

ADRIANA RUIZ CORREA

**EVALUACIÓN DE LA LIBERACIÓN IN VITRO-
VIVO DE TEOFILINA A PARTIR DE
COMPRIMIDOS MATRICIALES ELABORADOS
CON COPOLIMEROS DE METACRILATO DE
METILO Y DERIVADOS ALMIDONADOS**

TESIS DOCTORAL

Directoras

María Rosa Jiménez-Castellanos Ballesteros

Carmen Ferrero Rodríguez

María Antonia García Márquez

2005

*Al creador de todo lo que existe,
Dios
A mis Padres
Al que espero sea mi compañero el
resto de la vida, Miguel*

AGRADECIMIENTOS

Hay encuentros que pueden cambiar la vida de una persona. Fue lo que me sucedió cuando conocí al Dr. D. Agustín García Asuero en un curso que dictó en la Universidad de Antioquia. Él me hizo ver que mi sueño de realizar un doctorado fuera de mi país era posible, me mostró el camino y, cuando la certeza de ver convertido lo que creía imposible en posible me llenó de temor, me obligó a cruzar el océano. Reconozco que tuvo que hacer un gran esfuerzo para ayudarme a vencer mi miedo y mi inseguridad, pero logró su objetivo. Es por esto que quiero aprovechar este espacio para darle las gracias desde lo más profundo de mi corazón, aunque es evidente la dificultad que representa expresar claramente en líneas la magnitud de los sentimientos y más aún cuando se carecen de cualidades literarias.

Pero no sólo a D. Agustín deseo manifestarle mi sentimiento de gratitud. También quiero dirigirme al maravilloso grupo de personas que me cobijaron con su cariño y afecto durante estos cuatro años. Junto a ellas la nostalgia por mi hogar se hizo más llevadera y aprendí muchas cosas importantes sobre el trabajo, sobre las personas, sobre el respeto, sobre la vida...

A la Dra. Dña. María Rosa Jiménez-Castellanos, por darme la oportunidad de hacer el doctorado aceptándome en su grupo de investigación y, además, por enseñarme que la constancia y la perseverancia son los pilares del trabajo investigador. A la Dra. Dña. Carmen Ferrero, quien dejó plasmado su saber lingüístico a lo largo de

Agradecimientos

este trabajo, por sus comentarios oportunos y atinados que enriquecieron la parte experimental y que hicieron posible que la gran cantidad de información que se presenta en esta memoria tuviera un sentido lógico, y a la vez, por enseñarme que el trabajo realizado a conciencia y de manera ordenada es la mejor arma contra el fracaso. A la Dra. Dña. María Antonia, mi gran compañera de trabajo, mi paño de lágrimas, por su manera crítica de trabajar y la forma de desempeñar sus tareas, sin prisa pero sin pausa, lo que me ahorró muchos dolores de cabeza.

A las demás profesoras del grupo de investigación, Dra. Dña. María José León y Dra. Dña. María Jesús Lucero, por su cariño, apoyo y aliento. A Leti, Irene, Eve, Carmen, Jero y Charo, mis compañeros de laboratorio, con ellos compartí no sólo el material y las horas de trabajo sino también tristezas, alegrías, problemas, tertulias agradables y gratos instantes de esparcimiento. Gracias por los buenos momentos vividos.

A todo el personal del Departamento porque cada uno de ellos contribuyó de una u otra manera a la realización de este trabajo. Al personal de la biblioteca, por sufrir y tolerar a esta “ocupa” y por el apoyo y la confianza que me prestaron de forma desinteresada. Siempre recordaré los recibimientos matutinos y los cafés con Ana.

No termina aquí el grupo de personas que tuvieron algo que ver con este trabajo. Debido a la diversidad de temas que traté, tuve la oportunidad de interactuar con muchas personas, todas ellas inolvidables. Por esto extiendo mi sentimiento de gratitud a las Dras. Dña. Isabel Goñi y Dña. Mariló Gurruchaga por la acogida y apoyo que me brindaron durante la estancia en la Facultad de Química de la Universidad del País Vasco. A todas aquellas personas que conocí allí, por integrarme con el mayor cariño y afecto dentro de su grupo de amigos y lograr, así, que el duro trabajo de laboratorio estuviera marcado por cortos pero maravillosos periodos de distracción. Muchas gracias Idoia, Javi, Arantxa, Marimar, Agurtzane, Alba, Anamari, Gorka, y Nekane, los llevaré por siempre en mi recuerdo.

Al Dr. D. José Doménech, a su incansable aliada la Dra. Dña. Helena Colom y al Dr. D. Jacinto Lauroba, por la orientación que me prestaron con los ensayos de disolución y por su ayuda para darle un sentido biofarmacéutico y farmacocinético a este trabajo. A Helena, en especial, por compartir sus conocimientos conmigo y además porque lo hizo con el mayor de los gustos.

A la Dra. Dña. Rosario Moyano, Directora del animalario de la Universidad de Córdoba, por allanar el camino hacia el estudio *in vivo* y hacer posible que se llevara a cabo. A Ana y Silvia, las veterinarias encargadas del animalario, porque

con su destreza y dedicación lograron que el trabajo con los animales de experimentación fuera todo un éxito. Y a Indira por su ayuda desinteresada y por soportar los madrugones cada vez que debíamos obtener muestras.

Al Dr. D. Antonio Moro, del laboratorio de bioquímica del Hospital de Valme, porque gracias a su experiencia analítica con TDx y sus valiosos consejos, la cuantificación de teofilina en las muestras de plasma no se convirtió en una tarea titánica. También por estar siempre disponible para resolver nuestras dudas.

No puedo terminar estas líneas sin recordar a la gente más próxima que me apoyó desde fuera del ruedo y que a la vez se convirtió en mi segunda familia en España. Gracias a Yolanda, Diana, Maite, Imán, Saad, Tatiana, Marta, Debo, María, Imán, Jesús y Juan José.

A la Agencia Española de Cooperación Internacional por la concesión de una beca que me sirvió de soporte económico durante los tres primeros años de la investigación.

Esta Tesis Doctoral forma parte del proyecto MAT2001-3874-C02-01 del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL	11
GENERALIDADES SOBRE POLÍMEROS	11
POLÍMEROS EN MEDICINA Y FARMACIA	13
1. Polímeros en Medicina	13
2. Polímeros en Farmacia	14
FORMAS FARMACÉUTICAS DE LIBERACIÓN PROLONGADA	16
1. Ventajas	16
2. Tipos de modificación	17
3. Materiales	17
MATERIALES BAJO ESTUDIO	18
1. Metacrilato de metilo	19
2. Almidón	20
ALMIDONES MODIFICADOS EN LIBERACIÓN PROLONGADA	22
1. Pregelatinización	23
2. Reticulación	24
3. Sustitución	24

4. Modificaciones múltiples	25
COPOLIMERIZACIÓN DE ALMIDONES PARA LIBERACIÓN PROLONGADA	26
BIBLIOGRAFÍA	31
OBJETIVOS	37
CAPÍTULO I	
EFFECTO DE LA VARIABILIDAD INTERLOTE DE LOS COPOLÍMEROS Y DE UN GRADIENTE DE pH SOBRE LA LIBERACIÓN DE TEOFILINA	39
INTRODUCCIÓN	39
1. Efecto de la variabilidad de las materias primas en el proceso de producción farmacéutica	39
1.1. Efecto en el proceso de producción	40
1.2. Problemas en la calidad de los medicamentos	41
1.3. Efecto sobre las formas farmacéuticas de liberación prolongada	42
1.4. Control de calidad de los excipientes	42
2. Métodos para la comparación de perfiles de disolución	44
2.1. Métodos basados en ANOVA	44
2.1.1. <i>ANOVA, ANCOVA</i>	44
2.1.2. <i>Método de nivel y forma</i>	45
2.1.3. <i>Métodos multivariados</i>	45
2.2. Métodos modelo dependientes	45
2.3. Métodos modelo independientes	46
2.3.1. <i>Métodos pareados</i>	46
2.3.2. <i>Eficiencia de disolución</i>	47
3. pH del tracto gastrointestinal	48
MATERIALES Y MÉTODOS	51
1. Materias primas	51
1.1. Copolímeros	51
1.2. Principio activo	52
1.3. Lubrificante	52
1.4. Especialidades farmacéuticas de referencia	52

2. Métodos	52
2.1. Determinación de la eficacia de injerto	52
2.2. Elaboración de las mezclas	52
2.3. Elaboración de los comprimidos	53
2.4. Determinación de la uniformidad de masa de los comprimidos	53
2.5. Estudios de liberación del principio activo	53
2.5.1. <i>Efecto de la variabilidad interlote de los copolímeros sobre la liberación de teofilina</i>	53
2.5.2. <i>Efecto del gradiente de pH sobre la liberación de teofilina</i>	54
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
1. Efecto de la variabilidad interlote de los copolímeros sobre la liberación de teofilina	56
2. Efecto del gradiente de pH sobre la liberación de teofilina	61
CONCLUSIONES	66
BIBLIOGRAFÍA	67
CAPÍTULO II	
DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN TECNOLÓGICA DE LAS FORMULACIONES	73
INTRODUCCIÓN	73
1. Perfiles fuerza-desplazamiento	73
2. Matrices inertes	77
3. Motilidad del tracto gastrointestinal	82
MATERIALES Y MÉTODOS	86
1. Materias primas	86
2. Métodos	86
2.1. Elaboración de las mezclas	86
2.2. Elaboración de los comprimidos	86
2.3. Caracterización de los comprimidos	87

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	89
1. Efecto de la resistencia a la rotura de los comprimidos sobre la velocidad de liberación de teofilina	89
1.1. Elaboración de los comprimidos	89
1.2. Caracterización de los comprimidos	92
1.3. Porosimetría de intrusión y extrusión de mercurio	93
1.4. Estudio de liberación del principio activo	97
1.5. Evaluación de la cinética de liberación	100
1.6. Determinación de la similitud de los perfiles de disolución	103
2. Evaluación de la variabilidad del proceso de producción	105
2.1. Elaboración de los comprimidos	105
2.2. Caracterización de los comprimidos	105
2.3. Porosimetría de intrusión y extrusión de mercurio	106
2.4. Estudio de liberación del principio activo	108
2.5. Evaluación de la cinética de liberación	108
2.6. Determinación de la similitud de los perfiles de disolución	110
3. Efecto de la velocidad de agitación sobre la liberación de teofilina	111
3.1. Estudios de liberación del principio activo	111
3.2. Evaluación de la cinética de liberación	115
CONCLUSIONES	117
BIBLIOGRAFÍA	118
CAPÍTULO III	
ESTUDIO <i>IN VIVO</i> Y ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO	125
INTRODUCCIÓN	125
1. Administración intravenosa	126
1.1. Análisis no compartimental	128
1.2. Análisis compartimental	132
1.2.1. <i>Modelo monocompartmental</i>	132
1.2.2. <i>Ajuste de los modelos a los datos y elección del más apropiado</i>	133
2. Administración oral	136
2.1. Administración de una solución oral	137
2.1.1. <i>Análisis no compartimental</i>	138
2.1.2. <i>Análisis compartimental</i>	140

2.2. Administración de una forma de liberación prolongada	143
3. El perro como animal de experimentación	145
MATERIALES Y MÉTODOS	147
1. Animales de experimentación	147
2. Materiales	147
2.1. Reactivos	147
2.2. Formulaciones	147
2.2.1. Administración intravenosa	147
2.2.2. Administración oral	148
3. Métodos	148
3.1. Preparación del animal	148
3.2. Administración intravenosa	149
3.3. Administración oral	150
3.4. Diseño del estudio	151
3.5. Toma y tratamiento de las muestras	151
3.6. Técnica analítica	152
3.6.1. Descripción	152
3.6.2. Validación del método	153
3.7. Tratamiento de los datos	155
3.7.1. Análisis no compartimental	156
3.7.2. Análisis compartimental	157
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	159
1. Administración intravenosa	159
2. Administración oral	163
2.1. Análisis no compartimental	166
2.1.1. Formulaciones con 100 mg de teofilina	167
2.1.2. Formulaciones con 175 mg de teofilina	169
2.2. Análisis compartimental	171
2.3. Relación de los resultados obtenidos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	175
CONCLUSIONES	177
BIBLIOGRAFÍA	178
APÉNDICE I	
PERMISO DEL COMITÉ DE BIOÉTICA PARA DESARROLLAR EL ESTUDIO EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	183

Índice

APÉNDICE II	
RESULTADOS DEL ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO	185
APÉNDICE III	
RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	215

INTRODUCCIÓN GENERAL

A lo largo de esta introducción se describirán brevemente algunos conceptos básicos sobre polímeros, su empleo en medicina y farmacia, así como su utilización en la elaboración de formas farmacéuticas de liberación modificada. Posteriormente, se hará referencia a las características de las materias primas precursoras de los copolímeros objeto de este estudio y, finalmente, a los avances obtenidos por nuestro grupo de investigación en la búsqueda de nuevos copolímeros de síntesis para la elaboración de comprimidos de liberación prolongada por compresión directa.

GENERALIDADES SOBRE POLÍMEROS

Los polímeros son macromoléculas formadas por la unión covalente de pequeñas unidades moleculares conocidas como monómeros. Estas macromoléculas pueden estar formadas por un único tipo de monómero, y se denominan homopolímeros, o por varios tipos de monómeros, en cuyo caso se conocen como copolímeros. Tanto los homopolímeros como los copolímeros pueden ser lineales, ramificados o reticulados (Figura 1). Los copolímeros, además, pueden clasificarse, según la forma en que se organicen las diferentes unidades monoméricas, en: al azar, alternantes, en bloque o de injerto (Figura 2) (Heller, 1987).

Los polímeros sintéticos se empezaron a obtener a principios del siglo pasado. El alemán Hermann Staudinger fue pionero en este campo y, por su trabajo, recibió el premio Nobel en 1953 (Ege, 1998). Estas nuevas sustancias poseen estructuras esenciales más fuertes y permiten un gran número de modificaciones, por lo que se puede experimentar con ellas hasta encontrar el producto con las características deseadas. Como ejemplos de homopolímeros sintéticos se pueden destacar el nailon, polietileno, teflón, cloruro de polivinilo (PVC) y, entre los copolímeros, el formado por el ácido poliglicólico y el ácido láctico.

Los polímeros también se pueden dividir en biodegradables y no biodegradables. El término biodegradación, referido a estos materiales, fue definido de forma general por Chandra y Rustgi (1998) como un proceso por el cual bacterias, hongos, levaduras y sus enzimas consumen una sustancia polimérica como una fuente de alimento tal que su forma original desaparece. Es un proceso relativamente rápido bajo las condiciones apropiadas de humedad, temperatura y oxígeno disponible.

Algunos polímeros naturales biodegradables son el almidón, cuyos enlaces $\alpha 1 \rightarrow 4$ son atacados por las amilasas y los enlaces $\alpha 1 \rightarrow 6$ por las glucosidasas; la celulosa, la cual es atacada por las peroxidasas, secretadas por algunos hongos, y por endo y exoenzimas producidas por bacterias, y la quitina, que es degradada por la quitinasa. Entre los polímeros sintéticos biodegradables destacan los poliésteres, como el ácido poliglicólico, el cual se degrada por simple hidrólisis en ambientes acuosos, y la policaprolactona, que es biodegradada por hongos. Una revisión más profunda acerca de la biodegradación de estos materiales y otros ejemplos fue realizada por Chandra y Rustgi (1998).

Entre los polímeros no biodegradables, podemos mencionar todos aquellos con esqueletos alquílicos como el polimetacrilato de metilo (PMMA), poliuretanos, polisiloxanos, alcohol polivinílico, poliacrilato, copolímero de etileno y acetato de vinilo (Brannon-Peppas, 1997).

POLÍMEROS EN MEDICINA Y FARMACIA

1. Polímeros en Medicina

La utilización de los polímeros en Medicina se inició casi tan pronto como se comenzaron a sintetizar estos materiales; prácticamente, cada nuevo polímero sintetizado se ensayaba en estudios quirúrgicos experimentales y muchos de ellos se convirtieron en los hilos de sutura de la práctica clínica. A principios de los años 40

se registran las suturas de nailon. A mediados de la misma década, comenzaron a aparecer, en revistas médicas de prestigio, artículos de revisión sobre el uso en cirugía de polímeros tales como nailon, PMMA, poliéster de dacrón y PVC (Griffith, 2000).

En la actualidad, los polímeros siguen siendo importantes en Medicina. Se utilizan como prótesis permanentes en implantes de cadera, lentes intraoculares, válvulas y arterias cardíacas artificiales, reconstrucción dental, y como reemplazo temporal del tejido conectivo o para ayudar a la reparación del tejido en suturas, placas para fracturas óseas y dispositivos para reparación de ligamentos y tendones (Chandra y Rustgi, 1998; Griffith, 2000).

Las características de los materiales utilizados en la elaboración de cada uno de estos dispositivos depende de cada aplicación. Así, en el caso de las prótesis permanentes, deben ser resistentes, estables y biocompatibles, es decir, deben presentar una respuesta apropiada en el paciente sin dar lugar a la inflamación conocida como “respuesta al cuerpo extraño”. En el caso de los dispositivos de reemplazo temporal o ayuda en la reparación de tejidos, se eligen materiales que sean, además de biocompatibles, biodegradables, de forma que, una vez el tejido se haya recuperado, el material sea reabsorbido o degradado en los fluidos corporales, evitando así la utilización de cirugías posteriores para retirarlo. Los más utilizados son el ácido poliglicólico, el ácido poliláctico y los copolímeros de ambos, la poliglactina, las polidioxanonas y los poligliconatos.

2. Polímeros en Farmacia

Los polímeros en Farmacia se han utilizado como envases de medicamentos, recubrimiento de comprimidos, aglutinantes en granulación, modificadores de la velocidad de disolución de cubiertas peliculares, cubiertas entéricas de comprimidos, agentes viscosizantes de suspensiones y soluciones oftálmicas, coloides protectores para estabilizar emulsiones y suspensiones, formadores de geles hidrosolubles y bases para ungüentos, y como excipientes para modificar la liberación de fármacos (matrices inertes o erosionables o como membranas de barrera) (Schott, 1983).

Los cimientos de este último uso se establecieron con los avances en química analítica en los años 40 y 50, que permitieron determinar el comportamiento farmacocinético de las diferentes formas de dosificación disponibles hasta el momento. Llegó a considerarse que el régimen ideal de un medicamento es aquel

que permite alcanzar el nivel del fármaco en el sitio de acción de forma inmediata y mantenerlo durante el periodo de duración del tratamiento (Figura 3A). Este régimen ideal se obtiene por infusión intravenosa del fármaco, con la limitación de que sólo es posible hacerlo en pacientes hospitalizados (García y col., 1978).

Los medicamentos administrados en formas de dosificación convencionales (excepto la infusión intravenosa a velocidad constante) frecuentemente conducen a concentraciones plasmáticas del fármaco tipo pico-valle cuando alcanzan el estado estacionario (Figura 3B). La magnitud de estas fluctuaciones depende de la velocidad de absorción, distribución, eliminación e intervalo de dosificación, y son más notorias para fármacos con una vida media biológica de menos de 4 horas (Chien, 1982). Estas variaciones son las responsables, en gran medida, de la mayor incidencia y severidad de los efectos adversos causados por tratamientos prolongados con este tipo de formas de dosificación.

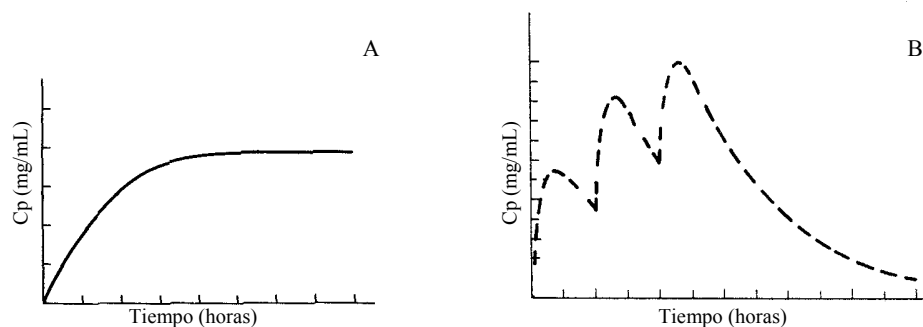


Figura 3. Gráficos concentración – tiempo de: A. Infusión intravenosa y B. Dosis repetidas de una forma de dosificación convencional. (Shargel y Yu, 1993).

El objetivo de mantener el régimen ideal de dosificación, unido al intento de optimizar los sistemas convencionales de liberación de fármacos, llevó al desarrollo de los sistemas de liberación modificada (García y col., 1978). En 1952 se introdujo la primera cápsula de liberación prolongada, Dexedrina[®] (Pillai y col., 2001), basada en la tecnología Spansules[®] propiedad de Smith Kline and French. Otras tecnologías desarrolladas para prolongar la liberación de fármacos fueron Gradumet[®] de Abbott y Duretter[®] de Astra Hassle (Collett y Moreton, 2002).

A partir de entonces aparecen en la literatura diferentes investigaciones orientadas al desarrollo de comprimidos que permitieran prolongar la velocidad de liberación

del principio activo. Una de las estrategias utilizadas consistió en mezclar los fármacos con materiales poliméricos (Lazarus y Cooper, 1961). Aparecen también, y casi de forma simultánea, estudios sobre los mecanismos de liberación de fármacos a partir de estas nuevas formas de dosificación (Higuchi, 1963; Huber y col., 1966; Lapidus y Lordi, 1968).

FORMAS FARMACÉUTICAS DE LIBERACIÓN PROLONGADA

1. Ventajas

Las ventajas de estos sistemas han sido señaladas por numerosos autores (García y col., 1978; Collett y Moreton, 2002), pudiendo destacar entre otras:

- Mejora del control sobre el mantenimiento de la concentración plasmática del fármaco, lo cual permite:

Mejora del tratamiento de muchas enfermedades crónicas donde tiene lugar una reaparición de los síntomas si las concentraciones plasmáticas del fármaco caen por debajo de la mínima concentración efectiva.

Mantenimiento de la acción terapéutica de un fármaco durante la noche (periodo sin dosificación).

Reducción de la incidencia y severidad de los efectos secundarios sistémicos adversos relacionados con los grandes picos de concentración plasmática del fármaco.

Reducción de la cantidad total de fármaco administrado durante el periodo de tratamiento.

- Mejora del cumplimiento del paciente debido a la reducción en el número y frecuencia de las dosis requeridas.
- Reducción de la incidencia y severidad de los efectos secundarios gastrointestinales localizados, producidos por la liberación rápida de fármacos irritantes a partir de las formas de dosificación convencionales.
- Reducción de costes, como consecuencia del mejor control de la enfermedad que se puede alcanzar con los sistemas de liberación prolongada.

2. Tipos de modificación

Desde un punto de vista tecnológico, la modificación de la liberación de fármacos puede tener dos finalidades: controlar la distribución del fármaco y/o prolongar el tiempo de su liberación (Uhrich y col., 1999). El objetivo del control de la distribución es liberar el fármaco en un lugar concreto del organismo. Se utiliza en situaciones en las cuales una distribución sistémica provoca grandes efectos adversos (ej. quimioterapia), o cuando la distribución natural del fármaco no permite que éste alcance su lugar de acción (ej. fármacos con acción cerebral y que no pueden atravesar la barrera hemato-encefálica). El método más simple para alcanzar este tipo de control es implantar el sistema de liberación directamente en el sitio de acción.

Por otra parte, el objetivo de la prolongación del tiempo de liberación es disminuir la velocidad de liberación del fármaco. Generalmente, se utiliza con principios activos que son rápidamente metabolizados y eliminados del organismo después de la administración. Las diferentes estrategias farmacotécnicas para lograr la modificación de la liberación fueron revisadas por Holgado y col. (1990) y se presentan de forma resumida en la Figura 4.

3. Materiales

Al igual que con los materiales utilizados en las aplicaciones médicas, la elección de los polímeros dependerá de la vía de administración de la forma farmacéutica. La utilización de polímeros no biodegradables se acepta en aplicaciones en las cuales el sistema de liberación puede recuperarse después de la liberación del fármaco (ej. retirada del parche o inserto) o para aplicaciones en las cuales el polímero pasa a través del tracto gastrointestinal (vía oral); de lo contrario, se recomienda utilizar polímeros biodegradables (Uhrich y col., 1999).

Entre los polímeros de síntesis que actualmente están siendo utilizados o estudiados para la liberación prolongada de fármacos se incluyen: polimetacrilato de 2-hidroxietilo, poli N-vinilpirrolidona, polimetacrilato de metilo, alcohol polivinílico, poliacrilato, poliacrilamida, copolímero de etileno con acetato de vinilo, polietilenglicol y polimetacrilato. Recientemente se están utilizando materiales diseñados para degradarse o reabsorberse dentro del organismo, entre los que destacan: polímeros del ácido poliláctico, del ácido poliglicólico y los copolímeros de ambos, los polianhídridos y polioctoésteres (Brannon-Peppas, 1997).

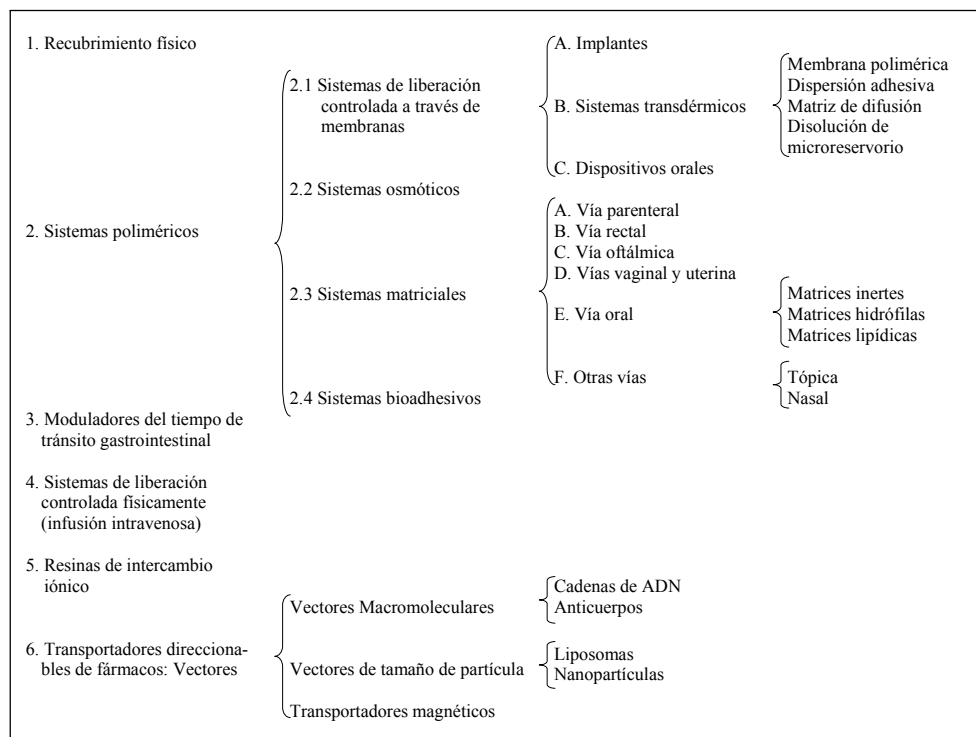


Figura 4. Diferentes estrategias farmacotécnicas para lograr el control de la liberación.

MATERIALES BAJO ESTUDIO

Dentro del campo anteriormente descrito, nuestro grupo de investigación viene trabajando, desde hace algunos años, en la evaluación tecnológica y biofarmacéutica de nuevos materiales poliméricos, obtenidos por copolimerización de injerto de diferentes carbohidratos modificados con derivados del ácido metacrílico, para su utilización en comprimidos matriciales de administración oral. En el presente estudio se utilizan, como carbohidratos, almidones de patata modificados y, como derivado metacrílico, el metacrilato de metilo.

1. Metacrilato de metilo

El metacrilato de metilo (MMA) es un líquido de olor característico y suave con una solubilidad en agua del 1.5% v/v. Por polimerización de este monómero se obtiene el polimetacrilato de metilo (PMMA), comúnmente conocido como acrílico (Whitaker, 1996), vidrio orgánico (Dittgen y col., 1997) o vidrio acrílico (Areizaga y col., 2002). Es un material termoplástico, transparente, que se ha comercializado por diferentes compañías bajo nombres como Plexiglass[®], Lucite[®], Acrylite[®], Acrilglass[®] (Areizaga y col., 2002). El PMMA posee una estructura molecular amorfa y rígida que le confiere estabilidad en presencia de agua, oxígeno y luz. Su estabilidad química se debe a la presencia de un esqueleto polimérico de átomos de carbono estabilizado por los grupos metilos laterales y cuyos grupos ésteres resisten el ataque hidrolítico de ácidos y bases diluidos (Dittgen y col., 1997).

Se ha utilizado en aplicaciones médicas desde su introducción en los años 30. Uno de los primeros usos de las hojas de acrílico fue en la fabricación de incubadoras. En la actualidad, se emplea en la elaboración de cubetas, tubos conectores, espéculos y muchos otros dispositivos médicos que requieren resistencia al impacto, resistencia química y transparencia (Whitaker, 1996). También se utiliza en la elaboración de dispositivos que deben permanecer por periodos largos de tiempo en contacto con los tejidos humanos. Esta utilidad surge en 1955, cuando se implantó la primera prótesis intraocular (Whitaker, 1996). Actualmente, se sigue usando en traumatología como cemento óseo para reparar fracturas, en odontología como prótesis dentales y en muchas otras aplicaciones (Areizaga y col., 2002).

El PMMA utilizado como biomaterial debe estar libre de monómero residual. El producto de esta calidad cumple con los procedimientos de los ensayos biológicos clase VI de la USP y con los requisitos establecidos por la FDA en el 21 CFR 177.1010 (Whitaker, 1996). Los ensayos toxicológicos también han demostrado que, después de la ingestión oral de resinas acrílicas, éstas no son metabolizadas ni absorbidas en el tracto digestivo (Dittgen y col., 1997).

Esta última característica favorece su utilización en farmacia como material para la elaboración de formas de dosificación. En este sentido, la rigidez del PMMA lo hace inapropiado para utilizarlo como único excipiente, por lo que se usa mezclado o copolimerizado con resinas acrílicas que son más suaves y flexibles. Algunos ejemplos de materiales comerciales de copolímeros de este tipo son el Eudragit[®] E100 (copolímero de metacrilato de butilo, MMA y N,N-dietilaminoetilmetacrilato) y el Eudragit[®] NE30D (dispersión de etiletacrilato y MMA).

2. Almidón

El almidón es un polímero natural biodegradable que se encuentra ampliamente en la naturaleza. Se obtiene a partir de las partes aéreas de plantas como el trigo, maíz y arroz o de partes subterráneas (tubérculos) de plantas como la patata y la tapioca. Es una combinación física de polímeros lineales (amilosa) y ramificados (amilopectina). Su composición varía de una planta a otra, con valores alrededor del 20% de amilosa y el 80% de amilopectina. No obstante, existen genotipos de algunas plantas que producen almidones con un contenido de amilosa que oscila entre el 0% y el 85% (Langlois y Wagoner, 1967). Ambos polímeros están formados por cientos de unidades de α -D-glucopiranosas.

La amilosa se define como una molécula lineal en la cual las unidades α -D-glucopiranosas se unen a través de enlaces α 1 \rightarrow 4, aunque se sabe que algunas moléculas de amilosa están ligeramente ramificadas por la unión de glucosas mediante enlaces α 1 \rightarrow 6 (Langlois y Wagoner, 1967; Buleon y col., 1998). Este polímero presenta una disposición espacial helicoidal mediante uniones de puentes de hidrógeno que pueden debilitarse y romperse fácilmente por acción del pH y la temperatura (Cubero y col., 2002).

La amilosa en solución sufre un proceso conocido como retrogradación, durante el cual las cadenas del polímero se reorganizan de forma diferente a su estado original en el gránulo de almidón. Es un proceso de insolubilización gradual e irreversible que se debe a la tendencia de las cadenas de amilosa, en dispersiones, a alinearse en forma paralela la una a la otra. Los grupos hidroxilos sobre cadenas alineadas forman puentes de hidrógeno entre sí, produciendo un conglomerado que finalmente precipita como partículas insolubles (Avebe, 2003).

Dependiendo del modo de obtención de la amilosa, ésta puede ser insoluble o soluble en agua. La amilosa obtenida por retrogradación es insoluble en agua, mientras que la obtenida por formación de un complejo con butanol es completamente soluble en agua caliente a concentraciones hasta del 15%, aunque la solución es inestable y la amilosa sufre retrogradación rápidamente (Langlois y Wagoner, 1967).

La amilopectina es el componente ramificado del almidón. Está formada por cadenas cortas de α -D-glucopiranosas unidas por enlaces α 1 \rightarrow 4; a su vez, estas cadenas cortas están unidas por uniones α 1 \rightarrow 6 a los puntos de ramificación (Figura

5). A diferencia de la amilosa, la amilopectina no sufre el proceso de retrogradación y es soluble en agua.

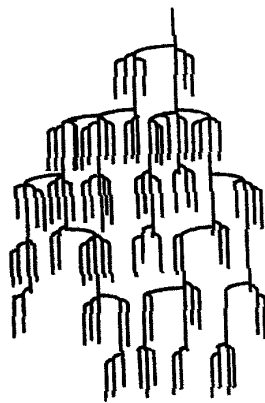


Figura 5. Diagrama de la estructura molecular de la amilopectina propuesta por Meyer (Buleon y col., 1998).

El almidón se usa poco en estado natural, puesto que sus propiedades funcionales no se adecúan a muchos procesos productivos. En el caso de la industria farmacéutica, tiene problemas de compresibilidad, lo que impide la elaboración de comprimidos a una resistencia a la rotura adecuada, sufre expansión elástica después de la compresión y posee pobres propiedades de fluidez (Sheth y col., 1980). Sus soluciones pierden viscosidad con facilidad, precipitan (retrogradación) y son poco estables a pH_s bajos y temperaturas altas (Cubero y col., 2002). Estas circunstancias hacen que se prefieran los almidones modificados.

La modificación del almidón conlleva un cambio en sus propiedades funcionales y fisicoquímicas (viscosidad, adhesión, floculación, dispersión) (Cubero y col., 2002). Estas modificaciones se pueden realizar a través de tratamientos físicos o químicos. La modificación física se conoce como pregelatinización y consiste en gelatinizar el almidón natural y luego deshidratarlo mediante procesos como extrusión, secado en tambor, nebulización en corriente de aire caliente o liofilización. El producto así obtenido produce una dispersión viscosa cuando se mezcla con agua fría.

Las modificaciones químicas se llevan a cabo sobre los tres grupos hidroxilos disponibles en cada unidad de α -D-glucopiranososa, aprovechando la susceptibilidad de éstos a reacciones de sustitución nucleofílica. Entre éstas podemos destacar la degradación ácida o enzimática, la sustitución y la reticulación.

La degradación ácida se realiza mediante la acidificación del almidón con HCl o H₂SO₄ (Cubero y col., 2002) y la degradación enzimática por la acción de las amilasas y las glucosidasas.

La sustitución es una modificación que permite estabilizar el almidón contra el fenómeno de retrogradación. Entre los almidones estabilizados se encuentran el acetato de almidón, el hidroxipropilalmidón, el carboximetilalmidón, fosfato de almidón y succinato de almidón. Los grupos sustituyentes interfieren con la asociación molecular entre las cadenas de amilosa disueltas en las pastas de almidón. Generalmente, el grado de sustitución de estos almidones varía entre 0.01 y 0.20 (Avebe, 2003).

La reticulación consiste en formar puentes inter e intracatenarios por medio de reactivos químicos bi o polifuncionales capaces de reaccionar con los grupos hidroxilos creando un almidón estable a los ambientes ácidos, tratamientos térmicos y a la pérdida de viscosidad durante la agitación (Avebe, 2003).

Los almidones naturales y modificados se utilizan ampliamente en industrias alimentarias, de papel, textiles, de adhesivos, de fundición y farmacéuticas. Recientemente, se está investigando su aplicación en la elaboración de nuevos materiales plásticos biodegradables. Las estrategias consisten en mezclarlo o fundirlo con el polímero apropiado, o en la copolimerización de injerto de polímeros termoplásticos dentro del almidón (Chandra y Rustgi, 1998). Dennenberg y col. (1978) demostraron que la porción de almidonada en este tipo de copolímeros es susceptible al ataque por hongos.

En la industria farmacéutica, el almidón se utiliza como diluyente (Ferrero y col., 1996), disgregante y aglutinante (Ferrero y col., 1997a) y como excipiente de liberación prolongada (Ferrero y col., 1997b).

ALMIDONES MODIFICADOS EN LIBERACIÓN PROLONGADA

Algunos almidones modificados presentan características adecuadas para la formulación de comprimidos de liberación prolongada. Entre las modificaciones más utilizadas tenemos la pregelatinización, la reticulación, la sustitución y mezclas de algunos de estos métodos de modificación.

1. Pregelatinización

Herman y col. (1989) fueron de los primeros investigadores en estudiar la utilidad de este método en el diseño de comprimidos de liberación prolongada. En un estudio posterior (Herman y Remon, 1989) pregelatinizaron parcial o totalmente almidones naturales con diferentes contenidos de amilosa (0%, 25% y 70%), y los sometieron a secado en estufa de tambor, extrusión y nebulización. También secaron por estos tres métodos almidones nativos sin pregelatinizar. Los autores encontraron que los almidones nativos y los obtenidos por nebulización sin pregelatinizar o parcialmente pregelatinizados presentaron una rápida liberación del fármaco debido a la disgregación de los comprimidos, al contrario de los almidones totalmente pregelatinizados. En este grupo, se observó que la velocidad de liberación aumentaba con el contenido de amilosa, por lo que los autores concluyeron que la mayor prolongación de la liberación se conseguía con los almidones con 0% de amilosa pregelatinizados y secados por nebulización o en estufa de tambor.

En un estudio final (Herman y Remon, 1990), llevado a cabo para determinar si los resultados obtenidos *in vitro* eran concordantes con los resultados conseguidos en animales de experimentación (perros) y realizado con almidones pregelatinizados secados en estufa de tambor y por extrusión, encontraron que, aunque los estudios *in vitro* mostraron una mayor prolongación de la liberación con los almidones pregelatinizados con 0% de amilasa, éstos no prolongaron la liberación *in vivo*; por el contrario, los comprimidos elaborados con los almidones con 25% de amilosa, pregelatinizados y secados en tambor o por extrusión, presentaban un comportamiento similar a Theo-Dur[®]. Los autores atribuyeron este resultado a la debilidad de la capa gelosa que forma la amilopectina alrededor del comprimido cuando se encuentra en el medio de disolución, la cual parece ser más resistente cuando los almidones contienen 25% de amilosa.

Sánchez y col. (1995) gelatinizaron almidón de trigo y lo desecaron por liofilización. Al igual que los demás almidones pregelatinizados, el producto resultante se hinchó en agua fría, aunque se acentuaron los problemas de flujo del almidón nativo. Estas propiedades se mejoraron con la adición de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), cuya presencia también fue necesaria para prolongar la liberación.

2. Reticulación

El efecto de la reticulación sobre la prolongación de la liberación fue estudiado por Visavarungroj y col. (1990). Con este fin utilizaron almidón de maíz con 0% de amilosa, el cual sometieron a pregelatinización, reticulación o combinación de ambos. Los resultados obtenidos indicaron que la reticulación, con o sin pregelatinización, no favorece la prolongación de la liberación de fármacos a partir de comprimidos elaborados con estos materiales.

Lenaerts y col. (1991) modificaron la amilosa, procedente de almidón de maíz, someténdola a diferentes grados de reticulación y evaluaron la capacidad de estos materiales para prolongar la liberación de teofilina. Encontraron que la amilosa con más bajo nivel de reticulación liberaba la teofilina casi de forma lineal y por un tiempo superior a 15 horas. Publicaciones posteriores mostraron que los resultados eran similares cuando se modificaba almidón de maíz con alto contenido de amilosa (70%) (University of Washington Patent, 1992). En la actualidad, este producto se comercializa con el nombre de Contramid[®].

Los estudios sobre este sistema (Contramid[®]) han continuado e incluyen la evaluación del mecanismo de liberación de fármacos (Lenaerts y col., 1998; Moussa y col., 1998), los cambios moleculares durante la humectación (Le Bail y col., 1999; Ispas-Szabo y col., 2000) y el efecto de la degradación enzimática sobre la liberación (Rahmouni y col., 2001). También se estudió su posible aplicación en implantes para la liberación de proteínas y antibacterianos. Con este objetivo se realizaron ensayos de biocompatibilidad en ratas (Désévaux y col., 2002a) y monos (Désévaux y col., 2002b), liberación de hormona del crecimiento en cerdos (Désévaux y col., 2002b) y desarrollo y posterior evaluación *in vivo* de implantes de ciprofloxacina (Désévaux y col., 2002c, 2002d). Los resultados mostraron que los implantes son biocompatibles, reabsorbibles y prolongan la liberación tanto de moléculas proteicas (hormona del crecimiento) como de antibacterianos.

3. Sustitución

Chebli y col. (1999) obtuvieron un nuevo material para prolongar la liberación de fármacos por sustitución de los hidroxilos de la amilosa. Los autores ensayaron el efecto de diferentes sustituyentes (glicidol, 1,2-epoxibutano, 1,2-epoxidodecano y 1-clorobutano) y grados de sustitución sobre la liberación de acetaminofeno. Detectaron que, aunque todos los sistemas prolongaban la liberación, los mejores

resultados se obtuvieron con el producto sustituido con glicidol con un grado de sustitución entre 0.4 y 3.4.

Un estudio posterior (Chebli y Cartilier, 2000), centrado en el efecto de algunos parámetros sobre las propiedades de liberación prolongada de matrices de amilosa sustituida, reveló que la fuerza de compresión no tuvo un efecto significativo sobre las propiedades de liberación de glicidol-amilosa con un grado de sustitución mayor de 2.7, y que el peso del comprimido era directamente proporcional al T90% (tiempo en el que se libera el 90% de principio activo) del fármaco usado (maleato de clorfeniramina, acetaminofeno y teofilina). Además, los estudios de biodegradación (Chebli y col., 2001) mostraron que este material puede resistir la acción de las α -amilasas.

4. Modificaciones múltiples

La mezcla de diversos mecanismos de modificación del almidón es otra alternativa para la obtención de excipientes de liberación prolongada a partir de este material. En este sentido, Te Wierik y col. (1993a) prepararon un material compuesto de cadenas cortas de amilosa (amilodextrinas) mediante hidrólisis enzimática selectiva de los enlaces glicosídicos $\alpha 1 \rightarrow 6$ de la amilopectina de almidón de maíz céreo (100% amilopectina) previamente gelatinizado. Después de la hidrólisis, el producto fue precipitado (retrogradado), filtrado y lavado con etanol. El material resultante se caracterizó por presentar un área superficial elevada y excelentes propiedades de aglutinación en seco (Te Wierik y col., 1994). El estudio del mecanismo de liberación del fármaco mostró una liberación prolongada con velocidad casi constante, controlada por la penetración de un frente de hinchamiento activado por el solvente (Te Wierik y col., 1993b). Van der Veen y col. (1994) destacaron el uso de este excipiente como una nueva alternativa farmacéutica en el diseño de formas de dosificación de liberación prolongada utilizando teofilina como fármaco modelo.

A pesar del buen comportamiento de este material, los almidones con 100% de amilopectina no están disponibles aún a gran escala. Por este motivo, los autores evaluaron la posibilidad de usar almidón de patata normal como materia prima, complementando el proceso de degradación de la amilopectina con la disminución de la longitud de las cadenas de amilosa con α -amilasa. El producto obtenido también presentó buenas características para su uso en liberación prolongada (Te Wierik y col., 1996, 1997a, 1997b).

Otros materiales logrados por la combinación de métodos de modificación del almidón han sido señalados por Mulhbacher y col. (2001). Consisten en la sustitución de los grupos hidroxilos del almidón reticulado con alto contenido de amilosa (Contramid[®]) con grupos catiónicos (carboximetil), aniónicos (aminoetil) y no iónicos (acetato). Estos nuevos excipientes tienen la habilidad de prolongar la liberación hasta 20 horas a partir de comprimidos con cantidades de fármacos comprendidas entre el 20 y el 60% de su peso final. La prolongación de la liberación puede lograrse con una amplia variedad de fármacos: no iónicos (acetaminofeno), con grupos ácidos (ácido acetilsalicílico) y con grupos básicos (metformina).

COPOLIMERIZACIÓN DE ALMIDONES PARA LIBERACIÓN PROLONGADA

A finales de los años 90 se inicia una colaboración entre el grupo “Biomateriales” de la Facultad de Química de la Universidad del País Vasco y el grupo “Optimización y Producción Farmacéutica” (Junta de Andalucía CTS-163) de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla (Proyectos MAT1998-0488 y MAT2001-3874-C02-01), que se centró en injertar monómeros acrílicos en diversos carbohidratos previamente modificados.

Así, se desarrolló la Tesis de la Dra. Castellano (1997) cuyo objetivo fue la copolimerización de almidones de patata modificados (hidroxipropilalmidón, HA y carboximetilalmidón, CA) y celulosas modificadas (hidroxipropilcelulosa, HC y carboximetilcelulosa, CC) con el monómero metacrilato de metilo (MMA).

El proceso de síntesis se llevó a cabo mediante una reacción por radicales libres (Figura 6). Se utilizó cerio (IV) (nitrato de cerio y amonio) como agente iniciador que forma, en un paso intermedio, un complejo entre los carbonos C₂ y C₃ de las unidades de glucopiranososa creando, por oxidación, un radical libre en C₃, sobre el que reacciona el monómero y se inicia la polimerización. El copolímero que se obtiene está constituido por una cadena principal con propiedades hidrófilas, correspondiente al carbohidrato, a la que se unen, al azar, cadenas de polimetacrilato de metilo (PMMA) de carácter hidrófobo. El PMMA no injertado queda en forma de cadenas libres en el producto final.

Las sustancias sintetizadas se sometieron a dos procesos distintos de secado: en estufa de convección a 50°C durante 48 horas, seguido de secado en estufa de vacío

(5-10 mm Hg), a la misma temperatura, hasta peso constante (copolímeros O), y por liofilización, congelando el producto a -20°C durante 24 horas y posteriormente sublimando el agua a una presión de 100 mtorrs a -50°C hasta obtener un sólido pulverulento deshidratado (copolímeros L). Estas dos técnicas fueron elegidas como modelo de dos tipos distintos de eliminación del agua (cambio de fase líquido-gas y sólido-gas, respectivamente) para dilucidar su posible influencia en las características de los productos resultantes.

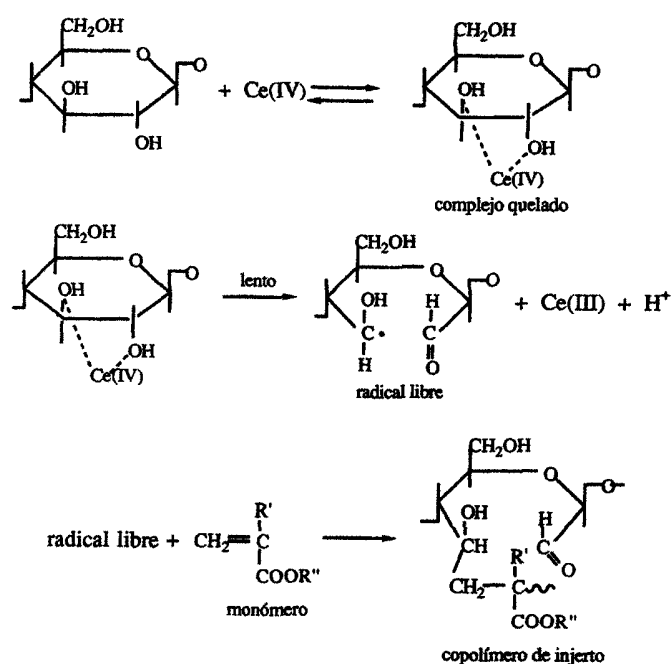


Figura 6. Mecanismo de oxidación de la anhidroglucosa por Ce(IV) (Castellano, 1997).

Además de realizarse una caracterización físico-química exhaustiva de los copolímeros, se evidenciaron buenas perspectivas para el uso de los materiales copolimerizados con MMA como agentes formadores de matrices para la liberación prolongada de fármacos. Como consecuencia de ello, la Tesis de la Dra. Ferrero (1999) se centró en la caracterización tecnológica de estos copolímeros para demostrar su idoneidad como excipientes de compresión directa, así como en la

evaluación de los procesos involucrados en la liberación del principio activo (teofilina anhidra).

Los resultados derivados de la caracterización tecnológica permitieron concluir que todos los materiales presentaban una estructura amorfa con una temperatura de transición vítrea en torno a los 100°C. Por otro lado, el método de secado, así como la molturación a la que fueron sometidos los derivados secados en estufa, dio lugar a notables diferencias en la morfología de las partículas, en su distribución de tamaño y en la capacidad de flujo de estos derivados. Además, los copolímeros mostraron un proceso de densificación por deformación predominantemente plástica.

La aplicación de diferentes ecuaciones cinéticas y la evaluación del movimiento de frentes mostraron que los sistemas se comportan como matrices inertes. Los comprimidos obtenidos a partir de las formas L (mayor porosidad) se caracterizaron por una menor velocidad de liberación, lo que se asoció a una mayor tortuosidad en estos sistemas, que se traduce en una mayor distancia a recorrer por el fármaco antes de liberarse de la forma de dosificación.

Como parte final de dicho trabajo, el estudio realizado a partir de distintas fracciones granulométricas (25-200 μm y 300-500 μm) de los copolímeros reveló, entre otros aspectos, que no existían diferencias manifiestas en lo concerniente al efecto del tamaño de partícula sobre la liberación del fármaco para las dos fracciones evaluadas.

Los estudios de liberación realizados por la Dra. Ferrero (1999) mostraron que la mayoría de las matrices no liberaban la totalidad del fármaco tras 14 horas de ensayo, por lo que la Dra. Miró (2002) abordó su tesis doctoral con el objetivo de determinar aquellas mezclas copolímero–excipiente comercial de compresión directa que ofrecieran una adecuada velocidad de liberación, además de respetar la integridad de los sistemas matriciales. Para ello, se evaluaron las características de fluidez, compresión y liberación de teofilina anhidra a partir de matrices elaboradas con mezclas de los copolímeros y tres excipientes de compresión directa a distintas proporciones. Estos excipientes fueron seleccionados en función de su mecanismo de compresión y de su solubilidad en agua: fosfato dicálcico anhidro (fragmentable e insoluble), celulosa microcristalina (plástico e insoluble) y lactosa (plástico y soluble).

En relación a las propiedades de fluidez, el fosfato dicálcico anhidro y la lactosa fueron los excipientes que más favorecieron el flujo a las proporciones estudiadas;

por el contrario, las mezclas de celulosa con estos copolímeros empeoraron, de forma apreciable, las características de fluidez.

En cuanto a las propiedades de compresión, se puso de manifiesto la clara influencia del comportamiento individual de los excipientes de compresión directa sobre las mezclas. Así, para las mezclas con fosfato dicálcico anhidro se observó una disminución de la plasticidad y elasticidad y un aumento de la tendencia a la densificación por fragmentación. La presencia de celulosa microcristalina en las mezclas mejoró considerablemente las características de compresión de las mismas, aunque se produjo también un aumento en la elasticidad total en relación a los copolímeros puros. Por último, las mezclas con lactosa mostraron un comportamiento irregular ante la compresión, pudiendo destacarse la considerable disminución de la plasticidad observada a medida que aumentó su proporción en la mezcla, indicativo de una fuerte interacción entre los componentes.

En lo concerniente al comportamiento en disolución, el fosfato dicálcico anhidro fue el diluyente que menos afectó al parámetro porcentaje disuelto a las 8 h, mientras que la celulosa microcristalina y la lactosa incrementaron significativamente la velocidad de disolución en todas las formulaciones, si bien, para proporciones de excipiente altas, no se pudo mantener la integridad de las matrices durante el ensayo.

De forma paralela, y teniendo en cuenta que los sólidos utilizados en tecnología farmacéutica pueden adquirir cierta humedad residual durante su proceso de elaboración y almacenamiento (Zografi, 1988), lo que puede afectar a numerosas operaciones tecnológicas, la Tesis de la Dra. Bravo (2003) se centró en el estudio del efecto de la humedad sobre las características tecnológicas y de liberación de los copolímeros derivados del almidón y metacrilato de metilo.

Los resultados obtenidos mostraron que la presencia del monómero (MMA) disminuyó la captación de agua por parte de los copolímeros, por lo que pueden ser catalogados como productos “moderadamente higroscópicos”. Sin embargo, la captación fue más acentuada en los productos carboximetilados. Los ajustes teóricos de las isotermas de sorción y desorción de agua pusieron de manifiesto que la mayor cantidad de injerto acrílico en HAMMA limita la hidratación directa de la cadena carbohidratada en forma de monocapa, de modo que las moléculas de agua van siendo absorbidas en el interior de las partículas mediante uniones agua-agua, lo que da lugar a un efecto plastificante. Por el contrario, CAMMA alberga más moléculas de agua directamente unida al sólido, debido a su mayor hidrofilia y también a su estructura menos alterada.

Introducción general

Las mejores características de fluidez y compresión se observaron para todos los copolímeros a humedades relativas (HR) entre 25-50%.

Finalmente, la liberación de teofilina anhidra a partir de estos sistemas matriciales fue prácticamente independiente de la HR, ofreciendo parámetros cinéticos similares para las distintas formulaciones, y evidenciando un claro mecanismo de liberación por difusión. Por el contrario, la presencia de cantidades crecientes de agua en las formulaciones con sulfato de salbutamol incrementó su liberación. Los estudios cinéticos mostraron que la liberación, en este caso, tiene lugar mediante un mecanismo combinado de difusión y erosión.

BIBLIOGRAFÍA

- AREIZAGA, J. y col. *Polímeros*. Madrid: Síntesis S.A., 2002. 367-368 p.
- AVEBE. Avebe food site. *Glossary/* [en línea]. [Consulta: 16 agosto 2003]. <<http://www.avebe.com/website/avebe.nsf/frameset?openform&food>>.
- BRANNON-PEPPAS, L. Polymers in controlled drug delivery. *Medical plastics and biomaterials magazine/* [en línea]. Noviembre 1997. [Consulta: 16 agosto 2003]. <<http://www.Devicelink.com/mpb/archive/97/11/003.html>>.
- BRAVO, I. *Efecto de la humedad sobre las características tecnológicas de copolímeros de almidón y metacrilato de metilo*. Tesis doctoral, Universidad de Sevilla, 2003.
- BULEON, A. y col. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1998, 23: 85-112.
- CASTELLANO, I. *Estudio de copolímeros de injerto sintetizados para su uso como excipientes de fármacos de liberación controlada en formas orales por compresión directa*. Tesis doctoral, Universidad del País Vasco, 1997.
- CHANDRA, R. y RUSTGI, R. Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 1998, 23(7): 1273-1335.
- CHEBLI, C. y col. Substituted amylose as a matrix for sustained drug release. *Pharmaceutical Research*, 1999, 16(9): 1436-1440.
- CHEBLI, C. y CARTILIER, L. Effect of some physical parameters on the sustained drug-release properties of substituted amylose matrices. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 193: 167-173.
- CHEBLI, C., CARTILIER, L. y HARTMAN, N.G. Substituted amylose as a matrix for sustained-drug release: a biodegradation study. *International Journal of Pharmaceutics*, 2001, 222: 183-189.
- CHIEN, Y.W. *Novel drug delivery systems. Fundamental. Developmental concepts. Biomedical. Assessments*. 1ª ed. New York: Marcel Dekker, INC, 1982. 633 p. Drugs and the pharmaceutical sciences. Vol. 14.

COLLETT, J. y MORETON C. Modified-release peroral dosage forms. En AULTON, M.E. (Ed.) *Pharmaceutics: The science of dosage form design*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2002, p. 289-305.

CUBERO, N., MONFERRER, A. y VILLALTA, J. *Aditivos alimentarios*. Madrid: Mundi-Prensa, 2002. 115-157 p.

DENNENBERG, R.J., BOTHAST, R.J. y ABBOTT, T.P. New biodegradable plastic made from starch graft poly(methylacrylate)copolymer. *Journal of Applied Polymer Sciences*, 1978, 22(2): 459-465.

DÉSÉVAUX, C. y col. Tissue reaction and biodegradation of implanted cross-linked high amylose starch in rats. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002a, 63: 772-779.

DÉSÉVAUX, C. y col. Characterization of subcutaneous Contramid[®] implantation: Host response and delivery of a potent analog of the growth hormone-releasing factor. *International Journal of Pharmaceutics*, 2002b, 232: 119-129.

DÉSÉVAUX, C., DUBREUIL, P. y LENAERTS, V. Characterization of cross-linked high amylose starch matrix implants: I. In vitro release of ciprofloxacin. *Journal of Controlled Release*, 2002c, 82: 83-93.

DÉSÉVAUX, C., DUBREUIL, P. y LENAERTS, V. Characterization of cross-linked high amylose starch matrix implants: II. In vivo release of ciprofloxacin. *Journal of Controlled Release*, 2002d, 82: 95-103.

DITTFEN, M., DURRANI, M. y LEHMANN, K. Acrylic polymers: a review of pharmaceutical applications. *S.T.P. Pharma Sciences*, 1997, 7(6): 403-437.

EGE, S. *Química Orgánica. Estructura y Reactividad*. 3^a ed. Barcelona: Reverté, 1998. 1249-1296 p. Vol. II.

FERRERO, M.C. y col. Utilización de los almidones en la industria farmacéutica: I. Su papel como diluyente. *Industria Farmacéutica*, 1996, Septiembre-October: 71-74.

FERRERO, M.C. y col. Utilización de los almidones en la industria farmacéutica:

II. Su papel como disgregante y aglutinante. *Industria Farmacéutica*, 1997a, Marzo-Abril: 81-85.

FERRERO, M.C., MUÑOZ-RUIZ, A. y JIMÉNEZ-CASTELLANOS, M.R. Utilización de los almidones en la industria farmacéutica: III. Su papel en liberación controlada. *Industria Farmacéutica*, 1997b, Mayo-Junio: 67-69.

FERRERO, C. *Caracterización tecnológica de nuevos copolímeros acrílicos de celulosa y almidón como excipientes para sistemas matriciales por compresión directa. Estudio del mecanismo de liberación de teofilina a partir de estas matrices*. Tesis doctoral, Universidad de Sevilla, 1999.

GARCÍA, C.R., SIQUEIROS, A. y BENET, L.Z. Oral controlled release preparations. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 1978, 53(3-4): 99-108.

GRIFFITH, L.G. Polymeric biomaterials. *Acta Materialia*, 2000, 48: 263-277.

HELLER, J. Fundamentals of polymer science. En ROBINSON, J.R. y LEE V.H.L. (Eds.) *Controlled drug delivery: Fundamentals and applications*. 2ª ed. New York: Marcel Dekker, INC, 1987, p. 139-177. *Drugs and the pharmaceutical sciences*. Vol. 29.

HERMAN, J., REMON, J.P. y DE VILDER, J. Modified starches as hydrophilic matrices for controlled oral delivery: I. Production and characterization of thermally modified starches. *International Journal of Pharmaceutics*, 1989, 56: 51-63.

HERMAN, J. y REMON, J.P. Modified starches as hydrophilic matrices for controlled oral delivery: II. In vitro drug release evaluation of thermally modified starches. *International Journal of Pharmaceutics*, 1989, 56: 65-70.

HERMAN, J. y REMON, J.P. Modified starches as hydrophilic matrices for controlled oral delivery: III. Evaluation of sustained-release theophylline formulations based on thermal modified starch matrices in dogs. *International Journal of Pharmaceutics*, 1990, 63: 201-205.

HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication: theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Science*, 1963, 52(12): 1145-1149.

HOLGADO, M.A., FERNÁNDEZ-ARÉVALO, M. y RABASCO, A.M. Sistemas de liberación controlada: II. Métodos de obtención farmacotécnicos. *Industria Farmacéutica*, 1990, Marzo-Abril: 67-79.

HUBER, H.E., DALE, L.B. y CHRISTENSON, G.L. Utilization of hydrophilic gums for the control of drug release from tablet formulations: I. Disintegration and dissolution behavior. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1966, 55(9): 974-976.

ISPAS-SZABO, P. y col. Structure-properties relationship in cross-linked high-amylose starch for use in controlled drug release. *Carbohydrate Research*, 2000, 323: 163-175.

LANGLOIS, D.P. y WAGONER, J.A. Production and use of amylose. En WHISTLER, R.L. y PASCHALL, E.F. (Eds.) *Starch: chemistry and technology*. New York: Academic Press, 1967, Vol. II, p. 451-497.

LAPIDUS, H. y LORDI, N.G. Drug release from compressed hydrophilic matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1968, 57(8): 1292-1301.

LAZARUS, J. y COOPER, J. Absorption, testing and clinical evaluation of oral prolonged action drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1961, 50(9): 715-731.

LE BAIL, P., MORIN, F.G. y MARCHESSAULT, R.H. Characterization of a crosslinked high amylose starch excipient. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1999, 26: 193-200.

LENAERTS, V., DUMOULIN, Y. y MATEESCU, M.A. Controlled release of theophylline from cross-linked amylose tablets. *Journal of Controlled Release*, 1991, 15: 39-46.

LENAERTS, V. y col. Cross-linked high amylose starch for controlled release of drugs: recent advances. *Journal of Controlled Release*, 1998, 53: 225-234.

MIRÓ, L. *Efecto de diferentes excipientes de compresión directa sobre las propiedades tecnológicas y de liberación de matrices elaboradas con copolímeros de metacrilato de metilo*. Tesis doctoral, Universidad de Sevilla, 2002.

MOUSSA, I.S., LENAERTS, V. y CARTILIER, L.H. Image analysis studies of water transport and dimensional changes occurring in the early stages of hydration

- in cross-linked amylose matrices. *Journal of Controlled Release*, 1998, 52: 63-70.
- MULHBACHER, J. y col. Cross-linked high amylose starch derivatives as matrices for controlled release of high drug loadings. *Journal of Controlled Release*, 2001, 7: 51-58.
- PILLAI, O., DHANIKULA, A.B. y PANCHAGNULA, R. Drug delivery: an odyssey of 100 years. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2001, 5: 439-446.
- RAHMOUNI, M. y col. Enzymatic degradation of cross-linked high amylose starch tablets and its effect on in vitro release of sodium diclofenac. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2001, 51: 191-198.
- SÁNCHEZ, L., TORRADO, S. y LASTRES, J.L. Gelatinized/freeze-dried starch as excipient in sustained release tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 1995, 115: 201-208.
- SCHOTT, H. Polymer Science. En MARTIN, A., SWARBRICK, J. y CAMMARATA, A. (Eds.) *Physical pharmacy. Physical chemical principles in the pharmaceutical sciences*. 3ª ed. Filadelfia: Lea y Febiger, 1983, p. 592-638.
- SHARGEL, L y YU, A.B.C. *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics*. 3ª ed. London: Prentice Hall International, 1993. 228, 336 p.
- SHETH, B.B., BANDELIN, F.J. y SHANGRAW, R.F. Compressed tablets. En LIEBERMAN, H.A. y LACHMAN, L. (Eds.) *Pharmaceutical dosage forms: Tablets*. New York: Marcel Dekker, INC., 1980, Vol. I, p. 109-185.
- TE WIERIK, G.H.P. y col. Preparation, characterization and pharmaceutical application of linear dextrans: I. Preparation and characterization of amyloextrin, metastable amyloextrins and metastable amylose. *Pharmaceutical Research*, 1993a, 10: 1274-1279.
- TE WIERIK, G.H.P. y col. Preparation, characterization and pharmaceutical application of linear dextrans: VI. General applicability and mechanism of programmed release from amyloextrin tablets. *Journal of Controlled Release*, 1993b, 27: 9-17.
- TE WIERIK, G.H.P., EISSENS, A.C. y LERK, C.F. Preparation, characterization and pharmaceutical application of linear dextrans: V. Study on the binding

properties of amylopectin, metastable amylopectin and metastable amylose. *International Journal of Pharmaceutics*, 1994, 102: 81-90.

TE WIERIK, G.H.P. y col. A new generation of starch products as excipient in pharmaceutical tablets: I. Preparation and binding properties of high surface area potato starch products. *International Journal of Pharmaceutics*, 1996, 134: 27-36.

TE WIERIK, G.H.P. y col. A new generation of starch products as excipient in pharmaceutical tablets. II. High surface area retrograded pregelatinized potato starch products in sustained-release tablets. *Journal of Controlled Release*, 1997a, 45: 25-33.

TE WIERIK, G.H.P. y col. A new generation of starch products as excipient in pharmaceutical tablets: III. Parameters affecting controlled drug release from tablets based on high surface area retrograded pregelatinized potato starch. *International Journal of Pharmaceutics*, 1997b, 157: 181-187.

UHRICH, K.E. y col. Polymeric systems for controlled drug release. *Chemical Reviews*, 1999, 99(11): 3181-3198.

UNIVERSITY OF WASHINGTON, UNIVERSITY OF QUEBEC A MONTREAL, LABOPHARM INC. *Solid slow release oral dosage unit prepd. from amylose crosslinked with epichlorohydrin or 2,3-di:bromo:propanol and a therapeutic drug*. Inventor: MATEESCU, M.A., LENAERTS, V. y DUMOULIN, Y. Canadian Patent. CA 2 041 774-A. 1992.

VAN DER VEEN, J. y col. Controlled release of theophylline monohydrate from amylopectin tablets: in vitro observations. *Pharmaceutical Research*, 1994, 11 (4): 499-502.

VISAVARUNGROJ, N., HERMAN, J. y REMON, J.P. Crosslinked starch as sustained release agent. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1990, 16 (7): 1091-1108.

WHITAKER, W.A. Acrylic polymers: a clear focus. *Medical plastics and biomaterials magazine*/ [en línea]. Enero 1996. [Consulta: 16 agosto 2003]. <<http://www.Devicelink.com/mpb/archive/96/01/001.html>>.

ZOGRAFI, G. States of matter associated with solids. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1988, 14(14): 1905-1926.

OBJETIVOS

Teniendo en cuenta los avances obtenidos por nuestro grupo de investigación en el desarrollo de nuevos materiales para la prolongación de la liberación de principios activos, este trabajo tiene como **objetivo fundamental determinar si las matrices elaboradas con los copolímeros resultantes del injerto de metacrilato de metilo sobre los derivados del almidón de patata, hidroxipropilalmidón y carboximetilalmidón, prolongan la liberación del fármaco (teofilina anhidra) *in vivo*.**

Para alcanzar esta meta, se realizarán previamente una serie de estudios orientados a verificar si la variabilidad que pueda presentarse, tanto entre los lotes del mismo material como en el proceso de elaboración de los comprimidos, provoca diferencias en la liberación *in vitro* de teofilina. Asimismo, se analizará el efecto del pH del medio de disolución, de la resistencia a la rotura de los comprimidos y de la velocidad de agitación sobre el comportamiento de liberación de dichas matrices, en comparación con dos especialidades farmacéuticas de referencia. El estudio culminará con la evaluación *in vivo* de las formulaciones.

Debido a la diversidad de los resultados que se generarán en este trabajo, esta memoria se estructurará en tres capítulos fundamentales, con el fin de favorecer su comprensión.

CAPÍTULO I. Efecto de la variabilidad interlote de los copolímeros y de un gradiente de pH sobre la liberación de teofilina

El primer estudio de este capítulo está enfocado a verificar que comprimidos elaborados con varios lotes del mismo copolímero presentan características de liberación semejantes y que, por lo tanto, el proceso de síntesis proporciona lotes homogéneos con respecto a este parámetro. Partiendo de esta premisa, el segundo estudio pretende valorar el comportamiento de la liberación, frente a un gradiente de pH, de los sistemas matriciales elaborados con los copolímeros objeto de estudio, en comparación con dos especialidades farmacéuticas de referencia: Theodor[®] (liberación independiente del pH) y Theolair[®] (liberación dependiente del pH).

CAPÍTULO II. Desarrollo y caracterización tecnológica de las formulaciones

En la primera parte de este capítulo se lleva a cabo una evaluación del efecto de la resistencia a la rotura de los comprimidos matriciales sobre la liberación de teofilina. La comparación de dichos perfiles con los correspondientes a las especialidades farmacéuticas de referencia permitirá elegir las formulaciones más adecuadas para el estudio *in vivo*. Sobre las formulaciones seleccionadas, se evalúa la variabilidad del proceso de producción, elaborando y caracterizando tres lotes para cada formulación. Por último, dado que en el tracto gastrointestinal las formulaciones pueden verse sometidas a distintos patrones de motilidad, se valora el efecto de la velocidad de agitación sobre la liberación de teofilina.

CAPÍTULO III. Estudio *in vivo* y análisis farmacocinético

Tras la selección y caracterización tecnológica de las formulaciones, nuestro trabajo se centra en la evaluación de su comportamiento *in vivo*, frente a las dos especialidades farmacéuticas de referencia anteriormente señaladas, usando el perro como animal de experimentación. Sobre los datos obtenidos se lleva a cabo el análisis farmacocinético.

CAPÍTULO I

EFFECTO DE LA VARIABILIDAD INTERLOTE DE LOS COPOLÍMEROS Y DE UN GRADIENTE DE pH SOBRE LA LIBERACIÓN DE TEOFILINA

INTRODUCCIÓN

Atendiendo a los objetivos de los estudios que se presentan en este capítulo, en la siguiente introducción se describen los problemas asociados a la falta de homogeneidad en la producción de materias primas, los métodos usados para la comparación de perfiles de disolución y, finalmente, algunos aspectos sobre el pH gastrointestinal.

1. Efecto de la variabilidad de las materias primas en el proceso de producción farmacéutica

Después de efectuar una revisión bibliográfica sobre los problemas que suelen presentarse en los diferentes procesos de elaboración de productos farmacéuticos y de los incumplimientos con las especificaciones de calidad del producto terminado, hemos concluido que muchos de estos inconvenientes son causados por los

excipientes utilizados. Ello es debido a que los excipientes farmacéuticos pueden obtenerse a partir de distintos métodos de producción, así como de diferentes fuentes de materia prima. Por citar sólo unos ejemplos, la celulosa microcristalina puede obtenerse de la pulpa de la madera tras maceración ácida o alcalina (Landín y col., 1993b), y el fosfato dicálcico dihidratado a partir del óxido, carbonato o hidróxido de calcio (Landín y col., 1994a).

Además del proceso de producción y fuente de materia prima que cada fabricante elija, existen etapas críticas durante la obtención de cada excipiente que deben ser cuidadosamente controladas para garantizar la homogeneidad del producto final. Como ejemplos de procesos críticos se pueden citar las condiciones de secado de los cristales de lactosa durante su fabricación, que conducen a diferentes grados de cristalinidad de este material (Di Martino y col., 1993); la temperatura y velocidad de precipitación del fosfato dicálcico dihidratado, que influyen en propiedades del producto terminado tales como estructura del cristal, forma, tamaño y agregación de las partículas (Landín y col., 1994a).

Finalmente, aunque los diversos procesos de manufactura pueden generar excipientes con características de calidad similares cuando son analizados con los métodos propuestos por las distintas Farmacopeas, a veces se observan diferencias en el momento del uso o del análisis del producto farmacéutico terminado.

1.1. Efecto en el proceso de producción

Entre los casos citados en la literatura relacionados con el efecto de la variabilidad de los excipientes sobre el proceso de producción, encontramos el estudio realizado por Doelker y col. (1987), en el que comparan las propiedades de compresión de dieciséis celulosas microcristalinas elaboradas por siete fabricantes. Los autores hallaron pocas diferencias entre lotes del mismo proveedor pero grandes variaciones, tanto en las propiedades de empaquetamiento y compresión como en la sensibilidad a la adición de un lubricante, entre los productos de diferentes fabricantes.

Rowe y col. (1994), por su parte, analizaron la cristalinidad de muestras de celulosa microcristalina de diferentes tamaños de partícula, lotes y proveedores. Concluyeron que las diferencias observadas en el proceso de elaboración de comprimidos no se debían a diferencias en la cristalinidad, sino que podían ser causadas por el tamaño y forma de las partículas o por variaciones en el contenido de lignina y hemicelulosa según el tipo de madera utilizado en la obtención de este excipiente (Landín y col., 1993a).

Del mismo modo, Di Martino y col. (1993), evaluando distintos lotes y proveedores de lactosa, encontraron que el grado de cristalinidad parecía ser la causa principal de la variabilidad lote a lote en las características de compresión de este excipiente (a mayor cristalinidad peores características de compresión). Señalaron, además, que el proceso de manufactura era el responsable de las diferencias encontradas en el grado de orden de la estructura cristalina.

1.2. Problemas en la calidad de los medicamentos

En relación al efecto de la variabilidad de los excipientes sobre las especificaciones de calidad de los medicamentos encontramos el estudio realizado por Landín y col. (1994a), en el que caracterizaron fosfato dicálcico dihidratado producido por cinco empresas de cinco países diferentes (Alemania, España, Estados Unidos, Japón y Reino Unido). Los autores hallaron que el producto japonés difería de forma notable de los otros cuatro, en especial, en la unión del agua asociada y el tamaño y forma de las partículas. En un trabajo posterior (Landín y col., 1994b), evaluaron la estabilidad del ácido acetilsalicílico en comprimidos preparados con seis marcas de fosfato dicálcico dihidratado, incluyendo cuatro de las evaluadas en el estudio anterior. Encontraron una relación entre la superficie específica, la pérdida de agua del material y la estabilidad del principio activo. Así, a mayor superficie específica, mayor velocidad de pérdida de agua del cristal, lo que origina una mayor hidrólisis del ácido acetilsalicílico.

Otra serie de estudios realizados por Landín y col. (1993a, 1993c) mostraron que cuatro lotes de celulosa microcristalina, del mismo grado, obtenidos de cuatro fabricantes distintos, diferían significativamente en la composición química, estructura cristalina y tamaño de partícula (Landín y col., 1993a). Al analizar las características de compresión, las propiedades de liberación y la estabilidad de prednisona en comprimidos elaborados con estas materias primas, detectaron que las propiedades mecánicas de los comprimidos no se diferenciaban significativamente entre formulaciones elaboradas con variedades de tamaño de partícula similar, que la liberación del principio activo dependía de la variedad de celulosa microcristalina y que, entre los lotes de tamaño de partícula similar, había una estrecha correlación entre el contenido de lignina y la liberación de prednisona. Además, todas las formulaciones sufrieron cambios mecánicos, microestructurales y de liberación durante el periodo de almacenamiento (Landín y col., 1993c).

1.3. Efecto sobre las formas farmacéuticas de liberación prolongada

También se han descrito problemas relacionados con la variabilidad de los excipientes en el caso de los polímeros utilizados para disminuir la velocidad de liberación de principios activos en formas farmacéuticas de liberación prolongada. Así, Lucisano y col. (1989) observaron que el cambio de proveedor de la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) provocaba incumplimiento de las especificaciones de calidad del producto terminado. Al evaluar las características fisicoquímicas del excipiente proporcionado por el nuevo proveedor, hallaron que presentaba un tamaño de partícula mayor y un contenido menor de grupos hidroxipropilo. Después de que el proveedor realizara los cambios necesarios en el proceso de manufactura, el nuevo material proporcionó un producto terminado que cumplió con las especificaciones de calidad exigidas.

De otra parte, Álvarez-Lorenzo y col. (1998) compararon las propiedades fisicoquímicas de tres lotes de hidroxipropilcelulosa (HPC) de alta viscosidad obtenidos de dos proveedores distintos. Aunque los materiales cumplieron con los requisitos exigidos por las Farmacopeas, los autores encontraron diferencias en el peso y estructura molecular, distribución de tamaño y forma de las partículas, y afinidad por el agua entre los productos de ambos proveedores. Además, observaron diferencias claras en la liberación de teofilina a partir de comprimidos elaborados con estos materiales, concluyendo que el peso molecular y la distribución de tamaño de partícula son determinantes en las propiedades de liberación de principios activos a partir de comprimidos elaborados con HPC.

Pérez-Marcos y col. (1993) evaluaron la variabilidad entre lotes de Carbopol® 934. Con este fin realizaron espectros infrarrojos y determinaron la densidad, el contenido de grupos ácidos y las características reológicas de siete lotes de Carbopol® 934 del mismo proveedor. Los distintos lotes mostraron un comportamiento reológico diverso en dispersión acuosa. Con el lote de mayor y menor viscosidad elaboraron comprimidos de teofilina e hidroclorotiazida, encontrando que el lote de mayor viscosidad prolongaba más la liberación de los principios activos que el lote de menor viscosidad.

1.4. Control de calidad de los excipientes

A la vista de todo lo expuesto, no es de extrañar que surgieran algunas normas gubernamentales nacionales e internacionales que buscaran controlar la calidad de los excipientes utilizados en la fabricación de medicamentos, al igual que la calidad de estos últimos. Dentro de las normas internacionales, destacan las Buenas

Prácticas de Manufactura de Excipientes Farmacéuticos (USP 27), que tienen como objetivo asegurar que éstos se fabriquen con unas características de calidad apropiadas. De esta manera, los fabricantes de excipientes que se acogen a esta norma garantizan que sus procesos productivos están controlados y que los diferentes lotes se elaboran bajo las mismas condiciones de producción. Se controla así la variabilidad de los excipientes elaborados por un mismo fabricante.

En un ámbito nacional, la FDA emitió dos guías que regulan los cambios que los fabricantes farmacéuticos deseen hacer en los componentes o la composición de la formulación, el lugar de fabricación, el tamaño de los lotes y el proceso o equipos de manufactura de formas de dosificación de liberación inmediata o modificada, después de que éstas se hayan aprobado para la venta (FDA, 1995, 1997c). Podríamos decir que, en cierto modo, estas guías pretenden garantizar que la variabilidad que se presenta entre productores de materias primas no afecte al producto farmacéutico final a través del control de los cambios de los componentes o composición de una formulación.

En el caso de las formas de liberación prolongada, la norma hace diferencia dependiendo de si el excipiente que se modifica prolonga o no la liberación de principios activos. En ambas normas, para demostrar que los cambios en los componentes o composición de la forma de dosificación no tienen efecto sobre la calidad y comportamiento del producto final, se utilizan diferentes ensayos de disolución: en agua con determinación de la concentración del principio activo en un único punto de tiempo, perfiles de disolución en un medio dado y perfiles de disolución en medios con diferentes pH. También hacen uso de estudios de bioequivalencia y estabilidad. En todos los casos, se compara la forma farmacéutica elaborada con los componentes o composición de partida con la formulación obtenida tras los cambios propuestos. Al final, no deben existir diferencias significativas entre ambas formulaciones.

Desde un punto de vista práctico, al fabricante de medicamentos le corresponde identificar las características físicas, particulares, necesarias para la elaboración del producto (USP 27), y elegir dentro de los distintos fabricantes de excipientes. Éstos, a su vez, deben controlar adecuadamente el proceso para asegurar que el excipiente cumple de forma consistente con las especificaciones requeridas (USP 27).

Como se mencionó en la introducción general, en nuestro grupo de investigación se han llevado a cabo distintos estudios sobre la capacidad de nuevos copolímeros de injerto para ser utilizados tanto como excipientes de compresión directa como en

sistemas de liberación modificada (Castellano y col., 1997; Ferrero y Jiménez-Castellanos, 2002; Ferrero y col., 2003). A la vista de los buenos resultados obtenidos, se hace necesario, antes de comprobar su aptitud in vivo, verificar si hay diferencias en la liberación de teofilina (fármaco modelo) a partir de comprimidos elaborados con varios lotes del mismo material, mediante la comparación de los perfiles de disolución entre sí.

Son muchos los métodos que se presentan en la literatura para comparar perfiles de disolución. A continuación, haremos una breve revisión de los más representativos, utilizando la clasificación propuesta por Polli y col. (1997), que agrupa las distintas aproximaciones en tres categorías: métodos basados en ANOVA, modelo dependientes y modelo independientes.

2. Métodos para la comparación de perfiles de disolución

2.1. Métodos basados en ANOVA

2.1.1. ANOVA, ANCOVA

El análisis de varianza y el análisis de covarianza fueron los primeros métodos usados para comparar perfiles de disolución, puesto que permiten detectar diferencias entre grupos (Polli y col., 1997). Su principal desventaja es que, al utilizarlos con este propósito, no se cumple el principio de independencia de los datos; es necesario suponer que los porcentajes de fármaco liberado en los distintos intervalos de tiempo no están correlacionados (Liu y Chow, 1996; Chow y Ki, 1997; Ju y Liaw, 1997), es decir, se trata cada punto como si fuera independiente del resto (O'Hara y col., 1998).

Pasando por alto esta limitación, se puede utilizar el ANOVA de una vía para comparar los datos de disolución media en cada punto de tiempo del perfil de disolución (O'Hara y col., 1998). Sin embargo, persisten otros inconvenientes, como el hecho de que algunas comparaciones pueden ser significativas sólo en algunos puntos, lo que dificulta concluir si los perfiles de disolución son realmente distintos, dando lugar a una interpretación ambigua de los resultados (O'Hara y col., 1998).

2.1.2. Método de nivel y forma

Fue propuesto por Mauger y col. (1986). También es conocido como modelo de los efectos mezclados (O'Hara y col., 1998) o análisis de la primera diferencia (Ju y Liaw, 1997). Como indican O'Hara y col. (1998), su desventaja radica en que asume que la estructura de covarianza subyacente de los datos es simétricamente compuesta. En la práctica, esta suposición no es válida, por lo que los autores sugieren un análisis conservador que intenta corregir esta situación.

2.1.3. Métodos multivariados

Entre estos métodos cabe destacar los propuestos por Tsong y col. (1996) y O'Hara y col. (1997). El primero es una modificación y generalización del concepto de test de bioequivalencia. Su desventaja radica en que perfiles medios que pueden tener grandes diferencias en los puntos iniciales y pequeñas diferencias en los últimos puntos pueden resultar similares a perfiles de disolución con pequeñas diferencias en los puntos iniciales y amplias en los últimos puntos (O'Hara y col., 1998). El método propuesto por O'Hara y col. (1997) ensaya la hipótesis de coincidencia en cada punto del tiempo. La duda que entraña este método es si la coincidencia de los perfiles es el objetivo de interés principal en la comparación de perfiles de disolución.

El principal inconveniente de ambos métodos se halla en que el procedimiento es complicado, más aún si el número de puntos de tiempo seleccionados es grande (más de tres) (Ju y Liaw, 1997). Cuando esto sucede, Tsong y col. (1996) recomiendan utilizar un procedimiento modelo dependiente.

2.2. Métodos modelo dependientes

Este procedimiento consiste en ajustar los datos de cada uno de los perfiles de disolución a un modelo matemático; a continuación, los parámetros del modelo se analizan para determinar la similitud de los perfiles de disolución. La mayoría de los autores utilizan el ANOVA con este propósito.

Son muchos los modelos que se han utilizado para ajustar los datos de disolución, destacando: la función de Weibull, el modelo de Gompertz, la función logística, curvas sigmoideas, la descripción de los datos de disolución a partir de modelos mecanísticos, etc. (O'Hara y col., 1998). Una revisión de algunos de estos modelos, y otros más, fue realizada por Costa y Sousa (2001).

Según Chow y Ki (1997), este método tiene las siguientes desventajas: la selección del modelo (al respecto, Ju y Liaw (1997) recomiendan realizar el test de carencia de ajuste antes de llevar a cabo la comparación de los parámetros), la interpretación de los parámetros, y la dificultad para fijar las especificaciones límite para similitud. Otra situación que dificulta el uso de esta aproximación se presenta cuando los perfiles a comparar no se ajustan al mismo modelo.

2.3. Métodos modelo independientes

2.3.1. Métodos pareados

Dentro de los métodos pareados, se encuentran el índice de Rescigno (Rescigno, 1992) y el factor de similitud f_2 (Moore y Flanner, 1996). El índice de Rescigno se propuso como un índice de bioequivalencia para medir la similitud entre la formulación a ensayar y la formulación de referencia en base a perfiles plasmáticos. Su valor es cero cuando las curvas son idénticas. Según Moore y Flanner (1996), este método tiene el problema de que una curva que se encuentra un 10% por encima de la de referencia tiene un valor para el índice de Rescigno diferente del de una curva localizada un 10% por debajo.

El factor de similitud f_2 es una transformación logarítmica del recíproco de la raíz cuadrada de la suma de cuadrados del error de las diferencias entre los perfiles de la formulación a ensayar y la formulación de referencia, a cada tiempo de muestreo (FDA, 1997a). Por tanto, conceptualmente, es una medida de la similitud en el porcentaje disuelto entre dos curvas. Su rango puede estar comprendido entre 0 y 100%, y su valor tiende a 100 conforme aumenta la similitud de los dos perfiles.

Tal vez es el método más estudiado y más criticado de los existentes para comparar perfiles de disolución. El gran interés despertado radica en que es el método recomendado para la comparación de perfiles de disolución en las Guías propuestas por la FDA para la Industria (1995, 1997a, 1997b, 1997c, 2000). También se destaca por la simplicidad de su cálculo, a diferencia de muchos métodos estadísticos.

La principal desventaja de este método radica en sus propiedades estadísticas (Sathe y col., 1996; Ju y Liaw, 1997; Liu y col., 1997; O'Hara y col., 1998; Shah y col., 1998; Vertzoni y col., 2003), puesto que no se basa en un procedimiento de ensayo de hipótesis (Ju y Liaw, 1997). Además, es insensible a la forma de la curva (Liu y col., 1997) e incapaz de diferenciar un perfil de disolución que ha alcanzado la asíntota de uno que no (Ju y Liaw, 1997, Liu y col., 1997). Este último hecho se

debe a que, al ser una medida basada en el promedio de las diferencias observadas, después de que se alcanza la asíntota, las diferencias podrían ser demasiado pequeñas y, en consecuencia, f_2 tendería a un valor superior a 50 (Ju y Liaw, 1997). Por esta razón, Shah y col. (1998) recomiendan utilizar sólo un punto más una vez que cualquiera de los lotes haya alcanzado el 85% de principio activo disuelto.

Otro punto de discusión ha sido el límite para declarar similitud con f_2 . Dos lotes se consideran semejantes si el valor de f_2 es mayor de 50. O'Hara y col. (1998) afirman que los criterios para fijar estos límites no están claros. Sin embargo, Shah y col. (1998) indican que la experiencia en el análisis de datos de disolución hace pensar que una diferencia promedio de no más del 10% en cualquier punto de los tiempos de muestreo de los lotes de la misma formulación puede ser aceptable. Esta diferencia corresponde a un valor de f_2 de 50.

Finalmente, algunos autores opinan que el factor de similitud f_2 podría ser, estadísticamente, muy liberal para concluir similitud y, por ello, creen que carecería de valor científico (Chow y Ki, 1997).

2.3.2. Eficiencia de disolución

Este método se basa en el concepto propuesto por Khan y Rhodes (1972) para evaluar el efecto de la presión de compresión sobre la liberación de un principio activo a partir de comprimidos obtenidos por compresión directa. Consiste en calcular el área bajo la curva de disolución entre dos puntos dados. Ha sido utilizado por Polli y col. (1997) para evaluar perfiles de disolución de formulaciones de tartrato de metoprolol y por Anderson y col. (1998) para comparar perfiles de disolución durante la etapa de desarrollo de los productos. Estos autores sostienen que es una medida útil para establecer la homogeneidad de los lotes en relación a la disolución.

Ante la gran variedad de métodos existentes, no es de extrañar que se presenten dificultades a la hora de elegir el más adecuado. En este sentido, O'Hara y col. (1998) aconsejan el método multivariado, cuya hipótesis es la coincidencia de los perfiles de disolución en cada punto de tiempo, y el método modelo dependiente, que describe los datos de disolución a partir de modelos mecanísticos. Anderson y col. (1998) prefieren utilizar f_2 cuando el objetivo es comparar dos formulaciones con el fin de demostrar su bioequivalencia y la eficiencia de disolución como herramienta de calidad para controlar la homogeneidad de los lotes. Yuksel y col. (2000) se inclinan por los métodos basados en ANOVA.

Polli y col. (1997) abordaron el problema desde otro punto de vista. Aplicaron varios métodos para comparar los perfiles de disolución obtenidos de tres formulaciones de comprimidos de tartrato de metoprolol, con velocidades de disolución diferentes pero bioequivalentes con Lopresor[®]. Encontraron que los métodos basados en ANOVA consideraban los tres perfiles diferentes, por lo que los autores los calificaron como muy discriminatorios y no útiles. En cuanto a los métodos modelo dependiente y modelo independientes, consideraron que pueden ser útiles porque proporcionan resultados numéricos que pueden usarse como métricas objetivas y cuantitativas para comparar perfiles de disolución. Con respecto al factor de similitud, f_2 , consideraron que el límite de 50, fijado para declarar similitud entre dos perfiles de disolución, es conservador, debido a que las formulaciones con velocidad de disolución media y baja presentaron valores de f_2 inferiores a 50 (32.5 y 17.2, respectivamente), a pesar de que éstas eran bioequivalentes respecto a la formulación de referencia. Concluyen que ningún método está exento de desventajas y que ninguno de ellos, al menos en su estudio, podría considerarse como el mejor.

En resumen, desde el punto de vista estadístico, el factor de similitud f_2 podría considerarse un parámetro liberal para determinar la semejanza entre dos formulaciones (Chow y Ki, 1997). Sin embargo, desde el punto de vista biofarmacéutico, se encontró que es un parámetro conservador (Polli y col., 1997), ya que de los perfiles de disolución de tres formulaciones bioequivalentes se concluyó, con este parámetro, que sólo una era semejante al producto de referencia. Teniendo en cuenta los hallazgos de Polli y col. (1997) y, además, porque es un método sencillo propuesto por la FDA para comparar perfiles de disolución y porque nos enfrentamos a un proceso de por sí variable como es la síntesis de polímeros, nos inclinamos por el parámetro f_2 para analizar la similitud de nuestros perfiles de disolución.

3. pH del tracto gastrointestinal

El pH del tracto digestivo depende de si el individuo está en ayunas o ha ingerido algún alimento. En ayunas, el pH gástrico presenta valores que oscilan entre menos de 1 y 3.5 (Ashford, 2002) o entre 0.4 y 4.0 (Lui y col., 1986). El pH intestinal es más alto que el pH gástrico y aumenta gradualmente desde el duodeno al íleon con valores medios de 4.9 a 7.4, respectivamente (Ashford, 2002).

Después de la ingestión de alimentos, el pH gástrico experimenta un incremento debido al efecto tamponante de la comida, a continuación se libera el jugo gástrico

como respuesta a la ingestión y, por último, el pH retorna gradualmente a los valores en ayunas en un periodo de 60 a 90 minutos. Al igual que en ayunas, el pH intestinal incrementa desde el duodeno hasta el íleon y, en este caso, los valores van de 5.2 a 7.5 (Ashford, 2002).

A pesar de que el pH en el íleon presenta valores alrededor de 7.4, éste disminuye nuevamente a valores entre 6 y 6.5 en la parte proximal del colon. Esta disminución se relaciona con la acción de enzimas bacterianos que rompen los carbohidratos no digeridos en ácidos grasos de cadena corta. El pH incrementa nuevamente a valores de 7.0 a 7.5 en la parte distal del colon (Ashford, 2002). A diferencia del tracto gastrointestinal superior, el pH del colon no se ve afectado si el individuo está en ayunas o no.

Teniendo en cuenta las variaciones de pH que se presentan en el tracto gastrointestinal, podemos decir que una forma de dosificación administrada en ayunas estará sometida a pH ácido durante el tiempo que se encuentre en el estómago. En este sentido, se han documentado tiempos de permanencia gástrica hasta de 12 horas, particularmente con formas de dosificación de gran tamaño (Ashford, 2002). Cuando finalmente acceda al intestino delgado, estará expuesta a un incremento gradual de pH 4.9 a 7.4, durante un periodo de 3 a 5 horas, tiempo estimado para el tránsito intestinal (Dressman, 1986).

La misma forma de dosificación, administrada con la comida o inmediatamente después de ella, será retenida en el estómago hasta que termine el vaciado gástrico, es decir, de dos a cinco horas dependiendo de la cantidad de alimento (Dressman, 1986). Durante este tiempo, experimentará un gradiente de pH de valores alrededor de 7.0 hasta valores similares a los de ayunas (Dressman, 1986). Cuando finalmente se expulse hacia el intestino, se verá sometida a un incremento gradual de pH de forma similar al que se observa en ayunas, pero durante un periodo de tiempo mayor si la comida ingerida fue copiosa (Dressman, 1986).

Finalmente, independiente de que se administre en ayunas o con alimento, la forma farmacéutica alcanzará el colon. Allí experimentará nuevamente cambios graduales de pH (de 6.0-6.5 a 7.0-7.5) y permanecerá entre 2 y 48 horas (Ashford, 2002).

El conocimiento que se tiene hasta el momento de la fisiología del tracto gastrointestinal proporciona información e indicios sobre cuáles pueden ser los factores causantes de fallos en un sistema de liberación prolongada. Uno de los más destacados es las variaciones de pH que se presentan en el tracto gastrointestinal. El

comportamiento del sistema de liberación frente a esta variable suele estudiarse con ayuda del ensayo de disolución.

La idea del ensayo de disolución surgió en los años 60, cuando se reconoció que era fisiológicamente necesario que el fármaco estuviera disuelto. Su primera utilización fue como una herramienta de control de calidad. Posteriormente, tanto los equipos utilizados como las metodologías se fueron perfeccionando (Cohen y col., 1990) para convertirse, en la actualidad, en una herramienta básica utilizada para seleccionar la formulación idónea en el desarrollo de medicamentos; en estudios para detectar la influencia de variables de elaboración críticas, tales como efecto de aglutinantes, del mezclado, procedimiento de granulación, etc.; en estudios comparativos de diferentes formulaciones; en correlaciones *in vitro-in vivo* y, recientemente, como sustituto de estudios *in vivo* bajo condiciones estrictamente controladas (Pillay y Fassih, 1999).

Aunque podría pensarse que el método para evaluar el comportamiento de una forma de dosificación en el tracto gastrointestinal debería imitar lo más posible las condiciones *in vivo*, tal cometido se convertiría en una tarea ardua y difícil (Pillay y Fassih, 1999). La aproximación más práctica es la utilización del ensayo de disolución manipulando variables como el tipo de aparato utilizado, el medio de disolución, pH, fuerza iónica, condiciones sumidero (sink) y la velocidad de agitación.

Teniendo en consideración todo lo expuesto y el doble objetivo marcado en este capítulo, el trabajo experimental correspondiente a la evaluación del efecto de la variabilidad interlote de los copolímeros sobre la liberación de teofilina consistió en la elaboración de cuatro lotes de cada material, la caracterización de la reacción de copolimerización mediante la determinación de la eficacia de injerto de cada lote y la preparación de comprimidos de teofilina con cada uno de ellos. El efecto de la variabilidad interlote sobre la liberación se estableció a través de la comparación de los perfiles de disolución obtenidos para las matrices de cada lote de copolímero mediante el factor de similitud f_2 . Para el estudio del efecto del gradiente de pH sobre la liberación de teofilina a partir de los comprimidos elaborados con los copolímeros bajo estudio y dos especialidades farmacéuticas de referencia, se diseñó un ensayo de disolución con cambios de medios a diferentes tiempos, imitando en lo posible las condiciones de pH *in vivo*.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materias primas

1.1. Copolímeros

Los copolímeros objeto de estudio se sintetizaron en el Departamento de Ciencia y Tecnología de Polímeros de la Facultad de Química de San Sebastián, según el método propuesto por Castellano y col. (1997). Su obtención se realizó mediante la copolimerización de injerto de metacrilato de metilo (MMA) sobre dos derivados semisintéticos del almidón de patata: hidroxipropilalmidón, HA (Perfectamyl, Avebe, Holanda, lote A-5914) y carboximetilalmidón, CA (Quicksolan CMS, Avebe, Holanda, lote I123M).

Los productos resultantes se sometieron a dos métodos distintos de secado: en estufa de convección a 50°C durante 48 horas seguido de secado en estufa de vacío (5-10 mm Hg) a la misma temperatura hasta peso constante (copolímeros O), y secado por liofilización, congelando el producto a -20°C durante 24 horas, para posteriormente sublimar a una presión de 100 mtorrs a -50°C hasta obtener un producto pulverulento seco (copolímeros L). Se sintetizaron un total de 16 lotes, cuatro por cada copolímero (SS03).

Para facilitar la identificación de los productos y de los lotes elaborados, se hará uso de la siguiente nomenclatura:

HAMMAO: hidroxipropilalmidón-metacrilato de metilo secado en estufa (lotes A, B, C y D).

HAMMAL: hidroxipropilalmidón-metacrilato de metilo secado por liofilización (lotes A, B, C y D).

CAMMAO: carboximetilalmidón-metacrilato de metilo secado en estufa (lotes A, B, C y D).

CAMMAL: carboximetilalmidón-metacrilato de metilo secado por liofilización (lotes A, B, C y D).

El derivado CAMMAO tuvo que molturarse, debido a la aglomeración de las partículas que presentó el producto después del secado. Para ello, se utilizó un molino de cuchillas Retsch (Haan, Alemania) equipado con un tamiz de 1 mm de abertura.

Todos los productos se mantuvieron en condiciones constantes de temperatura y humedad (temperatura de 20° C y humedad relativa del 40%).

1.2. Principio activo

Como fármaco modelo se utilizó teofilina anhidra (Roig Farma, Barcelona, España, lote 0101072), debido a que presenta una solubilidad moderada poco afectada por el pH, se utiliza ampliamente en formas de liberación prolongada (Shangraw, 1988) y se determina fácilmente por espectrofotometría UV.

1.3. Lubrificante

Ácido esteárico (Estearina[®] L2SM, Pulcra, Barcelona, España, lote 0055003).

1.4. Especialidades farmacéuticas de referencia

En la evaluación del efecto del pH sobre la liberación de teofilina se utilizaron dos especialidades farmacéuticas patrón: Theo-Dur[®] (comprimidos de 100 mg de teofilina, lote P4, Pharmacia & Upjohn) y Theolair[®] (comprimidos de 175 mg de teofilina, lote R05/GCC039C, 3M España S.A.).

2. Métodos

2.1. Determinación de la eficacia de injerto

Con el fin de caracterizar la reacción de copolimerización, se determinó la eficacia de injerto según el método descrito por Castellano y col. (1997). A un peso exacto del producto resultante se le retiraron las cadenas de polimetacrilato de metilo (PMMA) libre por extracción en soxhlet con tetrahidrofurano. La eficacia de injerto se calculó como el porcentaje de peso del copolímero después de la extracción con respecto al peso inicial de producto.

2.2. Elaboración de las mezclas

La teofilina (24% p/p) se mezcló con cada copolímero (75% p/p) durante 15 minutos en una mezcladora bicónica Retsch (Haan, Alemania) a 50 r.p.m. Tras la adición de ácido esteárico (1% p/p), el mezclado se continuó durante 5 minutos más.

2.3. Elaboración de los comprimidos

Los comprimidos se elaboraron, mediante alimentación forzada, en una máquina de comprimir excéntrica (Bonals AMT 300, Barcelona, España) instrumentada (Muñoz-Ruiz y col., 1995), provista de punzones planos de 12 mm de diámetro y con una velocidad de 30 ciclos/min. La profundidad de carga de la matriz se ajustó para obtener comprimidos de 500 mg de peso. Se aplicó una fuerza máxima de compresión suficiente para obtener comprimidos con una resistencia a la rotura de 70-80 N.

2.4. Determinación de la uniformidad de masa de los comprimidos

La uniformidad de masa se determinó según la Real Farmacopea Española (2002). Con este fin, 20 comprimidos, elegidos al azar, se pesaron individualmente (balanza Mettler LJ16, Zürich, Suiza). A partir de los resultados obtenidos, se calculó el peso medio y la desviación estándar. Se verificó que no más de dos unidades se desviaran en más de un 5% del valor medio y que ninguna se desviara en el doble de este porcentaje.

2.5. Estudios de liberación del principio activo

2.5.1. Efecto de la variabilidad interlote de los copolímeros sobre la liberación de teofilina

Los estudios de liberación (seis comprimidos por cada lote) se realizaron en un aparato de disolución automatizado USP 27 tipo 2 (Aidec, Barcelona, España) bajo las siguientes condiciones experimentales:

Aparato tipo 2: paletas

Temperatura del baño: $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$

Medio de disolución: agua desionizada y desgasificada (900ml)

Velocidad de agitación: 50 r.p.m.

Duración del estudio: 30 h

El aparato tomó automáticamente, por medio de una bomba peristáltica multicanal (Hewlett Packard 89079A, Waldbronn, Alemania), muestras de 2.8 mL previamente filtradas. La determinación de la concentración de teofilina se llevó a cabo de forma automática, a intervalos determinados de tiempo, por espectrofotometría (Hewlett Packard 8452A diode-array UV-visible, Waldbronn, Alemania) a $\lambda = 272 \text{ nm}$.

Los perfiles de disolución generados para cada copolímero se compararon utilizando el factor de similitud f_2 . Se eligió como producto de referencia el lote que presentó la menor velocidad de disolución, por lo que el resto de los perfiles se encontrarán por encima de éste, por tanto, las diferencias en porcentaje, cuando el valor de f_2 sea de 50, corresponderán a un 10% (Shah y col., 1998). De acuerdo con las recomendaciones de la FDA (1997a), sólo se consideró una toma de muestra más una vez que el 85% de teofilina se había disuelto.

2.5.2. Efecto del gradiente de pH sobre la liberación de teofilina

Puesto que las formas de liberación prolongada se encuentran expuestas a un medio donde varía el pH, este parámetro constituye una variable importante que debe ser considerada en el diseño de una formulación (Skelly y Barr, 1987; Jorgensen y Bhagwat, 1998). Por ello, con este estudio se pretendió realizar una aproximación práctica para tratar de predecir el comportamiento de las formulaciones en el tracto gastrointestinal, imitando en cierto modo las condiciones de pH *in vivo*, en ayunas, y los posibles tiempos de permanencia de las formulaciones en el tracto gastrointestinal superior (estómago e intestino delgado).

Los ensayos de liberación *in vitro* (seis comprimidos por cada lote) se llevaron a cabo en el aparato de disolución señalado anteriormente bajo las siguientes condiciones experimentales:

Aparato tipo 1: cestillos

Temperatura del baño: $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$

Medio de disolución: soluciones tampón (500 mL)

Velocidad de agitación: 50 r.p.m.

Duración del estudio: 8.5 h

A diferencia de los estudios de disolución llevados a cabo en la evaluación del efecto de la variabilidad interlote de los copolímeros sobre la liberación de teofilina, éstos se realizaron en cestillos con el fin de facilitar la manipulación de la forma de dosificación durante el cambio de un medio de disolución a otro. Asimismo, el volumen de medio fue inferior para favorecer la determinación analítica del fármaco.

Se usaron los siguientes medios de disolución: solución de ácido clorhídrico pH 1.2 y tampones fosfato pH 2.5, 4.5, 7.0 y 7.5. La fuerza iónica de las soluciones se ajustó a 0.1 adicionando KCl. Los cestillos se sumergieron en los distintos medios,

en orden creciente de pH, como se indica a continuación: 1.5 h en los medios de pH 1.2, 2.5 y 4.5; 3 horas en el medio de pH 7.0 y una hora en el medio de pH 7.5.

Para la elección de los valores de pH de los medios se partió de la guía SUPAC-MR (FDA, 1997c), que propone una solución de ácido clorhídrico 0.1 N y soluciones tampón a pH 4.5 y 6.8. Además, se tuvo en cuenta que los comprimidos elaborados son relativamente grandes (12 mm de diámetro), por lo que es posible que permanezcan en el estómago por un periodo de tiempo prolongado (Ashford, 2002), expuestos a un pH que oscila entre menos de 1 y 3.5 (Ashford, 2002) o entre 0.4 y 4.0 (Lui y col., 1986) y que, una vez que pasen al intestino, quizás viajen a través de éste por un periodo de 3 a 5 horas experimentando cambios de pH_s entre 4.9 y 7.4 (Dressman, 1986) hasta alcanzar el colon.

Con estas bases, se decidió ajustar el pH de la solución de ácido clorhídrico a 1.2, para garantizar su reproducibilidad en todos los ensayos, incluir una solución de pH 2.5, valor intermedio entre 1.2 y 4.5, y que los comprimidos permanecieran 90 minutos en cada uno de estos tres medios, lo que equivaldría a un tiempo de cuatro horas y media en el que posiblemente estarían en el estómago y podrían pasar al duodeno. También se resolvió ajustar la solución de pH 6.8 a pH 7.0, valor intermedio entre el pH sugerido en la guía de la FDA (1997c) y los registrados en la literatura para la parte distal del intestino delgado (Dressman, 1986), y que los comprimidos pasaran en este medio 3 horas. Finalmente, se incluyó una solución con pH 7.5 para simular el pH del colon. En este medio las matrices permanecieron sólo una hora porque se consideró que el aumento de la viscosidad del contenido luminal puede disminuir la liberación y absorción de teofilina.

Además, la fuerza iónica de los medios se ajustó al mismo valor (0.1) porque este factor puede afectar la velocidad de disolución del principio activo a partir de formas farmacéuticas de liberación prolongada (Jorgensen y Bhagwat, 1998).

La toma de muestras se realizó de forma similar a lo descrito en el apartado anterior.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Efecto de la variabilidad interlote de los copolímeros sobre la liberación de teofilina

Los resultados de la eficacia de injerto para cada lote se muestran en la Tabla I.1. Se observa que los copolímeros HAMMA presentan una mayor eficacia de injerto que los copolímeros CAMMA. Estos valores confirman los resultados obtenidos anteriormente por Castellano y col. (1997), quienes manifestaron que la baja eficacia de injerto de los copolímeros CAMMA era una muestra de la reactividad menor del carboximetilalmidón frente al metilmetacrilato bajo las condiciones utilizadas en la síntesis. No se detectan diferencias notorias entre las formas O y L de cada copolímero.

Tabla I.1.- Valores de eficacia de injerto (EI) obtenidos para cada uno de los lotes de los copolímeros.

COPOLÍMERO	EI (%)				EI (%)
	Lote A	Lote B	Lote C	Lote D	Media (D.S.)
HAMMAO	92.4	82.3	90.0	94.6	89.8 (5.4)
HAMMAL	91.7	90.9	93.1	82.0	89.4 (5.0)
CAMMAO	32.3	26.4	29.6	30.6	29.7 (2.5)
CAMMAL	28.8	28.1	32.7	28.3	29.5 (2.2)

Teniendo en cuenta que la copolimerización de injerto es una reacción al azar, los valores de eficacia de injerto obtenidos para los cuatro lotes de cada uno de los copolímeros sintetizados son bastante semejantes.

Los pesos medios de los comprimidos preparados con cada uno de los lotes de copolímeros sintetizados para este estudio, al igual que su desviación estándar y coeficiente de variación, se presentan en la Tabla I.2. Todos los lotes cumplen el ensayo de uniformidad de masa y los coeficientes de variación están entre el 1-2%. En general, los comprimidos obtenidos a partir de los derivados liofilizados muestran coeficientes de variación superiores a los correspondientes a los productos secados en estufa, siendo este hecho más notorio con los copolímeros CAMMA.

Los perfiles de liberación medios obtenidos a partir de los comprimidos elaborados con cada uno de los lotes se presentan en las Figuras I.1-I.4. Éstos reflejan CV superiores en los tiempos iniciales del estudio, que disminuyen a medida que aumenta la cantidad de teofilina disuelta. La magnitud de estas variaciones se ajusta a los límites recomendados para los CV intralote cuando se desean comparar perfiles de disolución por medio del factor de similitud f_2 (FDA, 1997a), es decir,

no ser mayores del 20% en los tiempos iniciales del perfil de disolución e inferiores o iguales al 10% en el resto de los tiempos de muestreo.

Tabla I.2.- Peso medio, desviación estándar (D.S.) y coeficiente de variación (CV) de los lotes de comprimidos elaborados con los diferentes tipos de copolímeros.

COPOLÍMERO	PESO PROMEDIO (D.S.)			
	Lote A	Lote B	Lote C	Lote D
HAMMAO	501.5 (4.9) CV=1.0%	504.7 (8.4) CV=1.7%	494.5 (6.4) CV=1.3%	497.9 (5.6) CV=1.1%
HAMMAL	497.3 (7.0) CV=1.4%	494.3 (7.2) CV=1.5%	497.6 (6.0) CV=1.2%	497.9 (8.7) CV=1.8%
CAMMAO	496.0 (4.4) CV=0.9%	495.5 (5.8) CV=1.2%	500.3 (5.8) CV=1.2%	504.0 (5.6) CV=1.1%
CAMMAL	504.1 (3.9) CV=0.8%	498.7 (8.5) CV=1.7%	495.4 (9.1) CV=1.8%	505.3 (7.8) CV=1.5%

De la observación de las Figuras I.1–I.4 se desprende que los perfiles de liberación de teofilina de las matrices obtenidas con los productos secados en estufa (O) son más similares entre sí, particularmente las elaboradas con HAMMAO. En el caso de la liberación de teofilina a partir de los comprimidos elaborados con los distintos lotes de los productos liofilizados, el lote B de HAMMAL y el lote D de CAMMAL muestran una liberación más lenta que los demás.

Los valores del factor de similitud f_2 confirman estas observaciones (Tabla I.3). Así, los valores de f_2 para las matrices de HAMMAO varían de 100.0 (lote de referencia, C) a 59.0 (lote B) y para las matrices de CAMMAO entre 100.0 (lote de referencia, B) y 58.1 (lote D). Estos valores son superiores a 50, lo que indica similitud entre los perfiles comparados con diferencias no superiores al 10% (Moore y Flanner, 1996; Shah y col., 1998).

Tabla I.3.- Valores calculados de f_2 para los perfiles de disolución de los comprimidos elaborados con los copolímeros en estudio.

COPOLÍMERO	f_2			
	Lote A	Lote B	Lote C	Lote D
HAMMAO	76.2	59.0	100.0	95.2
HAMMAL	49.2	100.0	83.7	65.2
CAMMAO	59.6	100.0	82.4	58.1
CAMMAL	60.4	47.3	56.5	100.0

I Efecto de la variabilidad interlote de los copolímeros y de un gradiente de pH sobre la liberación de teofilina

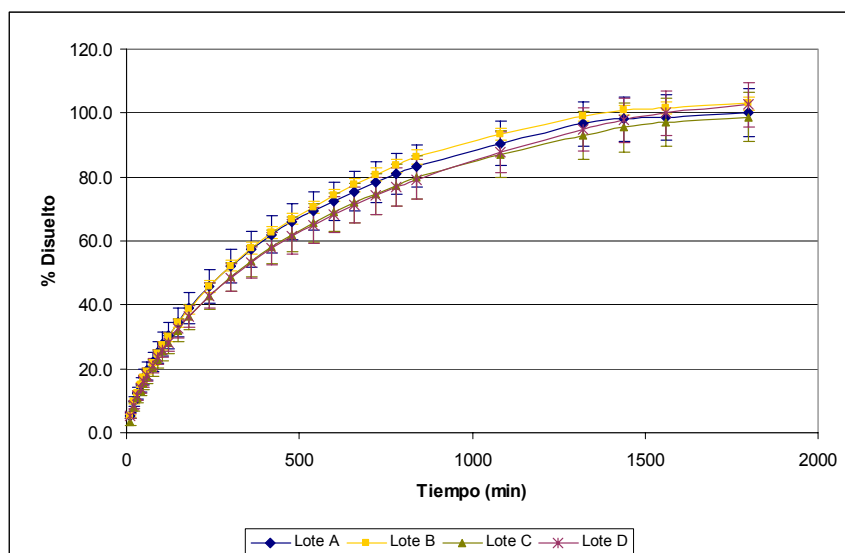


Figura I.1.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de comprimidos elaborados con cuatro lotes de HAMMAO.

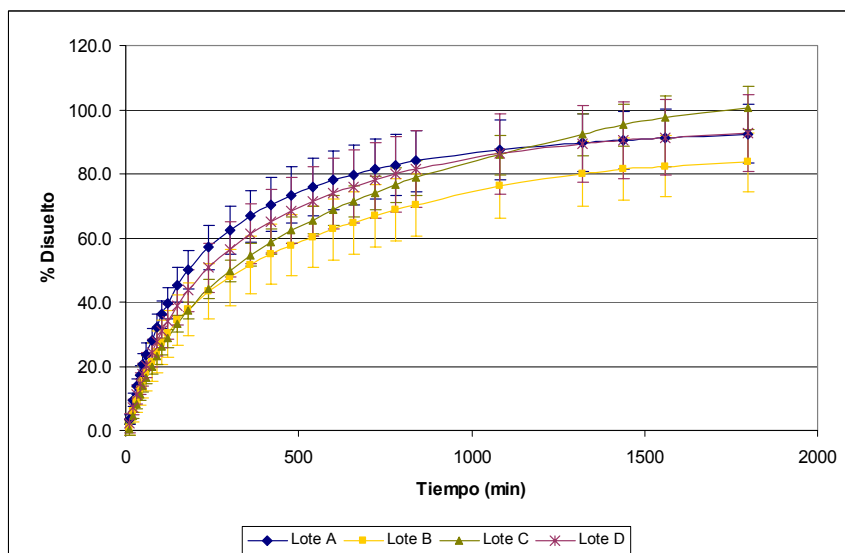


Figura I.2.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de comprimidos elaborados con cuatro lotes de HAMMAL.

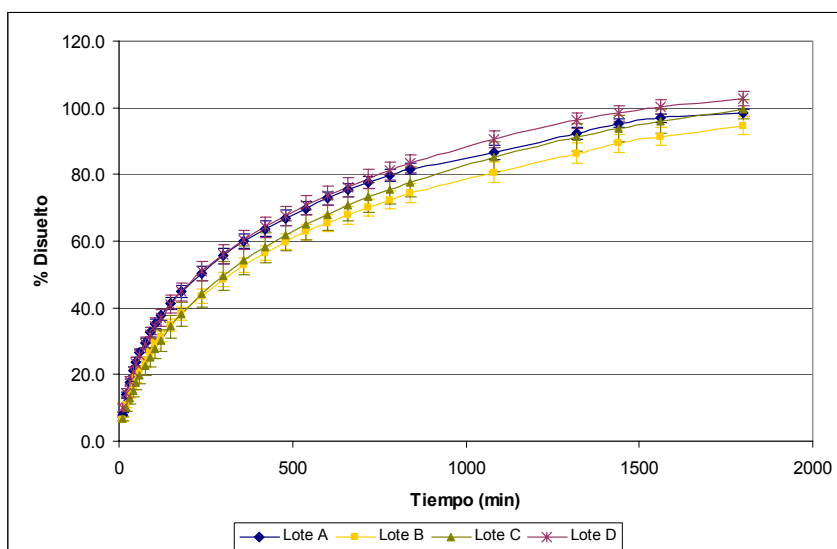


Figura I.3.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de comprimidos elaborados con cuatro lotes de CAMMAO.

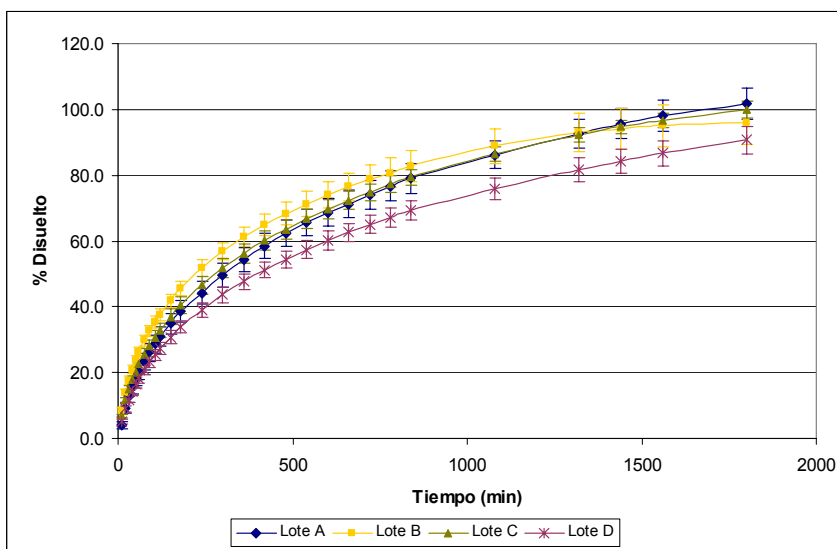


Figura I.4.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de comprimidos elaborados con cuatro lotes de CAMMAL.

Los valores de f_2 de los perfiles de liberación de las matrices elaboradas con los lotes de los productos L varían de 100.0 (lote de referencia, B) a 49.2 (lote A) para HAMMAL y de 100.0 (lote de referencia, D) a 47.3 (lote B) para CAMMAL. Al estar los límites inferiores de los rangos por debajo de 50, las diferencias entre los perfiles pueden oscilar entre un 10% y un 15% (para $f_2 = 50$ corresponden unas diferencias promedio del 10%; para $f_2 = 41$ corresponden unas diferencias promedio del 15%) (Shah y col., 1998).

De los resultados obtenidos, se podría deducir que, para cada copolímero, los perfiles de liberación correspondientes a los distintos lotes son similares, con unas diferencias inferiores al 10%. Sólo en dos casos (correspondientes a productos liofilizados), la condición de similitud no se cumple, si bien las diferencias son inferiores al 15%. Debido a la semejanza en la eficacia de injerto obtenida para los lotes de ambos productos (Tabla I.1), parece ser el proceso de secado, más que la propia síntesis, el responsable de las diferencias en los perfiles de disolución.

Podría pensarse que la liofilización produce mayores variaciones en la estructura de los materiales que el secado en estufa, especialmente en la estructura porosa, uno de los principales factores que afecta la liberación de principios activos a partir de matrices inertes (Collett y Moreton, 2002; Ferrero y col., 2003). Así, la estructura porosa de los materiales secados por liofilización se ve afectada principalmente por la velocidad a la que se enfría el producto durante la congelación. Este factor determina el tamaño de los cristales de hielo que, después de la sublimación, dejarán en su lugar poros del mismo tamaño y número. Una congelación efectuada a velocidad elevada provoca la formación de cristales de hielo pequeños, numerosos, repartidos de forma sensiblemente uniforme, mientras que una congelación lenta tiende a formar cristales grandes, poco numerosos y repartidos de forma irregular (Trappler, 1993).

Otros factores que afectan al tamaño de los cristales de hielo son el contenido de agua del producto a congelar (a menor cantidad de agua más pequeños serán los cristales) y el volumen o cantidad del producto a congelar (si éste es considerable, la parte que esté más próxima a la superficie fría se congelará más rápidamente que el resto). Un gran volumen de producto conduciría a una congelación irregular a lo largo del material, favoreciendo la formación de cristales de hielo de dimensiones heterogéneas que provocarían la formación de poros de diferente tamaño en el producto final (Jeannin y col., 1986).

Por otra parte, la porosidad de los productos secados en estufa depende del grado de contracción que experimenta el material a medida que se retira el agua durante el

secado (Keey, 1972; Kneule, 1982). En el caso de materiales amorfos, la magnitud de la contracción se relaciona con la movilidad de los mismos (Mayor y Sereno, 2004), y ésta con la diferencia entre la temperatura de la muestra que experimenta la deshidratación y su temperatura de transición vítrea (T_g) (Levi y Karel, 1995). Además de la movilidad del producto, la magnitud de la contracción depende del volumen de agua retirada (a más agua retirada mayor contracción) y de la velocidad del secado que, a su vez, se ve afectada por el espesor de la capa del producto a secar, entre otros factores.

De todo lo anterior se podría concluir que, a nivel de laboratorio, es más complicado controlar el proceso de congelación de los productos que van a ser secados por liofilización que las condiciones de secado en estufa, ya que éstas se pueden regular, de forma relativamente fácil, tratando de mantener constante el contenido inicial de humedad del sólido y distribuyendo el producto en capas con espesor uniforme en las bandejas, logrando de este modo que la porosidad sea más reproducible.

Por otro lado, la mayor variación de peso de los comprimidos elaborados con los productos liofilizados (Tabla I.2) también podría contribuir a la dispersión más amplia observada en los perfiles de disolución de estos comprimidos. En este sentido, las variaciones de peso pueden originar una mayor variabilidad en la velocidad de disolución de los comprimidos individuales (Colombo y col., 1985), lo que se traduce en desviaciones mayores en los perfiles de disolución medios.

2. Efecto del gradiente de pH sobre la liberación de teofilina

En este estudio, además de los comprimidos objeto de análisis, también se evaluó el comportamiento de dos formulaciones disponibles comercialmente: Theo-Dur[®], que presenta una liberación de teofilina independiente del pH, y Theolair[®], con liberación dependiente del pH (Shangraw, 1988).

En la Figura I.5 se presentan los perfiles de liberación obtenidos para cada una de las seis formulaciones, donde se puede distinguir dos comportamientos dependiendo de si el perfil de liberación presenta o no un aspecto continuo a medida que varía el pH del medio de disolución. Así, para Theo-Dur[®], HAMMAO y HAMMAL se observan perfiles continuos o pH-independientes, mientras que para Theolair[®], CAMMAO y CAMMAL se aprecia un comportamiento pH-dependiente, con un aspecto discontinuo en el perfil de disolución a partir del medio de pH 7.0. La variación en la velocidad de liberación a este pH es más notoria para

I Efecto de la variabilidad interlote de los copolímeros y de un gradiente de pH sobre la liberación de teofilina

los comprimidos de Theolair® que para las formulaciones elaboradas con los copolímeros CAMMA.

Es poco probable que el ligero incremento en la ionización que experimenta la teofilina ($pK_a = 8.8$) a los pHs 7.0 y 7.5 (1.6% 5%, respectivamente) y, por consiguiente, en su solubilidad, explique totalmente la discontinuidad en los perfiles de liberación de Theolair® y las matrices con los derivados CAMMA, puesto que ese comportamiento no se observa en el resto de las formulaciones.

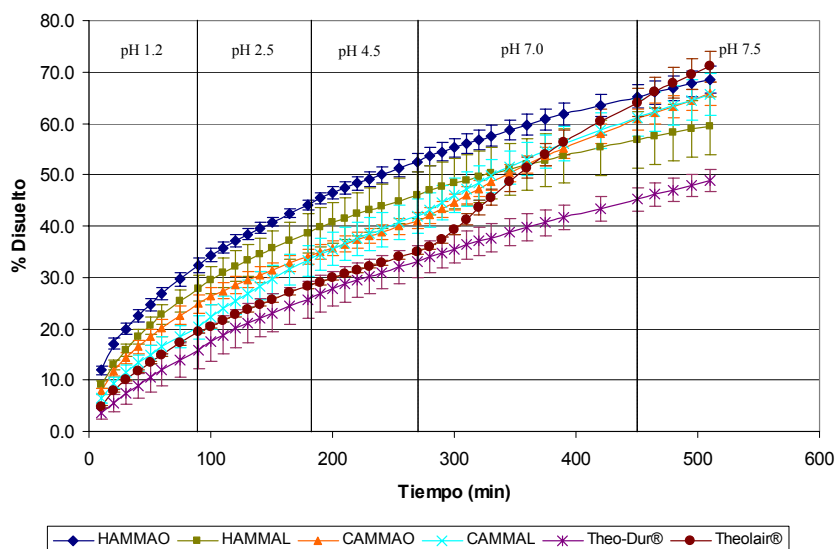


Figura I.5.- Perfiles de liberación de teofilina obtenidos para cada una de las seis formulaciones frente a gradiente de pH.

González y Golub (1983) señalaron que la formulación de Theo-Dur® está formada por pellets con teofilina embebidos en una base que contiene una fracción de la dosis de teofilina y una serie de excipientes que prolongan su liberación. Shangraw (1988) manifestó que, según la patente, los pellets están constituidos por partículas de azúcar cubiertas con teofilina y, a su vez, recubiertas por varias capas de material lipídico (monoestearato de glicerilo, alcohol cetílico, cera de abejas) y/o un polímero ácido del acetofalato de celulosa. El prospecto de la especialidad farmacéutica utilizada presenta como constituyentes, además de la teofilina: acacia, laurilsulfato sódico, talco, almidón, estearato magnésico, cera blanca, alcohol miristílico, acetofalato de celulosa y ftalato de dietilo.

Por otra parte, según Shangraw (1988), Theolair[®] se obtiene por compresión de un granulado elaborado con teofilina y acetofalato de celulosa, mientras que el prospecto lo muestra como un comprimido recubierto formado principalmente por teofilina, lactosa y otros excipientes.

De esta información podría deducirse que, de los materiales utilizados en ambas formulaciones, el que más probablemente produciría una liberación dependiente del pH es el acetofalato de celulosa. Este excipiente es un derivado de la celulosa que posee grupos ftalato ionizables. Es prácticamente insoluble en agua y puede ser soluble en ciertas soluciones acuosas tamponadas con pH_s superiores a 6.0. A pH_s inferiores, el material es insoluble, por lo que se utiliza comúnmente como recubrimiento de formulaciones entéricas (Fengl, 2003).

No obstante, llama la atención que, aunque ambas formulaciones contienen acetofalato de celulosa, su presencia se deje sentir fundamentalmente en el perfil de disolución correspondiente a Theolair[®] (Figura I.5). Así, en los medios de disolución con pH_s ≤ 4.5, se observa que la liberación de teofilina se prolonga con una velocidad muy similar a la de Theo-Dur[®]. Sin embargo, cuando los comprimidos se sumergen en el medio de disolución de pH 7.0, la velocidad de liberación aumenta vertiginosamente. Al final del estudio, los comprimidos estaban prácticamente disueltos en el medio de disolución, a diferencia de lo que ocurrió con la formulación Theo-Dur[®]. Palmieri y col. (2000) describieron un comportamiento similar a Theolair[®] al evaluar el posible uso de polímeros con solubilidad dependiente de pH (acetofalato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, Eudragit[®] L y Eudragit[®] S) en la formulación de matrices para liberación prolongada.

Se podría pensar, entonces, que el papel que juega el acetofalato de celulosa en las dos formulaciones es diferente. En Theo-Dur[®] es posible que este material no sea utilizado como una cubierta, sino más bien, como otro excipiente de la formulación, incluido en el interior de los pellets o en la base que ayuda a formar los comprimidos y, al estar mezclado con otros excipientes, su capacidad para afectar la velocidad de liberación a un pH de 7.0 se vea disminuida.

Por otro lado, existe una gran probabilidad de que, en el caso de Theolair[®], el acetofalato de celulosa se encuentre recubriendo el comprimido. De ser así, se podría postular que, en medio ácido, los grupos carboxílicos presentes en este material se encuentran sin ionizar y la estructura compacta de los comprimidos se mantiene gracias a interacciones polímero-polímero, fuerzas de Van der Waals y/o interacciones moleculares a través de puentes de hidrógeno. Esto dificulta la entrada

del medio de disolución en la matriz y causa la prolongación en la liberación de la teofilina. Al aumentar el pH del medio por encima de seis, los grupos carboxilo comienzan a ionizarse y se incrementa la penetración de líquido en la cubierta, las cadenas del polímero se desenredan y separan unas de otras, lo que provoca la solubilización de la cubierta y el inicio de la disolución de la lactosa que forma el comprimido, conduciendo a su erosión y, finalmente, a la liberación más rápida de teofilina.

En cuanto al comportamiento de los copolímeros de injerto, conviene tener presente que los derivados HAMMA se sintetizan a partir del hidroxipropilalmidón, que se obtiene por eterificación con óxido de propileno de los hidroxilos libres en las unidades de anhidroglucosa del almidón (Avebe, 2003). El producto que se utilizó en la copolimerización de injerto presentaba un grado de sustitución entre 0.04 y 0.06 (Castellano, 1997), es decir, de 4 a 6 grupos hidroxipropilo por cada 100 unidades de anhidroglucosa. Por otro lado, la copolimerización de injerto, realizada sobre el hidroxilo en C₃, mostró unos valores medios de eficacia de injerto de 89.8% para HAMMAO y de 89.4% para HAMMAL (Tabla I.1) lo que indica que, aproximadamente, un 10% del producto obtenido es PMMA libre.

Ambos componentes, copolímero y PMMA, carecen de grupos químicos ionizables, por lo que es de esperar que el material final sea mucho más hidrófobo que el material de partida y que, además, existan pocas posibilidades de que su estructura se vea afectada por el pH. Observaciones experimentales, como el escaso cambio en el tamaño de las matrices durante el ensayo de disolución y la continuidad del perfil de liberación en los diferentes pH_s (Figura I.5), proporcionan las evidencias necesarias para sustentar esta hipótesis.

Por su parte, los derivados CAMMA se sintetizaron a partir del carboximetilalmidón, derivado del almidón obtenido por eterificación de los hidroxilos en las unidades de anhidroglucosa con grupos carboximetilo (Avebe, 2003). El grado de sustitución de la materia prima de partida fue de 0.13 a 0.15 (de 13 a 15 grupos carboximetilo por cada 100 unidades de anhidroglucosa) (Castellano, 1997). Sin embargo, la eficacia de injerto de este carbohidrato fue mucho menor que la obtenida con el hidroxipropilalmidón, sólo 29.7% y 29.5%, respectivamente, para CAMMAO y CAMMAL (Tabla I.1). Esto indica que el copolímero posee pocas cadenas de PMMA unidas a la cadena carbohidratada y que el producto final contiene un alto porcentaje de PMMA libre (alrededor del 70%). El PMMA *per se* tiene un carácter hidrófobo, a diferencia de la cadena carbohidratada, que tiene un carácter más hidrófilo conferido por los grupos carboxilos. Todo esto hace suponer que CAMMA es más hidrófilo que HAMMA,

hecho que fue evidenciado por Bravo (2003), al evaluar las isotermas de sorción y desorción de agua presentadas por estos productos.

De modo similar al acetofalato de celulosa, los grupos carboxilo del CAMMA, a $\text{pH}_s \leq 4.5$, se encuentran no ionizados; por lo tanto, la matriz mantiene su tamaño y se observa continuidad en la liberación de teofilina de un pH a otro (Figura I.5). El cambio en el pH del medio a 7.0 produce la ionización de los grupos carboxilo, causando la relajación de las cadenas del copolímero, lo que se manifestó en el aumento de volumen de la matriz que se observó al final del ensayo de disolución. Además, la relajación de las cadenas podría producir también un incremento en la porosidad de la matriz, dando lugar a una mayor velocidad de liberación de la teofilina. El hecho de que las cadenas de los copolímeros CAMMA se relajen, sin llegar a disolverse en el medio de disolución, explica el cambio menos notorio en la velocidad de liberación de teofilina a partir de estos productos a pH 7.0, comparado con el sufrido por Theolair[®].

Como consecuencia, pues, del distinto comportamiento frente al gradiente de pH de los derivados HAMMA y CAMMA, nuestros objetivos posteriores se centraron en buscar una formulación con un perfil de liberación aproximado a Theo-Dur[®] para los primeros y a Theolair[®] para los segundos. Es por ello que, de aquí en adelante, los comprimidos elaborados con HAMMA contendrán una dosis de principio activo de 100 mg (idéntica a Theo-Dur[®]), mientras que, para CAMMA, ésta será de 175 mg (idéntica a Theolair[®]).

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en estos dos estudios se podría concluir que:

1. De la comparación de los perfiles de disolución en medio acuoso de los comprimidos elaborados con los diferentes lotes de cada copolímero, mediante el factor de similitud f_2 , se deduce que éstos son similares, con unas diferencias inferiores al 10%. Sólo en dos casos, correspondientes a los productos liofilizados, la condición de similitud no se cumple, si bien las diferencias son inferiores al 15%.
2. Mientras que para los comprimidos con los derivados HAMMAO, HAMMAL y Theo-Dur[®] se observan perfiles continuos o pH-independientes, para las formulaciones con CAMMAO, CAMMAL y Theolair[®] se aprecia un comportamiento pH-dependiente, con una discontinuidad en el perfil de disolución a partir de pH 7.0. Sin embargo, la variación en la velocidad de liberación a este pH es más notoria para los comprimidos con Theolair[®] que para las formulaciones elaboradas con los copolímeros CAMMA.

BIBLIOGRAFÍA

ÁLVAREZ-LORENZO, C. y col. Intersupplier and interlot variability in hydroxypropyl celluloses: implications for theophylline release from matrix tablets. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 1998, 73: 113-120.

ANDERSON, N.H. y col. An evaluation of fit factors and dissolution efficiency for the comparison of in vitro dissolution profiles. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1998, 17: 811-822.

ASHFORD, M. The gastrointestinal tract-physiology and drug absorption. En AULTON, M.E. (Ed.) *Pharmaceutics: The science of dosage form design*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2002, p. 217-233.

AVEBE. Avebe food site. *Glossary*/ [en línea]. [Consulta: 16 agosto 2003]. <<http://www.avebe.com/website/avebe.nsf/frameset?openform&food>>.

BRAVO, I. *Efecto de la humedad sobre las características tecnológicas de copolímeros de almidón y metacrilato de metilo*. Tesis doctoral, Universidad de Sevilla, 2003.

CASTELLANO, I. *Estudio de copolímeros de injerto sintetizados para su uso como excipientes de fármacos de liberación controlada en formas orales por compresión directa*. Tesis doctoral, Universidad del País Vasco, 1997.

CASTELLANO, I., GURRUCHAGA, M. y GOÑI, I. The influence of drying method on the physical properties of some graft copolymers for drug delivery systems. *Carbohydrate Polymers*, 1997, 34: 83-89.

CHOW, S.C. y KI, F.Y.C. Statistical comparison between dissolution profiles of drug products. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, 1997, 7(2): 241-258.

COHEN, J.L. y col. The development of USP dissolution and drug release standards. *Pharmaceutical Research*, 1990, 7(10): 983-987.

COLLETT, J. y MORETON C. Modified-release peroral dosage forms. En AULTON, M.E. (Ed.) *Pharmaceutics: The science of dosage form design*, Edinburgh: Churchill Livingstone, 2002, p. 289-305.

COLOMBO, P. y col. Tablet weight uniformity and dissolution rate variations. *Acta Pharmaceutica Technologica*, 1985, 31(2): 63-66.

COSTA, P. y SOUSA, J.M. Modeling and comparison of dissolution profiles: review. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2001, 13: 123-133.

DI MARTINO, P. y col. The batch-to-batch non-reproducibility of the compression ability of lactose: reasons and detection. *S.T.P. Pharma Sciences*, 1993, 3(6): 436-441.

DOELKER, E. y col. Comparative tableting properties of sixteen microcrystalline celluloses. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1987, 13(9-11): 1847-1875.

DRESSMAN, J.B. Comparison of canine and human gastrointestinal physiology. *Pharmaceutical Research*, 1986, 3(3): 123-131.

FDA. *Guidance for Industry: Immediate release solid dosage forms: scale-up and postapproval changes: chemistry, manufacturing, and controls, in vitro dissolution testing, and in vivo bioequivalence documentation* [en línea]. [Rockville]: Center for drug evaluation and research (CEDER), 1995, 26 p. <www.fda.gov/cder/guidance.htm>.

FDA. *Guidance for Industry: dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms* [en línea]. [Rockville]: Center for drug evaluation and research (CEDER), 1997a, 14 p. <www.fda.gov/cder/guidance.htm>.

FDA. *Guidance for Industry: extended release oral dosage forms: development, evaluation, and application of in vitro/in vivo correlations* [en línea]. [Rockville]: Center for drug evaluation and research (CEDER), 1997b, 24 p. <www.fda.gov/cder/guidance.htm>.

FDA. *Guidance for Industry: SUPAC – MR: modified release solid oral dosage forms: scale-up and postapproval changes: chemistry, manufacturing, and controls; in vitro dissolution testing and in vivo bioequivalence documentation* [en línea]. [Rockville]: Center for drug evaluation and research (CEDER), 1997c, 48 p. <www.fda.gov/cder/guidance.htm>.

FDA. *Guidance for Industry: waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics*

classification system [en línea]. [Rockville]: Center for drug evaluation and research (CEDER), 2000, 13 p. <www.fda.gov/cder/guidance.htm>.

FENGL, R.W. Cellulose acetate phthalate. En ROWE, R.C., SHESKEY, P.J. y WELLER, P.J. (Eds.) *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 14^a ed. London: Pharmaceutical Press, 2003, p. 120-122.

FERRERO, M.C. y JIMÉNEZ-CASTELLANOS, M.R. The influence of carbohydrate nature and drying methods on the compaction properties and pore structure of new methyl methacrylate copolymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 2002, 248: 157-171.

FERRERO, C., BRAVO, I. y JIMÉNEZ-CASTELLANOS, M.R. Drug release kinetics and fronts movement studies from methyl methacrylate (MMA) copolymer matrix tablets: effect of copolymer type and matrix porosity. *Journal of Controlled Release*, 2003, 92(1-2): 69-82.

GONZÁLEZ, M.A. y GOLUB, A.L. Theo-Dur[®] and Theo-Dur Sprinkle[™]: controlled-release delivery systems for theophylline. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1983, 9(7): 1379-1396.

JEANNIN, C., MANGEOT, A. y VERAÏN, A. *Ingeniería Química*. París: Technique et Documentation, 1986. 368-381 p.

JORGENSEN, E.D. y BHAGWAT, D. Development of dissolution test for oral extended-release products. *Pharmaceutical Sciences and Technology Today (PSTT)*, 1998, 1(3): 128-135.

JU, H.L. y LIAW, S.J. On the assessment of similarity of drug dissolution profiles: a simulation study. *Drug Information Journal*, 1997, 31: 1273-1289.

KEEY, R.B. *Drying principles and practice*. Oxford: Pergamon Press, 1972. 39-49 p.

KHAN, K.A. y RHODES, C.T. Effect of compaction pressure on the dissolution efficiency of some direct compression systems. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 1972, 47: 594-607.

KNEULE, F. *El secado*. Bilbao: Urmo, 1982. Capítulo 3, 323-336 p. Enciclopedia de la tecnología química. Técnicas de procesos en las industrias químicas y

derivados.

LANDÍN, M. y col. Effect of country of origin on the properties of microcrystalline cellulose. *International Journal of Pharmaceutics*, 1993a, 91: 123-131.

LANDÍN, M. y col. Effect of batch variation and source of pulp on the properties of microcrystalline cellulose. *International Journal of Pharmaceutics*, 1993b, 91: 133-141.

LANDÍN, M. y col. Influence of microcrystalline cellulose source and batch variation on the tableting behaviour and stability of prednisone formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 1993c, 91: 143-149.

LANDÍN, M. y col. The effect of country of origin on the properties of dicalcium phosphate dihydrate powder. *International Journal of Pharmaceutics*, 1994a, 103: 9-18.

LANDÍN, M. y col. Chemical stability of acetylsalicylic acid in tablets prepared with different commercial brands of dicalcium phosphate dihydrate. *International Journal of Pharmaceutics*, 1994b, 107: 247-249.

LEVI, G. y KAREL, M. Volumetric shrinkage (collapse) in freeze-dried carbohydrates above their glass transition temperature. *Food Research International*, 1995, 28(2): 145-151.

LIU, J.P. y CHOW, S.C. Statistical issues on the FDA conjugated estrogen tablets bioequivalence guidance. *Drug Information Journal*, 1996, 30: 881-889.

LIU, J.P., MA, M.C. y CHOW, S.C. Statistical evaluation of similarity factor f_2 as a criterion for assessment of similarity between dissolution profiles. *Drug Information Journal*, 1997, 31: 1255-1271.

LUCISANO, L.J. y col. Evaluation of an alternate source of hydroxypropyl methylcellulose for use in a sustained-release tablet matrix. *Pharmaceutical Technology*, 1989, 88(march): 88-98.

LUI, C.Y. y col. Comparison of gastrointestinal pH in dogs and humans: implications on the use of the beagle dog as a model for oral absorption in humans. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1986, 75(3): 271-274.

MAUGER, J.W., CHILKO, D. y HOWARD, S. On the analysis of dissolution data. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1986, 12(7): 969-992.

MAYOR, L. y SERENO, A.M. Modelling shrinkage during convective drying of food materials: a review. *Journal of Food Engineering*, 2004, 61: 373-386.

MOORE, J.W. y FLANNER, H.H. Mathematical comparison of dissolution profiles. *Pharmaceutical Technology*, 1996, Junio: 64-74.

MUÑOZ-RUIZ, A. y col. A comparison of three methods of estimating displacement on an instrumented single punch tablet machine. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1995, 21: 215-227.

O'HARA, T. y col. Review of methodologies for the comparison of dissolution profile data. En YOUNG, D.; DEVANE, J. y BUTTER, J. (Eds.) *Advances in experimental medicine and biology*. New York: Plenum Press, 1997, Vol. 423, p. 167-173.

O'HARA, T. y col. A review of methods used to compare dissolution profile data. *Pharmaceutical Science and Technology Today (PSTT)*, 1998, 1(5): 214-223.

PALMIERI, G.F. y col. Polymers with pH-dependent solubility: possibility of use in the formulation of gastroresistant and controlled-release matrix tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2000, 26(8): 837-845.

PÉREZ-MARCOS, B. y col. Interlot variability of carbomer 934. *International Journal of Pharmaceutics*, 1993, 100: 207-212.

PILLAY, V. y FASSIHI, R. Unconventional dissolution methodologies. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1999, 88(9): 843-851.

POLLI, J.E. y col. Methods to compare dissolution profiles and a rationale for wide dissolution specifications for metoprolol tartrate tablets. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1997, 86(6): 690-700.

Real Farmacopea Española. 2ª Ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 2002, 215 p.

RESCIGNO, A. Bioequivalence. *Pharmaceutical Research*, 1992, 9(7): 925-928.

ROWE, R.C., McKILLOP, A.G. y BRAY, D. The effect of batch and source variation on the crystallinity of microcrystalline cellulose. *International Journal of Pharmaceutics*, 1994, 101: 169-172.

SATHE, P.M., TSONG, Y. y SHAH, V.P. *In-vitro* dissolution profile comparison: statistics and analysis, model dependent approach. *Pharmaceutical Research*, 1996, 13(12): 1799-1803.

SHAH, V.P. y col. *In vitro* dissolution profile comparison: statistic and analysis of the similarity factor, f_2 . *Pharmaceutical Research*, 1998, 15(6): 889-896.

SHANGRAW, R.F. Design and formulation of sustained release theophylline dosage forms. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1988, 14(2-3): 319-335.

SKELLY, J.P. y BARR, W.H. Regulatory assessment. En ROBINSON, J.R. y LEE, V.H.L. (Eds.) *Controlled drug delivery: fundamentals and applications*. 2ª ed. New York: Marcel Dekker, INC, 1987, p. 294-334. *Drugs and the pharmaceutical sciences*. Vol. 29.

TRAPPLER, E.H. Validation of lyophilized products. En BERRY, I.R. y NASH, R.A. (Eds.) *Pharmaceutical process validation*. 2ª ed. New York: Marcel Dekker, INC, 1993, p. 445-477. *Drugs and the pharmaceutical sciences*. Vol. 57.

TSONG, Y. y col. Statistical assessment of mean differences between two dissolution data sets. *Drug Information Journal*, 1996, 30: 1105-1112.

USP 27. *The United States Pharmacopeia, XXVII revision*. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention, 2004, 2501-2510 p.

VERTZONI, M. y col. Comparison of simulated cumulative drug versus time data sets with indices. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2003, 56: 421-428.

YUKSEL, N., KANIK, A.E. y BAYKARA, T. Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA-based, model-dependent and -independent methods. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 209: 57-67.

CAPÍTULO II

DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN TECNOLÓGICA DE LAS FORMULACIONES

INTRODUCCIÓN

En esta introducción se realiza inicialmente una revisión sobre los perfiles fuerza-desplazamiento y el significado de los diversos parámetros que se obtienen a partir del registro de compresión. Seguidamente, se describen las principales ecuaciones cinéticas utilizadas en la determinación del mecanismo de liberación del fármaco a partir de sistemas matriciales. Finalmente, se hace referencia a la motilidad gastrointestinal y su efecto sobre las formas farmacéuticas de administración oral.

1. Perfiles fuerza-desplazamiento

A mediados de los años cincuenta, en un intento por comprender mejor la física del proceso de compresión a nivel farmacéutico, Higuchi y col. (1954) instrumentaron una máquina de comprimir excéntrica, lo que permitió obtener medidas de la fuerza y el desplazamiento de los punzones durante la compresión de un sólido

pulverulento. En la Figura II.1 se recoge una representación típica del desplazamiento y fuerza del punzón superior respecto al tiempo.

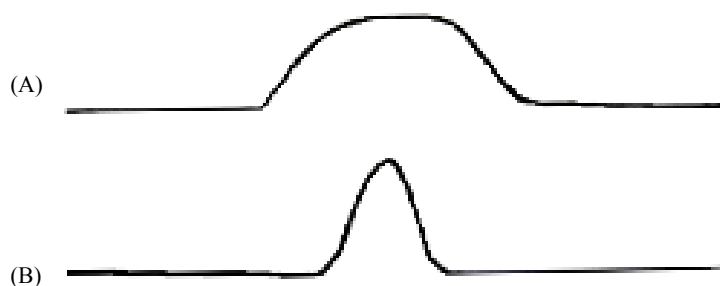


Figura II.1.- Representación del desplazamiento (A) y la fuerza (B) del punzón superior respecto al tiempo durante la compresión de un sólido pulverulento (De Blaey y Polderman, 1970).

Al representar gráficamente la fuerza experimentada por el punzón a medida que se va desplazando sobre la masa de polvo se obtiene el perfil fuerza-desplazamiento (Figura II.2). A medida que el punzón superior se desplaza sobre la columna de polvo, la fuerza aumenta hasta alcanzar un valor máximo (parte ascendente de la curva con triángulos vacíos). Posteriormente, cuando el punzón comienza a retirarse del comprimido, la fuerza debería descender verticalmente (líneas punteadas); sin embargo, sobre la superficie del punzón se sigue registrando una fuerza que es ejercida por el comprimido y se debe a la recuperación elástica rápida experimentada por éste inmediatamente después de la descompresión (parte descendente de la curva con triángulos vacíos). De modo similar, la fuerza transmitida al punzón inferior aumenta hasta registrar un valor máximo (parte ascendente de la curva con triángulos llenos) cuando el punzón superior alcanza su desplazamiento máximo, pero la fuerza transmitida es inferior a la aplicada como consecuencia del rozamiento con las paredes de la cámara de compresión.

Este comportamiento es típico de máquinas de comprimir excéntricas, en las que el punzón inferior permanece fijo durante la compresión mientras que el punzón superior se desplaza sobre la columna de polvo. Las curvas fuerza-desplazamiento descritas delimitan áreas que se relacionan con tres tipos de trabajo diferentes (Figura II.2): trabajo necesario para vencer el rozamiento de la columna de polvo con la pared de la cámara de compresión (W_{roz}); trabajo neto aparente necesario para la formación del comprimido (W_{na}), y trabajo de recuperación elástica rápida del comprimido (W_{exp}).

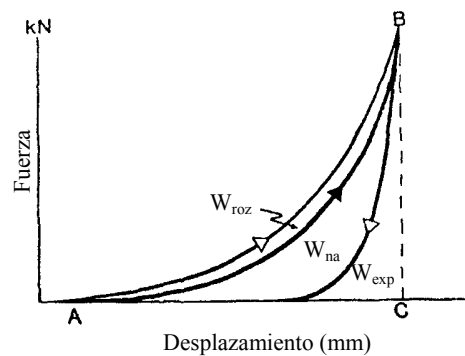


Figura II.2.- Perfil fuerza-desplazamiento típico. Los triángulos vacíos representan la fuerza-desplazamiento del punzón superior durante la compresión y la descompresión del polvo. El triángulo lleno corresponde a la fuerza-desplazamiento del punzón inferior durante la compresión. W_{roz} es el trabajo necesario para vencer el rozamiento de la columna de polvo con la pared de la cámara de compresión; W_{na} es el trabajo neto aparente necesario para la formación del comprimido y W_{exp} es el trabajo de recuperación elástica rápida del comprimido (Rudnic y Kottke, 1996).

Dentro de los parámetros que son útiles para caracterizar el proceso de compresión, podemos destacar la presión aplicada por el punzón superior (P_{sup}); la relación entre la fuerza transmitida al punzón inferior y la fuerza aplicada por el punzón superior (R), también conocida como coeficiente de lubricación; la fuerza de eyección (F_{eyec}), los trabajos descritos anteriormente y el porcentaje de plasticidad (% PI).

La presión aplicada por el punzón superior (P_{sup}), entendida como la fuerza por unidad de superficie que debe ser aplicada por el punzón para obtener un comprimido de características óptimas, es propia de cada material. Así, existen materiales que forman comprimidos a baja presión, mientras que otros no los forman aunque se les aplique grandes presiones.

El coeficiente de lubricación (R), como se indicó anteriormente, es la relación entre la fuerza transmitida al punzón inferior y la fuerza aplicada por el punzón superior (Nelson y col., 1954). Esta expresión proporciona una estimación aproximada de las propiedades de lubricación de un material o de la eficacia de un lubricante durante la compresión (Doelker, 1994).

La fuerza de eyección (F_{eyec}) es la fuerza máxima registrada sobre el punzón inferior durante la eyección del comprimido (Doelker, 1994). Depende de la fuerza utilizada

para elaborar el comprimido, de la superficie de contacto entre la cámara de compresión y el comprimido y de la recuperación elástica del comprimido durante la descompresión (Nelson y col., 1954; Stamm y Mathis, 1975).

El trabajo de rozamiento (W_{roz}) es la energía necesaria para vencer la fricción entre las partículas de polvo y la pared de la cámara de compresión, causada por la adhesión lateral que tiene lugar a medida que la columna de polvo se densifica. Según Nelson y col. (1955) y De Blaey y Polderman (1970, 1971), corresponde a la diferencia entre el trabajo realizado por el punzón superior y el trabajo transmitido al punzón inferior. Sin embargo, Järvinen y Juslin (1974, 1981) propusieron la siguiente expresión:

$$W_{roz} = \int_0^{D_s, \max} F_s \frac{F_s - F_i}{\ln \frac{F_s}{F_i}} dD_s \quad (1)$$

donde F_s es la fuerza máxima aplicada por el punzón superior, F_i la fuerza máxima transmitida al punzón inferior y D_s el desplazamiento del punzón superior. El interés de esta fórmula radica en que se tiene en cuenta el desplazamiento de cada partícula respecto al punzón inferior en el momento de la compresión, así como la disminución exponencial de la distribución de la fuerza axial del punzón superior al inferior.

Ragnarsson y Sjögren (1983) evaluaron las dos aproximaciones y encontraron que la expresión propuesta por Järvinen y Juslin (1974) era más apropiada para calcular el trabajo de rozamiento.

El trabajo de expansión (W_{exp}) es el trabajo producido por el comprimido sobre el punzón superior, durante la descompresión, como consecuencia de su recuperación elástica rápida. Se calcula mediante la siguiente ecuación (De Blaey y Polderman, 1971):

$$W_{exp} = \int_{D_s, \max}^{D_s, (F_s=0)} F_s dD_s \quad (2)$$

donde F_s es la fuerza máxima aplicada por el punzón superior y D_s el desplazamiento. Aunque este parámetro proporciona una estimación de la elasticidad de la masa comprimida, subestima la expansión real del comprimido (Doelker, 1994). Ragnarsson y Sjögren (1983) compararon la altura de comprimidos de sacarosa y lactosa al final de la descompresión con su altura

después de la eyección y encontraron que sólo del 55% al 65% de la expansión axial tuvo lugar dentro de la cámara de compresión.

El trabajo neto aparente (W_{na}) se considera como el trabajo realmente empleado para la formación del comprimido. Se calcula mediante la ecuación:

$$W_{na} = W_{sup} - W_{roz} - W_{exp} \quad (3)$$

en la que W_{sup} es el trabajo realizado por el punzón superior.

Como se dijo anteriormente, el trabajo de expansión es menor que el valor real, por lo que el trabajo neto aparente también es una estimación aproximada. Ragnarsson y Sjögren (1985), al evaluar los gráficos de Heckel y la influencia de la interacción de las partículas sobre el trabajo neto aparente, establecieron que este parámetro no es adecuado para evaluar las propiedades de compactación de los materiales. Sin embargo, destacaron su utilidad para detectar variaciones lote a lote en las propiedades de compactación de los materiales debido a su alta sensibilidad a las propiedades inter e intraparticulares, buena reproducibilidad y baja dependencia de las condiciones de la pared de la cámara.

Finalmente, el porcentaje de plasticidad (% Pl) fue propuesto por Stamm y Mathis (1975) como una medida que representa el porcentaje de energía aparente de compresión realmente utilizado para la deformación plástica. Se calcula mediante la expresión:

$$\%Pl = \frac{W_{na}}{W_{na} + W_{exp}} \quad (4)$$

2. Matrices inertes

El régimen de dosificación ideal es aquel que permite alcanzar el nivel terapéutico del fármaco en el sitio de acción de forma inmediata y mantenerlo durante el periodo de duración del tratamiento (García y col., 1978). Para conseguir este objetivo, la forma farmacéutica debe liberar el principio activo con una cinética de orden cero. En la infusión intravenosa, esto se logra a través del control de la velocidad de la infusión. En una forma de dosificación oral, dicho control debe proporcionarlo el sistema de liberación, existiendo muchas estrategias

farmacotécnicas para lograrlo (Holgado y col., 1990) (Figura 4). En el estudio que nos ocupa, centraremos nuestra atención en los sistemas matriciales poliméricos para administración oral en forma de matrices inertes, puesto que estudios previos demostraron que los copolímeros bajo estudio son adecuados para la formulación de este tipo de sistemas (Ferrero y col., 2003).

Las matrices inertes, generalmente, están constituidas por un excipiente prolongador de la liberación, normalmente un polímero insoluble, el principio activo y otros excipientes. Se pueden elaborar por compresión directa. Así, el polímero bajo compresión forma una estructura rígida que atrapa el principio activo en su interior, por lo que la prolongación de la liberación se logra por la dificultad que encuentra el fármaco para abandonar la matriz.

Los perfiles de liberación de estos sistemas se caracterizan por presentar una disminución de la velocidad de liberación con el tiempo, que se relaciona con la mayor distancia que tiene que recorrer el principio activo para liberarse a medida que avanza el ensayo de disolución. En la mayoría de los casos, los datos se ajustan a la ecuación de Higuchi (1963), propuesta para describir la liberación del principio activo a partir de una de las caras de la matriz en condiciones sumidero:

$$Q = \left[\frac{D\varepsilon C_s}{\tau} (2A - \varepsilon C_s) t \right]^{1/2} \quad (5)$$

donde Q es la cantidad de principio activo liberado por unidad de área expuesta después de un tiempo t, D es el coeficiente de difusión del fármaco en el medio de disolución, ε es la porosidad total de la matriz, τ es el factor de tortuosidad del sistema capilar, C_s es la solubilidad del principio activo en el medio de disolución y A es la concentración inicial del principio activo en el comprimido (cantidad de fármaco presente en la matriz por unidad de volumen).

Esta ecuación puede representarse en términos de la fracción de principio activo liberada:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^{1/2} \quad (6)$$

donde M_t es la cantidad de principio activo liberado a tiempo t, M_∞ es la cantidad de principio activo liberado a tiempo infinito y k es la constante de velocidad de liberación y corresponde a:

$$k = \frac{S}{M_{\infty}} \left[D' \varepsilon C_s \left(\frac{2M_{\infty}}{v} - \varepsilon C_s \right) \right]^{1/2} \quad (7)$$

donde S es el área superficial disponible para la liberación, v es el volumen del comprimido y D' es el coeficiente de difusión aparente del fármaco en la matriz hidratada, que se relaciona con el coeficiente de difusión del principio activo en el medio de liberación mediante la expresión $D' = D/\tau$ (Lapidus y Lordi, 1968).

El factor de tortuosidad (τ) da idea del aumento de la distancia a recorrer por el fármaco debido a migraciones laterales. La porosidad (ε) hace referencia a la fracción de volumen de la matriz que puede ser penetrada por el fluido y que está disponible para la difusión en la porción ya percolada de la matriz (Higuchi, 1963; Desai y col., 1966a). La fracción de esta porosidad accesible al solvente estará en función del grado de hidrofilia de la matriz y de las propiedades de humectación del solvente. La porosidad y tortuosidad dependen de la cantidad de principio activo dispersado, de las propiedades fisicoquímicas de la matriz y de las características de dispersión del fármaco en la matriz (Lordi, 1986).

De la ecuación 7 se deduce que la velocidad de liberación de un principio activo a partir de una matriz inerte puede modularse cambiando la porosidad o la tortuosidad del sistema, mediante la modificación de variables del proceso de producción como la presión de compresión o a través de la inclusión de un excipiente soluble en la formulación.

Higuchi (1961, 1963) estableció asimismo los límites de validez para la aplicación de esta ecuación: las partículas del principio activo deben estar dispersas uniformemente en la matriz y su diámetro debe ser pequeño en relación a la distancia promedio de difusión; la concentración inicial del fármaco (A) debe ser superior a su solubilidad por un factor de 3 ó 4; la liberación debe realizarse en condiciones sumidero; no debe presentarse hinchamiento o contracción del polímero durante la liberación; la difusión del principio activo debe ser la etapa limitante de la liberación y el coeficiente de difusión constante.

La ecuación de Higuchi predice una intersección en el origen de coordenadas; sin embargo, se suelen presentar pequeñas intersecciones negativas debido a fallos de los sistemas para alcanzar el estado de difusión (tiempo de latencia asociado a la hidratación y humectación de la matriz y a la velocidad de disolución del principio activo en el medio) (Higuchi, 1963; Ford y col., 1985a, 1985b). Ford y col. (1991) aplicaron la ecuación de Higuchi en la forma $Q = At^{0.5} + c$, donde c es una

constante y A la constante de velocidad de disolución. El periodo de latencia se calcula como $-c/A$.

Otra aproximación que también se utiliza con frecuencia para el análisis de la liberación del principio activo a partir de sistemas no hinchables bajo condiciones sumidero es la ecuación semiempírica propuesta por Korsmeyer y col. (1983a) y Peppas (1985). Esta ecuación, que nace del intento de explicar mecanismos de liberación del fármaco donde se presenta erosión o disolución de la matriz, es una forma generalizada de la relación de Higuchi y se expresa como:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k' t^n \quad (8)$$

donde M_t/M_∞ es la fracción de principio activo liberado, t es el tiempo de liberación, k' es una constante que incorpora características estructurales y geométricas del sistema de liberación y n es un exponente que indica el mecanismo de liberación del principio activo. En el caso de sistemas planos, n presenta valores de 0.5 para la difusión Fickian o transporte Caso I; entre 0.5 y 1 para la difusión no Fickian, también conocida como transporte anómalo; de 1 para la liberación de orden cero o transporte Caso II, y valores mayores de 1 para el transporte Super Caso II. Los Casos I y II pueden ser descritos por un único parámetro, la constante de difusión para el Caso I y la constante de relajación para el Caso II. Por el contrario, el comportamiento no Fickian requiere dos o más parámetros para describir adecuadamente el acoplamiento de los fenómenos de difusión y relajación (Ritger y Peppas, 1987b).

Peppas (1985) estableció una serie de normas para el uso correcto de esta ecuación. Así, consideró que sólo es útil en sistemas donde el coeficiente de difusión es independiente de la concentración y que presenta una buena reproducibilidad de los datos, de lo contrario, el coeficiente n podría tomar valores inferiores a 0.5. Para la determinación del exponente n debe usarse únicamente la porción inicial de la curva ($M_t/M_\infty < 0.6$). La difusión debe ser unidimensional, es decir, que la relación de aspecto (longitud/espesor) del sistema debe ser al menos 10/1. Finalmente, el autor señala que la ecuación ha sido propuesta para su uso en sistemas donde la difusión del principio activo tiene lugar a través de la estructura polimérica.

El uso de esta ecuación en sistemas porosos dará lugar a valores de $n < 0.5$, puesto que se combinan los mecanismos de difusión parcial a través de una matriz hinchada y a través de los poros llenos de agua. No obstante, el autor sugiere que

esta expresión podría aplicarse para el análisis fenomenológico de cualquier mecanismo de liberación, independientemente del mecanismo molecular específico de transporte del principio activo. De hecho, Korsmeyer y col. (1983a) la utilizaron con propósitos de comparación en sistemas porosos.

Aunque, en la práctica, la ecuación se ha aplicado con éxito a sistemas de distintas geometrías e incluso cuando no existían condiciones de difusión unidimensional o condiciones sumidero, Ritger y Peppas (1987a) consideraron oportuno estimar un coeficiente difusional dependiente de la geometría del sistema. De esta forma, fijaron valores de $n = 0.45$ para la difusión Fickian a partir de cilindros y $n = 0.43$ a partir de esferas. Los autores establecieron incluso una correlación entre n y la relación longitud/espesor del dispositivo de liberación. En una publicación posterior (Ritger y Peppas, 1987b), extendieron el uso de esta expresión a sistemas de liberación de hinchamiento controlado (no hinchan más del 25% de su volumen original).

Al igual que la ecuación de Higuchi, esta expresión predice una intersección en el origen; sin embargo, Ford y col. (1991) observaron periodos de latencia que podrían equivaler al tiempo requerido para la hidratación de la matriz y para que se alcance el equilibrio entre la erosión y el avance del solvente. Por esta razón, proponen la ecuación modificada $Q = k'(t - l)^n$, donde Q es el porcentaje de principio activo liberado a tiempo t y l el tiempo de latencia.

Ritger y Peppas (1987a, 1987b) propusieron otra expresión para la liberación de principios activos a partir de sistemas planos en los que tiene lugar un acoplamiento de los mecanismos Fickian y Caso II:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_d t^{1/2} + k_r t \quad (9)$$

donde M_t/M_∞ es la fracción de principio activo liberado, t es el tiempo, k_d representa la contribución del mecanismo Fickian y k_r la correspondiente al mecanismo de relajación.

Peppas y Sahlin (1989) generalizaron la relación anterior:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_d t^m + k_r t^{2m} \quad (10)$$

donde m es el exponente de difusión puramente Fickian para un sistema con cualquier forma geométrica (m es igual a 0.45 si $2a/l < 0.1$ ó igual a 0.50 si $2a/l > 100$, siendo $2a$ el diámetro y l el espesor del sistema).

Los autores señalan que no es posible determinar exactamente la importancia del mecanismo Fickian o Caso II a partir de los valores de k_d y k_r , y proponen las siguientes expresiones derivadas de la ecuación original:

$$F = \frac{1}{1 + \frac{k_r}{k_d} t^m} \quad (11) \qquad \frac{R}{F} = \frac{k_r}{k_d} t^m \quad (12)$$

de manera que F representa la fracción de fármaco liberado por mecanismo Fickian y R/F la relación relajación-difusión. Conforme disminuye k_r , F se hace mayor, aproximándose a 1.

3. Motilidad del tracto gastrointestinal

Las formas farmacéuticas de liberación prolongada deben realizar su función mientras son sometidas al ambiente fluctuante del tracto gastrointestinal. Todo esto lleva a pensar que la forma farmacéutica de liberación prolongada ideal, además de proporcionar una cinética de liberación del principio activo independiente de la concentración (orden cero), debe permitir que esta liberación sea independiente del pH y que no se vea afectada por el peristaltismo gastrointestinal (Ritschel, 1989; Jorgensen y Bhagwat, 1998).

El pH del tracto digestivo, al igual que su motilidad, dependen de si el individuo está en ayunas o ha ingerido algún alimento. Los aspectos relacionados con el pH se revisaron en la introducción correspondiente al Capítulo I. En relación a los movimientos del tubo digestivo, en ayunas, el tracto gastrointestinal superior (estómago e intestino delgado) presenta un patrón de motilidad cíclico de 4 fases conocido como ciclo mioeléctrico interdigestivo. La fase I de este ciclo, que dura de 40 a 60 minutos, se caracteriza por la inactividad. Durante la fase II aparecen contracciones que incrementan gradualmente en intensidad y frecuencia, con una duración similar a la de la fase anterior. La fase III es un periodo corto, que dura aproximadamente 18 minutos en el estómago y unos 5-6 minutos en el duodeno (Dressman, 1986), en el que se producen un gran número de contracciones regulares e intensas que expulsan el material no digerido hacia el intestino. La

actividad de la fase III en el estómago se asocia normalmente con la iniciación de la misma fase en el duodeno, de allí las contracciones se propagan a lo largo del intestino para luego morir, en la mayoría de los casos, en el íleon medio o distal (Dressman, 1986). La fase IV es un periodo breve de transición que ocurre entre la fase III y la fase I de dos ciclos consecutivos. Cada ciclo dura aproximadamente 2 horas (Ashford, 2002).

Después de la ingestión de alimentos, el patrón de motilidad que se presenta en ayunas se altera, el estómago proximal se relaja para recibir los alimentos y el contenido se desplaza distalmente por medio de contracciones graduales. En la parte distal del estómago se presentan una serie de contracciones que mezclan los alimentos con los jugos digestivos y los dividen en partículas más pequeñas, además de dirigirlos hacia el esfínter pilórico (Ashford, 2002). Las contracciones en el antro del estómago permiten que los líquidos y las partículas finas pasen al duodeno, mientras que las partículas mayores (2-3 mm de diámetro) son retenidas y devueltas al cuerpo del estómago (Mojaverian y col., 1991) para una nueva reducción de tamaño. El intestino, por su parte, presenta dos tipos de movimiento, mezclado y propulsión.

La motilidad del intestino grueso es, en cierto modo, independiente de la motilidad del tracto gastrointestinal superior. Su actividad contráctil se puede dividir en dos tipos: contracciones propulsivas o de movimiento de masa, que se asocian con el movimiento del contenido hacia el ano, y contracciones segmentales, que sirven para mezclar el contenido luminal (Ashford, 2002). El tránsito en el colon se caracteriza por cortos periodos de actividad (contracciones propulsivas) seguidos de largos periodos de inactividad (contracciones segmentales). Las contracciones propulsivas ocurren solamente de 3 a 4 veces al día en individuos normales (Ashford, 2002).

Es de esperar que los diferentes movimientos que presenta el tracto gastrointestinal ejerzan una fuerza destructiva sobre el contenido luminal. Kamba y col. (2000, 2002) midieron recientemente la magnitud de dicha fuerza. Los investigadores encontraron que el estómago puede ejercer potencialmente una fuerza destructiva mecánica de 1.5 N en ayunas y de 1.9 N en presencia de alimentos (Kamba y col., 2000). En el intestino, el valor obtenido fue de 1.2 N (Kamba y col., 2002).

Llama la atención que la fuerza ejercida por el estómago sea menor en ayunas que con la ingesta de alimentos, máxime cuando durante este estado se presenta la fase III del ciclo mioeléctrico interdigestivo que, como ya se indicó anteriormente, se caracteriza por una gran actividad contráctil. Los autores explicaron estos resultados

aduciendo que, bajo las condiciones de ayuno, aunque la fuerza contráctil en el estómago es fuerte, con objeto de vaciar el contenido gástrico residual, el píloro permanece abierto, por lo que una forma de dosificación no puede recibir una fuerza mecánica destructiva efectiva de las paredes del estómago en estas condiciones. Sin embargo, cuando se ingieren alimentos, el píloro está cerrado y el objetivo de la actividad contráctil es digerir los sólidos, por lo que la fuerza destructiva de la pared gástrica será mayor en este estado (Kamba y col., 2000).

Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente podemos hacernos una idea, a *grosso modo*, de lo que ocurre con una forma de dosificación cuando se administra en ayunas o en presencia de alimentos. En ayunas, un comprimido no disgregante, administrado con líquido, viajará a través del esófago y alcanzará el estómago en menos de 15 segundos (Ashford, 2002). Su permanencia allí dependerá del tiempo necesario para que se produzca la actividad de la fase III (Dressman, 1986; Mojaverian y col., 1991; Ashford, 2002). Es posible que, por su tamaño, ésta no pueda expulsarse del estómago durante el primer ciclo interdigestivo.

La misma forma de dosificación, administrada con la comida o inmediatamente después de ella, será retenida en el estómago hasta que termine el vaciado gástrico y se restablezca la actividad de la fase III. Durante este tiempo, soportará una fuerza destructiva de las paredes del estómago mayor que si hubiera sido administrada en ayunas. Cuando pase al intestino, experimentará una fuerza destructiva de menor intensidad que en el estómago hasta alcanzar el colon, donde estará expuesta al efecto de las contracciones propulsivas y segmentales propias de esta región.

De modo similar a lo expuesto para la evaluación del efecto del pH en el Capítulo I, el ensayo de disolución puede ser una herramienta útil para estudiar el comportamiento de la forma de dosificación bajo diferentes condiciones hidrodinámicas (diferentes velocidades de agitación), que darían una idea de su resistencia al peristaltismo gastrointestinal.

En atención a los objetivos planteados en este capítulo, el trabajo experimental consistió en la elaboración de comprimidos de teofilina y copolímero a diferentes resistencias a la rotura. Tras la caracterización tecnológica de los mismos, se obtuvieron los perfiles de liberación, que se ajustaron a diferentes ecuaciones cinéticas con el fin de establecer el mecanismo de liberación predominante. La evaluación de la similitud, mediante el cálculo de f_2 , de dichos perfiles en comparación con los correspondientes a las especialidades farmacéuticas de referencia, permitió seleccionar las formulaciones destinadas al estudio *in vivo*.

Sobre las formulaciones seleccionadas se evaluó la variabilidad del proceso de producción y su efecto sobre la liberación de teofilina, elaborando tres lotes para cada formulación. Por último, se valoró el efecto que la velocidad de agitación pudiera tener sobre la liberación de teofilina realizando, para ello, ensayos de disolución a diferentes velocidades de agitación.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materias primas

Para los estudios que se presentan en este capítulo se utilizaron las mismas materias primas descritas en el Apartado 1 de la sección Materiales y Métodos del Capítulo I. En relación a los copolímeros, se mezclaron los cuatro lotes de cada material evaluados en el estudio anterior.

2. Métodos

2.1. Elaboración de las mezclas

Las mezclas se prepararon como se indica en el Apartado 2.2 de la sección Materiales y Métodos del Capítulo I. Con objeto de utilizar la misma dosis de principio activo que las correspondientes especialidades farmacéuticas de referencia, las proporciones de materias primas fueron 20% p/p de teofilina y 79% p/p de copolímero para las mezclas con los derivados HAMMA y 35% p/p de teofilina y 64% p/p de copolímero para las mezclas con los derivados CAMMA. La proporción de ácido esteárico se mantuvo constante (1% p/p).

Para llevar a cabo la evaluación de la variabilidad del proceso de producción se elaboraron tres lotes para cada mezcla (Lotes 1, 2 y 3).

2.2. Elaboración de los comprimidos

Los comprimidos se elaboraron como se describe en el Apartado 2.3 de la sección Materiales y Métodos del Capítulo I. Se aplicaron fuerzas de compresión suficientes para obtener comprimidos con tres rangos de resistencia a la rotura (70-80 N, 90-100 N y 110-120 N) con objeto de valorar el efecto de esta variable sobre la liberación del principio activo.

Para el estudio de la variabilidad del proceso de producción, los comprimidos de cada lote de mezcla se elaboraron con una fuerza de compresión suficiente para obtener una resistencia a la rotura 90-100 N.

Durante la compresión de las mezclas de ambos estudios se registraron los parámetros de compresión de cuatro comprimidos.

2.3. Caracterización de los comprimidos

A cada uno de los lotes se les realizaron los siguientes ensayos, 24 horas después de su elaboración:

- Uniformidad de masa (Real Farmacopea Española, 2002)

Se determinó como se detalla en el Apartado 2.4 de la sección Materiales y Métodos del Capítulo I.

- Dimensiones (espesor y diámetro)

Las dimensiones de 10 comprimidos se determinaron con ayuda de un micrómetro Mitutoyo MDC-M293 (Tokio, Japón) con un rango de medida de 0 a 25 mm y una precisión de 0.001 mm. Con los resultados obtenidos se calculó la media y la desviación estándar de las dimensiones.

- Resistencia a la rotura

A 10 comprimidos se les determinó la resistencia a la rotura en un texturómetro TA-XT2i (Stable Micro Systems, Viena Court, Reino Unido), calculando el valor medio y la desviación estándar a partir de los datos obtenidos.

- Friabilidad

El ensayo se llevó a cabo con 10 comprimidos en un equipo Erweka TA (Heusenstamm, Alemania) durante cuatro minutos a 25 r.p.m. Los resultados se expresaron como porcentaje de pérdida de peso.

- Porosimetría

La estructura porosa de los comprimidos se evaluó a través de estudios de intrusión-extrusión de mercurio utilizando un equipo Quantachrome Autoscan 33 (Boyton Beach, FL, Estados Unidos). Los ensayos se llevaron a cabo en las siguientes condiciones:

Portamuestras: penetrómetro capilar de 3 cm³ de volumen

Cantidad de muestra ensayada para obtener una intrusión de mercurio del 10-30% del capilar: dos comprimidos

Ángulo de contacto del mercurio: 140°

Tensión superficial del mercurio: 480 erg/cm²

Intervalo de presión: 0.5-33000 psi

Número de replicados: dos

- Estudios de liberación del principio activo

Los estudios de liberación del principio activo se realizaron como se indica en el apartado 2.5.2. de la sección Materiales y Métodos del Capítulo I. En el caso del estudio del efecto de la velocidad de agitación sobre la liberación de teofilina, las velocidades de agitación seleccionadas fueron 25, 50, 75 y 100 r.p.m.

Los datos de liberación se ajustaron a las ecuaciones de Higuchi (ecuación 6), Korsmeyer (ecuación 8) y Peppas modificada (ecuación 10). El ajuste se realizó con los datos correspondientes a una fracción liberada no mayor de 0.60 ($M_t/M_\infty \leq 0.60$). En este rango de liberación, Schwartz y col. (1968) y Farhadieh y col. (1971) encontraron un buen ajuste de la ecuación propuesta por Higuchi (1961, 1963), para sistemas planos, a los datos de liberación obtenidos a partir de comprimidos con todas las superficies expuestas al medio de disolución. El ajuste de los datos hasta $M_t/M_\infty \leq 0.60$ es, a su vez, el rango establecido para el uso correcto de las ecuaciones de Korsmeyer (Peppas, 1985) y Peppas modificada (Peppas y Sahlin, 1989).

Para la utilización de la ecuación de Peppas modificada, el valor del exponente difusional m se determinó gráficamente utilizando la correlación entre éste y la relación diámetro/espesor de los comprimidos utilizados en este estudio (Ritger y Peppas, 1987a). Se encontró un valor de 0.44 para todas las formulaciones.

El análisis de regresión se efectuó mediante el programa estadístico SPSS versión 10.0 y la bondad del ajuste se evaluó en base a los coeficientes de determinación y la distribución F para el análisis de varianza de las residuales.

Por último, la evaluación de la similitud de los perfiles de disolución de los comprimidos obtenidos a partir de los diferentes copolímeros con respecto al de la especialidad farmacéutica patrón correspondiente se realizó a través del cálculo del parámetro f_2 .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Efecto de la resistencia a la rotura de los comprimidos sobre la velocidad de liberación de teofilina

1.1. Elaboración de los comprimidos

En la Tabla II.1 se presentan los parámetros de compresión obtenidos durante la compactación de las mezclas correspondientes a los distintos copolímeros a diferentes resistencias a la rotura (70-80 N, 90-100 N y 110-120 N).

Como cabría esperar, es necesario incrementar la presión de compactación a medida que aumenta el valor de resistencia a la rotura buscado. Las mezclas con los derivados L de ambos copolímeros necesitan menos presión que las correspondientes a los derivados O y, en general, las mezclas con los copolímeros HAMMA precisan presiones superiores que las mezclas con CAMMA para obtener una resistencia a la rotura dada. Estos resultados coinciden con los encontrados por Ferrero y Jiménez-Castellanos (2002) en un estudio en el que se evaluó la conducta de compresión de estos copolímeros sin aditivos. Es necesario resaltar que el mencionado comportamiento se sigue manifestando a pesar de que los copolímeros se encuentran mezclados con teofilina y ácido esteárico.

El incremento en la presión para lograr las diferentes resistencias a la rotura mejora el coeficiente de lubricación (R) en las formulaciones con HAMMA y, prácticamente, no tiene ningún efecto sobre las formulaciones con CAMMA. Sin embargo, en ningún caso se alcanzan valores iguales o superiores a 0.9, propuesto por Bolhuis y Lerk (1973) como valor óptimo para excipientes de compresión directa. Las formulaciones con los derivados O muestran valores de R más elevados que las formulaciones con los derivados L correspondientes, algo similar a lo que observaron Ferrero y Jiménez-Castellanos (2002) y que atribuyeron a las superficies rugosas de las partículas de los copolímeros L. Nuevamente, esta característica se conserva tras la adición de teofilina y lubricante. Al comparar las formulaciones de HAMMA con las de CAMMA, las primeras presentan mejores características de lubricación (valores de R superiores) que las segundas, probablemente porque las formulaciones con CAMMA contienen un porcentaje más elevado de teofilina, cuyos cristales tienen forma elongada (Pather y col., 1998). En este sentido, Ferrero (1999) encontró coeficientes de lubricación semejantes para mezclas elaboradas con dichos copolímeros pero con la misma cantidad de teofilina (120 mg).

II Desarrollo y caracterización tecnológica de las formulaciones

Tabla II.1.- Parámetros de compresión de las mezclas a diferentes resistencias a la rotura: presión máxima aplicada por el punzón superior (P_{sup}), coeficiente de lubricación (R), fuerza máxima de eyección (F_{eyec}), trabajo de rozamiento de Juslin (W_{roz}), trabajo de expansión (W_{exp}), trabajo neto aparente de Juslin (W_{na}), porcentaje de plasticidad (PI).

Copolímero	RR* (N)	P_{sup} (MPa)	R	F_{eyec} (N)	W_{roz} (J)	W_{exp} (J)	W_{na} (J)	PI (%)
HAMMAO	70 - 80	149.10 (2.70)	0.814 (0.003)	222.53 (13.66)	2.299 (0.174)	1.130 (0.237)	14.647 (0.742)	92.84 (0.39)
	90 - 100	211.30 (0.47)	0.837 (0.003)	206.38 (8.07)	2.822 (0.071)	1.990 (0.048)	18.694 (0.532)	90.38 (0.19)
	110 - 120	273.79 (0.35)	0.849 (0.007)	181.78 (6.92)	3.101 (0.143)	3.189 (0.241)	21.561 (0.257)	87.11 (0.36)
HAMMAL	70 - 80	106.12 (2.26)	0.793 (0.003)	244.05 (7.36)	2.086 (0.055)	0.581 (0.069)	12.426 (0.242)	95.53 (0.28)
	90 - 100	127.45 (4.23)	0.800 (0.008)	240.59 (9.92)	2.412 (0.069)	0.925 (0.063)	14.448 (0.327)	93.99 (0.09)
	110 - 120	162.84 (0.22)	0.813 (0.004)	173.33 (7.03)	2.781 (0.153)	1.327 (0.071)	16.931 (0.667)	92.73 (0.07)
CAMMAO	70 - 80	108.24 (0.89)	0.742 (0.001)	330.52 (5.18)	1.752 (0.138)	0.536 (0.067)	8.398 (0.551)	94.00 (0.12)
	90 - 100	129.83 (4.50)	0.747 (0.005)	344.74 (6.19)	2.010 (0.134)	0.730 (0.123)	9.859 (0.683)	93.11 (0.05)
	110 - 120	144.52 (0.83)	0.744 (0.001)	307.46 (1.25)	2.233 (0.052)	0.774 (0.101)	10.638 (0.319)	93.22 (0.55)
CAMMAL	70 - 80	62.94 (0.33)	0.693 (0.000)	341.66 (11.87)	2.191 (0.099)	0.237 (0.014)	6.872 (0.344)	96.67 (0.08)
	90 - 100	72.19 (0.54)	0.695 (0.001)	357.42 (13.89)	2.354 (0.144)	0.303 (0.061)	7.816 (0.318)	96.26 (0.05)
	110 - 120	84.34 (1.20)	0.705 (0.001)	342.05 (5.68)	2.542 (0.042)	0.309 (0.039)	8.996 (0.142)	96.68 (0.27)

* Resistencia a la rotura fijada

Al igual que el coeficiente de lubricación, la fuerza de eyección (F_{eyec}) muestra una mejora con el incremento en la resistencia a la rotura en las formulaciones con HAMMA y permanece prácticamente estable en aquellas con CAMMA. Las formulaciones con los derivados O presentan valores inferiores a las de los derivados L y lo mismo ocurre con las formulaciones con los copolímeros HAMMA en comparación con aquellas que contienen los copolímeros CAMMA. Ahora bien, a diferencia del coeficiente de lubricación, todas las formulaciones cumplen con el criterio de Bolhuis y Lerk (1973) para excipientes de compresión directa, al presentar valores < 750 N.

El trabajo de rozamiento (W_{roz}), por su parte, muestra una clara tendencia al aumento con el incremento en la resistencia a la rotura de las distintas formulaciones. De Blaey y Polderman (1971) obtuvieron resultados semejantes al

comprimir un granulado de lactosa a diferentes fuerzas de compresión. El comportamiento de las distintas formulaciones respecto a sus derivados O y L no es tan claro, ya que, mientras CAMMA muestra un mayor trabajo de rozamiento para las formas L, ocurre lo contrario en las formulaciones con HAMMA. En general, las formulaciones con HAMMA se caracterizan por valores superiores de W_{roz} que las de CAMMA.

El trabajo de expansión (W_{exp}) se incrementa con el aumento en la resistencia a la rotura, coincidiendo con los resultados de De Blaey y Polderman (1971). Las formulaciones con el derivado O muestran valores superiores de W_{exp} que aquellas con el copolímero L, lo que podría estar de acuerdo con la mayor tendencia a la deformación permanente de los copolímeros liofilizados (Ferrero y Jiménez-Castellanos, 2002). La recuperación elástica rápida durante la descompresión es superior en las formulaciones con el copolímero HAMMA.

El trabajo neto aparente (W_{na}) sigue, como cabría esperar, el mismo comportamiento descrito para la presión aplicada por el punzón superior, (aumenta con el incremento en la resistencia a la rotura), revelando que las mezclas elaboradas con los derivados HAMMA son más difíciles de compactar. Además, como ya demostraron Ferrero y Jiménez-Castellanos (2002), el método de secado modifica de manera importante el comportamiento de cada material, lo que se refleja en trabajos netos superiores para las formulaciones con los derivados O respecto a los L.

Por último, al aumentar la resistencia a la rotura disminuye el porcentaje de plasticidad, si bien esta tendencia se percibe poco en las formulaciones con CAMMA. En relación al efecto del método de secado, las mezclas con los derivados L presentan valores de plasticidad superiores.

Resumiendo, el estudio de los parámetros de compresión señala que, para todas las formulaciones, el incremento en la resistencia a la rotura origina un aumento en la presión aplicada por el punzón superior y los diferentes trabajos de compresión. Asimismo, se produce una disminución del porcentaje de plasticidad y una mejora de los parámetros de lubricación R y F_{eyec} .

Las formulaciones con los derivados O, en comparación con sus homólogos L, necesitan mayor presión de compactación y trabajo neto aparente para elaborar los comprimidos como consecuencia de su menor deformación plástica y mayor expansión. Sin embargo, presentan mejores características de lubricación en cuanto a los parámetros R y F_{eyec} . Una tendencia similar se percibe en el caso de las

formulaciones con los derivados HAMMA en comparación con aquellas que contienen CAMMA.

1.2. Caracterización de los comprimidos

En la Tabla II.2 se presentan los resultados correspondientes a los ensayos generales de los comprimidos.

Los comprimidos elaborados a las distintas resistencias a la rotura cumplen los requisitos propuestos por la Real Farmacopea Española (2002) en lo que concierne al ensayo de uniformidad de masa. El peso medio de los mismos está comprendido entre 491-504 mg (Tabla II.2) y el coeficiente de variación de peso es inferior o aproximadamente igual a 1.

Los resultados obtenidos para el diámetro medio muestran que, a pesar de que el diámetro de la cámara es de 12 mm, los comprimidos presentan diámetros ligeramente superiores debido a la expansión radial. Por otro lado, este parámetro disminuye a medida que se incrementa la presión para obtener una resistencia a la rotura mayor. La expansión radial es ligeramente superior en los comprimidos con las formas O respecto a las formas L, y en los comprimidos con HAMMA respecto a aquellos con CAMMA.

Como cabría esperar, el espesor de los comprimidos disminuye al aumentar la resistencia a la rotura. A pesar de su menor tendencia a la deformación elástica, los comprimidos obtenidos a partir de las formas L presentan un espesor superior a las formas O, lo que podría hacer pensar en una estructura más porosa para aquellos derivados. El mismo comportamiento se vislumbra en el caso de las matrices con CAMMA frente a las elaboradas con HAMMA.

El ensayo de resistencia a la rotura confirma los intervalos de valores buscados.

Por último, el porcentaje de friabilidad disminuye con el aumento de la resistencia a la rotura, detectándose valores inferiores o iguales al 1% (Real Farmacopea Española, 2002) a partir de la resistencia a la rotura 90–100 N, lo que refleja la mayor unión de las partículas en los comprimidos con resistencia a la rotura superiores.

Tabla II.2.- Ensayos generales de los comprimidos elaborados a distintas resistencias a la rotura (RR): peso, diámetro, espesor y friabilidad.

Copolímero	RR* (N)	Peso (mg)	Diámetro (mm)	Espesor (mm)	Friabilidad (%)
HAMMAO	70 - 80	498.0 (5.3) CV = 1.1%	12.198 (0.010)	4.282 (0.017)	1.26
	90 - 100	498.0 (3.9) CV = 0.8%	12.171 (0.003)	4.091 (0.016)	0.66
	110 - 120	497.9 (3.3) CV = 0.7%	12.153 (0.004)	3.998 (0.022)	0.54
HAMMAL	70 - 80	491.1 (3.2) CV = 0.7%	12.193 (0.005)	4.480 (0.009)	1.04
	90 - 100	494.3 (5.5) CV = 1.1%	12.163 (0.006)	4.300 (0.017)	0.86
	110 - 120	494.6 (3.4) CV = 0.7%	12.135 (0.002)	4.114 (0.017)	0.48
CAMMAO	70 - 80	501.8 (3.7) CV = 0.7%	12.178 (0.007)	4.276 (0.008)	1.69
	90 - 100	504.4 (5.5) CV = 1.1%	12.159 (0.007)	4.172 (0.013)	1.01
	110 - 120	496.3 (5.0) CV = 1.0%	12.150 (0.008)	4.012 (0.013)	0.85
CAMMAL	70 - 80	499.7 (5.9) CV = 1.2%	12.165 (0.004)	4.694 (0.006)	1.38
	90 - 100	497.1 (5.2) CV = 1.1%	12.158 (0.005)	4.545 (0.011)	1.02
	110 - 120	498.2 (6.3) CV = 1.3%	12.141 (0.004)	4.415 (0.011)	0.90

* Resistencia a la rotura fijada.

1.3. Porosimetría de intrusión y extrusión de mercurio

El aumento en la resistencia a la rotura no tiene un efecto claro sobre el área superficial total de los comprimidos (Tabla II.3), mientras que se traduce en una disminución de la porosidad, el diámetro medio de poro y la mediana de diámetro de poro. La reducción de este último parámetro indica que, a mayor resistencia a la rotura, hay una mayor contribución de poros pequeños; por esta razón, a pesar de que la porosidad disminuye, el área superficial se ve poco alterada.

Los valores de diámetro medio de poro están comprendidos entre 40-1000 Å, por lo que, según la IUPAC (Juppo e Yliruusi, 1994), los sistemas matriciales obtenidos presentan mesoporos.

II *Desarrollo y caracterización tecnológica de las formulaciones*

Tabla II.3.- Parámetros que caracterizan la estructura porosa de los comprimidos matriciales a distintas resistencias a la rotura (RR).

Copolímero	RR* (N)	Área superficial total (m ² /g)	Porosidad (%)	Diámetro medio de poro (μ)	Mediana de diámetro de poro (μ)
HAMMAO	70 - 80	9.994 (0.768)	23.9 (0.6)	957.9 (93.6)	15575 (163)
	90 - 100	9.409 (0.337)	20.3 (0.2)	815.3 (15.7)	12930 (113)
	110 - 120	9.593 (0.844)	17.7 (0.1)	688.6 (61.7)	10995 (163)
HAMMAL	70 - 80	15.997 (0.622)	26.4 (0.4)	697.6 (33.3)	15025 (149)
	90 - 100	15.483 (0.044)	23.8 (0.1)	621.0 (11.2)	12890 (170)
	110 - 120	14.190 (1.165)	19.9 (0.6)	542.9 (22.6)	10185 (106)
CAMMAO	70 - 80	13.217 (0.255)	22.6 (0.2)	676.9 (1.8)	5087 (111)
	90 - 100	13.547 (0.151)	21.3 (0.1)	601.5 (6.4)	3487 (88)
	110 - 120	14.305 (0.567)	18.6 (0.1)	489.3 (13.4)	2285 (175)
CAMMAL	70 - 80	18.309 (0.489)	29.0 (0.4)	699.5 (2.5)	1981 (54)
	90 - 100	17.940 (0.355)	28.1 (0.2)	656.6 (6.2)	1756 (47)
	110 - 120	18.652 (0.020)	25.3 (0.1)	570.2 (7.0)	1428 (1)

*Resistencia a la rotura fijada

A la misma resistencia a la rotura, los comprimidos con el derivado L muestran una porosidad y área superficial más alta que los preparados con el derivado O correspondiente, concordando con los resultados obtenidos por Ferrero y Jiménez-Castellanos (2002) para comprimidos elaborados únicamente con copolímero, lo que indica que estas características también se mantienen con la presencia de teofilina y ácido esteárico. La diferencia en la porosidad entre los comprimidos con los derivados L y O es un reflejo de la estructura porosa del copolímero puro (Ferrero y Jiménez-Castellanos, 2002) y está relacionada con el método de secado del mismo. Como se comentó en el Capítulo I, los materiales secados en estufa sufren contracción durante el proceso y es la magnitud de este fenómeno la que determina la porosidad final (Keey, 1972; Kneule, 1982). Por el contrario, durante el secado por liofilización la contracción es mínima, por lo que la porosidad será mayor en comparación al mismo producto secado en estufa.

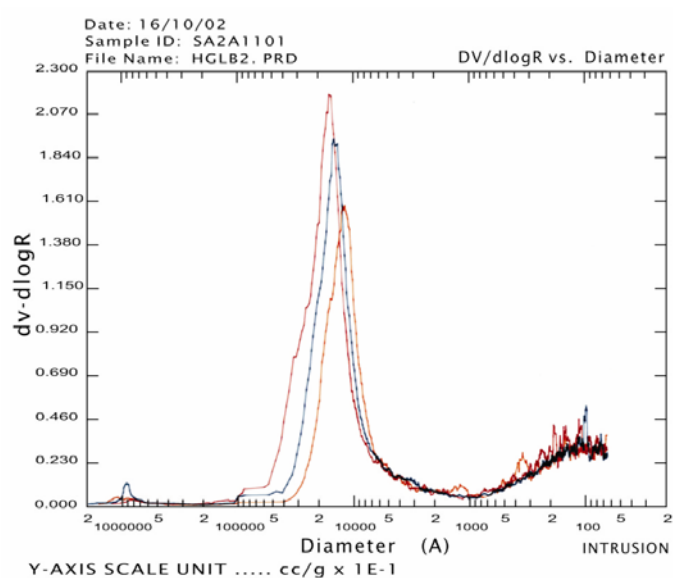
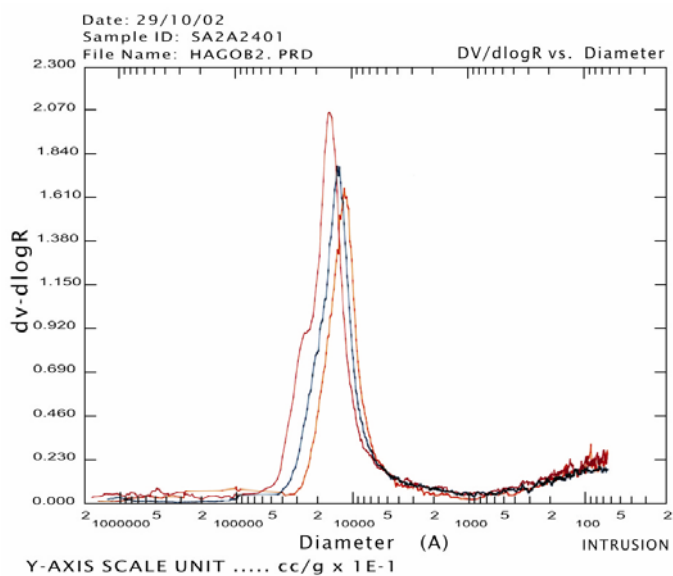


Figura II.3- Perfiles de distribución de tamaño de poro: a) comprimidos de HAMMAO, b) comprimidos de HAMMAL. Las líneas roja, verde y naranja corresponden a resistencias a la rotura de 70-80, 90-100 y 110-120 N, respectivamente.

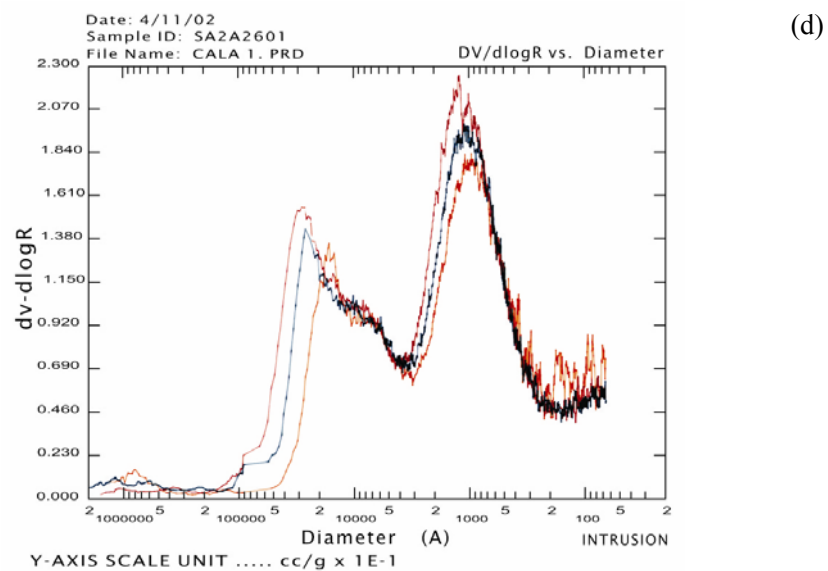
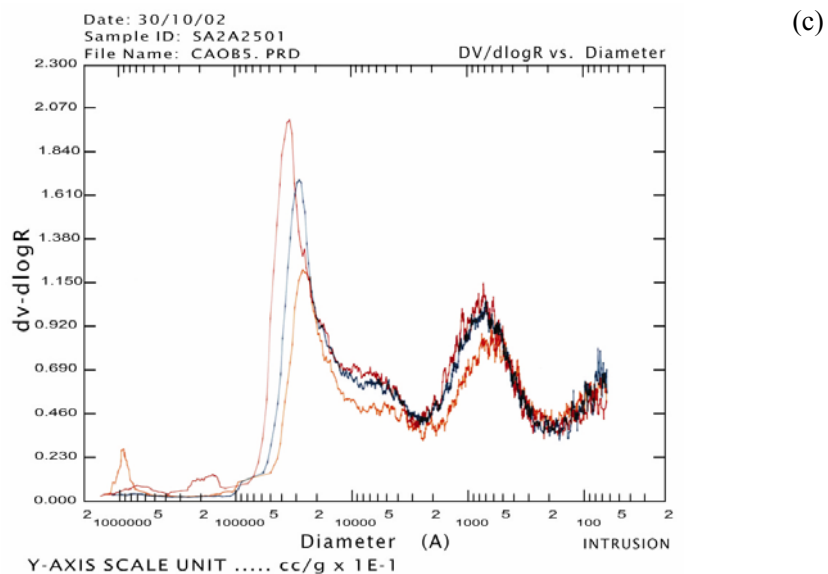


Figura II.3 (continuación).- Perfiles de distribución de tamaño de poro: c) comprimidos de CAMMAO, d) comprimidos de CAMMAL. Las líneas roja, verde y naranja corresponden a resistencias a la rotura de 70-80, 90-100 y 110-120 N, respectivamente.

Las diferencias en la porosidad y el área superficial entre los copolímeros secados en estufa y por liofilización aclaran el comportamiento de las mezclas frente a la presión. Así, las formulaciones con los copolímeros L precisan menor presión para obtener una resistencia a la rotura dada, en comparación con las mezclas con los derivados O (Tabla II.1), ya que, en los materiales con porosidades y áreas superficiales altas, la formación de enlaces es más favorable (Te Wierik y col., 1996). Por esta misma razón, las mezclas con los derivados L presentan valores superiores de plasticidad y trabajos netos aparentes más bajos (Tabla II.1) y dan lugar a comprimidos con espesores mayores (Tabla II.2).

Si analizamos el diámetro medio de poro y la mediana de diámetro de poro, los comprimidos con HAMMA se caracterizan por medianas similares, pero los poros son más pequeños en los comprimidos con HAMMAL. Por el contrario, en los comprimidos con CAMMA, los diámetros de poro son similares, pero la contribución de poros pequeños es superior en los comprimidos con CAMMAL. Los perfiles de distribución de tamaño de poro, unimodal para los comprimidos con HAMMA y bimodal para los comprimidos con CAMMA (Figura II.3), confirman este comportamiento. Estas distribuciones son similares a las descritas por Ferrero y Jiménez-Castellanos (2002), ratificando la prevalencia de las propiedades del copolímero frente a la adición de teofilina y ácido esteárico.

En general, los comprimidos con CAMMA presentan mayor porosidad y área superficial que aquellos con HAMMA, lo que podría relacionarse con la mayor capacidad de compactación de CAMMA y el mayor espesor de sus comprimidos.

1.4. Estudio de liberación del principio activo

Las Figuras II.4 y II.5 muestran los perfiles de liberación de teofilina a partir de las matrices elaboradas a distintas resistencias a la rotura. Se han incluido los perfiles de liberación de las especialidades farmacéuticas de referencia como patrón de comparación.

El perfil de liberación de teofilina a partir de Theo-Dur[®] se sitúa por debajo del de todas las matrices de HAMMA (Figura II.4), mientras que la liberación a partir de Theolair[®] es similar, hasta pH 4.5, a la obtenida con las matrices de CAMMAL con resistencia a la rotura 90-100 y 110-120 N.

II Desarrollo y caracterización tecnológica de las formulaciones

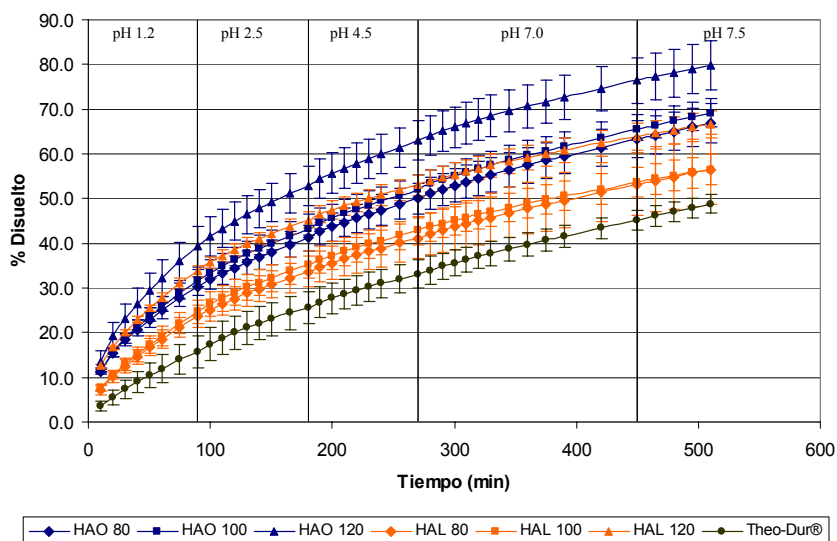


Figura II. 4. Perfiles de liberación de teofilina a partir de Theo-Dur[®] y de matrices de HAMMAO (HAO) y HAMMAL (HAL) a diferentes resistencias a la rotura.

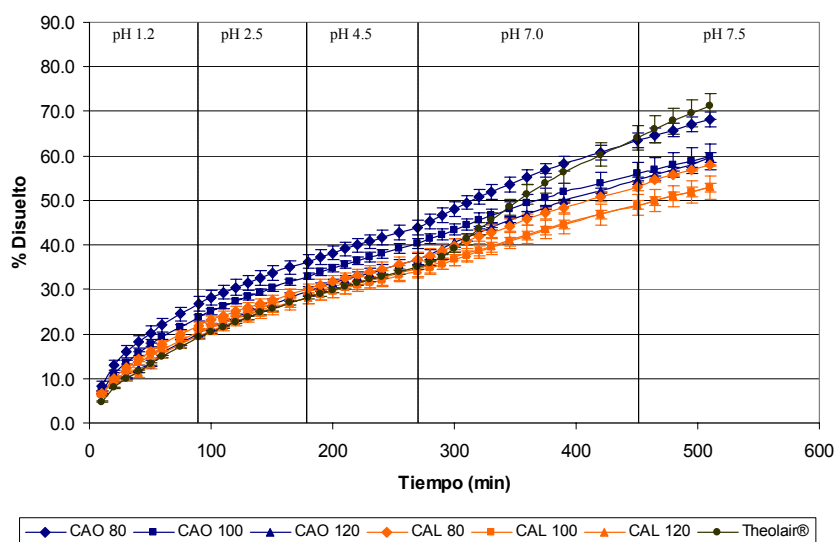


Figura II.5.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de Theolair[®] y de matrices de CAMMAO (CAO) y CAMMAL (CAL) elaboradas a diferentes resistencias a la rotura.

Además, se percibe que el incremento en la resistencia a la rotura produce un comportamiento distinto según el tipo de copolímero. Con las matrices elaboradas con HAMMA, la velocidad de disolución aumenta a medida que se incrementa la resistencia a la rotura. Las diferencias son más notorias para las matrices con resistencia a la rotura 110-120 N (Figura II.4). Por el contrario, en las matrices elaboradas con CAMMA, la velocidad de disolución disminuye con el incremento en la resistencia a la rotura, siendo más notorio el salto para la resistencia a la rotura 90-100 N (Figura II.5).

Este último comportamiento correspondiente a las matrices con CAMMA es el que se presenta con más frecuencia. Sin embargo, el comportamiento mostrado por los comprimidos con HAMMA es poco común, aunque también ha sido observado por Korsmeyer y col. (1983b) para matrices de HPMC con cloruro de potasio como principio activo. Los autores atribuyeron el incremento en la velocidad de liberación a la salida del aire atrapado en la estructura matricial, provocada por el aumento en la presión de compresión. Este aire atrapado actuaba como una barrera que obstaculizaba la entrada del medio de disolución en la matriz.

De otro lado, Desai y col. (1966b), analizando la liberación de salicilato de sodio a partir de matrices de cloruro de polivinilo, encontraron velocidades de liberación independientes de la fuerza de compresión con un escaso ajuste a la ecuación de Higuchi, lo que atribuyeron a la lenta expulsión del aire a partir de los comprimidos. El ajuste a la ecuación de Higuchi mejoró cuando se retiró el aire de las matrices, sometiénolas a vacío, antes del ensayo de disolución.

Singh y col. (1968) también describieron el efecto del aire atrapado en la matriz sobre la liberación de principios activos a partir de matrices inertes, en un estudio dirigido a dilucidar los factores involucrados en la escasa liberación de ácido salicílico a partir de matrices de polietileno. Postularon que el aire atrapado en la matriz causa una presión interna que empuja al solvente fuera de ésta. Esta presión evita la penetración del solvente y produce una inhibición de la liberación del fármaco, que desapareció cuando se ejerció presión sobre el medio de disolución. Para ello, diseñaron un equipo que les permitía incrementar y mantener constante la presión dentro del recipiente de disolución.

En nuestro caso, no descartamos que el aire atrapado pudiera jugar un papel importante, ya que la disminución de la porosidad y diámetro medio de poro observadas con el aumento en la resistencia a la rotura favorecería la salida de éste de la matriz y, por consiguiente, la penetración del medio dentro de los poros (Korsmeyer y col., 1983b), incrementando la velocidad de disolución (Figura II.4).

Sin embargo, consideramos que éste no debe ser el único factor, ya que las diferentes formulaciones ensayadas mostrarían el mismo comportamiento, y no ocurre así en el caso de los derivados CAMMA.

Al comparar los perfiles de disolución de las matrices elaboradas con las formas O y L del mismo copolímero, a la misma resistencia a la rotura, puede apreciarse, tanto para las matrices con HAMMA como para las preparadas con CAMMA, que los comprimidos que contienen el derivado secado en estufa liberan el principio activo más rápidamente que aquellos con el producto secado por liofilización (Figuras II.4 y II.5). Ferrero y col. (2003) también detectaron este tipo de comportamiento en estudios de disolución en agua realizados con mezclas de estos copolímeros, teofilina y ácido esteárico en proporción 75:24:1, comprimidas a una resistencia a la rotura de 70-80 N.

Cuando se compara los perfiles de disolución de las matrices elaboradas con los copolímeros HAMMA y CAMMA se observa que, al cabo de 8.5 h, las matrices elaboradas con CAMMA prolongan más la liberación de teofilina que las elaboradas con HAMMA. También se aprecia que la variabilidad en los perfiles de disolución de las matrices elaboradas con HAMMA es más marcada (barras de error mayores) que la presentada por los perfiles de disolución de las matrices con CAMMA. Si se tiene en cuenta que las formulaciones con CAMMA contienen más principio activo y menos copolímero que las elaboradas con HAMMA, se demuestra que el copolímero CAMMA controla mejor la liberación.

1.5. Evaluación de la cinética de liberación

Los datos de disolución se ajustaron a las ecuaciones de Higuchi (Higuchi, 1963), Korsmeyer (Korsmeyer y col., 1983a) y Peppas modificada (Peppas y Sahlin, 1989) con objeto de determinar el mecanismo de liberación del fármaco. Los resultados de los distintos ajustes se presentan en la Tabla II.4.

El análisis de los resultados para las matrices elaboradas con los copolímeros HAMMA (liberación del principio activo independiente del pH) muestra, en general, un mejor ajuste a las diferentes ecuaciones que el obtenido para las formulaciones con CAMMA. Algo similar se observa al comparar Theo-Dur[®] con Theolair[®], el primero de los cuales presenta una liberación independiente del pH. En el caso de CAMMA y Theolair[®] se produce un cambio en el perfil de liberación en el paso de pH 4.5 a 7.0 (Figura II.5), lo que explicaría el peor ajuste a las ecuaciones.

Tabla II.4.- Ajuste de los datos de liberación de teofilina a distintas ecuaciones cinéticas a partir de las matrices elaboradas con los copolímeros a diferentes resistencias a la rotura y de dos especialidades farmacéuticas patrón (Theo-Dur[®] y Theolair[®]).

Copolímero	RR* (N)	Ecuación de Higuchi		Ecuación de Korsmeyer			Ecuación de Peppas		
		k (min ^{-1/2})	r ²	n	k' (min ⁻ⁿ)	r ²	k _d (min ^{-0.44})	k _r (min ^{-0.88})	r ²
HAMMAO	70-80	0.029	0.9998 (F=181751)	0.46	0.039	0.9997 (F=114390)	0.039	2.68E-04	0.9999 (F=130338)
	90-100	0.030	0.9993 (F=45210)	0.47	0.039	0.9998 (F=118291)	0.045	4.50E-05	0.9998 (F=77627)
	110-120	0.037	0.9977 (F=8538)	0.46	0.048	0.9990 (F=20660)	0.063	-5.27E-04	0.9997 (F=31206)
HAMMAL	70-80	0.026	0.9995 (F=70591)	0.53	0.021	0.9989 (F=34432)	0.037	1.16E-04	0.9997 (F=60693)
	90-100	0.026	0.9966 (F=11106)	0.52	0.023	0.9968 (F=12004)	0.045	-2.71E-04	0.9992 (F=22307)
	110-120	0.029	0.9943 (F=5454)	0.44	0.047	0.9981 (F=16225)	0.057	-7.11E-04	0.9996 (F=36055)
CAMMAO	70-80	0.028	0.9907 (F=3395)	0.50	0.028	0.9951 (F=6468)	0.023	1.15E-03	0.9941 (F=2610)
	90-100	0.027	0.9954 (F=8190)	0.53	0.022	0.9974 (F=14740)	0.024	9.14E-04	0.9983 (F=10621)
	110-120	0.028	0.9853 (F=2554)	0.57	0.016	0.9909 (F=4140)	0.010	1.66E-03	0.9980 (F=9104)
CAMMAL	70-80	0.026	0.9873 (F=2944)	0.53	0.020	0.9951 (F=7741)	0.014	1.33E-03	0.9962 (F=4850)
	90-100	0.023	0.9891 (F=3438)	0.52	0.019	0.9957 (F=8825)	0.014	1.11E-03	0.9963 (F=4980)
	110-120	0.024	0.9929 (F=5342)	0.54	0.017	0.9944 (F=6721)	0.017	1.03E-03	0.9983 (F=11034)
Theo-Dur [®]	-	0.024	0.9985 (F=24707)	0.67	0.008	0.9984 (F=24091)	0.025	6.12E-04	0.9993 (F=26675)
Theolair [®]	-	0.028	0.9481 (F=584)	0.63	0.011	0.9877 (F=2566)	-0.005	2.72E-03	0.9754 (F=615)

* Resistencia a la rotura fijada.

El buen ajuste que presentaron las matrices de HAMMA a las tres ecuaciones, el valor de n entre 0.44-0.53 en la ecuación de Korsmeyer y la preponderancia de k_d sobre k_r en la ecuación de Peppas modificada indican claramente que el mecanismo de liberación es la difusión. El valor de n de 0.67 en el ajuste a la ecuación de Korsmeyer del perfil de Theo-Dur[®] revela un mecanismo combinado difusión-erosión. Si bien, el ajuste relativamente bueno a la ecuación de Higuchi y el valor superior de k_d en la ecuación de Peppas sugieren un predominio de la difusión. La comparación de las constantes de liberación k y k_d de Theo-Dur[®] con las de las matrices con HAMMA revela que esta especialidad farmacéutica libera la teofilina más lentamente que las demás, como se aprecia en la Figura II.4.

Para las matrices con CAMMA, los valores de n variaron entre 0.50 y 0.57, denotando que el mecanismo de liberación predominante en estos sistemas también es la difusión, a pesar del peor ajuste que se obtuvo para la ecuación de Higuchi en comparación con las matrices con HAMMA. En el caso de la ecuación de Peppas, aunque la difusión se percibe como el mecanismo predominante, la contribución de k_r incrementa en relación a las matrices con HAMMA. Theolair[®], al igual que Theo-Dur[®], presenta un mecanismo combinado de liberación ($n = 0.63$), en el que predomina la relajación (ajuste pobre a la ecuación de Higuchi y valor negativo de k_d en la ecuación de Peppas).

El incremento en la resistencia a la rotura produce un aumento en las constantes k , k' y k_d , en las matrices con HAMMA, fundamentalmente para la resistencia a la rotura 110-120 N, lo que se corresponde con los perfiles de liberación más rápidos (Figura II.4). La disminución en la velocidad de liberación con el incremento en la resistencia a la rotura que se observa en la Figura II.5 para las matrices con CAMMA no es representado de forma tan clara por las constantes de liberación de las tres ecuaciones. Esta situación, al igual que el peor ajuste a las ecuaciones, se debe al perfil bifásico que presentan estos productos.

El incremento en la resistencia a la rotura no solo tiene efecto sobre la porosidad de las matrices (Tabla II.3), sino también sobre la tortuosidad de las mismas. Una idea indirecta de la tortuosidad de la matriz se puede obtener calculando el coeficiente de difusión específico (D'), que se obtiene a partir de la constante de velocidad (k) de la ecuación de Higuchi (Korsmeyer y col., 1983a). D' se relaciona con la tortuosidad a través de la expresión $D' = D/\tau$, donde D es el coeficiente de difusión efectivo del fármaco en el medio de disolución y τ es la tortuosidad de la matriz. Los valores de D' para las diferentes matrices se recogen en la Tabla II.5.

Tabla II.5- Valores de coeficiente de difusión específico (D').

Copolímero	D'		
	70-80*	90-100*	110-120*
HAMMAO	5.26 E-4	6.69 E-4	1.14 E-3
HAMMAL	3.72 E-4	4.09 E-4	6.09 E-4
CAMMAO	1.02 E-3	8.72 E-4	1.04 E-3
CAMMAL	5.90 E-4	5.01 E-4	5.87 E-4

*Resistencia a la rotura (N) fijada.

El aumento en la resistencia a la rotura en las matrices con los derivados HAMMA produce un incremento en el coeficiente de difusión específico, lo que significa que la tortuosidad disminuye y, en consecuencia, el fármaco debe recorrer una menor distancia para abandonar la matriz. La conjunción de la mayor porosidad (más cantidad de aire atrapado) y mayor tortuosidad de las matrices elaboradas a presiones más bajas explicaría, por tanto, la liberación más lenta de teofilina conforme disminuye la resistencia a la rotura de los sistemas matriciales (Figura II.4).

Llama la atención que los comprimidos con porosidad más elevada presenten, a su vez, tortuosidades superiores en comparación con los comprimidos con porosidad más baja. Esta situación que, a primera vista, parece anómala, es una consecuencia del aire atrapado en la matriz. Desai y col. (1966b), en sus estudios con matrices de PVC, midieron la tortuosidad de los sistemas antes y después de evacuar el aire atrapado en los comprimidos. La tortuosidad de los comprimidos con aire atrapado fue superior a la tortuosidad de los comprimidos a los que se les evacuó el aire.

Los valores de D' obtenidos para las matrices con CAMMA (Tabla II.5) muestran que, para ambos derivados, el aumento en la resistencia a la rotura de 70-80 N a 90-100 N produce una disminución en D' y, por consiguiente, un incremento en la tortuosidad. El aumento adicional en la presión para obtener los comprimidos a 110-120 N causa una disminución de la tortuosidad a valores semejantes a los obtenidos con los comprimidos elaborados a la resistencia a la rotura más baja. Esto explicaría la semejanza entre los perfiles de disolución de las matrices de resistencia a la rotura 110-120N y los de aquellas de resistencia a la rotura 90-100 N (Figura II.5), a pesar de que las primeras presentaron menor porosidad y diámetro medio de poro.

El análisis de los valores de D' (Tabla II.5) revela que las matrices elaboradas con la forma O de cada material presentan valores superiores a los obtenidos para sus homólogos L, lo que indica tortuosidades menores para las matrices elaboradas con los productos O. Esto explicaría la liberación más rápida de teofilina (Figuras II.4 y II.5) a partir de las matrices elaboradas con los productos secados en estufa, a pesar de su menor porosidad. Un comportamiento similar fue observado por Ferrero y col. (2003) en estudios de disolución en agua.

1.6. Determinación de la similitud de los perfiles de disolución

La evaluación de la similitud de los perfiles de disolución de los comprimidos obtenidos a partir de los diferentes copolímeros respecto a la especialidad

farmacéutica patrón correspondiente se realizó a través del cálculo del parámetro f_2 (Tabla II.6).

Los valores de f_2 obtenidos confirman, en mayor o menor medida, las tendencias observadas en los perfiles de liberación evaluados (Figuras II.4 y II.5). Así, todas las matrices elaboradas con CAMMA muestran perfiles de disolución similares a Theolair[®] (valores de f_2 mayores de 50) (FDA, 1997): En cambio, sólo las matrices elaboradas con HAMMAL a 70-80 N y 90-100 N presentan perfiles de liberación similares a Theo-Dur[®].

Tabla II.6.- Valores de f_2 calculados para las matrices elaboradas con los derivados HAMMA utilizando como referencia Theo-Dur[®] y para las matrices elaboradas con los derivados CAMMA utilizando como referencia Theolair[®].

Copolimero	f_2		
	70-80*	90-100*	110-120*
HAMMAO	39.9	37.6	37.4
HAMMAL	55.8	52.8	36.7
CAMMAO	57.8	63.2	67.0
CAMMAL	63.5	56.8	57.0

*Resistencia a la rotura (N) fijada

Teniendo en cuenta los resultados de similitud, se decidió no continuar los estudios con el producto HAMMAO, puesto que ninguna de las matrices elaboradas con este derivado presenta perfiles de disolución similares a la especialidad farmacéutica patrón. De las tres formulaciones restantes, se eligen las matrices elaboradas a la resistencia a la rotura 90-100 N para los estudios posteriores de evaluación de la variabilidad del proceso de producción y efecto de la velocidad de agitación sobre la liberación de teofilina, así como la determinación de su comportamiento in vivo. Se opta por esta resistencia a la rotura porque, para las tres formulaciones, se obtiene un f_2 intermedio entre el valor más alto y el más bajo, y porque, al mantener esta variable fija, se facilitan las comparaciones entre formulaciones.

2. Evaluación de la variabilidad del proceso de producción

2.1. Elaboración de los comprimidos

La Tabla II.7 recoge los parámetros de compresión para tres lotes de cada mezcla, elaborados a resistencia a la rotura de 90-100 N. En general, los parámetros de compresión obtenidos son similares para los diferentes lotes.

Tabla II.7.- Parámetros de compresión de tres lotes para cada mezcla a resistencia a la rotura 90-100 N: presión máxima aplicada por el punzón superior (P_{sup}), coeficiente de lubricación (R), fuerza máxima de eyección (F_{eyec}), trabajo de rozamiento de Juslin (W_{roz}), trabajo de expansión (W_{exp}), trabajo neto aparente de Juslin (W_{na}), porcentaje de plasticidad (PI).

Copolímero	Lote	P_{sup} (MPa)	R	F_{eyec} (N)	W_{roz} (J)	W_{exp} (J)	W_{na} (J)	PI (%)
HAMMAL	1	129.26 (4.43)	0.802 (0.004)	227.90 (30.76)	2.428 (0.155)	0.948 (0.077)	14.579 (0.531)	93.90 (0.43)
	2	126.95 (3.54)	0.801 (0.003)	242.12 (11.61)	2.393 (0.055)	0.917 (0.086)	14.348 (0.554)	94.00 (2.01)
	3	127.64 (1.74)	0.800 (0.003)	234.05 (26.55)	2.406 (0.052)	0.926 (0.059)	14.478 (0.340)	93.99 (0.81)
CAMMAO	1	129.00 (9.11)	0.748 (0.001)	487.32 (10.94)	1.997 (0.162)	0.726 (0.123)	9.849 (0.478)	93.14 (0.13)
	2	128.43 (8.47)	0.753 (0.003)	418.91 (11.67)	1.990 (0.168)	0.724 (0.068)	9.825 (0.676)	93.13 (0.23)
	3	126.47 (3.62)	0.756 (0.005)	434.67 (29.77)	1.964 (0.064)	0.715 (0.120)	9.656 (0.333)	93.11 (0.12)
CAMMAL	1	74.35 (2.82)	0.756 (0.005)	462.34 (13.07)	2.390 (0.054)	0.308 (0.030)	8.061 (0.278)	96.32 (0.11)
	2	68.00 (1.41)	0.725 (0.000)	535.36 (15.70)	2.283 (0.047)	0.280 (0.058)	7.423 (0.200)	96.37 (0.25)
	3	73.46 (2.41)	0.729 (0.003)	482.25 (28.37)	2.376 (0.110)	0.307 (0.017)	7.976 (0.226)	96.29 (0.23)

También se detecta similitud entre los parámetros registrados para estos tres lotes y los correspondientes al lote elaborado en el estudio del efecto de la resistencia a la rotura (Tabla II.1), excepto para la fuerza de eyección en el caso de los productos CAMMA, que es superior a la registrada anteriormente.

2.2. Caracterización de los comprimidos

En la Tabla II.8 se presentan los resultados de los ensayos generales de los comprimidos. Además de los valores medios y desviación estándar intralote, se ha incluido el valor medio y desviación estándar interlote, que proporcionará información acerca de la variabilidad del proceso de producción.

II Desarrollo y caracterización tecnológica de las formulaciones

Tabla II.8.- Ensayos generales de los comprimidos elaborados con tres lotes para cada mezcla a resistencia a la rotura 90-100 N: peso, diámetro, espesor y friabilidad.

Copolímero	Lote	Peso (mg)	Diámetro (mm)	Espesor (mm)	Friabilidad (%)
HAMMAL	1	503.0 (4.7) CV = 0.9%	12.183 (0.004)	4.400 (0.019)	0.93
	2	501.9 (4.6) CV = 0.9%	12.181 (0.003)	4.398 (0.018)	0.78
	3	503.4 (4.4) CV = 0.9%	12.181 (0.004)	4.396 (0.017)	0.90
	Total	502.8 (5.0) CV = 0.9%	12.182 (0.006)	4.398 (0.014)	0.87 (0.08)
CAMMAO	1	498.8 (4.9) CV = 1.0%	12.179 (0.005)	4.151 (0.012)	1.21
	2	498.1 (6.3) CV = 1.3%	12.179 (0.006)	4.172 (0.015)	1.21
	3	499.4 (5.0) CV = 1.0%	12.180 (0.005)	4.179 (0.014)	1.38
	Total	498.7 (5.3) CV = 1.1%	12.179 (0.005)	4.168 (0.018)	1.27 (0.10)
CAMMAL	1	496.2 (5.0) CV = 1.0%	12.162 (0.004)	4.536 (0.009)	0.91
	2	495.3 (5.4) CV = 1.1%	12.169 (0.005)	4.575 (0.012)	0.97
	3	499.2 (4.8) CV = 1.0%	12.161 (0.004)	4.567 (0.009)	1.12
	Total	496.9 (5.3) CV = 1.1%	12.164 (0.006)	4.559 (0.020)	1.00 (0.11)

Los lotes elaborados a partir de las distintas mezclas cumplen los requisitos propuestos por la Real Farmacopea Española (2002), en lo que concierne al ensayo de uniformidad de masa. El peso medio de los comprimidos está comprendido entre 495-503 mg, y los coeficientes de variación en torno al 1% son muy similares a los hallados en el estudio del efecto de la resistencia a la rotura (Tabla II.2).

Los valores de diámetro y espesor también son similares a los registrados en el estudio anterior (Tabla II.2). La resistencia a la rotura de los comprimidos se encuentra entre los límites buscados. A excepción de los comprimidos elaborados con CAMMAO, los valores de friabilidad también son semejantes a los obtenidos en el estudio anterior (Tabla II.2).

2.3. Porosimetría de intrusión y extrusión de mercurio

En la Tabla II.9 se presentan los parámetros que caracterizan la estructura porosa de las matrices. Al igual que en la tabla anterior, se incluyen valores medios y

desviación estándar interlote para los distintos parámetros. En general, la estructura porosa es bastante similar entre los distintos lotes correspondientes a una misma mezcla. También se aprecia semejanza en relación a los valores registrados en el estudio del efecto de la resistencia a la rotura (Tabla II.3).

Los perfiles de distribución de tamaño de poro de los comprimidos de los tres lotes de cada mezcla también son muy cercanos entre sí y se conserva la distribución unimodal para los comprimidos con HAMMAL y bimodal para los comprimidos con CAMMA observada en el estudio del efecto de la resistencia a la rotura (Figura II.3).

En resumen, podríamos decir que, aunque a veces se aprecian ciertas diferencias, la evaluación de los parámetros de compresión, ensayos generales y estructura de los comprimidos revela una buena reproducibilidad interlote.

Tabla II.9.- Parámetros que caracterizan la estructura porosa de tres lotes de comprimidos matriciales para cada copolímero a resistencia a la rotura 90-100 N.

Copolímero	Lote	Área superficial total (m ² /g)	Porosidad (%)	Diámetro medio de poro (μ)	Mediana de diámetro de poro (μ)
HAMMAL	1	15.081 (0.244)	24.4 (0.8)	663.5 (13.8)	12860 (552)
	2	14.555 (0.001)	24.7 (0.5)	687.2 (20.6)	13470 (537)
	3	15.075 (0.645)	24.6 (0.1)	660.2 (22.1)	13250 (113)
	Total	14.904 (0.410)	24.6 (0.4)	670.3 (19.9)	13193 (444)
CAMMAO	1	13.160 (0.190)	22.5 (0.4)	661.1 (3.0)	4145 (233)
	2	13.602 (0.296)	21.8 (0.2)	614.6 (1.0)	3496 (117)
	3	12.831 (0.096)	21.5 (0.1)	640.4 (1.7)	3666 (107)
	Total	13.198 (0.383)	21.9 (0.5)	638.7 (20.9)	3769 (326)
CAMMAL	1	17.670 (0.014)	27.5 (0.5)	651.7 (4.5)	1722 (9)
	2	17.218 (0.248)	28.7 (0.3)	712.6 (7.1)	1920 (27)
	3	18.292 (0.321)	28.0 (0.3)	672.2 (31.5)	1787 (92)
	Total	17.393 (0.283)	28.0 (0.6)	678.8 (31.3)	1810 (100)

2.4. Estudio de liberación del principio activo

Los perfiles de liberación del principio activo a partir de cada uno de los lotes de comprimidos se recogen en las Figuras II.6, II.7 y II.8. La forma de los perfiles de liberación se asemeja a los obtenidos en el estudio anterior (Figuras II.4 y II.5). Al comparar las variaciones entre los tres lotes de cada formulación se observa que los comprimidos con CAMMAL proporcionan velocidades de disolución más semejantes, seguidos de aquellos con CAMMAO y, por último, aquellos con HAMMAL.

2.5. Evaluación de la cinética de liberación

En la Tabla II.10 se registran los resultados del ajuste a las diferentes ecuaciones cinéticas. Al igual que en el estudio anterior (Tabla II.4), se demuestra que el mecanismo de liberación de los comprimidos con HAMMAL es predominantemente difusión, puesto que se obtiene un buen ajuste a la ecuación de Higuchi, valores de n entre 0.44 y 0.50 y valores de k_r despreciables frente a los de k_d . Por el contrario, los comprimidos con CAMMA muestran un mecanismo combinado difusión-relajación, pero con predominio del primero, como se deduce a partir del ajuste aceptable a la ecuación de Higuchi, valores de n entre 0.53 y 0.70 y valores de k_r inferiores a los de k_d .

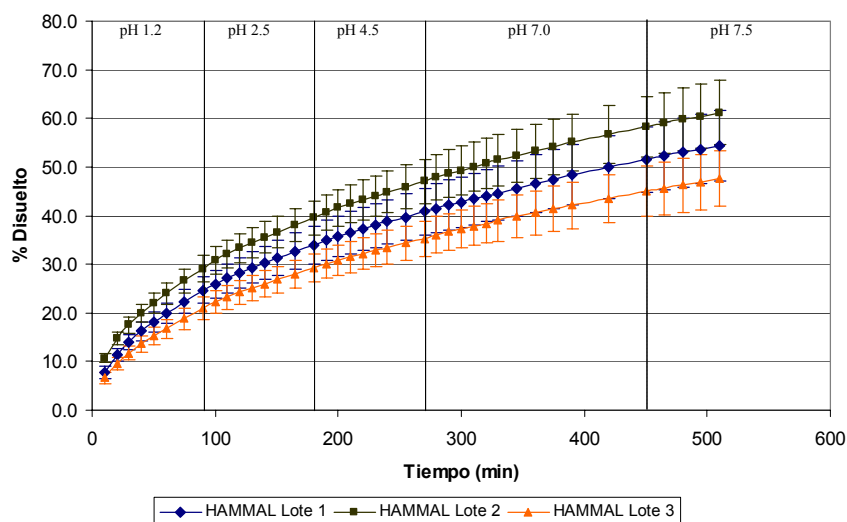


Figura II.6.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de matrices elaboradas con tres lotes de mezclas correspondientes a HAMMAL a resistencia a la rotura 90-100 N.

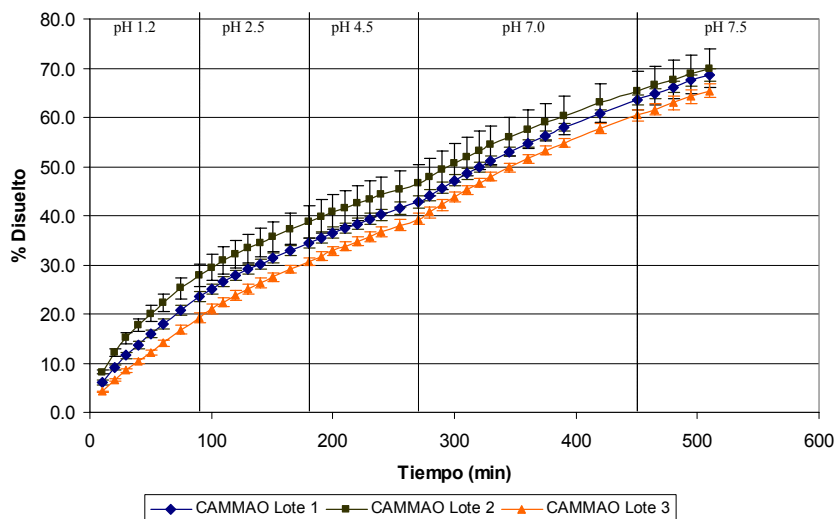


Figura II.7.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de matrices elaboradas con tres lotes de mezclas correspondientes a CAMMAO a resistencia a la rotura 90-100 N.

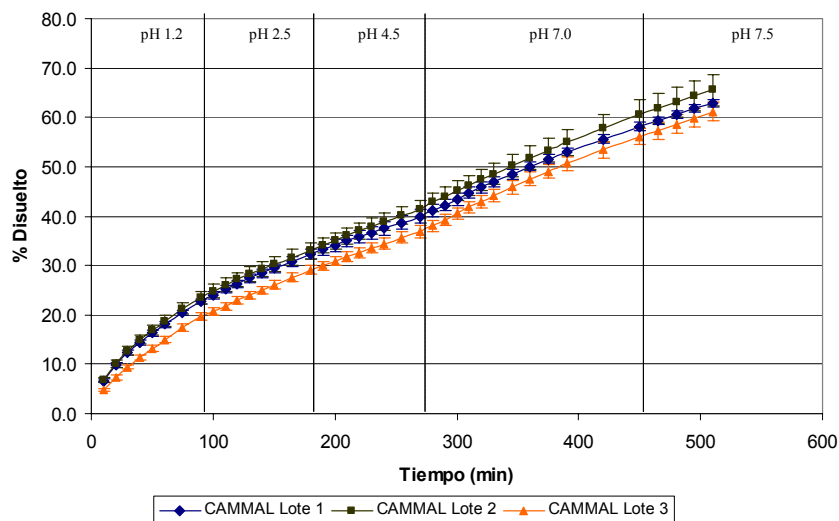


Figura II.8.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de matrices elaboradas con tres lotes de mezclas correspondientes a CAMMAL a resistencia a la rotura 90-100 N.

II Desarrollo y caracterización tecnológica de las formulaciones

Tabla II.10.- Ajuste de los datos de liberación de teofilina a las distintas ecuaciones cinéticas a partir de las matrices elaboradas con tres lotes de las mezclas a resistencia a la rotura 90-100 N.

Copolímero	Lote	Ecuación de Higuchi		Ecuación de Korsmeyer			Ecuación de Peppas		
		k (min ^{-1/2})	r ²	n	k' (min ⁻ⁿ)	r ²	k _d (min ^{-0.44})	k _r (min ^{-0.88})	r ²
HAMMAL	1	0.024	0.9983 (F=21759)	0.48	0.027	0.9984 (F=23045)	0.039	-1.31E-04	0.9999 (F=263772)
	2	0.026	0.9975 (F=14291)	0.44	0.039	0.9995 (F=68880)	0.045	-2.51E-04	0.9998 (F=111409)
	3	0.021	0.9990 (F=37239)	0.50	0.022	0.9990 (F=38737)	0.033	-2.40E-05	0.9999 (F=162305)
CAMMAO	1	0.031	0.9919 (F=3892)	0.61	0.015	0.9983 (F=18699)	0.022	1.43E-03	0.9965 (F=4390)
	2	0.030	0.9962 (F=8130)	0.53	0.025	0.9981 (F=16154)	0.034	6.81E-04	0.9968 (F=4594)
	3	0.031	0.9867 (F=2454)	0.70	0.008	0.9987 (F=25136)	0.012	1.97E-03	0.9975 (F=6339)
CAMMAL	1	0.028	0.9901 (F=3497)	0.56	0.018	0.9974 (F=13639)	0.017	1.41E-03	0.9973 (F=6188)
	2	0.028	0.9912 (F=3709)	0.56	0.019	0.9977 (F=14110)	0.018	1.40E-03	0.9971 (F=5417)
	3	0.029	0.9838 (F=2250)	0.64	0.011	0.9975 (F=15028)	0.010	1.82E-03	0.9976 (F=7384)

2.6. Determinación de la similitud de los perfiles de disolución

Los resultados del cálculo de f_2 para la determinación de la similitud de los tres lotes respecto a la especialidad farmacéutica patrón (Theo-Dur[®] para HAMMAL y Theolair[®] para CAMMA) se presentan en la Tabla II.11.

Tabla II.11.- Valores de f_2 calculados para las matrices elaboradas con HAMMAL utilizando como referencia Theo-Dur[®] y para las matrices elaboradas con CAMMA utilizando como referencia Theolair[®].

Copolímero	f_2		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3
HAMMAL	56.4	44.2	74.5
CAMMAO	63.8	53.2	75.1
CAMMAL	68.0	66.7	70.5

De los resultados obtenidos, se podría deducir que los perfiles de liberación correspondientes a los distintos lotes de una misma mezcla son similares a la especialidad farmacéutica correspondiente con unas diferencias inferiores al 10%. Sólo en un caso, correspondiente al lote 2 de la mezcla con HAMMAL, la

condición de similitud no se cumple, si bien las diferencias son inferiores al 15% (Moore y Flanner, 1996; Shah y col., 1998).

3. Efecto de la velocidad de agitación sobre la liberación de teofilina

3.1. Estudios de liberación del principio activo

Como se expuso en la introducción correspondiente a este capítulo, en el tracto gastrointestinal las matrices estarán sometidas a la diversa gama de movimientos que se desarrollan en el tubo digestivo y a la fuerza destructiva que éstos pueden ejercer sobre el contenido luminal. Es por esto que la susceptibilidad de las matrices a cambios en la velocidad de agitación puede considerarse como una manifestación de la robustez del sistema de liberación (Kavanagh y Corrigan, 2004) y es, por tanto, deseable que la forma de liberación no sea sensible a este factor (Ritschel, 1989; Jorgensen y Bhagwat, 1998).

Ahora bien, no existe unanimidad en cuanto a las velocidades de agitación utilizadas por diferentes autores para evaluar este tipo de efecto. Así, por citar algunos ejemplos, Hasegawa y col. (1978) usaron en su trabajo valores de 25, 50, 100 y 150 r.p.m.; Khan y Zhu (1998) de 50 y 100 r.p.m.; Munday y Cox (2000) de 25 y 100 r.p.m.; Morihara y col. (2002) de 50, 100 y 200 r.p.m. y Wu y col. (2004) de 25, 50, 75 y 100 r.p.m. En nuestro caso, se seleccionaron como velocidades de agitación 25, 50, 75 y 100 r.p.m.

Los perfiles de liberación de teofilina a partir de las matrices con HAMMAL y Theo-Dur[®], obtenidos a diferentes velocidades de agitación, se presentan en las Figuras II.9 y II.10. En el caso de HAMMAL (Figura II.9), se observa un incremento en la velocidad de liberación a medida que aumenta la velocidad de agitación hasta 75 r.p.m., para permanecer casi constante a 100 r.p.m. La variabilidad del ensayo también incrementa en el mismo sentido. En el caso de Theo-Dur[®] (Figura II.10), el incremento de la liberación con el aumento de la velocidad de agitación es menos notorio y podría decirse que la liberación de teofilina a partir de este producto se ve poco afectada por la velocidad de agitación.

II Desarrollo y caracterización tecnológica de las formulaciones

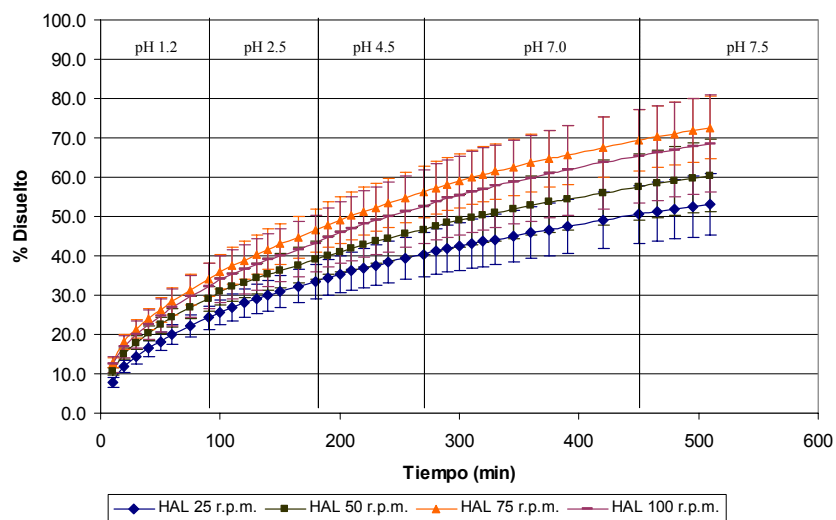


Figura II.9.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de matrices de HAMMAL (HAL) a diferentes velocidades de agitación.

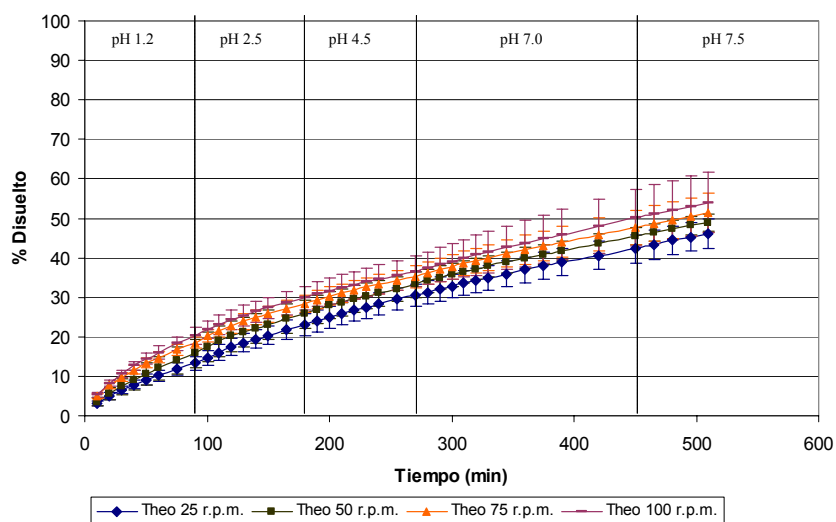


Figura II.10.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de Theo-Dur® (Theo) a diferentes velocidades de agitación.

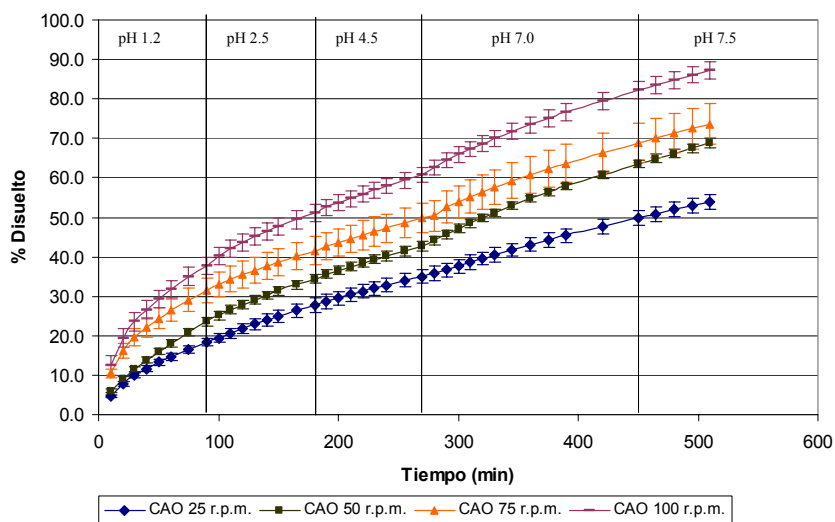


Figura II.11.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de matrices de CAMMAO (CAO) a diferentes velocidades de agitación.

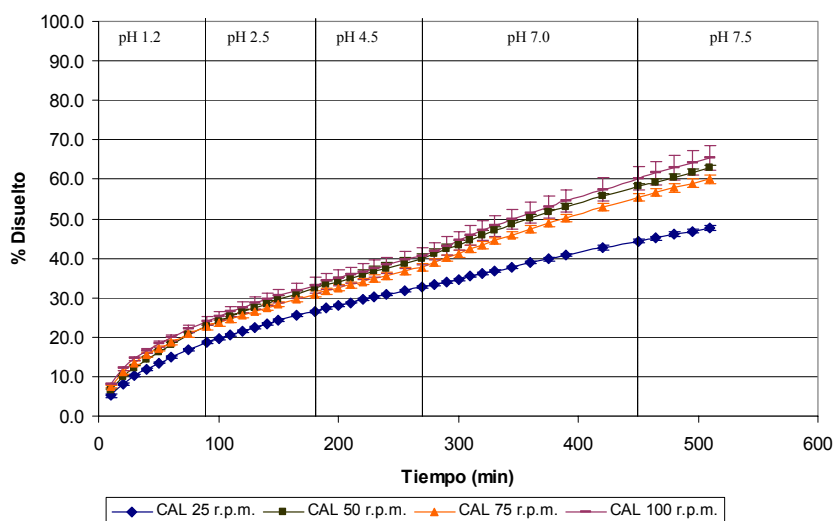


Figura II.12.- Perfiles de liberación de teofilina a partir de matrices de CAMMAL (CAL) a diferentes velocidades de agitación.

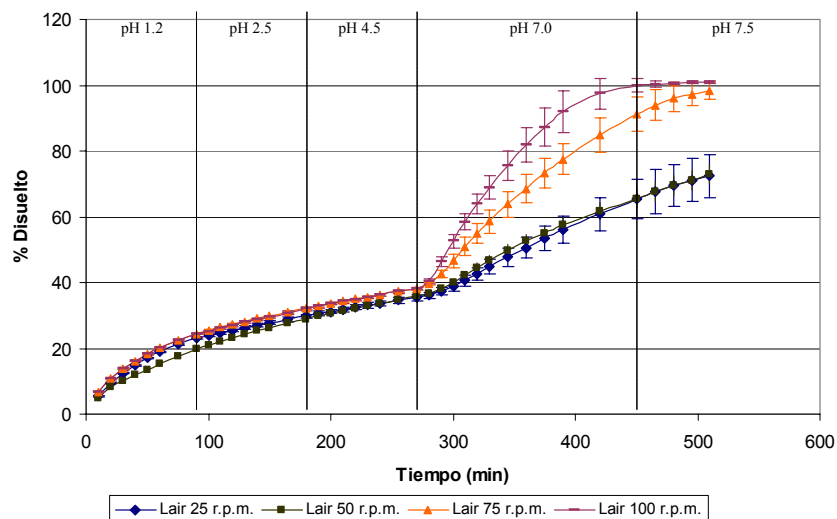


Figura II.13.-Perfiles de liberación de teofilina a partir de matrices de Theolair® (Lair) a diferentes velocidades de agitación.

Los perfiles de liberación de teofilina de las matrices con los derivados CAMMA y Theolair® se recogen en las Figuras II.11, II.12 y II.13. El incremento en la velocidad de agitación tiene un efecto diferente sobre cada producto. Así, en las matrices con CAMMAO (Figura II.11), la liberación aumenta con el incremento en la velocidad de agitación. En cambio, en las matrices con CAMMAL (Figura II.12), el mayor efecto sobre la liberación se observa con el incremento de la velocidad de agitación de 25 a 50 r.p.m. Los incrementos adicionales afectan poco la liberación de teofilina a partir de las matrices con este copolímero. Llama la atención el perfil de liberación a 25 r.p.m. en ambos productos, que no muestra, a simple vista, una liberación dependiente del pH del medio de disolución.

El efecto de la velocidad de agitación sobre Theolair® (Figura II.13) también es bifásico, como su liberación en gradiente de pH. La liberación de teofilina no se ve afectada por los incrementos en la velocidad de agitación a pH_s ácidos. Sin embargo, sí tienen un efecto a pH_s básicos, especialmente cuando la velocidad de agitación supera las 50 r.p.m.

3.2. Evaluación de la cinética de liberación

Los resultados del ajuste de los datos de disolución a las diferentes ecuaciones cinéticas se presentan en la Tabla II.12. Podemos observar cómo las matrices con HAMMAL siguen mostrando un mecanismo de liberación donde predomina la difusión, al tiempo que un aumento en la velocidad de agitación conlleva un incremento de la constante de velocidad de difusión.

Tabla II.12.- Ajuste de los datos de liberación de teofilina a diferentes velocidades de agitación a las distintas ecuaciones cinéticas a partir de matrices preparadas con los copolímeros HAMMAL, CAMMAO y CAMMAL (resistencia a la rotura 90-100 N), Theo-Dur® y Theolair®.

Copolímero	r.p.m.	Ecuación de Higuchi		Ecuación de Korsmeyer			Ecuación de Peppas		
		k (min ^{-1/2})	r ²	n	k' (min ⁻ⁿ)	r ²	k _d (min ^{-0.44})	k _r (min ^{-0.88})	r ²
HAMMAL	25	0.023	0.9980 (F=18614)	0.47	0.029	0.9983 (F=22337)	0.039	-1.64E-04	0.9999 (F=209589)
	50	0.025	0.9973 (F=13437)	0.44	0.041	0.9993 (F=50568)	0.044	-2.58E-04	0.9998 (F=107883)
	75	0.032	0.9998 (F=117854)	0.44	0.047	0.9996 (F=61324)	0.044	2.86E-04	0.9999 (F=101066)
	100	0.030	0.9997 (F=93249)	0.44	0.047	0.9996 (F=78208)	0.041	2.49E-04	0.9999 (F=69805)
CAMMAO	25	0.025	0.9934 (F=5726)	0.60	0.012	0.9986 (F=27926)	0.017	1.15E-03	0.9995 (F=40134)
	50	0.033	0.9892 (F=3482)	0.61	0.015	0.9983 (F=18699)	0.022	1.43E-03	0.9965 (F=4390)
	75	0.029	0.9949 (F=5615)	0.45	0.041	0.9955 (F=6445)	0.036	4.51E-04	0.9952 (F=2904)
	100	0.035	0.9962 (F=5508)	0.46	0.047	0.9951 (F=4265)	0.064	-7.35E-04	0.9995 (F=20584)
CAMMAL	25	0.022	0.9983 (F=21924)	0.55	0.016	0.9992 (F=47778)	0.022	5.63E-04	0.9995 (F=37643)
	50	0.028	0.9901 (F=3497)	0.56	0.018	0.9974 (F=13639)	0.017	1.41E-03	0.9973 (F=6188)
	75	0.026	0.9833 (F=2232)	0.51	0.022	0.9913 (F=4322)	0.010	1.59E-03	0.9963 (F=4968)
	100	0.027	0.9855 (F=2249)	0.50	0.025	0.9934 (F=4944)	0.013	1.55E-03	0.9943 (F=2807)
Theo-Dur®	25	0.023	0.9950 (F=7526)	0.70	0.006	0.9991 (F=42013)	0.018	9.14E-04	0.9989 (F=16992)
	50	0.024	0.9985 (F=24707)	0.67	0.008	0.9984 (F=24091)	0.025	6.12E-04	0.9993 (F=26675)
	75	0.024	0.9992 (F=46218)	0.59	0.013	0.9995 (F=69900)	0.027	5.25E-04	0.9997 (F=60363)
	100	0.025	0.9983 (F=21789)	0.57	0.015	0.9988 (F=32034)	0.027	5.99E-04	0.9992 (F=23262)
Theolair®	25	0.025	0.9419 (F=519)	0.54	0.019	0.9745 (F=1225)	0.006	1.84E-03	0.9561 (F=338)
	50	0.028	0.9481 (F=584)	0.63	0.011	0.9877 (F=2566)	-0.005	2.72E-03	0.9754 (F=615)
	75	0.027	0.9173 (F=311)	0.53	0.022	0.9712 (F=945)	0.004	2.25E-03	0.9329 (F=188)
	100	0.027	0.9064 (F=252)	0.52	0.022	0.9691 (F=814)	0.006	2.11E-03	0.9195 (F=143)

En el caso de Theo-Dur[®] se aprecia un mecanismo combinado difusión-erosión, donde la difusión es el mecanismo predominante. La escasa influencia de la velocidad de agitación se refleja en los valores similares de la k de Higuchi y en las contribuciones relativas de las constantes de velocidad de la ecuación de Peppas.

Para las matrices con CAMMA, el mejor ajuste a las tres ecuaciones se obtiene con CAMMAO y CAMMAL a 25 r.p.m., lo que respalda la observación de una liberación independiente del pH a esta velocidad de agitación. En el resto de las velocidades de agitación, y en el caso de Theolair[®], el ajuste no es tan bueno, debido a la discontinuidad del perfil de disolución en estos casos. Este comportamiento dificulta la interpretación de los resultados obtenidos del ajuste de las ecuaciones cinéticas. Sin embargo, podríamos decir que, aunque en las formulaciones con CAMMA la difusión es el mecanismo predominante, el aumento en la velocidad de agitación trae consigo un comportamiento distinto según el tipo de copolímeros. Así, en el caso de CAMMAO, el aumento en la velocidad de liberación se debe fundamentalmente a un aumento de la difusión (k_d) mientras que, en el caso de CAMMAL, la disminución en el valor de k_d es contrarrestada por un aumento de k_r , lo que conduce a velocidades de liberación semejantes.

Por último, Theolair[®] muestra un mecanismo combinado difusión-erosión, aunque el mal ajuste a las distintas ecuaciones cinéticas no permite concluir nada acerca del efecto de la velocidad de agitación.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se puede concluir que:

1. El aumento en la resistencia a la rotura origina modificaciones en la estructura porosa de los comprimidos (disminución de la porosidad, diámetro medio y mediana de diámetro de poro). Sin embargo, da lugar a un comportamiento de liberación distinto según el tipo de copolímero: mientras en los comprimidos con HAMMA la velocidad de liberación aumenta con el incremento en la resistencia a la rotura, en los comprimidos con CAMMA ocurre lo contrario, lo que podría explicarse en base a la tortuosidad de las matrices.
2. El mecanismo de liberación de teofilina predominante en las formulaciones con HAMMA y CAMMA es la difusión, mientras que las especialidades farmacéuticas de referencia con las que se comparan estos productos (Theo-Dur[®] y Theolair[®]) presentan un mecanismo combinado difusión-erosión.
3. La comparación de los perfiles de liberación de los comprimidos elaborados a distintas resistencias a la rotura y las formulaciones de referencia, a través del factor de similitud f_2 , permite seleccionar para el estudio *in vivo* a las formulaciones con HAMMAL, CAMMAO y CAMMAL a resistencia a la rotura 90-100N.
4. La posible variabilidad que pueda existir en el proceso de producción no influye en las características tecnológicas y estructura porosa de los comprimidos. El factor de similitud f_2 muestra que la liberación del principio activo a partir de los tres lotes de comprimidos de cada copolímero es semejante a la de la especialidad farmacéutica de referencia correspondiente, excepto para uno de los lotes de las matrices con HAMMAL.
5. En general, el incremento en la velocidad de agitación origina un aumento en la velocidad de liberación de teofilina, aunque el efecto sobre la contribución respectiva de los mecanismos de difusión y erosión depende del tipo de producto.

BIBLIOGRAFÍA

ASHFORD, M. The gastrointestinal tract-physiology and drug absorption. En AULTON, M.E. (Ed.) *Pharmaceutics: The science of dosage form design*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2002, p. 217-233.

BOLHUIS, G.K. y LERK. C.F. Comparative evaluation of excipients for direct compression, I. *Pharmaceutisch Weekblad*, 1973, 108: 469-481.

DE BLAEY, C.J. y POLDERMAN, J. Compression of pharmaceuticals: I. The quantitative interpretation of force-displacement curves. *Pharmaceutisch Weekblad*, 1970, 105: 241-250.

DE BLAEY, C.J. y POLDERMAN, J. Compression of pharmaceuticals: II. Registration and determination of force-displacement curves, using a small digital computer. *Pharmaceutisch Weekblad*, 1971, 106: 57-65.

DESAI, S.J. y col. Investigation of factors influencing release of solid drug dispersed in inert matrices: II. Quantitation of procedures. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1966a, 55(11): 1224-1229.

DESAI, S.J. y col. Investigation of factors influencing release of solid drug dispersed in inert matrices: IV. Some studies involving the polyvinyl chloride matrix. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1966b, 55(11): 1235-1239.

DOELKER, E. Assessment of powder compaction. En CHULIA, D., DELEUIL, M. y POURCELOT, Y. (Eds.) *Powder technology and pharmaceutical processes*. Amsterdam: Elsevier, 1994, p. 403-470.

DRESSMAN, J.B. Comparison of canine and human gastrointestinal physiology. *Pharmaceutical Research*, 1986, 3(3): 123-131.

FARHADIEH, B.; BORODKIN, S. y BUDDENHAGEN, J.D. Drug release from methyl acrylate-methyl methacrylate copolymer matrix I: kinetics of release. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1971, 60(2): 209-212.

FDA. *Guidance for Industry: dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms*. [en línea]. [Rockville]: Center for drug evaluation and research (CEDER), 1997, 14 p. <www.fda.gov/cder/guidance.htm>.

FERRERO, C. *Caracterización tecnológica de nuevos copolímeros acrílicos de celulosa y almidón como excipientes para sistemas matriciales por compresión directa. Estudio del mecanismo de liberación de teofilina a partir de estas matrices.* Tesis doctoral, Universidad de Sevilla, 1999.

FERRERO, C. y JIMÉNEZ-CASTELLANOS, M.R. The influence of carbohydrate nature and drying methods on the compaction properties and pore structure of new methyl methacrylate copolymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 2002, 248: 157-171.

FERRERO, C., BRAVO, I. Y JIMÉNEZ-CASTELLANOS, M.R. Drug release kinetics and front movement studies from methyl methacrylate (MMA) copolymer matrix tablets: effect of copolymer type and matrix porosity. *Journal of Controlled Release*, 2003, 92: 69-82.

FORD, J.L., RUBINSTEIN, M.H. y HOGAN, J.E. Formulation of sustained release promethazine hydrochloride tablets using hydroxypropylmethylcellulose matrices. *International Journal of Pharmaceutics*, 1985a, 24: 327-338.

FORD, J.L., RUBINSTEIN, M.H. y HOGAN, J.E. Propranolol hydrochloride and aminophylline release from matrix tablets containing hydroxypropylmethylcellulose matrices. *International Journal of Pharmaceutics*, 1985b, 24: 339-350.

FORD, J.L. y col. Mathematical modeling of drug release from hydroxypropylmethylcellulose matrices: effect of temperature. *International Journal of Pharmaceutics*, 1991, 71:95-104.

GARCÍA, C.R., SIQUEIROS, A. y BENET, L.Z. Oral controlled release preparations. *Pharmaceutica Acta Helvetia*, 1978, 53(3-4): 99-108.

HASEGAWA, S. y col. Analysis of factors affecting dissolution of digoxin from tablets. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 1978, 26(7): 2098-2104.

HIGUCHI, T.; NELSON, E. y BUSSE, L.W. The physics of tablet compression: III. Design and construction of an instrumented tableting machine. *Journal of American Pharmaceutical Association*, 1954, 43(6): 334-348.

HIGUCHI, T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1961, 50(10): 874-875.

HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication: theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1963, 52(12): 1145-1149.

HOLGADO, M.A., FERNÁNDEZ-ARÉVALO, M. y RABASCO, A.M. Sistemas de liberación controlada. II. Métodos de obtención farmacotécnicos. *Industria Farmacéutica*, 1990, Marzo/Abril: 67-79.

JÄRVINEN, M.J. y JUSLIN, M.J. On frictional work at the die wall during tablet compression. *Farmaseuttinen Aikakauslehti*, 1974, 83: 1-8.

JÄRVINEN, M.J. y JUSLIN, M.J. Comments on: Evaluation of force-displacement measurements during one-side powder compaction in a die; the influence of friction with die wall and of the diameter of punches and die on upper and lower punch pressure. *Powder Technology*, 1981, 28: 115.

JORGENSEN, E.D. y BHAGWAT, D. Development of dissolution test for oral extended-release products. *Pharmaceutical Sciences and Technology Today (PSTT)*., 1998, 1(3): 128-135.

JUPPO, A.M. e YLIRUUSI, J. Effect of amount of granulation liquid on total pore volume and pore size distribution of lactose, glucose and mannitol granules. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 1994, 40(5):299-309.

KAMBA, M. y col. A unique dosage form to evaluate the mechanical destructive force in the gastrointestinal tract. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 208: 61-70.

KAMBA, M. y col. Comparison of the mechanical destructive force in the small intestine of dog and human. *International Journal of Pharmaceutics*, 2002, 237: 139-149.

KAVANAGH, N. y CORRIGAN, O.I. Swelling and erosion properties of hydroxypropylmethylcellulose (Hypromellose) matrices-influence of agitation rate and dissolution medium composition. *International Journal of Pharmaceutics*, 2004, 279: 141-152.

KEEY, R.B. *Drying principles and practice*. Oxford: Pergamon Press, 1972, 39-49 p.

KHAN, G.M. y ZHU, J.B. Ibuprofen release kinetics from controlled-release tablets

granulated with aqueous polymeric dispersion of ethylcellulose II: Influence of several parameters and coexcipients. *Journal of Controlled Release*, 1998, 56: 127-134.

KNEULE, F. *El secado*. Bilbao: Urmo, 1982, Capítulo 3: 323-336 p. Enciclopedia de la tecnología química. Técnicas de procesos en las industrias químicas y derivados.

KORSMEYER, R.W. y col. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 1983a, 15: 25-35.

KORSMEYER, R.W. y col. Mechanisms of potassium chloride release from compressed, hydrophilic, polymeric matrices: effect of entrapped air. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1983b, 72(10): 1189-1191.

LAPIDUS, H. y LORDI, N.G. Drug release from compressed hydrophilic matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1968, 57(8): 1292-1301.

LORDI, N.G. Sustained release dosage forms. En LACHMAN, H., LIEBERMAN, H. y KANIG, J. (Eds.) *The theory and practice of industrial pharmacy*. Philadelphia, PA: Lea y Febiger, 1986, p. 430-456.

MOJAVERIAN, P. y col. Mechanism of gastric emptying of a nondisintegrating radiotelemetry capsule in man. *Pharmaceutical Research*, 1991, 8(1): 97-100.

MOORE, J.W. y FLANNER, H.H. Mathematical comparison of dissolution profiles. *Pharmaceutical Technology*, 1996, Junio: 64-74.

MORIHARA, M. y col. Hydrodynamic flows around tablets in different pharmacopeial dissolution tests. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2002, 28(6): 655-662.

MUNDAY, D.L. y COX, P.J. Compressed xanthan and karaya gum matrices: hydration, erosion and drug release mechanisms. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 203: 179-192.

NELSON, E. y col. The physics of tablet compression: IV. Relationship of ejection and upper and lower punch forces during compressional process: application of measurements to comparison of tablet lubricants. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 1954, 43(10): 596-602.

NELSON, E., BUSSE, L.W. e HIGUCHI, T. The physics of tablets compression: VII. Determination of energy expenditure in the tablet compression process. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 1955, 44(4): 223-225.

PATHER, S.I. y col. Sustained release theophylline tablets by direct compression. Part 1: formulation and in vitro testing. *International Journal of Pharmaceutics*, 1998, 164: 1-10.

PEPPAS, N.A. Analysis of fickian and non-fickian drug release from polymers. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 1985, 60(4): 110-111.

PEPPAS, N.A. y SAHLIN, J.J. A simple equation for the description of solute release: III. Coupling of diffusion and relaxation. *International Journal of Pharmaceutics*, 1989, 57: 169-172.

RAGNARSSON, G. y SJÖGREN, J. Work of friction and net during compaction. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1983, 35: 201-204.

RAGNARSSON, G. y SJÖGREN, J. Force-displacement measurements in tableting. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1985, 37: 145-150.

Real Farmacopea Española. 2ª Ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 2002, 215 p.

RITGER, P.L. y PEPPAS, N.A. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-Fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *Journal of Controlled Release*, 1987a, 5: 23-26.

RITGER, P.L. y PEPPAS, N.A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release*, 1987b, 5: 37-42.

RITSCHER, W.A. Biopharmaceutic and pharmacokinetic aspects in the design of controlled release peroral drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1989, 15(6-7): 1073-1103.

RUDNIC, E.M. y KOTTKE, M.K. Tablet dosage forms. En BANKER, G.S. y RHODES, C.T. (Eds.) *Modern Pharmaceutics*. 3ª ed. New York: Marcel Dekker, INC, 1996, p. 333-394.

SCHWARTZ, J.B., SIMONELLI, A.D. e HIGUCHI, W.I. Drug release from wax matrices I: analysis of data with first-order kinetics and with the diffusion-controlled model. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1968, 57(2): 274-277.

SHAH, V.P. y col. In vitro dissolution profile comparison: statistic and analysis of the similarity factor, f_2 . *Pharmaceutical Research*, 1998, 15(6): 889-896.

SINGH, P. y col. Role of wetting on the rate of drug release from inert matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1968, 57(2): 217-226.

STAMM, A. y MATHIS, C. Étude de la compression des poudres: intérêt de la mesure de la force d'éjection pour caractériser leur «comprimabilité». *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 1975, 33(12): 641-650.

TE WIERIK, G.H.P. y col. A new generation of starch products as excipient in pharmaceutical tablets. I. Preparation and binding properties of high surface area potato starch products. *International Journal of Pharmaceutics*, 1996, 134: 27-36.

WU, Y., KILDSIG, D.O. y GHALY, E.S. Effect of hydrodynamic environment on tablets dissolution rate. *Pharmaceutical Development and Technology*, 2004, 9(1): 25-37.

CAPÍTULO III

ESTUDIO *IN VIVO* Y ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

INTRODUCCIÓN

El objetivo de este capítulo es evaluar el comportamiento *in vivo* de las formulaciones seleccionadas en el capítulo anterior en comparación con las dos especialidades farmacéuticas de referencia. Con este fin, se recurrirá al análisis farmacocinético de los datos obtenidos tras la administración intravenosa de una solución de teofilina y tras la administración oral de los comprimidos a perros beagle. Con el fin de centrar el tema, previamente se hará una breve descripción de lo que le ocurre a un fármaco después de su administración por ambas vías y de los principales parámetros farmacocinéticos utilizados para caracterizar el tránsito de éste por el organismo en ambas situaciones. Dentro de la vía oral, se describirán las diferencias que se presentan entre una forma farmacéutica donde el principio activo está disuelto antes de su administración (solución oral) y una que prolonga la liberación. Dado que los perfiles plasmáticos de formas farmacéuticas de liberación prolongada no requieren para su descripción cinética de modelos más complejos que el monocompartmental (Welling, 1983; Ritschel, 1989), sólo se hará referencia a éste, por lo que se asumirá una distribución instantánea del fármaco cuando alcanza el torrente sanguíneo, una cinética lineal y eliminación de primer orden.

Por último, se hará referencia al perro como animal de experimentación útil en estudios de absorción de fármacos. Se describirá brevemente la fisiología de su tracto gastrointestinal, señalando las principales diferencias con el de los humanos.

1. Administración intravenosa

Si tras la administración rápida de una solución intravenosa (bolus intravenoso) de un fármaco se toman muestras de sangre a diferentes tiempos y se cuantifica la concentración de principio activo presente en cada una de ellas, se puede obtener una representación gráfica de la concentración encontrada respecto al tiempo, como se muestra en la Figura III.1a.

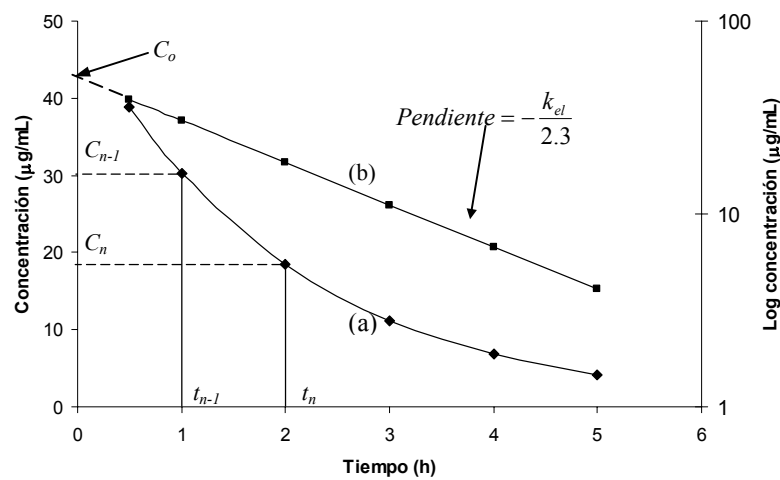


Figura III.1.- Representación gráfica de la evolución en el tiempo de los niveles plasmáticos de un fármaco después de su administración intravenosa: (a) concentración vs tiempo; (b) log concentración vs tiempo.

Si suponemos que el ser humano tiene alrededor de 5 litros de sangre, la concentración de principio activo en la primera muestra debería ser igual a la dosis administrada dividida por 5000 mL. Esto sería cierto si el fármaco permaneciera en forma libre en la circulación sanguínea pero, en realidad, inmediatamente después de la administración, se une a proteínas plasmáticas (la unión depende del tipo de fármaco) y la fracción que queda libre abandona el sistema vascular y se distribuye

rápidamente a los tejidos. Otro evento que ocurre inmediatamente después de la administración es el comienzo de la eliminación del principio activo del organismo, que se manifiesta en la disminución de la concentración plasmática con el tiempo (Figura III.1a). Este proceso se puede llevar a cabo por diversos mecanismos, dentro de los cuales destacan la excreción urinaria y el metabolismo hepático.

Desde un punto de vista farmacocinético, ambos procesos (distribución y eliminación) se caracterizan por los siguientes parámetros: constante de eliminación, semivida de eliminación, área bajo la curva concentración plasmática-tiempo, aclaramiento plasmático, tiempo medio de residencia y volumen aparente de distribución.

La constante de eliminación indica la velocidad a la cual el fármaco se elimina irreversiblemente del organismo. En la mayoría de los casos, esta velocidad es proporcional a la cantidad de fármaco que permanece en el organismo (proceso de primer orden), por lo que sus unidades son tiempo^{-1} (min^{-1} , h^{-1}). El valor de esta constante recoge todos los procesos de eliminación a los que puede ser sometido un fármaco para su expulsión del individuo: excreción renal, biliar, por sudor y saliva, biotransformación en el hígado o en los tejidos, etc.

La semivida de eliminación se define como el tiempo necesario para que una determinada concentración del fármaco se reduzca a la mitad. En un proceso de orden uno, la semivida se caracteriza por ser constante e independiente de la dosis administrada y de la concentración inicial considerada (Peraire y Colom, 1997).

El área bajo la curva concentración plasmática-tiempo representa la cantidad de fármaco que se incorpora de forma inalterada al organismo tras la administración de una dosis determinada (Peraire y Colom, 1997). Sus unidades son concentración.tiempo ($(\mu\text{g}/\text{mL})\cdot\text{h}$).

El aclaramiento plasmático representa el volumen de sangre totalmente depurado de fármaco por unidad de tiempo por el organismo o por parte del órgano eliminador considerado (aclaramiento renal, hepático, etc.) (Peraire y Colom, 1997). Sus unidades son mL/min o L/h .

El tiempo medio de residencia se define como el tiempo que, en promedio, permanecen, en forma inalterada, todas las moléculas del fármaco en el organismo durante su tránsito por él (Doménech y Lauroba, 1997).

El volumen aparente de distribución es una constante de proporcionalidad que relaciona la concentración de fármaco en la sangre o plasma con la cantidad del mismo en el organismo. Además, es un índice de la distribución del fármaco (Gibaldi y Perrier, 1982).

La estimación de estos parámetros a partir de los datos concentración-tiempo se puede realizar mediante análisis no compartimental o análisis compartimental.

1.1. Análisis no compartimental

En esta aproximación, la determinación de los parámetros se realiza a partir de la curva concentración plasmática-tiempo. Para ello, es preciso asumir un proceso cinético de eliminación determinado y, en algunos casos, es necesario efectuar cálculos matemáticos sencillos, comparados con los que se utilizan en el análisis compartimental.

- Constante de eliminación (k_{el})

Para su cálculo, se asume un proceso de eliminación de primer orden y los datos de concentración-tiempo se transforman en log concentración-tiempo. La representación gráfica inicialmente curvilínea (Figura III.1a) se transforma en una línea recta (Figura III.1b) con la siguiente ecuación:

$$\log C = -\frac{k_{el} t}{2.3} + \log C_0 \quad (1)$$

La constante de eliminación se determina por regresión lineal y se obtiene a partir de la pendiente de la línea representada en la Figura III.1b.

- Semivida de eliminación ($t_{1/2}$)

La semivida de eliminación se calcula sustituyendo el valor de la constante de eliminación en la ecuación 2:

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{k_{el}} \quad (2)$$

- Área bajo la curva (AUC_0^∞)

La determinación del área bajo la curva se realiza en dos partes: en la primera, se calcula el área bajo la curva desde tiempo cero hasta el último tiempo de muestreo

(AUC_0^t) y, en la segunda, desde el último tiempo de muestreo hasta infinito (AUC_t^∞). El valor del área bajo la curva corresponde a la suma de estos dos valores (ecuación 3):

$$AUC_0^\infty = AUC_0^t + AUC_t^\infty \quad (3)$$

El método más común para calcular el AUC_0^t es el método trapezoidal, que consiste en sumar las áreas de cada uno de los trapecios formados por cada intervalo de tiempo (t_n y t_{n-1}) y sus concentraciones correspondientes (C_n y C_{n-1}) (Figura III.1). La determinación suele hacerse sobre los datos concentración-tiempo, por lo que uno de los lados de los trapecios estará formado por una línea curva. Para la determinación del área, se supone que esta curvatura es una línea recta, por lo que el valor estimado de AUC_0^t será mayor que el valor real. Con el fin de disminuir este error, el cálculo de AUC_0^t de datos intravenosos se realiza a partir del gráfico log concentración-tiempo (método logotrapezoidal) mediante la siguiente expresión:

$$AUC_{t_{n-1}}^{t_n} = \frac{C_{n-1} - C_n}{2.3(\log C_{n-1} - \log C_n)} (t_n - t_{n-1}) \quad (4)$$

Para la determinación del área del primer trapecio (de tiempo cero al primer tiempo de muestreo) es necesario hallar la concentración a tiempo cero, lo que se logra por extrapolación de la recta semilogarítmica determinada con los dos o tres primeros pares de valores tiempo-concentración (Figura III.1).

El área bajo la curva desde tiempo t a infinito (AUC_t^∞) se calcula mediante la ecuación 5, donde C_t es la concentración del último tiempo de muestreo, hallada por interpolación del valor del último tiempo de muestreo en la recta de regresión utilizada para el cálculo de k_{el} .

$$AUC_t^\infty = \frac{C_t}{k_{el}} \quad (5)$$

- Aclaramiento plasmático (Cl)

Se determina a partir de la ecuación 6, en la que D es la dosis administrada.

$$Cl = \frac{D}{AUC_0^\infty} \quad (6)$$

- Tiempo medio de residencia (*MRT*)

Se obtiene a partir de la ecuación 7, donde $AUMC_0^\infty$ se conoce como área bajo la curva del primer momento y corresponde al área bajo la curva del producto tiempo.concentración respecto al tiempo (Figura III.2).

$$MRT = \frac{AUMC_0^\infty}{AUC_0^\infty} \quad (7)$$

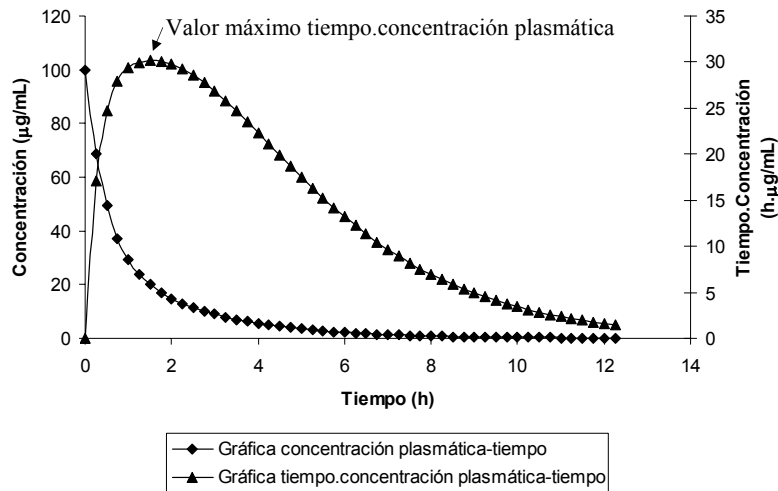


Figura III.2. Representación gráfica de la curva de concentración plasmática–tiempo y de la correspondiente a la del producto tiempo.concentración plasmática–tiempo.

El cálculo de $AUMC_0^\infty$ se realiza de forma similar al de AUC_0^∞ (ecuación 3). Para la determinación del área de los trapecios comprendidos entre tiempo cero y el último tiempo de muestreo ($AUMC_0^{t_n}$) se utiliza el método mixto que, en este caso, consiste en usar, de una parte, el método trapezoidal (ecuación 8) para hallar el área de los trapecios comprendidos entre tiempo cero y el tiempo en que se obtiene el valor máximo tiempo.concentración (Figura III.2, fase ascendente de la curva) y, de otra, el método logotrapezoidal (ecuación 9) para el resto de los trapecios (Figura III.2, fase descendente de la curva).

$$AUMC_{t_{n-1}}^{t_n} = \frac{C_n t_n + C_{n-1} t_{n-1}}{2} (t_n - t_{n-1}) \quad (8)$$

$$AUMC_{t_{n-1}}^{t_n} = \frac{(t_n C_n - t_{n-1} C_{n-1})(t_n - t_{n-1})}{\ln \frac{C_n}{C_{n-1}}} - \frac{(C_n - C_{n-1})(t_n - t_{n-1})^2}{\left[\ln \frac{C_n}{C_{n-1}} \right]^2} \quad (9)$$

$AUMC_t^\infty$ se obtiene mediante la ecuación 10:

$$AUMC_t^\infty = \frac{t C_t}{k_{el}} + \frac{C_t}{k_{el}^2} \quad (10)$$

Los valores de k_{el} y C_t utilizados en esta última expresión deben calcularse a partir de la curva tiempo.concentración-tiempo, transformando los datos logaritmicamente (log tiempo.concentración-tiempo). k_{el} se determina por regresión lineal de los pares de valores que conforman la parte terminal del gráfico (fase descendente) y que más se aproximan a una línea recta; su valor corresponde al valor absoluto del producto de la pendiente por 2.3. C_t es el antilogaritmo de la cantidad que se obtiene al interpolar el último tiempo de muestreo en la línea de regresión.

- Volumen aparente de distribución

El valor del volumen de distribución se puede obtener a partir de la ecuación 11 y se conoce como volumen de distribución en función del área.

$$V_{d(\text{área})} = \frac{D}{AUC_0^\infty k_{el}} \quad (11)$$

Otra expresión que también se utiliza para determinar este parámetro farmacocinético se muestra en la ecuación 12. En este caso, el valor obtenido se denomina volumen de distribución en estado estacionario.

$$V_{d(ee)} = Cl MRT_0^\infty \quad (12)$$

El volumen de distribución también puede estimarse a partir de la dosis (D) de principio activo administrado y el valor de C_0 (hallado en el cálculo de AUC) mediante la ecuación 13. Este volumen de distribución se conoce como volumen extrapolado.

$$V_{d(\text{extr})} = \frac{D}{C_0} \quad (13)$$

De las tres ecuaciones propuestas para la estimación de V_d , Gibaldi y Perrier (1982) y Doménech y Lauroba (1997) consideran que el resultado obtenido a partir de la ecuación 12 es el más fiable, debido a que el valor de $V_{d(ee)}$ obtenido mediante los momentos estadísticos (*MRT*) está menos influenciado por los cambios que pueda sufrir k_{el} .

1.2. Análisis compartimental

En el análisis compartimental, los datos de concentración plasmática-tiempo se ajustan a modelos matemáticos originados al suponer que el organismo está dividido en una serie de compartimentos. El más sencillo se conoce como modelo monocompartimental. A medida que se incrementa el número de compartimentos en el modelo, aumenta la complejidad del tratamiento matemático; por ello, los modelos utilizados con más frecuencia no pasan de cuatro compartimentos.

A continuación, se describirá el modelo monocompartimental y las ecuaciones utilizadas en el cálculo de los parámetros farmacocinéticos para, posteriormente, detallar el procedimiento utilizado para seleccionar el modelo más apropiado.

1.2.1. Modelo monocompartimental

En este modelo el individuo se considera como un compartimento único en el que el fármaco se distribuye instantáneamente. Su representación esquemática se muestra en la Figura III.3.

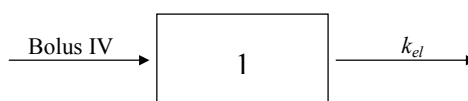


Figura III.3.- Representación esquemática de un modelo monocompartimental después de la administración intravenosa de un fármaco.

El fármaco se introduce, mediante un bolus intravenoso, en el organismo (1) y se elimina de éste a una velocidad determinada por la constante de eliminación k_{el} . Si se asume que el proceso de eliminación es de primer orden, la ecuación que representa el modelo es la siguiente:

$$C = \frac{D}{V_d} e^{-k_{el}t} \quad (14)$$

Aplicando \ln a ambos miembros de la ecuación 14 y teniendo en cuenta que $D/V_d = C_o$, donde C_o es la concentración inicial de principio activo en el organismo antes de que comience a eliminarse, se obtiene la siguiente expresión:

$$\ln C = -k_{el}t + \ln C_0 \quad (15)$$

Esta igualdad puede expresarse en logaritmos en base 10 teniendo en cuenta que $\ln = 2.3 \log$:

$$\log C = -\frac{k_{el}}{2.3}t + \log C_0 \quad (16)$$

La ecuación obtenida es idéntica a la ecuación 1 y el cálculo de la constante de eliminación se realiza de forma similar a lo mostrado en el análisis no compartimental.

La semivida de eliminación, el área bajo la curva concentración plasmática-tiempo, el aclaramiento plasmático y el tiempo medio de residencia se calculan mediante las siguientes igualdades:

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{k_{el}} \quad (17)$$

$$AUC_0^\infty = \frac{C_0}{k_{el}} \quad (18)$$

$$Cl = V_d k_{el} \quad (19)$$

$$MRT_0^\infty = \frac{1}{k_{el}} \quad (20)$$

Para el cálculo del volumen de distribución, se hace uso de la aproximación no compartimental y se utilizan las expresiones 11, 12 y 13.

1.2.2. Ajuste de los modelos a los datos y elección del más apropiado

Antes de realizar la estimación de parámetros, es necesario determinar cuál es el modelo que mejor ajusta los datos. El objetivo del ajuste es encontrar el valor de los

parámetros del modelo (k_{el} y V_d en el caso del modelo monocompartimental por administración intravenosa) que proporcionen datos estimados de la concentración plasmática lo más cercanos posible a los valores experimentales.

El ajuste, a los datos experimentales, de las diversas funciones matemáticas que representan los diferentes modelos se realiza mediante programas de regresión no lineal que, con base en unas estimas iniciales, asignan diversos valores a los parámetros, los prueban dentro de la ecuación y determinan la semejanza entre los valores de concentración encontrados y los experimentales. La similitud entre los valores se establece hallando las diferencias entre éstos, elevando dichas diferencias al cuadrado y luego sumándolas. Este método se conoce como mínimos cuadrados. Los valores óptimos de los parámetros serán aquellos que proporcionen el mínimo cuadrado más bajo y, cuando éste se alcance, el programa dará por terminado el ajuste.

Hay que tener en cuenta que, desde el punto de vista analítico, la variabilidad de los datos de concentración no es homogénea, ya que las concentraciones altas presentan mayor variabilidad que las concentraciones bajas. Para el uso correcto de los mínimos cuadrados, la varianza deber ser constante (homocedasticidad); en caso contrario, es necesario ponderar los datos. La ponderación es una forma de corregir la falta de homogeneidad de varianza de los datos y consiste en asignar un mayor peso a los datos medidos con mayor precisión; se logra, de esta manera, que éstos tengan el mismo peso durante el proceso de ajuste. Existen diversos algoritmos de ponderación; sin embargo, se ha podido constatar que, en farmacocinética, la estimación óptima de los parámetros se logra utilizando como factor de ponderación $1/y$ ó $1/y^2$, donde y representa cada una de las concentraciones. La regresión no lineal se realiza sobre estos nuevos datos y el método se conoce como mínimos cuadrados ponderados.

Otra circunstancia que debe tenerse en cuenta a la hora de realizar el ajuste es que a los métodos de regresión no lineal se les deben proporcionar valores iniciales aproximados de los parámetros del modelo a ajustar (estimadas iniciales). En el caso de la administración intravenosa (modelo monocompartimental), las estimadas iniciales de k_{el} y V_d se pueden obtener por análisis no compartimental o por el método Simplex, como se verá más adelante.

Finalmente, hay que seleccionar un algoritmo de minimización, es decir, el método por el cual el programa buscará el mínimo cuadrado. Hay dos tipos de algoritmos, los de búsqueda directa, entre los que destacan el método Grid-Search y el método Simplex, y los algoritmos de gradiente, entre los que cabe mencionar el método

Steepest descent, el método de Gauss-Newton y el método de Gauss-Newton con la modificación de Levenberg.

El método Grid-Search es poco eficiente y no se considera un buen método de optimización (Bourne, 1995). El método Simplex es bueno para situarse fácilmente en la zona del mínimo pero no para precisarlo, por esto suele utilizarse para estimar los parámetros del modelo y luego realizar el ajuste con otro algoritmo. En el caso de que desee utilizarse como método de ajuste, el análisis debe realizarse dos veces con estimadas iniciales diferentes.

El método Steepest descent trabaja bien al principio de la búsqueda y avanza rápidamente hacia el mínimo, pero deja de hacerlo cuando está cerca de él. Lo contrario ocurre con el método de Gauss-Newton, que trabaja bien cuando está cerca del mínimo (Motulsky y Ransnas, 1987). El método de Gauss-Newton con la modificación de Levenberg combina las ventajas de los dos métodos anteriores: durante el ajuste aplica el método Steepest descent hasta minimizar considerablemente la suma de cuadrados y, cuando ésta ya no disminuye más, utiliza la aproximación de Gauss-Newton.

Una vez que se ha elegido la ponderación estadística, las estimas iniciales de los parámetros y el algoritmo de minimización, se procede al ajuste. Al final de éste, el programa proporciona una serie de información gráfica y estadística que permitirá evaluar la bondad del ajustado y comparar el ajuste obtenido mediante diversos métodos.

Entre la información gráfica que proporciona el programa, se encuentra la representación de los valores observados y los valores calculados en relación al tiempo. Ésta permite visualizar el grado de concordancia entre ambos valores. Dicha concordancia también se pone de manifiesto representando los valores calculados respecto a los valores observados, de modo que si el ajuste es bueno los datos se correlacionarán formando una línea recta.

Otra representación gráfica útil es la de los residuales (diferencia entre los valores obtenidos y los calculados) respecto a la variable dependiente (concentración) o el tiempo. Ésta ayuda a determinar la distribución de las observaciones experimentales respecto a las predichas por el modelo. Idealmente, estas gráficas deben mostrar una apariencia al azar de los datos, es decir, éstos no deben presentar ninguna tendencia. En caso contrario, se debe pensar en elegir un modelo alternativo o un esquema de ponderación diferente.

La información estadística es un soporte objetivo de la información gráfica. Entre los criterios estadísticos utilizados para evaluar el ajuste de un modelo a los datos, destacan el coeficiente de variación (CV), que es una medida de la precisión con la que se estiman los parámetros, y el Criterio de Información de Akaike (AIC). Este último fue aplicado por Yamaoka y col. (1978) a modelos farmacocinéticos lineales (procesos de absorción y eliminación no gobernados por sistemas enzimáticos saturables). Se define como:

$$AIC = N \ln SSQ + 2p \quad (21)$$

donde N es el número de datos experimentales, p el número de parámetros del modelo y SSQ la suma de cuadrados residuales del modelo.

Cuando se está comparando el ajuste, de diferentes modelos farmacocinéticos, a datos concentración-tiempo, el modelo más apropiado es aquel que presenta el mínimo valor de AIC y bajos CV. La gráfica de los valores observados y los valores calculados respecto al tiempo también debe mostrar un buen ajuste, al igual que la gráfica de los valores calculados respecto a los observados. Por último, la gráfica de los residuales debe mostrar una distribución al azar de los residuos.

2. Administración oral

Si se toman muestras de sangre, a diferentes tiempos, después de la administración por vía oral de un fármaco y, de modo similar a lo descrito en la administración intravenosa, se cuantifica la concentración de principio activo presente en cada una de ellas y los resultados se representan respecto al tiempo, se obtiene una gráfica como la que aparece en la Figura III.4a. La concentración del principio activo aumenta hasta alcanzar un máximo y luego comienza a disminuir.

Por vía oral, al igual que por cualquier vía extravasal, el fármaco se ve sometido a un proceso adicional a los descritos en la administración intravenosa (distribución y eliminación): la absorción. Una vez administrado el fármaco, éste se disuelve en los fluidos gástricos y atraviesa las membranas gastrointestinales hasta alcanzar el torrente sanguíneo. En el mismo instante en que llega a la circulación sistémica, comienzan los procesos de distribución y eliminación del mismo. Durante la parte ascendente de la curva (de tiempo cero hasta el tiempo en que se alcanza la concentración máxima), la velocidad de absorción es mayor que la velocidad de eliminación y la concentración del fármaco aumenta con el tiempo. Esto se debe a que la concentración del principio activo en el tracto gastrointestinal es mayor que

en la circulación sistémica. Cuando se alcanza la concentración máxima, la velocidad de absorción se iguala a la velocidad de eliminación, debido a la reducción del principio activo en el tracto gastrointestinal. A partir de este momento, la absorción se hace más pequeña, hasta que llega un tiempo en el cual sólo se detecta la eliminación del fármaco (últimos puntos o fase terminal de la curva).

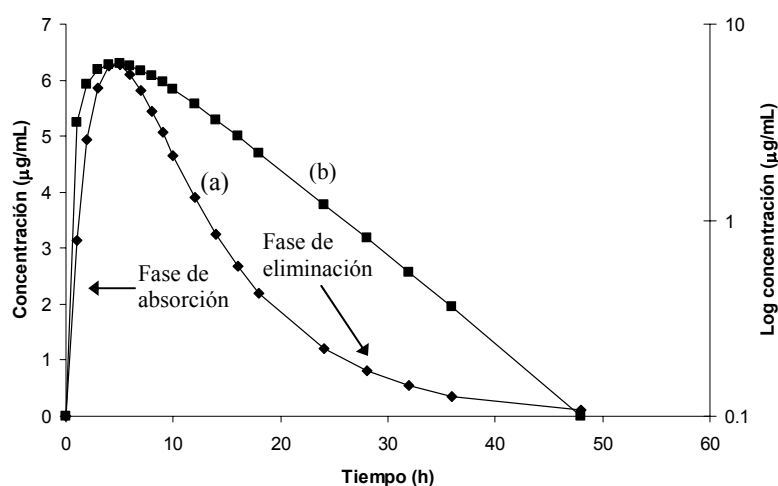


Figura III.4.- Representación gráfica de la evolución en el tiempo de los niveles plasmáticos de un fármaco después de su administración oral: (a) concentración vs tiempo; (b) log concentración vs tiempo.

La velocidad del proceso de absorción dependerá, en gran medida, de la forma de dosificación en la que se administra el principio activo. Así, ésta será mayor cuando se administra como una solución oral, en la que la sustancia activa ya está disuelta, que cuando se administra en una forma de dosificación sólida, de la cual el fármaco tiene que liberarse antes de su absorción.

2.1. Administración de una solución oral

Los parámetros farmacocinéticos que caracterizan la distribución y eliminación del fármaco después de la administración de una solución oral a un individuo son los mismos que se presentaron en la administración intravenosa, excepto el volumen aparente de distribución y el aclaramiento plasmático, que se estiman de forma más acertada a partir de datos intravenosos que de datos orales. Algunos de los parámetros restantes (constante de eliminación, semivida de eliminación, área bajo

la curva y tiempo de residencia) presentan diferencias en su significado y forma de cálculo, como se verá más adelante. El proceso de absorción, por su parte, se caracteriza por la fracción de dosis absorbida, la constante de absorción, la concentración máxima, el tiempo máximo y el tiempo medio de absorción.

La fracción de dosis absorbida indica la cantidad de principio activo que alcanza la circulación sistémica después de la administración oral (o extravasal).

La constante de absorción indica la velocidad a la que el fármaco ingresa en el organismo. En el caso de una solución oral, se podría decir que esta velocidad está regida por un proceso de primer orden, a no ser que la absorción del fármaco esté mediada por un mecanismo de transporte saturable.

La concentración máxima, como su nombre lo indica, es la máxima concentración obtenida después de la administración del fármaco. El tiempo en el que se logra esta concentración corresponde al tiempo máximo.

Dentro de los parámetros farmacocinéticos presentados en la administración intravenosa, el *MRT* (tiempo medio de residencia) cambia de significado cuando se administra una solución oral. En este sentido, el valor del *MRT_{Soral}* engloba el tiempo que permanece el fármaco en el lugar de administración (tiempo medio de absorción) y el tiempo medio de residencia del fármaco en el organismo (*MRT*).

El tiempo medio de absorción puede definirse como el tiempo medio de residencia de todas las moléculas del fármaco en el tracto gastrointestinal hasta que alcanza la circulación sistémica (Doménech y Lauroba, 1997).

Al igual que en la administración intravenosa, estos parámetros pueden calcularse por análisis no compartimental o compartimental.

2.1.1. Análisis no compartimental

- Constante aparente de eliminación (k_{el})

Para el cálculo de la constante aparente de eliminación, los datos se transforman en log concentración-tiempo y la representación gráfica se asemeja a la Figura III.4b. k_{el} se determina por regresión lineal de los pares de valores que conforman la fase de eliminación del gráfico y que más se aproximan a una línea recta. El valor de k_{el} se corresponde con el valor absoluto del producto de la pendiente por 2.3.

- Semivida aparente de eliminación ($t_{1/2}$)

La semivida aparente de eliminación se calcula utilizando la ecuación 2 y el valor de k_{el} obtenido según lo indicado en el párrafo anterior.

- Área bajo la curva (AUC_0^∞)

El cálculo de AUC_0^∞ se realiza de forma similar a lo mostrado en la administración intravenosa (ecuación 3). El área de los trapecios desde tiempo cero al último tiempo de muestreo se determina por el método mixto, como se describió en el cálculo de $AUMC_0^t$ en la administración intravenosa. Sin embargo, en lugar de las ecuaciones 8 y 9, se utilizan las ecuaciones 22 y 4 para la parte ascendente y descendente de la curva, respectivamente:

$$AUC_{t_{n-1}}^{t_n} = (t_n - t_{n-1}) \frac{C_n + C_{n-1}}{2} \quad (22)$$

El área comprendida entre el último tiempo de muestreo e infinito (AUC_t^∞) se obtiene mediante la ecuación 5.

- Tiempo medio de residencia (MRT)

El tiempo medio de residencia se calcula del mismo modo y utilizando las mismas ecuaciones expuestas para el cálculo de MRT después de la administración intravenosa, teniendo en cuenta que en los cálculos se usan los datos correspondientes a la administración oral.

- Fracción de dosis absorbida (F)

Se determina relacionando las áreas bajo la curva obtenidas después de la administración de la solución oral y la administración intravenosa. En el caso de que la dosis administrada no sea la misma, es necesario normalizar dichos valores dividiéndolos por la dosis (D) correspondiente. El cálculo de este parámetro se ilustra en la ecuación 23:

$$F = \frac{AUC_0^\infty \text{ oral} / D_{\text{oral}}}{AUC_0^\infty \text{ i.v.} / D_{\text{i.v.}}} \quad (23)$$

- Tiempo medio de absorción (MAT)

El tiempo medio de absorción se calcula a partir de la ecuación 24:

$$MAT = MRT_{\text{Soral}} - MRT_{\text{i.v.}} \quad (24)$$

- Concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y tiempo máximo ($t_{m\acute{a}x}$)

Estos dos parámetros se obtienen directamente de la curva de concentración plasmática-tiempo y corresponden a la concentración máxima encontrada y el tiempo al que se alcanza dicha concentración.

- Constante de absorción (k_a)

La constante de absorción se calcula por el método de los residuales, que consiste en separar los diferentes componentes exponenciales de una curva (Gibaldi y Perrier, 1982). Para ello, con la ecuación de la línea obtenida por regresión lineal con los pares de valores que conforman la fase de eliminación de la representación gráfica log concentración-tiempo, se calculan valores de concentración plasmática utilizando los tiempos de la fase de absorción (concentración extrapolada). Seguidamente, de cada concentración extrapolada se sustrae la concentración plasmática real respectiva. El logaritmo de las diferencias resultantes representado respecto al tiempo da una línea recta cuya pendiente equivale a $-k_a/2.3$.

2.1.2. Análisis compartimental

➤ Modelo monocompartimental

De modo similar a lo expuesto en el análisis compartimental de datos intravenosos, inicialmente se describirán las ecuaciones utilizadas en el cálculo de los parámetros farmacocinéticos para datos que se explican con un modelo monocompartimental y, por último, se harán algunas precisiones sobre el ajuste por regresión no lineal.

La representación esquemática de un modelo monocompartimental con administración extravasal (en este caso, oral) se muestra en la Figura III.5.

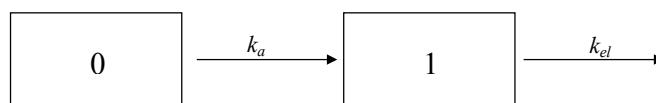


Figura III.5.- Representación esquemática de un modelo monocompartimental tras la administración oral.

Después de la administración del fármaco por vía oral, éste llega al tracto gastrointestinal, que se considera un compartimento externo al organismo (0). De este compartimento externo, el fármaco accede al compartimento central (1) con una velocidad de absorción representada por la constante k_a . Inmediatamente, el fármaco absorbido se distribuye y comienza a eliminarse del organismo a una

velocidad caracterizada por la constante de velocidad k_{el} . En el caso de la solución oral, se puede considerar que tanto la absorción como la eliminación del fármaco están regidas por procesos de primer orden, por lo que la ecuación que describe el modelo es la siguiente:

$$C = \frac{F k_a D}{V_d (k_a - k_{el})} (e^{-k_{el}t} - e^{-k_a t}) \quad (25)$$

donde V_d es el volumen de distribución obtenido a partir de la administración intravenosa del fármaco. Cuando la absorción llega a su fin, la expresión anterior se reduce a:

$$C = \frac{F k_a D}{V_d (k_a - k_{el})} e^{-k_{el}t} \quad (26)$$

Aplicando \ln a ambos miembros de la ecuación 26, se obtiene la ecuación 27 que, expresada en logaritmos en base 10, se convierte en la ecuación 28:

$$\ln C = \ln \frac{F k_a D}{V_d (k_a - k_{el})} - k_{el}t \quad (27)$$

$$\log C = \log \frac{F k_a D}{V_d (k_a - k_{el})} - \frac{k_{el}t}{2.3} \quad (28)$$

La representación de \log concentración-tiempo (Figura III.4b) convertirá la fase de eliminación en una línea recta representada por la ecuación 28. La **constante aparente de eliminación** se obtiene a partir de la pendiente de esta recta, por lo que su cálculo se realiza como en la aproximación no compartimental. La **semivida aparente de eliminación** se obtiene al reemplazar el valor hallado de k_{el} en la ecuación 17.

La **constante de absorción (k_a)** se puede determinar por el método de Wagner-Nelson (Wagner y Nelson, 1963). Este método se basa en el balance de masas y considera que la cantidad de fármaco absorbido a un tiempo dado equivale a la suma de la cantidad de fármaco presente en el organismo en ese momento más la cantidad eliminada del mismo en ese tiempo. Se aplica a fármacos cuya cinética después de la administración intravenosa se explica por un modelo monocompartimental. Este método tiene la ventaja de que no requiere asumir un orden para la cinética de absorción (orden cero, uno).

Para el cálculo de la constante de absorción, se determina la fracción de fármaco absorbida en los diferentes tiempos utilizando la ecuación 29, donde A_t es la cantidad de fármaco absorbida en el tiempo considerado (t) y A_∞ es la cantidad total

de fármaco absorbida a tiempo infinito. C_t y AUC_0^t son la concentración plasmática del fármaco al tiempo considerado (t) y el área bajo la curva acumulada a ese mismo tiempo, respectivamente. La constante de eliminación (k_{el}) y las áreas bajo la curva se calculan por análisis no compartimental.

$$\frac{A_t}{A_\infty} = \frac{C_t + k_{el}(AUC_0^t)}{k_{el}(AUC_0^\infty)} \quad (29)$$

Una vez obtenidas las fracciones absorbidas, se representan frente al tiempo. Si la relación entre la fracción absorbida y el tiempo es lineal, sugiere que la constante de absorción es de orden cero y k_a se obtiene a partir de la pendiente de esa recta. Si la relación es curvilínea, indica una cinética de absorción de primer orden. En este caso, el valor de la constante se calcula a partir de la representación gráfica del logaritmo de la fracción del fármaco no absorbida ($1-A_t/A_\infty$) respecto al tiempo. El valor absoluto de la pendiente de la recta obtenida multiplicado por 2.3 corresponde a la constante de absorción de primer orden.

El **área bajo la curva** (AUC_0^∞), el **tiempo medio de absorción (MAT)** y el **tiempo máximo** ($t_{m\acute{a}x}$) se calculan a partir de las siguientes expresiones:

$$AUC_0^\infty = \frac{k_a F D}{V_d (k_a - k_{el})} \left(\frac{1}{k_{el}} - \frac{1}{k_a} \right) \quad (30)$$

$$MAT = \frac{1}{k_a} \quad (31)$$

$$t_{m\acute{a}x} = \frac{2.3 \log(k_a / k_{el})}{k_a - k_{el}} \quad (32)$$

La **concentración máxima** ($C_{m\acute{a}x}$) se determina reemplazando el valor de $t_{m\acute{a}x}$ en la ecuación 25.

La **fracción de dosis absorbida** (F) se calcula mediante la ecuación 23, teniendo en cuenta que las áreas bajo la curva son las obtenidas por análisis compartimental.

➤ Ajuste de los datos

Existen diferentes modelos matemáticos para explicar datos de fármacos, administrados extravasalmente, que se distribuyen y eliminan según un modelo

monocompartimental. Éstos son derivados de las ecuaciones que se acaban de presentar y aparecen en los archivos de modelos de los programas utilizados en regresión no lineal. En uno de ellos se asume que las constantes de absorción y eliminación son diferentes, en otro que son similares, otros tienen en cuenta retrasos en la absorción (período de latencia).

El ajuste de las distintas funciones matemáticas que representan los diversos modelos a los datos y la elección del modelo que mejor explica el comportamiento del fármaco en el organismo se lleva a cabo de forma similar a lo descrito en el análisis compartimental de los datos intravenosos. La principal diferencia radica en que los parámetros que definen este modelo son tres: k_a , k_{el} y V_d . Las estimadas iniciales de la constante aparente de eliminación (k_{el}) y el volumen de distribución (V_d) se pueden obtener por análisis no compartimental. La estimada de la constante de absorción suele calcularse por el método de los residuales (Gibaldi y Perrier, 1982; Shargel y Yu, 1993).

2.2. Administración de una forma de dosificación de liberación prolongada

El fármaco en una solución oral se encuentra disuelto y, una vez administrado, está completamente disponible para la absorción. En cambio, en una forma de dosificación sólida y, en especial, en formas de liberación prolongada, el principio activo tiene que liberarse y disolverse en los fluidos gastrointestinales antes de su absorción. En el primer caso, la velocidad de transferencia del fármaco desde el tracto gastrointestinal al torrente sanguíneo viene regida por la constante de absorción. En el segundo, la velocidad de dicho traslado viene limitada o modulada por la velocidad de liberación del principio activo a partir de su forma de dosificación. De aquí se deduce que el principal parámetro farmacocinético modificado por las formas de dosificación de liberación prolongada es la velocidad de absorción y, en consecuencia, todos aquellos parámetros relacionados con ésta.

La disminución en la constante de absorción producida por las formas de liberación prolongada se refleja en el aumento del MRT y $t_{máx}$ y la disminución de $C_{máx}$, en comparación con los mismos parámetros obtenidos a partir de una solución oral o de una forma de dosificación de liberación rápida. Si el producto está bien formulado, el AUC deber permanecer constante.

La liberación *in vivo* del fármaco a partir de la forma de dosificación puede caracterizarse por un proceso de primer orden o de orden cero. Cuando el proceso es de primer orden, la determinación de los parámetros farmacocinéticos se realiza

de forma similar a lo expuesto para una solución oral, tanto para el análisis no compartimental como compartimental, con la salvedad de que, en este caso, el *MRT* y el *MAT* cambian de significado.

El *MRT* para un comprimido viene representado por la ecuación 33, en la que *MDT_{in vivo}* es el tiempo medio de disolución *in vivo*.

$$MRT_{compr} = MRT_{i.v.} + MAT_{Soral} + MDT_{in\ vivo} \quad (33)$$

El *MRT* calculado a partir de una solución oral es igual a:

$$MRT_{Soral} = MRT_{i.v.} + MAT_{Soral} \quad (34)$$

Sustituyendo la ecuación 34 en la 33 y despejando, se obtiene la expresión 35, que permite calcular el parámetro *MDT_{in vivo}*:

$$MDT_{in\ vivo} = MRT_{compr} - MRT_{Soral} \quad (35)$$

El *MAT*, por su parte, será igual a:

$$MAT_{compr} = MRT_{compr} - MRT_{i.v.} \quad (36)$$

y su valor será la suma del tiempo medio de absorción oral obtenido de una solución oral (*MAT_{Soral}*) y el tiempo medio de disolución *in vivo* (*MDT_{in vivo}*).

El *MAT* también se puede calcular mediante la ecuación 37:

$$MAT = \frac{1}{k_a} \quad (37)$$

donde *k_a* es la constante de absorción del fármaco obtenida por análisis compartimental.

En el caso de que la liberación del principio activo *in vivo* se caracterice por un proceso de orden cero, el esquema que explica el modelo es idéntico al presentado en la Figura III.5, pero considerando una velocidad de entrada del fármaco al organismo de orden cero (*k₀*). La función que describe el modelo será:

$$C = \frac{k_0}{V_d k_{el}} (1 - e^{-k_{el}t}) \quad (38)$$

En este caso, también existe una aproximación compartimental para el cálculo del *MAT* mediante la expresión:

$$MAT = \frac{t_{m\acute{a}x}}{2} \quad (39)$$

3. El perro como animal de experimentación

El perro es un animal ampliamente utilizado en estudios de absorción de principios activos debido a que puede ingerir formas de dosificación a escala humana, de él se pueden obtener cantidades de muestras suficientes para el análisis (de un animal de 10 kg se pueden extraer hasta 100 mL de sangre cada semana durante 6 semanas sin afectar su fisiología normal) (Tse, 1988), es fácil de mantener y manejar y, además, existen semejanzas entre la fisiología y la anatomía de su tracto gastrointestinal y la de los humanos.

En este sentido, ambas especies poseen estómagos simples (sólo un compartimento principal) revestido con mucosa glandular que secreta cantidades importantes de ácido gástrico, siendo las regiones del fondo y el píloro, hasta cierto punto, semejantes. Además, producen pepsina, la región en la que tiene lugar la mayor absorción de nutrientes es el intestino delgado, secretan jugo pancreático rico en enzimas y bicarbonato y poseen vesícula biliar (la cual secreta la bilis en la parte proximal del intestino delgado) y colon (Dressman y Yamada, 1991).

En cuanto a la motilidad, las dos especies presentan ciclos interdigestivos en ayuno de duración semejante, que se interrumpen con la ingestión de alimentos, por lo que se espera que los tiempos de residencia gástricos de formas de dosificación sólidas no disgregantes sean muy semejantes (Dressman, 1986). La principal diferencia se presenta en los tiempos de vaciado gástrico cuando se ingieren alimentos, al igual que el retorno a la actividad de la fase III (período corto en el que se presentan un gran número de contracciones regulares e intensas que expulsan el material no digerido hacia el intestino) después de comer, ambos son más prolongados en el perro que en el hombre. Por todo ello, se recomienda realizar los estudios en perros en estado de ayunas.

El tiempo de tránsito intestinal es más corto en el perro que en el hombre (aproximadamente, la mitad) (Dressman, 1986) debido a que su longitud es inferior: 1.5 metros en el perro y 3 m en el hombre (Dressman y Yamada, 1991).

III *Estudio in vivo y análisis farmacocinético*

Se ha encontrado que la fuerza destructiva del estómago del perro es de 3.2 N (Kamba y col., 2001) y la del intestino de 1.2 N (Kamba y col., 2002).

El trabajo experimental que se presenta a continuación consistió en la administración de las tres formulaciones seleccionadas en el estudio anterior, las especialidades farmacéuticas de referencia y una formulación intravenosa a seis perros beagle en el orden establecido por un diseño cruzado de Williams. Las muestras de sangre recolectadas a diferentes tiempos después de la administración de cada formulación a cada animal se congelaron, previa separación del plasma, hasta el momento de la determinación del contenido de teofilina, que se llevó a cabo por inmunofluorescencia polarizada. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon por análisis no compartimental y análisis compartimental. Finalmente, se buscó la correlación entre algunos parámetros farmacocinéticos y parámetros obtenidos de los perfiles de disolución.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Animales de experimentación

Se utilizaron seis perros beagle, hembras, suministrados por el animalario de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba. Sus pesos estaban comprendidos entre 8.5 y 13 kg. Los animales se mantuvieron en ayuno 12 horas antes de la administración de la formulación y esta situación de ayuno se mantuvo durante seis horas más después de la administración de la misma. Durante este período, se les proporcionó agua *ad libitum*. En el Apéndice I se recoge el permiso del Comité de Ética para realizar el estudio.

2. Materiales

2.1. Reactivos

- Heparina sódica 5000 UI/mL (Rovi, Madrid, España).
- Teofilina monoclonal II (Abbott Laboratories, Madrid, España). El envase de reactivos contiene: antisuero frente a la teofilina (de ratón monoclonal), trazador de teofilina marcada con fluoresceína y solución de pretratamiento.
- Calibradores para el analizador TD_xFL_x[®] (Abbott Laboratories, Madrid, España) con las siguientes concentraciones: 0.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 y 40.0 µg/mL de teofilina.
- Controles para la verificación de la calibración del analizador TD_xFL_x[®] (Abbott Laboratories, Madrid, España) con las siguientes concentraciones: 7.0, 12.0 y 26.0 µg/mL de teofilina.

2.2. Formulaciones

2.2.1. Administración intravenosa

Las soluciones para la administración intravenosa de teofilina se suelen elaborar con aminofilina, su sal con etilenodiamina, debido a que ésta es más soluble que la teofilina como tal. En este estudio, se utilizaron ampollas de 10 mL de Eufilina[®] Venosa (BYK Elmu, Madrid, España, Lote S-1), con aminofilina equivalente a

175.7 mg de teofilina anhidra. La dosis administrada a cada animal fue de 87.85 mg (5 mL de solución).

2.2.2 *Administración oral*

Las cinco formulaciones orales administradas a los animales fueron las siguientes:

- Comprimidos de 100 mg de teofilina elaborados con HAMMAL.
- Theo-Dur[®], formulación patrón con 100 mg de teofilina.
- Comprimidos de 175 mg de teofilina elaborados con CAMMAO.
- Comprimidos de 175 mg de teofilina elaborados con CAMMAL.
- Theolair[®], formulación patrón con 175 mg de teofilina.

3. **Métodos**

3.1. Preparación del animal

El perro, una vez pesado, se colocó sobre la mesa y se le rasuraron (rasuradora Oster, Golden A5, Boca Raton, Estados Unidos) las extremidades anteriores con el fin de visualizar las venas cefálicas (Figura III.6A). A continuación, se insertó en la vena una cánula de teflón (Millpledge, Vasocan Z IV, Whinleys Estate, Reino Unido). El reflujo de la sangre en la cánula nos permitió visualizar el éxito de la punción (Figura III.6B). Seguidamente, se insertó el catéter y se tomó una muestra de 5 mL de sangre correspondiente al blanco (Figura III.6C). Con una jeringa de insulina se dispuso, en el catéter, una pequeña cantidad de heparina para evitar la coagulación y mantenerlo viable durante el periodo de toma de muestras; a continuación, se introdujo un mandril estéril a través de éste para evitar la salida de sangre. Finalmente, el catéter se sujetó a la extremidad del animal con esparadrapo (Figura III.6D).

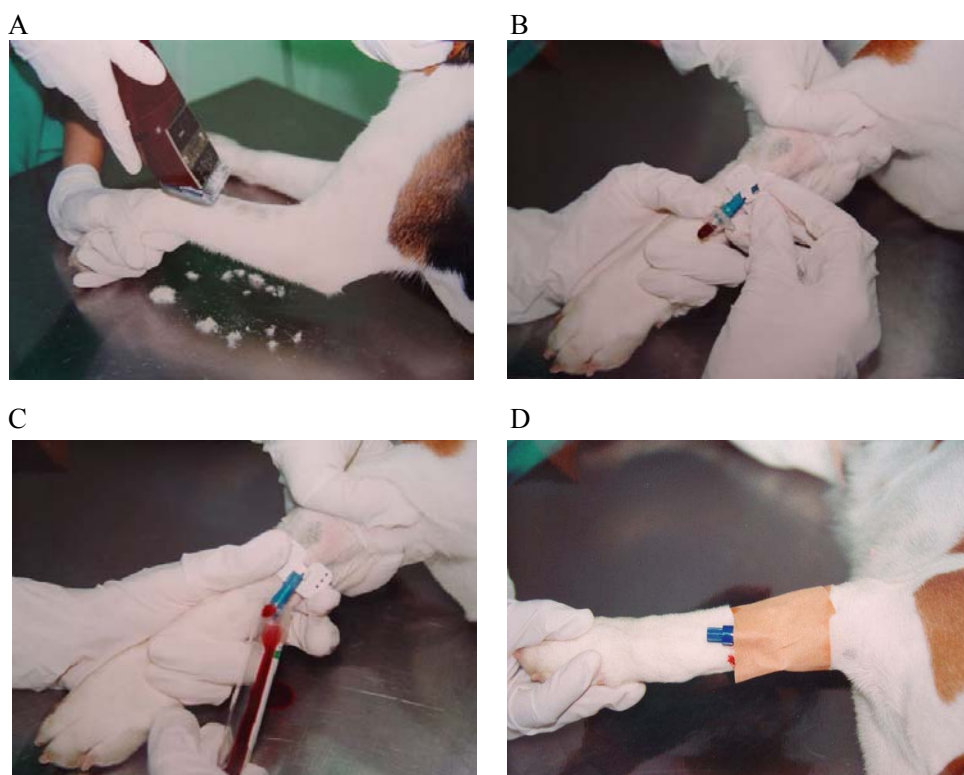


Figura III.6.- Proceso seguido en la preparación del animal el día del estudio. A: rasurado de las patas delanteras. B: inserción del catéter en la vena. C: obtención del blanco. D: fijación del catéter a la extremidad del animal.

3.2. Administración intravenosa

Una vez preparado el animal, se procedió a la administración de la solución intravenosa, en la extremidad sin catéter, con ayuda de una jeringa desechable.

Para ello, se provocó la dilatación de la vena cefálica presionándola en su parte proximal. Después de insertar la aguja hipodérmica, se extrajo un pequeño volumen de sangre para confirmar que estaba en vena. Seguidamente, se inyectó la solución del fármaco dejando, al mismo tiempo, de presionar la vena (Figura III.7).

III Estudio in vivo y análisis farmacocinético

La administración se ejecutó con rapidez (bolus intravenoso) y, al finalizar, se retiró la aguja y se presionó ligeramente el lugar de la punción para minimizar la hemorragia.

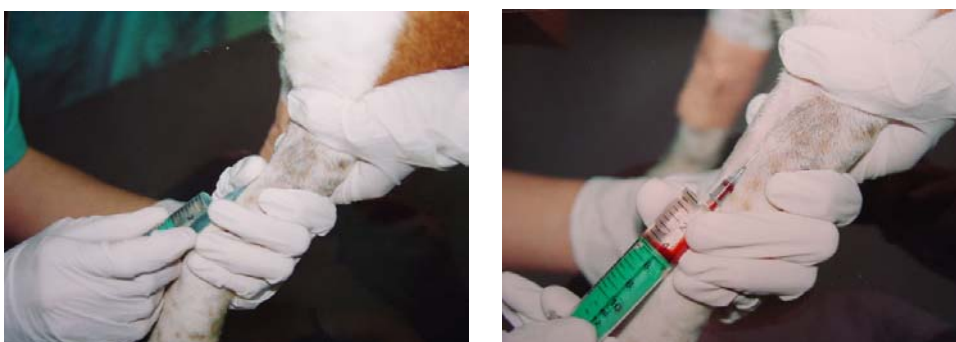


Figura III.7. Administración intravenosa de la solución de Eufilina[®] Venosa (Aminofilina).

3.3. Administración oral

La administración oral del comprimido se realizó colocando éste en la parte posterior de la lengua del perro; inmediatamente después, se le cerró la boca y se le sujetó el hocico hasta conseguir que tragara el comprimido, con objeto de evitar que el animal lo fracturara o masticara (Figura III.8). Por último, se le administró 20 mL de agua con una jeringa desechable.



Figura III.8.- Administración del comprimido al animal.

3.4. Diseño del estudio

La administración de las seis formulaciones a los perros se realizó de acuerdo con un diseño cruzado de Williams. Éste permite evaluar más de tres formulaciones con un número menor de sujetos que aquellos diseños basados en grupos completos de cuadrados ortogonales tipo cuadrado latino (Jones y Kenward, 1989). Tiene la ventaja de que la varianza está balanceada, es decir, que todos los pares de diferencias entre los tratamientos se estiman con la misma precisión (Jones y Kenward, 1989); además, también está balanceado en cuanto a sus propiedades combinatorias. Así, durante todo el diseño, cada tratamiento ocurre el mismo número de veces en cada periodo y el número de sujetos que reciben el tratamiento i en algún periodo seguido por el tratamiento j en el próximo periodo es el mismo (Jones y Kenward, 1989).

La secuencia de administración de las formulaciones se recoge en la Tabla III.1. Entre un periodo y el siguiente se dejaron transcurrir dos semanas.

Tabla III.1.- Diseño cruzado de Williams para el estudio farmacocinético de seis formulaciones: matrices con HAMMAL (HAL), matrices con CAMMAO (CAO), matrices con CAMMAL (CAL), Theo-Dur® (THEO), Theolair® (LAIR) y solución intravenosa (IV).

Perro	Periodo					
	A	B	C	D	E	F
1	CAL	CAO	HAL	IV	THEO	LAIR
2	HAL	CAL	THEO	CAO	LAIR	IV
3	IV	LAIR	CAO	THEO	CAL	HAL
4	THEO	HAL	LAIR	CAL	IV	CAO
5	CAO	IV	CAL	LAIR	HAL	THEO
6	LAIR	THEO	IV	HAL	CAO	CAL

3.5. Toma y tratamiento de muestras

Las muestras (5 mL) se tomaron a través del catéter, retirando el mandril y recolectando la sangre que fluía en un tubo con heparina (BD vacutainer, LH 143 IU, New Jersey, USA). En los casos en que el flujo de sangre era lento, la extracción de la muestra se realizó con una jeringa de 10 mL. Al finalizar la toma de cada muestra se colocó una pequeña cantidad de heparina dentro del catéter. Se evitó, en la medida de lo posible, la extracción de las muestras por succión con jeringa para evitar la hemólisis de los glóbulos rojos (Figura III.9).

III Estudio in vivo y análisis farmacocinético

Los tiempos teóricos de toma de muestra fueron 0.17, 0.33, 0.50, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 y 24 horas post-administración intravenosa y 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 y 36 horas post-administración oral.

Una vez obtenidas las muestras, se centrifugaron (JP Selecta, Cemcom, Abrea, Barcelona), se separó el plasma y se congeló a -20°C (Revco, ULT 1786-3-v30, North Carolina, USA) hasta el día del análisis.



Figura III.9.- Obtención de las muestras a través del catéter.

3.6. Técnica analítica

La determinación de teofilina se realizó con el método TDx/TDxFLx, teofilina monoclonal II, que utiliza la tecnología de inmunoensayo de polarización fluorescente (FPIA).

3.6.1. Descripción

El método es un inmunoensayo de unión competitiva que permite que un antígeno marcado con un trazador (en este caso, teofilina marcada con fluoresceína) y el antígeno en las muestras (teofilina sin marcar) compitan por los mismos sitios de unión sobre las moléculas de anticuerpo presentes en el suero de ratón. Durante el ensayo, a través de la mezcla de la muestra (la teofilina marcada y el anticuerpo), se pasa un haz de luz monocromática a 485 nm (azul) y polarizada para producir un plano único de luz. Esta luz actúa sobre la fluoresceína llevándola a un estado excitado. Después de la excitación, ésta recupera el estado no excitado a través de la emisión de luz verde (525-550 nm). Si la molécula de teofilina con fluoresceína no

está unida al anticuerpo, ésta rotará libremente y la emisión de la luz verde ocurrirá en un plano diferente al de la luz de excitación (azul) y se perderá la polarización. Si, por el contrario, la molécula de teofilina con trazador está unida al anticuerpo, el gran tamaño del complejo formado evitará que la molécula rote y la luz verde se emitirá en el mismo plano que la luz azul.

La intensidad de la luz polarizada emitida dependerá de la cantidad de teofilina marcada con fluoresceína unida al anticuerpo y esta unión, a su vez, se verá afectada por la cantidad de teofilina sin marcar presente en la muestra. Por lo tanto, si la muestra contiene una baja concentración de teofilina, después de que la reacción de unión competitiva alcanza el equilibrio, habrá una alta concentración de teofilina marcada unida al anticuerpo y la polarización será alta. Por el contrario, si hay una alta concentración de teofilina en la muestra, la concentración del complejo anticuerpo-teofilina marcada será menor y la polarización será baja.

Esta propiedad permite cuantificar la cantidad de teofilina en una muestra, construyendo una curva de calibración a partir de patrones con cantidades fijas de anticuerpo y teofilina marcada y cantidades variables pero conocidas de teofilina sin marcar. Este tipo de curvas de calibración no suelen ser lineales, debido a que el antígeno suele tener más de un sitio de unión (Sihn y Chung, 2003).

3.6.2. Validación del método

El fabricante proporciona los siguientes datos sobre la validación del método:

- Límite de cuantificación: 0.82 µg/mL.
- Precisión: analizada en suero con 7.0, 12.0 y 26.0 µg/mL de teofilina (Tabla III.2).

Tabla III.2.- Resultados del ensayo de precisión.

Valor esperado (n=80)	Concentración (µg/mL)		
	7.0	12.0	26.0
Media	7.03	11.98	25.12
DE Intra-ensayo	0.16	0.17	0.36
CV Intra-ensayo (%)	2.23	1.44	1.42
DE Inter-días	0.11	0.20	0.36
CV Inter-días (%)	1.53	1.70	1.45
DE total	0.23	0.37	0.79
CV total (%)	3.21	3.09	3.16

III Estudio in vivo y análisis farmacocinético

- Exactitud: determinada añadiendo teofilina a muestras de suero y tampón en concentraciones de 2.5, 5.0, 10.0 y 20.0 µg/mL (Tabla III.3).

Tabla III.3. - Resultados del ensayo de exactitud.

Concentración añadida (µg/mL)	Concentración en suero (µg/mL)	Concentración en tampón (µg/mL)	Porcentaje de recuperación (%)
2.5	2.65	2.69	98.51
5.0	5.08	5.26	96.57
10.0	10.09	10.46	96.46
20.0	19.91	20.31	98.03
Recuperación media $97.39 \pm 1.03\%$			

El porcentaje de recuperación se calculó dividiendo la concentración en suero por la concentración en tampón y multiplicando el resultado por 100.

Esta información fue verificada siguiendo la metodología propuesta por la AEFI (Caturla y col., 2001):

- Límite de cuantificación

Para la verificación del límite de cuantificación se preparó una solución de 0.80 µg/mL a partir de la solución de 20 µg/mL y de la solución sin teofilina (0.0 µg/mL) utilizadas en la elaboración de la curva de calibración. El contenido de teofilina en la solución se determinó 5 veces. La media de las determinaciones fue de 0.80 µg/mL con una desviación estándar de 0.07 y un coeficiente de variación de 8.75%.

Estos valores confirman el límite de cuantificación declarado por el fabricante. Además, están dentro de los límites establecidos en la Conferencia de Arlinton (Shah y col., 2000) para el límite de cuantificación de métodos bioanalíticos (CV inferiores al 20% y desviaciones del valor real entre $\pm 20\%$).

- Precisión y exactitud

Para la evaluación de estos parámetros se utilizaron los controles a las concentraciones de 7.0, 12.0 y 26.0 µg/mL. En tres días diferentes se realizaron 5 determinaciones del contenido de teofilina de cada control, utilizando para ello una curva de calibración elaborada el mismo día. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla III.4.

Los coeficientes de variación intraensayo se calcularon para cada concentración en cada día y los interensayo con los 15 datos obtenidos para cada nivel de

concentración. En general, los coeficientes de variación fueron superiores a los presentados por el fabricante; sin embargo, estuvieron por debajo del 15%, límite establecido por la Conferencia de Arlinton para la precisión de métodos bioanalíticos (Shah y col., 2000).

La exactitud se evaluó con los mismos datos con los que se determinó la precisión. Con la concentración media de los 15 datos se calculó el porcentaje de desviación con respecto al valor real (Tabla III.4). En este caso, los valores obtenidos cumplieron con los criterios de Arlinton (Shah y col., 2000) para la exactitud de métodos bioanalíticos ($\pm 15\%$).

Aunque los resultados procedentes de la validación del método no coinciden exactamente con las especificaciones dadas por el fabricante, sí que se ajustan a los límites establecidos internacionalmente para la validación de métodos bioanalíticos (Shah y col. 2000) en lo que a límite de cuantificación, precisión y exactitud se refiere.

Tabla III.4. Resultados de la evaluación de la precisión y exactitud del método analítico: coeficiente de variación intraensayo (CV_{intra}), coeficiente de variación interensayo (CV_{inter}), porcentaje de recuperación (%R).

Concentración teórica ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración determinada ($\mu\text{g/mL}$)				
	Día 1	Día 2	Día 3		
7.0	Media	7.13	6.98	7.26	Media: 7.12 CV_{inter} : 4.26% %R: 101.71
	CV_{intra} (%)	6.42	1.56	3.04	
12.0	Media	11.80	12.04	12.56	Media: 12.13 CV_{inter} : 2.95% %R: 101.08
	CV_{intra} (%)	0.75	0.48	1.87	
26.0	Media	25.05	25.30	26.86	Media: 25.74 CV_{inter} : 3.90% %R: 99.00
	CV_{intra} (%)	3.22	2.22	1.53	

3.7. Tratamiento de los datos

Los datos obtenidos después de la administración intravenosa de la solución de teofilina, al igual que los obtenidos tras la administración de las cinco formulaciones orales, se sometieron a análisis no compartimental y análisis compartimental con el programa WinNonlin Profesional 3.3 (Pharsight Corporation, 1998). Para el tratamiento, sólo se tuvieron en cuenta aquellos valores superiores al límite de cuantificación del método analítico ($0.82 \mu\text{g/mL}$).

3.7.1 Análisis no compartimental

En el análisis no compartimental se estimaron los siguientes parámetros farmacocinéticos:

- Administración intravenosa

Concentración máxima extrapolada a tiempo cero, C_o .

Constante de velocidad de eliminación, k_{el} .

Semivida de eliminación, $t_{1/2}$.

Área bajo la curva de tiempo cero a infinito, AUC_0^∞ .

Aclaramiento plasmático, Cl .

Tiempo medio de residencia, MRT .

Volumen de distribución extrapolado, $V_{d(extr)}$.

Volumen de distribución área, $V_{d(área)}$.

Volumen de distribución en el estado estacionario, $V_{d(ee)}$.

- Administración oral

Concentración plasmática máxima, $C_{máx}$.

Tiempo en el que se observa la concentración plasmática máxima, $t_{máx}$.

Constante aparente de velocidad de eliminación, k_{el} .

Semivida aparente de eliminación, $t_{1/2}$.

Área bajo la curva de tiempo cero a infinito, AUC_0^∞ .

Tiempo medio de residencia, MRT .

Tiempo medio de absorción, MAT .

Fracción de dosis absorbida, F .

Para el cálculo de estos parámetros se utilizaron las ecuaciones descritas en la introducción.

- Bioequivalencia

Los datos transformados a logaritmos neperianos de $C_{máx}$, y AUC se compararon estadísticamente para determinar la bioequivalencia entre las formulaciones y la especialidad farmacéutica patrón correspondiente. Teniendo en cuenta el diseño utilizado, se realizó el análisis de varianza de los datos transformados (Statística 6.0, Statsoft Inc, 2001) y las medias de los parámetros de cada formulación se ajustaron de acuerdo al efecto residual observado. Para establecer bioequivalencia se utilizó el enfoque del intervalo de confianza del 90% propuesto por Westlake en 1976 (Chow y Liu, 1992), que es equivalente al propuesto por Schuirmann en 1987 (Metzler, 1991).

Las formulaciones se consideran bioequivalentes si el intervalo de confianza del 90% para la diferencia de las medias de $C_{m\acute{a}x}$, y AUC entre la formulaci3n de referencia y las formulaciones ensayo est3 dentro del intervalo 80.0%-125.0%, establecido como l3mite de bioequivalencia para el an3lisis de los datos transformados a logaritmos.

3.7.2 An3lisis compartimental

- Administraci3n intravenosa

Los modelos monocompartimental y bicompartimental se ajustaron a los datos intravenosos utilizando como factor de ponderaci3n $1/(\hat{y}^2)$ y el algoritmo de ajuste de Gauss-Newton con la modificaci3n de Levenberg.

Se estimaron los siguientes par3metros farmacocin3ticos:

Concentraci3n m3xima extrapolada a tiempo cero, C_0 .

Constante de velocidad de eliminaci3n, k_{el} .

Semivida de eliminaci3n, $t_{1/2}$.

3rea bajo la curva de tiempo cero a infinito, AUC_0^∞ .

Aclaramiento plasm3tico, Cl .

Tiempo medio de residencia, MRT .

Volumen de distribuci3n en el estado estacionario, $V_{d(ee)}$.

- Administraci3n oral

Tres modelos monocompartimentales de los archivos de modelos del programa WinNonlin se ajustaron a los datos de la administraci3n oral: el modelo 3 en el que se considera que las constantes de eliminaci3n y absorci3n son diferentes, el modelo 5 en el que se considera que ambas constantes son iguales y el modelo 2 en el que se considera una constante de velocidad de absorci3n de orden cero. En los modelos 3 y 5 se asume que, tanto la absorci3n como la eliminaci3n, son procesos cin3ticos de primer orden.

De modo similar a los datos intravenosos, se utiliz3 como factor de ponderaci3n $1/(\hat{y}^2)$ y el algoritmo de ajuste de Gauss-Newton con la modificaci3n de Levenberg.

Los par3metros estimados fueron los siguientes:

Concentraci3n plasm3tica m3xima, $C_{m\acute{a}x}$.

III Estudio in vivo y análisis farmacocinético

Tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima, $t_{m\acute{a}x}$.

Constante de velocidad de absorción, k_a .

Semivida de absorción, $t_{1/2ka}$

Constante de velocidad de eliminación, k_{el} .

Semivida de eliminación, $t_{1/2kel}$.

Área bajo la curva de tiempo cero a infinito, AUC_0^∞ .

Fracción de dosis absorbida, F .

Tiempo medio de absorción, MAT .

En los casos en que el ajuste de los datos indicó una constante de absorción de orden cero, ésta se calculó por el método de Wagner-Nelson con ayuda del programa Kinetica 2.00.200 (InnaPhase, 1996).

El tiempo medio de absorción (MAT) se calculó a partir de las constantes de absorción utilizando las ecuaciones 37 y 39.

Además del análisis farmacocinético de los datos individuales de concentración plasmática-tiempo, se determinaron las estadísticas descriptivas (media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación) para cada formulación y tiempo de muestreo. De modo similar se procedió con los parámetros farmacocinéticos obtenidos de la aproximación compartimental y no compartimental, con la excepción de que para el $t_{m\acute{a}x}$ se calculó la mediana en lugar de la media.

También se realizó la comparación estadística de las medias de los parámetros farmacocinéticos obtenidos por la aproximación no compartimental y la aproximación compartimental para ambas vías de administración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Administración intravenosa

Como se señaló en el Apartado Materiales y Métodos, para el estudio farmacocinético de la teofilina por vía intravenosa se administró a los animales una solución de aminofilina. Cabe pensar que la administración de este principio activo en forma de sal en lugar del ácido débil podría tener algún efecto sobre su comportamiento cinético. En este sentido, Aslaksen y col. (1981) y Kawai y col. (2000) evaluaron la farmacocinética de la teofilina y la aminofilina después de la administración intravenosa en humanos y perros y no encontraron influencia de la etilendiamina sobre el comportamiento cinético de este fármaco.

En la Tabla III.5 se presentan los valores medios, al igual que la desviación estándar y el coeficiente de variación, de las concentraciones plasmáticas de teofilina encontradas en cada perro después de la administración de una dosis intravenosa de aminofilina equivalente a 87.85 mg de teofilina. En la columna tiempo se muestran los tiempos teóricos de toma de las muestras, mientras que los valores reales y las concentraciones plasmáticas correspondientes se recogen en la Tabla 1 del Apéndice II.

Tabla III.5.- Valores medios de las concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/mL}$) de teofilina en perros después de la administración intravenosa de una solución de aminofilina equivalente a 87.85 mg de teofilina y estadísticas descriptivas de los mismos (media, desviación estándar –DE– y coeficiente de variación –CV–).

Tiempo (h)	Media	DE	CV (%)
0.17	12.95	1.72	13.25
0.33	12.53	1.45	11.54
0.50	12.20	1.26	10.33
0.75	11.89	1.31	11.05
1	11.66	1.26	10.79
1.5	10.96	1.16	10.62
2	10.33	1.18	11.43
3	9.18	1.29	14.08
4	7.67	1.55	20.18
5	6.88	1.41	20.50
6	5.92	1.11	18.75
8	4.27	1.06	24.81
10	3.11	0.82	26.42
12	2.15	0.89	41.41
24	-	-	-

III Estudio in vivo y análisis farmacocinético

Los niveles plasmáticos del fármaco están por encima del límite de cuantificación ($0.82 \mu\text{g/mL}$) durante veinticuatro horas después de la administración en uno de los seis animales y durante doce horas en los cinco restantes. En dos de estos últimos, la teofilina no se detecta en la muestra correspondiente a las veinticuatro horas, por lo que no es posible calcular la concentración media de teofilina a este tiempo.

La representación semilogarítmica de los niveles plasmáticos medios de teofilina se presenta en la Figura III.10 y la de los niveles plasmáticos individuales, sin transformar, en la Figura 1 del Apéndice II.

El perfil plasmático (Figura III.10) muestra una caída monoexponencial, a diferencia de la caída biexponencial de los niveles plasmáticos indicada por Mitenko y Ogilvie (1972) y Alberola y col. (1993) después de la administración intravenosa de teofilina en perros. Ello puede ser debido a que con el diseño de toma de muestras de este estudio se ha perdido información de la primera fase de caída de niveles plasmáticos, que es muy rápida, observando por ello una caída monoexponencial. Tse y Szeto (1982), Shiu y col. (1989) y Liaw y col. (1990) observaron un comportamiento similar al obtenido en este estudio (caída monoexponencial), que atribuyeron a una distribución muy rápida de la teofilina en los tejidos periféricos (Tse y Szeto, 1982).

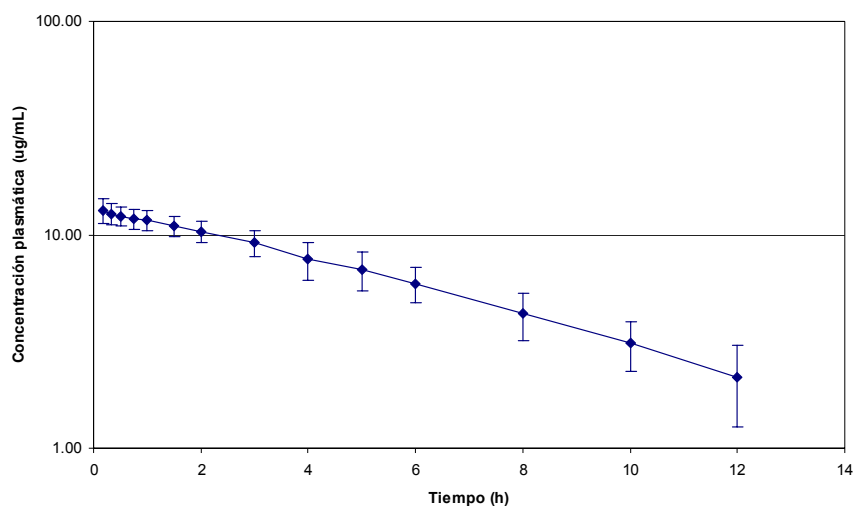


Figura III.10.- Representación semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas medias de teofilina, obtenidas después de la administración intravenosa de una dosis de 87.85 mg de teofilina a seis perros beagle, con respecto al tiempo.

Los parámetros farmacocinéticos medios más relevantes obtenidos por análisis no compartimental a partir de los datos de la administración intravenosa de aminofilina se muestran en la Tabla III.6 y los valores individuales en la Tabla 7 del Apéndice II.

Tabla III.6.- Parámetros farmacocinéticos medios obtenidos del análisis no compartimental de los datos intravenosos y estadísticas descriptivas de los mismos (media, desviación estándar –DE– y coeficiente de variación –CV–).

Parámetro	Unidades	Media	DE	CV (%)
C_0	µg/mL	13.55	2.24	16.54
k_{el}	h^{-1}	0.15	0.03	23.60
$t_{1/2}$	h	5.01	1.53	30.56
AUC_0^∞	(µg/mL)·h	98.74	29.39	29.76
Cl	L/h	0.95	0.26	27.24
MRT	h	7.17	2.14	29.84
$V_{d (extr)}$	L	6.64	1.15	17.31
$V_{d (área)}$	L	6.46	0.49	7.60
$V_{d (ee)}$	L	6.42	0.52	8.06

Los valores de los parámetros $t_{1/2}$ y MRT (Tabla III.6) indican que la permanencia del fármaco en el organismo después de su ingreso por esta vía de administración es intermedia, lo que se confirma con el valor de Cl , que también muestra la desaparición relativamente lenta de la teofilina del organismo del perro en este estudio. El valor de $t_{1/2}$ fue similar al publicado por DiLuccio y col. (1994).

La semejanza de los valores de $V_{d (extr)}$, $V_{d (ee)}$ y $V_{d (área)}$ (Tabla III.6) se refleja en la caída monoexponencial observada en los niveles plasmáticos (Figura III.10) e indica que la distribución y eliminación del fármaco podrían ajustarse a un modelo monocompartimental (Gibaldi y Perrier, 1982). Por otra parte, los valores de volumen de distribución observados (aproximadamente, 6 L), después de la administración de teofilina en bolus intravenoso al perro, están de acuerdo con el volumen acuoso corporal de dicha especie (6 L para un animal de 10 kg) (Davies y Morris, 1993).

Con objeto de verificar el comportamiento monoexponencial observado en los perfiles plasmáticos, se realizó el tratamiento compartimental de los mismos. Las curvas se ajustaron a los modelos monocompartimental y bicompartimental. En la Tabla III.7 se presentan los valores de AIC (Criterio de Información de Akaike) y el valor medio de los coeficientes de variación de los parámetros de cada modelo

III Estudio in vivo y análisis farmacocinético

(V_d y k_{el} para el modelo monocompartimental y β y α para el modelo bicompartmental).

Tabla III.7.- Valores de AIC y de CV de los parámetros farmacocinéticos obtenidos al ajustar los modelos monocompartimental y bicompartmental a los datos de la administración intravenosa.

Perro	M. monocompartimental		M. bicompartmental	
	AIC	CV (%)	AIC	CV %
1	-46.48	2.00	8.24	2211.78
2	-38.98	2.68	15.16	776.02
3	-39.16	2.67	-35.40	37621.94
4	-16.41	5.43	21.16	4347.56
5	-53.99	1.65	3.83	29259.16
6	-16.28	5.94	-41.98	81.27

De acuerdo con el criterio de selección de modelos (mínimo valor de AIC), el modelo más probable en todos los perros es el monocompartimental, excepto en el perro número 6, que se ajusta mejor al modelo bicompartmental. Sin embargo, la estimación de los parámetros farmacocinéticos después del ajuste al modelo bicompartmental es muy poco precisa, con un coeficiente de variación de 81.27% para el promedio de los parámetros β y α . Como consecuencia, se consideran los valores de los parámetros farmacocinéticos estimados por el ajuste del modelo monocompartimental. Los gráficos generados por el programa de regresión no lineal al evaluar el ajuste se muestran en las Figuras 7-14 del Apéndice II.

Los parámetros medios obtenidos después del ajuste monocompartimental se muestran en la Tabla III.8, mientras que los valores individuales se recogen en la Tabla 13 del Apéndice II. La comparación estadística de las medias de los parámetros obtenidos por análisis no compartimental y análisis compartimental no muestran diferencias significativas ($p > 0.05$) (Apéndice III).

Tabla III.8.- Parámetros farmacocinéticos medios obtenidos del ajuste de un modelo monocompartimental a los datos intravenosos y estadísticas descriptivas de los mismos (media, desviación estándar –DE– y coeficiente de variación –CV–).

Parámetro	Unidades	Media	DE	CV (%)
C_0	$\mu\text{g/mL}$	13.45	1.24	9.22
k_{el}	h^{-1}	0.14	0.03	23.31
$t_{1/2}$	h	5.10	1.64	32.19
AUC_0^∞	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	99.39	33.37	33.57
Cl	L/h	0.96	0.28	29.14
MRT	h	7.36	2.37	32.19
$V_{d(EE)}$	L	6.58	0.62	9.36

En resumen, podemos decir que, con los datos experimentales obtenidos en este estudio, el comportamiento farmacocinético de la teofilina en el perro después de la administración de 87.85 mg del fármaco en bolus intravenoso se explica por un modelo monocompartimental, lo que se confirma por la similitud entre los parámetros farmacocinéticos obtenidos con este modelo y por análisis no compartimental. Este resultado indica, además, que las constantes de absorción para una administración oral se pueden calcular por el método de Wagner y Nelson.

2. Administración oral

Las concentraciones plasmáticas medias de teofilina obtenidas tras la administración oral de un comprimido de cada una de las formulaciones ensayadas: Theo-Dur[®], HAMMAL, Theolair[®], CAMMAO y CAMMAL se muestran en las Tablas III.9 y III.10, además de la desviación estándar y el coeficiente de variación. En la columna tiempo de ambas Tablas se presentan los tiempos teóricos de toma de muestras, mientras que los tiempos reales y las concentraciones plasmáticas correspondientes se recogen en las Tablas 2-6 del Apéndice II.

Tabla III.9.- Valores medios de concentración plasmática ($\mu\text{g/mL}$) de teofilina en perros después de la administración oral de un comprimido con 100 mg de teofilina (Theo-Dur[®] o un comprimido elaborado con HAMMAL) y estadísticas descriptivas de los mismos (media, desviación estándar –DE– y coeficiente de variación –CV–).

Tiempo (h)	Theo-Dur [®]			HAMMAL		
	Media	DE	CV (%)	Media	DE	CV (%)
0.50	1.23	0.99	80.36	1.79	1.00	55.80
1.00	3.56	1.80	50.54	4.10	2.03	49.63
1.50	4.62	1.80	39.03	5.79	2.45	42.32
2.00	5.55	2.61	47.02	6.96	2.01	28.88
3.00	6.13	2.66	43.37	7.71	2.00	25.94
4.00	7.15	2.18	30.43	7.23	2.47	34.10
5.00	7.11	2.59	36.40	6.80	2.54	37.42
6.00	6.27	2.40	38.37	6.14	2.53	41.29
8.00	4.98	1.92	38.64	4.61	2.12	45.91
10.00	3.61	1.18	32.74	3.20	1.53	47.75
12.00	2.75	0.93	33.87	2.41	1.59	66.15

Los niveles plasmáticos alcanzados con Theo-Dur[®] están por encima del límite de cuantificación al menos durante doce horas, sólo en el perro 6 permanecen durante 24 horas (Tabla 2, Apéndice II). En relación a los niveles plasmáticos obtenidos con las matrices con HAMMAL, éstos se sostienen por encima del límite de

III Estudio in vivo y análisis farmacocinético

cuantificación al menos durante diez horas y, de modo similar a Theo-Dur[®], sólo en el perro 6 se mantienen por un tiempo más prolongado (durante 36 horas) (Tabla 3, Apéndice II).

Las concentraciones medias máximas son semejantes para ambas formulaciones, aunque para Theo-Dur[®], ésta se alcanzó una hora más tarde (Tabla III.9). Los coeficientes de variación muestran una variabilidad interindividual relativamente elevada con ambos productos, aunque inferior al 50% para la mayoría de tiempos experimentales. Este hecho no parece atribuible al comportamiento de las formulaciones, sino a diferencias en el metabolismo de los perros.

En el caso de Theolair[®] y las formulaciones con CAMMAO y CAMMAL, los niveles plasmáticos están por encima del límite de cuantificación al menos durante doce horas (Tablas 4-6, Apéndice II). Con estas formulaciones también se observa que, en la mayoría de los casos, el perro 6 mantiene los niveles plasmáticos por encima del límite de cuantificación por más tiempo o presenta concentraciones más elevadas que el resto de los animales. La diferencia en la disposición de la teofilina observada en el perro 6 con respecto a los demás animales indica que, en esta especie, la eliminación de este principio activo puede variar marcadamente entre individuos, como ocurre en humanos (Conard y col., 1982).

Tabla III.10.- Valores medios de concentración plasmática ($\mu\text{g/mL}$) de teofilina en perros después de la administración oral de un comprimido con 175 mg de teofilina (Theolair[®], un comprimido elaborado con CAMMAO o un comprimido elaborado con CAMMAL) y estadísticas descriptivas de los mismos (media, desviación estándar –DE– y coeficiente de variación –CV–).

Tiempo (h)	Theolair [®]			CAMMAO			CAMMAL		
	Media	DE	CV (%)	Media	DE	CV (%)	Media	DE	CV (%)
0.50	1.69	0.81	48.28	3.11	1.44	46.32	1.99	1.33	66.67
1.00	4.01	1.43	35.71	7.98	3.88	48.65	4.11	2.04	49.63
1.50	7.78	3.67	47.12	11.12	2.66	23.92	5.68	2.37	41.66
2.00	9.13	4.25	46.52	13.22	3.00	22.70	6.91	2.72	39.32
3.00	11.24	4.07	36.17	15.12	2.57	17.03	8.44	3.03	35.98
4.00	11.78	2.53	21.44	15.40	2.20	14.28	9.94	4.13	41.53
5.00	11.56	1.23	10.62	15.03	2.68	17.82	11.19	4.13	36.92
6.00	11.07	0.83	7.54	13.79	3.03	21.95	10.73	3.45	32.13
8.00	9.38	2.01	21.43	10.34	2.43	23.54	9.98	3.19	31.95
10.00	7.65	2.19	28.58	7.56	2.38	31.52	7.91	2.79	35.25
12.00	5.81	2.06	35.43	5.39	2.19	40.68	6.04	2.37	39.20
24.00	1.27	0.67	52.88	1.08	0.80	74.31	1.24	0.85	68.70
36.00	0.53	0.40	76.41	0.22	0.24	111.33	0.30	0.25	84.68

La concentración media máxima es superior para las matrices con CAMMAO en comparación con las matrices con CAMMAL y se alcanza en un tiempo menor. La formulación con CAMMAL y Theolair[®] muestran concentraciones medias máximas similares, aunque el tiempo para alcanzarla es más corto con Theolair[®] (Tabla III.10).

La representación semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas medias de teofilina encontradas después de la administración oral de cada una de las formulaciones, se muestran en las Figuras III.11 y III.12. Los perfiles plasmáticos individuales se recogen en la Figuras 2-6 del Apéndice II.

Las curvas de niveles plasmáticos medios obtenidas tras la administración oral de los comprimidos con 100 mg de teofilina (Figura III.11) muestran que la velocidad de aparición de teofilina en plasma es más baja en el caso de Theo-Dur[®]. Con ambos productos se observa una fase ascendente seguida de una fase de caída monoexponencial.

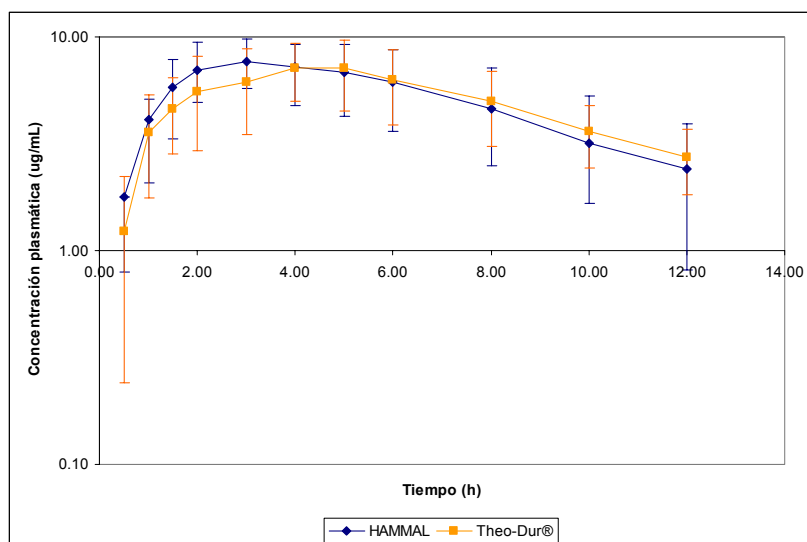


Figura III.11.- Representación semilogarítmica de los perfiles plasmáticos medios obtenidos tras la administración oral de teofilina en las formulaciones con HAMMAL y Theo-Dur[®].

Los perfiles plasmáticos medios de las formulaciones con 175 mg de teofilina (CAMMAO, CAMMAL y Theolair[®]) (Figura III.12) muestran que la velocidad de aparición de teofilina en plasma es más baja en el caso de la formulación con

CAMMAL, seguida de Theolair® y la formulación con CAMMAO. Éstas tres formulaciones también presentan dos fases, una ascendente y otra descendente. En todos los casos, la fase descendente se caracteriza por la caída monoexponencial de los niveles plasmáticos.

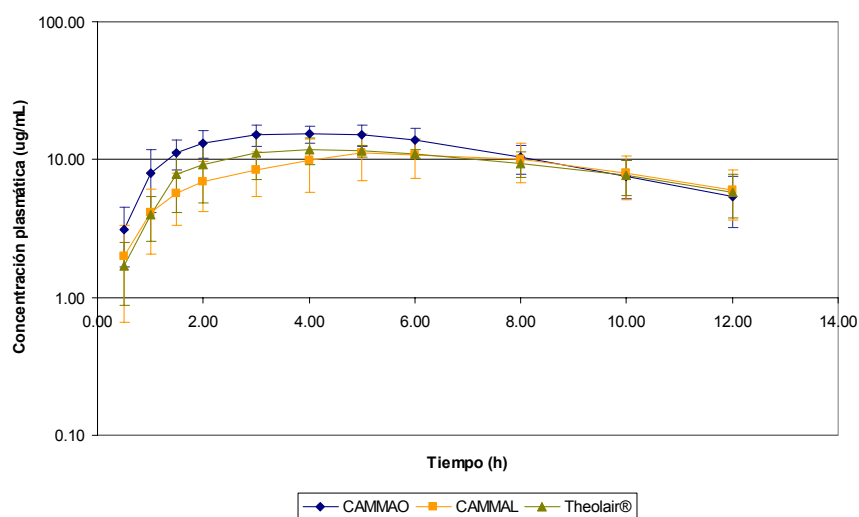


Figura III.12.- Representación semilogarítmica de los perfiles plasmáticos medios obtenidos tras la administración oral de teofilina en las formulaciones con CAMMAO, CAMMAL y Theolair®.

En general, los perfiles plasmáticos medios muestran una liberación más rápida de teofilina a partir de la formulación con HAMMAL respecto a Theo-Dur® (Figura III.11) y de la formulación con CAMMAO respecto a Theolair® y la formulación con CAMMAL (Figura III.12).

Para obtener una idea más clara sobre la semejanza o no de la liberación de teofilina a partir de cada formulación con respecto a su patrón correspondiente se analizaron los datos mediante análisis no compartimental, como se muestra a continuación.

2.1. Análisis no compartimental

Los parámetros farmacocinéticos medios más relevantes derivados del tratamiento no compartimental de los datos obtenidos tras la administración oral de las formulaciones se recogen en las Tablas III.11 y III.12, al igual que la desviación

estándar y el coeficiente de variación. Los valores individuales se presentan en las Tablas 8-12 del Apéndice II.

2.1.1. Formulaciones con 100 mg de teofilina

Los valores de $t_{m\acute{a}x}$ para estas formulaciones son de, aproximadamente, 3 horas (Tabla III.11). Si se comparan estos valores con los obtenidos por Qiu y col. (1998) o por El-Sayed y col. (1996) tras la administración de una solución de teofilina, $t_{m\acute{a}x}$ 1.06 h y 1 h, respectivamente, podríamos decir que la formulación con HAMMAL y los comprimidos de Theo-Dur[®] prolongan la liberación de este principio activo. Si tenemos en cuenta, además, los $t_{m\acute{a}x}$ publicados por Tse y Szeto (1982) para el producto Elixofilina, 1.5 h, o el publicado por Turkoglu y col. (1994) para pellets sin recubrir, 1.7 h, se puede afirmar que dicha prolongación es superior a la que puede provocar la dosificación del principio activo en una forma de liberación inmediata.

Tabla III.11.- Parámetros farmacocinéticos medios obtenidos del análisis no compartimental de los datos plasmáticos de la administración oral, a perros, de comprimidos de 100 mg de teofilina (Theo-Dur[®] o elaborados con HAMMAL) y estadísticas descriptivas de los mismos (media, desviación estándar –DE– y coeficiente de variación –CV–).

Parámetro	Unidades	Theo-Dur [®]			HAMMAL		
		Media*	DE	CV (%)	Media*	DE	CV (%)
$t_{m\acute{a}x}$	h	3.51	-	-	3.00	-	-
$C_{m\acute{a}x}$	µg/mL	8.16	2.07	25.33	8.10	2.21	27.29
$C_{m\acute{a}x}/D$	mL ⁻¹	0.08	0.02	25.33	0.08	0.02	27.29
k_{el}	h ⁻¹	0.14	0.04	24.80	0.15	0.06	40.88
$t_{1/2}$	h	5.08	1.12	21.99	5.60	3.12	55.77
AUC_0^∞	(µg/mL)·h	78.18	20.64	26.40	88.76	52.70	59.38
AUC_0^∞ / D	h/mL	7.82E-04	2.06E-04	26.40	8.88E-04	5.27E-04	59.38
MRT	h	9.29	1.34	14.40	9.59	4.64	48.44
F	%	70.44	9.44	13.40	75.49	26.23	34.75

*Mediana para $t_{m\acute{a}x}$

Otro parámetro que puede indicar la prolongación de la liberación es $t_{1/2}$, puesto que tiende a incrementar debido a la absorción continuada del principio activo en tiempos tardíos después de la administración (Conard y col., 1982). Con Theo-Dur[®], el aumento de $t_{1/2}$, con respecto al valor obtenido para cada perro tras la administración intravenosa, se observa en tres de los seis animales. Algo similar ocurre con los comprimidos con HAMMAL (Apéndice II, Tablas 8-9). Sin embargo, de los valores medios de éste parámetro (Tabla III.11), sólo el de la formulación con HAMMAL es superior al $t_{1/2}$ medio obtenido tras la administración

intravenosa (5.01 ± 1.53), lo que puede atribuirse a la alta variabilidad que presenta la semivida de eliminación de la teofilina con este producto (Tabla III.11).

Los *MRT* (Tabla III.11), por su parte, son superiores al valor obtenido por administración intravenosa (7.17 ± 2.14). Esto confirma que las formulaciones prolongan la permanencia de teofilina en el organismo del perro.

La biodisponibilidad absoluta del fármaco es superior para la formulación con HAMMAL, lo que puede explicarse por la liberación relativamente más rápida de teofilina que se observa con esta formulación.

El análisis de bioequivalencia de los parámetros $C_{m\acute{a}x}$ y *AUC* transformados a logaritmos neperianos muestra que la prolongación de la liberación observada en ambas formulaciones no es equivalente. En este sentido, los intervalos de confianza del 90% para la diferencia de las medias de $\ln C_{m\acute{a}x}$ y $\ln AUC$ de los dos preparados son 79.57%-122.74% y 78.87%-130.34%, respectivamente. Ninguno de ellos está incluido completamente en el intervalo del 80.0%-125.0% establecido como límite de bioequivalencia (USP 24). En el Apartado 2 del Apéndice III se recogen los detalles del análisis estadístico.

El valor de $C_{m\acute{a}x}$ para ambas formulaciones es muy semejante, por lo que llama la atención que estos productos no sean equivalentes con relación a este parámetro. El análisis de la construcción del intervalo de confianza, que se muestra a continuación, puede proporcionar una idea al respecto:

$$(2.0681-2.0799) \pm 1.753 \times 0.1236 = -0.0118 \pm 0.2167 = (-0.2285, 0.2049)$$

donde 2.0681 y 2.0799 son las medias de $\ln C_{m\acute{a}x}$, corregidas por el efecto residual, para la formulación con HAMMAL y Theo-Dur[®], respectivamente. 1.753 es el valor de $t(0.05, 15)$ y 0.1236 es el error estándar de la diferencia entre las dos medias derivado del análisis de varianza (Apéndice III). Expresado en porcentaje quedaría:

$$(\lambda^{-0.2285})100, (\lambda^{0.2049})100 = (79.57\%, 122.74\%)$$

Se puede apreciar que, aunque la diferencia entre las medias de $\ln C_{m\acute{a}x}$ sea cero ($C_{m\acute{a}x}$ iguales para los dos productos), el intervalo de confianza resultante sería (80.52%, 124.20%). El producto de t por el error estándar ocupa prácticamente todo el intervalo establecido para determinar bioequivalencia (80.0%-125.0%). En el caso de *AUC*, este producto es 0.2512 (Apéndice III) y genera el intervalo de confianza (77.79%, 128.56%), que no está incluido en el intervalo de confianza

para determinar bioequivalencia. Estos resultados sugieren que la magnitud del error estándar que se presenta en este estudio no permite concluir bioequivalencia. En otras palabras, es posible que las formulaciones sean bioequivalentes pero la variabilidad residual o no controlada oculta el resultado. Existe una gran probabilidad de que las variaciones estén relacionadas con las diferencias metabólicas encontradas entre los animales. Teniendo esto en cuenta, esta situación se puede resolver realizando el análisis con un número mayor de perros o determinando la cinética de eliminación de los animales por medio de la administración intravenosa del principio activo y eligiendo para el estudio aquellos que presenten una semivida de eliminación similar. Incluso se podría pensar en aplicar las dos alternativas simultáneamente.

2.1.2. Formulaciones con 175 mg de teofilina

Los valores de $t_{m\acute{a}x}$ (Tabla III.12) revelan que la formulación con CAMMAL es la que da lugar a una cinética de absorción más lenta de teofilina, seguida por Theolair[®] y la formulación con CAMMAO. Al comparar estos valores con el $t_{m\acute{a}x}$ de 1.06h y 1h para una solución oral, publicado por Qiu y col. (1998) y por El-Sayed y col. (1996), respectivamente, o con los divulgados por Tse y Szeto (1982) para comprimidos de liberación inmediata (1.5 h) y por Turkoglu y col. (1994) para pellets sin recubrir (1.7 h), se deduce, al igual que con los productos anteriores, que estas formulaciones también prolongan la liberación de teofilina y que dicha prolongación es mayor que el retardo en la liberación que pueda presentarse en comprimidos de liberación inmediata.

Los valores de $C_{m\acute{a}x}$ se relacionan de manera inversa con los $t_{m\acute{a}x}$. Así, cuanto más alto es el valor de $t_{m\acute{a}x}$ (velocidad de absorción más lenta), más bajo es el valor de $C_{m\acute{a}x}$. Este comportamiento es característico cuando se prolonga la liberación de un principio activo (Welling, 1983).

Los valores medios de $t_{1/2}$ (Tabla III.12) de Theolair[®] y la formulación con CAMMAL son superiores al valor observado tras la administración intravenosa del fármaco (5.01 ± 1.53). En ambas formulaciones, tres y cuatro de los seis animales, respectivamente, presentan $t_{1/2}$ individuales mayores que el valor correspondiente obtenido tras la administración intravenosa de teofilina. En el caso de la formulación con CAMMAO, sólo en un animal se presenta un incremento en $t_{1/2}$ (Apéndice II, Tablas 10-12). Los valores de MRT encontrados por vía oral son mayores que el obtenido por vía intravenosa (7.17 ± 2.14), lo que demuestra la prolongación de la permanencia de teofilina en el organismo del perro.

III Estudio in vivo y análisis farmacocinético

Tabla III.12.- Parámetros farmacocinéticos medios obtenidos del análisis no compartimental de los datos plasmáticos de la administración oral, a perros, de comprimidos con 175 mg de teofilina (Theolair[®], elaborados con CAMMAO o elaborados con CAMMAL) y estadísticas descriptivas de los mismos (media, desviación estándar –DE– y coeficiente de variación –CV–).

Parámetro	Unidades	Theolair [®]			CAMMAO			CAMMAL		
		Media*	DE	CV (%)	Media*	DE	CV (%)	Media*	DE	CV (%)
$t_{máx}$	h	4.00	-	-	3.53	-	-	5.54	-	-
$C_{máx}$	µg/mL	13.18	2.58	19.56	16.86	1.69	10.05	12.40	3.40	27.43
$C_{máx}/D$	mL ⁻¹	0.08	0.01	19.56	0.10	0.01	10.05	0.07	0.02	27.43
k_{el}	h ⁻¹	0.12	0.04	28.18	0.16	0.06	36.19	0.13	0.02	15.77
$t_{1/2}$	h	5.96	1.75	29.30	4.72	1.57	33.27	5.45	0.87	15.96
AUC_0^{∞}	(µg/mL)·h	154.02	18.82	12.22	168.91	40.72	24.10	147.75	44.90	30.39
AUC_0^{∞}/D	h/mL	8.80E-04	1.08E-04	12.22	9.65E-04	2.33E-04	24.10	8.44E-04	2.57E-04	30.39
MRT	h	10.90	2.45	22.47	8.76	2.09	23.84	10.69	1.86	17.37
F	%	81.76	15.57	19.04	88.94	23.53	26.45	74.96	13.88	18.51

*Mediana para $t_{máx}$

La biodisponibilidad absoluta es mayor para la formulación con CAMMAO, seguida por Theolair[®] y la formulación con CAMMAL. Se percibe que hay una relación inversa entre $t_{máx}$ y la biodisponibilidad absoluta, ésta disminuye a medida que aumenta $t_{máx}$, algo similar a lo encontrado en las formulaciones con 100 mg de teofilina (Tabla III.11). Si suponemos que el tiempo de permanencia de los productos en el tracto gastrointestinal del perro es semejante, podríamos decir que la cantidad de fármaco absorbida depende de la velocidad a la que éste se libera de la forma de dosificación.

El análisis de bioequivalencia muestra que el retardo en la liberación de teofilina a partir de las formulaciones con CAMMAO y CAMMAL no es equivalente al de Theolair[®]. Los intervalos de confianza del 90% para la diferencia de las medias de $\ln C_{máx}$ son 103.92%-160.30% y 68.90%-106.28% para los comprimidos con CAMMAO y CAMMAL, respectivamente, y del 82.80%-136.85% y 72.12%-119.18% en el caso de $\ln AUC$. En el Apartado 2 del Apéndice III se recogen los detalles del análisis estadístico. Ninguno de estos intervalos está incluido en el intervalo de bioequivalencia del 80.0%-125.0%.

Con respecto a la validez de estos resultados, es prudente tener en cuenta el análisis que se realizó en el apartado anterior. Por tanto, podría existir bioequivalencia de una o ambas formulaciones con respecto a Theolair[®] y que la variabilidad de este estudio esté ocultando el resultado.

Se concluye, pues, que Theo-Dur[®], la formulación de teofilina con HAMMAL, Theolair[®] y las formulaciones con CAMMAO y CAMMAL prolongan la liberación

de teofilina y que dicha prolongación es más representativa que el retardo que se produce en la liberación cuando se formula el principio activo como comprimidos de liberación rápida. La variabilidad del estudio, sin embargo, no permite emitir juicios sobre la bioequivalencia entre las formulaciones y la especialidad farmacéutica patrón correspondiente.

Con el fin de obtener una idea del mecanismo de liberación del fármaco *in vivo*, a partir de cada una de las formulaciones, se evaluó el ajuste de varios modelos a las curvas de niveles plasmáticos para adquirir, así, una idea la cinética de absorción y del valor de la constante de velocidad que gobierna el proceso.

2.2. Análisis compartimental

Inicialmente, los modelos abiertos de uno y dos compartimentos con absorción de primer orden (ecuaciones biexponencial y triexponencial, respectivamente) se ajustaron a los datos. El valor de AIC (mínimo valor de Akaike) muestra (datos no presentados) que el modelo monocompartimental es el más probable en todos los casos. Este resultado está de acuerdo con los razonamientos de Welling (1983) y Ritschel (1989), que establecieron que los perfiles plasmáticos de formas de liberación prolongada son descritos por modelos monocompartimentales.

El modelo monocompartimental utilizado para el ajuste en esta primera etapa considera que las constantes de velocidad de los procesos de eliminación (k_{el}) y de absorción (k_a) son distintas (modelo 3). Sin embargo, se observa que, para algunos animales, k_a y k_{el} son semejantes, por lo que se considera también el ajuste de los datos al modelo monocompartimental en el que los valores de las dos constantes son similares (modelo 5). Teniendo en cuenta, además, que los datos de concentración plasmática obtenidos de formulaciones de liberación prolongada se ajustan, en algunas ocasiones, a modelos que consideran la absorción del fármaco como un proceso de orden cero (Welling, 1983), se examina también el ajuste al modelo 2, que se utiliza generalmente para explicar los datos obtenidos por infusión intravenosa.

En la Tabla III.13 se presentan los valores de AIC y el valor medio de los coeficientes de variación de los parámetros de cada modelo (k_{el} y V_d). En todos los casos, el modelo seleccionado es el que presenta el valor más bajo de AIC, excepto para el perro 1 con la formulación HAMMAL y el perro 4 con la formulación CAMMAL. En el primer caso, el valor de AIC del ajuste de los modelos 3 y 5 son semejantes, por lo que se elige el modelo con CV más bajo (modelo 5). En el segundo, el mínimo valor de AIC y el coeficiente de variación indican que el

III Estudio in vivo y análisis farmacocinético

Tabla III.13.-Valores de AIC y de CV de los parámetros farmacocinéticos obtenidos al analizar los datos de la administración oral con tres modelos monocompartimentales: Modelo 3 $k_a \neq k_{el}$, modelo 5 $k_a = k_{el}$, modelo 2 k_a de orden cero.

Formulación	Perro	AIC						Modelo seleccionado
		Modelo 3		Modelo 5		Modelo 2		
		AIC	CV (%)	AIC	CV (%)	AIC	CV (%)	
HAMMAL	1	-27.06	11.88	-26.25	2.41	-6.16	9.17	5
HAMMAL	2	-23.52	12.18	-20.54	3.24	-19.08	6.01	3
HAMMAL	3	7.57	22.83	9.73	10.63	-0.48	11.07	2
HAMMAL	4	-10.29	49.60	-12.19	4.95	-24.39	6.15	2
HAMMAL	5	-6.60	494.67	-9.95	5.40	-13.62	7.33	2
HAMMAL	6	-0.26	16.15	3.96	7.34	2.52	10.27	3
Theo-Dur®	1	4.56	25.69	10.30	13.55	1.63	18.46	2
Theo-Dur®	2	-21.80	532.72	-23.90	2.78	-19.33	6.13	5
Theo-Dur®	3	8.03	1346.35	5.26	16.03	-1.48	17.61	2
Theo-Dur®	4	-11.11	27.14	-11.91	4.99	-15.71	7.21	2
Theo-Dur®	5	7.73	15035.60	4.83	16.30	-4.61	17.12	2
Theo-Dur®	6	-8.48	2401.06	-10.54	4.49	-25.68	3.45	2
CAMMAO	1	-23.59	2267.65	-25.62	2.50	-15.74	5.58	5
CAMMAO	2	-11.67	1200.02	-13.57	4.54	-20.52	5.28	2
CAMMAO	3	-4.27	928.57	-6.67	5.26	-12.39	5.46	2
CAMMAO	4	-2.07	12.58	10.22	10.40	-6.33	8.44	2
CAMMAO	5	4.98	961.83	2.96	11.85	-4.17	13.23	2
CAMMAO	6	-13.73	11.58	-9.14	4.79	-12.29	6.20	3
CAMMAL	1	-4.66	1002.31	-6.71	10.87	-17.72	10.09	2
CAMMAL	2	-1.76	834.94	-3.91	7.28	-13.11	6.81	2
CAMMAL	3	-14.77	1422.81	-16.74	3.46	-14.52	5.17	5
CAMMAL	4	-18.01	12.37	-12.55	4.65	-18.78	6.08	3
CAMMAL	5	8.60	1355.89	5.33	9.62	-9.06	6.92	2
CAMMAL	6	-13.54	11.39	-9.50	4.73	-1.91	9.22	3
Theolair®	1	9.98	26.00	13.72	12.75	6.10	16.49	2
Theolair®	2	-5.83	6145.36	-7.93	9.64	-16.25	8.57	2
Theolair®	3	-8.29	37644.39	-10.01	4.90	-26.94	3.65	2
Theolair®	4	2.87	203.07	0.74	8.61	-5.01	10.54	2
Theolair®	5	4.19	784.32	2.01	10.44	-3.14	19.23	2
Theolair®	6	-11.15	10.73	-3.71	5.26	10.37	11.68	3

modelo 2 es el que mejor ajusta los datos; sin embargo, el cálculo de la constante de absorción por el método de Wagner-Nelson muestra que el ingreso del fármaco al

organismo se lleva a cabo por medio de un proceso de primer orden, por lo que se selecciona para el ajuste de los datos de este animal el modelo 3.

La Tabla III. 14 muestra, de forma resumida, la relación de animales para los cuales la cinética de entrada de fármaco para cada una de las formulaciones se explica por uno u otro modelo, según los valores de AIC y, en su caso de, CV. En las Figuras 15-24 del Apéndice II se recogen las diferentes curvas de niveles plasmáticos-tiempo obtenidas tras la administración oral, así como las líneas del ajuste a los modelos 3, 5 y 2. Estos gráficos ayudaron a confirmar el modelo más probable seleccionado anteriormente

Tabla III. 14.- Número de animales cuyas cinéticas se explican por cada uno de los modelos 3, 5 y 2.

Formulación	Modelo 3	Modelo 5	Modelo 2
HAMMAL	2/6	1/6	3/6
Theo-Dur®	-	1/6	5/6
CAMMAO	1/6	1/6	4/6
CAMMAL	2/6	1/6	3/6
Theolair®	1/6	-	5/6

El modelo 2 es el que mejor explica el comportamiento cinético de las formulaciones, siendo el modelo predominante en las especialidades farmacéuticas de referencia, seguidos por las formulaciones con CAMMAO, CAMMAL y HAMMAL. Puesto que este modelo supone una constante de entrada del fármaco en el organismo de orden cero, se concluye que, en gran medida, la teofilina se libera de la forma de dosificación, *in vivo*, con este tipo de cinética.

Los valores medios de las constantes de absorción de orden cero para aquellos animales que se ajustan al modelo 2 se recogen en las Tablas III.15 y III.16. Estas constantes se determinan con el método de Wagner-Nelson. En el caso del perro 1 con Theo-Dur® y Theolair® y el perro 4 con la formulación con CAMMAO, no es posible calcular el valor de la constante, debido a que la fase de absorción esta descrita por pocos puntos. En este proceso la velocidad de entrada del fármaco es constante, independientemente de la cantidad de fármaco remanente en el lugar de absorción, por lo que no existe el concepto de semivida. Los valores individuales de los parámetros farmacocinéticos se recogen en las Tablas 14-18 del Apéndice II.

III Estudio in vivo y análisis farmacocinético

Tabla III.15.- Parámetros de absorción medios obtenidos con el método de Wagner-Nelson y del análisis compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos de 100 mg de teofilina (Theo-Dur® o elaborados con HAMMAL) y estadísticas descriptivas de los mismos (media, desviación estándar –DE– y coeficiente de variación –CV–).

Parámetro	Unidades	Theo-Dur®			HAMMAL		
		Media	DE	CV	Media	DE	CV
k_0	(µg/mL)·h	26.26 (n=4)	14.26	54.33	43.63 (n=3)	15.34	35.17
MAT	h	2.13	0.48	22.39	1.34	0.29	21.33

La evaluación de las constantes de absorción de las formulaciones con 100 mg de teofilina muestra que este proceso es más rápido en la formulación con HAMMAL que en Theo-Dur® (Tabla III.15). En las formulaciones con 175 mg, de otro lado, los valores de k_0 reflejan una cinética de absorción semejante entre Theolair® y la formulación con CAMMAO y un proceso más lento con CAMMAL (Tabla III.16).

Tabla III.16.- Parámetros de absorción medios obtenidos con el método de Wagner-Nelson y del análisis compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos con 175 mg de teofilina (Theolair® o formulación con CAMMAO o formulación con CAMMAL) y estadísticas descriptivas de los mismos (media, desviación estándar –DE– y coeficiente de variación –CV–).

Parámetro	Unidades	Theolair®			CAMMAO			CAMMAL		
		Media	DE	CV	Media	DE	CV	Media	DE	CV
k_0	(µg/mL)·h	24.92 (n=4)	18.18	72.95	23.50 (n=3)	9.71	41.33	12.91 (n=3)	2.01	15.58
MAT	h	2.12	1.19	56.27	2.34	0.75	31.90	3.67	0.57	15.40

Los valores de MAT , calculados a partir de las constantes de orden cero, para las formulaciones con 100 mg (Tabla III.15) confirman una velocidad de absorción más rápida de teofilina a partir de la formulación con HAMMAL que con Theo-Dur®. En el caso de las formulaciones con 175 mg de teofilina (Tabla III.16), los comprimidos con CAMMAL muestran un tiempo medio de absorción mayor que la formulación con CAMMAO y Theolair®, siendo estos últimos similares entre sí.

El tiempo medio de disolución (MDT) se puede calcular, de forma aproximada, utilizando la constante de absorción, para una solución oral, publicada por El-Sayed y col. (1996). Con este propósito, se despeja MDT de la ecuación 33, quedando:

$$MDT_{in vivo} = MRT_{comp} - MRT_{iv} - MAT_{Soral}$$

Dado que $MRT_{comp} - MRT_{iv}$ es igual a MAT_{comp} y MAT_{Soral} a $1/k_{aSoral}$, reemplazando en la ecuación anterior:

$$MDT_{invivo} = MAT_{comp} - \frac{1}{k_{aSoral}}$$

Sustituyendo cada uno de los valores de MAT recogidos en las Tablas III.15 y III.16, y el valor de k_a de la solución oral (2.7 h^{-1}), encontramos que los tiempos medios de disolución *in vivo* de teofilina son: 1.76, 0.97, 1.75, 1.97, 3.30 h a partir de Theo-Dur[®], la formulación con HAMMAL, Theolair[®] y las formulaciones con CAMMAO y CAMMAL, respectivamente.

En base a estos resultados, se puede concluir que la formulación con HAMMAL es la que libera la teofilina, *in vivo*, más rápidamente, seguida de Theo-Dur[®] y Theolair[®], la formulación con CAMMAO y, finalmente, la formulación con CAMMAL.

3. Relación de los resultados obtenidos *in vitro* e *in vivo*

La elección de las condiciones de fabricación de las tres formulaciones elaboradas con los nuevos copolímeros de injerto y utilizadas en el estudio *in vivo* se basó en la similitud de los perfiles de disolución de éstas y la especialidad farmacéutica patrón correspondiente. Dicha similitud se determinó mediante el factor de similitud f_2 (Moore y Flanner, 1996).

Durante la etapa de desarrollo se obtuvieron valores de f_2 de 52.8, 63.2 y 56.8 para las formulaciones con HAMMAL, CAMMAO y CAMMAL, respectivamente. La primera se comparó con Theo-Dur[®] y las dos últimas con Theolair[®]. De otro lado, los lotes de comprimidos utilizados en el ensayo *in vivo* presentaron valores de f_2 de 56.4, 63.8 y 68.0 para los comprimidos con HAMMAL, CAMMAO y CAMMAL, respectivamente. Los valores obtenidos indican que la liberación *in vitro* de teofilina a partir de las matrices con los copolímeros bajo estudio es similar a la liberación que experimenta este fármaco a partir de la especialidad farmacéutica correspondiente.

Cuando comparamos la liberación *in vivo*, observamos que los perfiles plasmáticos de teofilina (Figura III.11) a partir de Theo-Dur[®] y la formulación con HAMMAL se comportan de un modo muy semejante, al igual que los perfiles plasmáticos de Theolair[®] y la formulación con CAMMAL (Figura III.12). Desafortunadamente, la

III Estudio *in vivo* y análisis farmacocinético

gran variabilidad que se presentó en este estudio no permitió obtener resultados confiables de la bioequivalencia entre los preparados, lo que impide dar una opinión sobre la capacidad de f_2 para predecir la bioequivalencia de dos formulaciones con base en estudios *in vitro*.

En un intento por evaluar la capacidad biopredictora del ensayo de disolución en gradiente de pH utilizado en este estudio, se buscó una correlación entre algunos parámetros derivados del ensayo de disolución y parámetros obtenidos de los datos *in vivo*. Los parámetros *in vitro* evaluados son: porcentaje de teofilina liberada a 4.5 h ($t_{4.5}$), porcentaje de teofilina liberada a 8.5 h ($t_{8.5}$) y tiempo para la liberación del 50% de teofilina ($t_{50\%}$). Éstos se determinaron a partir de los ensayos de disolución de las cinco formulaciones a las cuatro velocidades de agitación fijadas para la evaluación de este factor. En relación a los parámetros *in vivo*, se utilizaron $t_{máx}$, $C_{máx}/D$ ($C_{máx}$ normalizada por la dosis), AUC/D (AUC normalizada por la dosis) y MDT .

Se obtiene una correlación *in vitro-in vivo* para las cinco formulaciones entre los parámetros $t_{50\%}$ del ensayo de disolución a 100 rpm, y AUC/D ($r = -0.982$) (Figura III.13). Lo que significa que, bajo las condiciones establecidas, este ensayo de disolución permite predecir AUC/D de las formulaciones en el perro beagle.

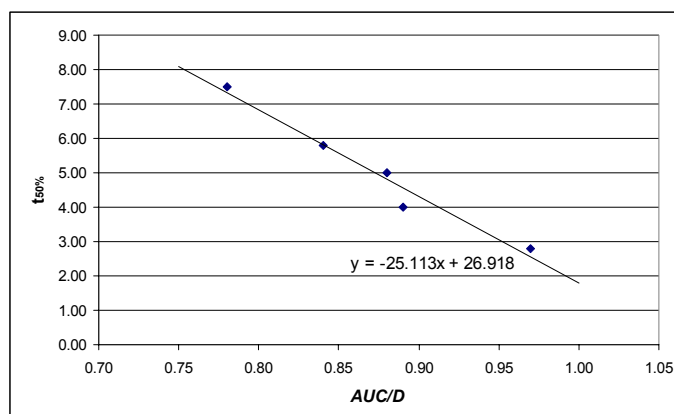


Figura III.13.- Gráfico de regresión lineal del tiempo necesario para la liberación del 50% de teofilina ($t_{50\%}$) con respecto al área bajo la curva normalizada por la dosis (AUC/D).

CONCLUSIONES

1. Las formulaciones con teofilina elaboradas con los copolímeros HAMMAL, CAMMAO y CAMMAL, a una resistencia a la rotura 90–100 N, prolongan la liberación de teofilina *in vivo*. Dicha prolongación es más notoria con la formulación preparada con el copolímero CAMMAL, seguida por las formulaciones con CAMMAO y HAMMAL.
2. Aunque tanto las formulaciones en estudio como las especialidades farmacéuticas de referencia prolongan la liberación del principio activo, la variabilidad del estudio no permite emitir juicios sobre la bioequivalencia entre las formulaciones y la especialidad farmacéutica patrón correspondiente.
3. El ensayo de disolución *in vitro*, en gradiente de pH, a 100 r.p.m., permite predecir el área bajo la curva normalizada por la dosis (AUC/D) a partir del tiempo necesario para que la formulación libere el 50% de teofilina ($t_{50\%}$).

BIBLIOGRAFÍA

- ALBEROLA, J. y col. Effect of age on theophylline pharmacokinetics in dogs. *American Journal of Veterinary Research*. 1993, 54(7): 1112-1115.
- ASLAKSEN, A.; BAKKE, O.M. y VIGANDER, T. Comparative pharmacokinetics of theophylline and aminophylline in man. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1981, 11(3): 269-273.
- BOURNE, D.W.A. *Mathematical modeling of pharmacokinetic data*. Lancaster: Technomic Publishing co., 1995. 75-82 p.
- CATURLA, M.C. y col. Validación de Métodos en Bioanálisis. En AEFI (Ed.) *Validación de métodos analíticos*. Girona: Gráficas Gispert, S.A., 2001, p. 209-247.
- CHOW, S.C. y LIU, J.P. *Design and analysis of bioavailability and bioequivalence studies*. New York: Marcel Dekker, INC., 1992. 416 p.
- CONARD G.J. y col. Clinical assessment of theophylline absorption from Theolair-SR and two other sustained-release formulations relative to a conventional formulation. *International Journal of Pharmaceutics*. 1982, 10: 259-273.
- DAVIES, B. y MORRIS, T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharmaceutical Research*. 1993, 10(7): 1093-1095.
- DILUCCIO, R.C. y col. Sustained-release oral delivery of theophylline by use of polyvinyl alcohol and polyvinyl alcohol-methyl acrylate polymers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1994, 83(1): 104-106.
- DOMÉNECH, J. y LAUROBA, J. Farmacocinética no compartimental. En DOMÉNECH, J.; MARTÍNEZ, J. y PLÁ, J.M. (Eds.) *Biofarmacia y farmacocinética: Volumen I: Farmacocinética*. Madrid: Síntesis S.A., 1997, p. 392-420.
- DRESSMAN, J.B. Comparison of canine and human gastrointestinal physiology. *Pharmaceutical Research*. 1986, 3(3): 123-131.
- DRESSMAN, J.B. y YAMADA, K. Animal models for oral drug absorption. En WELLING, P.G.; TSE, F.L.S. y DIGHE, S.V. (Eds.) *Pharmaceutical*

bioequivalence. New York: Marcel Dekker, INC., 1991, p. 235-266. Drugs and the pharmaceutical sciences. Volumen 48.

EL-SAYED, G. y col. Comparative bioavailability of theophylline from tablets with different sustained release kinetics. *S.T.P. Pharma Sciences*. 1996, 6(6): 398-402.

GIBALDI, M. y PERRIER, D. *Pharmacokinetics*. 2^a ed. New York: Marcel Dekker, INC, 1982. 494 p. Drugs and the pharmaceutical sciences. Volumen 15.

JONES, B y KENWARD, M.G. *Design and analysis of cross-over trials*. London: Chapman and Hall, 1989. 189-241p.

KAMBA, M. y col. Evaluation of the mechanical destructive force in the stomach of dog. *International Journal of Pharmaceutics*. 2001, 228: 209-217.

KAMBA, M. y col. Comparison of the mechanical destructive force in the small intestine of dog and human. *International Journal of Pharmaceutics*. 2002, 237: 139-149.

KAWAI, H. y col. Pharmacokinetic study of theophylline in dogs after intravenous administration with and without ethylenediamine. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*. 2000, 22(3): 179-184.

LIAW, J.; RUBINSTEIN, A. y ROBINSON, J.R. Bioavailability study of Theo-Dur tablets in the fasted cannulated dog. *International Journal of Pharmaceutics*. 1990, 59: 105-114.

TDxFLx[®] System operation manual. Abbott Laboratories Diagnostics División, Illinois: Abbott park. 1992. Manual de operaciones.

METZLER, C.M. Statistical criteria. En: *Pharmaceutical bioequivalence*. New York: Marcel Dekker, INC., 1991, p 35-66. Drugs and the pharmaceutical sciences. Vol. 48.

MITENKO, P.A. y OGILVIE, R.I. Rapidly achieved plasma concentration plateaus with observations on theophylline kinetics. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1972, 13(3): 329-335.

MOORE, J.W. y FLANNER, H.H. Mathematical comparison of dissolution profiles. *Pharmaceutical Technology*, 1996, Junio: 64-74.

MOTULSKY, H.J. y RANSNAS, L.A. Fitting curves to data using nonlinear regression: a practical and nonmathematical review. *FASEB Journal*. 1987, 1: 365-374.

PERAIRE, C. y COLOM, H. Cinética de las dosis únicas: Bolus intravenoso: modelo monocompartimental. En DOMÉNECH, J.; MARTÍNEZ, J. y PLÁ, J.M. (Eds.) *Biofarmacia y farmacocinética: Vol. I: Farmacocinética*. Madrid: Síntesis S.A., 1997, p. 53-85.

QIU, Y.; CHIDAMBARAM, N. y FLOOD, K. Design and evaluation of layered diffusional matrices for zero-order sustained-release. *Journal of Controlled Release*. 1998, 51(2-3): 123-130.

RITSCHHEL, W.A. Biopharmaceutic and pharmacokinetic aspects in the design of controlled release peroral drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 1989, 15(6-7): 1073-1103.

SHAH, V.P. y col. Bioanalytical method validation: a revisit with a decade of progress. *Pharmaceutical Research*. 2000, 17(12): 1551-1557.

SHARGEL, L y YU, A.B.C. *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics*. 3^a ed. London: Prentice Hall International, 1993. 625 p.

SHIU, G.K. y col. The beagle dog as an animal model for a bioavailability study of controlled-release theophylline under the influence of food. *Pharmaceutical Research*. 1989, 6(12): 1039-1042.

SIHN, Y.S. y CHUNG, H.S. Interpretations of the TDxFLx[®] calibration data of the abused drugs. *Forensic Science International*. 2003, 131(1): 1-7.

TSE, F.L.S. y SZETO, D.W. Theophylline bioavailability in the dog. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1982, 71(11): 1301-1303.

TSE, F.S.L. Nonclinical pharmacokinetics in drug discovery and development. En WELLING, P.G. y TSE, F.L.S. (Eds.) *Pharmacokinetics: regulatory, industrial, academic perspectives*. New York: Marcel Dekker, Inc. 1988, p. 159-214.

TURKOGLU, M.; RITSCHHEL, W.A. y SAKR, A. In vivo evaluation of fluidized-bed coated pellets. *International Journal of Pharmaceutics*. 1994, 103: 115-118.

USP 24. In vivo bioequivalence guidance <1090> 1929-1938.

WAGNER, J.G. y NELSON, E. Percent absorbed time plots derived from blood levels and for urinary excretion data. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1963, 52: 610-611.

WESTLAKE, W.J. Symmetrical confidence intervals for bioequivalence. *Biometrics*. 1976, 32: 741-744.

WELLING, P.G. Oral controlled drug administration: pharmacokinetic considerations. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 1983, 9(7): 1185-1225.

YAMAOKA, K., NAKAGAWA, T. y UNO, T. Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equation. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*. 1978, 6: 165-175.

APÉNDICE I

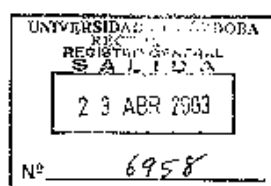
**PERMISO DEL COMITÉ DE BIOÉTICA PARA
DESARROLLAR EL ESTUDIO EN ANIMALES DE
EXPERIMENTACIÓN**



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Vicerrector de Investigación

Enrique Aguilar Benítez de Lugo



Prof.^a, Dra. D^a. María Rosa Jiménez-Castellanos
Ballesteros
Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica
Facultad de Farmacia
C/ Tramontana, s/n, 41012 Sevilla
Universidad de Sevilla

Reunido el Comité de Bioética para la Experimentación Animal de la Universidad de Córdoba el día 9 de abril de 2003, acordó informar favorablemente la solicitud para la evaluación de procedimientos experimentales con animales, presentado por la investigadora responsable Prof.^a. Dra. D^a. María Rosa Jiménez-Castellanos Ballesteros, a desarrollar en el trabajo titulado "Estudio Farmacocinético comparativo de la liberación de teofilina a partir de comprimidos matriciales y especialidades del mercado español", dado que se ajusta a la legislación existente sobre experimentación (Directiva 86/609/CEE y R.D. 223/1988) tanto por la procedencia y cuidado de los animales a utilizar, el diseño y metodología a seguir, idoneidad de la especie y número de animales seleccionado, así como el protocolo previsto en el que se garantiza la evitación de sufrimiento o dolor innecesario.

Córdoba, 22 de abril de 2003

EL VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN




Enrique Aguilar Benítez de Lugo

APÉNDICE II

RESULTADOS DEL ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

1. Tiempos y concentraciones plasmáticas individuales

Tabla 1. Tiempos reales de toma de muestra y concentraciones plasmáticas de teofilina ($\mu\text{g/mL}$) encontradas a cada tiempo tras la administración intravenosa de una solución de aminofilina equivalente a 87.85 mg/mL de teofilina a seis perros beagle.

Tiempo (h)	Perro 1 Período D (h)	Tiempo (h)	Perro 2 Período F (h)	Tiempo (h)	Perro 3 Período A (h)	Tiempo (h)	Perro 4 Período E (h)	Tiempo (h)	Perro 5 Período B (h)	Tiempo (h)	Perro 6 Período C (h)
0.17	11.51	0.18	14.26	0.17	14.02	0.20	10.40	0.17	12.76	0.22	14.75
0.32	11.39	0.37	13.66	0.33	13.25	0.35	10.29	0.33	12.55	0.32	14.06
0.47	11.30	0.53	13.24	0.50	12.29	0.52	10.24	0.50	12.46	0.52	13.66
0.77	11.11	0.78	12.96	0.75	11.60	0.82	9.91	0.88	12.18	0.73	13.56
0.98	10.89	1.00	12.68	1.17	11.50	0.98	9.72	1.00	11.96	1.02	13.21
1.48	10.05	1.58	12.02	1.78	10.55	1.57	9.48	1.50	11.12	1.50	12.52
2.00	9.59	2.03	11.50	2.17	10.09	2.00	8.52	2.00	10.66	2.00	11.60
2.98	8.21	2.97	10.17	3.23	9.14	3.00	7.34	3.00	9.28	3.00	10.92
4.00	6.84	4.02	8.75	4.20	7.87	4.02	5.12	4.00	7.91	3.97	9.55
5.00	5.99	5.00	7.84	5.18	6.95	5.02	4.67	5.00	7.12	4.98	8.69
6.00	5.20	6.00	6.46	6.23	5.80	6.02	4.30	6.00	6.21	6.00	7.54
8.00	3.69	8.00	4.79	8.17	3.54	8.07	3.09	8.00	4.49	8.03	6.01
10.02	2.54	10.07	3.13	10.17	2.96	10.00	2.09	10.00	3.49	10.03	4.47
12.00	1.73	12.00	2.21	12.23	2.24	12.00	0.81	12.03	2.38	12.00	3.54
24.00	0.23	24.00	0.36	24.22	0.00	24.00	0.00	24.05	0.45	24.00	2.27

Valores inferiores al límite de cuantificación no utilizados en el análisis farmacocinético

Tabla 2. Tiempos reales de toma de muestra y concentraciones plasmáticas de teofilina ($\mu\text{g/mL}$) encontradas a cada tiempo tras la administración oral de un comprimido de Theo-Dur[®] con 100 mg de teofilina a seis perros beagle.

Tiempo (h)	Perro 1 Período E (h)	Tiempo (h)	Perro 2 Período C (h)	Tiempo (h)	Perro 3 Período D (h)	Tiempo (h)	Perro 4 Período A (h)	Tiempo (h)	Perro 5 Período F (h)	Tiempo (h)	Perro 6 Período B (h)
0.53	0.35	0.50	2.88	0.48	0.25	0.50	1.47	0.58	0.78	0.57	1.67
1.00	5.55	1.00	5.74	1.05	1.66	1.05	3.02	0.98	1.67	1.00	3.74
1.62	5.33	1.50	7.55	1.50	2.91	1.52	4.61	1.57	2.56	1.50	4.78
2.02	5.10	2.00	10.39	2.00	3.50	2.05	5.82	2.00	3.09	2.00	5.37
3.07	4.55	3.00	9.38	3.07	5.56	3.02	6.10	3.05	2.32	3.00	8.85
4.05	4.27	4.00	8.58	4.02	7.10	4.03	5.41	4.00	7.19	4.00	10.36
5.03	3.52	5.03	8.18	5.00	7.80	5.05	4.35	5.02	8.76	5.00	10.05
6.03	2.95	6.00	7.04	6.00	7.34	6.00	3.62	5.95	7.76	6.00	8.90
8.10	2.34	8.03	5.25	8.07	5.79	8.03	3.09	8.00	5.90	8.00	7.51
10.00	1.99	10.00	3.31	10.03	4.34	10.07	2.58	10.37	4.36	10.00	5.06
12.02	1.75	12.00	2.12	12.00	3.05	12.08	2.04	12.00	3.39	12.00	4.14
24.03	0.00	24.00	0.00	24.00	0.30	24.03	0.27	24.00	0.67	24.00	0.81
36.00	0.00	36.00	0.00	36.00	0.00	36.08	0.04	36.00	0.22	36.00	0.00

Valores inferiores al límite de cuantificación no utilizados en el análisis farmacocinético

Resultados del análisis farmacocinético

Tabla 3. Tiempos reales de toma de muestra y concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/mL}$) de teofilina encontradas a cada tiempo tras la administración oral de un comprimido elaborado con HAMMAL con 100 mg de teofilina a seis perros beagle.

Tiempo (h)	Perro 1 Período C (h)	Tiempo (h)	Perro 2 Período A (h)	Tiempo (h)	Perro 3 Período F (h)	Tiempo (h)	Perro 4 Período B (h)	Tiempo (h)	Perro 5 Período E (h)	Tiempo (h)	Perro 6 Período D (h)
0.50	1.97	0.50	3.69	0.67	1.32	0.50	1.55	0.55	1.41	0.50	0.82
1.02	3.06	1.00	8.00	1.05	2.56	1.00	2.73	1.00	3.84	1.02	4.41
1.50	3.66	1.52	10.30	1.60	6.72	1.50	5.06	1.52	4.11	1.48	4.86
2.05	4.39	2.05	10.33	2.08	7.92	2.02	6.64	2.05	5.96	2.00	6.51
3.00	4.51	3.00	9.78	3.02	9.17	3.00	6.15	3.00	8.03	3.02	8.60
4.00	3.41	4.03	9.29	4.03	8.28	4.00	5.23	4.00	7.42	4.00	9.77
5.00	2.80	5.07	8.63	5.05	7.48	5.02	5.10	5.00	6.89	4.97	9.91
6.00	2.12	6.03	7.96	6.05	6.52	6.02	4.57	6.00	6.36	6.00	9.30
8.00	1.33	8.00	5.92	8.00	4.49	8.00	3.90	8.08	4.34	8.00	7.66
10.00	0.84	10.00	4.12	10.10	3.00	10.00	2.93	10.00	2.86	10.00	5.44
12.00	0.44	12.03	2.69	12.00	2.09	12.02	2.14	12.00	1.81	12.00	5.27
24.00	0.00	24.03	0.00	24.00	1.15	24.03	0.57	24.00	0.00	24.00	3.44
36.00	0.00	36.15	0.00	36.00	0.32	36.02	0.10	36.00	0.00	36.00	1.31

Valores inferiores al límite de cuantificación no utilizados en el análisis farmacocinético

Tabla 4. Tiempos reales de toma de muestra y concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/mL}$) de teofilina encontradas a cada tiempo tras la administración oral de un comprimido de Theolair® con 175 mg de teofilina a seis perros beagle.

Tiempo (h)	Perro 1 Período F (h)	Tiempo (h)	Perro 2 Período E (h)	Tiempo (h)	Perro 3 Período B (h)	Tiempo (h)	Perro 4 Período C (h)	Tiempo (h)	Perro 5 Período D (h)	Tiempo (h)	Perro 6 Período A (h)
0.65	0.71	0.53	1.16	0.50	1.42	0.50	1.85	0.58	1.90	0.55	3.08
1.07	2.80	0.98	3.51	1.00	2.71	1.03	6.26	1.05	3.51	1.15	5.24
1.65	11.30	1.57	4.90	1.50	5.15	1.50	13.35	1.52	4.96	1.53	7.01
2.13	11.74	2.03	6.03	2.02	6.55	2.00	16.67	2.08	6.57	2.00	7.21
3.08	10.86	3.05	7.95	2.98	8.17	3.00	17.56	3.00	14.79	3.00	8.12
4.05	10.13	4.03	10.71	4.00	10.03	4.00	15.28	4.00	14.75	4.00	9.80
5.02	10.57	5.00	11.79	5.00	11.69	5.02	12.88	5.08	12.73	5.00	9.72
6.07	10.16	6.00	12.17	6.00	11.33	6.05	10.64	6.00	11.82	6.00	10.28
8.03	7.68	8.07	12.75	8.00	9.21	8.02	7.33	8.13	8.77	8.05	10.54
10.13	5.41	10.00	10.03	10.00	8.09	10.02	5.32	10.05	6.79	10.00	10.27
12.02	3.80	12.00	6.93	11.98	5.78	12.00	4.03	12.03	5.03	12.02	9.29
24.00	2.14	24.00	0.67	24.03	1.65	24.00	0.62	24.00	0.74	24.02	1.82
36.00	0.71	36.00	0.05	36.02	0.67	36.00	0.21	36.00	0.37	36.02	1.17

Valores inferiores al límite de cuantificación no utilizados en el análisis farmacocinético

Apéndice II

Tabla 5. Tiempos reales de toma de muestra y concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/mL}$) de teofilina encontradas a cada tiempo tras la administración oral de un comprimido elaborado con CAMMAO con 175 mg de teofilina a seis perros beagle.

Tiempo (h)	Perro 1 Período B (h)	Tiempo (h)	Perro 2 Período D (h)	Tiempo (h)	Perro 3 Período C (h)	Tiempo (h)	Perro 4 Período F (h)	Tiempo (h)	Perro 5 Período A (h)	Tiempo (h)	Perro 6 Período E (h)
0.48	4.38	0.53	4.22	0.50	1.96	0.63	2.92	0.50	0.91	0.48	4.26
0.98	9.85	1.05	8.93	1.00	5.04	1.07	14.19	1.05	3.34	1.05	6.51
1.47	11.33	1.50	11.87	1.50	9.57	1.65	15.21	1.50	7.19	1.50	11.54
2.00	12.85	2.02	17.65	2.00	11.09	2.10	14.86	2.00	9.02	1.85	13.83
2.97	14.94	3.05	18.38	3.00	13.40	3.03	13.77	3.00	12.14	3.00	18.09
3.98	13.59	4.05	16.82	4.00	15.26	4.03	12.75	4.00	15.12	4.00	18.83
5.00	11.83	5.00	16.32	5.00	16.60	5.07	11.54	5.02	15.95	5.00	17.94
5.97	9.88	6.00	14.35	6.00	17.82	6.07	10.96	6.02	13.53	6.00	16.22
8.00	6.68	8.12	9.98	8.00	13.76	8.03	9.21	8.00	10.31	8.03	12.11
10.00	3.74	10.05	6.63	10.00	10.22	10.12	6.95	10.03	7.95	10.00	9.87
11.95	2.08	12.00	3.85	12.00	7.53	12.03	5.26	12.02	5.79	12.00	7.83
23.95	0.72	24.00	0.17	24.00	1.19	24.00	1.50	24.02	0.51	24.00	2.41
36.00	0.27	36.00	0.00	36.00	0.24	36.00	0.14	36.02	0.00	36.00	0.65

Valores inferiores al límite de cuantificación no utilizados en el análisis farmacocinético

Tabla 6. Tiempos reales de toma de muestra y concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g/mL}$) de teofilina encontradas a cada tiempo tras la administración oral de un comprimido elaborado con CAMMAL con 175 mg de teofilina a seis perros beagle.

Tiempo (h)	Perro 1 Período A (h)	Tiempo (h)	Perro 2 Período B (h)	Tiempo (h)	Perro 3 Período E (h)	Tiempo (h)	Perro 4 Período D (h)	Tiempo (h)	Perro 5 Período C (h)	Tiempo (h)	Perro 6 Período F (h)
0.50	1.04	0.50	0.76	0.52	3.36	0.50	2.44	0.53	0.72	0.47	3.64
1.02	2.67	1.00	2.34	1.07	4.73	1.00	5.95	1.00	2.07	1.02	6.87
1.55	3.80	1.55	3.93	1.52	6.35	1.48	7.04	1.52	3.50	1.52	9.47
2.00	3.81	2.03	5.39	2.02	8.28	2.00	7.32	2.00	5.26	1.97	11.41
3.00	5.29	3.00	6.97	3.00	10.71	3.02	6.52	3.00	7.72	2.97	13.40
4.03	6.20	4.00	8.16	4.05	13.72	4.02	6.15	4.00	9.24	3.95	16.18
5.03	9.96	5.00	9.04	5.05	14.38	5.00	5.64	5.02	10.77	4.98	17.36
6.03	10.97	6.00	9.52	5.97	13.30	6.07	4.85	6.03	10.91	5.95	14.81
8.02	9.50	8.00	11.36	8.05	11.19	8.05	3.88	8.00	12.99	8.03	10.93
10.00	7.59	10.00	10.58	9.98	8.25	10.00	2.81	10.00	10.26	10.00	7.98
12.00	5.84	12.02	9.04	11.98	5.84	12.00	1.95	12.00	7.52	12.00	6.03
24.03	0.70	24.05	2.26	24.02	1.13	24.00	0.00	24.00	1.25	24.00	2.11
36.03	0.00	36.03	0.51	36.02	0.37	36.00	0.00	36.00	0.31	36.00	0.60

Valores inferiores al límite de cuantificación no utilizados en el análisis farmacocinético

2. Gráficas de las concentraciones individuales de teofilina

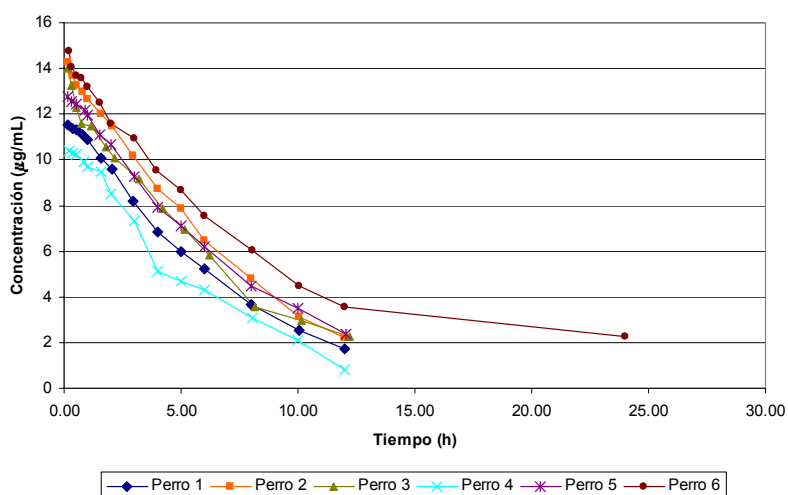


Figura 1. Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas de teofilina obtenidas después de la administración intravenosa de 87.85 mg de teofilina a cada uno de los seis perros, con respecto al tiempo.

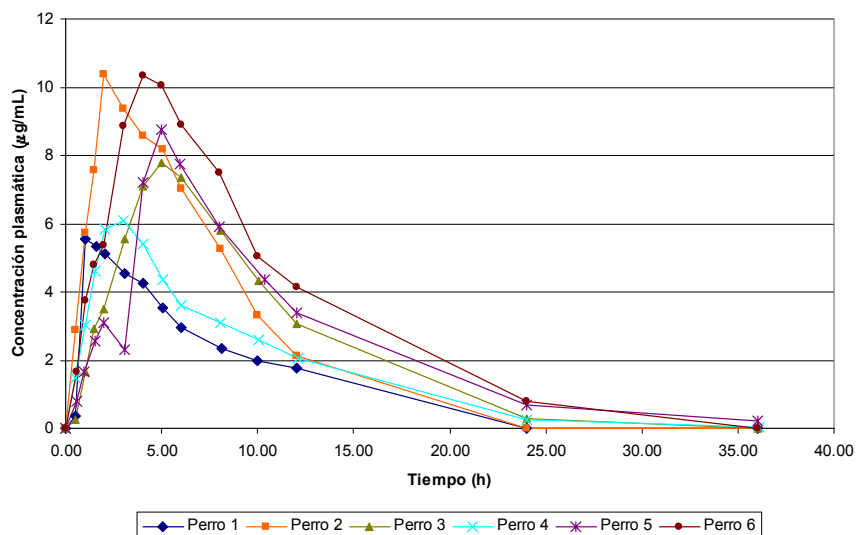


Figura 2. Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas de teofilina obtenidas después de la administración oral, a cada uno de los seis perros, de un comprimido de Theo-Dur[®] con 100 mg de teofilina.

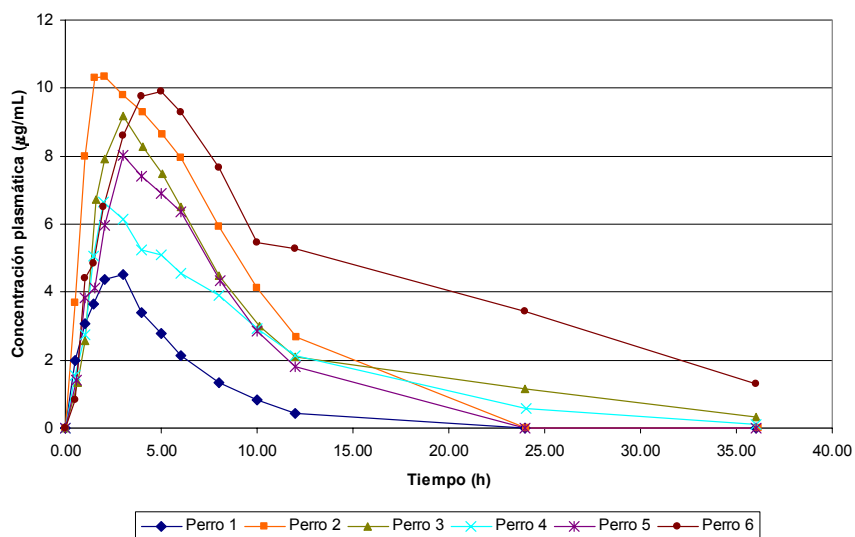


Figura 3. Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas de teofilina obtenidas después de la administración oral, a cada uno de los seis perros, de un comprimido de HAMMAL con 100 mg de teofilina.

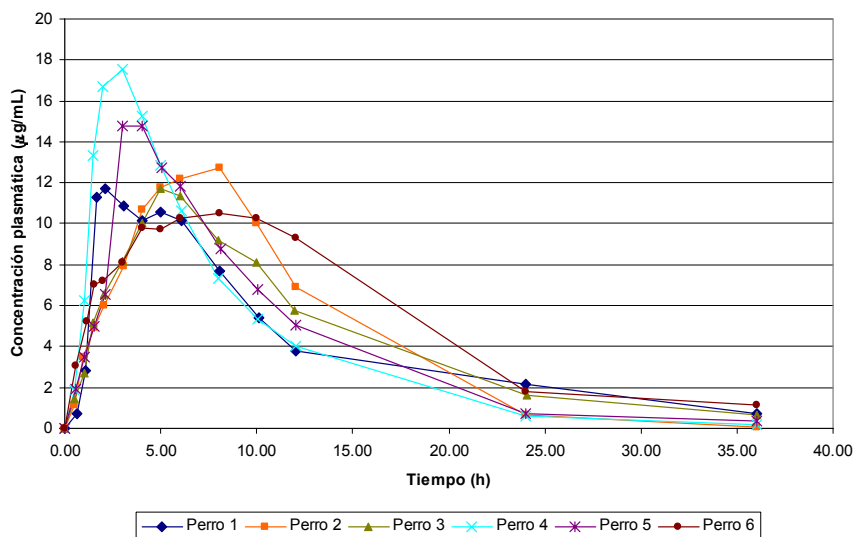


Figura 4. Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas de teofilina obtenidas después de la administración oral, a cada uno de los seis perros, de un comprimido de Theolair® con 175 mg de teofilina.

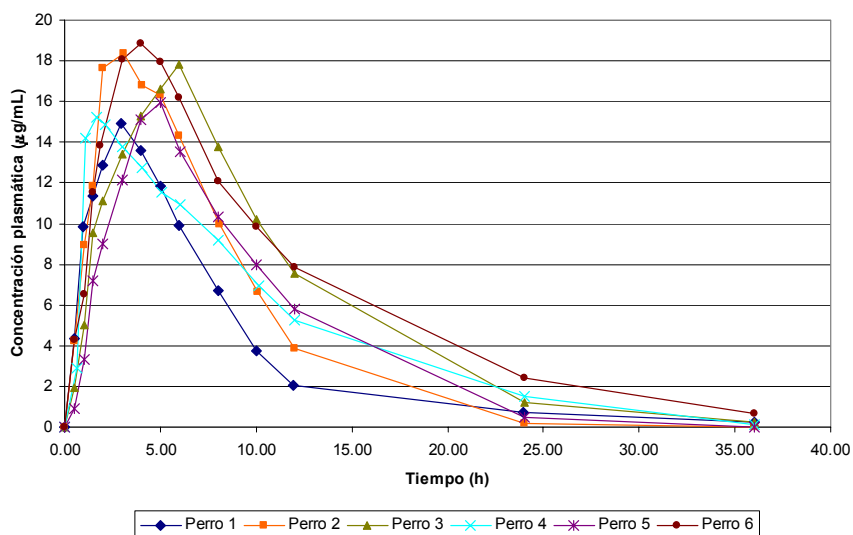


Figura 5. Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas de teofilina obtenidas después de la administración oral, a cada uno de los seis perros, de un comprimido de CAMMAO con 175 mg de teofilina.

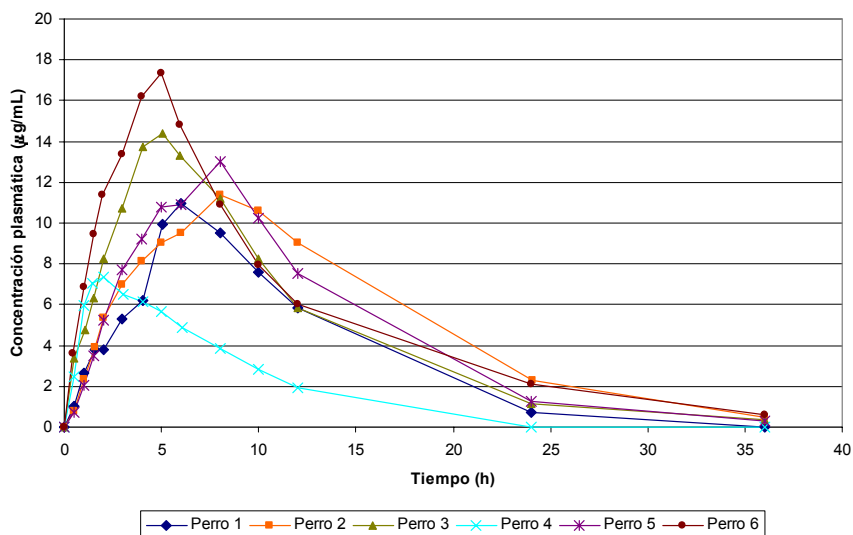


Figura 6. Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas de teofilina obtenidas después de la administración oral, a cada uno de los seis perros, de un comprimido de CAMMAL con 175 mg de teofilina.

3. Parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis no compartimental

Tabla 7. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis no compartimental de los datos intravenosos.

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
C_0	µg/mL	11.60	14.90	14.90	10.50	13.00	16.39
k_{el}	h ⁻¹	0.16	0.15	0.15	0.19	0.14	0.09
$t_{1/2}$	h	4.37	4.55	4.60	3.58	4.97	7.99
AUC_0^∞	(µg/mL)·h	81.10	102.00	93.40	64.70	99.50	151.74
Cl	L/h	1.08	0.86	0.94	1.36	0.88	0.58
MRT	h	6.25	6.50	6.57	5.23	7.13	11.35
$V_d (extr)$	L	7.57	5.90	5.90	8.37	6.76	5.36
$V_d (área)$	L	6.83	5.65	6.24	7.01	6.34	6.67
$V_d (ee)$	L	6.77	5.60	6.18	7.09	6.30	6.57

Tabla 8. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis no compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos de Theo-Dur[®] con 100 mg de teofilina

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
$t_{máx}$	h	1.00	2.00	5.00	3.02	5.02	4.00
$C_{máx}$	µg/mL	5.55	10.39	7.80	6.10	8.76	10.36
$C_{máx}/D$	mL ⁻¹	0.06	0.10	0.08	0.06	0.09	0.10
k_{el}	h ⁻¹	0.11	0.20	0.16	0.11	0.14	0.13
$t_{1/2}$	h	6.32	3.41	4.25	6.17	5.12	5.23
AUC_0^∞	(µg/mL)·h	51.58	82.29	78.45	61.54	83.95	111.27
AUC_0^∞ / D	h/mL	5.16E-04	8.23E-04	7.84E-04	6.15E-04	8.40E-04	1.11E-03
MRT	h	9.78	6.69	9.16	9.96	10.43	9.71
F	%	55.87	70.87	73.79	83.56	74.12	64.42

Tabla 9. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis no compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos elaborados con HAMMAL con 100 mg de teofilina.

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
$t_{máx}$	h	3.00	2.05	3.02	2.02	3.00	4.97
$C_{máx}$	µg/mL	4.51	10.33	9.17	6.64	8.03	9.91
$C_{máx}/D$	mL ⁻¹	0.05	0.10	0.09	0.07	0.08	0.10
k_{el}	h ⁻¹	0.24	0.17	0.10	0.15	0.18	0.06
$t_{1/2}$	h	2.93	4.10	6.62	4.64	3.84	11.46
AUC_0^∞	(µg/mL)·h	28.39	97.77	89.75	63.11	69.29	184.28
AUC_0^∞ / D	h/mL	2.84E-04	9.78E-04	8.97E-04	6.31E-04	6.93E-04	1.84E-03
MRT	h	5.35	7.39	10.60	8.54	7.26	18.39
F	%	30.75	84.20	84.41	85.69	61.17	106.69

Tabla 10. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis no compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos de Theolair® con 175 mg de teofilina.

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
$t_{m\acute{a}x}$	h	2.13	8.07	5.00	3.00	3.00	8.05
$C_{m\acute{a}x}$	$\mu\text{g/mL}$	11.74	12.75	11.69	17.56	14.79	10.54
$C_{m\acute{a}x}/D$	mL^{-1}	0.07	0.07	0.07	0.10	0.08	0.06
k_{el}	h^{-1}	0.08	0.16	0.11	0.17	0.14	0.09
$t_{1/2}$	h	8.22	4.46	6.30	4.14	4.86	7.76
AUC_0^∞	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	149.04	155.45	151.01	137.17	141.46	189.99
AUC_0^∞/D	h/mL	8.52E-04	8.88E-04	8.63E-04	7.84E-04	8.08E-04	1.09E-03
MRT	h	12.98	10.15	11.77	7.34	9.25	13.89
F	%	92.25	76.51	81.17	106.43	71.37	62.85

Tabla 11. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis no compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos elaborados con CAMMAO con 175 mg de teofilina.

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
$t_{m\acute{a}x}$	h	2.97	3.05	6.00	1.65	5.02	4.00
$C_{m\acute{a}x}$	$\mu\text{g/mL}$	14.94	18.38	17.82	15.21	15.95	18.83
$C_{m\acute{a}x}/D$	mL^{-1}	0.09	0.11	0.10	0.09	0.09	0.11
k_{el}	h^{-1}	0.25	0.22	0.15	0.11	0.14	0.10
$t_{1/2}$	h	2.77	3.18	4.52	6.20	4.95	6.69
AUC_0^∞	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	108.70	154.08	192.61	167.55	159.98	230.56
AUC_0^∞/D	h/mL	6.21E-04	8.80E-04	1.10E-03	9.57E-04	9.14E-04	1.32E-03
MRT	h	5.78	6.68	9.33	10.05	9.51	11.21
F	%	67.28	75.83	103.52	130.00	80.72	76.27

Tabla 12. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis no compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos elaborados con CAMMAL con 175 mg de teofilina.

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
$t_{m\acute{a}x}$	h	6.03	8.00	5.05	2.00	8.00	4.98
$C_{m\acute{a}x}$	$\mu\text{g/mL}$	10.97	11.36	14.38	7.32	12.99	17.36
$C_{m\acute{a}x}/D$	mL^{-1}	0.06	0.06	0.08	0.04	0.07	0.10
k_{el}	h^{-1}	0.12	0.11	0.14	0.15	0.15	0.10
$t_{1/2}$	h	5.67	6.20	5.08	4.48	4.62	6.63
AUC_0^∞	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	132.24	178.12	158.94	67.09	155.10	195.01
AUC_0^∞/D	h/mL	7.56E-04	1.02E-03	9.08E-04	3.83E-04	8.86E-04	1.11E-03
MRT	h	11.68	13.22	9.69	7.74	10.74	11.08
F	%	81.86	87.66	85.43	52.06	78.25	64.52

4. Gráficos del ajuste no lineal de los datos

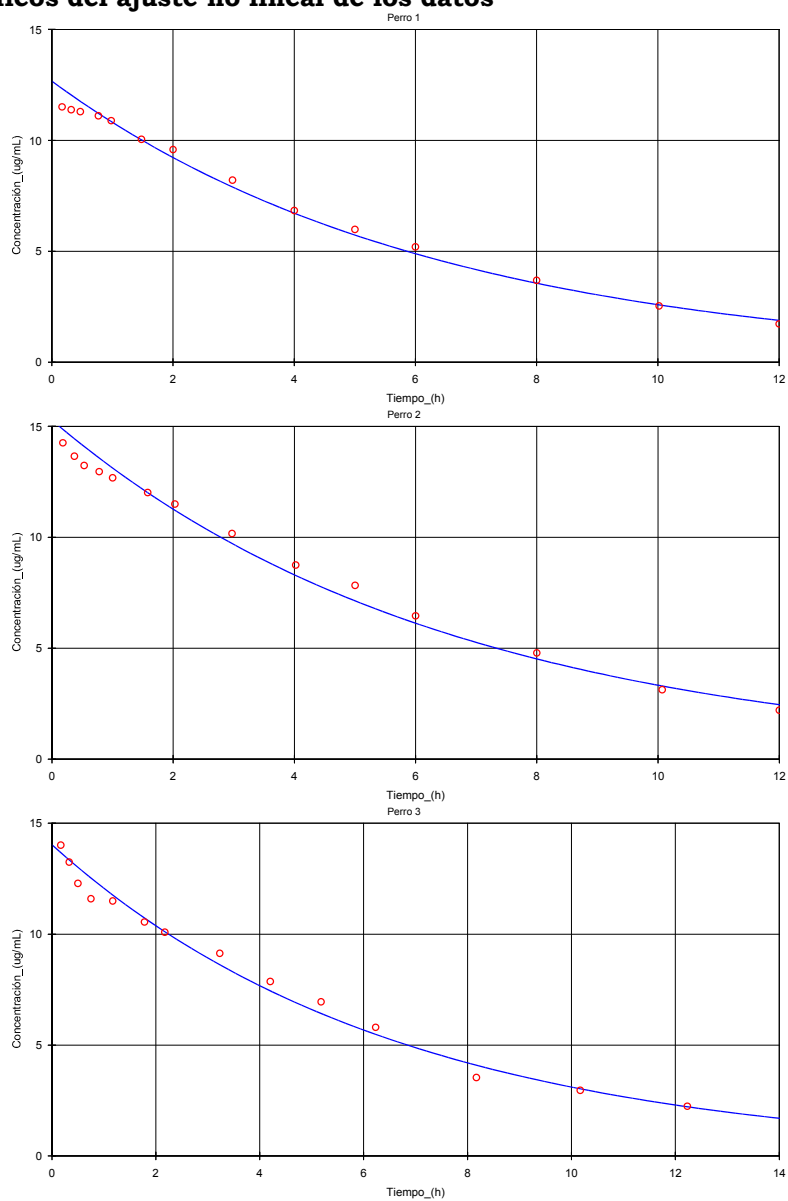


Figura 7. Curvas de niveles plasmáticos–tiempo obtenidas tras la administración intravenosa de 87.85 mg de teofilina a los perros 1, 2 y 3. Círculos rojos: valores observados experimentalmente. Línea azul: ajuste al modelo monocompartimental.

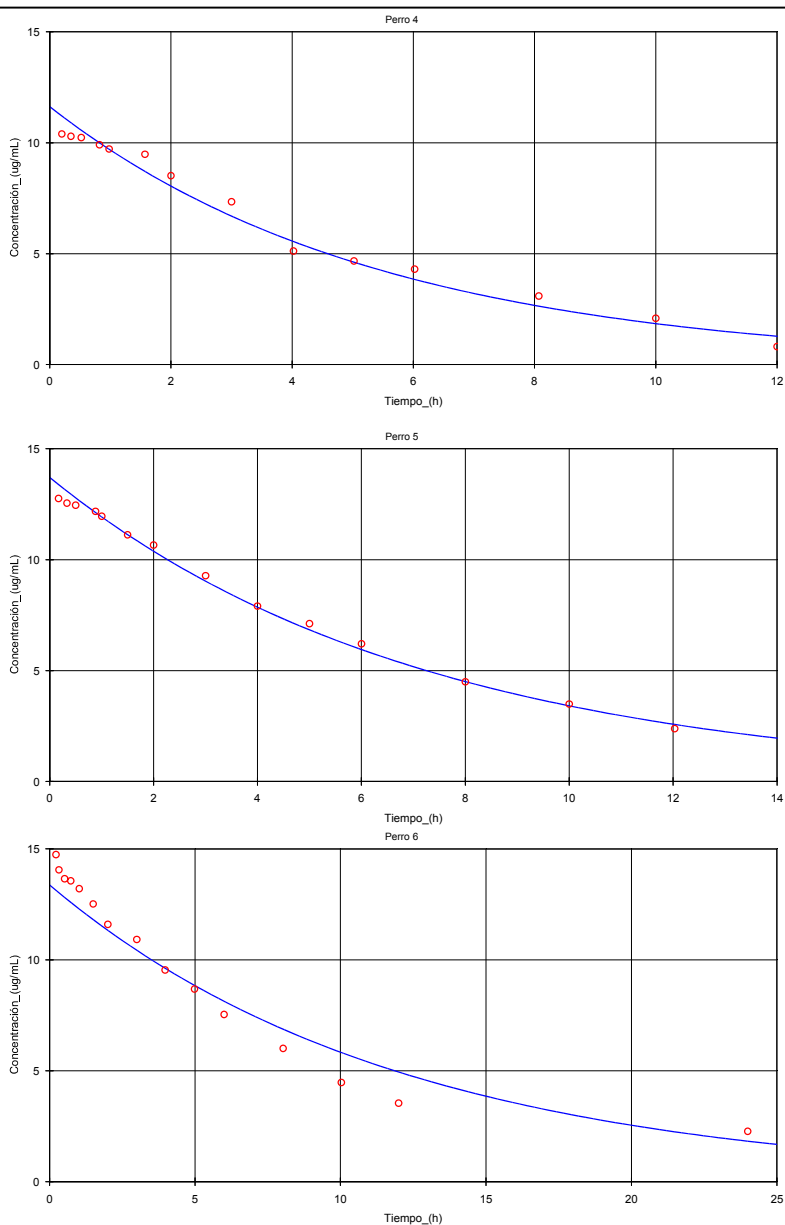


Figura 8. Curvas de niveles plasmáticos–tiempo obtenidas tras la administración intravenosa de 87.85 mg de teofilina a los perros 4, 5 y 6. Círculos rojos: valores observados experimentalmente. Línea azul: ajuste al modelo monocompartimental.

Apéndice II

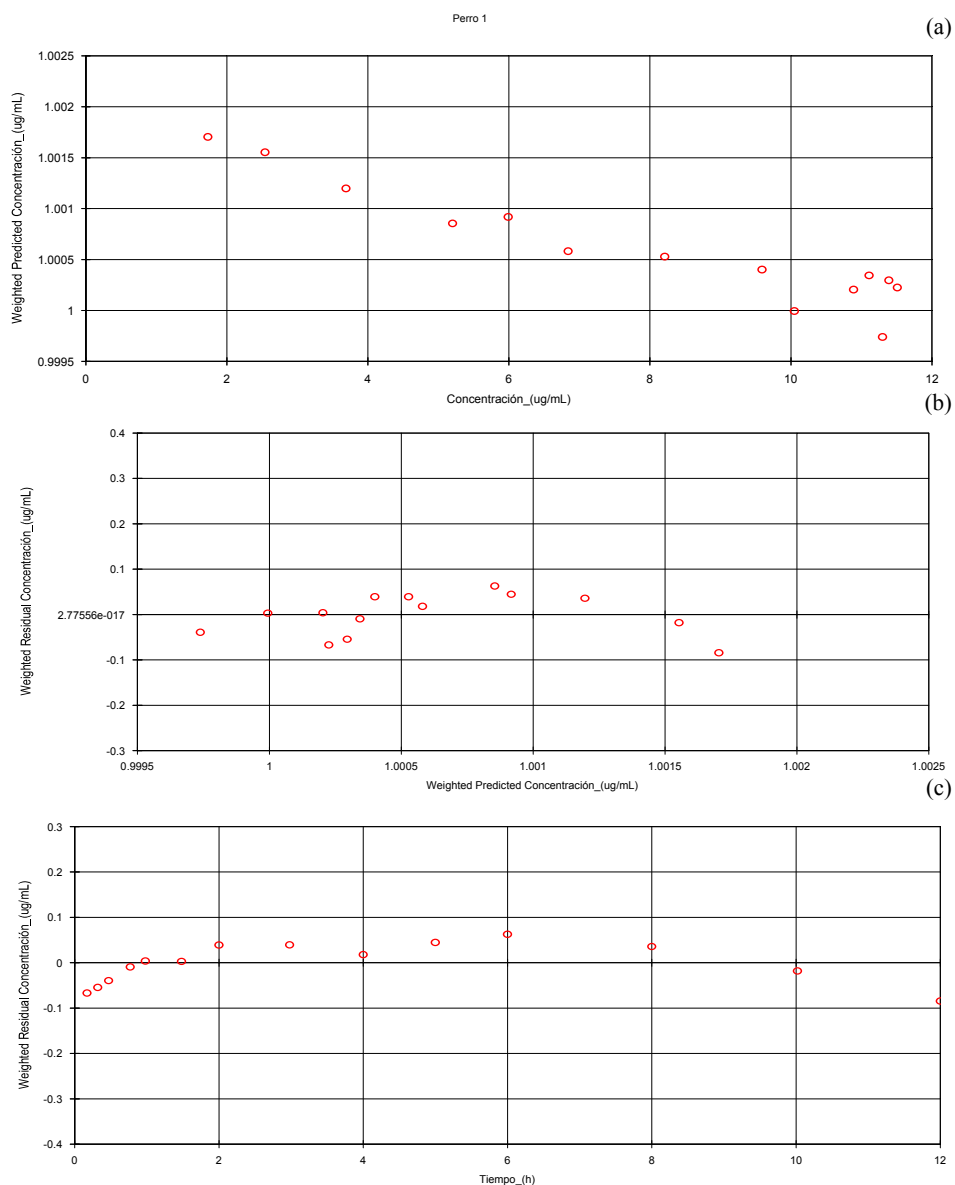


Figura 9. Representaciones gráficas del ajuste de los datos intravenosos del perro 1: (a) correlación entre los valores experimentales y los valores calculados ponderados; (b) y (c) distribución de los residuales ponderados con respecto a la concentración predicha ponderada y el tiempo, respectivamente.

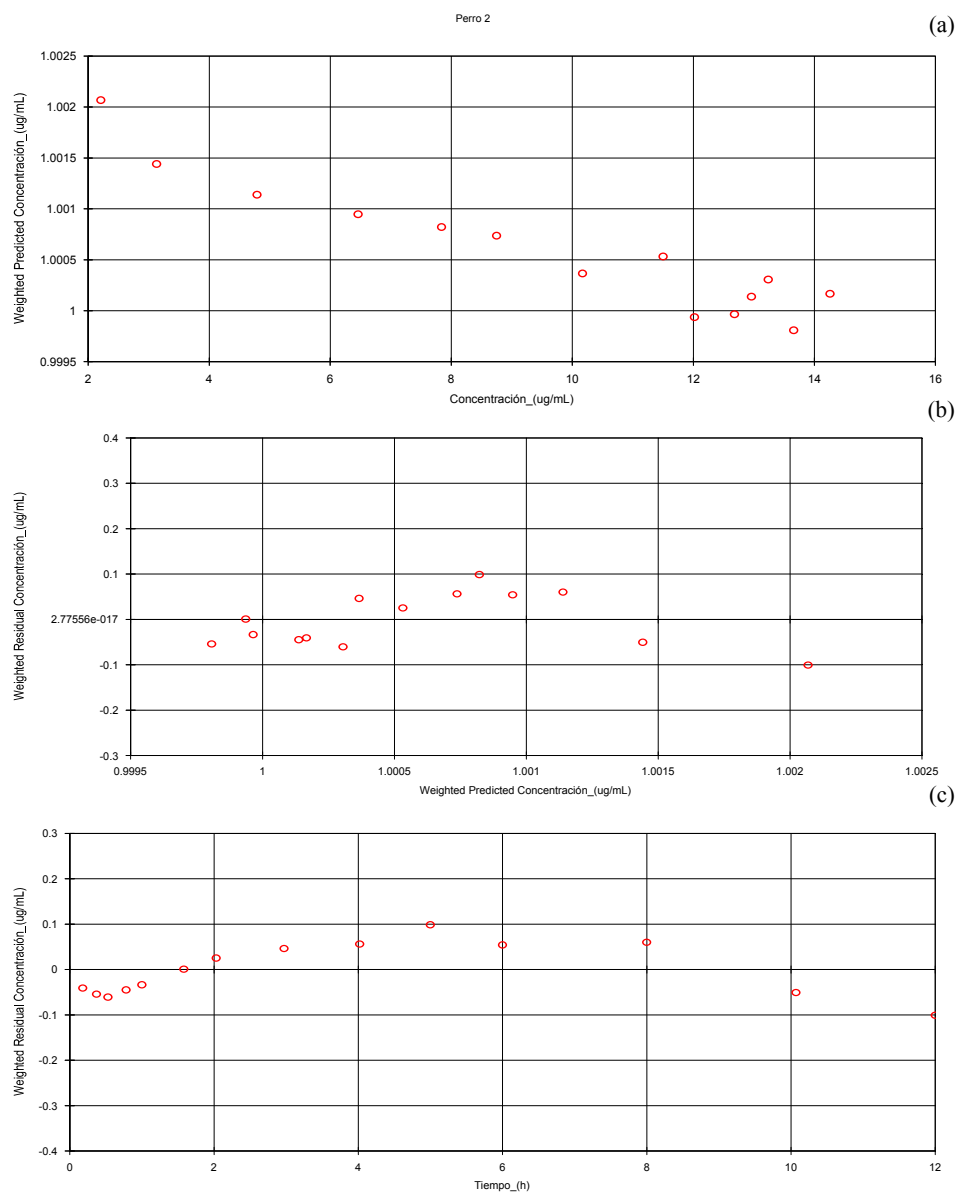


Figura 10. Representaciones gráficas del ajuste de los datos intravenosos del perro 2: (a) correlación entre los valores experimentales y los valores calculados ponderados; (b) y (c) distribución de los residuales ponderados con respecto a la concentración predicha ponderada y el tiempo, respectivamente.

Apéndice II

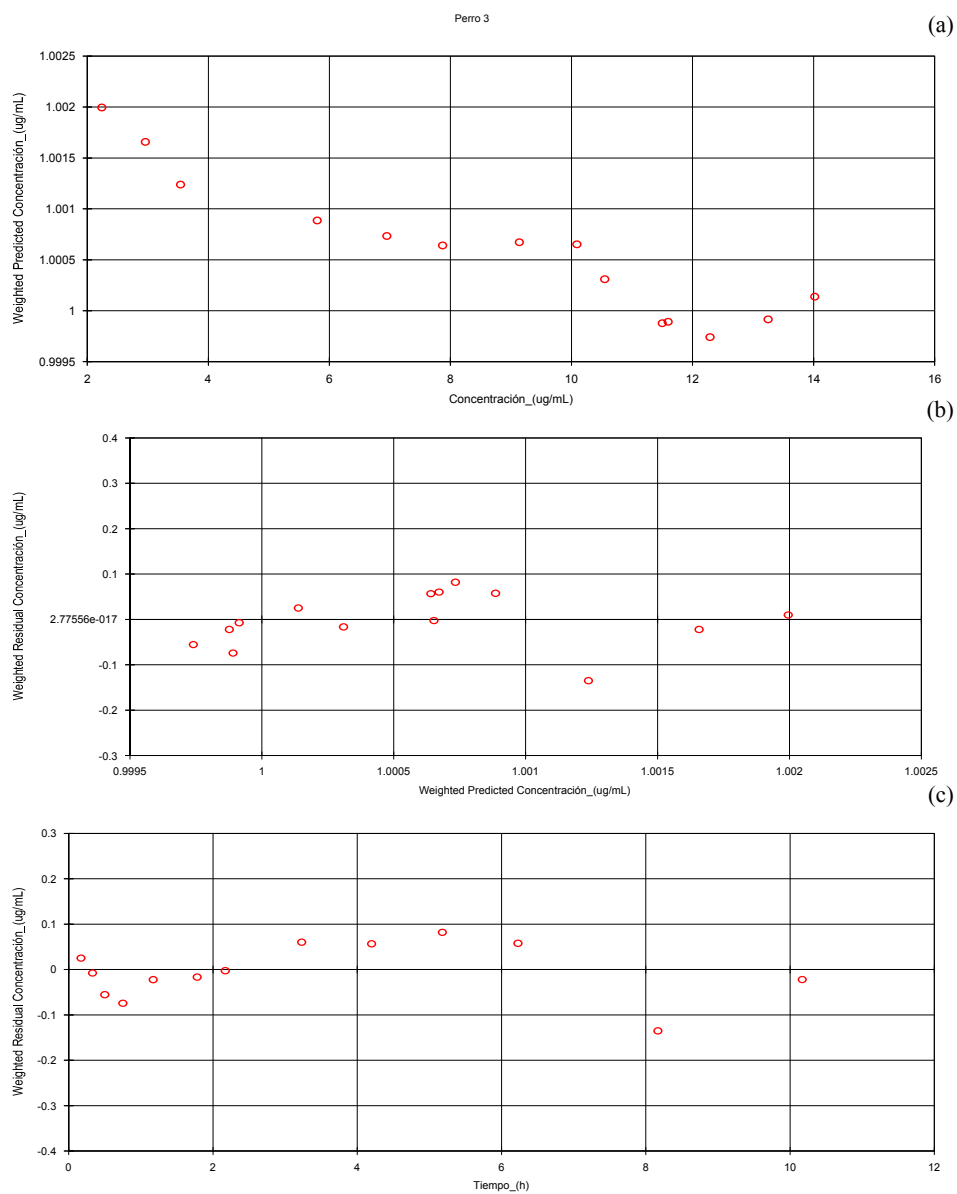


Figura 11. Representaciones gráficas del ajuste de los datos intravenosos del perro 3: (a) correlación entre los valores experimentales y los valores calculados ponderados; (b) y (c) distribución de los residuales ponderados con respecto a la concentración predicha ponderada y el tiempo, respectivamente.

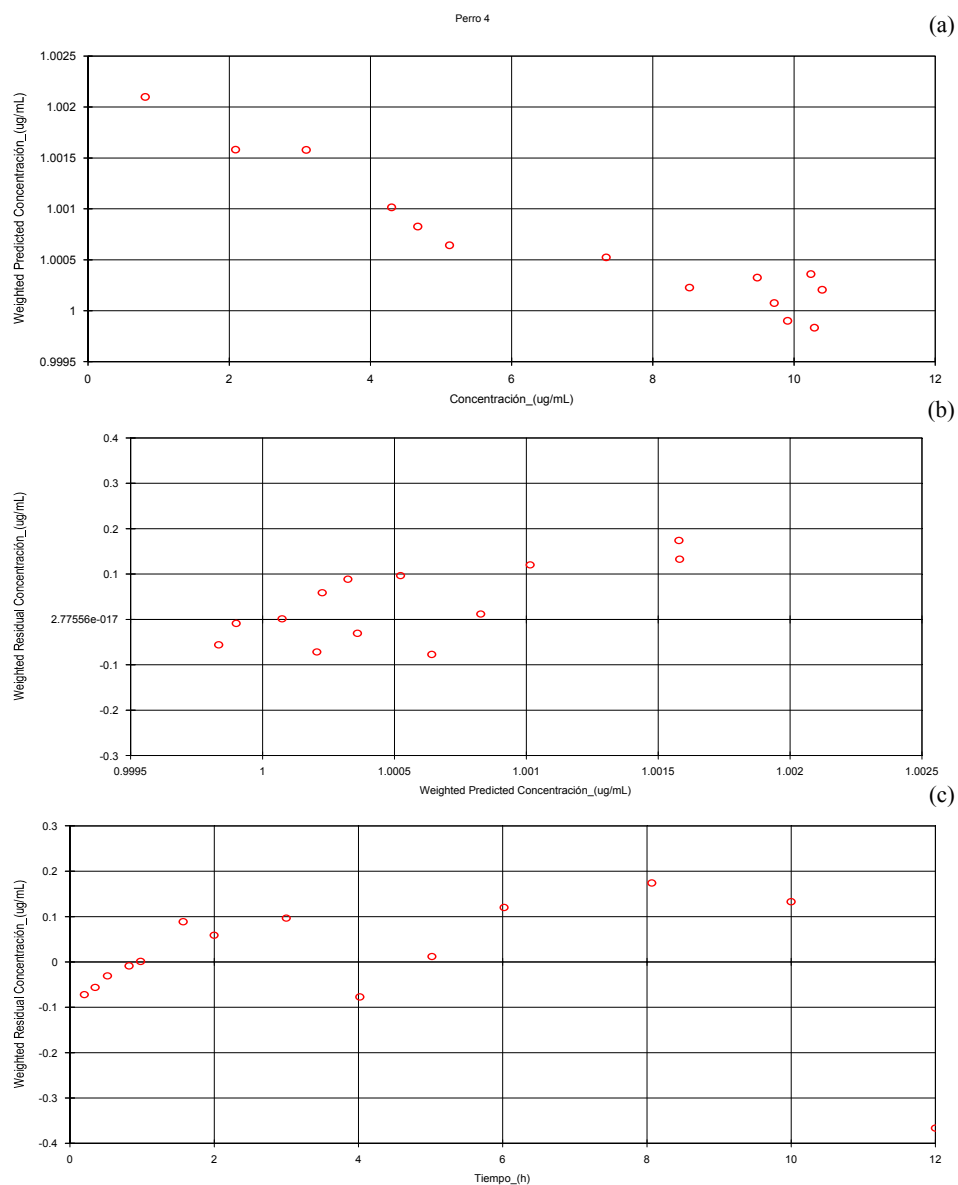


Figura 12. Representaciones gráficas del ajuste de los datos intravenosos del perro 4: (a) correlación entre los valores experimentales y los valores calculados ponderados; (b) y (c) distribución de los residuales ponderados con respecto a la concentración predicha ponderada y el tiempo, respectivamente.

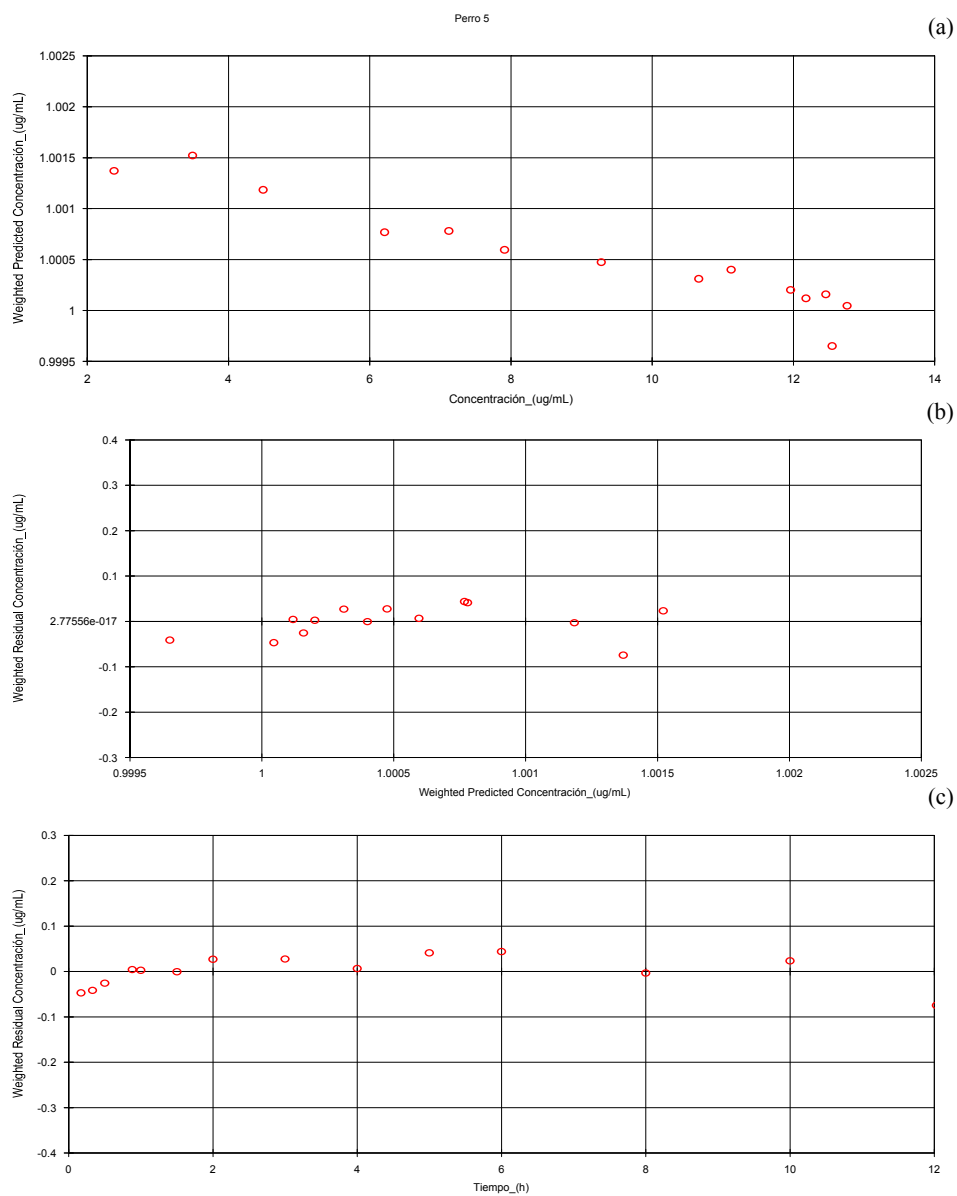


Figura 13. Representaciones gráficas del ajuste de los datos intravenosos del perro 5: (a) correlación entre los valores experimentales y los valores calculados ponderados; (b) y (c) distribución de los residuales ponderados con respecto a la concentración predicha ponderada y el tiempo, respectivamente.

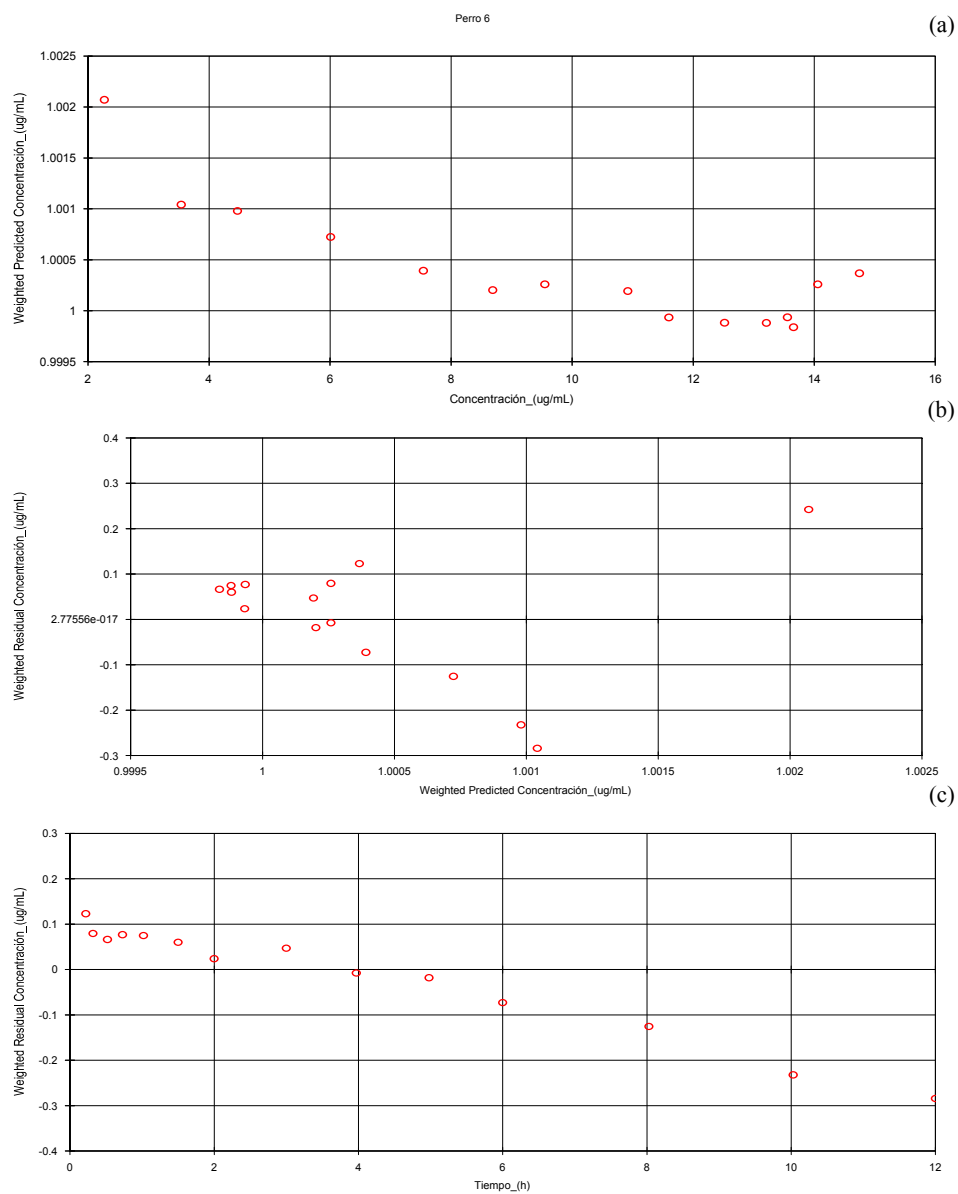


Figura 14. Representaciones gráficas del ajuste de los datos intravenosos del perro 6: (a) correlación entre los valores experimentales y los valores calculados ponderados; (b) y (c) distribución de los residuales ponderados con respecto a la concentración predicha ponderada y el tiempo, respectivamente.

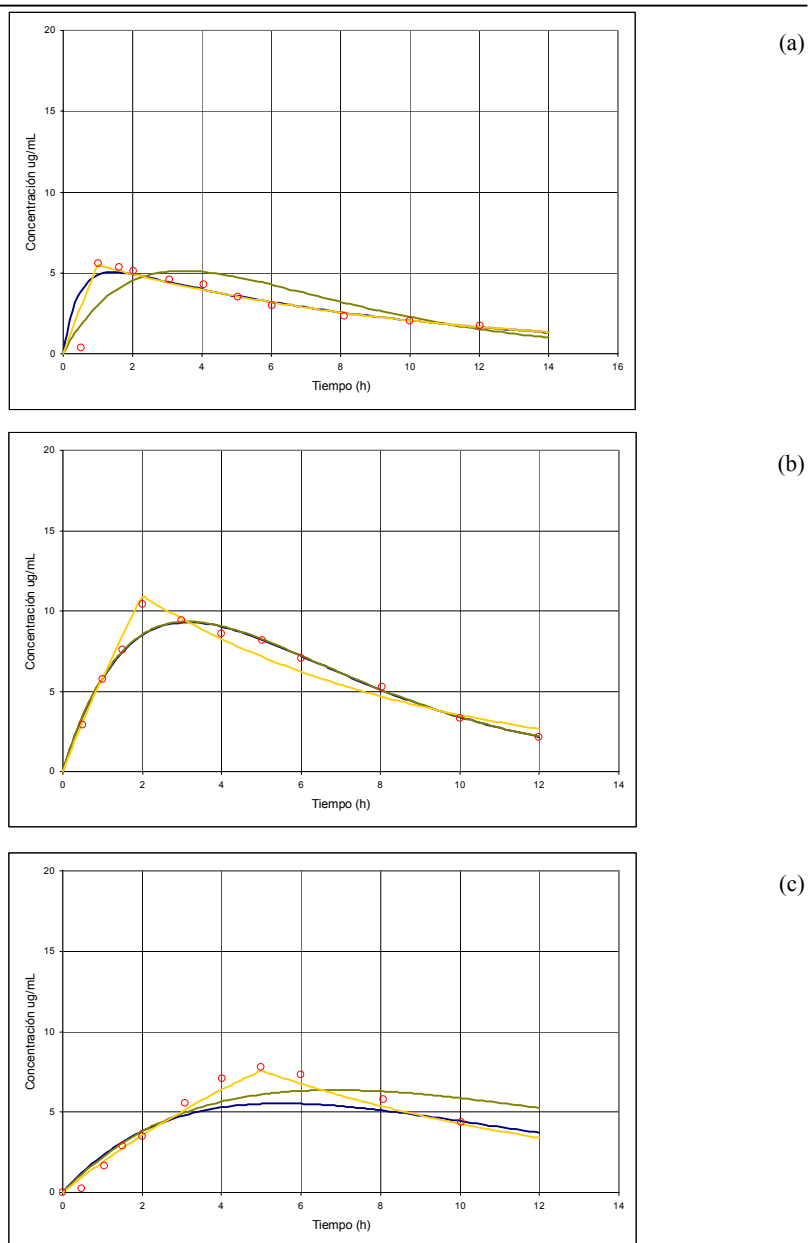


Figura 15. Curvas de niveles plasmáticos–tiempo obtenidas tras la administración oral de un comprimido de Theo-Dur[®] al perro 1 (a), perro 2 (b) y perro 3 (c). Círculos rojos: valores observados; línea azul, verde y amarilla: ajuste a los modelos 3, 5, y 2, respectivamente.

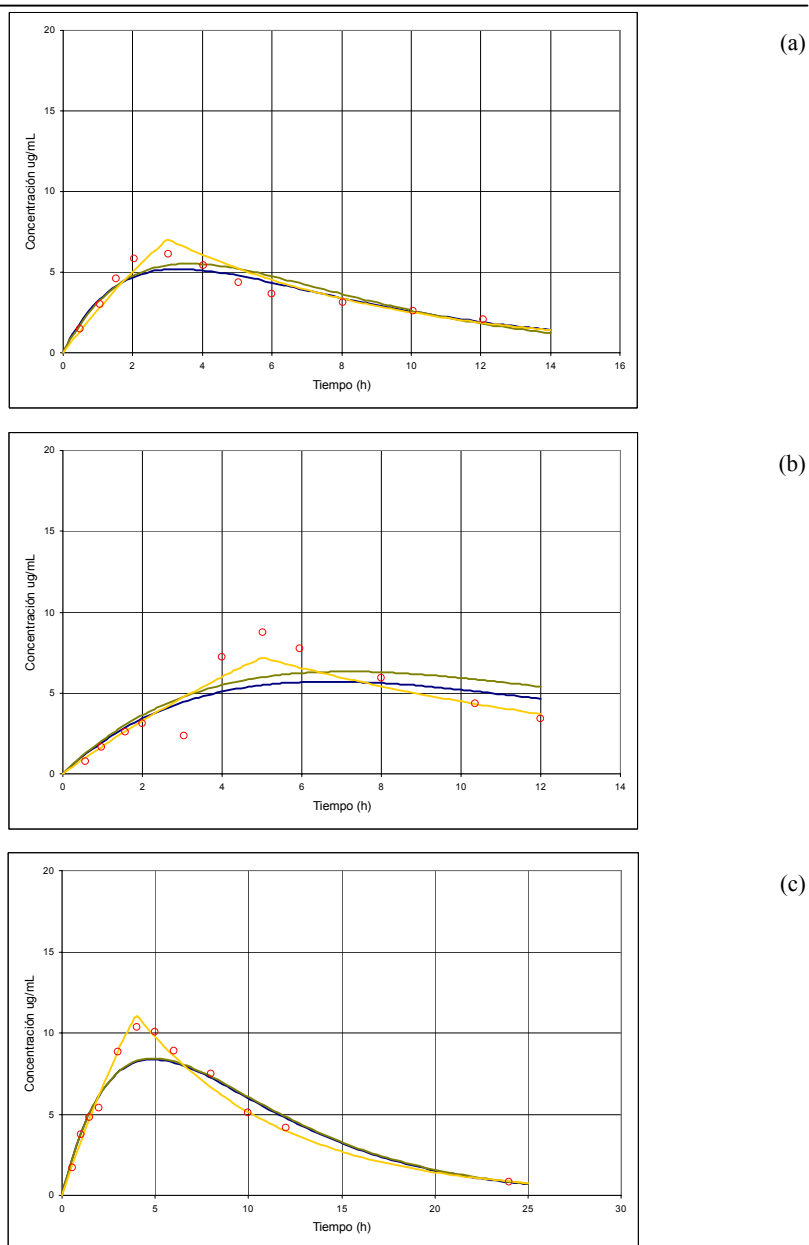


Figura 16. Curvas de niveles plasmáticos–tiempo obtenidas tras la administración oral de un comprimido de Theo-Dur® al perro 4 (a), perro 5 (b) y perro 6 (c). Círculos rojos: valores observados; línea azul, verde y amarilla: ajuste a los modelos 3, 5, y 2, respectivamente.

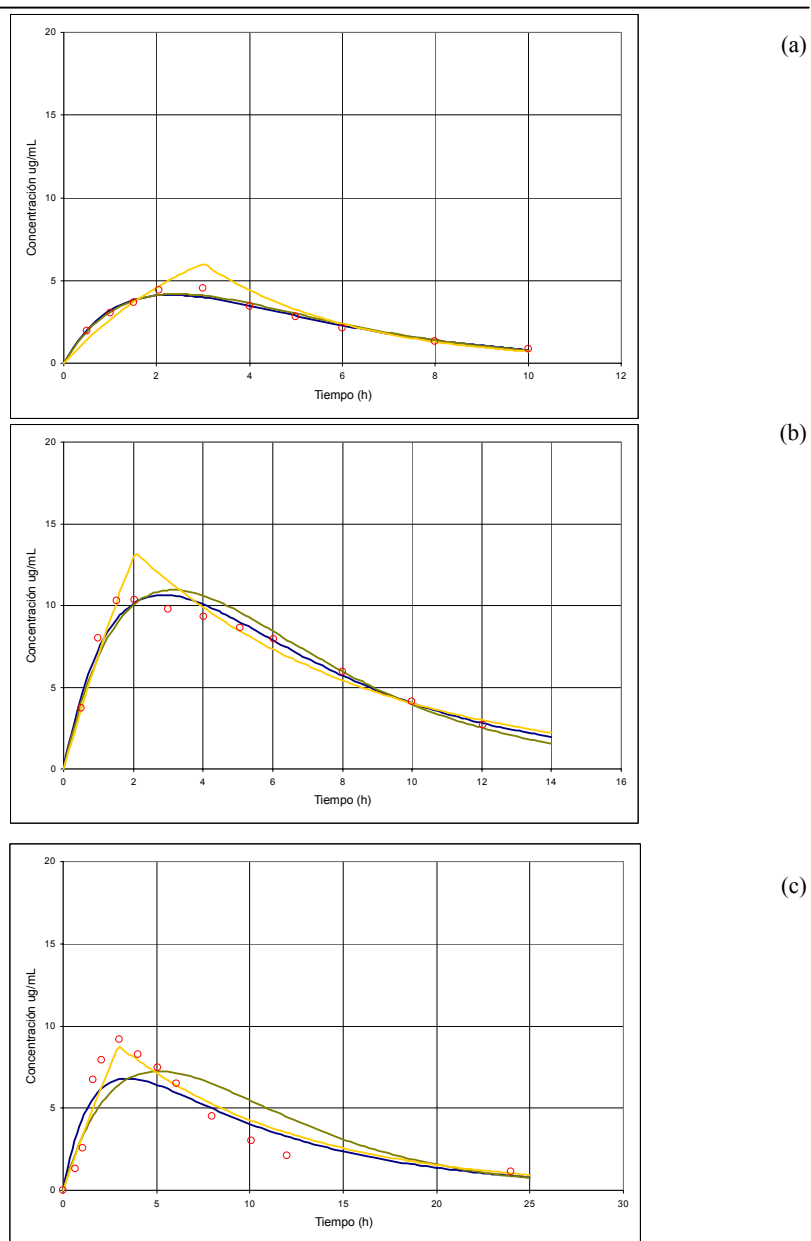


Figura 17. Curvas de niveles plasmáticos–tiempo obtenidas tras la administración oral de un comprimido de teofilina elaborado con HAMMAL al perro 1 (a), perro 2 (b) y perro 3 (c). Círculos rojos: valores observados; línea azul, verde y amarilla: ajuste a los modelos 3, 5, y 2, respectivamente.

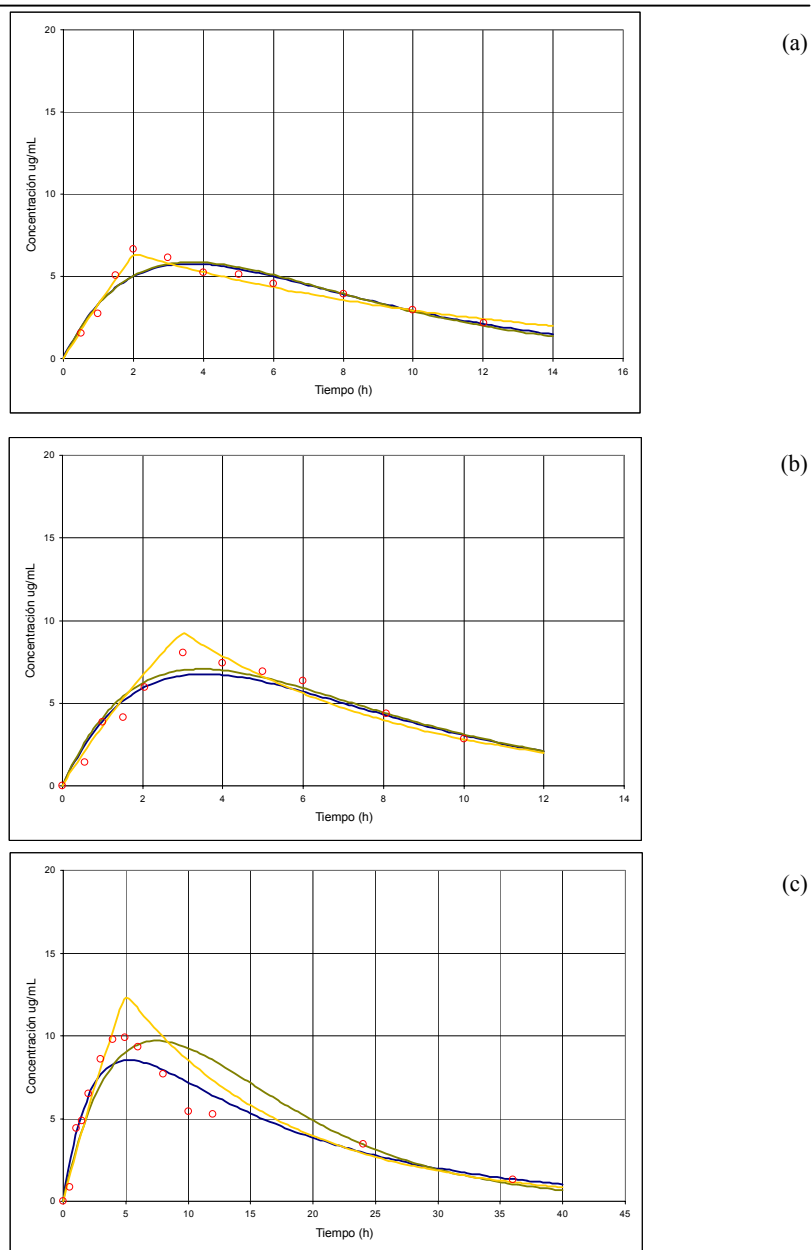


Figura 18. Curvas de niveles plasmáticos-tiempo obtenidas tras la administración oral de un comprimido de teofilina elaborado con HAMMAL al perro 4 (a), perro 5 (b) y perro 6 (c). Círculos rojos: valores observados; línea azul, verde y amarilla: ajuste a los modelos 3, 5, y 2, respectivamente.

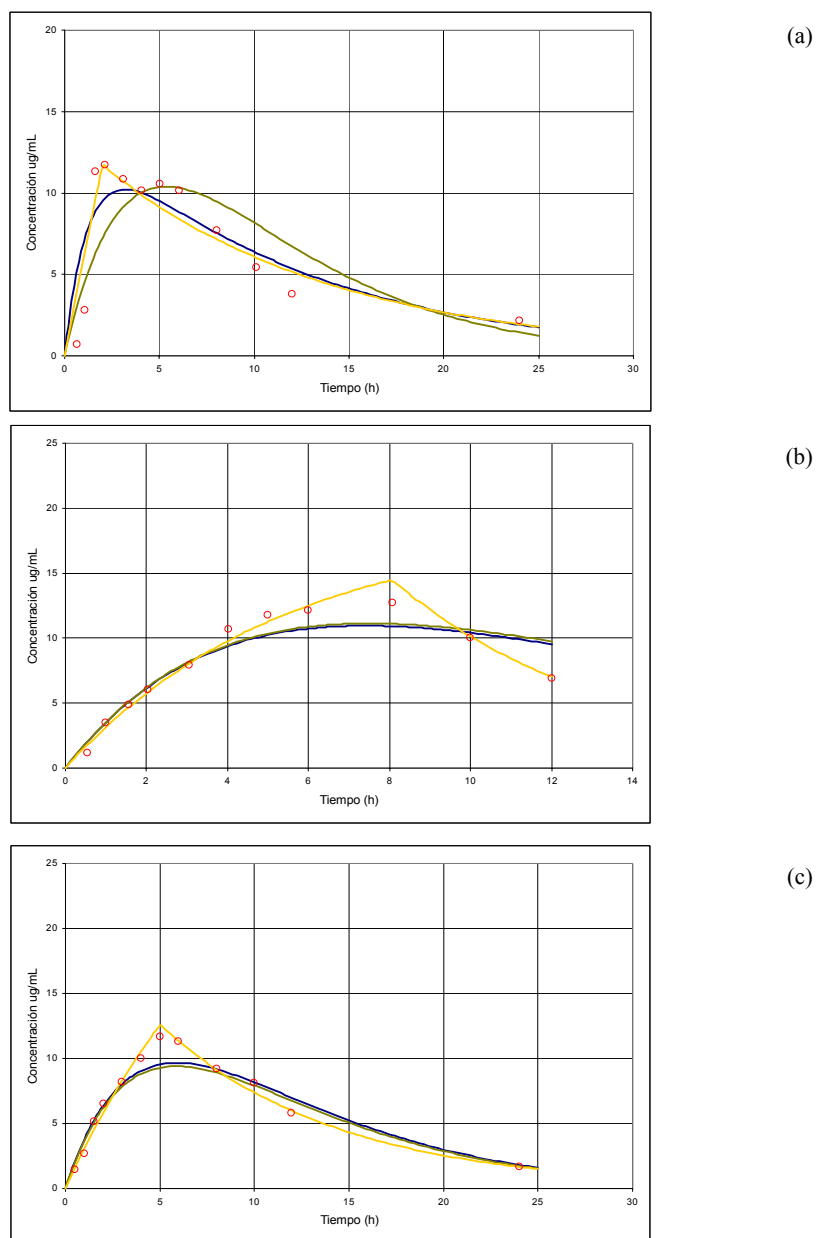


Figura 19. Curvas de niveles plasmáticos–tiempo obtenidas tras la administración oral de un comprimido de Theolair® al perro 1 (a), perro 2 (b) y perro 3 (c). Círculos rojos: valores observados; línea azul, verde y amarilla: ajuste a los modelos 3, 5, y 2, respectivamente.

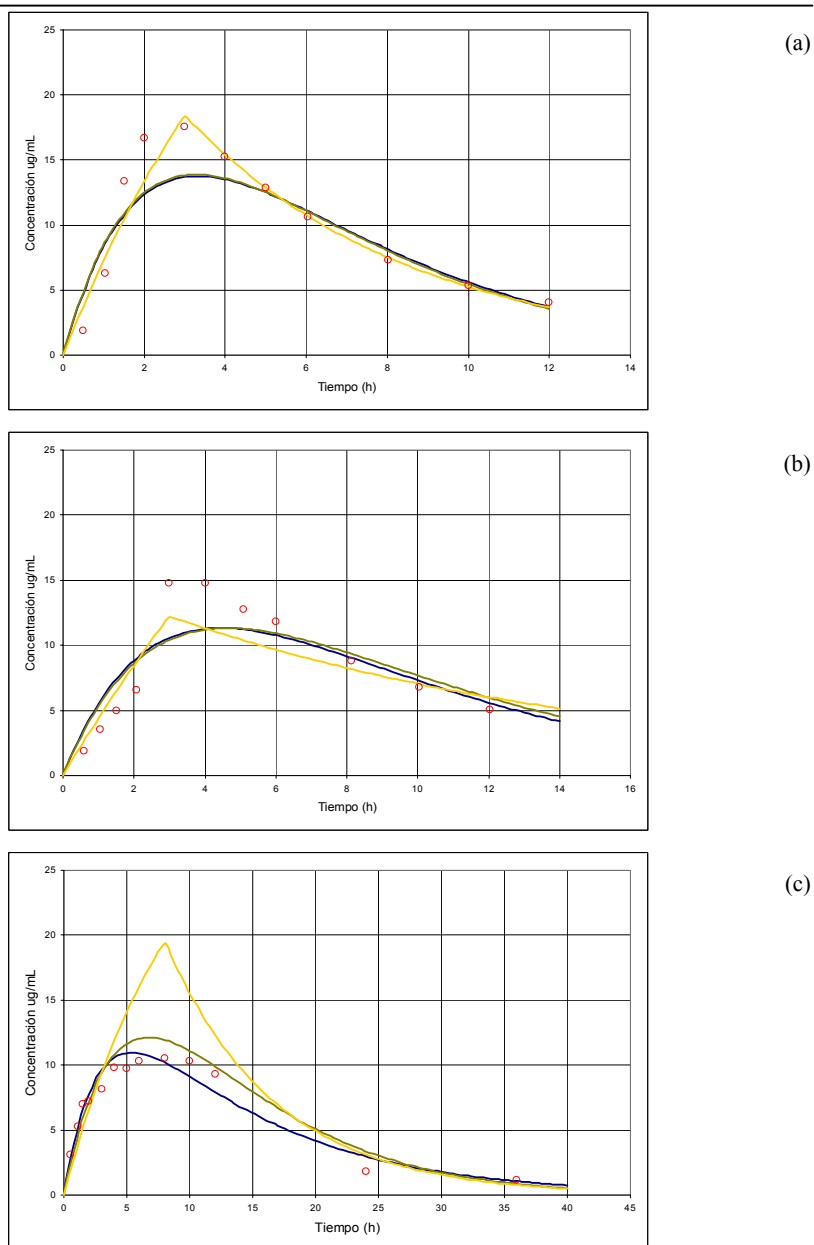


Figura 20. Curvas de niveles plasmáticos–tiempo obtenidas tras la administración oral de un comprimido de Theolair® al perro 4 (a), perro 5 (b) y perro 6 (c). Círculos rojos: valores observados; línea azul, verde y amarilla: ajuste a los modelos 3, 5, y 2, respectivamente.

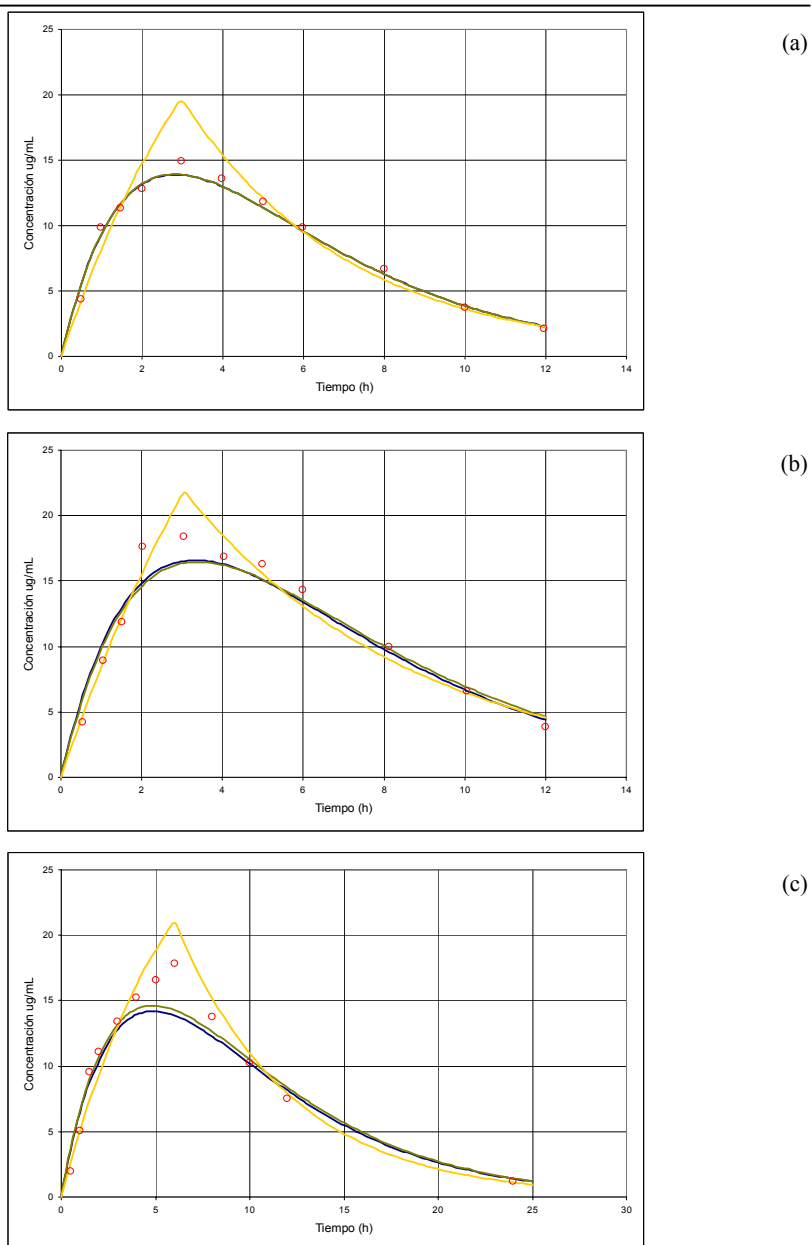


Figura 21. Curvas de niveles plasmáticos–tiempo obtenidas tras la administración oral de un comprimido de teofilina elaborado con CAMMAO al perro 1 (a), perro 2 (b) y perro 3 (c). Círculos rojos: valores observados; línea azul, verde y amarilla: ajuste a los modelos 3, 5, y 2, respectivamente.

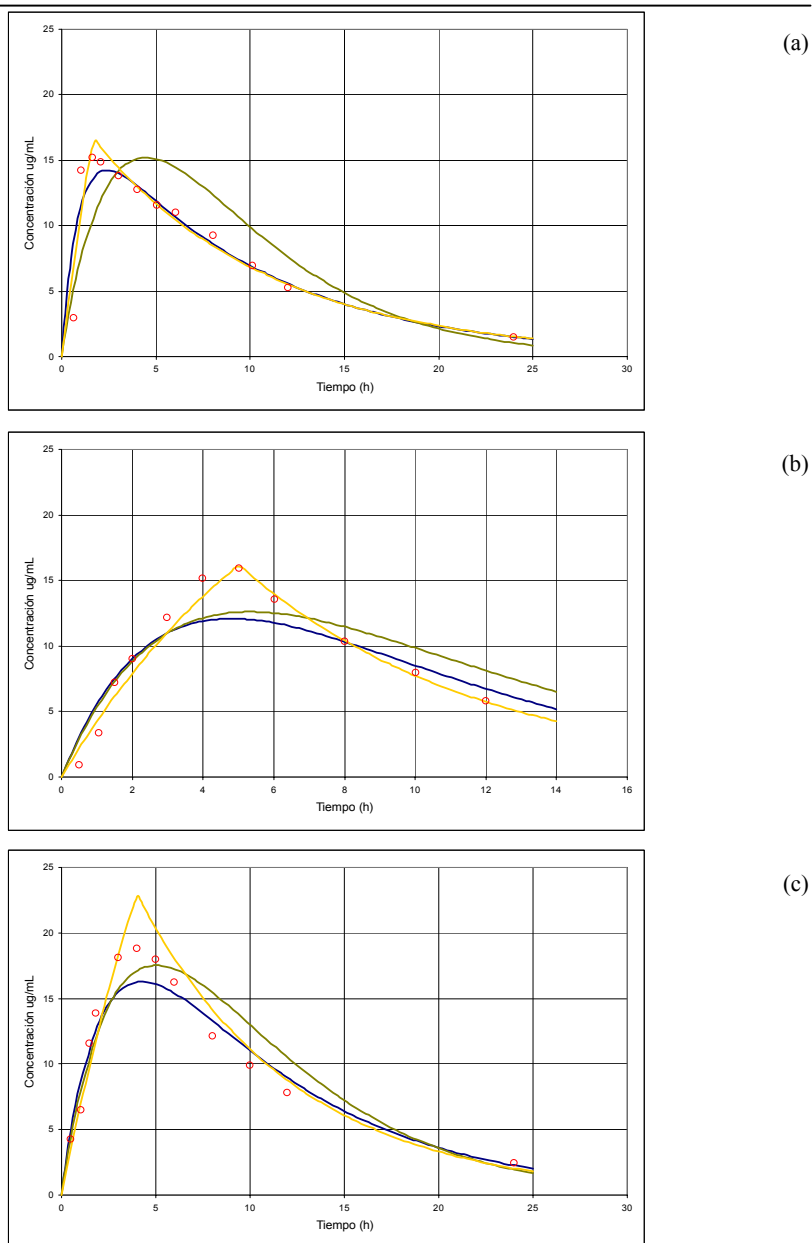


Figura 22. Curvas de niveles plasmáticos–tiempo obtenidas tras la administración oral de un comprimido de teofilina elaborado con CAMMAO al perro 4 (a), perro 5 (b) y perro 6 (c). Círculos rojos: valores observados; línea azul, verde y amarilla: ajuste a los modelos 3, 5, y 2, respectivamente.

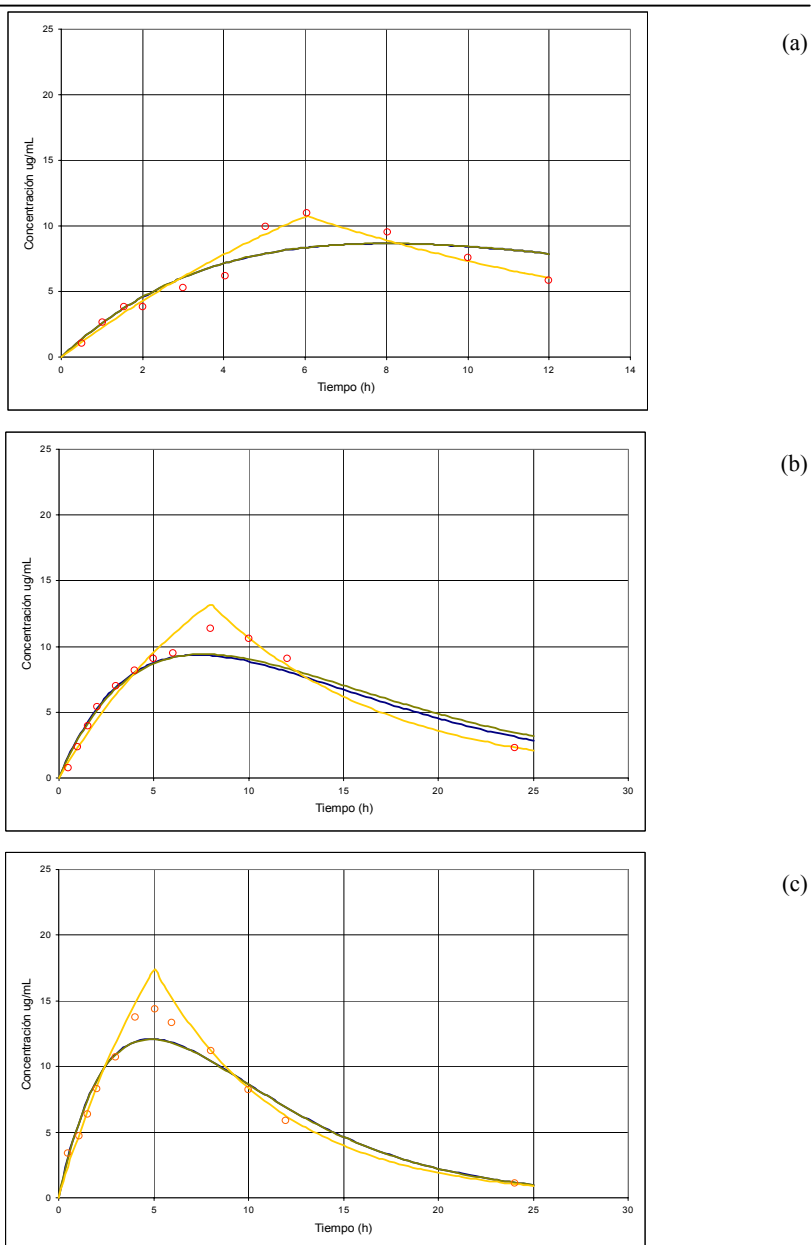


Figura 23. Curvas de niveles plasmáticos–tiempo obtenidas tras la administración oral de un comprimido de teofilina elaborado con CAMMAL al perro 1 (a), perro 2 (b) y perro 3 (c). Círculos rojos: valores observados; línea azul, verde y amarilla: ajuste a los modelos 3, 5, y 2, respectivamente.

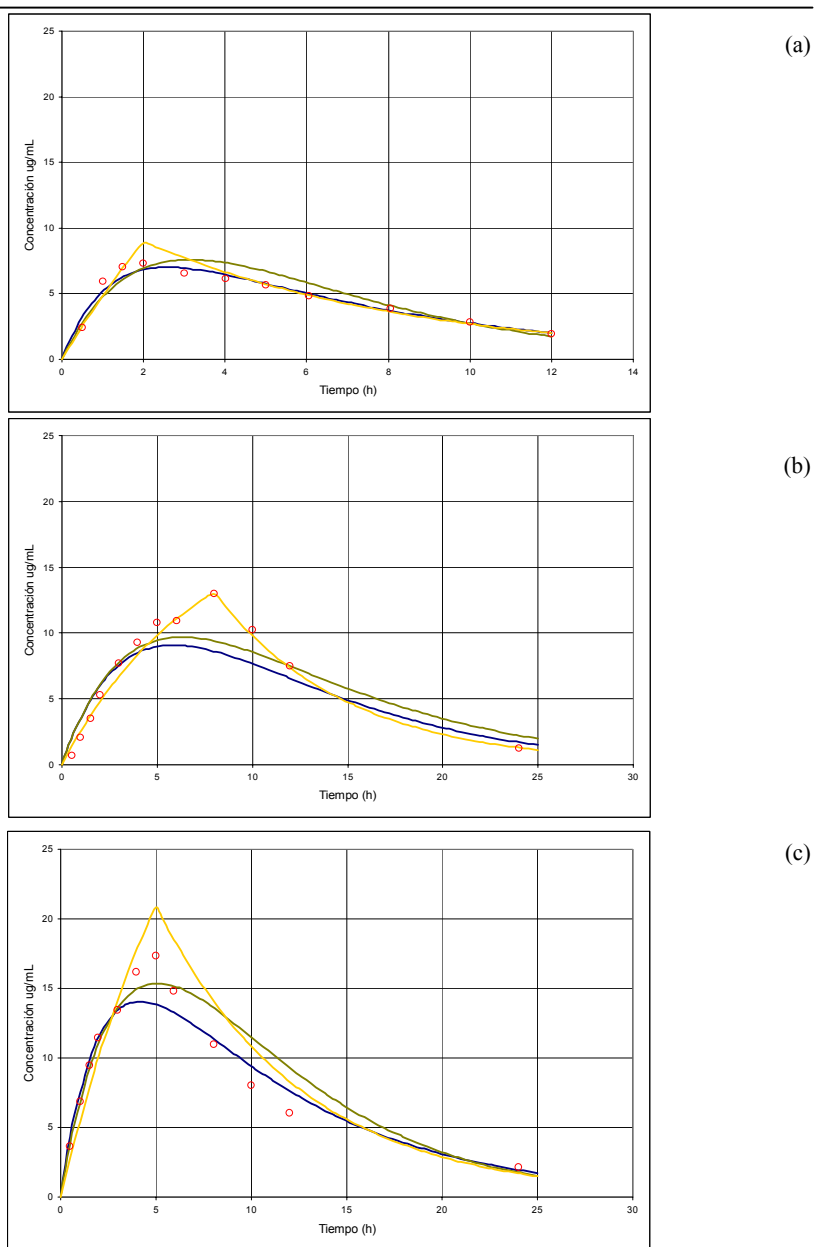


Figura 24. Curvas de niveles plasmáticos–tiempo obtenidas tras la administración oral de un comprimido de teofilina elaborado con CAMMAL al perro 4 (a), perro 5 (b) y perro 6 (c). Círculos rojos: valores observados; línea azul, verde y amarilla: ajuste a los modelos 3, 5, y 2, respectivamente.

5. Parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental

Tabla 13. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis compartimental de los datos intravenosos.

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
C_0	µg/mL	12.67	15.28	14.03	11.63	13.71	13.38
k_{el}	h ⁻¹	0.16	0.15	0.15	0.18	0.14	0.08
$t_{1/2}$	h	4.37	4.55	4.60	3.77	4.98	8.36
AUC_0^∞	(µg/mL)-h	79.91	100.34	93.05	63.17	98.55	161.30
Cl	L/h	1.10	0.88	0.94	1.39	0.89	0.54
MRT	h	6.30	6.57	6.63	5.43	7.19	12.06
$V_{d(ee)}$	L	6.93	5.75	6.26	7.55	6.41	6.57

Tabla 14. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos de Theo-Dur[®] con 100 mg de teofilina.

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
$t_{máx}$	h	1.00	3.16	5.00	3.02	5.02	4.00
$C_{máx}$	µg/mL	5.50	9.33	7.57	7.03	7.19	11.10
$C_{máx}/D$	mL ⁻¹	0.05	0.09	0.08	0.07	0.07	0.11
k_a	h ⁻¹	-	0.32	-	-	-	-
$t_{1/2ka}$	h	-	2.19	-	-	-	-
k_0	(µg/mL)-h	*	-	19.26	47.42	16.61	21.73
k_{el}	h ⁻¹	0.11	0.32	0.11	0.15	0.10	0.13
$t_{1/2kel}$	h	6.31	2.19	6.06	4.71	7.26	5.39
AUC_0^∞	(µg/mL)-h	52.86	80.22	86.94	59.13	94.88	110.44
AUC_0^∞/D	h/mL	5.29E-04	8.02E-04	8.69E-04	5.91E-04	9.49E-04	1.10E-03
MAT	h	0.50	3.13	2.50	1.51	2.51	2.00
F	%	58.12	70.23	82.09	82.23	84.58	60.15

*Pocos datos en la fase de absorción para calcular la constante

Tabla 15. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos elaborados con HAMMAL con 100 mg de teofilina.

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
$t_{m\acute{a}x}$	h	2.43	2.85	3.02	2.02	3.00	5.24
$C_{m\acute{a}x}$	$\mu\text{g/mL}$	4.18	10.64	8.74	6.37	9.30	8.52
$C_{m\acute{a}x}/D$	mL^{-1}	0.04	0.11	0.09	0.06	0.09	0.09
k_a	h^{-1}	0.41	0.59	-	-	-	0.42
$t_{1/2ka}$	h	1.69	1.18	-	-	-	1.65
k_0	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	-	-	59.17	43.22	28.49	-
k_{el}	h^{-1}	0.41	0.19	0.10	0.10	0.17	0.07
$t_{1/2kel}$	h	1.69	3.71	6.80	7.13	4.07	10.56
AUC_0^∞	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	27.67	97.05	99.59	72.16	69.75	183.23
AUC_0^∞/D	h/mL	2.77E-04	9.70E-04	9.96E-04	7.22E-04	6.98E-04	1.83E-03
MAT	h	2.44	1.69	1.51	1.01	1.50	2.38
F	%	30.42	84.96	94.02	100.34	62.18	99.79

Tabla 16. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos de Theolair® con 175 mg de teofilina

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
$t_{m\acute{a}x}$	h	2.13	8.07	5.00	3.00	3.00	5.42
$C_{m\acute{a}x}$	$\mu\text{g/mL}$	11.69	14.48	12.58	18.44	12.23	10.96
$C_{m\acute{a}x}/D$	mL^{-1}	0.07	0.08	0.07	0.11	0.07	0.06
k_a	h^{-1}	-	-	-	-	-	0.34
$t_{1/2ka}$	h	-	-	-	-	-	2.05
k_0	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	*	12.55	16.73	51.94	18.47	-
k_{el}	h^{-1}	0.08	0.18	0.11	0.18	0.08	0.09
$t_{1/2kel}$	h	8.49	3.76	6.51	3.87	8.80	8.03
AUC_0^∞	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	155.11	150.92	152.29	133.03	174.44	202.70
AUC_0^∞/D	h/mL	8.86E-04	8.62E-04	8.70E-04	7.60E-04	9.97E-04	1.16E-03
MAT	h	1.07	4.04	2.50	1.50	1.50	2.94
F	%	97.44	75.50	82.16	105.71	88.86	63.08

*Pocos datos en la fase de absorción para calcular la constante

Tabla 17. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos elaborados con CAMMAO con 175 mg de teofilina.

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
$t_{m\acute{a}x}$	h	2.81	3.05	6.00	1.65	5.02	4.27
$C_{m\acute{a}x}$	$\mu\text{g/mL}$	13.92	21.85	21.11	16.71	16.18	16.29
$C_{m\acute{a}x}/D$	mL^{-1}	0.08	0.12	0.12	0.10	0.09	0.09
k_a	h^{-1}	0.36	-	-	-	-	0.41
$t_{1/2ka}$	h	1.95	-	-	-	-	1.68
k_0	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	-	33.06	13.64	*	23.81	-
k_{el}	h^{-1}	0.36	0.17	0.16	0.11	0.15	0.12
$t_{1/2kel}$	h	1.95	3.97	4.24	6.48	4.67	5.93
AUC_0^∞	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	106.50	161.38	202.62	170.42	154.71	229.41
AUC_0^∞/D	h/mL	6.09E-04	9.22E-04	1.16E-03	9.74E-04	8.84E-04	1.31E-03
MAT	h	2.78	1.53	3.00	0.83	2.51	2.43
F	%	66.91	80.73	109.32	135.42	78.81	71.39

* Pocos datos en la fase de absorción para calcular la constante.

Tabla 18. Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos del análisis compartimental de los datos de la administración oral de comprimidos elaborados con CAMMAL con 175 mg de teofilina.

Parámetro	Unidades	Perro					
		1	2	3	4	5	6
$t_{m\acute{a}x}$	h	6.03	8.00	4.87	2.58	8.00	4.19
$C_{m\acute{a}x}$	$\mu\text{g/mL}$	10.77	13.24	12.06	7.01	13.09	14.05
$C_{m\acute{a}x}/D$	mL^{-1}	0.06	0.08	0.07	0.04	0.07	0.08
k_a	h^{-1}	-	-	0.21	0.78	-	0.43
$t_{1/2ka}$	h	-	-	3.37	0.89	-	1.62
k_0	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	15.05	11.06	-	-	12.62	-
k_{el}	h^{-1}	0.10	0.11	0.21	0.16	0.14	0.12
$t_{1/2kel}$	h	7.14	6.37	3.37	4.45	4.79	6.00
AUC_0^∞	$(\mu\text{g/mL})\cdot\text{h}$	146.54	182.29	159.57	67.28	152.75	197.29
AUC_0^∞/D	h/mL	8.37E-04	1.04E-03	9.12E-04	3.84E-04	8.73E-04	1.13E-03
MAT	h	3.02	4.00	4.76	1.28	4.00	2.32
F	%	92.06	91.20	86.09	53.46	77.81	61.40

APÉNDICE III

RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

1. Comparación estadística de las medias de los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis no compartimental y compartimental (administración intravenosa).

Variable	Mean	Mean	t-value	df	p	Valid N	Valid N	Std.Dev.	Std.Dev.	F-ratio	p
	No com.	Com				No com	Com	No com	Com	variances	variances
C_o	13.55	13.45	0.0940	10	0.9269	6	6	2.24	1.24	3.2712	0.2193
k_{el}	0.15	0.14	0.1736	10	0.8657	6	6	0.03	0.03	1.0750	0.9387
$t_{1/2}$	5.01	5.11	-0.1036	10	0.9195	6	6	1.53	1.64	1.1519	0.8804
AUC_0^∞	98.74	99.39	-0.0356	10	0.9723	6	6	29.39	33.36	1.2888	0.7875
Cl	0.95	0.96	-0.0428	10	0.9667	6	6	0.26	0.28	1.1717	0.8662
MRT	7.17	7.36	-0.1470	10	0.8861	6	6	2.14	2.37	1.2285	0.8268
$Vd(ee)$	6.42	6.58	-0.4882	10	0.6359	6	6	0.52	0.61	1.4075	0.7167

2. Análisis de bioequivalencia

2.1. Variable $\ln C_{máx}$

2.1.1. Tabla de ANOVA

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medias cuadráticas	F	p
Animal	1.0524	5	0.2105	4.75	0.00800
Periodo	0.2003	5	0.0401	0.91	0.50000
Formulación	2.8082	5	0.5616		
Efecto residual (carry-over)	0.1261	5	0.0252	0.57	0.72000
Error (intra-animal)	0.6643	15	0.0443		
Total	4.8512	35			
Formulación (ajustada)	2.5198	5	0.5040	11.38	0.00010

Error estándar de la diferencia entre dos medias de formulaciones = 0.1236

2.1.2. Valores medios con y sin efectos residuales

Formulaciones	Medias ajustadas	Efectos residuales	Medias no ajustadas
IV	2.5897	-0.0282	2.5211
HAMMAL	2.0681	0.0816	2.0545
Theo-Dur [®]	2.0799	0.0542	2.0709
CAMMAO	2.8060	-0.0868	2.8204
CAMMAL	2.3930	0.0563	2.3836
Theolair [®]	2.5508	-0.0770	2.5637

2.1.3. Comparaciones

Los intervalos de confianza fueron construidos de la siguiente manera:

$$(\text{Media de la formulación a ensayar} - \text{Media de la formulación patrón}) \pm t(0.05, 15) \times \text{Error Estándar (diferencia de medias)}$$

- Comparación de la formulación HAMMAL con Theo-Dur[®] tomando este último como formulación de referencia.

$$(2.0681 - 2.0799) \pm 1.753 \times 0.1236 = -0.0118 \pm 0.2167 = (-0.2285, 0.2049)$$

Este intervalo no está incluido en (-0.2231, 0.2231) o, lo que es semejante, (79.57%, 122.74%) no está incluido en (80.0%, 125.0%), luego las dos formulaciones no son bioequivalentes.

- Comparación de la formulación CAMMAO con Theolair[®] tomando este último como formulación de referencia.

$$(2.8060 - 2.5508) \pm 1.753 \times 0.1236 = 0.2552 \pm 0.2167 = (0.0385, 0.4719)$$

Este intervalo no está incluido en (0.2231, 0.2231) o lo que es semejante, (103.92%, 160.30%) no está incluido en (80.0%, 125.0%), luego las dos formulaciones no son bioequivalentes.

Apéndice III

- Comparación de la formulación CAMMAL con Theolair[®] tomando este último como formulación de referencia.

$$(2.3950 - 2.5508) \pm 1.753 \times 0.1236 = -0.1558 \pm 0.2167 = (0.3725, 0.0609)$$

Este intervalo no está incluido en (-0.2231, 0.2231) o, lo que es semejante, (68.90%, 106.28%) no está incluido en (80.0%, 125.0%), luego las dos formulaciones no son bioequivalentes.

2.2. Variable ln AUC

2.2.1. Tabla de ANOVA

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medias cuadráticas	F	p
Animal	2.3524	5	0.4705	7.91	0.00080
Periodo	0.1182	5	0.0236	0.40	0.84000
Formulación	3.7149	5	0.7430		
Efecto residual (carry-over)	0.4028	5	0.0806	1.35	0.30000
Error (intra-animal)	0.8919	15	0.0595		
Total	7.4802	35			
Formulación (ajustada)	3.2018	5	0.6404	10.76	0.00015

Error estándar de la diferencia entre dos medias de formulaciones = 0.1433

2.3.2. Valores medios con y sin efectos residuales

Formulaciones	Medias ajustadas	Efectos residuales	Medias no ajustadas
IV	4.5838	0.1536	4.5583
HAMMAL	4.3554	0.1072	4.3376
Theo-Dur [®]	4.3416	0.0717	4.3296
CAMMAO	5.0747	-0.1755	5.1039
CAMMAL	4.9365	-0.0397	4.9431
Theolair [®]	5.0122	-0.1172	5.0318

2.2.3. Comparaciones

Los intervalos de confianza fueron construidos de la siguiente manera:

$$(\text{Media de la formulación a ensayar} - \text{Media de la formulación patrón}) \pm t(0.05,15) \times \text{Error Estándar (diferencia de medias)}.$$

- Comparación de la formulación HAMMAL con Theo-Dur[®] tomando este último como formulación de referencia.

$$(4.3554 - 4.3416) \pm 1.753 \times 0.1433 = 0.0138 \pm 0.2512 = (-0.2374, 0.2650)$$

Este intervalo no está incluido en (-0.2231, 0.2231) o, lo que es semejante, (78.87%, 130.34%) no está incluido en (80.0%, 125.0%), luego las dos formulaciones no son bioequivalentes.

- Comparación de la formulación CAMMAO con Theolair[®] tomando este último como formulación de referencia.

$$(5.0747 - 5.0122) \pm 1.753 \times 0.1433 = 0.0625 \pm 0.2512 = (-0.1887, 0.3137)$$

Este intervalo no está incluido (-0.2231, 0.2231) o, lo que es semejante (82.80%, 136.85%) no está incluido en (80.0%, 125.0%), luego las dos formulaciones no son bioequivalentes.

- Comparación de la formulación CAMMAL con Theolair[®] tomando este último como formulación de referencia.

$$(4.9365 - 5.0122) \pm 1.753 \times 0.1433 = -0.0757 \pm 0.2512 = (-0.3269, 0.1755)$$

Este intervalo no está incluido en (-0.2231, 0.2231) o, lo que es semejante, (72.12%, 119.18%) no está incluido en (80.0%, 125.0%), luego las dos formulaciones no son bioequivalentes.