



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Formulación y optimización de un parche bucal
mucoadhesivo para la entrega unidireccional de tartrato de
metoprolol: Una alternativa a la vía oral en el tratamiento
de la hipertensión arterial.**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN FARMACIA

PRESENTA:

ESCALONA RAYO CRISTIAN FERNANDO

ASESOR:

DR. JOSÉ JUAN ESCOBAR CHÁVEZ

COASESOR:

M. EN C. PABLO SERRANO CASTAÑEDA

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Formulación y optimización de un parche bucal mucoadhesivo para la entrega unidireccional de tartrato de metroprolol: Una alternativa a la vía oral en el tratamiento de la hipertensión arterial.

Que presenta el pasante: **Cristian Fernando Escalona Rayo**

Con número de cuenta: 409024539 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Farmacia

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 20 de Septiembre de 2016.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.Q.M. Rafael Sampere Morales	
VOCAL	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	
SECRETARIO	Dr. José Juan Escobar Chávez	
1er. SUPLENTE	Dra. Eva María Molina Trinidad	
2do. SUPLENTE	Dra. Clara Luisa Domínguez Delgado	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga

AGRADECIMIENTOS

A **DIOS**, por darme la fortaleza e inteligencia necesaria para poder superar cada una de los obstáculos que se me presentaron.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)** por brindarme una formación de calidad.

A mi asesor, **Dr. José Juan Escobar Chávez** por su apoyo, paciencia, confianza y comprensión otorgada desde el inicio de este proyecto.

A mi co-asesor, **M. en C. Pablo Serrano Castañeda** por su apoyo, orientación y amistad.

A los miembros de mi jurado, por sus importantes aportaciones para el enriquecimiento de este trabajo.

A los proyectos:

PAPIIT IT 200115: "Diseño, desarrollo y caracterización de microagujas poliméricas biodegradables y geles termorreversibles cargados de sustancias de interés terapéutico para el tratamiento de enfermedades como alternativas a la vía oral".

PIAPI 1619: "Desarrollo de formas farmacéuticas no convencionales para la administración de fármacos".

DEDICATORIA

Con todo mi amor dedico este trabajo a mis padres: **Elisa Rayo Calderón y Sergio Escalona Gil**, por su apoyo incondicional, por ser el principal motor para conseguir mis objetivos y por todas sus bendiciones.

A mis hermanos, **Oscar y Elizabeth** por su amor, apoyo y motivación. Son una parte fundamental de mi vida.

A mis compañeros de carrera con quienes comparto mi amistad y logros obtenidos.

A mis compañeros de laboratorio por los agradables momentos que compartimos juntos.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	I
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE TABLAS.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS.....	X
RESUMEN	XI
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. HIPERTENSIÓN ARTERIAL	3
2.1.1. Definición	3
2.1.2. Clasificación de la presión arterial en adultos	3
2.1.3. Clasificación de la presión arterial en niños y adolescentes.....	3
2.1.4. Tratamiento farmacológico.....	4
2.2. METOPROLOL	5
2.2.1. Indicaciones	5
2.2.2. Contraindicaciones	6
2.2.3. Farmacología y farmacocinética.....	6
2.2.4. Mecanismo de acción	7
2.2.5. Reacciones adversas	7
2.2.6. Interacciones farmacológicas	7
2.2.7. Efectos secundarios	7
2.3. LA MUCOSA ORAL: DESCRIPCIÓN GENERAL	8
2.4. ESTRUCTURA DE LA MUCOSA.....	9
2.4.1. Epitelio	9
2.4.2. Membrana basal.....	9
2.4.3. Lámina propia.....	9
2.4.4. Submucosa.....	9
2.5. MOCO: COMPOSICIÓN, ESTRUCTURA Y FUNCIÓN	10

2.6. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA MUCOSA BUCAL.....	12
2.7. LA MUCOSA BUCAL COMO UNA BARRERA FISIOLÓGICA AL PASO DE FÁRMACOS	12
2.8. SUMINISTRO DE FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA MUCOSA BUCAL.....	15
2.9. ADHESIÓN, BIOADHESIÓN Y MUCOADHESIÓN	16
2.10. MECANISMOS DE LA MUCOADHESIÓN	16
2.11. TEORÍAS DE LA MUCOADHESIÓN	17
2.11.1. Teoría de la humectabilidad	17
2.11.2. Teoría electrónica	18
2.11.3. Teoría de la fractura.....	18
2.11.4. Teoría de la adsorción.....	18
2.11.5. Teoría de la difusión-interpenetración.....	19
2.11.6. Teoría de la deshidratación.....	19
2.12. FACTORES QUE INFLUYEN EN UNA ÓPTIMA MUCOADHESIÓN	20
2.12.1. Factores relacionados con el polímero	21
2.12.1.1. Peso molecular.....	21
2.12.1.2. Concentración del polímero mucoadhesivo	21
2.12.1.3. Flexibilidad de las cadenas del polímero.....	21
2.12.1.4. Conformación espacial	21
2.12.1.5. Estructura química y grupos funcionales	22
2.12.1.6. Grado de hidratación	22
2.12.1.7. pH y carga.....	22
2.12.2. Factores relacionados con el ambiente	23
2.12.2.1. Fuerza aplicada	23
2.12.2.2. pH del medio	23
2.12.2.3. Tiempo inicial de contacto	23
2.12.2.4. Hinchamiento	23
2.12.2.5. Fuerza iónica.....	23
2.12.3. Factores fisiológicos.....	23
2.12.3.1. Recambio de la mucina.....	23
2.12.3.2. Estados patológicos	24
2.13. FACTORES QUE AFECTAN LA ABSORCIÓN BUCAL DE FÁRMACOS	24
2.13.1. Factores relacionados con la membrana.....	24
2.13.1.1. Saliva	24
2.13.1.2. Glándulas salivales	24

2.13.1.3. Movimiento de los tejidos bucales	24
2.14. COMPONENTES BÁSICOS EN LOS SISTEMAS MUCOADHESIVOS	
BUCALES	25
2.14.1. Principio activo.....	25
2.14.2. Polímero mucoadhesivo	25
2.14.3. Membrana de refuerzo.....	25
2.14.4. Potenciadores de permeación	26
2.15. POLÍMEROS PARA SISTEMAS MUCOADHESIVOS	26
2.15.1. Polímeros mucoadhesivos de primera generación.....	27
2.15.1.1. Aniónicos.....	27
2.15.1.2. Catiónicos	27
2.15.2. Polímeros mucoadhesivos de segunda generación.....	27
2.15.2.1. Polímeros tiolados	27
2.15.2.2. Lecitinas	29
2.16. CLASIFICACIÓN DE LOS PARCHES BUCALES MUCOADHESIVOS	29
2.17. VENTAJAS Y LIMITACIONES DE LOS SISTEMAS MUCOADHESIVOS.....	30
2.17.1. Ventajas de los sistemas mucoadhesivos para la entrega de fármacos.....	30
2.17.2. Limitaciones de los sistemas mucoadhesivos para la entrega de fármacos.....	30
2.18. MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE PARCHES MUCOADHESIVOS.....	31
2.18.1. Evaporación de disolvente.....	31
2.18.2. Extrusión (Hot-melt extrusion).....	31
2.19. QUITOSANO.....	32
2.19.1. Origen y obtención	32
2.19.2. Estructura.....	32
2.19.3. Características fisicoquímicas como adhesivo	33
2.19.4. Biocompatibilidad	34
2.19.5. Biodegradabilidad.....	34
2.20. POLOXÁMERO 407 (PF-127).....	34
2.20.1. Estructura.....	34
2.20.2. Características y propiedades	35
III. OBJETIVOS.....	37
3.1. GENERAL	37
3.2. PARTICULARES.....	37

IV. HIPÓTESIS	38
V. JUSTIFICACIÓN.....	39
VI. METODOLOGÍA	40
6.1. ETAPA I. Estandarización del método de preparación.....	40
6.1.1. Superficies de moldeo	40
6.1.2. Cinética de mezclado.....	40
6.1.3. Tiempo de evaporación	41
6.2. ETAPA II. PREPARACIÓN DE LOS PARCHES BUCALES MUCOADHESIVOS	41
6.2.1. Diseño Experimental	41
6.2.2. Preparación de los lotes	42
6.2.2.1 Preparación de la película impermeable de EC	42
6.2.2.2. Preparación de la película de EuE-100.....	43
6.2.2.3. Preparación de la película mucoadhesiva.....	43
6.3. ETAPA III. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i> – <i>EX VIVO</i>	43
6.3.1. Variación de masa (Y_1) y espesor (Y_2).....	43
6.3.2. pH de la superficie (Y_3).....	43
6.3.3. Resistencia al plegado (Y_4)	44
6.3.4. Contenido de humedad (Y_5)	44
6.3.5. Contenido químico (Y_6).....	44
6.3.6. Fuerza de Mucoadhesión <i>ex vivo</i> (Y_7).....	44
6.3.7. Tiempo de Mucoadhesión <i>ex vivo</i> (Y_8)	45
6.3.8. Liberación del fármaco <i>in vitro</i> – (K_H : Velocidad de Liberación – Y_{10}).....	45
6.3.9. Estudios de Hinchamiento	46
6.3.9.1. Índice de Hinchamiento (H)	46
6.3.9.2. Cinética de hinchamiento y Mecanismo de transporte - (k: velocidad – Y_9).....	46
6.4. ETAPA IV. OPTIMIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN.....	47
6.4.1. Caracterización fisicoquímica y evaluación <i>in vitro</i> – <i>ex vivo</i>	47
6.4.2. Planitud.....	48
6.4.3. Determinación de las propiedades mecánicas	48
6.4.3.1. Resistencia a la tracción y % Elongación.....	48
6.4.4. Estudios de Permeación <i>ex vivo</i>	49
6.4.4.1. Preparación del tejido.....	49
6.4.4.2. Permeación <i>ex vivo</i>	49

6.4.5. Estudios de Microscopía Óptica (MO).....	50
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
7.1. ETAPA I. ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE PREPARACIÓN.....	51
7.1.1. Superficies de moldeo	51
7.1.2. Cinética de mezclado.....	51
7.1.3. Tiempo de secado	52
7.2. ETAPA II. PREPARACIÓN DE LOS PARCHES BUCALES MUCOADHESIVOS	52
7.2.1. Diseño Experimental	52
7.2.2. Preparación de los parches bucales mucoadhesivos.....	53
7.3. ETAPA III. CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA Y EVALUACIÓN <i>IN</i> <i>VITRO</i> – <i>EX VIVO</i>	54
7.3.1. Variación de masa (Y_1) y espesor (Y_2).....	57
7.3.2. pH de la superficie (Y_3).....	57
7.3.3. Resistencia al plegado (Y_4)	58
7.3.4. Contenido de Humedad (Y_5)	58
7.3.5. Contenido Químico (Y_6).....	58
7.3.6. Fuerza de Mucoadhesión <i>ex vivo</i> (Y_7).....	59
7.3.7. Tiempo de Mucoadhesión <i>ex vivo</i> (Y_8)	59
7.3.8. Liberación del fármaco <i>in vitro</i> – (K_H : Velocidad de Liberación – Y_{10}).....	60
7.3.9. Estudios de Hinchamiento	63
7.3.9.1. Índice de Hinchamiento (H) y orden cinético	63
7.3.9.2. Mecanismo de difusión.....	65
7.4. ETAPA IV. OPTIMIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN.....	67
7.4.1. Caracterización fisicoquímica y evaluación <i>in vitro</i> – <i>ex vivo</i>	68
7.4.2. Determinación de las propiedades mecánicas	72
7.4.2.1. Resistencia a la tracción y % Elongación	72
7.4.3. Permeación <i>ex vivo</i>	72
7.4.4. Microscopía Óptica (MO)	74
VIII. CONCLUSIONES.....	75
IX. PERSPECTIVAS	76
X. REFERENCIAS.....	77

ANEXO 1.....	87
ANEXO 2.....	88
ANEXO 3.....	91
ANEXO 4.....	92

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del Metoprolol (izquierda) y Tartrato de Metoprolol (derecha). ...5	
Figura 2. Representación esquemática de los diferentes revestimientos de la mucosa oral. Modificada de Referencia [5].8	
Figura 3. Representación esquemática de la mucosa bucal. Modificada de Referencia [33].10	
Figura 4. Representación esquemática de la composición e interacción de las cadenas de glicoproteínas dentro del moco. Modificada de Referencia [12].11	
Figura 5. Propuestas de estructuras macromoleculares para la glicoproteína del moco: (A) modelo no lineal que puede implicar un péptido de enlace (L) de la que se ramifican subunidades, (B) modelo lineal que contiene cuatro grupos de ensamblaje. Modificada de Referencia [12]12	
Figura 6. Representación esquemática de las diferentes vías de penetración de los fármacos. Modificada de Referencia [5].14	
Figura 7. Representación esquemática de los mecanismos de mucoadhesión. Modificada de Referencia [70].17	
Figura 8. Representación esquemática de las teorías de mucoadhesión. (A) Humectabilidad [69]. (B) Fractura [74]. (C) Difusión-Interpenetración: (1) Parte superior (polímero) y parte inferior (moco) antes del contacto, (2) la capa superior y la capa inferior inmediatamente después del contacto, (3) la capa superior y la capa inferior después del contacto durante un periodo de tiempo [80]; (D) interpenetración del polímero bioadhesivo en la superficie del moco [69], (E) Deshidratación [74].20	
Figura 9. Formación de puentes disulfuro entre tíómeros poliméricos y dominios ricos en cisteína del gel en la mucosa. Tomada de Referencia [74].28	
Figura 10. Clasificación de los parches bucales mucoadhesivos. (A) Parches con una matriz soluble, (B) Parches con respaldo insoluble. Modificada de referencia [108].30	
Figura 11. Proceso de producción de Quitosano a partir de desechos de cáscaras de crustáceos. Modificada de Referencia [98].32	
Figura 12. Estructura química del Quitosano. Tomada de Referencia [115].33	
Figura 13. Estructura química del Pluronic [®] F127. “A” corresponde a la porción de óxido de etileno y “B” a la porción de óxido de propileno. Modificada de Referencia [125].34	
Figura 14. Ilustración de la concentración micelar crítica (cmc) y la concentración de gelificación crítica (cgc) en una solución del copolímero de bloques Tomada de Referencia [125].35	
Figura 15. Representación esquemática de las fases micelares formadas por los Pluronic [®] al aumentar la temperatura. Modificada de Referencia [125].36	
Figura 16. Superficies de moldeo evaluadas, (Izquierda) placas Petri, (Derecha) moldes de acetato.40	

Figura 17. Representación esquemática de la preparación de los parches bucales mucoadhesivos. (A) Preparación de la película impermeable de EC, (B) Preparación de la película de EuE-100 y (C) Preparación de la película mucoadhesiva.....	42
Figura 18. Determinación de la fuerza de mucoadhesión <i>ex vivo</i>	45
Figura 19. Montaje de los parches bucales para la determinación de sus propiedades mecánicas.....	48
Figura 20. Montaje de las celdas de difusión en los estudios de permeación <i>ex vivo</i>	49
Figura 21. Cinética de mezclado. Representación de la desviación estándar de las absorbancias en función del tiempo de mezclado.	51
Figura 22. Gráficos 3D superficies de respuesta estimada para $Y_1 - Y_{10}$ en función de X_1 (CS % p/v) y X_2 (PF-127 % p/v).....	56
Figura 23. A) Perfiles de liberación de TM para cada uno de los once sistemas preparados. B) Líneas de ajuste al modelo Higuchi (raíz cuadrada del tiempo).....	63
Figura 24. (A) Fenómeno de enrejado o bloque el cual retrasa la liberación del TM, (B) Fenómeno de formación de micelas [125] y (C) Red polimérica de CS-PF-127. Modificada de Referencia [159].	63
Figura 25. A) Predicciones del modelo de hinchamiento para los once lotes evaluados. B) Líneas de ajuste al modelo cinético de segundo orden.....	65
Figura 26. Líneas de ajuste al modelo de hinchamiento propuesto por Karadag para los once lotes evaluados.....	66
Figura 27. A) Superficie de respuesta estimada para la deseabilidad, B) Contornos de la superficie de respuesta estimada.....	68
Figura 28. A) Perfil de liberación <i>in vitro</i> de la FOP y B) Línea de de ajuste al modelo de Higuchi (raíz cuadrada del tiempo).	70
Figura 29. A) Predicciones del modelo de hinchamiento para la FOP y B) Línea de ajuste al modelo cinético de segundo orden.	71
Figura 30. Línea de ajuste al modelo de hinchamiento propuesto por Karadag para la FOP. ..	71
Figura 31. Perfil de permeación <i>ex vivo</i> del TM a partir de la FOP.....	73
Figura 32. Micrografías (40X) de: A) TM, B) CS, C) EC, D) EuE-100, E) PF-127	74
Figura 33. Micrografías (40X) de: F) FOP recién preparada, G) FOP-30 días y H) FOP-60 días.....	74

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los niveles de presión arterial en adultos [20].	3
Tabla 2. Definición y clasificación de la hipertensión en niños y adolescentes [21].	4
Tabla 3. Manejo de la presión arterial en adultos [24].	4
Tabla 4. Dosis iniciales recomendadas para distintos fármacos antihipertensivos seleccionados para el tratamiento de la hipertensión en niños y adolescentes [21].	5
Tabla 5. Resumen de las propiedades farmacológicas y farmacocinéticas de los β -bloqueantes más comunes.	6
Tabla 6. Características de la mucosa oral.	13
Tabla 7. Permeabilidades del agua para la piel humana y las regiones de la mucosa bucal.	13
Tabla 8. Diferencia en la permeabilidad regional expresada en términos de una barrera de permeabilidad uniforme.	14
Tabla 9. Ejemplos de fármacos transportados a través de la mucosa bucal por diferentes mecanismos.	15
Tabla 10. Tipos de enlaces y sus energías [75].	18
Tabla 11. Clasificación de polímeros mucoadhesivos.	26
Tabla 12. Ejemplo de polímeros tiolados y el efecto sobre mucoadhesión [104].	28
Tabla 13. Variables independientes, dependientes y niveles utilizados en el diseño experimental.	41
Tabla 14. Composición de la película mucoadhesiva de las diferentes formulaciones correspondientes al DCC.	53
Tabla 15. Composición de las películas de EC y EuE-100.	53
Tabla 16. Caracterización fisicoquímica de los parches bucales mucoadhesivos.	54
Tabla 17. Resultados de la evaluación <i>in vitro</i> – <i>ex vivo</i> de los parches bucales mucoadhesivos.	54
Tabla 18. Resumen de ANOVA y coeficientes de regresión de las variables de respuesta con respecto a los factores estudiados.	55
Tabla 19. Parámetros cinéticos obtenidos a partir de los distintos modelos de liberación evaluados.	62
Tabla 20. Hinchamiento de equilibrio y constantes cinéticas (modelo de segundo orden).	65
Tabla 21. Valores obtenidos mediante el uso de la ecuación de la ley de potencia y la definición de Karadag de F, para los datos de hinchamiento.	67
Tabla 22. Optimización de la deseabilidad.	68
Tabla 23. Resultados experimentales de la formulación óptima.	68

LISTA DE ABREVIATURAS

HTA	Hipertensión Arterial
PA	Presión Arterial
PAS	Presión Arterial Sistólica
PAD	Presión Arterial Diastólica
CS	Quitosan
BB	β -Bloqueadores
TM	Tartrato de Metoprolol
BAV	Bloqueo Auriculoventricular
PEG	Polietilenglicol
EC	Etilcelulosa
CMC	Carboximetilcelulosa
CMCNa	Carboximetilcelulosa sódica
HEC	Hidroxietilcelulosa
HPC	Hidroxipropilcelulosa
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulosa
MC	Metilcelulosa
AS	Alginato de sodio
CS-EDTA	Quitosan-EDTA
PEO	Óxido de Polietileno
PVA	Polivinilalcohol
PVP	Polivinilpirrolidona
PF-127	Pluronic [®] F-127
Cmc	Concentración micelar crítica
Cgc	Concentración de gelificación crítica
EuE-100	Eudragit [®] E-100
DCC	Diseño Central Compuesto
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido
MO	Microscopía Óptica
FOP	Formulación Óptima
TS	Resistencia a la Ruptura
%E	% Elongación

RESUMEN

El principal objetivo de este estudio fue preparar un parche bucal mucoadhesivo mediante el método de evaporación de disolvente y su posterior optimización utilizando un Diseño Central Compuesto, para proponerlo como un sistema innovador en la entrega unidireccional de Tartrato de Metoprolol y como una alternativa a la vía oral en el tratamiento de la Hipertensión Arterial. Se evaluaron los efectos de la concentración de Quitosano y Pluronic® F-127 sobre las siguientes variables de respuesta: masa, espesor, pH de la superficie, resistencia al plegado, humedad, contenido químico, fuerza y tiempo de mucoadhesión *ex vivo*, hinchamiento y liberación *in vitro*. Para lograr la liberación unidireccional del fármaco se empleó una película impermeable de Etilcelulosa. A la formulación óptima se le determinaron sus propiedades mecánicas y se sometió a estudios de permeación *ex vivo* en celdas verticales de difusión tipo Franz, empleando mucosa bucal de cerdo como modelo. Se encontró que los valores óptimos de las respuestas se pueden obtener a concentraciones de 2.76 % p/v de Quitosano y 2.42 % p/v de Pluronic® F-127. De esta manera, la formulación óptima presentó propiedades fisicoquímicas adecuadas, con una fuerza y tiempo de mucoadhesión *ex vivo* de 3.25 ± 0.83 N y 342.67 ± 17.21 minutos respectivamente, una constante de liberación *in vitro* (K_H) de 0.044 min^{-1} y un hinchamiento (k) de 2.28 min^{-1} . En cuanto a sus propiedades mecánicas, se observó una resistencia a la tracción de 10.92 ± 1.61 N y una elongación del 36.52 ± 13.88 %, un indicativo de su adecuada resistencia, flexibilidad y elasticidad. En los estudios de permeación *ex vivo* se obtuvieron valores de Flujo (J) de $3.23 \pm 0.21 \text{ mg/cm}^2$, con un coeficiente de permeabilidad (K_p) de $0.672 \pm 0.0044 \text{ cm}^2/\text{h}$ y un tiempo de latencia (T_L) de 1.07 ± 0.09 horas, por lo que el parche ideal debe medir 5.35 cm^2 para alcanzar concentraciones terapéuticas. Los estudios de Microscopía Óptica evidenciaron la estabilidad física de la formulación óptima en función del tiempo. Los resultados anteriores sugieren que los parches bucales mucoadhesivos obtenidos son una potencial y novedosa alternativa a la vía oral en el tratamiento de la Hipertensión Arterial.

Palabras clave: Parche bucal mucoadhesivo, Diseño Central Compuesto, Tartrato de Metoprolol, Hipertensión Arterial.

I. INTRODUCCIÓN

La Hipertensión Arterial (HTA) es un padecimiento crónico de etiología variada que se caracteriza por el aumento sostenido de la presión arterial (PA), ya sea sistólica (PAS), diastólica (PAD) o de ambas [1]. En pacientes hipertensos el control es muy bajo y se estima para los próximos años una prevalencia global en la República Mexicana del 30.05% [2]. Es considerada por la Organización Mundial de la Salud como la primera causa de muerte a nivel mundial, con cifras cercanas a 7 millones de personas al año, reduciendo la esperanza de vida entre 10 y 15 años [3]. Un reporte de la American Heart Association en el 2014 establece que la HTA es el principal factor de riesgo poblacional para presentar enfermedades cardiovasculares con un 40.6 % [4]. La incidencia tan alta entre la HTA y enfermedades cardiovasculares representa un problema de salud pública, por lo que se pretende hacer más énfasis en el control de los pacientes hipertensos. El tratamiento a largo plazo puede resultar en un incumplimiento por parte del paciente con formas farmacéuticas convencionales como los comprimidos, debido a una mayor frecuencia en la administración [5]. Esto permite sin duda una oportunidad para administrar agentes antihipertensivos a través de una ruta diferente a la oral.

La industria farmacéutica ha mostrado particular interés en sistemas de administración novedosos que mejoren las propiedades de los fármacos, así como la aceptación por parte de los pacientes [5]. Sin embargo, a pesar de los avances tecnológicos, la vía oral sigue siendo la preferida debido al bajo costo y facilidad de administración [6]. Existen barreras significativas que se imponen a la administración de fármacos por esta vía, principalmente el efecto de primer paso hepático y la degradación del fármaco en el tracto gastrointestinal [7]. En consecuencia, otras rutas de absorción están siendo consideradas como sitios potenciales, incluyendo la mucosa bucal, la cual ofrece claras ventajas sobre la administración oral. Entre las más importantes se encuentran: un inicio rápido y prolongado del efecto terapéutico, efectos secundarios reducidos, biodisponibilidad mejorada, mejor cumplimiento del paciente y un mejor control de la terapia [6-7]. La mucosa bucal se caracteriza por tener un rico suministro de sangre principalmente derivado de la arteria carótida externa y una permeabilidad relativa, lo que ofrece una ruta atractiva para lograr un efecto sistémico [7]. La mucoadhesión es la capacidad de los materiales para adherirse a las membranas mucosas del cuerpo y proporcionar una retención temporal [8-9], propiedad que ha sido ampliamente utilizada para mejorar la biodisponibilidad de fármacos [10].

Existen diferentes métodos para la preparación de parches bucales mucoadhesivos en donde se incorporan polímeros naturales o sintéticos que funcionan como matriz, agentes plastificantes para mejorar las propiedades mecánicas de las películas y promotores de permeación para incrementar el paso de fármacos a través de la mucosa bucal [11-12]. El método de evaporación de disolvente es el más empleado en investigación debido a la

facilidad del proceso y el bajo costo que implica en un laboratorio, el cual consiste básicamente en la preparación de una solución polimérica, su deaireación, moldeo y evaporación del disolvente [13-14]. Los polisacáridos representan una importante clase de biomateriales y entre los más importantes se encuentra el Quitosano (CS), proveniente del exoesqueleto de los crustáceos que se obtiene por desacetilación de la quitina y es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa [15], es biodegradable, biocompatible y no tóxico [16-17]. Este material es una alternativa para diseñar formas farmacéuticas mucoadhesivas debido a su carácter catiónico [18]. Los fármacos antihipertensivos β -bloqueantes (BB) como el Tartrato de Metoprolol (TM) presentan inconvenientes como administración frecuente, extenso metabolismo de primer paso y biodisponibilidad oral variable (30-50%) [19], por lo que es un candidato ideal para este tipo de sistemas de administración de fármacos.

El presente trabajo tiene como objetivo la obtención de un parche bucal mucoadhesivo para la entrega unidireccional de TM mediante el método de evaporación de disolvente, posteriormente su caracterización fisicoquímica, evaluación *in vitro* – *ex vivo* y optimización de su desempeño, con la finalidad de proponerlo como una novedosa alternativa a la vía oral en el tratamiento de la HTA.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. HIPERTENSIÓN ARTERIAL

2.1.1. Definición

Desde un punto de vista práctico, la HTA puede ser definida como el incremento sostenido de la PAS/PAD y la mayoría de las autoridades (OMS, Secretaria de Salud) consideran la PA de 140/90 mm Hg como “hipertensiva” [20].

2.1.2. Clasificación de la presión arterial en adultos

La Tabla 1 contiene la clasificación de los niveles de PA de acuerdo a la British Hypertension Society. En esta clasificación se considera como PA óptima a los valores de PAS menores a 120 mm Hg y PAD menores a 80 mm Hg. La HTA grado 1 o leve corresponde a valores de PAS entre 140-159 mm Hg y PAD entre 90-99 mm Hg. De igual forma, valores de PAS y PAD mayores o iguales a 180 y 110 respectivamente corresponden a un cuadro de HTA grado 3 o severa.

Tabla 1. Clasificación de los niveles de presión arterial en adultos [20].

Categoría	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)
Presión arterial óptima	<120	<80
Presión arterial normal	<130	<85
Presión arterial alta-normal	130-139	85-89
Hipertensión grado 1 (Leve)	140-159	90-99
Hipertensión grado 2 (Moderada)	160-179	100-109
Hipertensión grado 3 (Severa)	≥180	≥110
Hipertensión sistólica aislada (Grado 1)	140-159	<90
Hipertensión sistólica aislada (Grado 2)	≥160	<90

2.1.3. Clasificación de la presión arterial en niños y adolescentes

La HTA del adulto tiene sus orígenes en la infancia, de hecho se ha demostrado que los valores de PA en la infancia influyen en los valores de la edad adulta [21]. Según los criterios del Task Force for Blood Pressure in Children [22], en niños, la PA normal se define como una PAS y PAD inferiores al 90 % para el grupo de edad, sexo y talla correspondiente. Por otra parte, la HTA se define como una PAS y/o una PAD que de forma reiterada se mantiene en el 95 % o por encima de este. Se considera que los niños que presentan valores promedio de PAS o de PAD iguales o superiores al 90 % pero inferiores al 95 % tienen una PA normal-alta. Asimismo, se considera que los adolescentes con un valor de PA ≥120/80 mm Hg, incluso

aunque esté por debajo del 90 %, también tienen PA normal-alta. En la Tabla 2 se muestra la clasificación de la HTA en niños y adolescentes.

Tabla 2. Definición y clasificación de la hipertensión en niños y adolescentes [21].

Clasificación	% PAS y/o PAD
Normal	<90
Alta-Normal	≥90 y <95 ≥120/80 mm Hg, incluso cuando esté por debajo del 90% en adolescentes
Hipertensión grado 1	95-99 + 5 mm Hg
Hipertensión grado 2	>99 + 5 mm Hg

2.1.4. Tratamiento farmacológico

El tratamiento farmacológico debe ser individualizado de acuerdo a los valores de la PA y el nivel de riesgo de cada paciente, y se deben tomar en cuenta los factores de riesgo cardiovascular asociados así como la coexistencia de otras condiciones clínicas [23]. En la Tabla 3 se resume el manejo de la HTA en adultos y en la Tabla 4 se muestran los fármacos y sus dosis recomendadas en niños y adolescentes.

Tabla 3. Manejo de la presión arterial en adultos [24].

Clasificación	Terapia inicial con fármacos	
	SIO	CIO
<i>Normal</i>	Ningún fármaco antihipertensivo indicado.	Fármacos para indicaciones convincentes.
<i>Alta-normal</i>	Diuréticos tipo tiazida para la mayoría.	Fármacos para indicaciones convincentes
<i>Hipertensión grado 1</i>	Se puede considerar IECA, BRA, BB, BCC o combinaciones.	Otros fármacos antihipertensivos (diuréticos IECA, BRA, BB y BCC) según sea necesario.
<i>Hipertensión grado 2</i>	Combinación de dos fármacos para la mayoría (por lo general diuréticos tipo tiazida, BRA, IECA, BB, BCC)	

SIO (Sin Indicaciones Obligatorias), CIO (Con Indicaciones Obligatorias), IECA (Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina), BRA (Bloqueadores del Receptor de Angiotensina), BB (β-bloqueantes) y BCC (Bloqueadores de los Canales de Calcio).

Tabla 4. Dosis iniciales recomendadas para distintos fármacos antihipertensivos seleccionados para el tratamiento de la hipertensión en niños y adolescentes [21].

Clase	Fármaco	Dosis	Intervalo
<i>Diuréticos</i>	Amilorida	0.4-0.6 mg/Kg/día	q.d.
	Clortalidona	0.3 mg/Kg/día	q.d.
	Furosemida	0.5-2.0 mg/Kg/dosis	q.d.-b.i.d.
	Hidroclorotiazida	0.5-1.0 mg/Kg/día	q.d.
	Espironolactona	1.0 mg/Kg/día	q.d.-b.i.d.
<i>Bloqueadores beta adrenérgicos</i>	Atenolol	0.5-1.0 mg/Kg/día	q.d.-b.i.d.
	Metoprolol	0.5-1.0 mg/Kg/día	q.d. (LP)
	Propranolol	1.0 mg/Kg/día	b.i.d.-t.i.d.
<i>Antagonistas de los canales de calcio</i>	Amlodipino	0.06-0.3 mg/Kg/día	q.d.
	Felodipino ^a	2.5 mg/día	q.d.
	Nifedipino	0.25-0.5 mg/Kg/día	q.d.-b.i.d. (LP)
<i>Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina</i>	Captopril	0.3-0.5 mg/Kg/dosis	b.i.d.-t.i.d.
	Enalapril	0.08-0.6 mg/Kg/día	q.d.
	Fosinopril	0.1-0.6 mg/Kg/día	q.d.
	Lisinopril	0.08-0.6 mg/Kg/día	q.d.
	Ramipril ^a	2.5-6.0 mg/día	q.d.
<i>Antagonistas de los receptores de la angiotensina II</i>	Candesartán	0.16-0.5 mg/día	q.d.
	Ibesartán ^a	75-150 mg/día	q.d.
	Losartán	0.75-1.44 mg/Kg/día	q.d.
	Valsartán	2 mg/Kg/día	q.d.

b.i.d. (dos veces al día), LP (Liberación Prolongada), q.d. (una vez al día), t.i.d. (tres veces al día), ^a No se dispone de datos de dosis por peso, * No debe excederse en ningún caso de la dosis máxima recomendada en adultos.

2.2. METOPROLOL

2.2.1. Indicaciones

El Metoprolol (Figura 1) es un fármaco β -bloqueante cardioselectivo el cual es indicado principalmente en el tratamiento de la HTA, angina de pecho, arritmias cardíacas, infarto de miocardio, terapia post-infarto y profilaxis de la migraña [25].

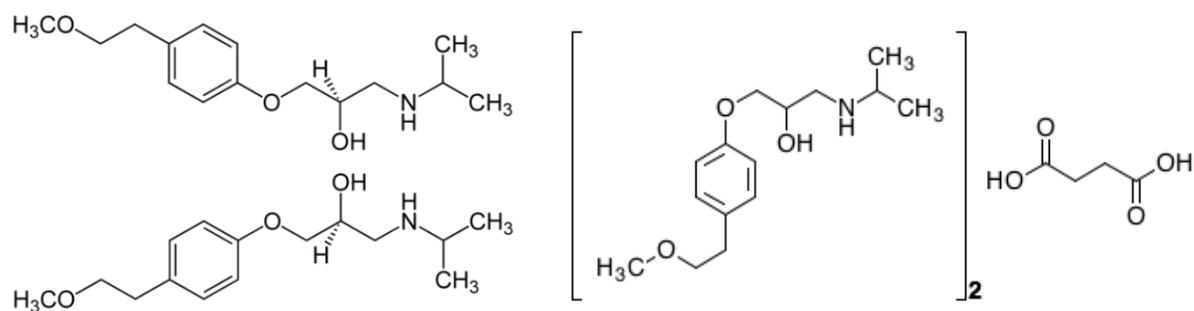


Figura 1. Estructura química del Metoprolol (izquierda) y Tartrato de Metoprolol (derecha).

2.2.2. Contraindicaciones

No usar con antimaláricos, asma bronquial, Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica, bloqueo cardíaco de segundo y tercer grado, angina de Prinzmetal, shock cardiogénico, insuficiencia cardíaca descompensada, bradicardia intensa, síndrome del seno enfermo, acidosis metabólica, enfermedad arterial periférica severa, feocromocitoma [26].

2.2.3. Farmacología y farmacocinética

En la Tabla 5 se muestra un resumen de las propiedades farmacológicas y farmacocinéticas de los BB más utilizados en el tratamiento de la HTA. Podemos observar que el Metoprolol tienen una afinidad mucho mayor por los receptores β -1 que se encuentran principalmente en el corazón, riñón y adipocitos que por los receptores β -2, que se encuentran a nivel bronquial, arterial, muscular, pancreático y hepático [27]. El Metoprolol no presenta actividad simpaticomimética intrínseca y la actividad estabilizante de membrana sólo se obtiene a dosis altas [20,25].

Tabla 5. Resumen de las propiedades farmacológicas y farmacocinéticas de los β -bloqueantes más comunes.

BB	Actividad β -receptor	AEM	ASI	Solubilidad en lípidos	VME (horas)	RE	BDO (%)
Propranolol	No	Sí	No	Alta	3.5-6	H	30
Atenolol	β -1	No	No	Baja	6-7	R	40
Bisprolol	β -1	No	No	Baja	9-12	R	80
Carvedilol	No	No	No	Moderada	7-10	H	25-35
Metoprolol	β -1	A altos niveles	No	Moderada	Tartrato: 3-4, succinato:3-7	H	30-50
Nevibolol	β -1	No	No	Baja	12	H	12-96

AEM es Actividad Estabilizante de Membrana; ASI es Actividad Simpaticomimética Intrínseca; VME es Vida media de Eliminación; RE es Ruta de Eliminación; H y R es Hepática y Renal respectivamente y BDO es Biodisponibilidad Oral.

El TM se absorbe casi por completo después de la administración oral aunque la biodisponibilidad varía ampliamente (30 a 50 %) debido al extenso metabolismo presistémico, su solubilidad en lípidos es moderada con un $\log P = 1.6$ [19]. La vida media en plasma es de alrededor de 3-4 horas [28], por lo que se necesita una dosificación frecuente para mantener los niveles terapéuticos en un tratamiento a largo plazo. Las concentraciones plasmáticas máximas varían ampliamente y se alcanzan entre 1.5 y 2 horas después de una dosis oral única. Se distribuye de manera amplia, atraviesa las barreras hematoencefálica y placentaria alcanzando la leche materna. Se une poco a proteínas plasmáticas (8-12 %) y es altamente metabolizado en el hígado mediante desaminación oxidativa, O-desalquilación, seguida de oxidación e hidroxilación alifática. Los metabolitos se eliminan por la orina con pequeñas cantidades de Metoprolol inalterado [26].

2.2.4. Mecanismo de acción

El Metoprolol es un betabloqueante β -1 selectivo, actúa bloqueando los receptores β -1 que se encuentran en el corazón a dosis mucho menores que las necesarias para bloquear los receptores β -2 [25], por lo tanto, la selectividad es un fenómeno dosis-dependiente. Sin embargo, las dosis habituales presentan propiedades antihipertensivas y antianginosas similares a los no selectivos [27]. Es un antagonista competitivo de los efectos de las catecolaminas en los lugares de los receptores β -adrenérgicos, por lo que se emplean en diversas enfermedades, principalmente cardiovasculares [29].

2.2.5. Reacciones adversas

Frecuentes: broncospasmo, insuficiencia cardíaca, trastornos de la conducción auriculoventricular, bradicardia excesiva, trastornos gastrointestinales, insomnio, pesadillas, confusión, depresión, lasitud [26]. Ocasionales: vasoconstricción periférica, hipoglicemia o hiperglicemia, alopecia, mareos, hipotensión postural. Raras: trombocitopenia, púrpura, reacciones cutáneas, exacerbación de psoriasis, trastornos visuales, psicosis, alucinaciones, síndrome oculomucocutáneo [29].

2.2.6. Interacciones farmacológicas

Los BB aumentan su efecto sobre la PA con: antihipertensivos, alcohol, fenotiacinas, antidepresivos tricíclicos, inhibidores de la monoaminoxidasa, ansiolíticos e hipnóticos, dopaminérgicos como L-dopa, baclofeno y alprostadil. Antagonizan su acción antihipertensiva los esteroides, antiinflamatorios no esteroideos, estrógenos y carbenoxolona [26]. Aumenta la presión arterial la epinefrina, norepinefrina, dobutamina y tropisetron. Junto con nifedipino y verapamil provoca hipotensión severa e insuficiencia cardíaca. Los antiarrítmicos inducen bradicardia, depresión miocárdica y bloqueo auriculoventricular (BAV). Glucósidos cardíacos producen riesgo incrementado de BAV y bradicardia. Los antidiabéticos enmascaran signos de hipoglicemia y potencia los efectos hipoglicemiantes de la insulina. El Metoprolol eleva las concentraciones plasmáticas de la cimetidina y propafenona [29].

2.2.7. Efectos secundarios

El tratamiento con betabloqueantes como el TM es generalmente bien tolerado pero existe un riesgo de efectos adversos graves en algunos pacientes. Cardíacos: pueden desencadenar o agravar la insuficiencia cardíaca o provocar hipotensión arterial y su retirada brusca en el paciente coronario puede dar lugar a problemas graves aunque muy infrecuentes. Vasculares: frialdad distal de extremidades, fenómeno de Raynaud y agravamiento de la claudicación intermitente previa. Bronquiales: deterioro respiratorio por aumento de la resistencia de la vía aérea en pacientes con Enfermedad Pulmonar Obstructiva o asma bronquial. Metabólicos: peor control de la glucemia en el diabético y enmascaramiento de los síntomas

hipoglucémicos. Elevación de los triglicéridos y reducción del colesterol. Todos estos efectos se dan de forma menos frecuente con los BB cardioselectivos como el TM [27].

2.3. LA MUCOSA ORAL: DESCRIPCIÓN GENERAL

La cavidad oral incluye los labios, mejillas, lengua, paladar duro, paladar blando y el piso de la boca (Figura 2). Al revestimiento de la cavidad oral se conoce como la mucosa oral, e incluye la bucal, sublingual, gingival, palatal y labial [30]. La mucosa bucal, sublingual y los tejidos de las mucosas en la superficie ventral de la lengua cuentan con aproximadamente el 60 % de la superficie total [31].

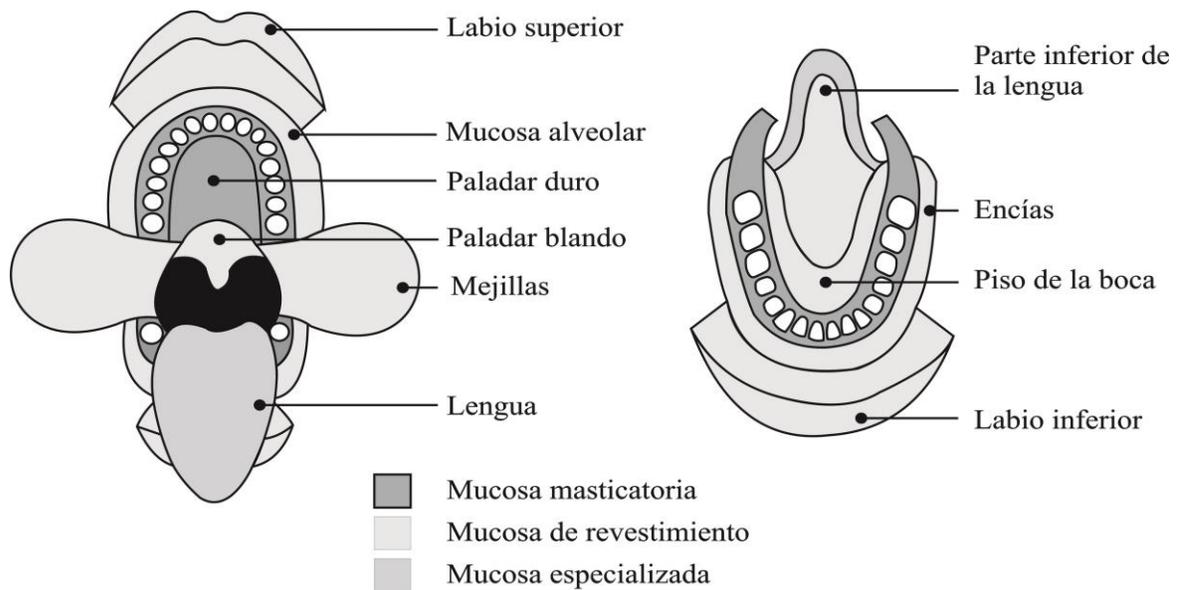


Figura 2. Representación esquemática de los diferentes revestimientos de la mucosa oral. Modificada de Referencia [5].

La mucosa oral se compone de células epiteliales estrechamente compactadas, el nivel de queratinización en las membranas mucosas y por lo tanto la barrera de permeabilidad no es tan extensa como el estrato córneo de la piel. Se ha demostrado, por ejemplo, que la mucosa oral, dependiendo del sitio, es de entre 4 y 4000 veces más permeable en comparación con la piel [7]. La mucosa bucal brinda una alternativa para la administración de fármacos por vía sistémica debido a su rico suministro de sangre derivado de la arteria carótida externa, arteria bucal, algunas ramas terminales de la arteria facial, la arteria alveolar posterior y la arteria infraorbitaria [31]. La mucosa especializada se encuentra en la superficie dorsal de la lengua, mientras que la mucosa masticatoria se encuentra en el paladar duro (superficie superior de la boca) y las encías [32]. La mucosa de revestimiento en un humano adulto comprende aproximadamente el 60 %, la mucosa masticatoria el 25 % y la mucosa especializada un 15 % de la superficie total del revestimiento de la mucosa oral. La mucosa masticatoria se encuentra en las regiones particularmente susceptibles al estrés y las tensiones resultantes de la actividad masticatoria [5].

2.4. ESTRUCTURA DE LA MUCOSA

Tres capas distintivas de la mucosa oral son: el epitelio, membrana basal y tejidos conectivos [31]. La cavidad oral se alinea con el epitelio, por debajo del cual se encuentra la membrana basal de soporte (Figura 3) [33].

2.4.1. Epitelio

El epitelio es una capa de protección para los tejidos que se encuentran debajo y se divide en (A) Superficie no queratinizada, que se encuentra en el revestimiento de la mucosa del paladar blando, la superficie ventral de la lengua, el piso de la boca, el vestíbulo, los labios y las mejillas, y (B) Epitelio queratinizado, que se encuentra en el paladar duro y en las regiones no flexibles de la cavidad oral [33]. Las células epiteliales derivadas de las células basales, maduran, cambian de forma y aumentan de tamaño mientras migran hacia la superficie [31]. El espesor del epitelio bucal en los humanos se ha determinado que es de aproximadamente 500 a 800 μm [33]. El tiempo de rotación o recambio para el epitelio bucal se ha estimado en 3-5 días [34-35]. El espesor de la mucosa en los paladares duros y blandos, el piso de la boca, la lengua y la encía varía desde 100 hasta 200 μm [31].

2.4.2. Membrana basal

La membrana basal forma una capa distintiva entre los tejidos conectivos y el epitelio que proporciona la adherencia requerida entre el epitelio y los tejidos conectivos subyacentes y funciona como un soporte mecánico para el epitelio [33]. Los tejidos conectivos subyacentes proporcionan muchas de las propiedades mecánicas de la mucosa oral.

2.4.3. Lámina propia

El epitelio bucal se clasifica como un tejido no queratinizado también conocido como la lámina propia, consisten de fibras de colágeno, una capa de soporte de los tejidos conectivos, músculos lisos y vasos sanguíneos [31].

2.4.4. Submucosa

Una secreción de tipo gel conocida como moco cubre toda la cavidad oral. El moco actúa como una capa protectora a las células contiguas y se trata de un hidrogel viscoelástico [33]. En su mayoría consiste de 1-5 % de glicoproteínas insolubles en agua, 95-99 % de agua y otros componentes en pequeñas cantidades, tales como proteínas, enzimas, electrolitos, y ácidos nucleicos [31].

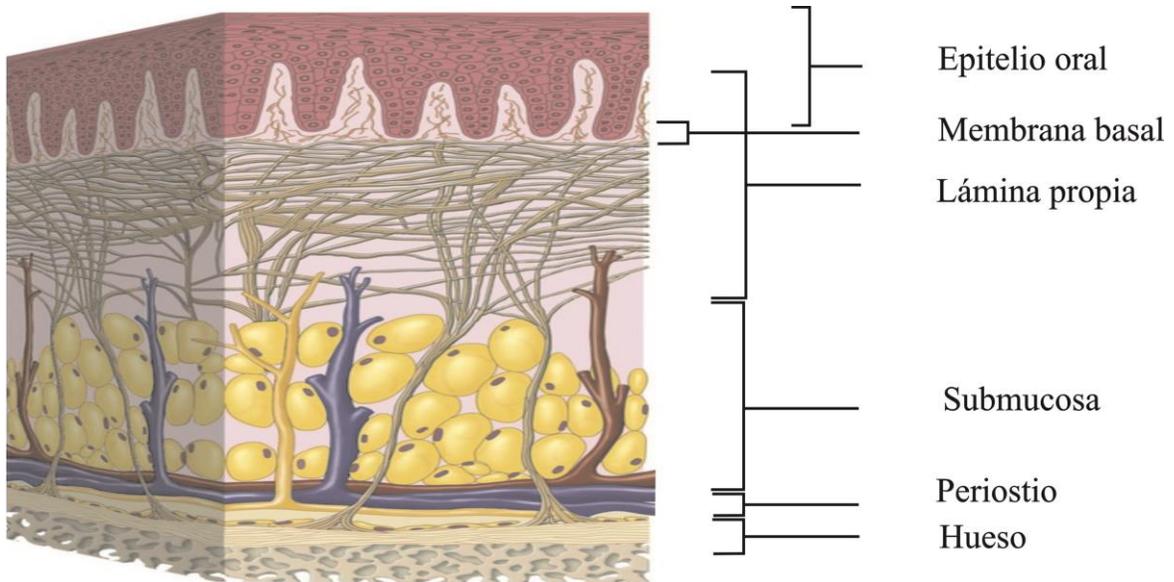


Figura 3. Representación esquemática de la mucosa bucal. Modificada de Referencia [33].

2.5. MOCO: COMPOSICIÓN, ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

El moco se compone principalmente de agua (>95 %) y mucinas, que son glicoproteínas de alto peso molecular ($2-14 \times 10^6$ g/mol) [12]. También se ha encontrado dentro de éste proteínas, lípidos y mucopolisacáridos que se encuentran en proporciones más pequeñas (<1 %) [36]. Las glicoproteínas de mucina forman una red altamente entramada de macromoléculas que se asocian unas con otras a través de enlaces no covalentes, asociación fundamental para la estructura del moco, la cual es responsable de sus propiedades reológicas, además, grupos de ácido siálico ($pK_a = 2.6$) y sulfato situados en las moléculas de glicoproteínas resultan comportarse como un polielectrolito aniónico a pH neutro [12,37]. Otros componentes del moco incluyen IgA secretora, lisozima, lactoferrina, lípidos, polisacáridos y otras especies iónicas [12], algunos de estos componentes se cree que son responsables de la acción bacteriostática observada en el moco.

Las glicoproteínas de mucina constan de una unidad básica a partir de una cadena principal del polipéptido de cadena única con dos regiones distintas: un núcleo central de proteína muy glicosilada, unidas predominantemente a través de enlaces O-glucosídicos y una o dos regiones de péptidos terminales donde hay poca glicosilación (Figura 4) [12].

Hay dos modelos propuestos para describir la microestructura de las mucinas: modelos lineales y no lineales (Figura 5). Cada subunidad de mucina consiste en proteínas basadas en cadenas injertadas de oligosacáridos [12]. El esqueleto de la proteína constituye aproximadamente el 12-17 % del peso total de la mucina y la composición de aminoácidos incluye aproximadamente el 70 % de serina, treonina y prolina. Las cadenas injertadas de oligosacáridos están compuestas de N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina, galactosa,

fucosa y ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico) [39]. La cobertura de la columna vertebral de proteínas con cadenas de oligosacáridos es más del 63 %, siendo el resto no glicosilada [12].

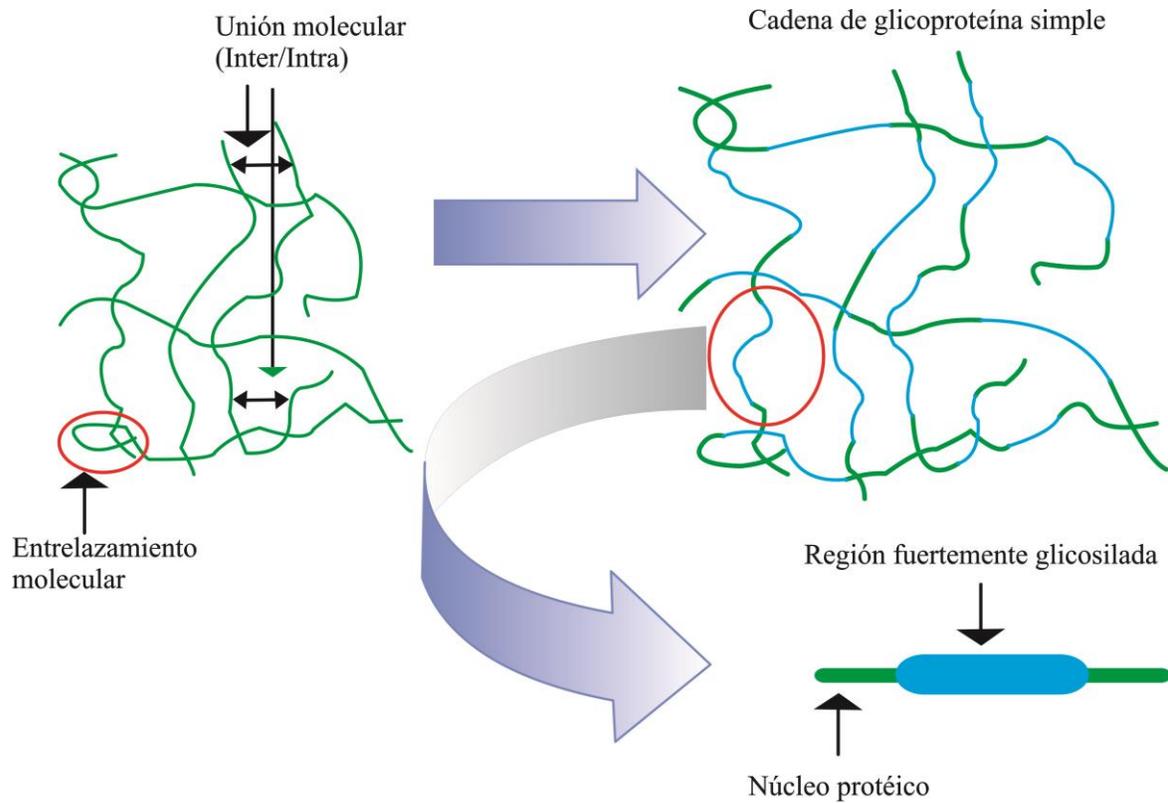


Figura 4. Representación esquemática de la composición e interacción de las cadenas de glicoproteínas dentro del moco. Modificada de Referencia [12].

La mucina se almacena tanto en la submucosa como en las células caliciformes, en donde las cargas negativas de las glicoproteínas de mucina están protegidas por los iones de calcio [12], esto permite el embalaje compacto de tales moléculas. En presencia de agua, las cadenas de mucina comienzan a superponerse, se interpenetran y forman una red mecánicamente estructurada que funciona como moco, cuyo comportamiento reológico es un resultado de la resistencia al flujo ejercida por segmentos de cadenas individuales, el enredo de la cadena física y las interacciones intermoleculares no covalentes [38]. Un punto de especial interés es la posición estratégica del moco en muchos procesos patológicos en los que las interacciones de las células epiteliales y sus alrededores se han perdido, como se ve en las enfermedades infecciosas e inflamatorias, cáncer y metástasis [40]. Tales escenarios pueden permitir un medio de focalización terapéutica más eficaz a tales condiciones. El moco cumple con varias funciones, entre las más importantes se encuentran: lubricación, hidratación del epitelio, barrera con respecto a los agentes patógenos y sustancias nocivas [12] y como una capa de gel permeable que permite el intercambio de gases y nutrientes [36].

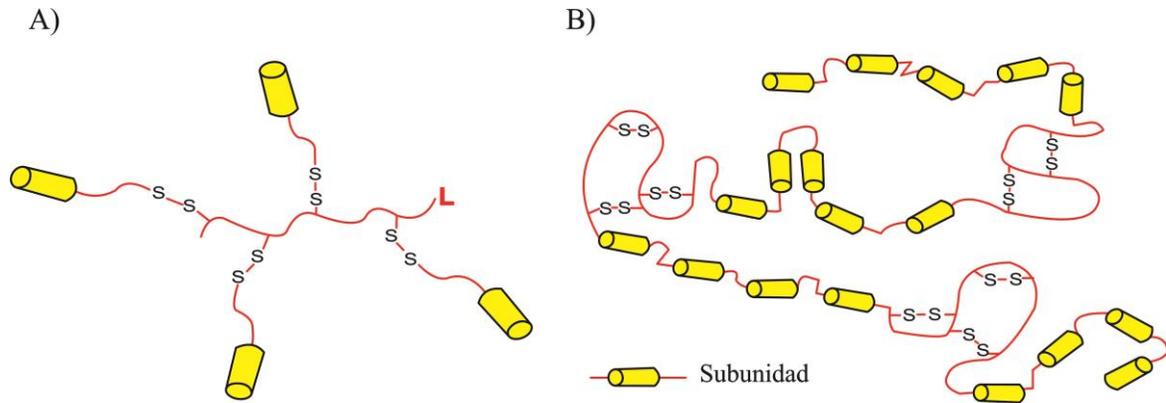


Figura 5. Propuestas de estructuras macromoleculares para la glicoproteína del moco: (A) modelo no lineal que puede implicar un péptido de enlace (L) de la que se ramifican subunidades, (B) modelo lineal que contiene cuatro grupos de ensamblaje. Modificada de Referencia [12]

2.6. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA MUCOSA BUCAL

Las membranas de la cavidad oral exhiben menor actividad enzimática que el tracto gastrointestinal [41], pero su capacidad metabólica de la cavidad oral no puede ser ignorada ya que algunos péptidos han demostrado ser degradados en la presencia de homogeneizados de tejido bucal, incluyendo la insulina y proinsulina [42], análogos de encefalina [43], hormona liberadora de tiotropina [30] y calcitonina [44]. Si las enzimas están presentes de forma intracelular, es posible que no afecten el proceso de absorción general de péptidos y proteínas. Por ejemplo, un pequeño porcentaje de oligopéptidos pueden escapar de procesos hidrolíticos en la mucosa bucal debido a que estos se transportan a través de la ruta paracelular y limitan su interacción con enzimas hidrolíticas intracelulares [45]. En contraste, hay varios estudios que sugieren que enzimas como aminopeptidasas, carboxipeptidasas, fosfatasas, carbohidrasas, esterasas y endopeptidasas dentro de la cavidad oral pueden limitar la biodisponibilidad de macromoléculas [42-43]. Como alternativa, inhibidores de enzimas específicas pueden ser considerados para superar esta barrera cuando se intenta optimizar la entrega de ciertos péptidos y proteínas a través de la mucosa bucal.

2.7. LA MUCOSA BUCAL COMO UNA BARRERA FISIOLÓGICA AL PASO DE FÁRMACOS

La mucosa está altamente vascularizada y cualquier fármaco tiene acceso directo a la circulación sistémica por un mecanismo de difusión a través de las membranas de la mucosa bucal, los capilares y el drenaje venoso, de esta manera es posible eludir el metabolismo de primer paso hepático [31]. La tasa de flujo de sangre a través de la mucosa oral es sustancial y generalmente no se considera como un factor limitante en la velocidad de absorción de fármacos por esta vía (Tabla 6) [46].

Tabla 6. Características de la mucosa oral.

Tejido	Estructura	Espesor (µm)	Recambio (días)	AS (cm ²)	(P)	Tiempo de Residencia	FS*
Bucal	NQ	500-600	5-7	50.2±2.9	Intermedia	Intermedio	20.3
Sublingual	NQ	100-200	20	26.5±4.2	Muy buena	Pobre	12.2
Gingival	Q	200	-	-	Pobre	Intermedio	19.5
Palatal	Q	250	24	20.1±1.9	Pobre	Muy bueno	7.0

NQ es tejido no queratinizado, Q es tejido queratinizado, (P) es Permeabilidad, *FS es Flujo Sanguíneo en monos Rhesus (mL/min/100 g de tejido) y DE es la desviación estándar

En la administración oral, el fármaco se somete a un entorno bastante hostil a través del tracto gastrointestinal antes del proceso de absorción, esto incluye un cambio drástico en el pH (1-2 en el estómago y de 7-7.4 en el intestino distal) [47], la presencia de numerosas enzimas digestivas y en general la microbiota [48]. En contraste con este duro ambiente, la cavidad oral ofrece condiciones fisiológicas relativamente consistentes y favorables para la administración de fármacos, las cuales se mantienen por la continua secreción de saliva. En comparación con las secreciones del tracto gastrointestinal, la saliva es un fluido relativamente móvil con actividad enzimática limitada [49].

Las rutas bucal y sublingual son una opción para la administración de fármacos debido a la mayor permeabilidad global en comparación con otras mucosas de la boca. En un estudio demostraron que la permeabilidad de agua a través de mucosas bucales fue de aproximadamente 10 veces mayor, mientras que en el piso de la boca la permeabilidad fue de aproximadamente 20 veces mayor en comparación con la piel [50] (Tabla 7).

Tabla 7. Permeabilidades del agua para la piel humana y las regiones de la mucosa bucal.

Región ^a	Kp (X10 ⁻⁷ ± DEM cm/min)
Piel	44±4 ^b
Mucosa Oral	
Paladar duro	470±27
Mucosa Bucal	579±16
Borde lateral de la lengua	772±23
Piso de la boca	973±33

^a Humano (n=3), ^b Constante de permeabilidad (Kp) significativamente diferente en comparación con la mucosa oral (P<0.05) y DEM es la desviación estándar de la media.

En otro estudio se calculó la constante de permeabilidad a través de la piel y la superficie de la mucosa oral para el agua y peroxidasa de rábano picante. Se encontró que estas sustancias penetran la mucosa bucal alrededor de 10 veces más en comparación con la piel [51] (Tabla 8).

Tabla 8. Diferencia en la permeabilidad regional expresada en términos de una barrera de permeabilidad uniforme.

Región de tejido	Espesor (μm)		Kp en términos de una barrera uniforme de 100 μm de espesor ($\times 10^{-7}$)	
	Epitelio	Permeabilidad de la barrea	Agua	Peroxidasa de rábano picante
Piel	69 \pm 4	16 \pm 1	21.1 \pm 4.3	9.4 \pm 1.8
Gingival	208 \pm 9	35 \pm 4	98.3 \pm 16.0	79.5 \pm 11.4
Mucosa bucal	772 \pm 20	282 \pm 17	173.2 \pm 24.6	99.1 \pm 10.6
Piso de la boca	192 \pm 7	23 \pm 1	1271.3 \pm 203.1	331.6 \pm 51.9

Los fármacos pueden ser transportados a través de membranas epiteliales por difusión pasiva, transporte activo mediado por un portador u otros mecanismos especializados.

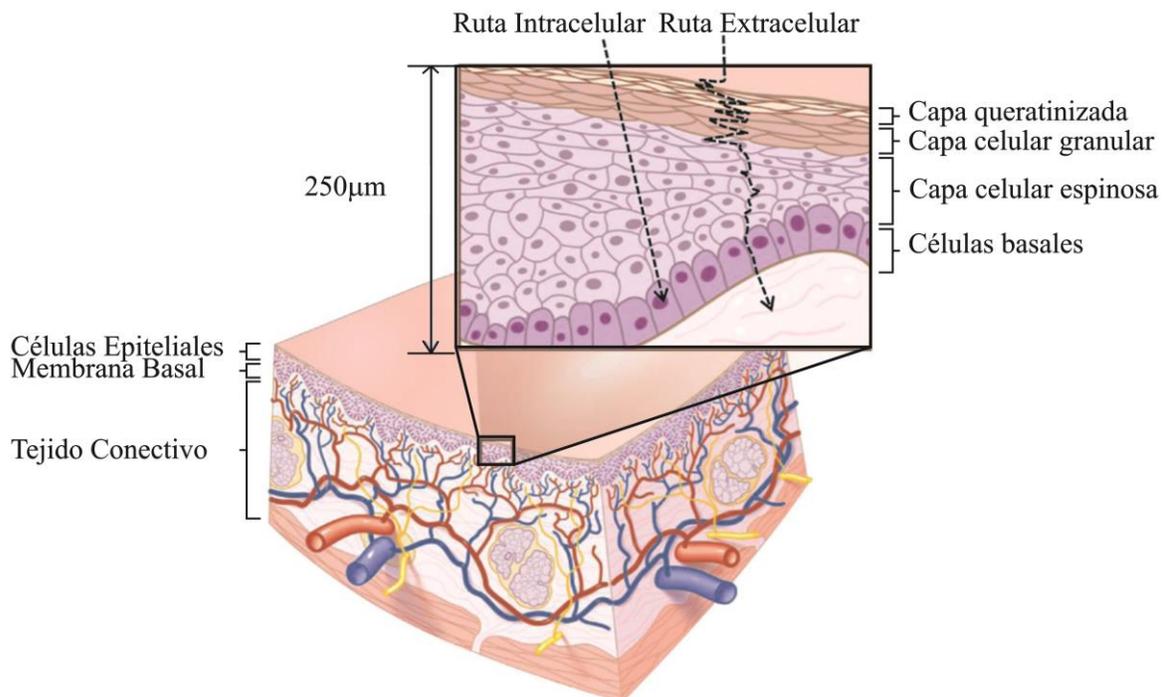


Figura 6. Representación esquemática de las diferentes vías de penetración de los fármacos. Modificada de Referencia [5].

La mayoría de los estudios de absorción bucal indican que el mecanismo predominante es la difusión pasiva a través de las membranas (Figura 6), ya sea por la ruta intracelular (transcelular) o extracelular (paracelular) [51]. La naturaleza hidrófila de los espacios paracelulares proporciona una barrera de permeabilidad a los fármacos lipófilos, pero puede ser favorable para fármacos hidrófilos [52]. La vía transcelular implica fármacos que penetran a través de una célula y la siguiente hasta entrar en circulación sistémica siendo preferible para fármacos lipófilos [51]. Los fármacos pueden atravesar por ambas vías de forma simultánea,

sin embargo, una de las rutas podría ser predominante dependiendo de las propiedades fisicoquímicas del fármaco [53]. Aunque la difusión pasiva es el mecanismo predominante de la absorción en la mucosa oral, también han sido reportados mecanismos de transporte especializados para algunos fármacos y nutrientes. Se ha informado que la tasa de absorción de la D-glucosa en la superficie dorsal y ventral de la lengua es significativamente mayor que la de L-glucosa, lo que indica la ocurrencia de algún mecanismo de transporte especializado [53]. En otro estudio se informó de la existencia de un sistema de transporte a través células estratificadas de la mucosa oral humana que es dependiente del sodio para la D-glucosa [54]. La Tabla 9 ofrece algunos ejemplos de fármacos que son transportados por diferentes mecanismos a través de la mucosa bucal.

Tabla 9. Ejemplos de fármacos transportados a través de la mucosa bucal por diferentes mecanismos.

Fármaco	Mecanismo de transporte	Ruta	Tejido	Referencia
5-Aza-2'-desoxicitidina	Pasivo	No definida	Mucosa bucal	[55]
2',3'dideoxicitidina	Pasivo	No definida	Mucosa bucal	[56]
Flecainida	Pasivo	Paracelular	Mucosa bucal	[57]
Sotalol	Pasivo	Paracelular	Mucosa bucal	[57]
Nicotina	Pasivo	Paracelular Transcelular	Cultivo de células TR146 y Mucosa bucal	[58]
Lamotrigina	Pasivo	Transcelular	Mucosa bucal	[59]
Galantamina	Pasivo	No definida	Epitelio oral humano y Mucosa bucal	[60]
Naltrexona	Pasivo	No definida	Mucosa bucal	[61]
Bupiriona	Pasivo	Transcelular	Mucosa bucal	[62]
Clorhidrato de Ondansetrón	Pasivo	No definida	Mucosa bucal	[63]
Ácidos monocarboxílicos	Mediado por transportador	Mediado por transportador	Cultivo de células epiteliales primarias	[64-65]
Glucosa	Mediado por transportador	Mediado por transportador	Bucal, mucosa oral y dorso de la lengua	[66]

2.8. SUMINISTRO DE FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA MUCOSA BUCAL

En general, la mucosa oral se clasifica como un epitelio con el siguiente orden de permeabilidad: sublingual>bucal>palatal, basado en el espesor y el grado de queratinización de los tejidos [67]. La membrana delgada y altamente permeable del tejido sublingual es un

blanco perfecto si se desea una pronta aparición del efecto farmacológico [33]. Sin embargo, si se desea una liberación controlada, la membrana sublingual deja de ser un tejido apropiado. Los sistemas de liberación controlada son capaces de proporcionar concentraciones sostenidas del fármaco en la circulación sistémica, por lo que son formas de dosificación adecuadas para la región bucal [67]. La baja permeabilidad de este sitio no es siempre una característica atractiva y dependiendo de la elección del fármaco, puede ser una limitación importante. El uso de potenciadores de la permeación y administración dirigida puede sustancialmente superar este problema [68].

2.9. ADHESIÓN, BIOADHESIÓN Y MUCOADHESIÓN

La adhesión como un proceso, se define simplemente como la fijación de dos superficies entre sí, Longer y Robinson definen el término bioadhesión como la unión de una macromolécula natural y/o sintética a una superficie epitelial [33]. Hay diferentes términos de adhesión dependiendo del entorno en el que se produce el proceso; cuando se produce en un entorno biológico se denomina "bioadhesión", además, si se produce esta adhesión en las membranas mucosas se denomina "mucoadhesión" [67]. La mucoadhesión ha sido ampliamente promovida como una manera administrar fármacos a través de la incorporación de polímeros mucoadhesivos, la razón es que la formulación al ser colocada en una superficie biológica, los fármacos se encontrarán directamente en el sitio de absorción con la consiguiente mejora de la biodisponibilidad [69].

2.10. MECANISMOS DE LA MUCOADHESIÓN

Los mecanismos de la mucoadhesión generalmente se dividen en dos etapas: etapa de contacto y etapa de consolidación (Figura 7). Durante la primera etapa, se establece el contacto entre el polímero mucoadhesivo y la membrana mucosal y en la segunda etapa se presenta la activación y unión del material mucoadhesivo. Los materiales mucoadhesivos se activan por la presencia de humedad del entorno y el sistema, así como por la presencia de plastificantes, lo que permite a las moléculas mucoadhesivas liberarse y unirse por medio de enlaces del tipo Van der Waals y de Hidrógeno [71].

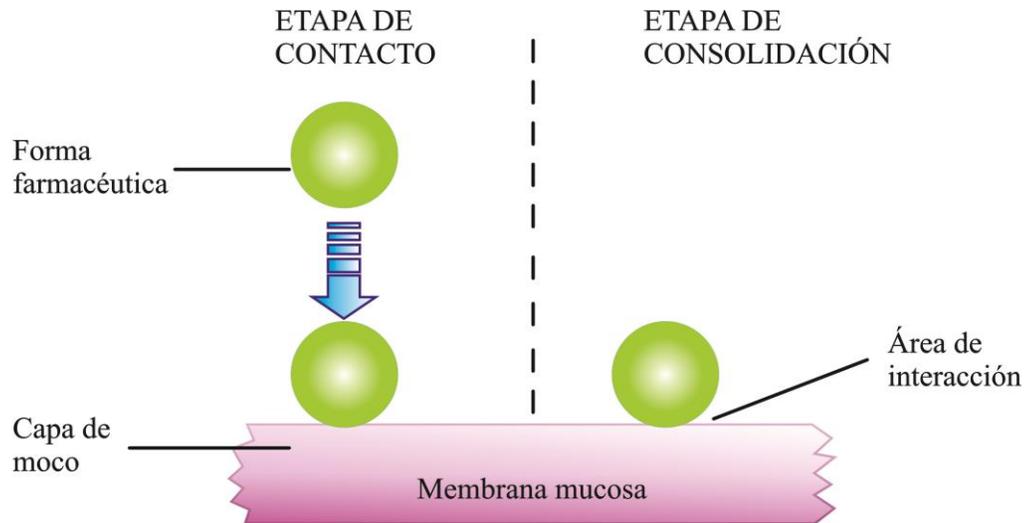


Figura 7. Representación esquemática de los mecanismos de mucoadhesión. Modificada de Referencia [70].

2.11. TEORÍAS DE LA MUCOADHESIÓN

La mucoadhesión es un proceso complejo y numerosas teorías han surgido para explicar los mecanismos involucrados. Se incluyen las siguientes teorías: humectabilidad, electrónica, de fractura, adsorción, interpenetración-difusión y por último la deshidratación. Aunque, sin duda, las teorías más aceptadas se fundan en la termodinámica de la energía de superficie y la interpenetración-difusión [72].

2.11.1. Teoría de la humectabilidad

Es principalmente aplicable a los sistemas mucoadhesivos líquidos de baja viscosidad, siendo una medida de la "extensibilidad" del sistema (Figura 8-A) [69]. Esta teoría postula que el mucoadhesivo penetra las irregularidades de la superficie, se endurece y se ancla a la misma [12]. El rendimiento adhesivo de tales líquidos puede definirse utilizando la humectabilidad y capacidad de extensión; parámetros críticos que se pueden determinar a partir de mediciones de ángulo de contacto de la superficie sólida [72]. Este proceso define la energía requerida para contrarrestar la tensión superficial en la interface [73-74]. Sistemas mucoadhesivos que presentan una estructura y grupos funcionales similares a la capa de moco mostrarán un aumento en la miscibilidad y esto a su vez dará lugar a un mayor grado de extensibilidad del polímero a través de la superficie de la mucosa [69]. Los ángulos de contacto de tales sistemas facilitarán la hidratación de las cadenas poliméricas y por lo tanto promover el contacto íntimo entre la plataforma polimérica y el sustrato. Sin embargo, en el caso de un polímero extremadamente hidrófilo, el ángulo de contacto del agua será mucho menor que el de la superficie, disminuyendo así la interacción debido a la alta energía libre interfacial [75].

2.11.2. Teoría electrónica

Esta teoría describe la adhesión que se produce por medio de la transferencia de electrones entre el moco y el sistema mucoadhesivo, que surge a través de diferencias en sus estructuras electrónicas [46]. La transferencia de electrones entre el moco y los mucoadhesivos son resultados de la formación de una doble capa de cargas eléctricas en el moco y la interfaz del mucoadhesivo [69], el resultado neto de este proceso es la formación de fuerzas de atracción [12]. La controversia ha rodeado esta teoría y surge a partir de la afirmación de que las fuerzas electrostáticas son una causa importante de la adhesión, en lugar de simplemente un resultado de alta resistencia de la unión [73-74].

2.11.3. Teoría de la fractura

La teoría de la fractura es quizás la más utilizada para explicar este fenómeno y se basa en la fuerza requerida para separar dos superficies luego de que se ha establecido la adhesión [58]. La fuerza de fractura es equivalente a la fuerza de la adhesión, cuyo cálculo involucra la relación entre la fuerza máxima de separación y el área superficial total [76]. Esta teoría (Figura 8-B) no tiene en cuenta la interpenetración o difusión de las cadenas del polímero y es apropiada para calcular la rigidez del material bioadhesivo [62-63].

2.11.4. Teoría de la adsorción

Según esta teoría, después de un contacto inicial entre las dos superficies, los materiales se adhieren a causa de las fuerzas de superficie que actúan entre los átomos [40]. Hay dos tipos de enlaces químicos que participan en la proceso de adsorción; enlaces primarios como el iónico, covalente y metálico (permanentes), así como enlaces químicos secundarios, incluyendo las fuerzas electrostáticas, de Van der Waals, fuerzas de hidrógeno y enlaces hidrofóbicos [77].

Tabla 10. Tipos de enlaces y sus energías [75].

Tipo de enlace	Energía de enlace (KJ mol⁻¹)
<i>Enlaces primarios</i>	
Iónico	590-1050
Covalente	63-710
Metálico	113-347
<i>Enlaces secundarios</i>	
Puentes de hidrógeno	10-42
Dipolo-Dipolo	4-21
Dipolo-Dipolo inducido Fuerzas Debye	<2
Dispersión Fuerzas de London	0.08-42

En este caso, la adhesión se define como el resultado de las diversas interacciones de unión superficial entre el polímero adhesivo y el sustrato. Los enlaces secundarios requieren menos energía para “romperse” (Tabla 10) y son la forma más prominente de la interacción superficial en procesos mucoadhesión, además tienen la ventaja de ser enlaces semipermanentes [78]. Por lo tanto, esta teoría de adsorción hace hincapié en las interacciones químicas secundarias que permiten que el proceso de mucoadhesión se lleve a cabo.

2.11.5. Teoría de la difusión-interpenetración

Esta teoría propone la difusión tiempo-dependiente de las cadenas de polímeros mucoadhesivos en la red de las cadenas de glicoproteínas de la capa de moco (Figura 8-C) [76]. Las propiedades fundamentales que influyen significativamente en esta interpenetración son el peso molecular, densidad de reticulación, movilidad/flexibilidad de la cadena y la capacidad de expansión de las redes [77]. Además, la temperatura también se ha señalado como factor importante para este proceso [79]. Si bien se reconoce que las cadenas de polímeros más largos pueden difundir, interpenetrar y en última instancia enredarse en mayor medida con la superficie del moco (Figura 8-D), se debe reconocer que la longitud crítica de una cadena debe ser de al menos 100,000 Da para obtener la interpenetración y el entrelazamiento molecular [78]. Otro factor significativo contribuyente en la interpenetración es la miscibilidad de ambos sistemas entre sí [80]. Entonces es razonable postular que la máxima difusión y fuerza bioadhesiva se pueden lograr cuando el parámetro de solubilidad del polímero bioadhesivo y la glicoproteína del moco son similares [81].

2.11.6. Teoría de la deshidratación

De acuerdo con la teoría de deshidratación (Figura 8-E), los materiales que son capaces de gelificar fácilmente en medio acuoso, cuando son puestos en contacto con el moco pueden causar una deshidratación debido a la diferencia de la presión osmótica [76]. La diferencia en el gradiente de concentración permite extraer el agua a la formulación hasta que se alcanza el equilibrio osmótico y este proceso conduce a una mezcla entre la formulación y el moco que incrementa el tiempo de contacto en la membrana mucosal [74]. Por lo tanto, es el movimiento de agua el que conduce al establecimiento de la unión adhesiva y no a la interpenetración de las cadenas. Sin embargo, la teoría de la deshidratación no es aplicable para formulaciones sólidas o altamente hidratadas [82].

Ninguna de estas teorías por sí sola puede explicar el fenómeno de la mucoadhesión el cual ocurre en diferentes situaciones, por lo que deben tomarse como un conjunto para dicho proceso. Sin embargo, la comprensión de estos mecanismos en cada instancia puede ayudar en el desarrollo de nuevos productos mucoadhesivos.

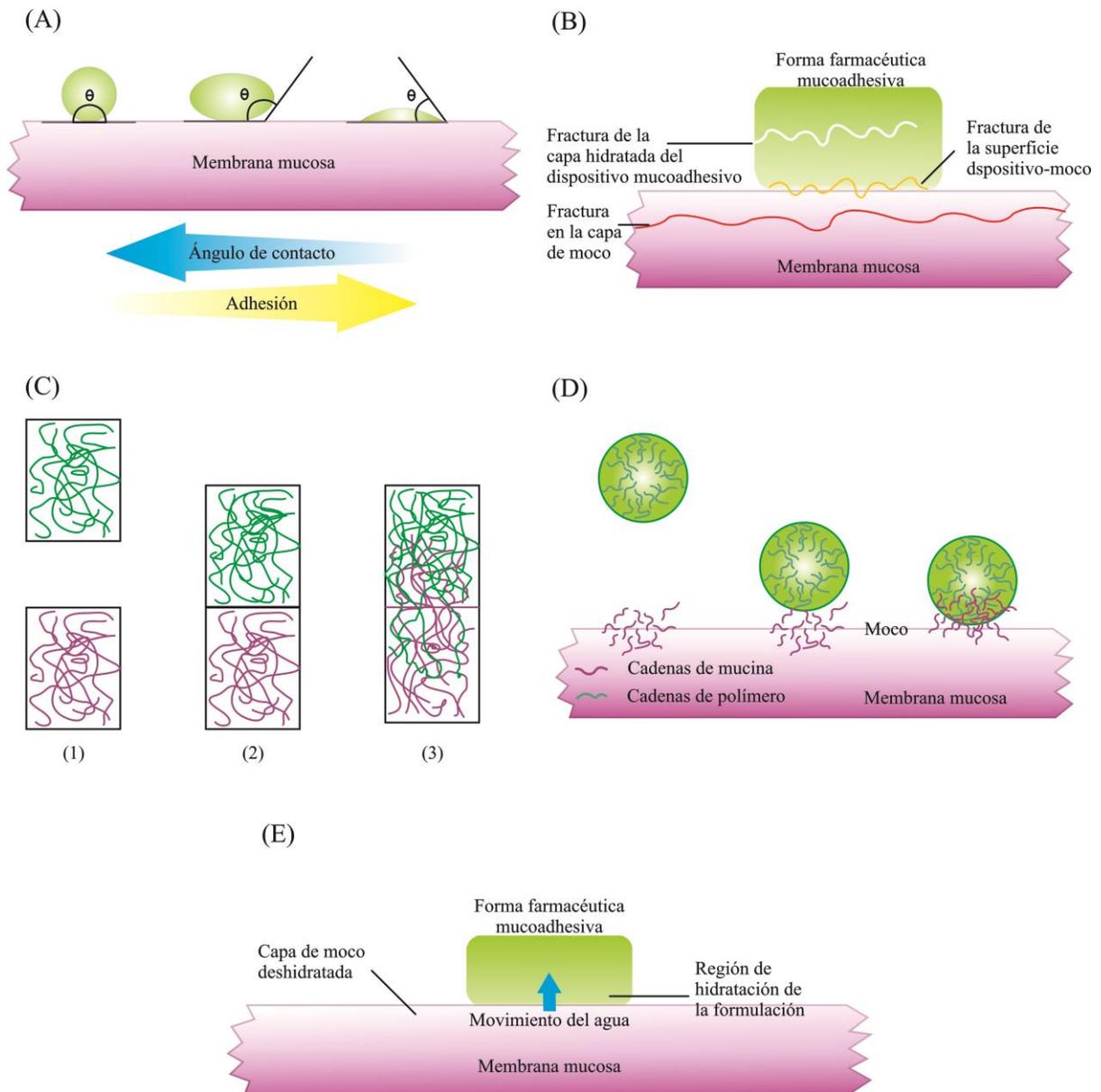


Figura 8. Representación esquemática de las teorías de mucoadhesión. (A) Humectabilidad [69]. (B) Fractura [74]. (C) Difusión-Interpenetración: (1) Parte superior (polímero) y parte inferior (moco) antes del contacto, (2) la capa superior y la capa inferior inmediatamente después del contacto, (3) la capa superior y la capa inferior después del contacto durante un periodo de tiempo [80]; (D) interpenetración del polímero bioadhesivo en la superficie del moco [69], (E) Deshidratación [74].

2.12. FACTORES QUE INFLUYEN EN UNA ÓPTIMA MUCOADHESIÓN

El poder bioadhesivo de un polímero se ve afectado por su naturaleza, el medio circundante y factores fisiológicos [71].

2.12.1. Factores relacionados con el polímero

2.12.1.1. Peso molecular

Existe un peso molecular preferente del polímero al cual la mucoadhesión es máxima. La interpenetración o difusión de las moléculas poliméricas se ve favorecida en polímeros de bajo peso molecular, en tanto que el entramado es propicio para los de alto peso molecular [82]. Pero en realidad el peso molecular no es un parámetro determinante, a no ser en la serie de un compuesto en concreto. Un polímero bioadhesivo tiene éxito si el peso molecular es de 100,000 o más [83]. El polietilenglicol (PEG) con un peso molecular de 20,000 tiene poco carácter adhesivo, mientras que PEG con peso molecular de 200,000 mejora su adhesividad y un PEG con 400,000 tiene propiedades adhesivas superiores, por lo tanto, la naturaleza bioadhesiva mejora al aumentar el peso molecular de polímeros lineales [71].

2.12.1.2. Concentración del polímero mucoadhesivo

Existe una concentración óptima de polímero bioadhesivo para producir la máxima bioadhesión. En sistemas altamente concentrados, más allá del nivel óptimo, se reduce significativamente la fuerza adhesiva debido a que las moléculas enrolladas se separan del medio de manera que las cadenas disponibles para interpenetración son limitadas [71]. Cuando el polímero se encuentra humedecido, altas concentraciones del mismo controlan la liberación del fármaco, pero manifiesta una baja adhesión con el moco porque el polímero adquiere una conformación replegada, no disponiendo de grupos suficientes para el establecimiento de interacciones adhesivas [70]. Si la concentración decrece, las uniones se intensifican, sin embargo, una concentración muy baja favorece la interpenetración pero la unión es inestable debido al escaso número de moléculas que penetran por unidad de volumen [67]. En realidad, para cada polímero hay una concentración crítica por encima de la cual el polímero no produce adhesión por un significativo repliegue de su estructura [84].

2.12.1.3. Flexibilidad de las cadenas del polímero

Las cadenas poliméricas deben tener la flexibilidad suficiente como para penetrar la malla mucosal o hendiduras del tejido. En general la movilidad y flexibilidad de un polímero está relacionada con sus coeficientes de viscosidad y de difusión [83].

2.12.1.4. Conformación espacial

Además del peso molecular o la longitud de la cadena, la conformación espacial de una molécula también es importante, por ejemplo, dextransos de alto peso molecular tienen fuerza adhesiva similar a la de PEG con un peso molecular de 200,000. La conformación helicoidal de dextrano puede proteger a muchos grupos activos, principalmente responsables de la adhesión, a diferencia de polímeros de PEG que tienen una conformación lineal [76].

2.12.1.5. Estructura química y grupos funcionales

Las moléculas de mucina están cargadas negativamente a pH neutro, por lo tanto, polímeros policatiónicos son excelentes mucoadhesivos a estos valores de pH, pero inefectivos a pH ácido [70]. A pH ácido, los polianiónicos son buenos mucoadhesivos por su capacidad para formar puentes de hidrógeno con los grupos hidroxilo de los carbohidratos de la mucina, pero a pH neutro, las interacciones con la mucina siempre son repulsivas [83]. Dado que las uniones secundarias surgen principalmente debido a la formación de enlaces de hidrógeno, es bien conocido que los polímeros mucoadhesivos que poseen grupos funcionales hidrófilos tales como carboxilo, hidroxilo, amida y grupos sulfato, pueden ser más favorables en la formulación de estas plataformas de administración de fármacos [72]. Los sitios clave para las interacciones mucoadhesivas parecen estar en los residuos de carbohidratos, a través de la interacción electrostática o mediante uniones hidrófobas [84].

2.12.1.6. Grado de hidratación

A este respecto, muchos polímeros exhiben propiedades adhesivas en condiciones donde la cantidad de agua es limitada, sin embargo, en tal situación, se cree que la adhesión es el resultado de una combinación de atracción capilar y las fuerzas osmóticas entre el polímero seco y la superficie de la mucosa húmeda que actúan para deshidratar y fortalecer la capa de moco [85]. Mientras que la hidratación es esencial para la relajación y la interpenetración de las cadenas del polímero, un exceso de hidratación puede conducir a una disminución de la mucoadhesión debido a la formación de un mucílago resbaladizo [86]. Los polímeros reticulados sólo permiten un cierto grado de hidratación y pueden ser ventajosos para proporcionar un efecto mucoadhesivo prolongado.

2.12.1.7. pH y carga

La densidad de carga es un factor importante para la bioadhesión [87]. Se sugiere que es necesario que aproximadamente el 80% de los grupos carboxilo se protonen para obtener un óptimo proceso de mucoadhesión dentro de sistemas de ácido poliacrílico [88]. Esta teoría ha sido discutida recientemente con la sugerencia de que los grupos carboxílicos en ácidos acrílicos sólo son eficaces cuando están en su forma ácida [89]. A valores más altos de pH, la repulsión de grupos funcionales como carboxilos se cambia la conformación espacial de un estado enrollado a una estructura de "varilla" haciéndolos fácilmente disponible para la interdifusión e interpenetración [76]. A tales valores de pH, polímeros cargados positivamente como el CS, pueden formar complejos de polielectrolitos con las mucinas cargadas negativamente estableciendo una fuerte mucoadhesión [90].

2.12.2. Factores relacionados con el ambiente

2.12.2.1. Fuerza aplicada

Para colocar un sistema mucoadhesivo es necesario aplicar una fuerza definida y cualquiera que sea el polímero, la fuerza de adhesión aumenta con la fuerza aplicada, o con la duración de su aplicación [69].

2.12.2.2. pH del medio

La mucoadhesión está influenciada por las cargas presentes en la superficie del moco y de los polímeros. El pH del medio es importante para el grado de hidratación del polímero [90], por ejemplo, el ácido poliacrílico ha mostrado un aumento constante en la hidratación a valores de pH de 4 a 7 y luego disminuye a medida que aumenta la alcalinidad y la fuerza iónica [69].

2.12.2.3. Tiempo inicial de contacto

El tiempo de contacto entre el sistema mucoadhesivo y el moco determina la extensión del hinchamiento y la interpenetración de las cadenas del polímero, por otra parte, la fuerza mucoadhesiva aumenta a medida que aumenta el tiempo inicial de contacto [90].

2.12.2.4. Hinchamiento

Depende de la concentración del polímero, la concentración iónica, así como la presencia de agua; una hidratación excesiva conduce a la formación de un mucílago resbaladizo sin adherencia [71].

2.12.2.5. Fuerza iónica

La fuerza iónica del medio circundante puede también tener un papel importante en la fuerza de mucoadhesión, en general se reduce en presencia de iones debido a la protección de los sitios funcionales que están involucrados en los procesos de adhesión y la expansión de la red del gel [70].

2.12.3. Factores fisiológicos

2.12.3.1. Recambio de la mucina

La rotación o recambio de mucina puede limitar el tiempo de residencia del polímero mucoadhesivo en la capa de moco; si la fuerza adhesiva es alta, el mucoadhesivo se separa de la superficie debido al recambio de mucina. Además, el recambio de mucina resulta en cantidades sustanciales de moléculas solubles de mucina y pueden interactuar con el mucoadhesivo antes que con el moco [70]. La baja viscosidad del moco resulta en un débil y

fácilmente desmontable vínculo entre el polímero y el moco haciendo difícil la administración dirigida de fármacos, en contraste, una capa de moco muy viscosa limita el grado de interpenetración y también aumenta la difusión a través del cual debe pasar el principio activo [71].

2.12.3.2. Estados patológicos

Las propiedades fisicoquímicas del moco se sabe que cambian bajo ciertas condiciones de enfermedad, tales como el resfriado común, úlceras gástricas, colitis ulcerosa, fibrosis quística, infecciones bacterianas y fúngicas del aparato reproductor femenino [69].

2.13. FACTORES QUE AFECTAN LA ABSORCIÓN BUCAL DE FÁRMACOS

La cavidad oral es un entorno relativamente complejo para la administración de fármacos ya que hay factores que reducen la absorción en este sitio [76].

2.13.1. Factores relacionados con la membrana

Esto implica el grado de queratinización, área de superficie disponible para la absorción, la capa del moco, lípidos intercelulares del epitelio, la membrana basal y la lámina propia. Además, el espesor de la membrana de absorción, el suministro de sangre/drenaje linfático, la renovación celular y contenido de enzimas contribuirán a la reducción de la velocidad y la cantidad de fármaco que entra a la circulación sistémica [70].

2.13.1.1. Saliva

La película delgada de saliva en todo el revestimiento de la mucosa bucal se llama película salival y su espesor es de 70 a 100 μm . El espesor, la composición y el movimiento de esta película afecta a la tasa de absorción bucal [70].

2.13.1.2. Glándulas salivales

Las glándulas salivales menores se encuentran en la región epitelial o epitelial profunda de la mucosa bucal y constantemente segregan moco en la superficie de la mucosa bucal y aunque el moco ayuda a retener formas de dosificación mucoadhesivas, la saliva es un posible obstáculo a la penetración del fármaco [72].

2.13.1.3. Movimiento de los tejidos bucales

La región bucal de la cavidad oral muestra los movimientos menos activos. Los polímeros mucoadhesivos incorporados en estas formas de dosificación se deben mantener esta región durante largos períodos de tiempo para resistir los movimientos de los tejidos durante el habla y si es posible al comer y beber alimentos [12].

2.14. COMPONENTES BÁSICOS EN LOS SISTEMAS MUCOADHESIVOS BUCALES

2.14.1. Principio activo

Antes de formular este tipo de sistemas mucoadhesivos para la administración de fármacos se tiene que decidir si la acción que se desea es local con una pronta aparición del efecto farmacológico (liberación inmediata) o si se requiere un efecto sistémico que permita obtener concentraciones plasmáticas constantes (liberación controlada). La selección adecuada del fármaco para incorporarlo a este tipo de sistemas debe hacerse en función de las propiedades farmacocinéticas del mismo. El fármaco debe tener las siguientes características [91-92]:

1. La dosis convencional del fármaco debe ser baja,
2. Los fármacos que tienen un tiempo de vida media de 2 a 8 hrs son buenos candidatos para la administración controlada de fármacos,
3. El T max (tiempo en que el fármaco alcanza la concentración máxima en circulación sistémica) muestre amplias fluctuaciones o valores más altos cuando se administren oralmente,
4. Fármacos que se administren a través de la vía oral y presenten efecto de primer paso o eliminación presistémica y
5. La absorción del fármaco debe ser pasiva cuando se administre por vía oral.

2.14.2. Polímero mucoadhesivo

Estos polímeros se usan como matriz en la que el fármaco se encuentra distribuido homogéneamente y controlan la velocidad de liberación del mismo [93]. Un polímero ideal para los sistemas mucoadhesivos de administración de fármacos aplicados en la cavidad bucal debe tener las siguientes características [94]:

1. Debe ser inerte y biodegradable,
2. El polímero y sus productos de degradación no deben ser tóxicos,
3. Se debe adherir rápidamente a la superficie del tejido húmedo y debe poseer cierta especificidad al sitio,
4. El polímero no debe descomponerse durante el almacenamiento o la vida útil de la forma de dosificación,
5. El polímero debe ser fácilmente disponible en el mercado y económico, y por último
6. Debe permitir la fácil incorporación de fármaco en la formulación.

2.14.3. Membrana de refuerzo

Los materiales utilizados como membrana de refuerzo deben ser inertes, impermeable al fármaco y tener un potencial de penetración. Dicha membrana impermeable en parches

bucales mucoadhesivos previene la pérdida del fármaco. Los materiales comúnmente usados en membranas de refuerzo incluyen a la Etilcelulosa (EC). [70].

2.14.4. Potenciadores de permeación

Las sustancias que facilitan o promueven el paso de fármacos a través de la mucosa bucal se conocen como potenciadores de la permeación [95], su selección y su eficacia depende de las propiedades fisicoquímicas del fármaco, el sitio de administración, la naturaleza del vehículo y otros excipientes [96].

2.15. POLÍMEROS PARA SISTEMAS MUCOADHESIVOS

En general, los polímeros adhesivos pueden ser clasificados como naturales, sintéticos, solubles e insolubles en agua, iónicos y no iónicos (Tabla 11), además, se incluye una clasificación de acuerdo a la generación, es decir, de primera y segunda generación.

Tabla 11. Clasificación de polímeros mucoadhesivos.

Criterio	Categoría	Ejemplos
<i>Fuente</i>	Natural	Agarosa, CS, gelatina, ácido hialurónico, goma guar, xantan, tragacanto, gellan, carragenanos, pectinas, alginato de sodio.
	Sintéticos	<i>Derivados de celulosa</i> CMC, CMC tiolada, CMCNa, HEC, HPC, HPMC, MC <i>Polímeros a base de ácido poliacrílico</i> Copolímeros de ácido acrílico y PEG, poliacrilatos, poli-(2-hidroxyetilmetacrilato), poli-(alquilcianoacrilato), poli-(isohexilcianoacrilato), poli-(isobutilcianoacrilato)
<i>Solubilidad</i>	Soluble en agua	HEC (agua < 38 °C), HPMC (agua fría), CMCNa, AS CS (soluble en ácidos diluidos), EC
	Insoluble en agua	
<i>Carga</i>	Catiónicos	Aminodextrán, CS, Dimetilaminoetildextran, Trimetilquitosan CS-EDTA, CMC, Pectina, AS, CMCNa, Goma Xantan
	Aniónicos	Hidroxietil almidón, HPC, PEO, PVA, PVP
	No iónicos	
<i>Fuerzas bioadhesivas potenciales</i>	Covalente	Cianoacrilato
	Enlaces de hidrógeno	Ácido polimetacrílico, CP, PVA
	Interacciones electrostáticas	CS

2.15.1. Polímeros mucoadhesivos de primera generación

La primera generación de polímeros mucoadhesivos carece de especificidad y capacidad de reconocimiento, se adhieren a la mucosa de manera no específica y sufren tiempos de retención cortos [47]. Las interacciones químicas entre los polímeros mucoadhesivos y el moco o superficies de tejidos son generalmente de naturaleza no covalente, sin embargo, los polímeros nuevos son capaces de formar enlaces covalentes con el moco y las capas celulares subyacentes, y por lo tanto, exhiben interacciones químicas mejoradas [97]. Los polímeros mucoadhesivos de primera generación se pueden dividir principalmente en dos subconjuntos: aniónicos y catiónicos.

2.15.1.1. Aniónicos

Estos polímeros se caracterizan por la presencia de grupos funcionales carboxilo y sulfato que dan lugar a una carga negativa neta global a valores de pH superiores al pKa del polímero [98]. Los ejemplos típicos incluyen ácido poliacrílico, sus derivados débilmente reticulados y CMC, que poseen excelentes características mucoadhesivas debido a la formación de fuertes interacciones de enlaces de hidrógeno con la mucina [33].

2.15.1.2. Catiónicos

De los polímeros catiónicos, sin duda, el CS es el más ampliamente investigado en la literatura científica actual y cada vez gana más importancia debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y sus propiedades toxicológicas favorables [98]. La principal ventaja de utilizar este polímero dentro de aplicaciones farmacéuticas es la facilidad con la que se pueden añadir varios grupos químicos, en particular, en la posición C-2 que permite la formación de nuevos polímeros funcionalizados [33,97].

2.15.2. Polímeros mucoadhesivos de segunda generación

Esta nueva generación de mucoadhesivos puede adherirse directamente a la superficie de la célula, en lugar de la mucosidad [99], interactúan con la superficie celular por medio de receptores específicos o enlaces covalentes en lugar de mecanismos no específicos que son característicos de los polímeros de primera generación [98]. Ejemplos de este tipo de polímeros incluyen la incorporación de L-cisteína, grupos tiol y lectinas. Esta clase de polímeros mantienen una prometedora oportunidad para el suministro de una amplia variedad de fármacos, particularmente macromoléculas y crean nuevas posibilidades para las interacciones más específicas y mejorar la administración dirigida [47].

2.15.2.1. Polímeros tiolados

A través de una unión covalente entre residuos de cisteína y un polímero de elección, como policarbofil, ácido poliacrílico y el CS, se ha creado una nueva generación de polímeros

mucoadhesivos. Los polímeros modificados que contienen un enlace tiol presentan propiedades bioadhesivas mejoradas [99]. Enlaces disulfuro entre la glicoproteína de la mucina y el polímero mucoadhesivo tiolado pueden formar una fuerte interacción covalente [98]. Entre otras propiedades de estos polímeros destacan: mucoadhesión mejorada, mejor resistencia a la tracción, altas propiedades de cohesión e hinchamiento rápido [33]. Se ha establecido que estos polímeros son capaces de formar enlaces covalentes como los puentes disulfuro de cisteína (Figura 9) con subdominios ricos de glicoproteínas ya sea a través de tiol/disulfuro o reacciones de intercambio a través de una simple oxidación de los grupos tiol libres [100].

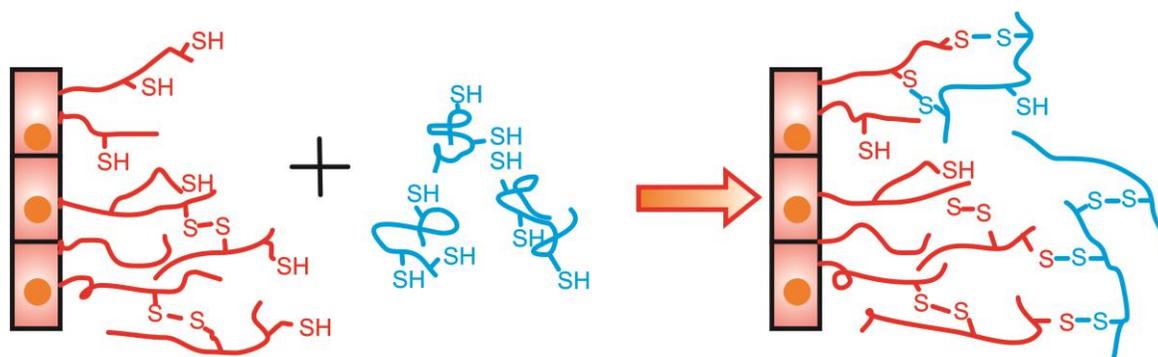


Figura 9. Formación de puentes disulfuro entre tímeros poliméricos y dominios ricos en cisteína del gel en la mucosa. Tomada de Referencia [74].

Los polímeros tímeros son derivados de polímeros hidrófilos tales como poliacrilatos, CS desacetilado o goma gellan [101], en la Tabla 12 se muestran algunos ejemplos y el efecto consecuente en la fuerza mucoadhesiva

Tabla 12. Ejemplo de polímeros tiolados y el efecto sobre mucoadhesión [104].

Polímero	Fuerza de la unión mucoadhesión
Quitosano iminotioloado	Propiedades mucoadhesivas y resistencia al plegado 250 veces mayor
Ácido poliacrílico-cisteína	Propiedades mucoadhesivas 100 veces mayor
Ácido poliacrílico-homocisteína	Incrementa sus propiedades mucoadhesivas aproximadamente 20 veces
Quitosano-ácido tioglicólico	Propiedades mucoadhesivas 20 veces mayor
Quitosano-tioimidina	Propiedades mucoadhesivas 9 veces mayor
Alginato-cisteína	Cuadruplica sus propiedades mucoadhesivas
Ácido polimetacrílico-cisteína	Mejora propiedades de cohesión y mucoadhesión
CMC sódica-cisteína	Mejora de las propiedades mucoadhesivas

La presencia de grupos tiol permite la formación de enlaces covalentes con subdominios ricos en cisteína de la capa de gel del moco, lo que lleva a un mayor tiempo de residencia y una biodisponibilidad mejorada [102]. A este respecto, los tímeros imitan el mecanismo

natural de las glicoproteínas que también están anclados covalentemente en la capa del moco por la formación de dichos enlaces [103]. Mientras que las plataformas mucoadhesivas de primera generación son facilitadas a través de interacciones secundarias no covalentes, los mecanismos de unión involucrados en los sistemas de segunda generación conducen a interacciones que son menos susceptibles a cambios en la fuerza iónica y/o el pH [104].

2.15.2.2. Lecitinas

Las lectinas son proteínas naturales que juegan un papel fundamental en los fenómenos de reconocimiento biológico con células y proteínas, pertenecen a un grupo estructuralmente diverso de proteínas y glicoproteínas que pueden unirse reversiblemente a residuos específicos de carbohidratos [105]. Después de la unión inicial, las lectinas pueden o bien, permanecer en la superficie celular, o en el caso de la adhesión mediada por un receptor, posiblemente, internalizarse a través de un proceso de endocitosis. Mientras que las lectinas ofrecen ventajas significativas en comparación con polímeros de primera generación, vale la pena señalar que tales polímeros pueden sufrir al menos en parte la inactivación prematura [106]. Aunque las lectinas ofrecen ventajas significativas, muchas de ellas son tóxicas o inmunogénicas y los efectos de la exposición repetida con lectinas son en gran parte desconocidos. Es también factible que los anticuerpos inducidos por lectinas podrían bloquear subsiguientes interacciones adhesivas entre superficies mucosas de las células epiteliales y los vehículos de entrega [107].

2.16. CLASIFICACIÓN DE LOS PARCHES BUCALES MUCOADHESIVOS

En general, los parches bucales mucoadhesivos se pueden clasificar en tres diferentes categorías:

1) *Parches con una matriz soluble (Figura 10-A)*. Están diseñados para liberar el fármaco en la cavidad oral. La membrana mucoadhesiva puede prolongar la duración de la matriz en la cavidad oral. En comparación con otras formas farmacéuticas, estos sistemas son de acción prolongada y potencialmente pueden entregar mayores cantidades de fármaco [108].

2) *Parches con un respaldo insoluble (Figura 10-B)*. Son especialmente diseñados para la entrega de fármacos y obtener un efecto sistémico. Al ser sistemas cerrados y estar protegidos de la saliva, estas formulaciones permiten mantener concentraciones controladas del fármaco y liberarlo continuamente por periodos de 10-15 horas [108-109]. Estos sistemas presentan la desventaja de que se tiene que remover la membrana de refuerzo después de la administración.

3) *Parches con un respaldo soluble*. Los parches que tienen un respaldo soluble se disuelven en la cavidad oral pero muestran una corta acción comparados con los que contienen una membrana insoluble [108].

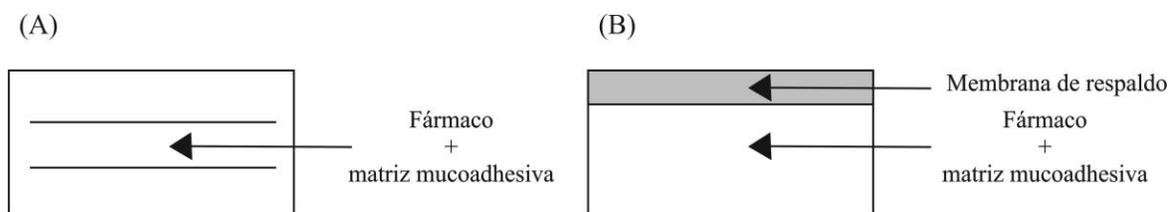


Figura 10. Clasificación de los parches bucales mucoadhesivos. (A) Parches con una matriz soluble, (B) Parches con respaldo insoluble. Modificada de referencia [108].

2.17. VENTAJAS Y LIMITACIONES DE LOS SISTEMAS MUCOADHESIVOS

2.17.1. Ventajas de los sistemas mucoadhesivos para la entrega de fármacos

La administración de fármacos a través de sistemas mucoadhesivos ofrece varias ventajas, entre las más importantes se encuentran [7,70]:

1. Un inicio rápido del efecto terapéutico,
2. El fármaco es fácilmente administrado y en caso de una emergencia se puede realizar con facilidad la suspensión de la terapia,
3. La mucosa bucal se repara rápidamente,
4. Región altamente hidratada, por lo tanto, es un buen ambiente para disolver fármacos hidrosolubles,
5. La liberación del fármaco puede efectuarse por un periodo de tiempo prolongado,
6. El fármaco puede ser administrado cuando la vía oral es clínicamente impracticable,
7. Los fármacos pueden eludir efecto del metabolismo de primer paso por lo que aumenta su biodisponibilidad,
8. Potencial reducción de efectos secundarios,
9. Algunos fármacos que son inestables en el ambiente ácido del estómago pueden ser administrados en la cavidad bucal,
10. La absorción del fármaco es por medio de un proceso de difusión pasiva,
11. Flexibilidad en el estado físico, forma, tamaño y superficie y
12. La tasa de absorción es maximizada debido al contacto cercano con la membrana absorbente y el tiempo en de permanencia en el sitio de absorción

2.17.2. Limitaciones de los sistemas mucoadhesivos para la entrega de fármacos

Existen algunas limitaciones en los sistemas mucoadhesivos para la administración de fármacos en la cavidad bucal, tales como [7,70]:

1. Fármacos que son inestables a pH bucal no se pueden administrar por esta vía,
2. Fármacos que tienen un sabor amargo, olor desagradable o que pueden irritar la mucosa no puede ser administrados por esta ruta,
3. Sólo se pueden administrar fármacos a dosis bajas,

4. Sólo se pueden administrar por esta vía fármacos que son absorbidos por difusión pasiva,
5. El comer y beber pueden ser restringidos,
6. Puede existir una pérdida de fármaco debido a la deglución de la saliva y
7. Área superficial relativamente pequeña.

2.18. MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE PARCHES MUCOADHESIVOS

2.18.1. Evaporación de disolvente

Este método es sin duda el más utilizado y reportado en la literatura para la fabricación de películas y parches mucoadhesivos. Esto es debido principalmente a la facilidad del proceso y el bajo costo que implica en un laboratorio de investigación [13,109]. El proceso consiste en al menos seis pasos: (1) preparación de la dispersión de moldeo, (2) deaireación, (3) transferencia del volumen apropiado en un molde adecuado, (4) secado de la dispersión de moldeo, (5) el corte de la forma de dosificación final para contener la cantidad deseada de fármaco y (6) envasado [12,109].

Durante la fabricación, se da importancia en particular a las propiedades reológicas de la solución o suspensión, las burbujas de aire atrapado, uniformidad de contenido y los disolventes residuales en la forma de dosificación final [109]. La reología del líquido va a determinar las velocidades de secado y la uniformidad en términos del contenido de fármaco, así como el aspecto físico de las películas [13]. Durante las etapas de mezclado dentro del proceso de fabricación, las burbujas de aire se introducen de forma inadvertida y la eliminación del aire es un paso crítico por razones de homogeneidad [110]. Otra preocupación recurrente es la presencia de disolventes orgánicos. El uso de disolventes orgánicos normalmente es cuestionado, no sólo debido a problemas relacionados con la recolección de los mismos y por la presencia de residuos en la formulación, sino también porque los disolventes orgánicos son riesgos no deseados para el medio ambiente y la salud [13]. Sin embargo, debido a las propiedades fisicoquímicas del fármaco y los excipientes, muchas formulaciones se basan en el uso de disolventes orgánicos.

2.18.2. Extrusión (Hot-melt extrusion)

Mediante este método, una mezcla de ingredientes farmacéuticos es fundida y luego forzada a pasar a través de un orificio para producir un material más homogéneo en diferentes formas, tales como gránulos, tabletas, o películas [109]. Muy pocos artículos han reportado el uso de extrusión por fusión en caliente para la fabricación de películas bucales mucoadhesivas. En algunas publicaciones implican la inclusión de Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC) y su profármaco, un éster de hemiglutarato (THC-HG) [111-113]. Por esta vía se pueden obtener exitosamente películas mucoadhesivas para THC a 120, 160 y 200 °C, en donde al menos se encuentra presente el 94 % del ingrediente activo, la mayor degradación del THC se observó a

200 °C por lo que ésta última temperatura puede generar problemas en la fabricación de las películas mucoadhesivas.

2.19. QUITOSANO

2.19.1. Origen y obtención

El término "Quitosano" se le da a la quitina desacetilada, sus derivados se encuentran probablemente en el top 3 de polisacáridos más publicados en la literatura científica, junto con la celulosa y el almidón [98]. La quitina se extrae del exoesqueleto de artrópodos y de la pared celular de hongos, puede encontrarse CS como tal en algunos hongos pero en cantidades limitadas [114]. El método generalmente usado para el aislamiento de la quitina a partir del exoesqueleto de los crustáceos consta de tres pasos: desproteínización, desmineralización y decoloración [98]. Posteriormente, la quitina se desacetila para obtener CS u otros productos para una amplia gama de aplicaciones. El proceso de producción se resume en la Figura 11.



Figura 11. Proceso de producción de Quitosano a partir de desechos de cáscaras de crustáceos. Modificada de Referencia [98].

2.19.2. Estructura

Las quitinas pueden ser divididas en α , β y γ según los enlaces de hidrógeno en su estructura [98]. La α -quitina está compuesta de dos cadenas antiparalelas de polisacáridos, la β -quitina de dos cadenas paralelas de polisacáridos y la γ -quitina de tres cadenas paralelas de polisacáridos, dos de las cuales se encuentran en la misma dirección; siendo la conformación α la más estable [115]. Esta macromolécula es una amina alifática primaria y es el único polisacárido catiónico debido a sus cargas positivas ($^+\text{NH}_3$) a pH ácido (pH <6.5), por lo tanto,

el CS puede estar protonado por ácidos tales como: ácido fórmico, acético, láctico, málico y cítrico [114].

El CS posee una estructura lineal, formada por unidades de D-glucosamina y N-acetilglucosamina unidas por medio de enlaces β -(1-4)-glucosídicos (Figura 12) [116] y está disponible en una variedad de formas que difieren principalmente en el peso molecular y el grado de desacetilación, estas diferencias afectan características importantes tales como la solubilidad y mucoadhesividad [117].

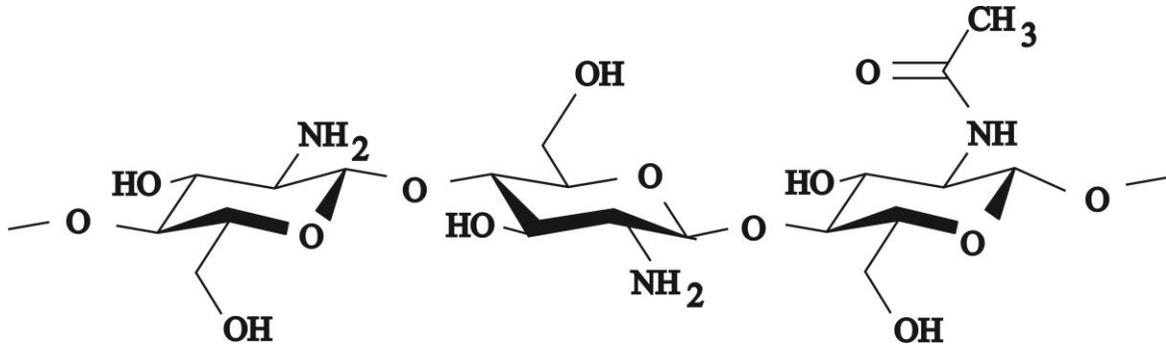


Figura 12. Estructura química del Quitosano. Tomada de Referencia [115].

2.19.3. Características fisicoquímicas como adhesivo

Un adhesivo líquido se caracteriza por tres valores: la tensión superficial, la viscosidad y la penetración del adhesivo en el material de soporte [117]. La tensión superficial es una propiedad de superficie de un líquido que le permite resistir una fuerza externa [118]. La viscosidad de un fluido es una medida de su resistencia a la deformación gradual [119]. La tensión superficial del adhesivo debe ser inferior o igual a la energía de superficie del material para obtener una buena interacción molecular [120]. El CS a bajas concentraciones (0.5 % p/v) tiene una tensión superficial de 64 mNm^{-1} al contacto inicial (t_0), que se reduce a 41 mNm^{-1} después de largos periodos de tiempo [98]. Las dispersiones de CS con concentraciones más importantes tienen tensiones superficiales más bajas, por ejemplo una dispersión al 2 % p/v en ácido acético al 2 % v/v exhiben una tensión superficial de 37.4 mNm^{-1} [96]. En un estudio han determinado para dispersiones al 2 % p/v en ácido acético 1 % v/v una parte dispersiva de 38.59 mNm^{-1} y una parte polar de 1.10 mNm^{-1} , esto significa que las interacciones ácido-base de Lewis son dominantes [121]. El CS favorece el “collage” con materiales de baja energía superficial, además una baja tensión superficial y una alta dispersión indican que se propaga fácilmente en casi todo tipo de materiales. Dispersiones de CS presentan un comportamiento newtoniano a una concentración inferior a 0.25 % p/v y por encima de este valor tiene un comportamiento de cizalla [122]. La viscosidad de las dispersiones de CS aumenta con la concentración pero disminuye con la temperatura. En otro estudio obtuvieron una viscosidad de 90.2 Pas de una dispersión al 4 % p/v y de 7132 Pas para una de 9 % p/v a 25°C [123].

2.19.4. Biocompatibilidad

La biocompatibilidad del CS es un tema de actualidad de gran importancia, aunque el verdadero significado de la palabra es muchas veces es ignorado. La biocompatibilidad se aborda con frecuencia como la ausencia de toxicidad, pero estos son diferentes conceptos que se refieren a diferentes contextos. La toxicidad se refiere al daño potencial que puede ser causado por un material, mientras que la biocompatibilidad se extiende además al efecto perjudicial o beneficioso del entorno fisiológico en el comportamiento de los materiales [114]. La primera definición que data de 1987, indica que la biocompatibilidad es la capacidad de un material para producir una respuesta en el huésped apropiado en una situación específica [76]. Esta definición fue modificada recientemente como la capacidad de un biomaterial para realizar su función deseada con respecto a una terapia médica sin provocar efectos locales o sistémicos indeseables [118].

2.19.5. Biodegradabilidad

La biodegradación se puede definir como la degradación gradual de un material en virtud de un mecanismo controlado que puede implicar el uso de reactivos químicos o catalizadores biológicos, por ejemplo, ácidos o despolimerización enzimática [123]. Se ha demostrado que el CS puede ser degradado por diversas enzimas tales como la celulasa, quitosanas, pectinasa, la pepsina, la papaína o amilasa [124].

2.20. POLOXÁMERO 407 (PF-127)

2.20.1. Estructura

El Poloxámero 407 también conocido como Pluronic[®] F-127 es un copolímero de tres bloques de Polioxipropileno-Polioxietileno de fórmula general $E_{106}P_{70}E_{106}$ [125]. Se producen por condensación de óxido de etileno y óxido de propileno [126]. Contiene aproximadamente el 70 % de óxido de etileno, lo que explica su hidrofiliidad. Es uno de los copolímeros de bloque ABA la serie de poloxámeros, cuyos miembros comparten la fórmula química se muestra en la Figura 13.

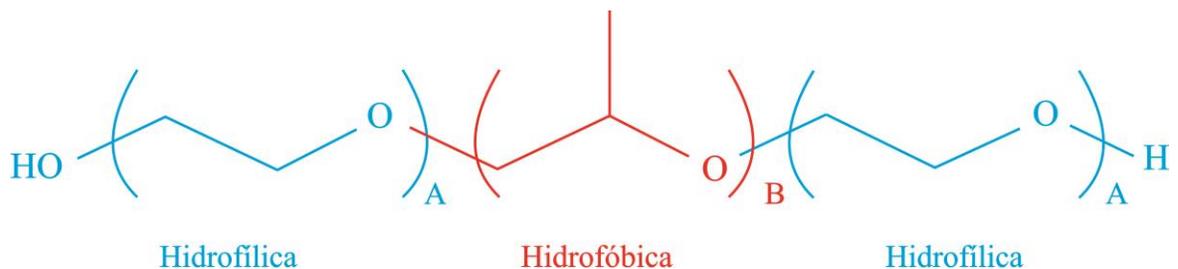


Figura 13. Estructura química del Pluronic[®] F127. “A” corresponde a la porción de óxido de etileno y “B” a la porción de óxido de propileno. Modificada de Referencia [125].

2.20.2. Características y propiedades

En general, los poloxámeros a bajas concentraciones (10^{-4} - 10^{-5} %) forman micelas monomoleculares, pero concentraciones más altas dan lugar a agregados multimoleculares que constan de un núcleo central hidrofóbico con sus cadenas hidrófilas de polioxietileno orientadas al medio externo [126]. La micelización se produce en soluciones diluidas por encima de la concentración micelar crítica (cmc), a concentraciones más altas, por encima de una concentración de gelificación crítica (cgc), las micelas se pueden ordenar en un enrejado [127]. Estos escenarios se ilustran en la Figura 14.

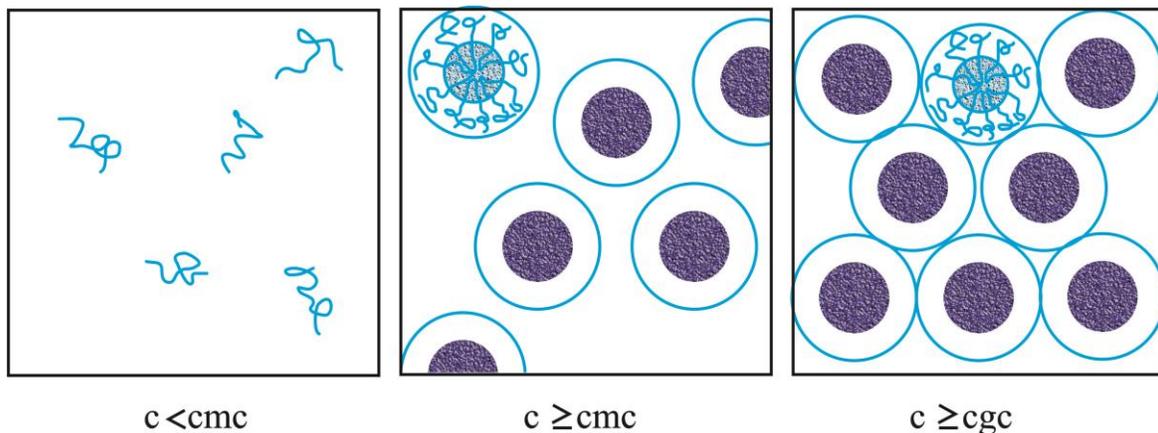


Figura 14. Ilustración de la concentración micelar crítica (cmc) y la concentración de gelificación crítica (cgc) en una solución del copolímero de bloques Tomada de Referencia [125].

El PF-127 es más soluble en agua fría que en agua caliente como consecuencia del aumento de solvatación a bajas temperaturas [128]. Soluciones acuosas del PF-127 de 20 a 30 % p/p tienen la característica interesante de gelificación térmica reversible, es decir, son líquidos a temperaturas de refrigeración (4-5 °C), pero geles tras calentar a temperatura ambiente. La gelificación es reversible tras el enfriamiento [129] y se cree que el gel es micelar en la naturaleza. Una fase micelar líquida es estable a bajas temperaturas pero se transforma en una estructura cúbica mediante el aumento de la temperatura [130]. A temperaturas más altas se forma una fase de cilindros de forma hexagonal (Figura 15).

Se ha informado que el PF-127 es uno de los copolímeros menos tóxicos disponibles en el mercado y su biocompatibilidad lo hace un candidato atractivo como un vehículo para la entrega de fármacos y proteínas a través de diferentes vías de administración [131-132], así como en el área de la ingeniería de tejidos [133-134] y terapia génica [135].

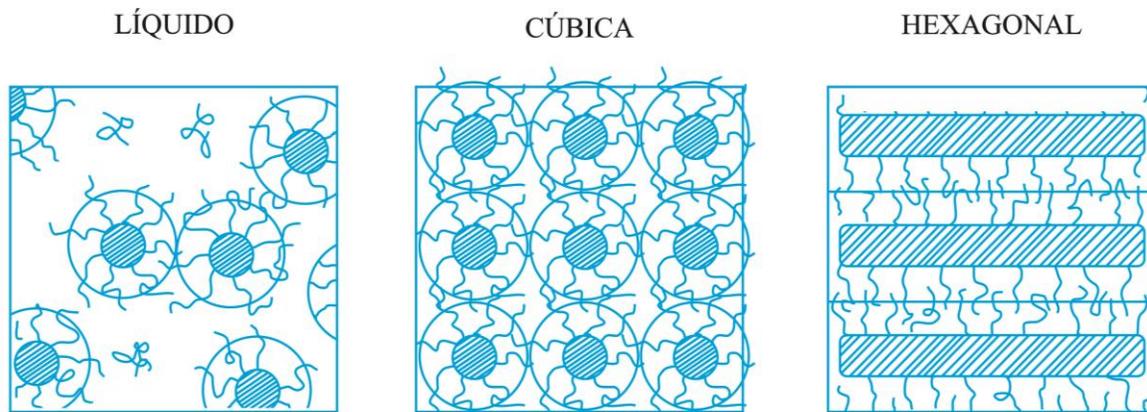


Figura 15. Representación esquemática de las fases micelares formadas por los Pluronic[®] al aumentar la temperatura. Modificada de Referencia [125].

III. OBJETIVOS

3.1. GENERAL

Obtener parches bucales mucoadhesivos para la entrega unidireccional de Tartrato de Metoprolol mediante el método de evaporación de disolvente, para su caracterización fisicoquímica, evaluación de su desempeño *in vitro* – *ex vivo* y su posterior optimización, con la finalidad de presentarlos como una potencial alternativa a la vía oral en el tratamiento de la Hipertensión Arterial.

3.2. PARTICULARES

1. Generar un diseño compuesto central rotatable, con puntos estrella y aleatorizado mediante el uso del programa estadístico Statgraphics Centurion XV.II. empleando como factores de estudio el porcentaje de Quitosano (X_1) y Pluronic[®] F127 (X_2).
2. Encontrar las condiciones óptimas de preparación de los parches bucales mucoadhesivos con respecto a la superficie de moldeo, velocidad y tiempo de agitación, y tiempo de evaporación del disolvente.
3. Preparar los sistemas mucoadhesivos y caracterizarlos fisicoquímicamente mediante la variación de masa y espesor, pH de la superficie, resistencia al plegado, humedad y contenido químico.
4. Evaluar su desempeño mediante estudios de fuerza y tiempo de mucoadhesión *ex vivo*, liberación del fármaco e hinchamiento *in vitro*.
5. Optimizar los sistemas mucoadhesivos con respecto al porcentaje de Quitosano y Pluronic[®] F-127 mediante el programa estadístico Statgraphics Centurion XV.II.
6. Determinar las propiedades mecánicas de la formulación óptima.
7. Realizar estudios de permeación *ex vivo* a la formulación óptima utilizando mucosa bucal de cerdo como modelo mediante celdas de difusión tipo Franz.
8. Evaluar la estabilidad física de la formulación óptima mediante estudios de microscopía óptica

IV. HIPÓTESIS

Los parches bucales mucoadhesivos para la entrega unidireccional de Tartrato de Metoprolol con propiedades fisicoquímicas y desempeño *in vitro* - *ex vivo* adecuados permitirán ser considerados como una novedosa y potencial alternativa a la vía oral en el tratamiento de la Hipertensión Arterial.

V. JUSTIFICACIÓN

En México 22.4 millones de adultos de 20 años o más padecen HTA, de los cuales 11.2 millones están diagnosticados y de esta cifra, sólo 5.7 millones tienen controlado el padecimiento, el cual afecta al 31.5% de los adultos mexicanos y se encuentra entre las tasas más altas a nivel mundial [2]. Durante muchos años la industria farmacéutica se enfocó al desarrollo de nuevas moléculas con actividad farmacológica, situación que se convirtió en algo difícil y costoso, por lo que las preocupaciones se centraron en la modificación estructural de fármacos para hacerlos más selectivos, con menos efectos adversos e incluso con efectos terapéuticos prolongados. Como consecuencia de las dificultades que presenta la obtención o modificación de fármacos, la industria farmacéutica orienta sus estudios en el desarrollo de nuevas formas farmacéuticas o vías de administración alternativas, pero a pesar de los avances tecnológicos, la vía oral sigue siendo la preferida debido al bajo costo y facilidad de administración [5]. Las barreras significativas que se imponen a la administración de fármacos por la vía oral, como el efecto de primer paso hepático y la degradación en el tracto gastrointestinal, conllevan a una disminución de la biodisponibilidad del fármaco y por lo tanto, a una disminución del efecto farmacológico [5,7].

Una de las vías de administración que ha merecido especial atención es la vía bucal, debido a que a través de ésta se puede eludir el efecto de primer paso hepático y mejorar la biodisponibilidad de los fármacos, se puede obtener un efecto terapéutico prolongado, efectos secundarios reducidos, mejor cumplimiento del paciente debido a la disminución de la frecuencia de administración, una fácil terminación y control de la terapia, además, es de fácil administración, puede ser útil en casos especiales en donde la vía oral es clínicamente impracticable, por ejemplo, cuando el paciente se encuentra en estado de inconsciencia, en aquellos que presentan dificultades para deglutir, náuseas y vómito, en padecimientos de mala absorción intestinal y en pacientes con fobias a las agujas ya que esta vía de administración no es invasiva [6-7].

Los fármacos BB como el TM, indicado principalmente en el tratamiento de la HTA, angina de pecho, arritmias cardíacas, infarto de miocardio, terapia post-infarto y profilaxis de la migraña [6,25], presenta inconvenientes como administración frecuente debido a su tiempo de vida media relativamente corto (3-4 horas) [19], extenso metabolismo de primer paso y biodisponibilidad variable (30-50%) [6], por lo que es un candidato ideal para sistemas terapéuticos en forma de parches bucales mucoadhesivos. En el presente trabajo se propone la preparación de sistemas bucales mucoadhesivos utilizando como matriz polimérica al CS y como modulador de la liberación al PF-127, con la finalidad de llevar a cabo su caracterización fisicoquímica y evaluación *in vitro* – *ex vivo* que permita optimizar su desempeño y de esta manera presentarlo como una potencial alternativa en el tratamiento de la HTA que ofrezca ventajas significativas en comparación con la vía oral.

VI. METODOLOGÍA

6.1. ETAPA I. ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE PREPARACIÓN

Durante esta etapa se manipularon las condiciones de preparación tales como: superficie de moldeo, velocidad de agitación, tiempo de agitación y el tiempo evaporación del disolvente con la finalidad obtener parches homogéneos.

6.1.1. Superficies de moldeo

Para la preparación de los parches bucales se probaron dos superficies de moldeo para poder elegir la que permita una mejor manipulación de los mismos una vez secos. La primera consiste en moldes cuadrados de acetato con un área de 64 cm^2 y la segunda en placas Petri circulares de plástico con un área de 66.5 cm^2 (Figura 16)



Figura 16. Superficies de moldeo evaluadas, (Izquierda) placas Petri, (Derecha) moldes de acetato.

6.1.2. Cinética de mezclado

Para tener un control durante la preparación de los parches bucales se llevó a cabo una cinética de mezclado variando la velocidad (500, 1000 y 1500 rpm) y el tiempo de mezclado (3, 5, 10 y 15 minutos) para encontrar las mejores condiciones que permitan obtener una mezcla homogénea al finalizar la adición del fármaco a la dispersión de moldeo y de esta manera se encuentre distribuido uniformemente y con la menor incorporación de burbujas provocadas por la agitación, para así obtener menores tiempos de deaireación. Se preparó una formulación de la cual se tomaron alícuotas de 1,0 mL de diferentes partes del vaso de precipitados (parte superior, media e inferior) a tiempos predeterminados. Cada alícuota se transfirió a un matraz volumétrico de 25 mL y se llevó a volumen con solución buffer de fosfatos pH 7.4. Finalmente se analizaron las muestras espectrofotométricamente a una longitud de onda de 219 nm.

6.1.3. Tiempo de evaporación

Las películas de EC y Eudragit® E-100 (EuE-100) se monitorearon durante 3 horas y el avance del proceso de secado de la película mucoadhesiva se inspeccionó durante 72 horas para verificar la evaporación del disolvente a temperatura ambiente.

6.2. ETAPA II. PREPARACIÓN DE LOS PARCHES BUCALES MUCOADHESIVOS

6.2.1. Diseño Experimental

Para la preparación de los parches bucales mucoadhesivos se empleó un Diseño de Compuesto Central rotatable (DCC), con puntos estrella y aleatorizado para estimar superficies de respuesta de segundo orden. La concentración de CS (X_1) y PF-127 (X_2) se eligieron como variables independientes, utilizando dos niveles, bajo y alto denotados por los valores codificados -1 y 1 respectivamente. Se adicionaron tres réplicas del punto central codificado como 0 y dos puntos axiales $-\alpha$ y $+\alpha$, para poder estimar el error experimental y efectos cuadráticos puros (Tabla 13). El comportamiento de las superficies de respuesta se modeló empleando la siguiente ecuación polinomial de segundo orden:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \epsilon_i$$

donde Y_i representa la respuesta predicha, β_0 es la ordenada al origen, β_1 y β_2 son los coeficientes de regresión de los términos lineales, β_{11} y β_{22} son los coeficientes para los términos cuadráticos de la ecuación, β_{12} es el efecto de la interacción y ϵ_i es el término del error experimental.

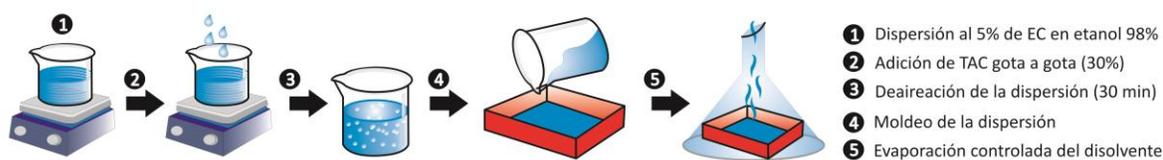
Tabla 13. Variables independientes, dependientes y niveles utilizados en el diseño experimental.

Variables independientes	Niveles codificados				
	$-\alpha$	-1	0	1	$+\alpha$
X_1 CS (%p/v)	0.76	1.3	2.6	3.9	4.43
X_2 PF-127 (%p/v)	0.53	0.9	1.8	2.7	3.07
Variables dependientes					
Y_1 = Variación de masa (mg)	Y_6 = Contenido químico (%)				
Y_2 = Variación de espesor (μ m)	Y_7 = Fuerza de mucoadhesión <i>ex vivo</i> (N)				
Y_3 = pH de la superficie	Y_8 = Tiempo de mucoadhesión <i>ex vivo</i> (min)				
Y_4 = Resistencia al plegado (No.)	Y_9 = Constante de liberación <i>in vitro</i> , K_H (min^{-1})				
Y_5 = Humedad (%)	Y_{10} = Hinchamiento, K (min^{-1})				

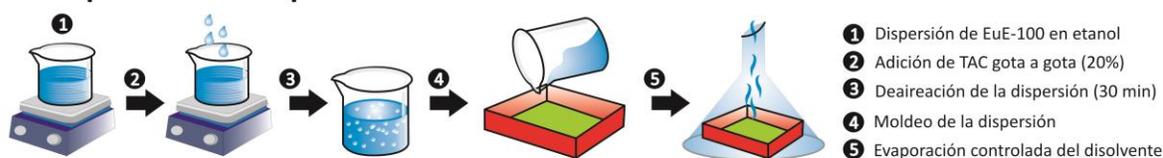
6.2.2. Preparación de los lotes

Los parches bucales mucoadhesivos se prepararon siguiendo el método descrito por Escobar-Chávez, et al. 2011 [136] con algunas modificaciones y bajo las condiciones óptimas de preparación (Figura 17).

A. Preparación de la película impermeable



B. Preparación de la película de Eu-E100



C. Preparación de la película mucoadhesiva

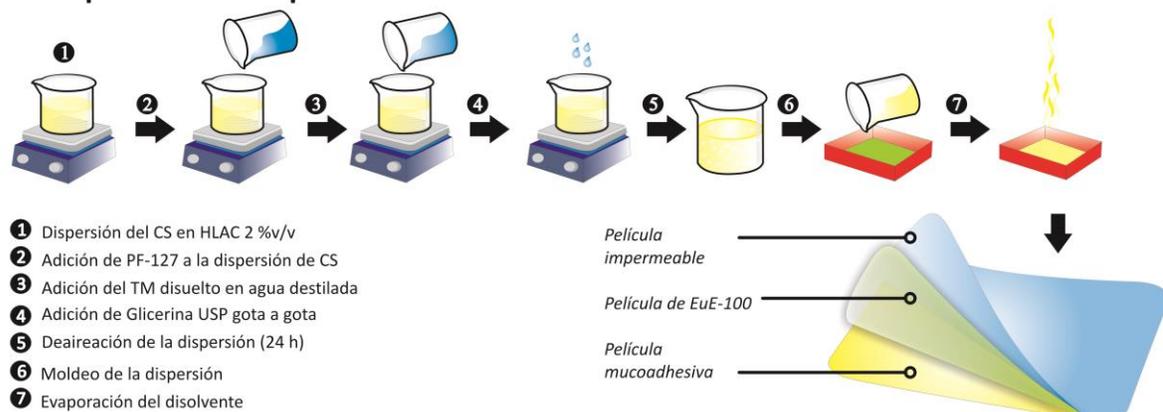


Figura 17. Representación esquemática de la preparación de los parches bucales mucoadhesivos. (A) Preparación de la película impermeable de EC, (B) Preparación de la película de EuE-100 y (C) Preparación de la película mucoadhesiva.

6.2.2.1 Preparación de la película impermeable de EC

Se preparó una dispersión de EC (5 % p/v) en etanol (95 % v/v) bajo agitación magnética constante. Posteriormente se añadió gota a gota el 30 % p/p de Triacetina con respecto al polímero y esta dispersión se mantuvo en reposo durante 30 minutos para eliminar el exceso de aire incorporado durante la agitación. Finalmente, se transfirió la dispersión sobre el molde y se colocó un embudo invertido para permitir una evaporación homogénea y controlada del disolvente (Figura 17-A).

6.2.2.2. Preparación de la película de EuE-100

Se preparó una dispersión de EuE-100 (3 % p/v) en etanol absoluto bajo agitación magnética constante. Se añadió gota a gota el 20 % p/p de Triacetina con respecto al polímero y posteriormente se mantuvo en reposo durante 30 minutos para después distribuirla sobre la película de EC previamente preparada. A continuación se colocó un embudo invertido para permitir una evaporación controlada del disolvente (Figura 17-B).

6.2.2.3. Preparación de la película mucoadhesiva

En un vaso de precipitado (a), se adicionó la cantidad correspondiente de CS y se dispersó en ácido láctico 2 % v/v bajo agitación magnética. En un segundo vaso (b), se disolvió el PF-127 en ácido láctico frío 2 % v/v. En un tercer vaso (c), se disolvió el TM (3 % p/v) en la mínima cantidad de agua destilada. Posteriormente, se transfirió el contenido de (b) sobre (a) lentamente y bajo agitación magnética hasta homogenizar (d). El contenido de (c) se vertió sobre (d) lentamente y bajo agitación magnética (e). Se adicionó gota a gota el 5 % p/v de Glicerina USP sobre el contenido de (e) manteniendo la agitación. Se dejó en reposo la dispersión de moldeo durante 24 horas para permitir su completa deaireación y máximo hinchamiento. Se transfirió la dispersión de moldeo sobre la película de EuE-100 previamente preparada para evaporar el disolvente. Finalmente se cortaron los parches bucales mucoadhesivos en círculos de 2 cm de diámetro y se mantuvieron en un desecador hasta su caracterización (Figura 17-C).

6.3. ETAPA III. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y EVALUACIÓN *IN VITRO* – *EX VIVO*

6.3.1. Variación de masa (Y_1) y espesor (Y_2)

Para la determinación de la variación de masa (VM) y espesor (VE) se seleccionaron al azar 10 parches circulares de 2 cm de diámetro, se pesaron individualmente en una balanza analítica, se calculó la masa promedio y su desviación estándar. El espesor de los parches se obtuvo con un Calibrador Digital Caliper midiendo en diferentes partes y de igual forma se calculó el espesor promedio y su desviación estándar [137].

6.3.2. pH de la superficie (Y_3)

Las mediciones del pH de la superficie (pH-SUP) se realizaron con un potenciómetro Science Med en tres parches bucales después de permitir su hinchamiento al mantenerlos en contacto con 2.0 mL de fluido salival simulado pH 6.8 (ANEXO 1) durante un período de 2 horas a temperatura ambiente [137].

6.3.3. Resistencia al plegado (Y₄)

La determinación de la resistencia al plegado (RP) se hizo manualmente, los parches bucales fueron doblados en un ángulo de 180° hasta observar su ruptura y el número de pliegues que se necesitaron para romper el parche se expresó como el valor de resistencia al plegado [138]. La evaluación se hizo por triplicado y se obtuvo el promedio y su desviación estándar.

6.3.4. Contenido de humedad (Y₅)

Se pesaron en una balanza analítica tres parches bucales (W₁), se mantuvieron en un desecador con cloruro de calcio durante 72 horas y una vez transcurrido este periodo de tiempo se registró el peso de cada parche (W₂) [139]. El contenido de humedad (%) se obtuvo a partir de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_1} \right) 100$$

6.3.5. Contenido químico (Y₆)

Para la determinación del contenido químico inicialmente se realizó un barrido espectrofotométrico del TM, una formulación placebo y una formulación cargada con fármaco, con la finalidad de conocer el comportamiento espectral de estos. Por otra parte, se preparó una curva de calibración de TM en buffer de fosfatos pH 7.4 para poder efectuar la cuantificación del fármaco dentro de concentraciones lineales. Una vez obtenida la curva de calibración, tres muestras correspondientes de cada formulación y un estándar del fármaco fueron sometidas al ensayo de contenido químico. La cuantificación del fármaco se hizo en un espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 219 nm (ANEXO 2).

6.3.6. Fuerza de Mucoadhesión *ex vivo* (Y₇)

Se fijó con pegamento de cianoacrilato una porción de mucosa de cerdo sobre la base de una placa de Petri de 9.1 cm de diámetro, a continuación se adicionaron 100 µL de fluido salival simulado pH 6.8 a 37 ± 0.5°C sobre la mucosa de cerdo; el parche bucal se fijó a la sonda de un Analizador de Textura Brookfield CT3 con cinta adhesiva de doble cara y finalmente se inició el análisis en el modo tensión, con una carga de activación de 6.8 g, una velocidad de análisis de 0.5 mm/segundo y un tiempo de contacto de 60 segundos (Figura 18). La evaluación de la fuerza de mucoadhesión (FMA) se hizo por sextuplicado.



Figura 18. Determinación de la fuerza de mucoadhesión *ex vivo*.

6.3.7. Tiempo de Mucoadhesión *ex vivo* (Y_8)

Para la determinación del tiempo mucoadhesión *ex vivo* (TMA) se utilizó el método descrito por Perioli et al. 2004 [140] con algunas modificaciones. Se pegaron porciones de mucosa de cerdo a los lados de un vaso de precipitados con pegamento de cianoacrilato, posteriormente se colocaron 100 μ L de fluido salival simulado pH 6.8 sobre la mucosa de cerdo y se fijaron tres parches bucales sobre la misma aplicando una ligera fuerza con la punta del dedo durante 60 segundos. Finalmente se adicionó al vaso de precipitados 200 mL de fluido salival simulado pH 6.8 y se mantuvieron en agitación magnética a 50 rpm y a una temperatura de $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ para simular el entorno de la cavidad bucal. El tiempo de mucoadhesión se registró hasta observar el desprendimiento del parche de la mucosa o hasta la completa erosión del mismo.

6.3.8. Liberación del fármaco *in vitro* – (K_H : Velocidad de Liberación – Y_{10})

La liberación del fármaco *in vitro* a partir de parches bucales se realizó en un aparato de disolución USP tipo II (MAYASA), se estabilizó térmicamente a $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ y se mantuvo en agitación constante a una velocidad de 50 rpm. Cada parche se colocó sobre un anillo metálico cubierto de teflón, a continuación, se cubrió con una porción de malla metálica de tal manera que la película mucoadhesiva se encontrara en contacto con el medio de disolución y la película impermeable (no adhesiva) sobre la base del anillo metálico. Posteriormente, se sumergió cada parche en un vaso con 900 mL de solución buffer de fosfatos pH 7.4 y se retiraron alícuotas de 3 mL a intervalos de tiempo predeterminados, reemplazando con volúmenes iguales de medio de disolución y equilibrado a la misma temperatura. Finalmente, las muestras se analizaron en un espectrofotómetro UV-vis Velab a una longitud de onda de 219 nm, la evaluación se realizó por triplicado. Los datos de liberación se evaluaron en base a la ecuación de Higuchi, a partir de la cual se obtuvo la velocidad de liberación (K_H), y la ecuación de Korsmeyer – Peppas se empleó para conocer el mecanismo de transporte (n).

6.3.9. Estudios de Hinchamiento

6.3.9.1. Índice de Hinchamiento (H)

Se seleccionaron al azar tres parches bucales mucoadhesivos y se pesaron en una balanza analítica (W_1), se sumergieron en 2 mL de fluido salival simulado pH 6.8 durante tiempos fijos y a continuación se retiraron del medio, eliminando el exceso del mismo de la superficie con papel filtro para registrar su peso final (W_2) [141]. El total de agua retenida dentro del parche bucal en el equilibrio se calculó con la siguiente fórmula:

$$(H) = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_1} \right)$$

6.3.9.2. Cinética de hinchamiento y Mecanismo de transporte - (k: velocidad – Y_9)

Durante el estudio de la cinética de hinchamiento de los parches bucales es de interés conocer el orden cinético que siguen, por lo tanto, se aplicó la ecuación que corresponde a un orden cinético dos (Ecuación de Schott) [142]. Para una cinética de hinchamiento de segundo orden, la velocidad de hinchamiento es proporcional al cuadrado de su capacidad a cualquier tiempo y está representada por la siguiente ecuación:

$$\frac{dW}{dt} = k(W_\infty - W)^2$$

Al realizar la respectiva separación de las variables e integrando la ecuación se obtiene:

$$W = \frac{KW_\infty^2 t}{1 + KW_\infty t}$$

Dividiendo la ecuación anterior entre KW_∞^2 y ordenando tenemos:

$$\frac{t}{W} = \frac{1}{KW_\infty^2} + \frac{1}{W_\infty} t = \frac{1}{W_\infty} \left(\frac{1}{KW_\infty} + t \right)$$

Si decimos que $A = \left(\frac{1}{KW_\infty^2} \right)$ y $B = \left(\frac{1}{W_\infty} \right)$, la ecuación se transforma en:

$$\frac{t}{W} = Bt + A \quad \text{Ecuación de Schott}$$

Este estudio se realizó midiendo la cantidad de agua absorbida por los parches bucales en función del tiempo y a partir de los resultados obtenidos del índice de hinchamiento, se utilizó la ecuación descrita por Karadag et al. [143-144], la cual es relacionada con la segunda ley de Fick o ley de potencia:

$$F_K = \left(\frac{m_t - m_0}{m_0} \right) = \left(\frac{m_w}{m_0} \right) \text{ Definición de } F \text{ para Karadag}$$

$$F = Kt^n \text{ Ley de Fick}$$

Donde:

F_k= Fracción relacionada con la cantidad acumulada de fluido salival simulado por el parche bucal en un momento dado,

m_w= Es la cantidad de fluido salival simulado que se difunde dentro del parche bucal,

m₀= Es la cantidad de fluido salival simulado que se difunde dentro del parche bucal a tiempo cero

Relacionando la ecuación de Fick con la definición dada por Karadag, se obtiene la siguiente ecuación en su forma logarítmica:

$$\ln(F_K) = \ln(K) + n\ln(t)$$

Donde:

n= Es el exponente difusional que rige el mecanismo de transporte del fluido salival simulado,

k= Constante relacionada con el sistema polimérico y el medio de hinchamiento.

6.4. ETAPA IV. OPTIMIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN

La optimización de múltiples respuestas se realizó mediante el programa Statgraphics Centurion XV.II. Los parches bucales mucoadhesivos se optimizaron en base a las principales variables de respuesta para encontrar las proporciones adecuadas de CS y PF-127 y así observar el mejor desempeño *in vitro* – *ex vivo* de los mismos.

A la formulación óptima se le realizó la caracterización fisicoquímica y evaluación *in vitro* – *ex vivo*, adicionalmente se determinó el porcentaje de constricción o planitud, sus propiedades mecánicas como resistencia a la tracción (TS) y porcentaje de elongación (%E), además, se llevaron a cabo estudios de Microscopía Óptica (MO) y por último se sometió a estudios de permeación *ex vivo* utilizando mucosas de cerdo como modelo en celdas verticales de difusión tipo Franz.

6.4.1. Caracterización fisicoquímica y evaluación *in vitro* – *ex vivo*

Para la caracterización fisicoquímica y evaluación *in vitro* – *ex vivo* de la formulación óptima se utilizó la misma metodología descrita en puntos anteriores.

6.4.2. Planitud

Para obtener el porcentaje de planitud se cortaron discos de 2.0 cm de diámetro para determinar la variación de sus dimensiones con respecto al tiempo (30 días), el porcentaje de planitud se determinó mediante el cálculo del porcentaje de constricción a partir de la siguiente fórmula

$$\% \text{ Constricción} = \left(\frac{\text{Diámetro inicial} - \text{Diámetro final}}{\text{Diámetro final}} \right) 100$$

En donde el 0 % de constricción es equivalente al 100 % de planitud.

6.4.3. Determinación de las propiedades mecánicas

6.4.3.1. Resistencia a la tracción y % Elongación

Para esta evaluación se cortaron 6 parches bucales en rectángulos de 2.3 x 8.0 cm y cada uno se colocó en la base de un Analizador de Textura Brookfield CT3 y sujetado por las mordazas superiores e inferiores (Figura 19). El ensayo se realizó bajo el modo de tensión, con una carga de activación de 6.8 g, una velocidad de análisis de 0.5 mm/segundo y una distancia de separación de 100 mm, determinando así la fuerza necesaria para fracturar el parche. El porcentaje de elongación (% E) se calculó a partir de la siguiente fórmula [141]:

$$\% \text{ Elongación} = \left(\frac{\text{Aumento de la longitud de la película}}{\text{Longitud inicial de la película}} \right) 100$$



Figura 19. Montaje de los parches bucales para la determinación de sus propiedades mecánicas.

6.4.4. Estudios de Permeación *ex vivo*

Los estudios de permeación *ex vivo* se realizaron utilizando mucosas de cerdo como modelo debido a que son similares a las del humano en cuanto a composición y estructura se refiere (ANEXO 3).

6.4.4.1. Preparación del tejido

El tejido bucal de cerdo se obtuvo de un rastro local y se almacenó en solución salina fisiológica durante su transporte. Posteriormente se realizó la limpieza y acondicionamiento, es decir, la separación de la piel y tejido. El epitelio fue separado del tejido conjuntivo subyacente y se cortaron porciones de 3.5 X 3.5 cm de mucosa con un espesor de $500 \pm 100 \mu\text{m}$, las cuales se mantuvieron en buffer de fosfatos pH 7.4 durante una hora para mantener su elasticidad.

6.4.4.2. Permeación *ex vivo*

Para este estudio, inicialmente el tejido epitelial se montó entre los dos compartimentos de las celdas de difusión tipo Franz, la cuales cuentan con una superficie útil para la difusión entre ambos compartimentos de 2.01 cm^2 . En el compartimento receptor se adicionaron 7 mL buffer de fosfatos pH 7.4 y posteriormente se introdujo una barra magnética en el interior del mismo. La formulación óptima se colocó sobre la mucosa bucal de cerdo adicionando previamente 100 μL del mismo medio, de tal manera que la película mucoadhesiva quedara sobre la mucosa de cerdo. Se sellaron ambos compartimientos y se mantuvieron en agitación constante a una velocidad de 50 rpm y una temperatura de $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ durante un periodo de 6 horas (Figura 20). Finalmente, se tomaron alícuotas de 1 mL del compartimento receptor a tiempos fijos y se repusieron con el mismo volumen a la misma temperatura. Las muestras retiradas se analizaron espectrofotométricamente a una longitud de onda de 219 nm. El estudio fue realizado por sextuplicado.

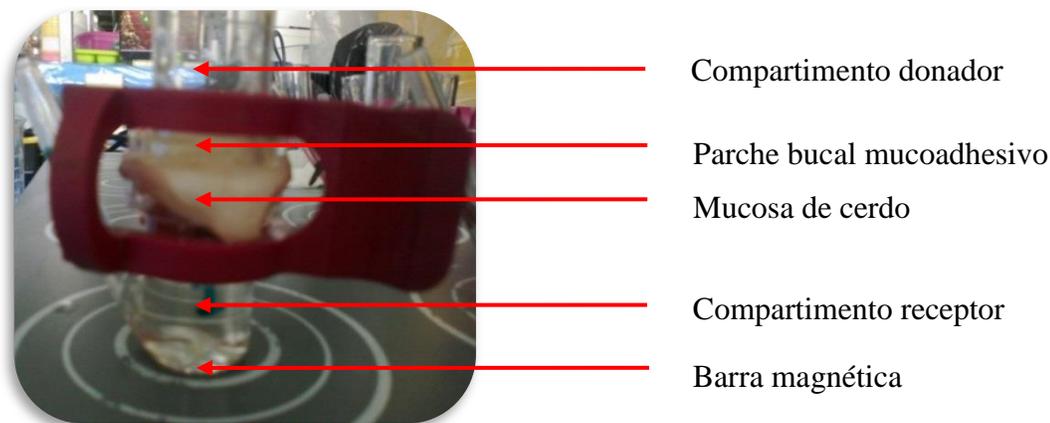


Figura 20. Montaje de las celdas de difusión en los estudios de permeación *ex vivo*.

6.4.5. Estudios de Microscopía Óptica (MO)

Se examinaron tanto la formulación óptima, excipientes y el fármaco mediante un microscopio óptico Velab con la finalidad de verificar la existencia de cristales de fármaco o excipientes que pudieran modificar la absorción del TM. Las observaciones se hicieron al parche bucal recién preparado, a los 30 y 60 días después de su elaboración.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. ETAPA I. ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE PREPARACIÓN

7.1.1. Superficies de moldeo

De ambas superficies de moldeo evaluadas se lograron desprender las formulaciones, sin embargo, los moldes de acetato permiten una mejor manipulación debido a su flexibilidad, además es posible manipular el área a conveniencia, es por ello que para la preparación de las formulaciones de acuerdo al diseño experimental se utilizaron moldes de acetato con un área de 144 cm².

7.1.2. Cinética de mezclado

La velocidad de agitación a la que se trabajó fue de 1000 rpm ya que a 1500 rpm se incorpora gran cantidad de aire en la formulación provocando la formación de burbujas difíciles de eliminar y a 500 rpm la agitación es insuficiente para distribuir completamente el fármaco, lo que puede ocasionar una toma incorrecta del volumen requerido para la alícuota.

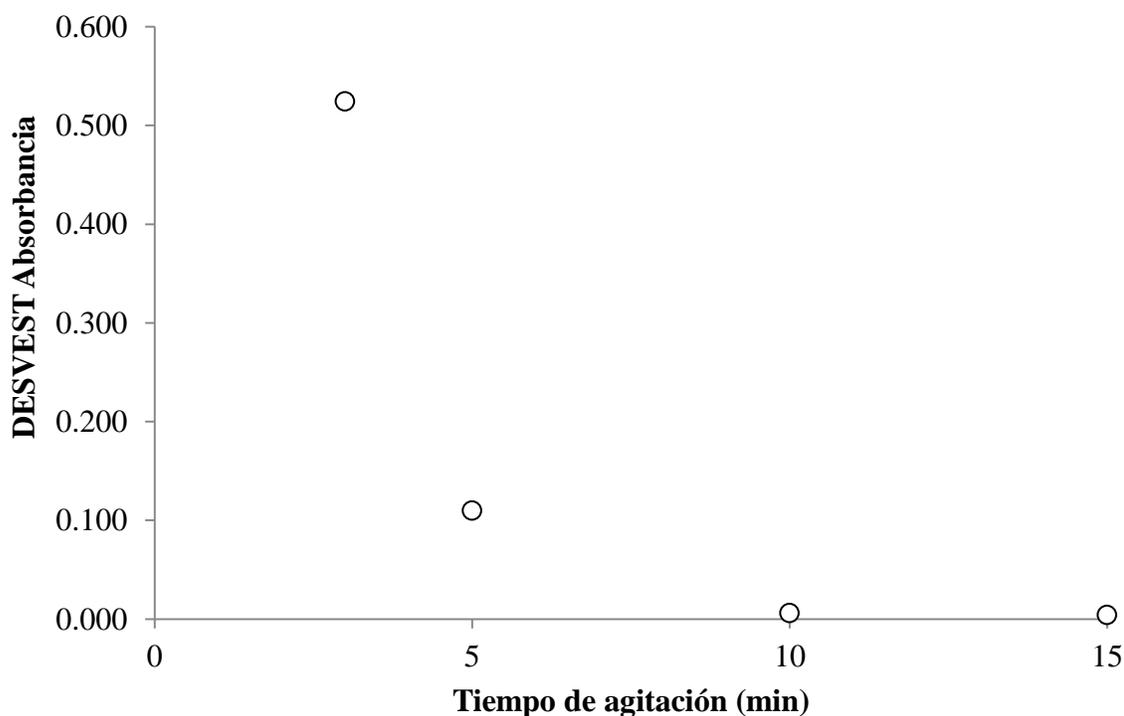


Figura 21. Cinética de mezclado. Representación de la desviación estándar de las absorbancias en función del tiempo de mezclado.

La Figura 21 representa la desviación estándar de las absorbancias en función del tiempo de agitación, se puede observar que las menores desviaciones estándar de las absorbancias obtenidas es a los 15 minutos, lo cual indica que el fármaco se encuentra distribuido de manera homogénea en el vaso de precipitados, sin embargo, no difieren en comparación al tiempo de 10 minutos, por lo cual se eligió éste último en la preparación de las formulaciones para optimizar tiempo, energía y costos.

7.1.3. Tiempo de secado

El tiempo necesario para la evaporación del disolvente de la película impermeable de EC y la de EuE-100 fue de tres y dos horas respectivamente, por lo tanto, al evaporar el disolvente de la película impermeable permite la incorporación de la dispersión de EuE-100 y una vez evaporado el disolvente de esta última, se puede incorporar la dispersión de la película mucoadhesiva, la cual necesita un tiempo de evaporación de 48 horas.

7.2. ETAPA II. PREPARACIÓN DE LOS PARCHES BUCALES MUCOADHESIVOS

7.2.1. Diseño Experimental

Los diseños experimentales y la optimización son herramientas que se utilizan para examinar sistemáticamente los diferentes tipos de problemas que surgen dentro de, por ejemplo, la investigación, el desarrollo y la producción de medicamentos [145]. Por lo tanto, es una necesidad el planificar los experimentos de tal manera que se obtenga la información más relevante. Estos diseños se basan en el desarrollo de una serie de ensayos controlados en los que se introducen variaciones de manera intencional para poder observar e identificar las causas que intervienen en la variación de las respuestas de interés [146].

Específicamente, un DCC también llamado Box-Wilson, es un tipo popular de experimento para la optimización que empieza con un diseño factorial estándar a dos niveles y agrega dos corridas adicionales para cada factor. Las corridas adicionales, llamadas puntos estrella ($+\alpha$ y $-\alpha$) son localizadas a distancias pequeñas por debajo del nivel bajo de un factor y a la misma distancia por encima del nivel alto, lo que permite estimar el efecto de curvatura con respecto a ese factor [147].

Se evaluaron los efectos de las variables independientes o de estudio (X_i), sobre las variables de dependientes o de respuesta (Y_i) en el programa estadístico Statgraphics Centirion XV.II. La composición de la película mucoadhesiva de cada formulación se encuentra en la Tabla 14, mientras que la composición de la película impermeable y de EuE-100 para todas las formulaciones se muestra en la Tabla 15.

Tabla 14. Composición de la película mucoadhesiva de las diferentes formulaciones correspondientes al DCC.

Lote	Niveles Codificados		Niveles No Codificados		Glicerina USP (% p/v)	TM (% p/v)	HLac 2 % v/v (mL)
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂			
	CS	PF-127	CS (% p/v)	PF-127 (% p/v)			
F1	1	-1	3.9	0.9			
F2	-1	1	1.3	2.7			
F3	0	-1.4	2.6	0.53			
*F4	0	0	2.6	1.8			
F5	-1.4	0	0.76	1.8			
F6	1.4	0	4.43	1.8	5	3.0	60
F7	0	1.4	2.6	3.0			
*F8	0	0	2.6	1.8			
F9	1	1	3.9	2.7			
F10	-1	-1	1.3	0.9			
*F11	0	0	2.6	1.8			

* Puntos centrales; HLac es ácido láctico

Tabla 15. Composición de las películas de EC y EuE-100.

Película impermeable	
Ingrediente	(% p/v)
Etilcelulosa	5.0
Triacetina*	30
Etanol 95% (mL)	30
Película de EuE-100	
Eudragit E-100	3.0
Triacetina*	20
Etanol absoluto (mL)	20

* %p/p Con respecto al polímero

7.2.2. Preparación de los parches bucales mucoadhesivos

Las once formulaciones correspondientes al DCC se prepararon bajo las siguientes condiciones: superficies de moldeo de acetato con un área de 144 cm², la adición del fármaco a la dispersión de moldeo se realizó bajo una agitación magnética de 1000 rpm durante 10 minutos, un tiempo de secado de la película de EC y de EuE-100 de 3 y de 2 horas respectivamente y tiempo de secado de la película mucoadhesiva de 48 horas.

7.3. ETAPA III. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y EVALUACIÓN *IN VITRO – EX VIVO*

Los resultados de la caracterización fisicoquímica y evaluación *in vitro – ex vivo* de las once formulaciones del diseño experimental se muestran en la Tabla 16 y 17 respectivamente.

Tabla 16. Caracterización fisicoquímica de los parches bucales mucoadhesivos.

Lote	Y ₁ = VM (mg) ^a	Y ₂ = VE (µm) ^a	Y ₃ = pH SUP ^b	Y ₄ = RP (No.) ^b	Y ₅ = CH (%) ^b	Y ₆ = CQ (%) ^b
F1	592,95±43,19	789±47.95	6,24±0,15	266±80	2,89±0,32	97,27±1,03
F2	395,46±35,65	587±35,92	6,33±0,12	270±12	3,53±0,59	97,29±0,72
F3	401,33±21,77	781±49.54	6,01±0,10	264±90	2,59±0,51	97,74±1,75
F4	537,04±24,61	722±43.78	6,10±0,17	241±18	2,98±0,55	95,72±1,71
F5	126,44±23,79	646±32.39	6,02±0,18	251±12	2,37±0,23	95,27±1,77
F6	653,70±21,19	756±69.79	6,10±0,16	253±10	2,10±0,34	97,05±1,65
F7	522,63±39,99	762±46,14	6,16±0,14	272±14	2,54±0,45	96,95±0,78
F8	504,36±35,83	781±39.85	6,21±0,11	257±15	3,5±0,34	97,41±1,48
F9	247,82±27,96	776±59.10	6,13±0,18	246±12	3,28±0,90	97,73±1,29
F10	335,86±39,95	760±53.12	6,22±0,18	236±11	3,30±0,68	96,74±0,81
F11	505,45±34,75	769±41,75	6,29±0,12	265±14	2,80±0,75	96,52±1,37

^a n=10; ^b n=3; VM = Variación de masa, VE = Variación del espesor, pH SUP = pH de la superficie, RP = Resistencia al plegado, CQ = Contenido químico.

Tabla 17. Resultados de la evaluación *in vitro – ex vivo* de los parches bucales mucoadhesivos.

Lote	Niveles Codificados		Y ₇ = FMA (N) ^a	Y ₈ = TMA (minutos) ^b	Y ₉ = VL (K _H min ⁻¹) ^b	Y ₁₀ = k (min ⁻¹) ^b
	X ₁	X ₂				
F1	1	-1	9.7±0.60	417.67±23.44	0.0617±0.0097	5,23±1.03
F2	-1	1	1.14±0.21	354.67±28.36	0.0407±0.0074	1,24±0.49
F3	0	-1.4	3.54±0.35	388.67±23.54	0.0637±0.0031	11,3±1.92
F4	0	0	2.54±0.23	350.33±38.10	0.0525±0.0018	1,43±0.52
F5	-1.4	0	0.68±0.19	134.67±20.03	0.0740±0.0027	2,63±0.67
F6	1.4	0	9.82±0.74	442.67±36.67	0.0443±0.0073	3,32±0.96
F7	0	1.4	2.27±0.32	315.33±29.86	0.0445±0.0054	1,35±0.27
F8	0	0	2.52±0.39	371.67±23.61	0.0562±0.0019	2,82±0.59
F9	1	1	9.23±0.44	387.33±32.35	0.0528±0.0023	5,46±1.12
F10	-1	-1	1.44±0.28	280.67±20.55	0.1007±0.0152	14,43±1.85
F11	0	0	2.56±0.36	360.33±28.98	0.0500±0.0033	1,10±0.19

^a n=6, ^b n=3; FMA = Fuerza de mucoadhesión *ex vivo*, TMA = Tiempo de mucoadhesión *ex vivo*, VL = Velocidad de liberación *in vitro* y k = Mecanismo de transporte – (k: velocidad).

En la Tabla 18 se muestra un resumen del análisis de varianza y los coeficientes de regresión para cada una de las variables de respuesta con respecto a los factores de estudio (X_1 y X_2). Los resultados experimentales fueron modelados para un sistema lineal y cuadrático por el método de mínimos cuadrados. Una vez obtenidas las funciones, éstas se probaron para la adecuación del modelo y ajuste de bondad mediante un análisis de varianza, el cual mostró que el modelo polinomial cuadrático representa adecuadamente el comportamiento experimental de los lotes evaluados ($R^2 \geq 0.85$), con coeficientes de regresión (R^2) de 0.96 para FMA, 0.88 para TMA, 0.87 para VL y 0.93 para H.

Tabla 18. Resumen de ANOVA y coeficientes de regresión de las variables de respuesta con respecto a los factores estudiados.

Térm	$Y_1 = VM$ (mg)		$Y_2 = VE$ (μg)		$Y_3 = pH SUP$		$Y_4 = RP$ (No.)		$Y_5 = CH$ (%)	
	Coef.	P	Coef.	P	Coef.	P	Coef.	P	Coef.	P
β_0	515.61		757.33		6.20		254.33		3.09	
β_1	106.88	0.06	46.69	0.01	-0.00	0.86	1.10	0.72	-0.13	0.56
β_2	-14.24	0.76	-26.60	0.07	0.02	0.58	3.16	0.34	0.06	0.75
β_{11}	-71.02	0.23	-30.22	0.08	-0.03	0.59	-2.54	0.50	-0.21	0.42
β_{22}	-35.06	0.53	5.02	0.73	-0.01	0.75	5.45	0.18	-0.05	0.84
β_{12}	-101.2	0.16	40.0	0.06	-0.05	0.43	-13.50	0.02	0.04	0.89
R^2	0.67		0.86		0.22		0.75		0.20	
R^2 -adj	0.34		0.84		0.00		0.71		0.00	
Térm	$Y_6 = CQ$ (%)		$Y_7 = FMA$ (N)		$Y_8 = TMA$ (min)		$Y_{10} = VL$ ($K_H; min^{-1}$)		$Y_9 = H$ ($k min^{-1}$)	
	Coef.	P	Coef.	P	Coef.	P	Coef.	P	Coef.	P
β_0	96.55		2.54		360.77		0.05		1.78	
β_1	0.43	0.16	3.65	0.00	75.65	0.01	-0.00	0.03	-0.50	0.43
β_2	-0.01	0.96	-0.32	0.40	-7.50	0.71	-0.01	0.01	-3.37	0.00
β_{11}	-0.06	0.83	1.68	0.01	-26.11	0.30	0.00	0.22	1.08	0.18
β_{22}	0.52	0.15	0.50	0.28	5.54	0.81	0.00	0.51	2.75	0.01
β_{12}	-0.02	0.95	-0.04	0.93	-26.08	0.38	0.01	0.03	3.35	0.01
R^2	0.54		0.96		0.88		0.87		0.93	
R^2 -adj	0.09		0.92		0.84		0.85		0.90	

Térm = Término, β_0 = coeficiente de regresión; β_1 = coeficiente lineal; β_{ii} = coeficientes cuadráticos; β_{ij} = coeficientes de interacciones. Término significativo (Valores-P < 0.05)

La Figura 22 representa los gráficos 3D de las superficies de respuesta estimadas para las variables dependientes ($Y_1 - Y_{10}$) en función de las variables independientes (X_1 y X_2), creadas a partir de su correspondiente modelo polinomial.

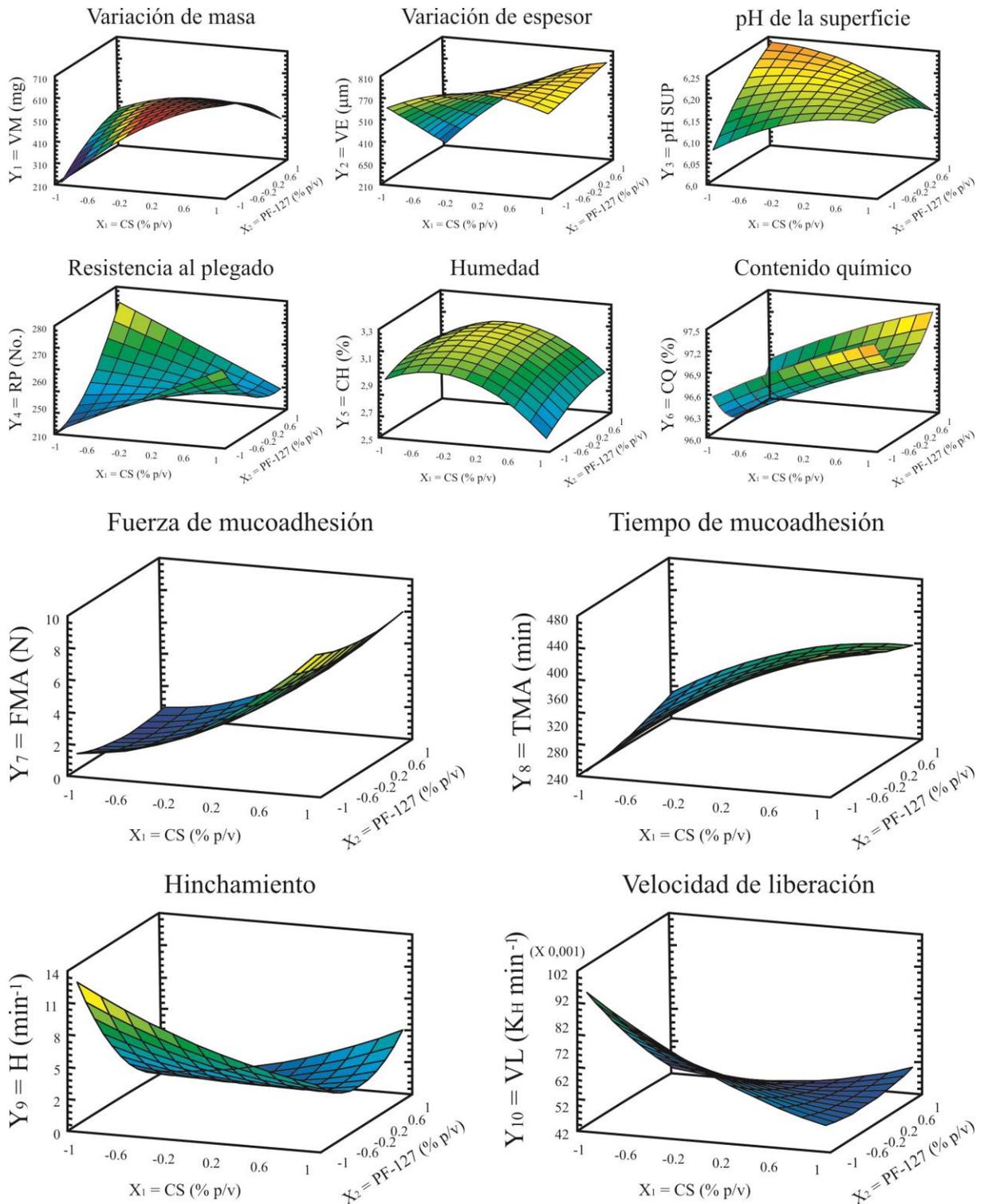


Figura 22. Gráficos 3D superficies de respuesta estimada para $Y_1 - Y_{10}$ en función de X_1 (CS % p/v) y X_2 (PF-127 % p/v).

7.3.1. Variación de masa (Y_1) y espesor (Y_2)

Una gran variación en la masa indica la ineficiencia del método empleado en la preparación y es probable obtener un contenido no uniforme del fármaco, asimismo el espesor es un indicativo de la distribución homogénea de los componentes de la formulación sobre la superficie de moldeo, por lo cual son importantes durante su caracterización fisicoquímica. Las películas y parches bucales ideales deben mostrar espesores dentro de un rango de 50-1000 μm y en base a este intervalo se establece que los lotes preparados cumplen con esta característica [141].

La masa de los lotes preparados se mantuvo en un intervalo de 126.44 ± 23.80 mg a 653.70 ± 21.19 mg, mientras que el espesor entre $587 \pm 35,92$ μm y 789 ± 47.95 μm (Tabla 16). El efecto de las variables independientes (X_1 y X_2) sobre la VM (Y_1) y VE (Y_2) son explicados de acuerdo sus respectivos términos del modelo (Tabla 18); a partir de estos, el signo positivo representa un efecto sinérgico mientras que un signo negativo indica un efecto antagónico, además, aquellos factores que son significativos presentan valores- $P < 0.05$. Se observó que el efecto lineal del factor X_1 afecta la VM de manera positiva, es decir, un aumento en la concentración de X_1 aumenta la masa. La razón probable es que el CS corresponde al excipiente mayoritario de la formulación y por lo tanto, al haber un aumento de éste se espera un incremento de la masa. El modelo puede explicar la variación de la respuesta sólo el 63.76 % por lo que no es adecuado para realizar predicciones de la misma.

El análisis de la VE revela que el efecto lineal del factor X_1 afecta de manera significativa y sinérgica la respuesta, al incrementar el porcentaje CS se observa un incremento en el espesor de los parches. Esto se puede atribuir a que éste polisacárido posee numerosos grupo hidroxilo (-OH) en su estructura química, de igual forma que el ácido láctico utilizado para disolverlo y por lo tanto, se deduce que tras la evaporación del ácido en el proceso de formación de la película, ésta toma cierta humedad que favorece la capacidad de captación de agua, dando como resultado películas con mayor espesor frente a aquellas preparadas con menor proporción de CS [148]. El modelo explica el 86 % de la variación de la respuesta y las Figuras 22 representan los gráficos 3D de las superficies de respuesta estimada para Y_1 y Y_2 , construidos a partir de sus respectivos polinomios.

7.3.2. pH de la superficie (Y_3)

Un parche bucal con un pH demasiado ácido o básico afecta a la zona de aplicación causando irritación o daños [70]. El pH SUP los lotes preparados se mantuvo entre 6.01 ± 0.10 y 6.33 ± 0.12 (Tabla 16), por lo tanto, son adecuados para poder ser aplicados en la mucosa bucal al encontrarse muy cercanos a los valores fisiológicos (6.2-7.4) [149]. El valor del pH de la superficie no se ve afectado por las variables en los niveles de estudio (Tabla 18). El gráfico de superficie de respuesta estimada se muestra en la Figura 22, a partir del cual es posible distinguir que no hay cambios significativos en la respuesta al variar los factores estudiados.

7.3.3. Resistencia al plegado (Y_4)

La flexibilidad de los parches bucales es un carácter físico importante que se necesita para poder ser enfrentados al ambiente que predomina en la cavidad bucal y para una fácil aplicación en el sitio de administración [141]. A partir de los lotes evaluados se obtuvieron valores de RP de 236 ± 11 a 272 ± 14 (Tabla 16), lo cual es indicativo de su adecuada flexibilidad ($RP > 200$), por lo tanto, todas las formulaciones muestran una buena RP [150]. Los efectos de las variables de estudio sobre (Y_4) son explicados a partir sus respectivos términos del modelo polinomial (Tabla 18). El efecto de la interacción X_1X_2 afecta de manera significativa, el signo negativo indica que lo hace de manera inversa, es decir, un incremento de esta interacción ocasiona una disminución de la RP, explicando así la variabilidad de la respuesta en un 75 %. La Figura 22 muestra que un incremento de X_1 conlleva a un ligero incremento de Y_4 , caso contrario para el factor X_2 . Cabe mencionar que aunque la interacción es estadísticamente significativa, todas las formulaciones muestran valores aceptables, por lo tanto, esta interacción no tiene efecto considerable en los niveles estudiados, además la predicción es pobre a partir de su modelo.

7.3.4. Contenido de Humedad (Y_5)

El CH de humedad afecta la integridad de los parches bucales por lo que es de importancia durante su caracterización [149]. Los lotes evaluados se encontraron entre 2.10 ± 0.34 y 3.53 ± 0.59 % (Tabla 16), los cuales están dentro de lo permitido (< 5 %) [150], esto sugiere que el CH es adecuado para mantener su integridad durante su almacenamiento. Las variables independientes en los niveles de estudio no tienen influencia significativa en la respuesta (Tabla 18). El gráfico 3D de superficie de respuesta estimada para Y_5 (Figura 22) revela que el CH de los parches se ve ligeramente incrementado al acercarse a los niveles más altos de X_2 , situación que se puede atribuir al carácter hidrofílico del PF-127, dejando claro que los cambios no son significativos.

7.3.5. Contenido Químico (Y_6)

El CQ es una evaluación importante debido a que a partir de ésta se puede asegurar la correcta dosificación del fármaco dentro del parche y por lo tanto el efecto terapéutico deseado, además, es un requisito exigido por las autoridades correspondientes de cada país; en este caso, la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos establece un contenido no menor al 90% y no mayor al 110% [151]. Los lotes evaluados se encontraron entre $95,27 \pm 1,77$ y $97,74 \pm 1,75$ % (Tabla 16). En base al análisis de varianza se establece que el CQ no es afectado por los factores de estudio (Tabla 18), su respectivo gráfico 3D de superficie de respuesta estimada se muestra en la Figura 22.

7.3.6. Fuerza de Mucoadhesión *ex vivo* (Y_7)

La mucoadhesión representa el grado de unión del polímero mucoadhesivo al epitelio bucal y a su vez juega un papel clave en el suministro efectivo de fármacos [141]. Esta propiedad es importante ya que asegura la unión de la forma farmacéutica y la entrega de fármaco en el sitio de administración [137]. Un método publicado con frecuencia para la caracterización de polímeros mucoadhesivos es el uso de un Analizador de Textura, en donde se realiza la medición de la fuerza de desprendimiento [152]. A partir de los lotes preparados se obtuvieron valores de FMA en un intervalo de 0.68 ± 0.19 N a 9.82 ± 0.34 N (Tabla 17). La variación de la fuerza de mucoadhesión es explicada por los términos del modelo (Tabla 18), en donde los valores- $P < 0.05$ indican un efecto significativo sobre la FMA. El efecto lineal del factor X_1 y la contribución de su efecto cuadrático X_1^2 son los que influyen de manera significativa sobre Y_6 , ambos factores lo hacen de manera positiva, es decir, al incrementar la cantidad de CS aumenta la FMA, resultados que coinciden con los publicados por Shydaine et al. [153]. Esta variación está explicada en un 96 % en base a dicho modelo. Este comportamiento se puede atribuir en primer lugar a la interpenetración de las cadenas del CS sobre la superficie mucosal [154], seguida de la las uniones secundarias entre ambos sustratos [155], ya que las cargas positivas del CS interactúan con las cargas negativas de las mucinas (grupos carboxilo y sulfato) que se encuentran en la mucosa bucal [153], de esta manera se establecen uniones mediante enlaces de fuerzas electrostáticas. Es bien conocido que los polímeros que poseen grupos hidroxilo (-OH) son favorables para la mucoadhesión, los enredos físicos y las interacciones secundarias que contribuyen a la formación de una red reforzada [12], por lo tanto, los polímeros que presentan una alta densidad disponible de grupos de enlace de hidrógeno son capaces de interactuar fuertemente con las glicoproteínas de la mucina [156]. Al aumentar la concentración de CS existen mayores sitios de interacción con el sustrato lo que conlleva a una FMA superior. El comportamiento anterior puede apreciarse visualmente en la Figura 22, la cual corresponde al gráfico 3D de superficie de respuesta estimada para.

7.3.7. Tiempo de Mucoadhesión *ex vivo* (Y_8)

Uno de los primeros enfoques para medir la mucoadhesión *in vitro* fue la determinación del TMA o residencia, este método determina el tiempo de retención en lugar de medir la fuerza de mucoadhesión, por lo que proporciona información acerca de la naturaleza bioadhesiva de los parches [141]. A partir de las once formulaciones preparadas se observaron TMA en un intervalo de 134.67 ± 20.3 a 442.67 ± 36.67 minutos (Tabla 17). La variación del TMA resultó ser afectada de manera significativa por el efecto lineal del factor X_1 ; al incrementar el porcentaje de CS los sistemas experimentan mayores TMA, lo cual se ve reflejado claramente en el gráfico de superficie de respuesta estimada Figura 22. A partir de este modelo es posible explicar en un 88 % la variabilidad de las observaciones. Los parches que tienen menor cantidad de CS forman un gel muy rápido y como consecuencia se pierden las interacciones entre el parche y el sustrato al formar un mucílago resbaladizo que pierde adhesión [153], por

otra parte, al disminuir aún más la concentración de CS las uniones se intensifican y la interpenetración se favorece, pero la unión es inestable debido al escaso número de moléculas que penetran por unidad de volumen teniendo como consecuencia tiempos de residencia cortos [71]. Además, el número de cargas positivas incrementa al aumentar la concentración, por lo que los sitios activos son mayores lo que permite un TMA mayor.

7.3.8. Liberación del fármaco *in vitro* – (K_H : Velocidad de Liberación – Y_{10})

Los estudios de liberación *in vitro* del TM se muestran en la Figura 23-A donde se puede observar que el porcentaje de TM liberado se encuentra entre 92.05 ± 4.2 y 96.73 ± 2.18 al término de 8 horas. A partir de éste gráfico se puede distinguir que los sistemas preparados muestran una rápida liberación al inicio “efecto burst”, hasta en un 21% para F3, esto debido a que el TM se encuentra distribuido homogéneamente tanto en la parte interna como externa de la matriz polimérica formada por el CS, siendo la parte externa la que se encuentra en contacto directo con el medio de disolución, permitiendo así una liberación rápida al comienzo. Este efecto es común en sistemas que encapsulan fármacos debido a que estos erosionan o hinchan liberando las moléculas del fármaco más superficiales de forma abrupta [157]. También se puede notar que a partir de la segunda hora los sistemas que contienen mayor cantidad de PF-127 (F2, F6 y F7) liberan el $46.47 \pm 3.68\%$, $48.89 \pm 2.48\%$ y $44.93 \pm 3.49\%$ de TM respectivamente, en comparación con los demás sistemas que liberan entre $62.17 \pm 2.86\%$ y $84.48 \pm 3.85\%$. Estos resultados señalan que al incorporar el PF-127 cercano a los niveles más altos estudiados es posible modular la liberación del fármaco [158]. Este fenómeno pudiera explicarse al enrejado que ocasiona el PF-127 en la matriz de CS [159], lo que permite una menor incorporación del medio externo dentro de la misma dificultando la liberación del fármaco.

Se han propuesto diferentes modelos matemáticos para explicar el mecanismo de liberación a partir de diferentes formas farmacéuticas. Sin embargo, en el presente trabajo se reporta el ajuste de los datos al modelo matemático propuesto por Higuchi debido a que fue el mejor modelo al que se ajustaron los datos. Este modelo se describe a continuación:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_H t^{1/2}$$

Donde:

M_t = Cantidad de fármaco liberado al tiempo t,
 M_∞ = La cantidad total del fármaco que se ha liberado,
 K_H = Constante de liberación del modelo (min^{-1})

Los perfiles de liberación obtenidos para el TM son explicados en más del 98 % de su variación con el modelo de Higuchi, el cual se ha propuesto para describir el mecanismo de liberación de un fármaco a partir de sistemas farmacéuticos que liberan por mecanismos de

difusión basados en la ley de Fick, entre los que se incluyen parches transdérmicos y sistemas matriciales [160]. La Figura 23-B muestra las líneas de ajuste de los datos al modelo de Higuchi, mientras que la Tabla 20 resume las constantes de liberación K_H y el coeficiente de determinación (r^2) para cada lote evaluado. Las VL (K_H) más altas se observan en sistemas que contienen menor cantidad de PF-127 (F1, F3 y F10) en comparación con los que contienen mayor cantidad del mismo (F2, F6 y F7). De acuerdo a estos valores se puede sugerir que los parches bucales que contienen mayor cantidad de PF-127 provocan un enrejado, lo cual dificulta la liberación de las moléculas del fármaco y es por ello que experimentan los valores más bajos para sus constantes de liberación. Por otra parte, se puede mencionar que los sistemas preparados liberan el fármaco comportándose como un sistema tipo matriz y bajo procesos de difusión que siguen las leyes de Fick, al obtener valores del coeficiente de determinación mayores a 0.98, los cuales explican hasta en un 99.8% este comportamiento.

En base al modelo de Higuchi, se obtuvieron valores de VL (K_H) entre $0.0407 \pm 0.0074 \text{ min}^{-1}$ y $0.1007 \pm 0.0152 \text{ min}^{-1}$ (Tabla 17), la variabilidad de estos es explicada en base al análisis de varianza (Tabla 18). Se observa que los efectos lineales de los factores X_1 , X_2 y la interacción X_1X_2 son los que afectan de manera significativa la velocidad de liberación del fármaco (K_H). El modelo propuesto puede explicar estas variaciones hasta en un 87 %. Es posible distinguir que el factor X_1 y X_2 afectan de manera inversa debido al signo negativo, por lo tanto, al haber un incremento de estos factores se observa una disminución en el valor de la constante de liberación (K_H). Por otra parte la interacción es positiva, por lo que un incremento de ésta conlleva a un incremento en la respuesta. Estas variaciones son evidentes en la Figura 22 que representa el gráfico 3D de superficie de respuesta estimada, este análisis es confirmado por lo explicado anteriormente, en donde se asume que la matriz formada por el CS se encuentra altamente enrejada por lo que la velocidad de liberación disminuye (Figura 24), además, el CS es un polisacárido que al encontrarse en mayores proporciones, la red tridimensional que forma es más densa disminuyendo así la cantidad de espacios disponibles para la absorción del medio externo lo que conlleva a una disminución de la VL.

Para poder conocer el exponente difusional de cada sistema, se aplicó la ecuación descrita por Korsmeyer – Peppas en su forma logarítmica:

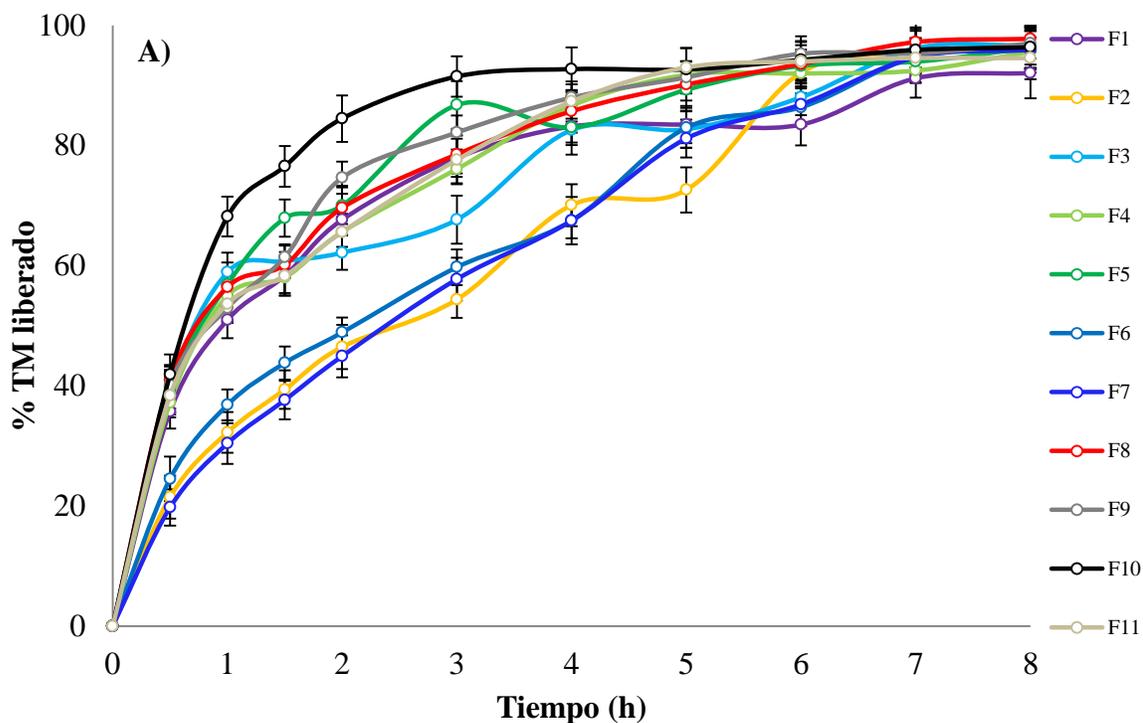
$$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = \ln(k) + n\ln(t)$$

La Tabla 19 recoge los valores obtenidos tanto del exponente difusional “n” como de la velocidad a la que se lleva dicho proceso “k”, así como su coeficiente de determinación (r^2). Se puede observar que para la mayoría de los sistemas evaluados, “n” toma valores por debajo de 0.5, excepto para F2, F7 y F10, lo cual indica que el tipo de transporte es por difusión y está asociada a la presencia de poros en la matriz polimérica y a la consiguiente difusión simultánea a través de la matriz hinchada y a través de los poros llenos de medio de disolución

[161], y para el caso de F2, F7 y F10 está asociado a un mecanismo de transporte de difusión tipo Fickiano [162,163]. Por otra parte, los sistemas se ajustaron mejor al modelo cinético de orden cero al obtener valores más altos del R^2 , lo cual indica que la velocidad de liberación es independiente de la concentración del fármaco en la matriz del CS.

Tabla 19. Parámetros cinéticos obtenidos a partir de los distintos modelos de liberación evaluados.

Lote	Orden cero		Orden uno		Higuchi		Korsmeyer-Peppas	
	R^2	k	R^2	K	R^2	K_H	R^2	"n"
F1	0.906	0.250	0.787	0.004	0.989	0.0617	0.987	0.447
F2	0.969	0.199	0.930	0.004	0.991	0.0407	0.984	0.504
F3	0.913	0.196	0.681	0.003	0.918	0.0637	0.917	0.360
F4	0.925	0.237	0.814	0.004	0.959	0.0525	0.985	0.395
F5	0.826	0.242	0.718	0.004	0.996	0.0740	0.961	0.422
F6	0.954	0.214	0.848	0.005	0.995	0.0443	0.996	0.487
F7	0.991	0.224	0.911	0.005	0.998	0.0445	0.986	0.554
F8	0.903	0.227	0.792	0.004	0.950	0.0562	0.984	0.373
F9	0.923	0.247	0.849	0.004	0.998	0.0528	0.991	0.381
F10	0.921	0.523	0.839	0.009	0.987	0.1007	0.982	0.537
F11	0.946	0.238	0.851	0.004	0.977	0.0500	0.993	0.381



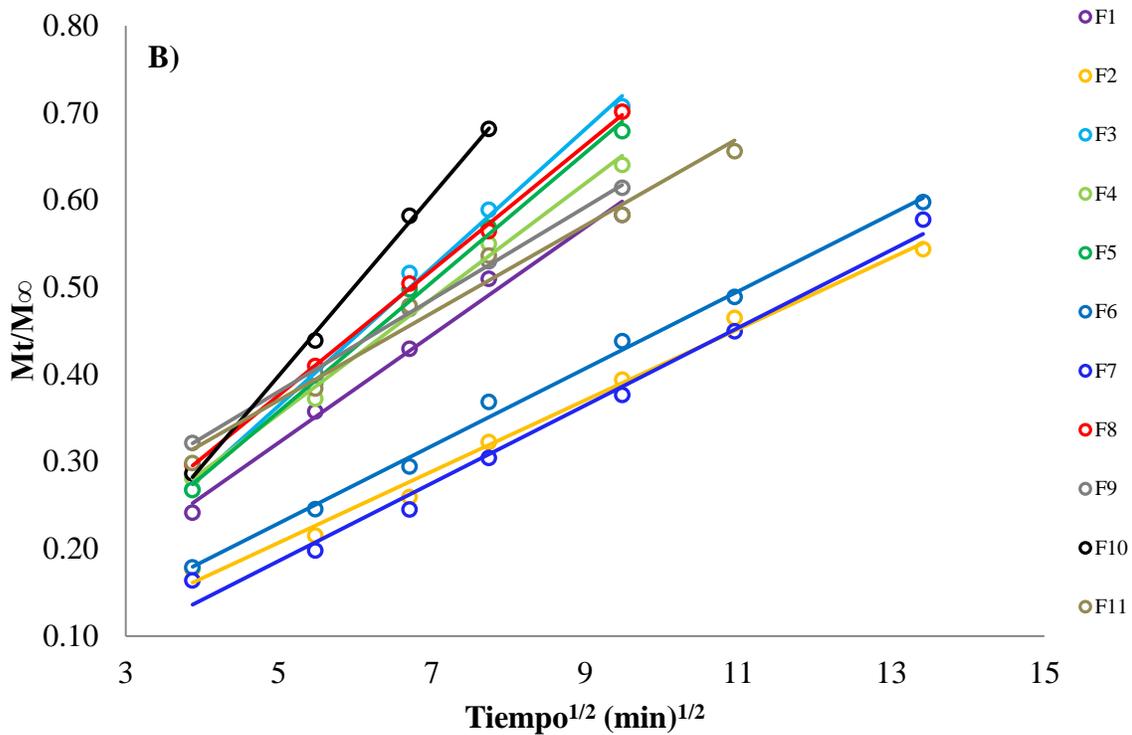


Figura 23. A) Perfiles de liberación de TM para cada uno de los once sistemas preparados. B) Líneas de ajuste al modelo Higuchi (raíz cuadrada del tiempo).

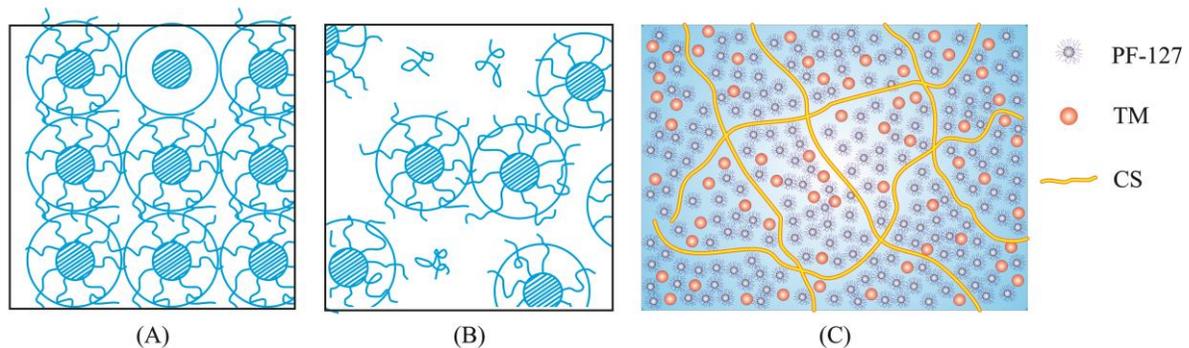


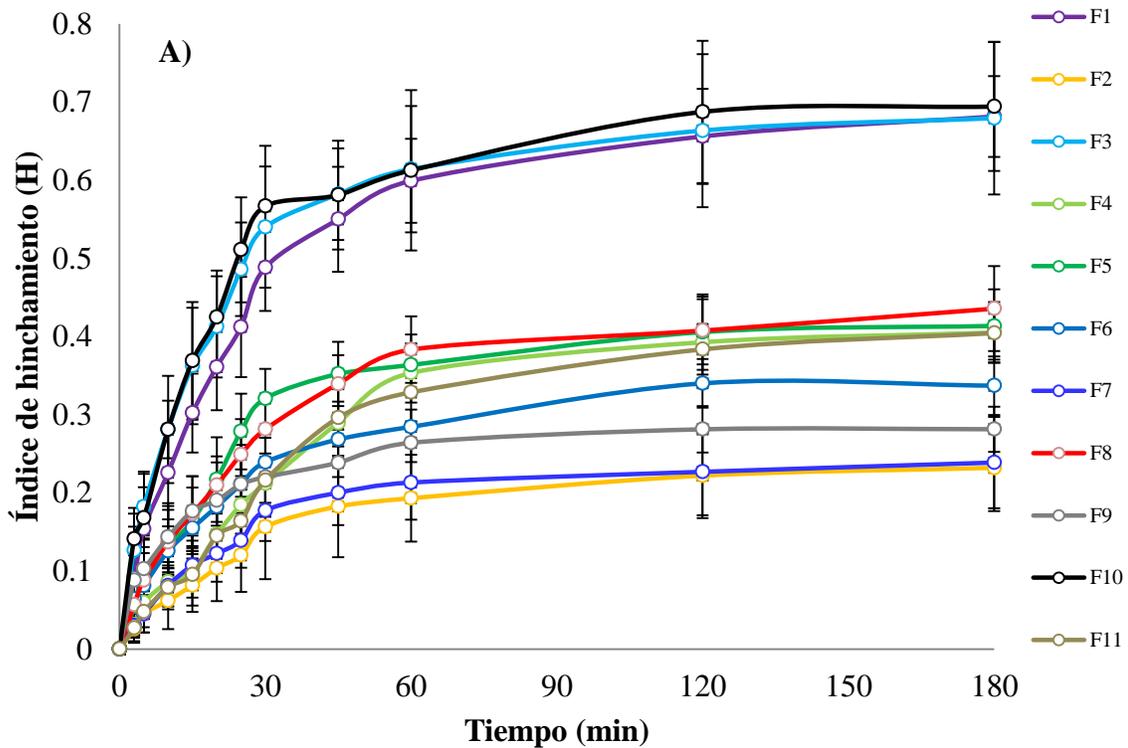
Figura 24. (A) Fenómeno de enrejado o bloque el cual retrasa la liberación del TM, (B) Fenómeno de formación de micelas [125] y (C) Red polimérica de CS-PF-127. Modificada de Referencia [159].

7.3.9. Estudios de Hinchamiento

7.3.9.1. Índice de Hinchamiento (H) y orden cinético

El hinchamiento implica el movimiento de grandes segmentos de las cadenas poliméricas para permitir la incorporación de moléculas del medio circundante lo que genera una separación macro-molecular [164]. El estudio del hinchamiento de los parches bucales se

muestra en la Figura 25-A, la cual representa las predicciones del modelo de hinchamiento el cual es comúnmente usado para modelar esta propiedad [165]. Como se puede observar, para todas las formulaciones el máximo de hinchamiento se presentó cerca de los 60 minutos y conforme la cantidad de PF-127 disminuye también lo hace el índice de hinchamiento. El PF-127 es un polímero hidrofílico que es caracterizado por inducir un rápido y extenso hinchamiento, creando canales y poros por los cuales el medio externo penetra [166]. Por otra parte, al incrementar la cantidad de PF-127 el comportamiento de hinchamiento cambia, generando un enrejado que permite una menor incorporación del medio externo en su interior [159]. La Figura 25-B representa las predicciones del modelo de hinchamiento de segundo orden que generalmente describen este tipo de sistemas [142]. Todas las formulaciones se justaron al modelo cinético evaluado ya que presentan un coeficiente de determinación mayor a 0.98, además, se aprecia que el valor más alto de hinchamiento al equilibrio (H_{∞}) lo presentan las formulaciones con menor cantidad de PF-127 y viceversa (Tabla 20), lo que confirma el fenómeno de enrejado que provoca el PF-127. Por otra parte, la velocidad de hinchamiento (k ; min^{-1}) aumenta conforme al incremento del PF-127, esto debido a que es un polímero hidrofílico que permite una mayor interacción con el medio externo permitiendo así un hinchamiento rápido, situación que es beneficiosa para poder establecer de manera rápida las interacciones necesarias entre el sistema de entrega del fármaco y la membrana mucosal.



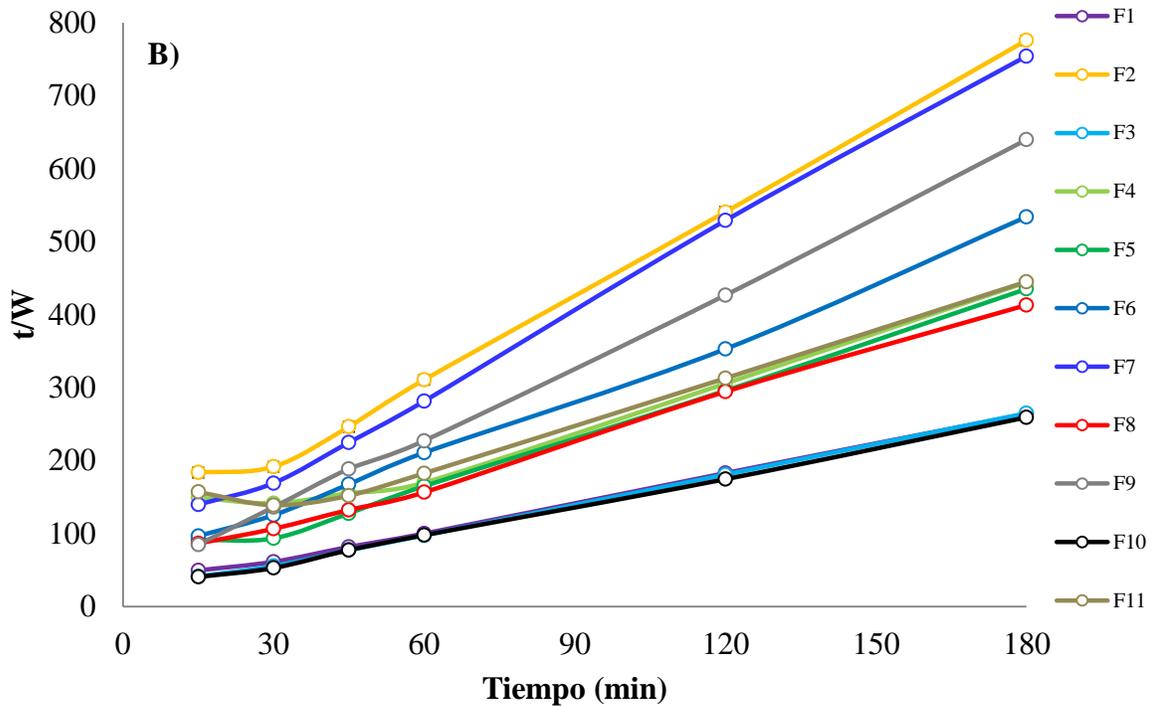


Figura 25. A) Predicciones del modelo de hinchamiento para los once lotes evaluados. B) Líneas de ajuste al modelo cinético de segundo orden.

Tabla 20. Hinchamiento de equilibrio y constantes cinéticas (modelo de segundo orden).

Lote	R^2	b	M	H_{∞}	k (min^{-1})
F1	0,997	23,81	1,394	0,7173	0,0816
F2	0,997	99,76	3,815	0,2621	0,1458
F3	0,999	17,72	1,392	0,7183	0,1093
F4	0,992	85,74	1,941	0,5151	0,0439
F5	0,996	37,56	2,299	0,4349	0,1407
F6	0,999	47,12	2,715	0,3683	0,1564
F7	0,998	73,56	3,876	0,2579	0,2042
F8	0,998	46,15	2,084	0,4798	0,0941
F9	0,998	27,84	3,475	0,2877	0,4337
F10	0,999	17,51	1,36	0,7352	0,1056
F11	0,991	94,11	1,947	0,5136	0,0402

7.3.9.2. Mecanismo de difusión

La difusión de pequeñas moléculas depende de las propiedades físicas de la red del polímero y las interacciones entre los segmentos de éste y las moléculas pequeñas. De acuerdo con la segunda ley de Fick, la ecuación de la ley de potencia se puede usar para determinar el tipo de difusión en estos sistemas [167]. Bajo esta perspectiva y de acuerdo con las

velocidades de difusión del medio con respecto a la velocidad de relajación de la matriz, se analizó el hinchamiento de los sistemas para establecer qué factores físicos determinan el mecanismo de penetración del medio en la matriz polimérica. Se obtuvieron las curvas mostradas en la Figura 26 las cuales presentan una buena correlación lineal para valores menores al 60 % de aumento de masa del parche bucal.

De acuerdo con los resultados presentados en la Tabla 21, los valores obtenidos de “n” se encuentran entre 0.5 y 1.0, a excepción de F3, F9 y F10 que presentan valores de 0.436, 0.418 y 0.368 respectivamente, lo que indica que para el resto de las formulaciones el mecanismo de penetración del medio externo es del tipo no Fickiano o anómalo. Esto quiere decir que los procesos de difusión y relajación de tensiones de las cadenas tienen lugar en el mismo orden de tiempos, de forma tal que el predominio de un proceso sobre el otro está relacionado cuanto mayor sea la desviación con respecto al comportamiento Fickiano [168-170]. Por otra parte, de acuerdo a la definición de “F” para Karadag *et al.* [143-144], el valor obtenido para “k” disminuye con el incremento del contenido de PF-127 y con el aumento del grado de enrejado de la red polimérica formada por el CS. Estos valores indican que el proceso de absorción del medio exterior por el sistema está siendo afectado por la cantidad PF-127 en la formulación. Para Caykara [171] la difusión de las moléculas de agua hacia el interior de un hidrogel es una función de la estructura de la red entrecruzada. Por consiguiente, los parámetros de difusión (n y k) se verán claramente afectados por cambios en la estructura de ésta red polimérica, lo que concuerda con el comportamiento de los sistemas evaluados.

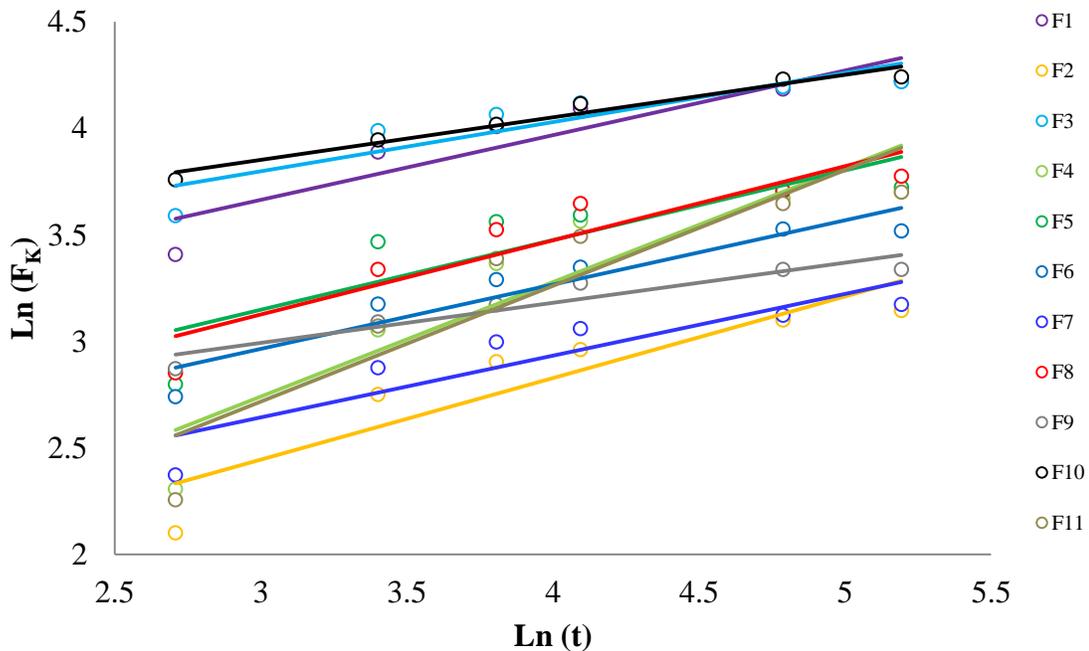


Figura 26. Líneas de ajuste al modelo de hinchamiento propuesto por Karadag para los once lotes evaluados.

Tabla 21. Valores obtenidos mediante el uso de la ecuación de la ley de potencia y la definición de Karadag de F, para los datos de hinchamiento.

Lote	R ²	k (min ⁻¹)	(n)
F1	0,981	5,23	0,628
F2	0,983	1,24	0,716
F3	0,959	11,30	0,436
F4	0,976	1,43	0,778
F5	0,977	2,63	0,717
F6	0,998	3,32	0,573
F7	0,993	1,35	0,745
F8	0,997	2,82	0,675
F9	0,993	5,46	0,417
F10	0,976	14,43	0,368
F11	0,987	1,10	0,850

En base a la evaluación del mecanismo de difusión de los parches bucales mucoadhesivos, los valores de “k” se encontraron en un intervalo de 1.10 a 14.43 min⁻¹ (Tabla 17). La variación de este parámetro es explicada a partir del análisis de varianza en donde los valores- $P < 0.05$ indican un efecto significativo sobre la variable de respuesta (Tabla 18). El efecto lineal del factor X₂, su efecto cuadrático X₂² y la interacción X₁X₂, son los que afectan de manera significativa, siendo el primero el más importante. El modelo obtenido explica que el factor X₂ afecta de manera negativa a la respuesta en un 93 %, es decir, al incrementar el contenido de PF-127 se observa una disminución en el valor de “k” y a partir del gráfico de superficie de respuesta estimada (Figura 22) se puede visualizar este mismo comportamiento.

7.4. ETAPA IV. OPTIMIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN

Para la etapa de optimización se eligieron como principales variables de respuesta Y₇ – Y₁₀, esto debido a que las demás respuestas o no están influenciadas por los factores de estudio o en su caso, tienen influencia pero las respuestas se encuentran dentro de valores aceptables. De esta manera, durante la optimización, se obtuvo un valor óptimo de deseabilidad igual a 0.5844 (Figura 27). En la Tabla 22 se muestran los niveles óptimos de cada factor, las variables de respuesta y su valor estimado.

Tabla 22. Optimización de la deseabilidad.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
X ₁ CS	-1,41421	1,41421	0,125248
X ₂ PF-127	-1,41421	1,41421	0,69143
Respuesta	Estimado		
Fuerza de Mucoadhesión (N)	3,50		
Tiempo de Mucoadhesión (minutos)	372,78		
Liberación (K _H min ⁻¹)	0,0459		
Hinchamiento (K min ⁻¹)	1,9203		

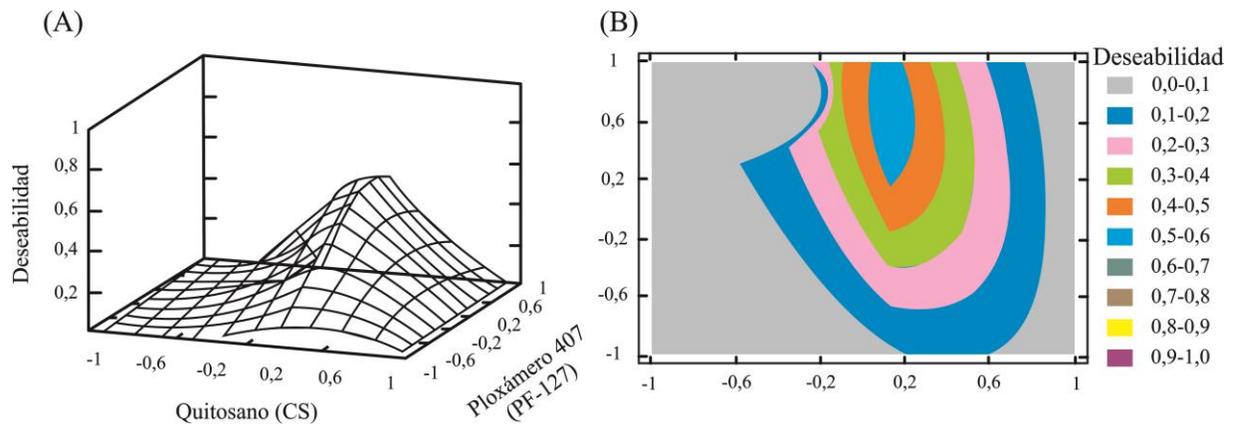


Figura 27. A) Superficie de respuesta estimada para la deseabilidad, B) Contornos de la superficie de respuesta estimada.

7.4.1. Caracterización fisicoquímica y evaluación *in vitro* – *ex vivo*

La Tabla 23 muestra los resultados experimentales observados para la formulación óptima (FOP). Con respecto a la caracterización fisicoquímica, se puede mencionar que la FOP mostró valores aceptables y adecuados para poder ser enfrentada al ambiente que predomina en la cavidad bucal.

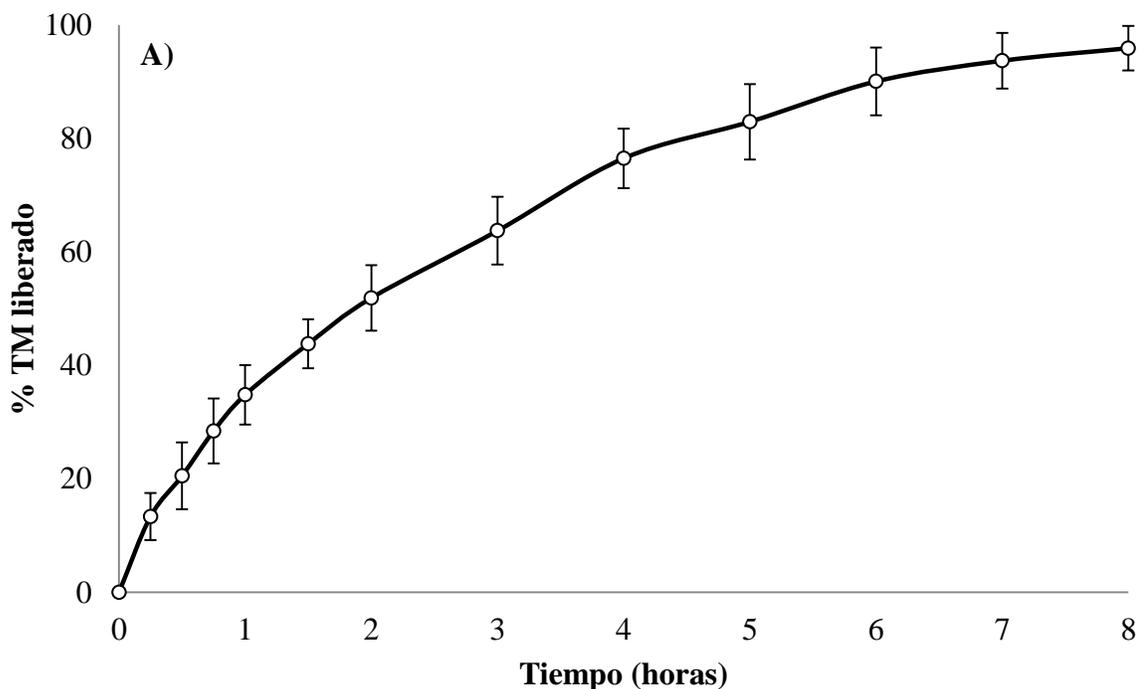
Tabla 23. Resultados experimentales de la formulación óptima.

Respuesta	Observado	Respuesta	Observado
Y ₁ = VM (mg)	561.06±17.9	Y ₇ = FMA (N)	3.28±0.62 N
Y ₂ = VE (µm)	748.3±25.83	Y ₈ = TMA (min)	342.67±17.21
Y ₃ = pH SUP	6.24±0.11	Y ₉ = VL (min ⁻¹)	0.044±0.0082
Y ₄ = RP (No.)	265±11	Y ₁₀ = k (min ⁻¹)	2.28±0.41
Y ₅ = CH (%)	3.14±0.66 %	Planitud (%)	98.52±0.40
Y ₆ = CQ (%)	96.24±1.13		

En base a los resultados obtenidos, la FMA *ex vivo* de este sistema tiene una buena capacidad de mucoadhesión [137,139]. De acuerdo al TMA *ex vivo* observado se asegura que

la forma de dosificación permanece el tiempo necesario para obtener el efecto terapéutico deseado [172]. El porcentaje liberado de TM a partir de la FOP fue de 51.89 ± 5.77 a las dos horas y del 93.91 ± 3.12 al término de 8 horas (Figura 28-A). Con respecto al ajuste de los datos al modelo de Higuchi (Figura 28-B) se observó una buena correlación con un valor de $R^2=0.995$. Los datos de liberación tuvieron un mejor ajuste al modelo cinético de orden cero con un valor de $R^2=0.955$. El valor obtenido del coeficiente difusional (n) al aplicar la ecuación de Korsmeyer-Peppas fue de 0.551. Por lo tanto, la FOP libera el fármaco comportándose como un sistema tipo matriz y bajo procesos de difusión, la cual está asociada a un mecanismo de transporte Fickiano al encontrarse muy cerca de 0.5.

La FOP mostró valores de hinchamiento al equilibrio $H_\infty=0.3888$ (Figura 29-A) a una velocidad $K=0.1493 \text{ min}^{-1}$, ajustándose los datos experimentales al modelo cinético de segundo orden o de Schott (Figura 29-B) con un valor de $R^2=0.998$. Al evaluar los datos de hinchamiento de acuerdo a la ecuación propuesta por Karadag (Figura 30), se obtuvo un valor del coeficiente de determinación $R^2=0.995$, por lo tanto, los datos experimentales se ajustan de perfectamente al modelo, con un coeficiente difusional (n) de 0.727 dejando claro que la difusión del medio de hinchamiento está controlado tanto por la difusión como por la relajación de las cadenas poliméricas del CS, con una constante (k) que rige el proceso de $2.28 \pm 0.41 \text{ min}^{-1}$, característica de este sistema polímero/medio de hinchamiento.



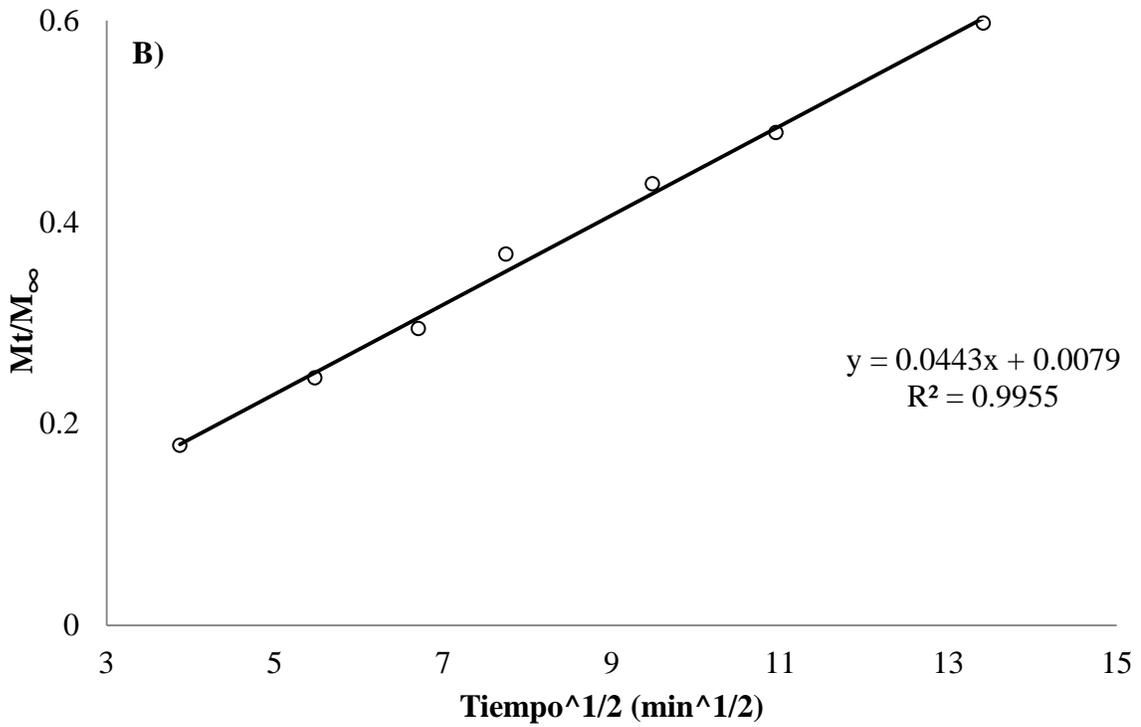
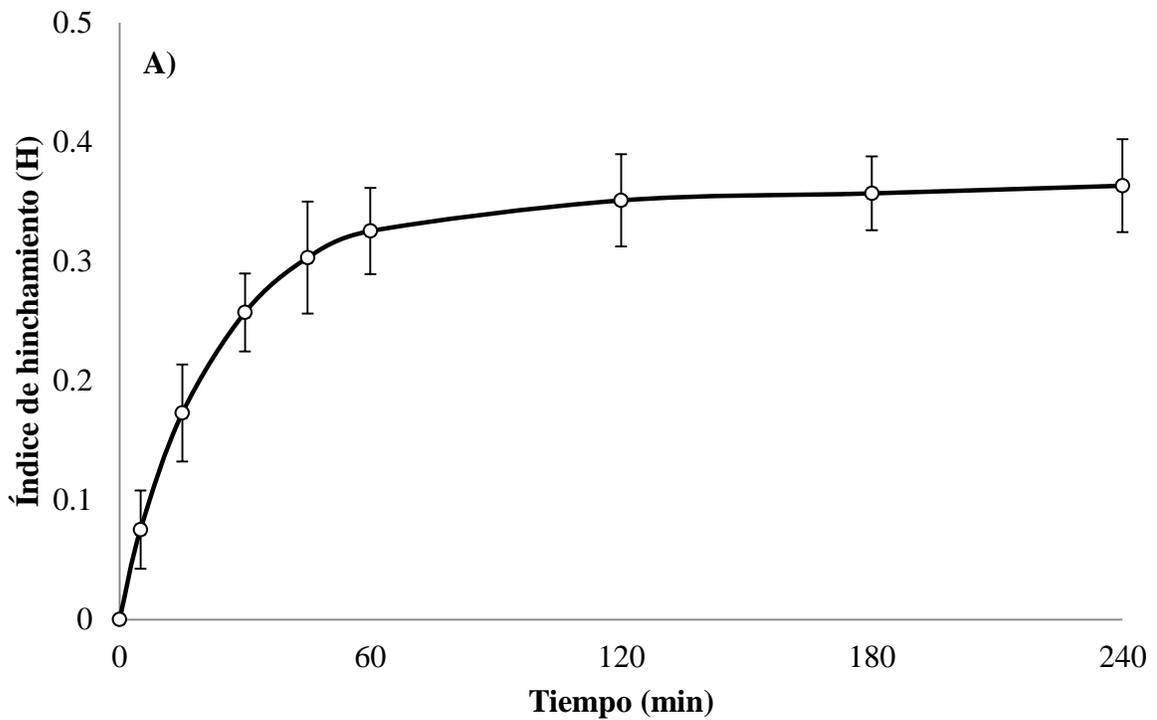


Figura 28. A) Perfil de liberación in vitro de la FOP y B) Línea de de ajuste al modelo de Higuchi (raíz cuadrada del tiempo).



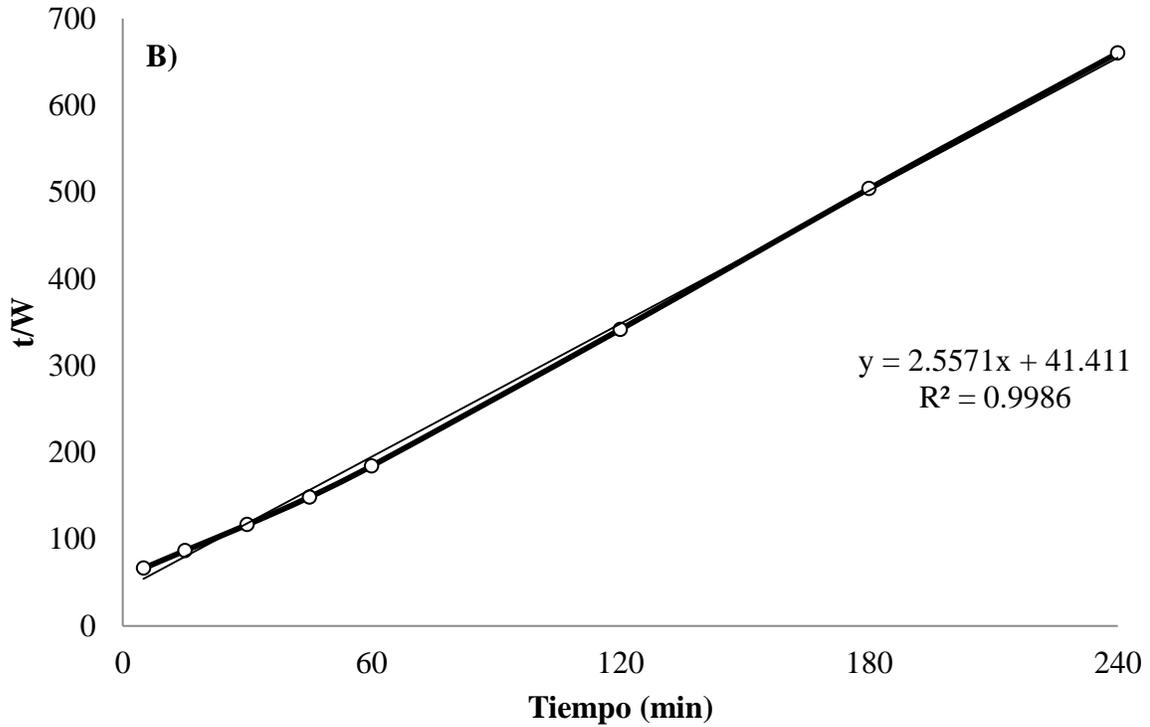


Figura 29. A) Predicciones del modelo de hinchamiento para la FOP y B) Línea de ajuste al modelo cinético de segundo orden.

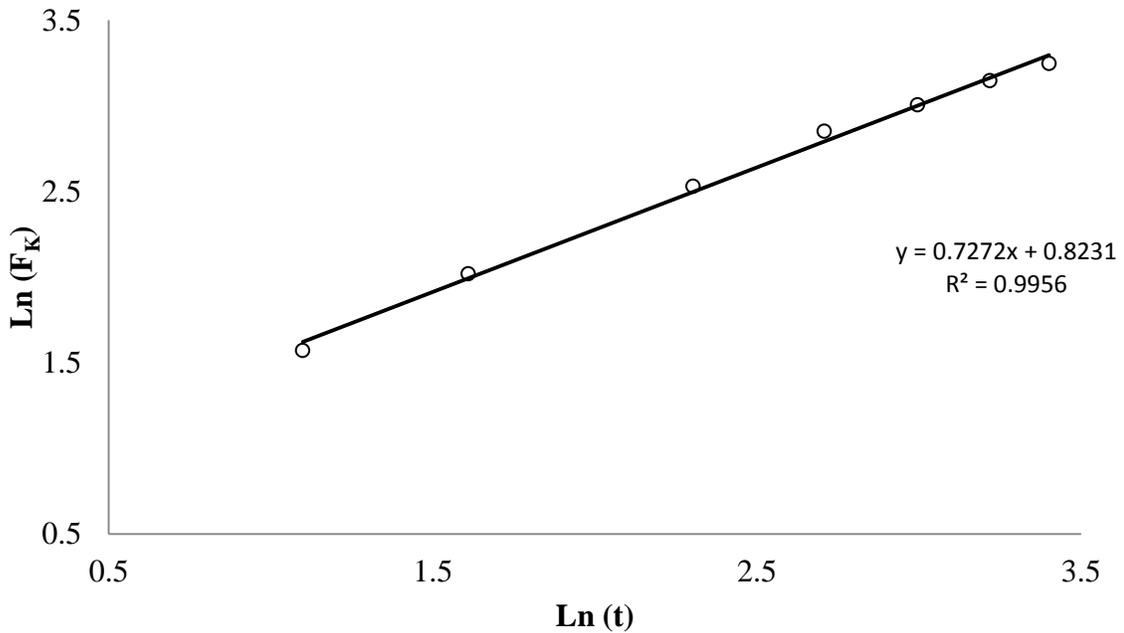


Figura 30. Línea de ajuste al modelo de hinchamiento propuesto por Karadag para la FOP.

7.4.2. Determinación de las propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas juegan un papel crucial en la integridad física de las películas o parches bucales, la Resistencia a la Tracción (TS) y % de elongación (% E) son las más relevantes para su estudio [173]. Una parche bucal ideal debe ser flexible, elástico y lo suficientemente fuerte para resistir la ruptura debido a la tensión causada durante su residencia en la boca [174]. La TS y % E describen la fuerza y la elasticidad de la película [175]. Un polímero blando y débil se caracteriza por presentar valores bajos de TS y % E, un polímero duro y quebradizo se define por un TS y % E moderado, un polímero blando y duro se caracteriza por un TS moderado y un alto % E, mientras que un polímero duro y resistente se caracteriza por altos TS y % E [176]. Por lo tanto, una película o parche bucal ideal debe tener un nivel relativamente alto de TS y % E [173].

7.4.2.1. Resistencia a la tracción y % Elongación

La FOP mostró valores de $TS = 10.92 \pm 1.61$ N y $\% E = 36.52 \pm 13.88$ %. El glicerol es una molécula hidrofílica de tamaño relativamente pequeño que puede ser fácilmente introducida dentro de la matriz polimérica del CS y formar puentes de hidrógeno [178-178], de esta manera, al existir estas interacciones se reduce la proximidad o cercanía entre las cadenas poliméricas, lo que facilita la flexibilidad y movilidad de las mismas. Además, la disposición intermolecular del CS en una solución acuosa está influenciada por las soluciones de ácido, la fuerza iónica y el grado de disociación. Se ha informado que las propiedades mecánicas de las películas de CS cambian con el tipo de disolvente ácido [179]. Se estima que para cada tipo ácido o concentración de CS utilizado se pueden afectar a la densidad de conexiones. Esto puede ser debido a las diferentes interacciones entre el CS y la solución de ácido, las cuales están representadas por la configuración espacial de las moléculas de CS durante la formación de película, además, mientras mayor es la longitud de la cadena del ácido mayor es la resistencia que confiere a la película. La incorporación del ácido láctico permite obtener una mayor resistencia a la ruptura y elasticidad, como resultado de las interacciones de las moléculas de este y las cadenas poliméricas del CS [180]. En base a lo anterior, la FOP se considera como resistente y elástica que soporta grandes esfuerzos, lo cual es importante durante su manipulación, empaque, almacenamiento, transporte y su uso.

7.4.3. Permeación *ex vivo*

Como se mencionó anteriormente, la mucosa bucal de cerdo es muy similar a la del ser humano en cuanto a las características anatómicas, estructurales y de composición se refiere. Por lo tanto, los resultados de los estudios de permeación *ex vivo* pueden ser similares a los que se obtendrían en seres humanos. En un estudio reciente [181], se evaluó la capacidad de permeación intrínseca del TM utilizando mucosa bucal de cerdo como modelo. Se encontró que el TM no atraviesa la mucosa bucal lo suficiente como para alcanzar concentraciones terapéuticas en sangre, por lo que sería necesario incluir promotores químicos de absorción.

La Figura 31 muestra los resultados experimentales obtenidos para la FOP de las cantidades permeadas de TM por área expuesta en función del tiempo. Los parámetros de permeación revelan que el flujo máximo de permeación (J) fue de 3.23 ± 0.21 mg/cm²/h, con un tiempo de latencia (T_L) de 1.07 ± 0.09 horas y un coeficiente de permeabilidad (K_p) de 0.672 ± 0.0044 cm²/h. En base al flujo obtenido y el área de difusión empleada (2.09 cm²), se puede establecer que es necesario aplicar un parche bucal mucoadhesivo con un área de 5.39 cm² para poder conseguir concentraciones terapéuticas y obtener una dosis de 50 mg del fármaco.

Lo anterior puede explicarse debido a la influencia del CS en el tiempo de residencia del fármaco en el sitio de absorción y en la tasa de permeación del mismo. El carácter catiónico del CS permite establecer uniones con las cargas negativas de las mucinas presentes en el tejido mucosal mediante interacciones iónicas e hidrofóbicas [182]. De esta manera, es posible prolongar el tiempo de residencia de la forma de dosificación y por consiguiente del fármaco. Por otra parte, el CS ha demostrado ser un agente promotor de la absorción [183], el cual actúa sobre la superficie de las células epiteliales mediante la apertura de las uniones estrechas entre las células, lo cual favorece el transporte de fármacos hidrofílicos a través de la ruta paracelular [184]. Por otro lado, el PF-127 también funciona como un promotor de la absorción debido a su naturaleza anfifílica, la parte hidrofóbica interactúa con los lípidos de la membrana ocasionando su desacomodo y permitiendo la apertura de espacios por los cuales el fármaco puede atravesar.

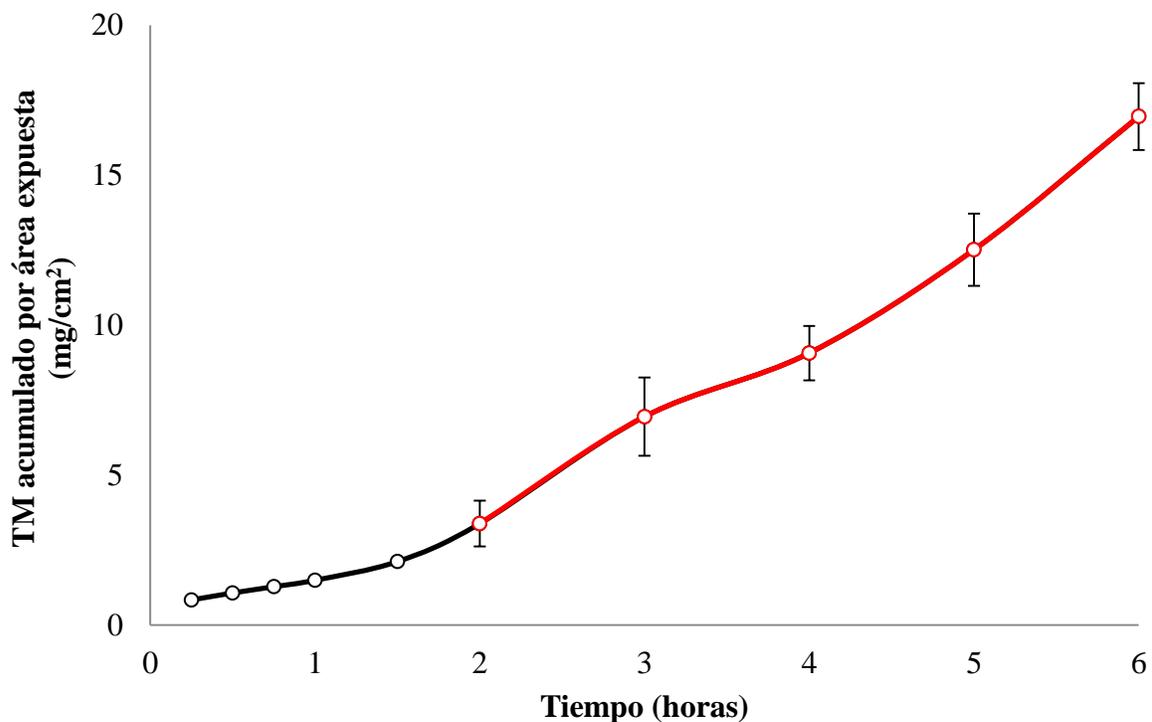


Figura 31. Perfil de permeación *ex vivo* del TM a partir de la FOP.

7.4.4. Microscopía Óptica (MO)

Los estudios de MO permiten indagar sobre la estabilidad física de los lotes preparados. La Figura 32 muestra las micrografías obtenidas para los excipientes sólidos empleados en la formulación. La Figura 33 corresponde a las micrografías obtenidas de la FOP recién preparada, a los 30 y 60 días después. Como se puede observar, en la FOP recién preparada no se distinguen cristales del fármaco o excipientes que pudieran modificar la absorción, comportamiento similar al observado conforme transcurre el tiempo de almacenamiento. Por lo tanto, las características físicas de la FOP se mantienen, demostrando una adecuada estabilidad física.



Figura 32. Micrografías (40X) de: A) TM, B) CS, C) EC, D) EuE-100, E) PF-127

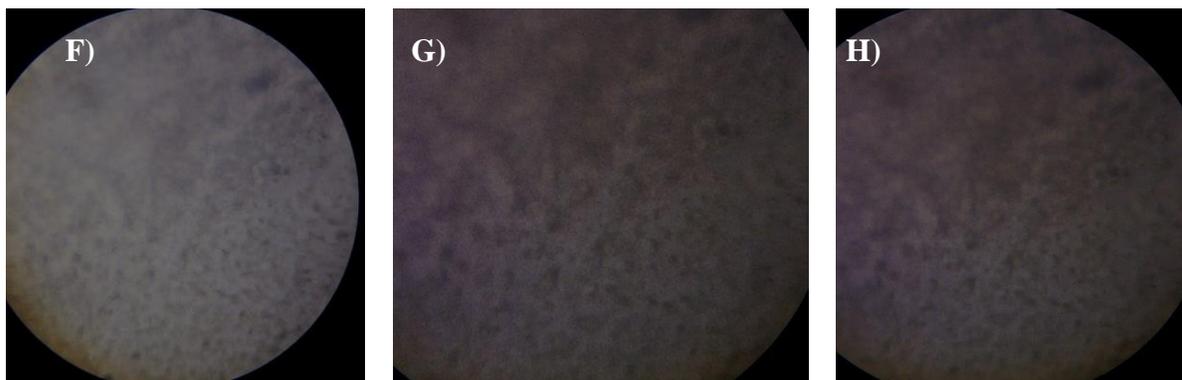


Figura 33. Micrografías (40X) de: F) FOP recién preparada, G) FOP-30 días y H) FOP-60 días.

VIII. CONCLUSIONES

Se generó un diseño central compuesto con dos factores (CS:X₁ y PF-127:X₂) el cual se conformó por once lotes experimentales.

El método empleado en la preparación de los lotes es adecuado para la obtención de parches bucales mucoadhesivos homogéneos.

Los lotes preparados mostraron características fisicoquímicas y un desempeño *in vitro* – *ex vivo* adecuados para poder ser enfrentados al ambiente que predomina en la cavidad bucal.

Se obtuvieron las concentraciones óptimas de CS (2.76 % p/v) y PF-127 (2.42 % p/v).

La formulación óptima resultó ser resistente, flexible y elástica que soporta grandes esfuerzos para poder fracturarla.

Se pueden obtener concentraciones terapéuticas del TM al emplear un parche bucal con un área de 5.39 cm².

La formulación óptima es estable físicamente a través del tiempo al no observar cristales de fármaco o excipientes.

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten concluir que el sistema mucoadhesivo optimizado puede ser considerado como un sistema novedoso y potencialmente útil en la entrega unidireccional de Tartrato de Metoprolol, como una alternativa a la vía oral para el tratamiento de la hipertensión arterial.

IX. PERSPECTIVAS

Realizar estudios de transmisión de vapor de agua a la membrana impermeable de EC.

Evaluar la impermeabilidad al fármaco de la película de EC mediante estudios de permeación *ex vivo* en celdas verticales de difusión tipo Franz.

Realizar estudios de permeación *ex vivo* de las formulaciones F7, F8 y F10 para poder evaluar el efecto del CS y PF-127 sobre los parámetros de permeación del TM.

Realizar estudios de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) y Análisis Termogravimétrico (TGA) para indagar sobre la incompatibilidad del fármaco-excipientes y su vida de anaquel.

Obtener micrografías por medio de estudios de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) para visualizar la morfología de la formulación óptima.

Realizar estudios *in vivo* en un modelo animal para poder correlacionar los resultados obtenidos *in vitro*.

X. REFERENCIAS

- [1] Pérez N, Álvarez L, Fernández B, Félix W, Prado S. Comparación de eficacia terapéutica de Irbesartan/Hidroclorotiazida vs Losartan/Hidroclorotiazida para el control de presión arterial en los pacientes hipertensos en Mineral de Pozos, San Luis de la Paz, Guanajuato. *Rev. Fac. Med.* 2008; 51(2):52-55.
- [2] Barquera S, Campos I, Medina C, Rojas R, Jiménez A. Hipertensión arterial en adultos mexicanos: importancia de mejorar el diagnóstico oportuno y el control. ENSANUT. 2012.
- [3] Bancalari R et al. Prevalencia de hipertensión arterial y su asociación con la obesidad en edad pediátrica. *Rev. Med. Chil.* 2011; 139(7):872-9.
- [4] Go A, et al. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Executive summary: heart disease and stroke statistics 2014 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2014 Jan 21; 129(3):399-410.
- [5] Patel V, Liu F, & Brown M. Advances in oral transmucosal drug delivery. *J. Control Release.* 2011;153: 106-116.
- [6] Ahad A, Al-Jenoobi F, Al-Mohizea A, Akhtar M, Raish M and Aqil M. Systemic delivery of β -blockers via transdermal route for hypertension. *Saudi Pharm J.* 2014;30: 1-16.
- [7] Hearnden V, et al. New developments and opportunities in oral mucosal drug delivery for local and systemic disease. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64:16-28.
- [8] Andrews G, Lavery T, and Jones D. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2009;71: 505-518.
- [9] Peppas N, & Huang Y. Nanoscale technology of mucoadhesive interactions. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004; 56:1675–1687
- [10] Patel et al. Buccal Mucosa as A Route for Systemic Drug Delivery: A Review. *Int. J. Drug Dev. & Res.* 2012; 4 (2): 99-116.
- [11] Raghavendra N, Shrivani B, & Srikanth M. Overview on Buccal Drug Delivery Systems. *J. Pharm. Sci. Res.* 2013; 5(4):80-88
- [12] Khutoryanskiy V. Advances in Mucoadhesion and Mucoadhesive Polymers. *Macromol. Biosci.* 2011; 11:748-764
- [13] Morales J, & McConville J. Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2011; 77:187-199.
- [14] Singh T, Singh R, Shah J, & Mehta T. Mucoadhesive bilayered buccal patch of verapamil clorhidrate: formulation development and characterization. *Int. J. Pharm. Pahraceut. Sci.* 2014; 6:234-241
- [15] Prado H. Estudio de los polisacáridos del alga roja *Polysiphonia nigrescens*, cationización de agarosa, formación de complejos interpolielectrolito. Aplicaciones en floculación de coloides y liberación controlada de drogas. Tesis doctoral. 2010
- [16] Mati-Baouche et al. Chitosan as an adhesive. *Eur. Polym. J.* 2014; 60: 198-212
- [17] Struczczyk M. Chitin and chitosan. Part III. Some aspects of biodegradation and bioactivity. *Polymery/Polymers* 2002; 47:619-29.
- [18] Elgadir M. et al. Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: A review. *J. Food and Drug Analysis.* 2015;23:619-629
- [19] Ripley T & Saseen J. β -Blockers: A Review of Their Pharmacological and Physiological Diversity in Hypertension. *Annal of Pharmacotherapy.* 2014;48(6):723-733

- [20] Mir F, et al. Guidelines for Management of Hypertension. Cambridge University Hospitals. 2010
- [21] Lurbe E, et al. Management of high blood pressure in children and adolescents: recommendations of the European Society of Hypertension. *Hipertens. Riesgo Vasc.* 2010; doi:10.1016/j.hipert.2009.06.007
- [22] National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. National Heart, Lung, and Blood Institute, Bethesda, Maryland. *Pediatrics.* 2004;114:555-6.
- [23] Norma Oficial NOM-030-SSA2-2009. Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica. *Revista Mexicana de Cardiología.* 2011;22(3):115-144
- [24] Obineche E. Management of hypertension: update and review. *Bulletin of the Kuwait Institute for Medical Specialization.*2003;2:73-82
- [25] Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud. Evaluación de efectividad y seguridad de betabloqueadores en pacientes con hipertensión arterial e insuficiencia cardiaca. 2014;1-227
- [26] Formulario Nacional de Medicamentos, 2006. Habana Cuba, Ed. Ciencias Médicas. pp. 260-298.
- [27] Berjón, J. Los betabloqueantes en la medicina cardiovascular. Una actualización práctica. *Boletín de información farmacoterapéutica de Navarra.* 2006;14(4):27-40
- [28] Corbo M, Liu C, Chien W. Bioavailability of propranolol following oral and transdermal administration in rabbits. *J. Pharm. Sci.* 1990;79:584–587.
- [29] Tamargo, J, Delpón, E. Farmacología de los betabloqueantes de los receptores beta-adrenérgicos. Actualización en beta-bloqueantes. 2011;n.d: 9-24.
- [30] Dowty M, Knuth K, Irons B, Robinson J. Transport of thyrotropin releasing hormone in rabbit buccal mucosa in vitro, *Pharm. Res.* 1992; 9:1113–1122.
- [31] Dodla S, & Velmurugan S. Buccal penetration enhancers an overview. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 2013; 6(3): 39-47
- [32] Smart, J.D. Lectin-mediated drug delivery in the oral cavity, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004; 56:481–489.
- [33] Salamat-Miller N, Chittchang M, Johnston T. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2005; 57:1666-1691
- [34] Dhaval A. Patel et al: Buccal Mucosa as A Route for Systemic Drug Delivery: A Review. *Int. J. Drug Dev. & Res.* 2012; 4 (2): 99-116.
- [35] Galey R., Lonsdale H, Nacht S. The in vitro permeability of skin and buccal mucosa to selected drugs and tritiated water. *J. Invest. Dermat* 1976; 67:713-717.
- [36] Bansil R, & Turner B, Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications, *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* 11 (2006) 164–170.
- [37] Capra R, Baruzzi A, Quinzani L, Strumia M. Rheological, dielectric and diffusion analysis of mucin/carbopol matrices used in amperometric biosensors. *Sensors Actuators B.* 2007; 124:466–476.
- [38] J. Kocevar-Nared J, Kristl J, Smid-Korbar. Comparative rheological investigation of crude gastric mucin and natural gastric mucus. *Biomaterials.*1997; 18:677–681.
- [39] Yousif N, Maraie N. Optimization and Evaluation of Metoclopramide HCl as mucoadhesive buccal patch. *World Journal of Phamaceutical Research.* 2015; 4:79-98

- [40] Montenegro-Nicollini M., Morales J. Overview and Future Potential of Buccal Mucoadhesive Films as Drug Delivery Systems for Biologics. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 2016;16(13)
- [41] Pather S.I, Rathbone M.J, Senel S. Current status and the future of buccal drug delivery systems, *Expert Opin. Drug Deliv.*2008; 5:531–542.
- [42] Yamamoto A, Hayakawa E, Lee VH. Insulin and proinsulin proteolysis in mucosal homogenates of the albino rabbit: implications in peptide delivery from nonoral routes. *Life Sci.* 1990;47:2465–74.
- [43] Kashi SD, Lee VH. Enkephalin hydrolysis in homogenates of various absorptive mucosae of the albino rabbit: similarities in rates and involvement of aminopeptidases. *Life Sci.* 1986;38:2019–28.
- [44] Nakada Y, Awata N, Ikuta Y, Goto S. The effect of bile salts on the oral mucosal absorption of human calcitonin in rats. *J Pharmacobiodyn.* 1989;12:736–43.
- [45] Caon T, Jin L, Simoes C, Norton R, Nicolazzo J. Enhancing the Buccal Mucosal Delivery of Peptide and Protein Therapeutics. *Pharm Res.* 2015; 32:1–21
- [46] Mansuri S, Kesharwani P, Jain K, Tekade R, Jain N.K. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. *Reactive and Functional Polymers.* 2016; 100:151-172
- [47] McConnell E.L, Fadda H.M, & Basit A.W. Gut instincts: explorations in intestinal physiology and drug delivery. *Int. J. Pharm.* 2008; 364:213–226.
- [48] McConnell E.L., Lui F, Basit A.W. Colonic treatment and targets: issues and opportunities, *J. Drug Target.* 2009; 17:335–363.
- [49] Nielsen H.M, Rassing M.R. TR146 cells grown on filters as amodel of human buccal epithelium: V. Enzyme activity of the TR146 cell culture model, human buccal epithelium and porcine buccal epithelium, and permeability of leu-enkephalin. *Int. J. Pharm.* 2000; 200:261–270.
- [50] Lesch C.A, Squier C.A, Cruchley A, Williams D.M, & Speight P. The permeability of human oral mucosa and skin to water, *J. Dent. Res.* 68 (1989) 1345–1349.
- [51] Squier C.A, Hall B.K. The permeability of the skin and oral mucosa to water and horseradish peroxidise as related to the thickness of the permeability barrier. *J. Inv. Dermat.* 1985; 84:176–179.
- [52] Shojaei A.H. Buccal mucosa as a route for systemic drug delivery: a review, *J Pharm. Pharmaceut. Sci.* 1 (1998) 15–30.
- [53] Kurosaki Y, Yano K, Kimura T. Perfusion cells for studying regional variation in oral mucosal permeability in humans. A specialized transport mechanism in D-glucose absorption across cultured dorsum of tongue. *J. Pharm. Sci.* 1998; 87:613–615.
- [54] Kimura T, Yamano H, A. Tanaka T, Matsumara M, Ogawara K, Transport of D-glucose across cultured stratified cell layer of human oral mucosal cells. *J. Pharm. Pharmacol.* 2002; 54:213–219.
- [55] R. Mahalingam H, Ravivarapu S, Redkar X, Li, B.R. Jasti. Transbuccal delivery of 5-Aza-2'-Deoxycytidine: effects of drug concentration, buffer solution and bile salts on permeation, *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 2007.
- [56] Xiang J, Fang X, Li X. Transbuccal delivery of 2', 3'-dideoxycytidine: in vitro permeation study and histological investigation, *Int. J. Pharm.* 231 (2002) 57–66.
- [57] Deneer V.H., Drese G.B., Roemele P, Verhoef V, Lie-A-Huen H, Kingma J, et al. Buccal transport of flecainide and sotalol: effect of a bile salt and ionization state, *Int. J. Pharm.* 241 (2002) 127–134.

- [58] Nielsen H.M., Rassing M.R. Nicotine permeability across the buccal TR146 cell culture model and porcine buccal mucosa in vitro: effect of pH and concentration, *Eur. J. Pharm. Sci.* 16 (2002) 151–157.
- [59] Mashru R, Sutariya V, Sankalia M, Sankalia J. Transbuccal delivery of lamotrigine across porcine buccal mucosa: in vitro determination of routes of buccal transport. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 8 (2005) 54–62.
- [60] De Caro V, Giandalia G, Siragusa M.G, Paderni C, Campisi G, Giannola L.I. Evaluation of galantamine transbuccal absorption by reconstituted human oral epithelium and porcine tissue as buccal mucosa models: part I, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 70 (2008) 869–873.
- [61] Giannola L.I, De Caro V, Giandalia G, Siragusa M.G, Tripodo C, et al. Release of naltrexone on buccal mucosa: permeation studies, histological aspects and matrix system design, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 67 (2007) 425–433.
- [62] Birudaraj R, Berner B, Shen S, Li X. Buccal permeation of buspirone: mechanistic studies on transport pathways. *J. Pharm. Sci.* 94 (2005) 70–78.
- [63] Mashru R.C, Sutariya V.B, Sankalia M.G, Sankalia J.M. Effect of pH on in vitro permeation of ondansetron hydrochloride across porcine buccal mucosa. *Pharm. Dev. Tech.* 10 (2005) 241–247.
- [64] Utoguchi N, Watanabe Y, Suzuki T, Maehara J, Matsumoto Y, Matsumoto M. Carrier-mediated transport of monocarboxylic acids in primary cultured epithelial cells from rabbit oral mucosa, *Pharm. Res.* 14 (1997) 320–324.
- [65] Utoguchi N, Watanabe Y, Suzuki T, Maehara J, Matsumoto Y, Matsumoto M. Carrier-mediated absorption of salicylic acid from hamster cheek pouch mucosa, *J. Pharm. Sci.* 88 (1999) 142–146.
- [66] Oyama Y, Yamano H, Ohkuma A, Ogawara K, Higaki K, Kimura T. Carrier mediated transport systems for glucose in mucosal cells of the human oral cavity. *J. Pharm. Sci.* 88 (1999) 830–834.
- [67] Harris D, Robinson J.R. Drug delivery via the mucous membranes of the oral cavity. *J. Pharm. Sci.* 1992; 81:1–10.
- [68] López-Cervantes M, Márquez-Mejía E, Cazáres-Delgadillo J, Quintanar-Guerrero D, and Ganem-Quintanar A. Chemical Enhancers for the Absorption of Substances Through the Skin: Laurocapram and Its Derivatives. *Drug Development and Industrial Pharmacy.* 2006;32:267-286.
- [69] Woodley J. Bioadhesion: new possibilities for drug administration?. *Clin Pharmacokinet.* 40 (2001) 77–84
- [70] Raghavendra N, Shrivani B, Srikanth M. Overview on Buccal Drug Delivery Systems. *J Pharm Sci Research.* 2013; 5(4):80-88
- [71] Saraswathi B, Balaji A, Umashankar M. Polymers in mucoadhesive drug delivery system-latest updates. *Int J Pharma Pharm Sci.* 2013; 5:423-430
- [72] Madsen F, Eberth K, Smart J. A rheological assessment of the nature of interactions between mucoadhesive polymers and a homogenised mucus gel. *Biomaterials.*1998; 19:1083–1092.
- [73] Gupta J, Mohiuddin M, Faisal M. A comprehensive review on buccal drug delivery system. *Int J Pharm Research Dev.* 2012; 3(11):59-77
- [74] Carvalho F, Bruschi M, Evangelista R, Gremião M. Mucoadhesive drug delivery systems. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Science.* 2010; 46:1-17
- [75] Kinloch A.J. The science of adhesion, *J. Mater.Sci.* 1980; 15:2141–2166.

- [76] Lee J.W, Park J.H, Robinson J.R. Bioadhesive-based dosage forms: the next generation, *J. Pharm. Sci.* 89 (2000) 850–866.
- [77] Dodou D, Breedveld P, Wieringa P. Mucoadhesive theories - presentations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* 2005;60:1-16
- [78] Serra L, Doménech J, Peppas N. Design of poly(ethylene glycol)-tethered copolymers as novel mucoadhesive drug delivery systems. *Eur. J. of Pharm. and Biopharm.* 2006;63:1-11
- [79] Jabbari E, Peppas N.A. A model for interdiffusion at interfaces of polymers with dissimilar physical properties, *Polymer* 36 (1995) 575–586.
- [80] Huang Y, Leobandung W, Foss A, Peppas N.A. Molecular aspects of muco and bioadhesion: tethered structures and site-specific surfaces. *J. Control. Release.*2000; 65:63–71.
- [81] Vasir J, Tambwekar K, Garg S, Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system.*Int. J. Pharm.* 2003; 255:13–32.
- [82] Smart D. The basic and underlying mechanisms of mucoadhesion.*Adv. Drug Del. Rev.* 2005; 57(11):1556-1568
- [83] Volonté G. Sistemas bioadhesivos de liberación de fármacos. *Rev. Farm.* 2012; 154(1-2):56-71
- [84] Harding S.E. Trends in muco-adhesive analysis. *Trends Food Sci. Technol.* 2006; 17:255–262
- [85] Hagerstrom H., M. Paulsson, K. Edsman, Evaluation of mucoadhesion for two polyelectrolyte gels in simulated physiological conditions using a rheological method, *Eur. J. Pharm. Sci.* 9 (2000) 301–309.
- [86] Mortazavi S.A, Smart J. An investigation into the role of water movement and mucus gel dehydration in mucoadhesion, *J. Control. Release* 25 (1993) 197–203
- [87] Park K, Robinson J.R. Bioadhesive polymers as platforms for oral-controlled drug delivery: method to study bioadhesion. *Int. J. Pharm.* 1984; 19:107–127.
- [88] Park H, Robinson J. Mechanisms of mucoadhesion of poly(acrylic acid) hydrogels. *Pharmaceut.Res.* 1987; 4:457–464.
- [89] Sudhakar Y, Kuotsu K, Bandyopadhyay A.K. Buccal bioadhesive drug delivery – a promising option for orally less efficient drugs. *J. Control. Release.*2006; 114:15–40.
- [90] Peppas N.A, Huang Y, Nanoscale technology of mucoadhesive interactions. *Adv. Drug Deliv.Rev.* 2004; 56:1675–1687.
- [91] Boddupalli B, Mohamed Z, Nath R, Banji D. Mucoadhesive Drug Delivery Systems: An Overview. *J Adv Pharm Technol Res.* 2010; 1:381-387
- [92] Madhav S, Shakya P, Shakya A, Singh K. Orotransmucosal Drug Delivery Systems. *Journal of Controlled Release.* 2009;140:2-11.
- [93] Steward A, et al. The Effect of Enhancers on the Buccal Absorption of Hybrid (BDBB) Alpha Interferon.*Int. J. Pharm.* 1994; 104:145–149.
- [94] Yajaman S., Bandyopadhyay A.K. Buccal bioadhesive drug delivery- A promising option for orally less efficient drugs. *Journal of Control Release.* 2006; 114:15–40
- [95] Walker R. and Smith E. The role of percutaneous enhancers.*Advanced Drug Delivery Reviews.* 1996;18:295-301
- [96] Tsung-Rongh K, et al. Chemical enhancer induced changes in the mechanisms of transdermal delivery of zinc oxide nanoparticles. *Biomaterials.* 2009;30:3002–3008
- [97] Phanindra B, Moorthy K, Muthukumaran M. Recent Advances in Mucoadhesive/ Bioadhesive Drug Delivery System: A review. *Int J Pharm Med & Bio Sci.* 2013;2(1):1-17
- [98] Rodrigues S, Dionisio M, López C, Grnha A. Biocompatibility of Chitosan Carriers with Application in Drug Delivery. *J. Funct Biomater.* 2012; 3:615-641

- [99] Kumar R, Sinha N. Thiomers: A potential carrier for therapeutic delivery. *Reactive & Functional Polymers*. 2013;73:1156-1166
- [100] Kade M, Burke D, Haeker C. The Power of Thiol-ene Chemistry. *Journal of Polymer Science*. 2009;48:743-750
- [101] Bernkop-Schnürch A, Schwarz V, Steininger S. Polymers with thiol groups: a new generation of mucoadhesive polymers?. *Pharm. Res*. 1999; 16:876–881.
- [102] Albrecht K, Greindl M, Kremser C, Wolf C, Debbage P, Bernkop-Schnürch A, Comparative in vivo mucoadhesion studies of thiomers formulations using magnetic resonance imaging and fluorescence detection. *J. Control. Release*. 2006; 115:78–84.
- [103] Bernkop-Schnürch A. Thiomers: a new generation of mucoadhesive polymers, *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2005; 57:1569–1582
- [104] Roldo M, Hornof M, Caliceti P, Bernkop-Schnürch A. Mucoadhesive thiolated chitosans as platforms for oral controlled drug delivery: synthesis and in vitro evaluation. *Eur. J. Pharm. Biopharm*. 2004; 57:115–121
- [105] Clark M.A, Hirst B, Jepson M. Lectin-mediated mucosal delivery of drugs and microparticles. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2000; 43:207–223.
- [106] Shchipunov Y. Lecithin organogel. A micellar system with unique properties. *Colloid and Surfaces*. 2001;541-554
- [107] Lehr C. Lectin-mediated drug delivery: the second generation of bioadhesives. *J. Control. Release*. 2000; 65:19–29.
- [108] Behra A, Kumar T, Tripathi D, Amit A. An Exhaustive Review on Recent Advancement in Pharmaceutical Bioadhesive Used for Systemic Drug Delivery Through Oral Mucosa for Achieving Maximum Pharmacological Response and Effect. In *J Pharmacol*. 2012;8(5):283-305
- [109] Karki S, Hyeonming K, Seon-Jeon Na, Shin D. Thin films as an emerging platform for drug delivery. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016; 1-51
- [110] Dixit R, Puthli. Oral strip technology: overview and future potential. *Journal of Controlled Release*. 2009; 139:94–107.
- [111] Repka M, Munjal M, Elsohly E, Ross S. Temperature stability and bioadhesive properties of Δ^9 -tetrahydrocannabinol incorporated hydroxypropylcellulose polymer matrix systems, *Drug Development and Industrial Pharmacy* 32 (2006) 21–32.
- [112] Thumma S, Majumdar S, Elsohly M, Gul W, Repka M. Preformulation studies of a prodrug of Δ^9 -tetrahydrocannabinol, *AAPS Pharmaceutical Science and Technology* 9 (2008) 982–990.
- [113] Thumma S, ElSohly M, Zhang S, Gul W, Repka M. Influence of plasticizers on the stability and release of a prodrug of Δ^9 -tetrahydrocannabinol incorporated in poly (ethylene oxide) matrices, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 70 (2008) 605–614.
- [114] Park S, Marsh K, Rhim J. Characteristics of Different Molecular Weight Chitosan Films Affected by the Type of Organic Solvents. *Journal of Food Science*. 2002; 67:194-197
- [115] Elgadir M. et al. Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: A review. *Journal Food and Drug Analysis*. 2015;23:619-629
- [116] Domínguez-Delgado C. et al. Drug Carrier Systems Using Chitosan for Non Parenteral Routes. *Pharmacology and Therapeutics*. pp 273-325
- [117] Krajewska B, Olech A. Pore structure of gel chitosan membranes. I. Solute diffusion measurements. *Polymer gels and networks*. 1996; 4:33-43
- [118] Israelachvili J. *Intermolecular and Surface Forces*. University of California, USA.

- [119] Marshall S, Bayne S, Baier F, Tomsia A, Marshall G.A review of adhesion science. *Dental Materials*. 2010;26:11-16
- [120] Rotta J, Ozorio RA, Kehrwald AM, Mariz de Oliveira Barra G, Dias de Melo Castanho Amboni R, Barreto PLM. Parameters of color, transparency, water solubility, wettability and surface free energy of chitosan/hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) films plasticized with sorbitol. *Mater Sci Eng C*. 2009; 29:619-23.
- [121] Kurek M, Brachais C-H, Šcetar M, Voilley A, Galic Couvercelle J-P, Debeaufort F. Carvacrol affects interfacial, structural and transfer properties of chitosan coatings applied onto polyethylen. *Carbohydr Polym* 2013; 97:217-25.
- [122] Calero N, Muñoz J, Ramirez P, Guerrero A. Flow behaviour, linear viscoelasticity and surface properties of chitosan aqueous solutions. *Food Hydrocol* 2010; 24:659-66.
- [123] Mati-Baouche N, de Baynast H, Vial C, Audonnet F, Sun S, Petit E, et al. Physico-chemical, thermal and mechanical approaches for the characterization of solubilized and solid state chitosans. *J Appl Polym Sci* 2014; 10
- [124] Struczyk MH. Chitin and chitosan. Part III. Some aspects of biodegradation and bioactivity. *Polimery/Polymers* 2002; 47:619-29.
- [125] Escobar-Chávez JJ. et al. Applications of thermo-reversible pluronic F-127 gels in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 2006, vol. 9, no. 3, p. 339-58
- [126] Lundsted, L. G., and Schmolka, I. R., The synthesis and properties of block copolymer polyol surfactants in block and graft polymerization, Ceresa (Eds.), Vol.2, London, pp. 1-62, 1972.
- [127] Riess, G. Micellization of block copolymers. *Prog. Polym. Sci.* 28 (2003) 1107–1170
- [128] Gilbert, J., Hadgraft, J., Bye, A., and Brookes, L., Drug Release from Pluronic F-127 Gels, *Int. J. Pharm.*, 32, 223-228, 1986.
- [129] Jorgensen, E., Hvidt, S., Brown, W., Schillen, K., Effects of salts on the micellization and gelation of triblock copolymer studied by rheology and light scattering, *Macromolecules.*, 30, 2355-2364, 1997.
- [130] Chen-Chow, P. Drug Release from Pluronic F-127 Gels, *Diss. Abstr.Int.*, 340, 4751, 1980.
- [131] Lee, S., Tae, G., 2007. Formulation and in vitro characterization of an in situ gelable, photo-polymerizable Pluronic hydrogel suitable for injection. *J. Control. Release* 119, 313–319.
- [132] Moreno E. et al. Thermosensitive hydrogels of poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) – Pluronic® F127 copolymers for controlled protein release. *International Journal Pharmaceutics*. 2014;459:1-9
- [133] Billiet T, Vandenhaute M, Schelfhout J, Van Vlierberghe S, Dubruel P. A review of trends and limitations in hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering. *Biomaterials*. 2012;33:6020-6041
- [134] Koji K and Vacanti C. Tissue Engineering in the trachea. *The Anatomical Record*. 2014;297:44-50.
- [135] Kabanov A, Lemieux P, Vinogradov S, Alhakov V. Pluronic® block polymers: novel functional molecules for gene therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2002;54:223-233.
- [136] Escobar-Chávez JJ, et al. Transdermal nortriptyline hydrochloride patch formulated within a chitosan matrix intended to be used for smoking cessation. *Pharm Dev Technol*, 2011;16(2):162-169

- [137] Shiledar R, Tagalpallewar A, Kokare C. Formulation and in vitro evaluation of xanthan gum-based bilayer mucoadhesive buccal patches of zolmitriptan. *Carbohydrate Polymers*. 2014; 101:1234-1242
- [138] Pendekal M, Tegginamat P. Formulation and evaluation of a bioadhesive patch for buccal delivery tizanidine. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2012;2(3):318-324
- [139] Adhikari S, Nayak B, Nayak A, Mohanty B. Formulation and Evaluation of Buccal Patches for Delivery of Atenolol. *Pharma Sci Tech*. 2010;11(3):1038-1044
- [140] Perioli L, et al. Development of mucoadhesive patches for buccal administration of ibuprofen. *Journal of Control Release*. 2004;99:73-82
- [141] Nair A, et al. In vitro techniques to evaluate buccal films. *J Control Release*. 2013; 166: 10-21
- [142] Beltrán-Patiño J. (2010). Extracción y caracterización de quitosano del camarón titi y su aplicación en la liberación controlada de un fármaco. Tesis de Licenciatura. Universidad del Valle. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Colombia. pp. 51-60
- [143] Karadag E, Saraydin D. Swelling of Superabsorbent Acrylamide/Sodium Acrylate Hydrogels Prepared Using Multifunctional Crosslinkers. *Turk. J. Chem.*, 2002, 26: 863-875.
- [144] Karadag E, Saraydin D, Caldiran Y, Güven O. Swelling Studies of Copolymeric Acrylamide/Crotonic Acid Hydrogels as Carriers for Agricultural Uses. *Polym. Adv. Technol.*, 2000, 11: 59-68.
- [145] Lundstedt T, et al. Experimental design and optimization. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 1998;(42):3-40
- [146] Montgomery, D. C. (2005). Diseño y análisis de experimentos. 6ª ed. México, Limusa.
- [147] Singh B, Kumar R, Ahuja N. Optimizing Drug Delivery Systems Using Systematic “Design of Experiments.” Part I: Fundamental Aspects. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier System*. 2004;22(1):27-105
- [148] Pulido_Barríos L. Diseño de una película de Quitosano como sistema terapéutico farmacéutico alternativo para el tratamiento de úlceras cutáneas. 2012. Tesis de maestría en Ciencias Farmacéutica. Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- [149] Patel V, Liu F, Brown M. Modeling the oral cavity: In vitro and in vivo evaluations of buccal drug delivery systems. *Journal of Control Release*. 2012; 161: 746-756
- [150] Patel V, Prajapati B, Patel M. Design and characterization of chitosan-containing mucoadhesive buccal patches of propranolol hydrochloride. *Acta Pharm*. 2007;57;61-72
- [151] Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM)
- [152] Woertz C, Preis M, Breutktrutz J, Kleinebudde P. Assessment of test methods evaluating mucoadhesive polymers and dosage forms: An overview. *European Journal Phamrmaceutics and Biopharmaceutics*. 2013; 85:843-853
- [153] Shidhaye S, Nilesh S, Sutar S, and Kadam V. Mucoadhesive Bilayered Patches for Administration of Sumatriptan Succinate. *Pharm. Sci. Tech*. 2008;(9):909-916
- [154] Hombach J, Bernkop-Schnürch A. Mucoadhesive Drug Delivery Systems. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2010; (197):251-265
- [155] Donnelly R, Woolfson D. Bioadhesive Drug Delivery Systems. *The Polymeric Biomaterials. Medicinal and Pharmaceuticals Applications*. 2013;(2):311-332
- [156] Bader R, Putnam D. 2014. *Engineering Polymer Systems for Improved Drug Delivery*. Ed. Wiley, pp. 496
- [157] Alcalá-Alcalá S., Urbán Morlán Z, Aguilar-Rosas I, Quintanar-Guerrero D. A biodegradable polymeric system for peptide-protein delivery assembled with porous

microspheres and nanoparticles, using an adsorption/infiltration process. *International Journal of Nanomedicine*. 2013;8:2141-2151

[158] Serrano-Castañeda et al. Liberación de pravastatina sódica formulada en matrices de Quitosan/Pluronic F-127. *Revista Cubana de Farmacia*. 2015;49(1):18-28.

[159] Chung T, Lind S, Liub D, Tyanc Y, Yanga J. Sustained release of 5-FU from Poloxamer gels interpenetrated by crosslinking chitosan network. *Int J Pharm*. 2009; 238: 39-44.

[160] Costa P, Sousa-Lobo JM. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur. J Pharm Sci*. 2001;13:123-133.

[161] Soney G, Sabiu T. Transpot phenomena through polymeric system. *Prog. Polym. Sci*. 2001;26:985-1017

[162] Brazel C. y Peppas N. Modeling of drug release from swellable polymers. *Eur J Pharm and Biopharm*. 2000; 49:47-58

[163] Blagovea R, Nedev A. Monolithic Controlled Delivery Systems: Part II. Basic Mathematical Models. *Bioautomation*. 2005;5:106-117

[164] Katime I, Mendizábal E. Swelling Properties of New Hydrogels Based on the Dimethyl Amino Ethyl Acrylate Methyl Chloride Quaternary Salt with Acrylic Acid and 2-Methylene Butane-1,4-Dioic Acid Monomers in Aqueous Solutions. *Mater. Sci. Appl.*, 2010, 1: 162-167.

[165] Katime I, Velada J. L, Novoa R, Díaz de Apodaca, E, Puig J, & Mendizábal E. *Polym. Int*. 1996;40:281

[166] Shidhaye S, Thakkar P, Dand N, and Kadam V. Buccal Drug Delivery of Pravastatin Sodium. *Pharm. Sci. Tech*. 2010;2(1):416-424

[167] Benítez J, Velásquez C, Gáscue B. Cinética de absorción y transporte de agua en hidrogeles sintetizados a partir de acrilamida y anhídrido maléico. *Rev. LatinAm. Metal. Mat*. 2015;35(2):242-253

[168] Brazel C, Peppas N. Modeling of Drug Release from Swellable Polymers. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2000, 49: 47-58.

[169] Ganji F, Vasheghani-Farahani E. Hydrogels in Controlled Drug Delivery Systems. *Iran Polym. J.*, 2009, 18(1): 63-88.

[170] García D, Escobar J, Bocourt M, Bada N, Zaldiviar D, Katime I. Influencia del Agente Entrecruzante y Composición de Geles de Poli(Ácido itacónico-co-Ácido Metacrílico). *Rev. Iber. Pol.*, 2003, 4(1): 93-105.

[171] Caykara T. Effect of Maleic Acid Content on Network Structure and Swelling Properties of Poly(N-Isopropylacrylamide-co-Maleic Acid) Polyelectrolyte Hydrogels. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2004; 92: 763–769

[172] Bansal S, Bamsal M, Garg G. Preparation and Evaluation of Buccoadhesive patch of an Antihypertensive Drug. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. 2013; 1(2):240-255.

[173] Peh K, Wong C. Polymeric films as vehicle for buccal delivery: swelling, mechanical and bioadhesive properties. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 1999;2:53-61.

[174] Palem C, Gannu R, Doodipala N, Yamsani V, Yamsani M. Transmucosal Delivery of Domperidone from Bilayered Buccal Patches: In vitro, Ex vivo and in vivo Characterization. *Arch. Pharm. Res*. 2011;34(10):1701-1710

[175] Aulton, M. E., Abdul-Razzak, M. H., and Hogan, J. E., The mechanical properties of hydroxypropylmethylcellulose films derived from aqueous systems Part 1: the influence of plasticisers. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 1981; 7:649-668

[176] Bharkatiya M, Nema R, Bhatnagar M. Designing and Characterization of Drug Free Patches for Transdermal Application. *Int J Pharma Sci Drug Res*. 2010; 2(1):35-39.

- [177] Gontard N, Duchez C, Cuq J, Guilberts S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *International Journal of Food Sciences and Technology*. 1994;29:39-50
- [178] Gontard N, Guilberts S, Cuq J. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response methodology. *Journal of Food Sciences*. 1992;57:190-199
- [179] Kienzle-Sterzer CA, Rodriguez-Sanchez D, Rha C. Mechanical properties of chitosan films: Effect of solvent acid. *Makromol Chem*. 1982;183:1353-1359.
- [180] Park S, Marsh K, Rhim J. Characteristics of Different Molecular Weight Chitosan Films Affected by the Type of Organic Solvents. *Journal of Food Sciences*. 2002;6(1):194-197.
- [181] Amores S. et al. A comparative ex vivo drug permeation study of beta-blockers through porcine buccal mucosa. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014;468:50-55
- [182] Furtado S. et al. Development of chitosan based bioadhesive bilayered patches of metoprolol tartarate. *International Journal of Pharmaceutics Science Review and Research*. 2010; 4(3): 198-202.
- [182] Bernkop-Schnürch A, Dünnhaupt S. Chitosan-based drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2012; 81:463-469.
- [183] Van der Merwe S.M, Verhoet J.C., Verheijden J.H., Kotzé A.F., Junginger H.E. Trimethylated chitosan as polymeric absorption enhancer for improved peroral delivery of peptide drugs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2004; 58: 225-235.
- [184] Sandiri G, et al. Buccal penetration enhancement properties of *N*-trimethyl chitosan: Influence of quaternization degree on absorption of a high molecular weight molecule. *International Journal of Pharmaceutics*. 2005; 297:146-155.
- [185] Harris D, Robinson J.R. Drug delivery via the mucous membranes of the oral cavity, *J. Pharm. Sci.* 81 (1992) 1–10.
- [186] Squier C.A, Wertz A. Structure and function of the oral mucosa and implications for drug delivery, in: M.J. Rathbone (Ed.), *Oral Mucosal Drug Delivery*, Marcel Dekker, New York, 1996, pp. 1–26.
- [187] Kurosaki Y, Takatori T, Nishimura H, Nakayama T, Kimura T. Regional variation in oral mucosal absorption: permeability and degree of keratinisation in hamster oral cavity, *Pharm. Res.* 8 (1991) 1297–1301.
- [188] Obradovic T, Hidalgo I. In vitro models for investigations of buccal drug permeation and metabolism, in: C. Ehrhardt, K.-J. Kim (Eds.), *Drug Absorption Studies: In Situ, In Vitro and In Silico Models*, vol. VII, AAPS Press/Springer US, Arlington, VA, 2007, pp. 167–181.
- [189] Law S, Wertz P, Swartzendruber D, Squier C.A. Regional variation in content, composition, and organization of porcine epithelial barrier lipids revealed by thin-layer chromatography and transmission electron microscopy, *Arch. Oral Biol.* 40 (1995) 1085–1091.
- [190] Thompson I, Van der Bijl P, Van Wyk C, Van Eyk A.D. A comparative light-microscopic, electron-microscopic and chemical study of human vaginal and buccal epithelium, *Arch. Oral Biol.* 46 (2001) 1091–1098.

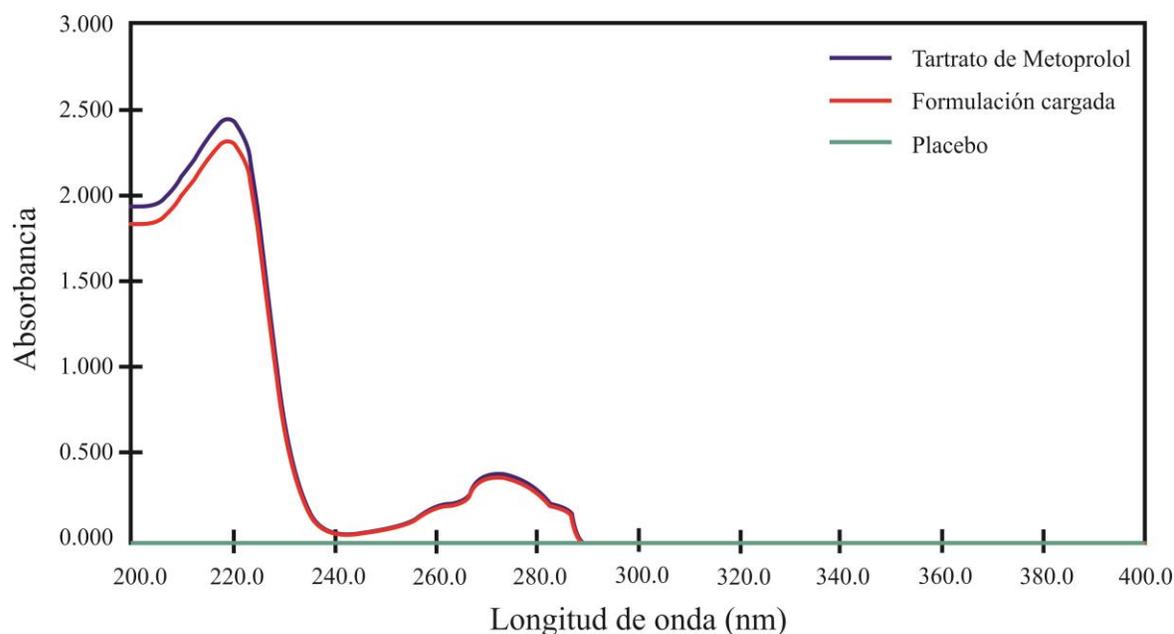
ANEXO 1

Composición del fluido salival simulado [182].

Ingrediente	Cantidad (g)
NaCl	0.216
KCl	0.964
KSCN	0.189
KH ₂ PO ₄	0.655
Urea	0.200
H ₂ O	1 L

ANEXO 2

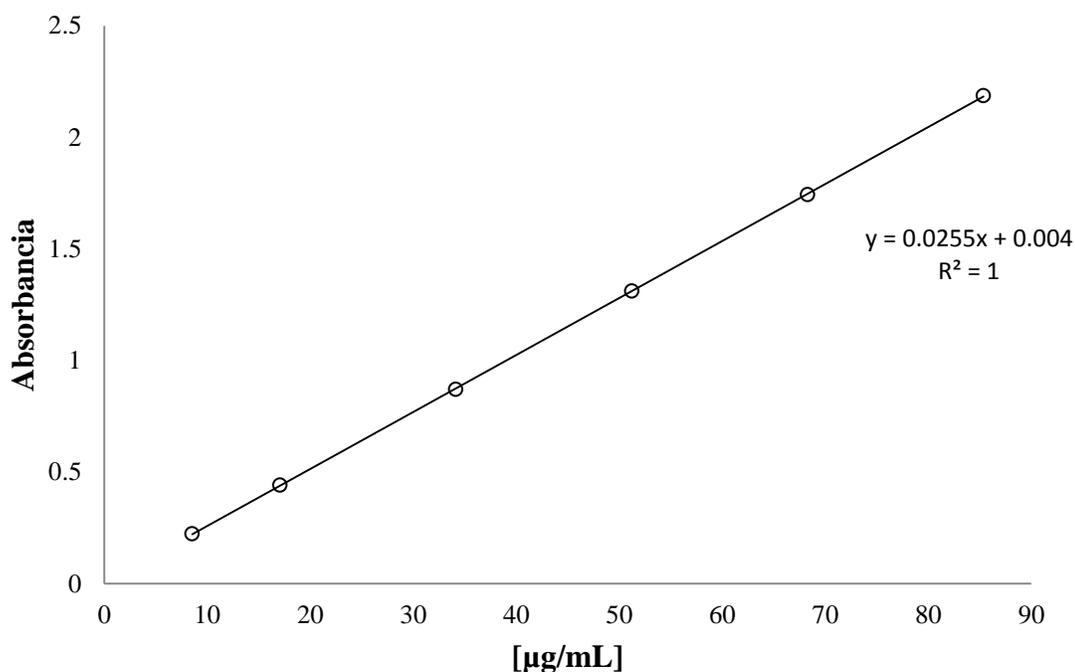
Se presentan los barridos espectrofotométricos del Tartrato de Metoprolol, un placebo y una formulación cargada con fármaco, con la finalidad de conocer el comportamiento espectral de cada uno. Como se puede observar, ningún excipiente presenta interferencias, por lo que se puede cuantificar al fármaco de manera confiable.



Barridos espectrofotométricos de TM, FOP y Placebo en Bufer de Fosfatos pH 6.8.

Linealidad del sistema de medición de la respuesta analítica

Para evaluar si el sistema de medición de la respuesta analítica es lineal se preparó una curva de calibración del Tartrato de Metoprolol en buffer de fosfatos pH 7.35 en seis niveles de concentración 8.53-85.36 $\mu\text{g/mL}$, El valor de r^2 de la regresión fue > 0.98 , por lo tanto, la curva de calibración es lineal en el intervalo de concentraciones evaluado.



Curva de calibración del Tartrato de Metoprolol en buffer de fosfatos pH 7.35

Para evaluar si el sistema es lineal estadísticamente, se realizó un análisis de varianza de la regresión.

Análisis de Varianza

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	Fcal	Valor crítico de F
Regresión	1	8.662818841	8.662818841	194232.7909	4.1611E-34
Residuos	16	0.000713603	4.46002E-05		
Total	17	8.663532444			

Como se observa en el ANOVA, Fcal (19232.7909) es mayor a F crítica (4.1611^{-34}), por lo tanto, existe evidencia estadística con 95% de confianza para afirmar que existe una relación lineal entre las concentraciones adicionadas y las estimadas por el modelo.

Para evaluar si el intercepto pasa por cero y si la pendiente contiene el valor de 1, se obtuvieron los límites superiores e inferiores.

	Coefficientes	Error típico	Estadístico "t"	Probabilidad	LIC	LSC
Intercepto (b)	0.0040	0.0030	1.3402	0.1989	-0.0023	0.0103
Pendiente (m)	0.0255	5.79E-05	440.71	4.1611E-34	0.0254	0.0256

Como se puede observar, los valores de LIC (Límite Inferior de Confianza) y LSC (Límite Superior de Confianza) para la ordenada al origen (b) son negativos y positivos respectivamente, por lo tanto, estadísticamente el intercepto pasa por cero. El valor de la pendiente (m) es 1 ya que los valores de los intervalos de confianza no contienen el cero.

Precisión del sistema

Para evaluar la precisión del sistema se preparó por sextuplicado la cuarta concentración de la curva de calibración (51.21 µg/mL), en donde se obtuvo un valor de coeficiente de variación (%CV) de 0.23, por lo que se puede concluir que el sistema es preciso en dicha concentración, además, el $CV_{X/Y}$ global del factor respuesta es de 1.28 %, por lo que se establece que el sistema es preciso en el rango de concentraciones evaluado.

Precisión y exactitud del método

Para evaluar la precisión del método se calcularon los % de recuperación para seis muestras sometidas al ensayo de contenido químico. Los resultados son los siguientes:

Muestra	mg TM adicionados	Abs	mg TM recuperados	% Recuperación
1	50,00	1,383	50.03	100.06
2	50,00	1,391	50.32	100.64
3	50,00	1,328	48.04	96.08
4	50,00	1,386	50.14	100.28
5	50,00	1,359	49.17	98.33
6	50,00	1,348	48.77	97.53
STD	50,20	1,382		
		Promedio	49,41	98,83
		Desvest	0,9052	1,8105
		%CV	1,83	1,83

$CV < 2\%$, el método es preciso; $t_{cal} (1.5879) < t_{crítica} (2.5705)$ el método es exacto.

Ensayo de Contenido Químico

Preparación de las muestras

Se pesaron tres muestras en una balanza analítica las cuales se pusieron en agitación constante a 1000 rpm durante dos horas en buffer de fosfatos pH 7.4. A continuación se retiraron del medio el cual se filtró a gravedad. Se tomó una alícuota de 3 mL y se diluyó en 25 mL del mismo medio. Las muestras fueron analizadas en un espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 219 nm.

ANEXO 3

Comparación de la mucosa bucal de diferentes mamíferos.

Modelo	Estructura del tejido [185]	Espesor de la membrana mucosa (μm) [186-187] Media \pm DE	Constante de permeabilidad de agua tritiada ($\text{X}10^7 \text{ cm/min}$) [185,188] Media \pm DE
Humano	No Queratinizado	580 \pm 90	579 \pm 122
Perro	No Queratinizado	126 \pm 20	1045 \pm 37
Hamster	Queratinizado	115.3 \pm 11.5	No disponible
Cerdo	No Queratinizado	772 \pm 50	634 \pm 60
Conejo	Parcialmente Queratinizado	600	No disponible
Rata	Queratinizado	No disponible	No disponible
Mono	No Queratinizado	271 \pm 50	1025 \pm 154

Composición lipídica de la mucosa bucal de cerdo y humano.

Lípidos	Cerdo [189] (μg de lípidos por mg de tejido)	Cerdo [189] (%p/p) Mucosa bucal	Humano [190] (%p/p)
Colesterol	20.4	2.04	23.7
Esteres de colesterol	4.1	0.41	7.4
Sulfato de colesteril	6.1	0.61	-
Ácidos grasos	10.8	1.08	9.2
Ceramidas	0.8	0.08	0.4
Glicosilceramidas	15.9	1.59	13.8
Triacilglicéridos	4.7	0.47	-
Esfingomielina	16.3	1.63	7.7
Fosfatidilcolina	17.5	1.75	18.4
Fosfatidilserina	11.3	1.13	0.8
Fosfatidilinositol	6.0	0.6	1.8
Fodfatidiletanolamina	16.6	1.66	46.8
Fosfolípidos (Total)	130	13.0	45.5

ANEXO 4

ANOVA para la Variación de Masa con modelo reducido

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
X ₁ :CS	91401,1	1	91401,1	7,26	0,0309
X ₁ ²	22784,1	1	22784,1	1,81	0,2205
X ₁ X ₂	40951,6	1	40951,6	3,25	0,1143
Error total	88146,2	7	12592,3		
Total (corr.)	243283,0	10			

ANOVA para la Variación de Espesor con modelo reducido

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
X ₁ :CS	17443,7	1	17443,7	17,81	0,0056
X ₂ :PF-127	5664,22	1	5664,22	5,78	0,0529
X ₁ ²	6214,36	1	6214,36	6,35	0,0453
X ₁ X ₂	6400,0	1	6400,0	6,54	0,0431
Error total	5875,71	6	979,285		
Total (corr.)	41598,0	10			

ANOVA para el pH de la superficie.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
X ₁ :CS	0,000558837	1	0,000558837	0,03	0,8626
X ₂ :PF-127	0,00562499	1	0,00562499	0,33	0,5883
X ₁ ²	0,00529619	1	0,00529619	0,31	0,5991
X ₁ X ₂	0,0121	1	0,0121	0,72	0,4353
X ₂ ²	0,00185507	1	0,00185507	0,11	0,7534
Error total	0,0841788	5	0,0168358		
Total (corr.)	0,108273	10			

ANOVA para la Resistencia al Plegado con modelo reducido.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
X ₂ :PF-127	80,098	1	80,098	1,38	0,2792
X ₁ X ₂	729,0	1	729,0	12,52	0,0095
X ₂ ²	238,079	1	238,079	4,09	0,0829
Error total	407,55	7	58,2214		
Total (corr.)	1454,73	10			

ANOVA para la el Contenido de Humedad.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
X ₁ :CS	0,135678	1	0,135678	0,38	0,5639
X ₂ :PF-127	0,037715	1	0,037715	0,11	0,7579
X ₁ ²	0,265093	1	0,265093	0,75	0,4274
X ₁ X ₂	0,0064	1	0,0064	0,02	0,8985
X ²	0,0150732	1	0,0150732	0,04	0,8450
Error total	1,77858	5	0,355716		
Total (corr.)	2,22436	10			

ANOVA para Contenido Químico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
X ₁ :CS	1,52016	1	1,52016	2,71	0,1606
X ₂ :PF-127	0,00143718	1	0,00143718	0,00	0,9616
X ₁ ²	0,0266908	1	0,0266908	0,05	0,8359
X ₁ X ₂	0,002025	1	0,002025	0,00	0,9544
X ₂ ²	1,54908	1	1,54908	2,76	0,1574
Error total	2,80435	5	0,56087		
Total (corr.)	6,18389	10			

ANOVA para Fuerza de Mucoadhesión con modelo reducido.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
X ₁ :CS	107,135	1	107,135	118,01	0,0000
X ₁ ²	14,485	1	14,485	15,96	0,0040
Error total	7,2626	8	0,907825		
Total (corr.)	128,882	10			

ANOVA para el Tiempo de Mucoadhesión *ex vivo* con modelo reducido.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
X ₁ :CS	45789,0	1	45789,0	20,59	0,0027
X ₁ ²	4759,66	1	4759,66	2,14	0,1869
X ₁ X ₂	2721,71	1	2721,71	1,22	0,3052
Error total	15567,0	7	2223,86		
Total (corr.)	68837,5	10			

ANOVA para la constante de liberación (K_H) con modelo reducido.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
X ₁ :CS	5,97216	1	5,97216	8,85	0,0248
X ₂ :PF-127	11,4971	1	11,4971	17,03	0,0062
X ₁ ²	1,11459	1	1,11459	1,65	0,2461
X ₁ X ₂	6,5127	1	6,5127	9,65	0,0209
Error total	4,04968	6	0,674946		
Total (corr.)	29,1463	10			

ANOVA para Hinchamiento ($k \text{ min}^{-1}$) con modelo reducido.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
X ₂ :PF-27	91,3372	1	91,3372	28,56	0,0011
X ₁ X ₂	45,0241	1	45,0241	14,08	0,0071
X ₂ ²	36,7421	1	36,7421	11,49	0,0116
Error total	22,383	7	3,19757		
Total (corr.)	195,486	10			