surfactants as a way to improve the rheological and diffusional behavior of carbopol gels. *J. Control. Release.*, 77:59-75 (2001).
- Beaufils H, Deray G, Katlama C, Dohin E, Henin D y Sanzovitch V.** Fosfocarnet and cristal in glomerular capillary lumens. *Lancet*, 336:775 (1990).
- Bell CL & Peppas NA.** Modulation of drug permeation through interpolymer complexed hydrogels for drug delivery applications. *J. Controlled Release.*, 39: 201-207 (1996).

Bernstein DI, Schlepner CJ, Evans TG, Blumberg DA, Bryson Y, Grafford K, Broberg P, Martin-Munley S y Spruance SL. Effect of foscarnet cream on experimental UV radiation-induced herpes labialis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 41: 1961-1964 (1997).

Berthe P, Baudouin C, Garraffo R, Hofmann P, Taburet AM y Lapalus P. Toxicologic and pharmacokinetics analysis of intravitreal injections of foscarnet, either alone or in combination with ganciclovir. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 35: 1038-1045 (1994).

Bettini R, Bonassi L, Castoro V, Rossi A, Zema L, Gazzaniga A y Giordano F. Solubility and conversion of carbamazepine polymorphs in supercritical carbon dioxide. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 13: 281-286 (2001).

Bland DR. The Theory of Linear Viscoelasticity. Pergamon Press: New York, (1960).

Bond L, Allen S, Davies M, Roberts C, Shivji A, Tendler S, Williams P y Zhang J. Differential scanning calorimetry and scanning thermal microscopy analysis of pharmaceutical materials. *Int. J. Pharm.*, 243: 71 (2002).

Bonferoni MC, Rossi S, Ferrari F, Bertoni M, Sinistri R y Caramella C. Characterization of Three Hydroxypropylmethylcellulose Substitution Types: Rheological Properties and Dissolution Behaviour. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 41: 242-246: (1995).

Bother-Wik H & Wik O. Rheology of pharmaceutical. En Sandell E (Ed). Industrial aspects of pharmaceuticals. Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm (1993).

Bouwstra Ja, Salomons-deVries MA y van Miltenburg JC. The thermal behavior of water in hydrogels. *Thermochim. Acta.*, 248: 319-327. (1995).

Bordi D, Bouton J, Coolen A, Laurençon-Courteille F, Michaud P y Rodriguez F. Le point sur les mesures rhéologiques en pharmacy. *STP. Pharma. Practiques.*, 4: 461-476 (1994).

Brand G, Schiavano GF, Balestra E, Tavazzi B, Perno CF y Magnani M. The potency of acyclovir can be markedly different in different cell types. *Life Sci.* 69: 1285-1290 (2001).

Brookfield. Why measure viscosity?. Documentación científica. Brookfield Engineering Laboratories USA. (2000)

Bundgaard H & Mork N. Kinetics of the decarboxylation of foscarnet in acidic aqueous solution and its implication in its oral absorption. *Int. J. Pharm.*, 63: 213-218 (1990).

Burnand B, Keman WN y Feinstein AR. Indexes and boundaries for "quantitative significance" in statistical decisions. *J. Clin. Epidemiol.*, 43: 1273-1284. (1990).

Cacoub P, Deray G, Baumelou A, Le Hoang P, Rotenbaum W y Gentilini M. Acute renal failure induced by foscarnet: 4 cases. *Clin. Nephrol.*, 2a:315-318 (1988).

Cadee JA, de Groot CJ, Jiskoot W, den Otter W y Hennink WE. Release of recombinant human interleukin-2 from dextran-based hydrogels. *J. Control. Release.*, 78: 1-13 (2002).

Campanella OH & Peleg M. Determination of the yield stress of semi-liquid Foods from Squeezing Flow Data. *J. Food Sci.* 52: 214-217 (1987).

Caramella C, Ferrari F, Bonferoni MC, Ronchi M y Colombo P. Rheological properties and diffusion dissolution behaviour of hydrophilic polymers. *Boll. Chim. Farm.*, 128: 298-302 (1989).

Carlfors J, Edsman K, Petersson R y Jörving K. Rheological evaluation of Gelrite® in situ gels for ophtalmic use. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 6: 113-119 (1998).

Ceulemans J & Ludwig A. Optimisation of carbomer viscous eye drops: an in vitro experimental design approach using rheological techniques. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 54: 41-50 (2002).

Chang RK & Hsiao CH. Eudragit® RL/RS pseudolatices: properties and performance in pharmaceutical coatings as a controlled-release membrane for theophylline pellets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 15: 187-196 (1989).

Chang RK, Price JC y Hsiao CH. Preparation and preliminary evaluation of Eudragit® RL/RS pseudolatices for controlled drug release. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 15: 361-372. (1989).

Chang JY, Oh YK, Choi H, Kim YB y Kim CK. Rheological evaluation of thermosensitive and mucoadhesive vaginal gels in physiological conditions. *Int. J. Pharm.*, 241:155-163 (2002).

Chatlapalli R & Rohera BD. Study of effect of excipient source variation on rheological behavior of diltiazem HCl-HPMC wet masses using a mixer torque rheometer. *Int J Pharm.*, 238:139-151 (2002).

Chellat F, Tabrizian M, Dumitriu S, Chornet E, Magny p, Rivard CH y Yahia L. In vitro an in vivo biocompatibility of chitosan-xanthan polyionic complex. *J. Biomed. Mater. Res.*, 51, 107-116 (2000).

Chevalier JL. Caractérisation d' un comportement rhéologique. *STP Pharma. Practiques.*, 4: 477-482 (1994).

Chrisp P & Clissold SP. Foscarnet. A review of its antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use in immunocompromised patients with cytomegalovirus retinitis. *Drugs*, 41:104-129 (1991).

Cilurzo F, Minghetti P, Casiraghi A y Montanari L. Characterization of nifedipine solid dispersions. *Int. J. Pharm.*, 242:313 (2002).

Colombo I, Grassi M, Lapsin R y Pricl S. Determination of the drug diffusion coefficient in swollen hydrogel polymeric matrices by means of the inverse sectioning method. *J. Controlled Release.*, 47: 305-314. (1997).

Contreras MD & Sanchez R. Application of a factorial design to the study of specific parameters of a Carbopol ETD 2020 gel. Part I. Viscoelastic parameters. *Int. J. Pharm.*, 234:139-147 (2002).

Crumpacker CS. Mechanism of action of foscarnet against viral polymerases. *Am. J. Med.*, 92:53-57 (1992).

Dahl TC, Calderwood T, Bormeth A, Trimble K y Piepmeier E. Influence of physico-chemical properties of hydroxypropylmethylcellulose on naproxen release from sustained release matrix tablets. *J. Controlled Rel.* 14: 1-10. (1990).

Darby R. Viscoelastic Fluids. Marcel Dekker. New York, (1976).

Dayal P, Kanikkannan N, Singh A y Sing M. Comparison of the transdermal absorption of nimesulide from three commercially available gel formulations. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 28:297-304 (2002).

Dealy JM. Rheometers for Molten Plastics. Van Nostrand Reinhold Company. New York, (1982).

De Clercq E, Naesens L, De Bolle L, Schols D, Zhang Y, Neyts J. Antiviral agents active against human herpesviruses HHV-6, HHV-7 and HHV-8. *Rev. Med. Virol.*, 11: 381-395 (2001).

Deem DE. Rheology of Dispersed Systems. En Lieberman HA, Rieger MM y Banker GS (Ed). *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*. Marcel Dekker, New York, vol. 1, 1988: 367-425.

Delalonde M, Betaille B, Baylac G, Maurice J y Sabatier R. Definitions of indices for the mechanical desing of wet powders: application to the study of a natural polymer, microcrystalline cellulose. *Int. J. Pharm.* 146: 159-165: (1997).

DeMartine M & Cussler EL. Predicting Subjective Spreadability, Viscosity and Stickiness. *J. Pharm. Sci.* 64: 976-982. (1975).

- Deray G, Martínez F, Katlama C, Levaltier B, Beaufiles H y Danis M. Foscarnet nephrotoxicity: Mechanism, incidence and prevention. *Am. J. Nephrol.*, 9:316-321 (1989).
- Deray G, Katlama C y Dohin E. Prevention of foscarnet nephrotoxicity. *Ann. Intern. Med.*, 113:332 (1990).
- Díaz-Llopis M, España E, Muñoz G, Navea A, Chipont E, Cano J, Menezo JL y Romero FJ. High dose intravitreal foscarnet in the treatment of cytomegalovirus retinitis in AIDS. *Br. J. Ophthalmol.*, 78:120-124 (1994).
- Di Martino P, Barthelemy C, Palmieri GF y Martelli S. Physical characterization of naproxen sodium hydrate and anhydrate forms. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 14:293-300 (2001).
- Dittgen M; Durrani M y Lehmann K. Acrylic polymers: a review of pharmaceutical applications. *STP. Pharm. Sci.*, 7: 403-437. (1997).
- Doelker E. Water swollen cellulose derivatives in pharmacy. In: Peppas, NA (Ed.), *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*. CRC Press, Florida, pp. 115-160 (1987).
- Dolz M, González F, Belda R y Herráez J. Thixotropic behavior of a Microcrystalline Cellulose-sodium Carboxymethylcellulose gel. *J. Pharm. Sci.* 77: 799-801 (1988).
- Dorsky DI & Chumpacker CS. Drugs five years later: Acyclovir. *Ann. Intern. Med.*, 107:859-874 (1987).

Douglas RG, Hirsch MS, Brunell PA, Ho M, Schooley RT y Dolin R. Herpetoviridae. En: Mandell G.L., Douglas R.G., Bennet J.E. Principles and practice of infectious diseases. John Wiley & Sons, New York, 1985, pp. 783-806.

Drew WL. Non pulmonary manifestations of Cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Clin. Microbiol. Rev.*, 5: 204-210 (1992).

Drummond MF, Richardson WF, O'Brien BJ, Levine M y Heyland D. User's guides to the medical literature, XIII: how to use an article on economic analysis of clinical practice. Are the results of the study valid?. *JAMA*, 277: 551-557. (1997).

Ebube NK, Hikal AH, Wyandt CM, Beer DC, Miller LG y Jones AB. Effect of drug, formulation and process variables on granulation and compaction characteristics of heterogeneous matrices: HPMC and PVP systems. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 22: 561-567. (1996).

El-Kattan AF, Asbill CS y Michniak BB. The effect of terpene enhancer lipophilicity on the percutaneous permeation of hydrocortisone formulated in HPMC gel systems. *Int. J. Pharm.*, 198: 179-189 (2002).

Engstrom RE & Holland G.N. Local therapy for cytomegalovirus retinopathy. *Am. J. Ophthalmol.*, 120:376-385 (1995).

Eriksson B, Oberg B y Wahren B. Pyrophosphate analogues as inhibitors of DNA polymerases of cytomegalovirus, herpes simplex virus and cellular origin. *Biochim. Biophys. Acta*, 696: 115-123 (1982).

Eudragit® Monografía. Documentación científica. Laboratorio Röhm-Pharma, Darmstadt, Alemania (2000).

Farrell S & Sirkar KK. Mathematical model of a hybrid dispersed network-membrane-based controlled release system. *J. Control. Release.*, 70: 51-61 (2001).

Farese RV, Schambelan M, Hollander H, Stringari S y Jacobson MA. Nephrogenic diabetes insipidus associated with foscarnet treatment of cytomegalovirus retinitis. *Ann. Intern. Med.*, 112:955-956 (1990).

Ferdinous AJ. Viscosity and stability studies of liquid paraffin emulsions prepared by HPMC. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 19: 1083-1088 (1993).

Ferrari F, Rossi S, Bonferoni MC y Caramella C. Rheological and mechanical properties of pharmaceutical gels. Part I: Non-medicated systems. *Boll. Chim. Farmac.*, 140: 329-336 (2001).

Ferry JD. Viscoelastic Properties of Polymers. John Wiley and sons: New York, (1980).

Fillet AM. Prophylaxis of herpesvirus infections in immunocompetent and immunocompromised older patients. *Drugs Aging.*, 19: 343-354 (2002).

Fletcher CV, Collier AC, Rhame FS, Bennett D y Balfour HH. Foscarnet for suppression of human immunodeficiency virus replication. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38:604-607 (1994).

Flory PJ. Principles of Polymer Chemistry. Cornell University Press: New York, (1986).

Flugge W. Viscoelasticity, 2nd ed.; Springer-Verlag: New York, (1975).

Ford JL & Timmins P. Information derived from thermal analytical data. In: *Pharmaceutical Thermal Analysis: Techniques and Applications*. Ellis Horwood, Chichester, England, pp 25-68 (1989).

Ford JL & Mitchell K. Thermal analysis of gels and matrix tablets containing cellulose ethers. *Thermochimica Acta.*, 248: 329-345 (1995).

Ford JL. Thermal analysis of hydroxypropylmethylcellulose: powders, gels and matrix tablets. *Int. J. Pharm.*, 179: 209-228 (1999).

Friess W & Schlapp M. Effects of processing conditions on the rheological behavior of collagen dispersions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 51: 259-265 (2001).

Fuji T & Rao MA. Rheology and structure development during gelatin of low-methoxyl pectin gels: the effects of sucrose. *Food Hydrocole.*, 15: 93-100 (2001).

Gao P & Meury RH. Swelling of HPMC matrix tablets. 1. Characterization of swelling using a novel optical imaging method. *J. Pharm. Sci.* 85: 725-731 (1996).

García S, Barranco M, Adria MA, López JM, Giner P y García-Soto L. Concepto de Reología. Aplicaciones a la industria. Definición de fluidos newtonianos y no newtonianos. *Cienc. Ind. Farm.*, 6: 264-268. (1987).

García J, Claro C, León MJ, Jiménez-Castellanos MR y Lucero MJ. Evaluación de la resistencia mecánica de sistemas poliméricos de Eudragit® e hidroxipropilmetilcelulosa mediante ensayos dinámicos en cizalla oscilatoria. Spanish-Portuguese Conference on Controlled Drug Delivery, 111, Sevilla (2002).

Gasperlin M, Kristl J y Smid-Korbar J. Viscoelastic behavior of semisolid W/O emulsion systems. *STP Pharm. Sci.*, 7: 158-163 (1997).

Gasperlin M, Tusar L, Tusar M, Smid-Korbar J, Zupan J y Kristl J. Viscosity prediction of lipophilic semisolid emulsion systems by neural network modelling. *Int. J. Pharm.*, 196:37-50 (2000).

Gearhart MO & Sorg TB. Foscarnet induced severe hypomagnesemia and other electrolyte disorders. *Ann. Pharm.*, 27:285-289 (1993).

Geelen JL & Weststrate MW. Herpesvirus DNA. En: Becker Y. Organization of the human cytomegalovirus genome. Nijhoff Medical Publishers, The Hague, 1982, pp.

Ghebre-Sellassie I, Gordon RH, Middlenton DL y Fawzi MB. A unique application and characterisation of Eudragit® NE30D film coatings in sustained-release formulations. *Int. J. Pharm.* 31: 43-54. (1986).

Ghebre-Sellassie I, Gordon RH y Fawzi MB. Evaluation of acrylic based modified-released film coatings. *Int. J. Pharm.* 37: 211-218. (1987).

Gilbert C, Bestman-Smith J y Boivin G. Resistance of herpesviruses to antiviral drugs: clinical impacts and molecular mechanisms. *Drug Resist. Updat.*, 5: 88-114 (2002).

Gilquin J, Weiss L y Kazatchkine MD. Genital and oral erosions induced by foscarnet. *Lancet*, 335:286 (1990).

Grassi M, Colombo I y Lapasin R. Drug release from an ensemble of swellable crosslinked polymer particles. *J. Control. Release.*, 68: 97-113 (2000).

Grassi M, Colombo I y Lapasin R. Experimental determination of the theophylline diffusion coefficient in swollen sodium-alginate membranes. *J. Control. Release.*, 76: 93-105 (2001).

Griffiths PD. Diagnosis of Cytomegalovirus infection. *J. Antimicrob. Chemother.*, 23: 11-16 (1989).

Guo HX, Heinamaki J y Yliruusi J. Amylopectin as a subcoating material improves the acidic resistance of enteric-coated pellets containing a freely soluble drug. *Int. J. Pharm.*, 235: 79-86 (2002).

Gupta VK, Beckert TE, Deusch NJ, Hariharan M y Price JC. Investigation of potential ionic interactions between anionic and cationic polymethacrylates of multiple coatings of novel colonic delivery system. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 28: 207-215 (2002).

Hagerstrom H, Paulsson M y Edsman K. Evaluation of mucoadhesion for two polyelectrolyte gels in simulated physiological conditions using a rheological method. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 9:301-309 (2000).

Hancock BC & Zografi G. The relationship between the glass transition temperature and the water content of amorphous pharmaceutical solids. *Pharm. Res.*, 11: 471-477 (1994).

Hammond JL, Koontz DL, Bazmi HZ, Beadle JR, Hostetler SE, Kini GD, Aldern KA, Richman DD, Hostetler KY y Mellors JW. Alkylglycerol prodrugs of phosphonoformate are potent in vitro inhibitors of nucleoside-resistant human immunodeficiency virus type 1 and select for resistance mutations that suppress zidovudine resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 1621-1628 (2001).

Handbook of Pharmaceutical Excipients. Monografía de la HPMC, 229-231, 2ªEd. (1994).

Haque A & Morris ER. Thermogelation of methylcellulose. Part I: molecular structures and processes. *Carbohydr. Polym.*, 22: 161-173 (1993).

Haque A, Richardson RK, Morris ER, Gidley MJ y Casell DC. Thermogelation of methylcellulose. Par II: effect of hydroxypropyl substituents. *Carbohydr. Polym.*, 22: 175-186. (1983).

Hardy WD. Foscarnet treatment of acyclovir-resistant herpes simplex virus infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome: preliminary results of a controlled, randomized, regimen-comparative trial. *Am J Med.*, 92: 305-355 (1992).

Hatakeyama H & Hatakeyama T. Interaction between water and hydrophilic polymers. *Thermochim. Acta.*, 308: 3-22 (1998).

Hatakeyama T & Quinn FX. Thermal analysis, fundamentals and applications to polymer science. Wiley, New York , Ch 2 (1992).

Hatakeyama H & Yamauchi A. Studies on bound water in poly (vinyl alcohol) hydrogel by DSC and FT-NMR. *Eur. Polym. J.*, 1: 61-64 (1984).

Heinemann MH. Characteristics of Cytomegalovirus retinitis in patientes with acquired immunodeficiency syndrome. *Am. J. Med.*, 92:512-516 (1992).

Helgrand E, Eriksson B, Johansson NG, Lannero B, Larsson A y Misiorny A. Trisodium Phosphonophormate, a new antiviral compound. *Science*, 201:819-821 (1978).

Helgstrand E, Flodh HLernestedt JO, Lundstrom J y Orberg B. Trisodium Phosphonoformate: Antiviral activities, safety evaluation and preliminary clinical results. En: Collier, L.H. and Oxford J. (Eds) *Developments in antiviral therapy*, Academic Press, New York, 1980, pp. 63-68.

Helledi LS & Schubert L. Release kinetics of acyclovir from a suspension of acyclovir incorporated in a cubic phase delivery system. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 27: 1073-1081 (2001).

Hengge UR, Brockmeyer NH, Malessa R, Ravens U y Goos M. Foscarnet penetrates the blood-brain Barrier: rationale for therapy of cytomegalovirus encephalitis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 37:1010-1014 (1993).

Hess G y Arnold W. Inhibition of hepatitis-B-virus DNA polymerase by phosphonoformate: studies on its mode of action. *J. Med. Virol.*, 5:309-316 (1980).

Hiestand EN. Principles, tenets and notions of tablets bonding and measurements of strength. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 44: 229-242 (1997).

Higuchi T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drug in suspension. *J. Pharm. Sci.*, 50: 874-875 (1961).

Higuchi T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci.*, 52: 1145-1149 (1963).

Hilton AK & Deasy PB. Use of HPMC acetate succinate in an enteric polymer matrix to design controlled-release tablets of amoxicillin trihydrate. *J. Pharm. Sci.*, 82: 737-742 (1993).

Hong PD & Chou CM. Effects of phase separation on structural characteristics of poly (vinylchloride) physical gels. *Macromolecules.*, 33: 9673-9681 (2000).

Hino T & Ford JL. Effect of nicotinamide on the properties of aqueous HPMC solutions. *Int. J. Pharm.*, 226: 53-60 (2001).

Hirsch MS. Herpes group virus infections in the compromised host. En: Rubin R.H., Young L.S. Clinical approach to infection in the compromised host. Plenum Press, New York, 1981, pp. 389-416.

Horisawa E, Danjo K y Haruna M. Physical properties of solid dispersion of a nonsteroidal anti-inflammatory drug (M-5011) with Eudragit E. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26: 1271-1278 (2000).

Jacobson MA, O'Donnel J, Porteous D, Brodie HR, Feigal D y Mills J. Retinal and gastrointestinal disease due to Cytomegalovirus in patients with the acquired immunodeficiency syndrome: prevalence, natural history and response to ganciclovir therapy. *Quar. J. Med.*, 254: 473-486 (1988).

Jacobson MA, Gambertoglio JG, Aweeka FT, Causey DM y Portale AA. Foscarnet-induced hypocalcemia and effects of foscarnet on calcium metabolism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 72: 1130-1135 (1991).

Jacobson MA. Review of the toxicities of foscarnet. *J. Acquir Immune Defic. Syndr.*, 340: 970-971 (1992).

Jacobson MA, Polsky B y Causey D. Pharmacodynamic relationship of pharmacokinetics parameters of maintenance doses of foscarnet and clinical outcome of cytomegalovirus retinitis. *Am. Soc. Microbiol.*, 5: 1190-1193 (1994).

Jaeschke R, Guyatt G y Sackett DL. User's guides to the medical literature, III: how to sue an article about a diagnostic test: are the results of the study valid?. *JAMA* 271: 389-391. (1994).

Jenquin MR, Liebowitz SM, Sarabia RE y McGinty J. Physical and chemical factors influencing the release of drugs from acrylic resin films. *J. Pharm. Sci.*, 79: 811-816 (1990).

Jimenez-Kairuz A, Allemandi D y Manzo RH. Mechanism of lidocaine release from carbomer-lidocaine hydrogels. *J. Pharm. Sci.*, 91: 267-72 (2002).

Johnson JC & Attanasio R. Synergistic inhibition of anadid herpesvirus replication by acyclovir and phosphonocompounds. *Intervirology*, 28: 89-99 (1987).

Jones DA, Woolfson AD, Djokic J y Coulter WA. Development and mechanical characterization of bioadhesive semi-solid, polymeric systems containing tetracycline for the treatment of periodontal diseases. *Pharm. Res.*, 13: 1734-1739 (1996).

Jones DS, Woolfson D y Brown AF. Textural, viscoelastic and mucoadhesive properties of pharmaceutical gels composed of cellulose polymers. *Int. J. Pharm.*, 151: 223-233 (1997).

Jones DS, Woolfson AD y Brown AF. Textural analysis and flow rheometry of novel, bioadhesive antimicrobial oral gels. *Pharm. Res.*, 14: 450-457 (1997).

Jones DS. Dynamic mechanical analysis of polymeric systems of pharmaceutical and biomedical significance. *Int. J. Pharm.*, 179: 167-178 (1999).

Jones DS, Brown AF y Woolfson AD. Rheological characterization of bioadhesive, antimicrobial, semisolids designed for the treatment of periodontal diseases:

transient and dynamic viscoelastic and continuous shear analysis. *J. Pharm. Sci.*, 90:1978-1990 (2001).

Joshi HN & Wilson TD. Calorimetric studies of dissolution of hydroxypropylmethylcellulose E5 (HPMC E5) in water. *J. Pharm. Sci.*, 82: 1033-1038. (1993).

Kamal S & Zaman S. Practical epidemiology and biostatistics in research. Study design and statistics. *J. Pak. Med. Assoc* 45: 107-113 (1995).

Khan MA, Dib J y Reddy I. Statistical optimization of Ketoprofen-Eudragit® S 100 coprecipitates to obtain controlled-release tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 22: 135-141 (1996).

Khare AR & Peppas NA. Investigation of hydrogel water in polyelectrolyte gels using differential scanning calorimetry. *Polymer*, 34: 4736-4739 (1993).

Kieff ED, Bachenheimer SL y Roizman B. Size, composition and structure of the DNA of subtypes 1 and 2 herpes simplex virus. *J. Virol.*, 8:125-129 (1971).

Kim MK, Zhao H, Lee CH y Kim DD. Formulation of a reservoir-type testosterone transdermal delivery system. *Int. J. Pharm.*, 219: 51-59 (2001).

Kim JH, Lee SK, Lim JL, Shin HJ y Hong CI. Preformulation studies of a novel camptothecin anticancer agent, CKD-602: physicochemical characterization and hydrolytic equilibrium kinetics. *Int. J. Pharm.*, 239: 207-211 (2002).

Kimberlin DW. Antiviral therapy for cytomegalovirus infections in pediatric patients. *Semin. Pediatr. Infect. Dis.*, 13: 22-30 (2002).

Klein RJ. Treatment of experimental latent herpes simplex virus infections with acyclovir and other antiviral compounds. *Am. J. Med.*, 73: 138-142 (1982).

Kokini JL, Kadane JB y Cussler L. Liquid Texture Perceived in the mouth. *J. Tex. Studies.*, 8: 195-218 (1977).

Kokini JL & Cussler L. Predicting the Texture of Liquid and Melting Semisolid Foods. *J. Food Sci.*; 49: 47- 51 (1984).

Kokini JL, Poole M y Mason P. Identification of key textural attributes of Fluid and Semisolid Foods using Regresion Analysis. *J. Food Sci.*, 49: 47-51. (1984).

Korhonen M, Niskanen H, Kiesvaara J y Yliruusi J. Determination of optimal combination of surfactants in creams using rheology measurements. *Int J Pharm.*, 197:143-151 (2000).

Korhonen M, Hellen L, Hirvonen J y Yliruusi J. Rheological properties of creams with four different surfactant combinations effect of storage time and conditions. *Int. J. Pharm.*, 221:187-196 (2001).

Kotiyani PN & Vavia PR. Eudragits: role as crystallization inhibitors in drug-in-adhesive transdermal systems of estradiol. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 52: 173-180 (2001).

Kumar S & Himmelstein KJ. Modification of in situ gelling behavior of carbopol solutions by hydroxypropylmethylcellulose. *J. Pharm. Sci.* 84: 344-348. (1995).

Kundu SC, Cameron AD, Meltzer NM y Quick TW. Development and validation of method for determination of in vitro release of retinoic acid from creams. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 19: 425-438. (1993).

- Laboratorios Astra. Foscarnet.** Documentación científica. Södertälje. Suecia. 1989.
- Laskin OL & Gordon R.** Agentes antivirales. En: Reese R., Betts R. Un planteamiento práctico de las enfermedades infecciosas. Jarpoy, Madrid, 1991, 3ª ed., pp. 845-847.
- Lehmann K.** In aqueous polymeric coatings for pharmaceutical dosage forms; McGinity, JW, Ed. Marcel Dekker: New York, 1989a; pp. 153-173.
- Lehmann K.** Chemistry and application properties of polymethacrylate coating systems. In: McGinity JW. Ed. Marcel Dekker: New York, 1989b; pp. 153-245.
- Leung DT, Sacks SL.** Current recommendations for the treatment of genital herpes. *Drugs*, 60:1329-1352.(2000).
- Ley del Medicamento, Ley 25/1990, de 20 de diciembre (BOE, nº 306, de 22 de diciembre de 1990).**
- Li SP, Jhavar R Mehta GN, Harwood RJ y Grim WM.** Preparation and in vitro evaluation of a controlled-release drug delivery system of theophylline using an aqueous acrylic resin dispersion. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 15: 1231-1242. (1989).
- Lieb S, Szeimies RM y Lee G.** Self-adhesive thin films for topical delivery of 5-aminolevulinic acid. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 53:99-106 (2002).
- Limaye AP, Corey L, Koelle DM, Davis CL y Boeckh M.** Emergence of ganciclovir-resistant cytomegalovirus disease among recipients of solid-organ transplants. *Lancet*, 356: 645-649 (2000).

Lin SY, Chen KS y Run-Chu L. Organic esters of plasticizers affecting the water absorption, adhesive property, glass transition temperature and plasticizer permanence of eudragit acrylic films. *J. Control. Release.*, 68: 343-350 (2000).

Lin AY, Muhammad NA, Pope D y Augsburger LL. Study of crystallization of endogenous surfactant in Eudragit NE30D-free films and its influence on drug-release properties of controlled-release diphenhydramine HCl pellets coated with Eudragit NE30D. *AAPS PharmSci.*, 3: 14 (2001).

Liverpool TB, Maggs AC y Ajdari A. Viscoelasticity of solutions of motile polymers. *Phys. Rev. Lett.* 86: 4171-4174 (2001).

Ljungman P. Prophylaxis against herpesvirus infections in transplant recipients. *Drugs*, 61(2):187-96 (2001).

Lucero MJ, León MJ, Vigo J y Rabasco AM. Estudio Reológico de Sistemas Dispersos semisólidos. *Industria Farmacéutica.* 6: 62-68. (1991).

Lucero MJ, Vigo J y León MJ. A Study of Shear and Compression Deformations on Hydrophilic Gels of Tretinoin. *Int. J. Pharm.*, 106: 125-133. (1994, a).

Lucero MJ, Vigo J y León MJ. The Influence of Antioxidants on Spreadability of α -Tocoferol Gels. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 20: 2315-2322. (1994, b).

Lucero MJ, Vigo J y León MJ. A Study of Shear and Compression Deformations on Hydrophilic Gels of α -Tocoferol. *Int. J. Pharm.*, 111: 261-269. (1994, c).

Lucero MJ, García J, Vigo J y León MJ. A Rheological Study of Semisolid Preparations of Eudragit®. *Int. J. Pharm.*, 116: 31-37. (1995).

Lucero MJ, García-Andréu J, Vigo J y León MJ. Determinación matemática de parámetros reológicos de compresión en geles en geles hidrófilos de Carbopol®-940. Aplicación a otros polímeros. Libro de resúmenes del 1^{er} Congreso Nacional sobre biomateriales. Avila, Junio, 1996.

Lucero MJ, García-Andréu J, Román F y León MJ. Influencia de la Hidroxipropilmetilcelulosa sobre la reología de sistemas poliméricos de Eudragit®. *Cienc. Pharm.* 8(1): 17-22; (1998).

Lucero MJ, León MJ, Ruíz R, Cordero E, Pastor MT y López L. Estudio de la difusión del foscarnet en humor vítreo. IV Congreso Nacional de la Asociación Española de Docentes de Farmacia Galénica. 195-196. Santiago de Compostela (1999).

Lucero MJ, Garcia-Andreu J, Roman F, Leon MJ. A study of the spread surface of polymeric dispersions of Eudragit. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26: 797-801 (2000).

Luppi M, Barozzi P, Rasini V, Riva G, Re A, Rossi G, Setti G, Sandrini S, Facchetti F, Torelli G. Severe pancytopenia and hemophagocytosis after HHV-8 primary infection in a renal transplant patient successfully treated with foscarnet. *Transplantation.*, 74: 131-132 (2002).

Luukkonen P, Schaefer T, Podczek F, Newton M, Hellen L y Yliruusi J. Characterization of microcrystalline cellulose and silicified microcrystalline cellulose wet masses using a powder rheometer. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 13: 143-149 (2001).

López-Cortés LF, Ruíz-Valderas R, Lucero-Muñoz MJ, Cordero E, Pastor-Ramos MT y Márquez J. Intravitreal, retinal, and central nervous system foscarnet concentrations after rapid intravenous administration to rabbits. *Antimicrob. Agent. Chemother.*, 44: 756-759 (2000).

Losada I, Canizares A, Hellin T, Marti-Belda P y Guerrero A. In vitro susceptibility study of herpes simplex virus to acyclovir and foscarnet. Are routine susceptibility studies necessary?. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 20: 25-27 (2002).

McCrystal CB, Ford JL y Rajabi-Siahboomi AR. A study on the interaction of water and cellulose ethers using differential scanning calorimetry. *Thermochim. Acta.*, 294: 91-98 (1997).

McCrystal C, Ford J, He R, Craig D y Rajabi-Siahboomi A. Characterisation of water behaviour in cellulose ether polymers using low frequency dielectric spectroscopy. *Int. J. Pharm.*, 243: 57 (2002).

MacGregor RR, Graziani AL, Weiss R, Grunwald JE y Gambertoglio JG. Successful foscarnet therapy for cytomegalovirus retinitis in an AIDS patient undergoing hemodialysis: rationale for empiric dosing and plasma level monitoring. *J. Infect. Dis.*, 164: 785-787 (1991).

Madsen F, Eberth K y Smart JD. A rheological examination of the mucoadhesive/mucus interaction: the effect of mucoadhesive type and concentration. *J. Control. Release.*, 50: 167-178 (1998).

McNair AM. Using hydrogel polymers for drug delivery. *Med. Device Technol.*, 7: 16-22. (1996).

McPhillips H, Craig DQ, Royall PG y Hill VL. Characterisation of the glass transition of HPMC using modulated temperature differential scanning calorimetry. *Int. J. Pharm.*, 180: 83-90 (1999).

Malamataris S & Karidas T. Effect of particle size and sorbed moisture on tensile strength of some tableted hydroxypropyl methylcellulose. *Int. J. Pharm.*, 104:115-123 (1994).

Margalith M, Manor D, Usieli V y Goldblum N. Phosphonophormate inhibits synthesis of Epstein-Barr virus (EBV) capsid antigen and transformatio of human cord blood lymphocytes by EBV. *Virology*, 5: 309-316 (1980).

Maschke M, Kastrup O y Diener HC. CNS manifestations of cytomegalovirus infections: diagnosis and treatment. *CNS Drugs.*, 16: 303-315 (2002).

Mathew M, Gupta VD y Bethea C. Stability of foscarnet sodium in dextrosa and 0.9 (% p/v) sodium chloride injections. *J. Clin. Pharm. Ther.*, 19:35-36 (1994).

Mayo DR, Lucia HL y Hsiung G.D. Effect of phosphonoformate on symptomatic genital herpes simplex virus type 2 infection of guinea pigs. *Intervirol.*, 19: 26-32 (1983).

Morfin F, Thouvenot D, De Turenne-Tessier M, Lina B, Aymard M y Ooka T. Phenotypic and genetic characterization of thymidine kinase from clinical strains of varicella-zoster virus resistant to acyclovir. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 43: 2412-2416 (1999).

Michailova V, Titeva S, Kotsilkova R, Krusteva E y Minkov E. Water uptake and relaxation processes in mixed unlimited swelling hydrogels. *Int. J. Pharm.*, 209: 45-56 (2000).

Michailova V, Titeva S, Kotsilkova R, Krusteva E y Minkov E. Influence of hydrogel structure on the processes of water penetration and drug release from

mixed hydroxypropylmethyl cellulose/thermally pregelatinized waxy maize starch hydrophilic matrices. *Int. J. Pharm.*, 222: 7-17 (2001).

Mitchell K, Ford JL, Armstrong DJ, Elliot PN, Rostron C y Hogan JE. Differential thermal analysis of hydroxypropylmethylcellulose gels: influence of water content and propranolol hydrochloride. *J. Pharm. Pharmacol.*, 41: 59 (1989).

Mitchell K, Ford JL, Armstrong DJ, Elliot PN, Hogan JE y Rostron C. The influence of substitution type on the performance of methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose in gels and matrices. *Int. J. Pharm.*, 100: 143-154 (1993).

Moe DV & Rippie EG. Nondestructive Viscoelastic Analysis of Anisotropy in Compressed Tablets. *J. Pharm. Sci.*, 86: 26-32: (1997).

Mohamed Y, Traisnel M y Gayot A. Rhéologie et viscosimétrie. Principes fondamentaux. *STP Pharma. Practiques.*, 4: 30-36 (1994).

Mohammed FA. Topical permeation characteristics of diclofenac sodium from NaCMC gels in comparison with conventional gel formulations. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 27: 1083-1097 (2001).

Mora R. Cómo mejorar la calidad estadística de los artículos presentados a revistas biomédicas: lista de comprobación para los autores. *Med Clin.*, 113: 138-149 (1999).

Morris LE, Moore JC y Schwartz JB. Characterization and performance of a new direct compression excipient for chenable tablets: xylitab. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 22: 925-932. (1996).

Moshashaee S, Bisrat M, Forbes RT, Nyqvist H y York P. Supercritical fluid processing of proteins. I: lysozyme precipitation from organic solution. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 11: 239-245 (2000).

Mours M & Winter HH. Mechanical Spectroscopy of polymers. En Tanaka T (Ed), *Experimental Methods in Polymer Science*. Academic Press 495-546, San Diego (2000).

Moyle G, Nelson M, Barton SE, Youle M y Gazzard BG. Penile ulcerations with Foscarnet. *Lancet*, 335: 547-548 (1990).

Mura P, Faucci MT, Bramanti G y Corti P. Evaluation of transcutol as a clonazepam transdermal permeation enhancer from hydrophilic gel formulations. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 9: 365-372 (2000).

Murali Mohan Babu GV, Prasad ChD y Ramana Murthy KV. Evaluation of modified gum karaya as carrier for the dissolution enhancement of poorly water-soluble drug nimodipine. *Int. J. Pharm.*, 234: 1-17 (2002).

Murat H, Taguchi N, Hamada T y McCabe JF. Dynamic viscoelastic properties and the age changes of long-term soft denture liners. *Biomaterials* 21: 1421-1427 (2000).

Naima Z, Siro T, Chantal C, Rene C y Jerome D. Interactions between carbamazepine and polyethylene glycol (PEG) 6000: characterisations of the physical, solid dispersed and eutectic mixtures. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 12: 395-404 (2001).

Nakamura k, Hatakeyama T y Hatakeyama H. Studies on bound water of cellulose by differential scanning calorimetry. *Tex. Res. J.*, 51: 607-613 (1981).

Nakamura k, Hatakeyama T y Hatakeyama H. Relationship between hydrogen bonding and water in polyhydroxyethylene derivatives. *Polymer.*, 24: 871-876 (1983).

Nakamura k, Yoshida H y Hatakeyama H. A differential scanning calorimetry study of the phase transition of water-sodium cellulose sulphate system. *Polymer.*, 28: 1282-1286 (1987).

Nakamura K. Structure of gels. Characterization techniques. En Osada Y & Kajiwara K. *Gels Handbook*. Academic Press, Vol 1, 318-330, San Diego (2001).

Nakano T & Yuasa H. Suppression of agglomeration in fluidized bed coating. IV. Effects of sodium citrate concentration on the suppression of particle agglomeration and the physical properties of HPMC film. *Int. J. Pharm.*, 215: 3-12 (2001).

Narisawa S, Nagata M, Hirawaka Y, Kobayashi M y Yoshino H. Organic acid induced sigmoidal release system for oral controlled release preparations. Permeability enhancement of Eudragit® RS coating by the fisicochemical interactions with organic acid. *J. Pharm. Sci.*, 85: 184-188. (1996).

Nazzal S, Guven N, Reddy IK, Khan MA. Preparation and characterization of coenzyme Q10-Eudragit solid dispersion. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 28: 49-57 (2002).

Nishinari K. Rheological and DSC Study of sol-gel transition in aqueous dispersions of industrially important polymers and colloids. *Colloid. Polym. Sci.*, 275: 1093-1107 (1997).

Nordenfelt E, Helgstrand E y Oberg B. Trisodium phosphonophormate inhibits hepatitis B Dane particle DNA polymerase. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 87:75-76 (1979).

Nordenfelt E, Oberg B, Helgstrand E y Miller E. Inhibition of hepatitis B Dane particle DNA polymerase activity by pyrophosphate analogs. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 88: 169-175 (1980).

Nordenfelt E & Werner B. Trisodium phosphonoformate inhibits woodchuck hepatitis virus associated DNA polimerase. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 88: 183-184 (1980).

Nyamweya N, Mehta KA y Hoag SW. Characterization of the interactions between polymethacrylate-based aqueous polymeric dispersions and aluminum lakes. *J. Pharm. Sci.*, 90: 1937-1947 (2001).

Öberg B. Antiviral effect of phosphonoformate (PFA, foscarnet sodium). *Pharmacol. Ther.*, 40:213-285 (1989).

Ofori-Kwakye K & Fell JT. Biphasic drug release: the permeability of films containing pectin, chitosan and HPMC. *Int. J. Pharm.*, 226: 139-145 (2001).

Ohno H, Shibayama M y Tsuchida E. DSC analyses of bound water in the microdomains of interpolymer complexes. *Macromol. Chem.*, 184: 1017-1024 (1983).

Ohyama A & Imai Y. Differential scanning calorimetric study of acrylic resin powders used in dentistry. *Dent. Mater J.*, 19: 346-351 (2000).

Omar RF, Dusserre N, Desormeaux A, Poulin L, Tremblay M, Beauchamp D y Bergeron MG. Liposomal encapsulation of foscarnet protects against hypocalcemia induced by free foscarnet. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 39: 1973-1978 (1995).

Otsuka M, Onoe M y Matsuda Y. Hygroscopic stability and dissolution properties of spray-dried solid dispersions of furosemide with Eudragit®. *J. Pharm. Sci.*, 82: 32-38. (1993).

Outman WR, McGlynn MR, Mortland PM, Mitrano FP, Baptista RJ y Williams D. A. Stability and compatibility of foscarnet in elastomeric infusion devices. A.S.H.P. *Anual. Meeting.*, 50:131 (1993).

Palestine AG, Polis MA, De Smet MD, Baird BF, Fallon J y Kovacs JA. A randomized controlled trial of foscarnet in the treatment of cytomegalovirus retinitis in patients with AIDS. *Ann. Intern. Med.*, 115: 665-673 (1991).

Palmieri GF, Bonacucina G, Di Martino P y Martelli S. Spray-drying as a method for microparticulate controlled release systems preparation: advantages and limits. I. Water-soluble drugs. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 27: 195-204 (2001).

Pascual B, Gurruchaga M, Ginebra MP, Gil FJ, Planell JA, Vazquez B, San Roman J y Gofii I. Modified acrylic bone cement with high amounts of ethoxytriethyleneglycol methacrylate. *Biomaterials.*, 20: 453-463 (1999).

Pasquali M, Shankar V y Morse DC. Viscoelasticity of dilute solutions of semiflexible polymers. *Phys. Rev. E. Stat Phys. Plasmas Fluids Relat. Interdiscip. Topics.*, 64:1-2 (2001).

Pavic I, Hartmann A, Zimmermann A, Michel D, Hampl W, Schleyer I y Mertens T. Flow cytometric analysis of herpes simplex virus type 1 susceptibility to acyclovir, ganciclovir, and foscarnet. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 41: 2686-2692 (1997).

Pelletier E, Viebke C, Meadows J y Williams PA. A rheological study of the order-disorder conformational transition of xanthan gum. *Biopolymers.*, 59: 339-346 (2001).

Peppas NA & Ségot-Chicq S. Les dispositifs à libération contrôlée pour la délivrance des principes actifs médicamenteux. II. Aspects fondamentaux de la diffusion des principes actifs dans les polymères. *STP. Pharma.*, 1: 121-127. (1985).

Picker KM & Hoag SW. Characterization of the thermal properties of microcrystalline cellulose by modulated temperature differential scanning calorimetry. *J. Pharm. Sci.*, 91: 342-349 (2002).

Picton P & Müller G. Rheological properties of modified cellulosic polymers in semidilute regime: effect of salinity and temperature. *Prog. Colloid. Sci.*, 102: 26-31 (1996).

Piret J, Desormeaux A, Cormier H, Lamontagne J, Gourde P, Juhasz J, y Bergeron MG. Sodium lauryl sulfate increases the efficacy of a topical formulation of foscarnet against herpes simplex virus type 1 cutaneous lesions in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 44: 2263-2270 (2000).

Piret J, Desormeaux A, Gourde P, Juhasz J y Bergeron MG. Efficacies of topical formulations of foscarnet and acyclovir and of 5-percent acyclovir ointment (Zovirax) in a murine model of cutaneous herpes simplex virus type 1 infection. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 44: 30-38 (2000).

Piret J, Lamontagne J, Desormeaux A y Bergeron MG. Efficacies of gel formulations containing foscarnet, alone or combined with sodium lauryl sulfate, against establishment and reactivation of latent herpes simplex virus type 1. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 45: 1030-1036 (2001).

Price JS, France AJ, Moaven LD, Welsby PD. Foscarnet in fulminant hepatitis B. *Lancet*, 2:1273 (1986).

Proniuk S, Liederer BM, Dixon SE, Rein JA, Kallen MA y Blanchard J. Topical formulation studies with DEET (N,N-diethyl-3-methylbenzamide) and cyclodextrins. *J. Pharm. Sci.*, 91: 101-110 (2002).

Pugnetti F. Etude comparative des résultats obtenus selon plusieurs méthodes pour la mesure des caractéristiques rhéologiques des dispersions. *Bull. Tech. Gatt.*, 75: 65 (1982).

Puttipatkhachorn S, Nunthanid J, Yamamoto K y Peck GE. Drug physical state and drug-polymer interaction on drug release from chitosan matrix films. *J. Control. Release.*, 75: 143-153 (2001).

Qian H. Single-particle tracking: Brownian dynamics of viscoelastic materials. *Biophys. J.* 79: 137-143 (2000).

Qiu Y & Park K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 53: 321-339 (2001).

Raffi F, Taburet AM, Gahleh B, Huart A y Singlas E. Penetration of foscarnet into cerebrospinal fluid of AIDS patients. Antimicrobial. *Agents Chemother.*, 9: 1777-1780 (1993).

Rafiee-Tehrani M & Mehramizi A. In vitro release studies of piroxicam from oil-in-water creams and hydroalcoholic gel topical formulations. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26: 409-414 (2000).

Realdon N, Ragazzi E, Dal-Zotto M y Dalla-Fini G. Possibilities of conveying a cationic drug in carbomer Hydrogels. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 24: 337-343. (1998).

Realdon N, Ragazzi E y Ragazzi E. Effect of gelling conditions and mechanical treatment on drug availability from a lipogel. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 27: 165-170 (2001).

Reason M, Teesdale-Spittle P, Latham R, Dawson G, Porteous P y Smith G. A TSM sensor investigation of low crystallinity cellulose films. *Int. J. Pharm.*, 222: 121-128 (2001).

Reddy IK & Bodor NS. In vitro evaluation of a controlled release site-specific diisovaleryl tect-butalone chemical delivery system for the eye. *J. Pharm. Sci.*, 83: 450-453. (1994).

Repka MA & McGinity JW. Bioadhesive properties of hydroxypropylcellulose topical films produced by hot-melt extrusion. *J. Control. Release.*, 70: 341-351 (2001).

Reusser P, Gambertoglio J, Lilleby K y Meyers JD. Phase II-III trial of foscarnet for prevention of cytomegalovirus infection in autologous and allogeneic marrow transplant recipients. *J. Infect. Dis.*, 166: 473-479 (1992).

Reusser P, Einsele H, Lee J, Volin L, Rovira M, Engelhard D, Finke J y Cordonnier C. Randomized multicenter trial of foscarnet versus ganciclovir for preemptive therapy of cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Blood.*, 99: 1159-64 (2002).

Riley RG, Smart JD, Tsibouklis J, Dettmar PW, Hampson F, Davis JA, Kelly G y Wilber WR. An investigation of mucus/polymer rheological synergism using synthesised and characterised poly(acrylic acid)s. *Int. J. Pharm.*, 217: 87-100 (2001).

Robitaille L, Turcotte N, Fortin S y Charlet G. Calorimetric study of aqueous solutions of hydroxypropyl cellulose. *Macromolecules*, 24: 2413-2418 (1991).

Roorda W. Do the hydrogels contain different classes of water?. *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.*, 5: 383-395 (1994).

Roorda WE, Bouwsta JA, de Vries MA y Junginger HE. Thermal behavior of poly hydroxyethylmethacrylate (pHEMA) hydrogels. *Pharm. Res.*, 5: 722-725 (1988).

Roos Y & Karel M. Water and molecular weight effects on glass transitions in amorphous carbohydrates and carbohydrate solutions. *J. Food. Sci.*, 56: 1676-1681. (1991).

Rossi S, Ferrari F, Bonferoni MC y Caramella C. Rheological and mechanical properties of pharmaceutical gels. Part II: Medicated systems: relevance to hydration properties and drug release. *Boll. Chim. Farmac.*, 140: 337-344 (2001).

Roizman B y Sear AE. Herpes simplex viruses and their replication. En: Fields B.N., Knipe D.M. *Virology*. Raven Press, New York, 1990, 2ª ed., pp. 1745-1841.

Ruiz de Adana R. ¿Qué método estadístico?. Guía práctica para seleccionar la prueba estadística más adecuada para el contraste de hipótesis. *Atención Primaria* 9: 447-451, (1992).

Safrin S, Crumacker C, Chatis P, Davis R, Hafner R y Rush J. A Controlled trial comparing foscarnet with vidarabine for acyclovir-resistant mucocutaneous herpes simplex in the acquired immunodeficiency syndrome. The AIDS Clinical Trials Group. *N. Engl. Med.*, 325: 551-555 (1991).

Safrin S, Berger TG, Gilson I, Wolfe PR, Wofsy CB y Mills J. Foscarnet therapy in five patients with AIDS and acyclovir-resistant varicella-zoster virus infection. *Ann. Intern. Med.*, 115: 19-21 (1991).

Safrin S, Elbeik T, Phan L, Robinson D, Rush J, Elbaggari A y Mills J. Correlation between response to acyclovir and foscarnet therapy and in vitro susceptibility result for isolates of herpes simplex virus from human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38: 1246-1250 (1994).

Sadeghi F, Ford JL, Rubinstein MH y Rajabi-Siahboomi AR. Comparative study of drug release from pellets coated with HPMC or Surelease. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26: 651-660 (2000).

Sakellariou P, Rowe RC y White E. The thermomechanical properties and glass transition temperatures of some cellulose derivates used in film-coating. *Int. J. Pharm.*, 27: 267-277. (1995).

Sandstrom EG, Kaplan JC, Byington RE y Hirsch MS. Inhibition of human T-cell lymphotropic virus type III in vitro by phosphonoformate. *Lancet*, 1:1480-1482 (1985).

Sanz-Taberner T, Martin-Villodre A, Pla-Delfina JM y Herraes JV. Consistency of Carbopol 971-P NF gels and influence of soluble and cross-linked PVP. *Int J Pharm.*, 233: 43-50 (2002).

Sarin PS, Taguchi Y, Sun D, Thornton A, Gallo RC y Oberg B. Inhibition of HTLV-III/LAV replication by foscarnet. *Biochem. Pharmacol.*, 34: 4075-4079 (1985).

Sarkar N. Kinetics of thermal gelation of methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose in aqueous solutions. *Carbohydr. Polym.*, 26: 195-203 (1995).

Sarkar N & Walker LC. Hydration-dehydration properties of methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose in aqueous solutions. *Carbohydr. Polym.*, 26: 177-185 (1995).

Siegers JD, Zatz JL y Shah VP. In vitro release of phenol from ointment formulations. *Pharm. Technol.*, 21: 80-81. (1997).

Schmidt PC & Nieman F. The mini wide-coater. III. Effect of application temperature on the dissolution profile of sustained-release theophylline pellets coated with Eudragit® RS30D. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 15: 1603-1612. (1993).

Shama F & Sherman P. Identification of Stimuli controlling the Sensory Evaluation of Viscosity. *J. Text. Studies.*, 4: 111-118 (1973).

Shenoueder LS, Adams KA y Zoglio MA. A controlled release delivery system using two hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.* 61: 127-134. (1990).

Schott H. Reología. Remington: farmacia, Gennaro, AR (Compilador general), 17^a edic., Médica Panamericana, Buenos Aires, (1987).

Schramm G. A Practical Approach to Rheology and Rheometry. Documentación Científica Laboratorios Haake®. Alemania, (1994).

Shah VP, Tsong T, Sathe P y Liu J. In vitro dissolution profile comparison-statistics and analysis of the similarity factor, *f2*. *Pharm. Res.*, 6: 889-896. (1998).

Sherman P. Rheological Properties of Emulsions. Encyclopedia of Emulsion Technology, Becher P, Marcel Dekker Inc, New York, (1983).

Shu XZ & Zhu KJ. Controlled drug release properties of ionically cross-linked chitosan beads: the influence of anion structure. *Int. J. Pharm.*, 233: 217-225 (2002).

Sjovall J, Karlsson A, Ogenstad S, Sandstrom E y Saarimaki M. Pharmacokinetics and absorption of foscarnet after intravenous and oral administration to patients with human immunodeficiency virus. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 44: 65-73 (1988).

Sjovall J, Bergdahl S, Movin G, Ogenstd S y Saarimaki M. Pharmacokinetics of foscarnet and distribution to cerebrospinal fluid after intravenous infusion in patients with human immunodeficiency virus infection. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 33:1023-1031 (1989).

Solinis MA, de la Cruz Y, Hernandez RM, Gascon AR, Calvo B y Pedraz JL. Release of ketoprofen enantiomers from HPMC K100M matrices--diffusion studies. *Int. J. Pharm.*, 239: 61-68 (2002).

Soppimath KS, Kulkarni AR y Aminabhavi TM. Chemically modified polyacrylamide-guar gum-based crosslinked anionic microgels as pH-sensitive drug delivery systems: preparation and characterization. *J. Control. Release.*, 75: 331-345 (2001).

Steendam R, Frijlink HW y Lerk CF. Plasticisation of amyloextrin by moisture. Consequences for compaction behaviour and tablet properties. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 14: 245-254 (2001).

Stoy VA. Hydrogels: En Swarbrick J & Boylen JC (Eds.) Encyclopedia of Pharmaceutics Technology. Marcel Dekker, Vol. 18, 93-96, New York (1999).

Sung YK. Interaction of water with hydrophilic methacrylate polymers. Ph D Thesis, University of Utah, USA. (1978).

Szczepanska-Konkel M, Yusufi A, VanScoy M, Webster S y Dousa T. Phosphonocarboxylic acids as specific inhibitors of Na⁺-dependent transport of phosphate across renal brush border membrane. *J. Biol. Chem.*, 261: 6375-6383 (1986).

Taburet M, Katlama C, Blanshard C, Zorza G, Gazzard D y Dohin E. Pharmacokinetics of foscarnet after twice-daily administrations for treatment of cytomegalovirus disease in AIDS patients. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 36:1821-1824 (1992).

Talukdar MM, Vinckier I, Moldenaers P y Kinget R. Rheological characterization of xantha gum and hydroxypropylmethylcellulose with respect to controlled release drug delivery. *J. Pharm. Sci.*, 85: 537-540 (1996).

- Tamburic S & Craig D.** A comparison of different in vitro methods for measuring mucoadhesive performance. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 41: 235-241 (1995).
- Tamburic S, Craig DQ.** The effects of ageing on the rheological, dielectric and mucoadhesive properties of poly(acrylic acid) gel systems. *Pharm. Res.*, 13: 279-283 (1996).
- Tanaka T.** Geles. *Investigación y Ciencia.*, 54: 76-91 (1981).
- Thimons JJ.** CMV retinitis treatment. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 72: 310-311 (1995).
- Tobyn MJ, Johnson JR y Dettmar PW.** Factors affecting in vitro gastric mucoadhesion I. Test conditions and instrumental parameters. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 41: 235-241 (1995).
- United States Pharmacopeial 24,** National Formulary 19, The United States Pharmacopeial Convention Inc., Rockville, MD (2000).
- Tonnesen HH & Karlsen J.** Alginate in drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 28:621-630 (2002).
- Tsuji A & Tamai I.** Na⁺ and pH dependent transport of foscarnet via the phosphate carrier system across intestinal brush-border membrane. *Biochem. Pharmacol.*, 1019-1022 (1989).
- Umejima H, Kim N, Ito T, Uchida T y Goto S.** Preparation and evaluation of Eudragit® gels. VI: In vivo evaluation of Eudispert® rectal hidrogel and xerogel containing salicylamide. *J. Pharm. Sci.*, 82: 195-199. (1993).

Umejima H, Kikuchi A, Nak-seo K, Uchida T y Goto S. Preparation and evaluation of Eudragit® Gels. VIII. Rectal absorption of 5-fluoruracil from Eudispert® gels in rats. *J. Pharm Sci.*, 84: 199-202 (1995).

Valenta C & Almasi-Szabo I. In vitro diffusion studies of ketoprofen transdermal therapeutic systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 21(15): 1799-1805 (1995).

Valenta C & Biebel R. In vitro release study of transdermal delivery systems of progesterone. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 24: 187-191 (1998).

Van den Mooter G, Wuyts M, Bleton N, Busson R, Grobet P, Augustijns P y Kinget R. Physical stabilisation of amorphous ketoconazole in solid dispersions with polyvinylpyrrolidone K25. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 12: 261-269 (2001).

Van Den Mooter G, Craig DQ y Royall PG. Characterization of amorphous ketoconazole using modulated temperature differential scanning calorimetry. *J. Pharm. Sci.*, 90: 996-1003 (2001).

Van Der Pijl JW, Frissen PH, Reiss P, Huselbosch HJ y Danner SA. Genital and oral erosions induced by Foscarnet. *Lancet.*, 335: 286 (1990).

Vemuri S. Flow and Consistency Index Dependence of Pseudoplastic Guar Gum Solutions. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 4: 905 (1988).

Vennat B, Gross D, Pouget MP, Pourrat A y Pourrat H. Comparission of the physical stability of astringent hydrogels based on cellulose derivatives. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 21: 559- 570 (1995).

Verma PR & Iyer SS. Transdermal delivery of propranolol using mixed grades of Eudragit: design and in vitro and in vivo evaluation. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26: 471-476 (2000).

Vesu NY, Pineda EA y Hechenleitner AA. Microcrystalline cellulose from soybean husk: effects of solvent treatments on its properties as acetylsalicylic acid carrier. *Int. J. Pharm.*, 206: 85-96 (2000).

Voigt R. Tratado de Tecnología Farmacéutica. Acribia. Zaragoza. (1979).

Wagner K, Guo X y Bodmeier R. Influence of buffer species and counterions on release and hydration properties of film/coatings of the cationic polymer dispersions, Eudragit®. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 42 (suppl.) (1996).

Wagner H, Kostka KH, Lehr CM y Schaefer UF. Interrelation of permeation and penetration parameters obtained from in vitro experiments with human skin and skin equivalents. *J. Control. Release.*, 75: 283-295 (2001).

Wagner K & McGinity J. Influence of chloride ion exchange on the permeability and drug release of Eudragit RS 30 D films. *J. Control. Release.*, 21: 382-385 (2002).

Wahren B & Oberg B. Inhibition of cytomegalovirus late antigens by phosphonoformate. *Intervirology.*, 12:335-339 (1979).

Wahren B & Oberg B. Reversible inhibition of cytomegalovirus replication by phosphonophormate. *Intervirology*, 14:7-15 (1980).

Webster S, Szczepanska-Konkel M, Yusufi AN y Dousa TP. Effect of Phosphonoformic acid (PFA) on the renal excretion of phosphate (P_i). *Kidney Int.*, 29:174 (1986).

Welin-Berger K, Neelissen J y Bergenstahl B. In vitro permeation profile of a local anaesthetic compound from topical formulations with different rheological behaviour verified by in vivo efficacy data. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 14: 229-236 (2001).

Welin-Berger K, Neelissen JA y Bergenstahl B. The effect of rheological behaviour of a topical anaesthetic formulation on the release and permeation rates of the active compound. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 13: 309-318 (2001).

Whitley R, Arvin A, Prober C, Burchett S, Corey L y Powell D. A controlled Trial comparing vidarabine with aciclovir in neonatal Herpes Simplex virus infections. *N. Engl. J. Med.*, 324: 444-449 (1991).

Volgelsberger W, Siedel A y Fuchs R. Contribution to the determination of kinetics parameters of the sol-gel transformation by rheological measurements. *J. Colloid. Interf. Sci.*, 230: 268-271 (2000).

Wong D & Bodmeier R. Flocculation of an aqueous colloidal ethyl cellulose dispersion (Aquacoat®) with a water-soluble polymer, hydroxypropyl methylcellulose. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 42 (1): 12-15. (1996).

Wood JM. Pharmaceutical Rheology. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy. Lachman L, Lieberman HA y Kanig JL, 3rd edit. Lea and Febiger, Philadelphia, (1986).

Woods K, Steimann W, Brums L y Neels JT. Stability of foscarnet sodium in 0.9% sodium chloride injection. *Am. J. Hosp. Pharm.*, 51: 88-90 (1994).

Woolfson AD, McCafferty DF, McCarron PA y Price JH. A bioadhesive patch cervical drug delivery systems for the administration of 5-fluorouracil to cervical tissue. *J. Control. Release.*, 35: 49-58 (1995).

Woolfson AD, Malcolm RK, Campbell K, Jones DS y Russell JA. Rheological, mechanical and membrane penetration properties of novel dual drug systems for percutaneous delivery. *J. Control. Release.*, 67: 395-408 (2000).

Yu DM, Amidon GL, Weinwe ND y Goldberg AH. Viscoelastic Properties of Poly(ethylene oxide) solution. *J. Pharm. Sci.*, 83: 1443-1449. (1994).

Zang WZ, Satoh M y Komiyama J. A differential scanning calorimetry study of the states of water in swollen poly(vinyl alcohol) membranes containing nonvolatiles additives. *J. Membr. Sci.*, 42: 303-314. (1989).

Zauscher S & Klingenberg DJ. Normal Forces between Cellulose Surfaces Measured with Colloidal Probe Microscopy. *J. Colloid. Interface. Sci.*, 229: 497-510 (2000).

Zhu H, Xu J, Varlashkin P, Long S y Kidd C. Dehydration, hydration behavior, and structural analysis of fenopufen calcium. *J. Pharm. Sci.*, 90: 845-859 (2001).

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes
en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de
D. FRANCISCO JAVIER GARLÁN ANDRÉS
titulada DIENOS DE FUJEMAS DIFERENS DE HPOLC
EUDRASIT (E) PARA LA LIBERACION TOPICA DE
FOSCARINET

acordó otorgarle la calificación de SOBRESALIENTE "Cum
LAUDE" por UNANIMIDAD

Sevilla, 4 de Abril de 2003

El Vocal,



EL PRESIDENTE

El Vocal,



El Secretario,

El Vocal,



El Doctorado

