



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

**“EVALUACIÓN *IN VITRO* Y *EX VIVO* DE GELES A  
BASE DE CARBOPOL<sup>®</sup> 974P NF EN VAGINA DE  
CERDA”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACEÚTICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A:**

**AGUILERA GONZÁLEZ JORGE MANUEL**

**ASESORA:**

**DRA. ELIZABETH PIÑÓN SEGUNDO**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

UNAM

SECRETARÍA GENERAL

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

Evaluación in vitro y ex vivo de geles a base de Carbopol® 974P NF en vagina de cerda.

Que presenta el pasante: Jorge Manuel Aguilera González

Con número de cuenta: 30523824-7 para obtener el Título de la carrera: Química Farmacéutico Biológica.

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 29 de Octubre de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Flora Adriana Ganem Rondero	
VOCAL	Dra. Elizabeth Piñón Segundo	
SECRETARIO	Dr. Roberto Díaz Torres	
1er. SUPLENTE	M. en C. Guadalupe Alvarez Avila	
2do. SUPLENTE	M. en C. Gabriela Rodríguez Patiño	

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

LMCF/lmcf/cga\*

**Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Sistemas Farmacéuticos de Liberación Modificada (L-13) de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la FES-Cuautitlán, UNAM.**

**Investigación realizada gracias al Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT-IN221717 y al PIAPI 1803, FES-Cuautitlán, UNAM.**

## — Agradecimientos —

### A Dios

Por darme la oportunidad de vivir a lo largo de todos estos años miles de experiencias que me han hecho crecer como persona. Por estar siempre a mi lado en todo momento y llenarme de bendiciones. Gracias por rodearme de buenas personas, por la maravillosa familia que me brindaste y los increíbles amigos que me has permitido conocer. Sobre todo gracias por motivarme cada día para nunca claudicar y permitirme concluir esta gran meta que una vez me propuse lograr.

### A mi mamá

Que desde niños siempre nos motivó a salir adelante, gracias por tus consejos, alegría y sobre todo tu inmenso amor. Gracias por siempre haber estado con nosotros en todo momento. Por inculcarnos principios y valores por ser la mejor mamá que Dios nos pudo haber obsequiado. Te has convertido en la estrella más brillante que ilumina mi camino desde el cielo. Este triunfo te lo dedico especialmente a ti.

### A mi papá

Por todo el apoyo que me has brindado a lo largo de toda mi vida. Por preocuparte cuidarme, por estar al pendiente de que nada me faltara y por inculcarme buenos valores desde pequeño. Gracias por enseñarme que si uno se propone algo no existe pretexto alguno para alcanzarlo. Gracias porque sin tus consejos y ejemplo de vida jamás hubiera llegado hasta donde estoy. He aprendido mucho de ti. Te debo mucho. Gracias infinitamente!

### A mis hermanos Martín y Aglae

Por estar con mígo en todo momento. Desde niños hemos compartido muchas experiencias que nos han hecho crecer. Gracias por sus consejos, su apoyo, su enorme cariño, y el tiempo que siempre me han brindado. De ustedes he aprendido a nunca rendirme ante nada, que todo es posible mientras haya compromiso, disciplina y perseverancia. Gracias por ser los mejores hermanos que la vida me pudo haber dado.

### A Marisol Gutiérrez

A ti mí querida Mari por ser una increíble y sensacional amiga en quien puedo confiar y contar en todo momento. Gracias enormemente por tus consejos, por compartir un sin fin de risas he increíbles experiencias y momentos agradables. Gracias por hacerme ver que lo maravilloso de una persona se encentra en su interior. Eres una increíble mujer que admiro mucho. Le doy gracias a la vida por haberme bendecido con tu amistad.

### **A Pablo Arturo Martínez Soriano**

A ti mi estimado Pablin por la gran increíble amistad que durante todos estos años me has brindado. Por todas tus asesorías especialmente en química orgánica y tu paciencia para enseñarme, por tus valiosos consejos, por el tiempo que me has obsequiado para escucharme cuando más lo he necesitado. Por las risas, los momentos de diversión y locura que hemos vivido en compañía de grandes amigos. Por demostrarme que los verdaderos amigos existen y que en este mundo aún hay gente buena en la cual puedes confiar. Te admiro mucho, eres una persona con un gran intelecto y un noble corazón. Gracias por apoyarme en cada momento y por ser mi mejor amigo.

### **A Diego Cruz Aguilar**

A ti Dieguin por tu valiosa y sensacional amistad, gracias enormemente por tus consejos y por tantos momentos increíbles y gratos que hemos vivido. Eres en verdad un gran ejemplo a seguir, en ti he visto compromiso, perseverancia, pasión y amor por lo que haces. Sin duda alguna te admiro por ser quien eres. Gracias por tu amistad que para mí es una de las mejores que la vida me pudo brindar.

### **A ustedes amigos**

A ustedes Adolfo Guerra, Mayra Ramírez, Fabiola Reyes y Joel, a quienes a lo largo de este proyecto de tesis compartimos muchas experiencias, risas y momentos gratos. Gracias por sus consejos, su apoyo y su increíble amistad. Gracias por el tiempo que compartimos en el laboratorio 13 de la UIM que hizo que este recorrido se hiciera más divertido y ameno. Aprendí muchas cosas de cada uno de ustedes sin duda alguna son unas increíbles personas y excelentes amigos.

A Cesar Hernández, Rebeca Mireles, Tere Real y Guille, por su valiosa amistad, su apoyo y consejos que me brindaron a lo largo de toda la carrera, gracias por haber compartido conmigo un sin fin de experiencias, risas y locuras. Son unos increíbles amigos.

### **A la Dra. Elizabeth Piñón Segundo**

Por darme la oportunidad de participar en su equipo de trabajo en el Laboratorio de Sistemas Farmacéuticos de Liberación Modificada (L-13) de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la FES Cuautitlán y desarrollar este proyecto de tesis del que aprendí mucho. Gracias por su apoyo, su valiosa amistad y consejos.

ÍNDICE GENERAL

1.	INTRODUCCIÓN .....	1
2.	MARCO TEÓRICO.....	2
2.1	Anatomía y fisiología de la vagina .....	2
2.1.2	Capa mucosa.....	3
2.1.3	Lámina propia.....	4
2.1.4	Capa muscular .....	4
2.1.5	Túnica adventicia.....	4
2.1.6	Flora vaginal.....	5
2.1.7	Microbiota vaginal.....	5
2.1.8	Epitelio vaginal.....	5
2.1.9	pH vaginal .....	6
2.1.10	Ciclo menstrual.....	7
2.2	Formas farmacéuticas de uso vaginal .....	8
2.2.1	Absorción vaginal.....	10
2.2.2	Mucoadhesión.....	11
2.2.3	Bioadhesión .....	12
2.2.4	Teorías de bioadhesión .....	13
2.2.5	Excipientes utilizados en geles vaginales.....	17
2.2.6	Métodos de evaluación de bioadhesión /mucoadhesión y permeabilidad.....	18
2.3	Gel.....	22
2.3.1	Definición de gel .....	22
2.3.2	Características de los geles .....	23
2.4	Carbopol® 974P NF .....	24
2.5	Metronidazol (MTZ).....	26

3.	OBJETIVOS.....	29
3.1	Objetivo general.....	29
3.2	Objetivos particulares .....	29
4.	PARTE EXPERIMENTAL.....	30
4.1	Polímero.....	30
4.2	Principio activo .....	30
4.3	Reactivos.....	30
4.4	Material y equipos .....	30
4.5	Material biológico.....	30
4.6	Metodología experimental .....	31
4.6.1	Preparación de geles vaginales .....	31
4.6.2	Caracterización .....	32
4.6.3	Cuantificación de metronidazol.....	34
4.6.4	Curva de calibración de metronidazol en F.V.S. ....	34
4.6.5	Especificidad en la cuantificación de metronidazol .....	35
4.7	Perfiles de liberación <i>in vitro</i> .....	36
4.8	Evaluación <i>ex vivo</i> .....	37
4.8.1	Fuerza de adhesión .....	37
4.8.2	Tiempo de residencia.....	39
4.8.3	Prueba de permeabilidad para gel al 2 % de Carbopol® 974P NF .....	40
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
5.1	Geles utilizados.....	42
5.2	Curva de calibración de metronidazol .....	46
5.3	Especificidad en la cuantificación de metronidazol.....	47
5.4	Cinética de liberación de metronidazol .....	48
5.5	Modelos matemáticos .....	51
5.6	Fuerza adhesiva.....	56
5.7	Tiempo de contacto.....	60



5.8	Cinética de permeación <i>in vitro</i> .....	63
6.	CONCLUSIONES .....	67
7.	REFERENCIAS .....	69
8.	ANEXOS.....	74

### Índice de Figuras

Figura 1.	Anatomía del aparato reproductor femenino.....	2
Figura 2.	Representación esquemática de la mucosa vaginal.....	3
Figura 3.	Representación esquemática de los pasos que se originan en la teoría de interpenetración .....	12
Figura 4.	Representación gráfica del ángulo de contacto y humectación de la superficie. ..	15
Figura 5.	Interpenetración de las cadenas de polímeros presentes en una unión bioadhesiva, a) polímero bioadhesivo, b) superficie mucosa .....	15
Figura 6.	Posibles modos de falla de una unión adhesiva .....	16
Figura 7.	Equipo utilizado para la prueba de tiempo de residencia para polímeros bioadhesivos .....	20
Figura 8.	Representación esquemática de analizador de textura utilizado para la prueba de fuerza adhesiva .....	21
Figura 9.	Representación esquemática de una celda tipo Franz. ....	22
Figura 10.	Estructura química general de los polímeros de Carbopol® .....	25
Figura 11.	Estructura química de metronidazol.....	27
Figura 12.	Medicamento marca Epaq™, indicado para el tratamiento de Vaginitis Bacteriana. ....	28
Figura 13.	Representación esquemática de la elaboración de gel a base Carbopol® 974P NF. ....	32
Figura 14.	Equipo utilizado para la medición de la viscosidad.....	33

Figura 15. Preparación de la solución de metronidazol para determinar la $\lambda$ máxima absorción.....	34
Figura 16. Representación esquemática de la preparación de la curva de calibración de metronidazol en F.V.S.....	35
Figura 17. Equipo y material empleado para prueba de perfiles de liberación .....	37
Figura 18. Equipo y tejido utilizado para fuerza de adhesión .....	38
Figura 19. Equipo utilizado para tiempo de residencia .....	39
Figura 20. Representación esquemática de celda de Franz .....	40
Figura 21. Equipo para prueba de permeabilidad.....	41

### Índice de Tablas

Tabla 1. Polímeros utilizados en geles hidrófilos para uso vaginal.....	17
Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas generales de polímeros Carbopol® .....	25
Tabla 3. Organismos susceptibles al metronidazol. ....	26
Tabla 4. Componentes para la formulación de geles a base de Carbopol® 974P NF con metronidazol.....	31
Tabla 5. Condiciones propuestas para medición de viscosidad.....	33
Tabla 6. Propiedades fisicoquímicas de los geles formulados con distinta concentración de Carbopol® 974P NF.....	43
Tabla 7. Análisis de varianza para viscosidad.....	45
Tabla 8. Valores estadísticos obtenidos de la curva de calibración de metronidazol.....	46
Tabla 9. Porcentaje liberado de metronidazol a partir de tres geles de concentración: 0.5 %, 1% y 2% de Carbopol® 974P NF y una solución de metronidazol (3 mg / mL de F.V.S) a diferentes tiempos.....	50
Tabla 10. Mecanismos de transporte y tipo de liberación de acuerdo al valor de “n” en el modelo semi-empírico de Peppas. ....	51

Tabla 11. Valores obtenidos de las constantes del modelo matemático de Peppas y Higuchi a partir de geles de 0.5 %, 1 % y 2 % de Carbopol® 974P NF.....	52
Tabla 12. Análisis de varianza para $n$ de Peppas.....	53
Tabla 13. Análisis de varianza para $K_H$ de Higuchi. ....	54
Tabla 14. Valores obtenidos de $r^2$ .....	55
Tabla 15. Parámetros para mediciones de fuerza adhesiva en un analizador de textura.....	57
Tabla 16. Parámetros utilizados para la evaluación de fuerza adhesiva de cuatro geles de 0.5, 1 y 2% de Carbopol® 974P NF.....	57
Tabla 17. Valores de fuerza de adhesión de geles de concentración: 0.5%, 1% y 2% de Carbopol® 974P NF.....	58
Tabla 18. Análisis de varianza para fuerza de adhesión.....	58
Tabla 19. Tiempos de residencia obtenidos de geles de concentración 0.5%, 1% y 2% de Carbopol® 974P NF.....	61
Tabla 20. Análisis de varianza para tiempo de residencia.....	61
Tabla A1. Fluido vaginal simulado a pH = 4.2 .....	74
Tabla A2. Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 0.5% Carbopol® 974P NF, de la réplica 1. ....	75
Tabla A3. Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 0.5% Carbopol® 974P NF, de la réplica 2. ....	76
Tabla A4. Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 0.5% Carbopol® 974P NF, de la réplica 3. ....	77
Tabla A5. Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 1% Carbopol® 974P NF, de la réplica 1. ....	79
Tabla A6. Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 1% Carbopol® 974P NF, de la réplica 2. ....	80

Tabla A7. Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 1% Carbopol® 974P NF, de la réplica 3. ....	81
Tabla A8. Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 2% Carbopol® 974P NF, de la réplica 1. ....	83
Tabla A9. Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 2% Carbopol® 974P NF, de la réplica 2. ....	84
Tabla A10. Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 2% Carbopol® 974P NF, de la réplica 3. ....	85
Tabla A11. Porcentaje liberado de metronidazol de una solución de 3 mg de metronidazol / mL de F.V.S., de la réplica 1. ....	87
Tabla A12. Porcentaje liberado de metronidazol de una solución de 3 mg de metronidazol / mL de F.V.S., de la réplica 2. ....	88
Tabla A13. Porcentaje liberado de metronidazol de una solución de 3 mg de metronidazol / mL de F.V.S., de la réplica 3. ....	89
Tabla A14. Curva de calibración de metronidazol en F.V.S. ....	92
Tabla A15. ANOVA para la curva de calibración de metronidazol en F.V.S. ....	92
Tabla A16. Curva de calibración de metronidazol en tejido vaginal de cerda. ....	93
Tabla A17. ANOVA para la curva de calibración de metronidazol en tejido vaginal de cerda. ....	93
Tabla A18. Curva de calibración de metronidazol en agua. ....	95
Tabla A19. ANOVA para la curva de calibración de metronidazol en agua. ....	95
Tabla A20. Valores obtenidos de la cinética de permeación de un gel con 2% de Carbopol® 974P NF, muestra 1. ....	97
Tabla A21. Valores obtenidos de la cinética de permeación de un gel con 2% de Carbopol® 974P NF, muestra 2. ....	97

Tabla A22. Valores obtenidos de la cinética de permeación de un gel con 2% de Carbopol® 974P NF, muestra 3. ....	98
Tabla A23. Valores obtenidos de la cinética de permeación de un gel con 2% de Carbopol® 974P NF, muestra 4. ....	98
Tabla A24. Valores obtenidos de la cinética de permeación de un gel con 2% de Carbopol® 974P NF, muestra 5. ....	99
Tabla A25. Valores obtenidos de la cinética de permeación de una solución de 40 mg de metronidazol / 10 mL de F.V.S, muestra 1.....	99
Tabla A26. Valores obtenidos de la cinética de permeación de una solución de 40 mg de metronidazol / 10 mL de F.V.S, muestra 2.....	100
Tabla A27. Valores obtenidos de la cinética de permeación de una solución de 40 mg de metronidazol / 10 mL de F.V.S, muestra 3.....	100
Tabla A28. Valores obtenidos de la cinética de permeación de una solución de 40 mg de metronidazol / 10 mL de F.V.S, muestra 4.....	101
Tabla A29. Valores obtenidos de la cinética de permeación de una solución de 40 mg de metronidazol / 10 mL de F.V.S, muestra 5.....	101
Tabla A30. Cálculos para obtener el % de recobro de un gel de concentración de 2% de Carbopol® 974P NF.....	102
Tabla A31. Cálculos para obtener el % de recobro de una solución de concentración igual a 40 mg de metronidazol / mL F.V.S. ....	102
Tabla A32. Fuerza de adhesión obtenida de un gel de concentración de 0.5% de Carbopol® 974P NF.....	103
Tabla A33. Fuerza de adhesión obtenida de un gel de concentración de 1% de Carbopol® 974P NF.....	103
Tabla A34. Fuerza de adhesión obtenida de un gel de concentración de 2% de Carbopol® 974P NF.....	104
Tabla A35. Fuerza de adhesión obtenida de un gel maraca comercial Epaq™ de concentración de 2% de Carbopol® 974P NF.....	104

Índice de Gráficas

Gráfica 1 . Viscosidades obtenidas a partir de tres geles de concentración 0.5%, 1% y 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF. .... 44

Gráfica 2. Medias e intervalos límites de la desviación estándar al 95% para viscosidad. ... 45

Gráfica 3. Curva de calibración de metronidazol. .... 46

Gráfica 4. Barridos espectrofotométricos de solución de metronidazol con F.V.S..... 47

Gráfica 5. Barridos espectrofotométricos de solución de gel diluido en F.V.S. .... 48

Gráfica 6. Perfil de liberación *in vitro* de metronidazol a distintos tiempos a partir de geles con 0.5%, 1% y 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF y una solución de 3 mg de metronidazol / 1 mL de F.V.S. n = 3..... 49

Gráfica 7. Medias e intervalo límites de la desviación estándar al 95% para *n*. .... 53

Gráfica 8. Medias e intervalo límites de la desviación estándar al 95% para  $K_H$ ..... 54

Gráfica 9. Medias e intervalo límites de la desviación estándar al 95% para fuerza de adhesión. .... 59

Gráfica 10. Medias e intervalo límites de la desviación estándar al 95% para tiempo de residencia. .... 62

Gráfica 11. Porcentaje total de MTZ permeado a partir de un gel de 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF y de una solución de 4 mg de metronidazol/ mL de F.V.S. .... 65

Gráfica 12. Cinética de permeación *in vitro* de metronidazol a través de tejido vaginal de cerda, n=6. .... 66

Gráfica 13. mg de metronidazol por unidad de área con respecto al tiempo, n = 5. .... 66

Gráfica 14. Porcentaje de MTZ retenido y permeado del tejido vaginal en los estudios de liberación *in vitro*. .... 67

Gráfica A1. Modelo de Peppas empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 0.5% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF. .... 78

Gráfica A2. Modelo de Higuchi empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 0.5% de Carbopol <sup>®</sup> 974P NF. ....	78
Gráfica A3. Modelo de Peppas empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 1% de Carbopol <sup>®</sup> 974P NF. ....	82
Gráfica A4. Modelo de Higuchi empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 1% de Carbopol <sup>®</sup> 974P NF. ....	82
Gráfica A5. Modelo de Peppas empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 2% de Carbopol <sup>®</sup> 974P NF. ....	86
Gráfica A6. Modelo de Higuchi empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 2% de Carbopol <sup>®</sup> 974P NF. ....	86
Gráfica A7. Modelo de Peppas empleado sobre la liberación de una solución de metronidazol de 3 mg / mL de F.V.S. ....	90
Gráfica A8. Modelo de Higuchi empleado sobre la liberación de metronidazol de una solución de metronidazol de 3 mg / mL de F.V.S. ....	90
Gráfica A9. Curva de calibración de metronidazol en F.V.S. ....	91
Gráfica A10. Curva de calibración de metronidazol más tejido vaginal de cerda .....	93
Gráfica A11. Curva de calibración de metronidazol en agua.....	95

## 1. INTRODUCCIÓN

La vagina es uno de los órganos de mayor importancia dentro del aparato reproductor femenino. Es un órgano tubular y fibromuscular situado entre la vejiga y el recto, con una longitud aproximada de 10 cm. Cumple con diversas funciones, entre ellas ser cavidad para el pene durante la relación sexual o coito, de igual manera es un conducto para el flujo menstrual y conforma la parte inferior del canal para el parto.

La vagina está expuesta a distintas infecciones vaginales, las causas más comunes son: infecciones por hongos, vaginosis bacteriana y tricomoniasis. Cualquiera mujer en su etapa adulta y hasta una niña están en riesgo de sufrir, por lo menos, un tipo de infección vaginal. Estas infecciones tienen tratamientos que varían según el tipo de infección y la gravedad. En el mercado existen diversas formas farmacéuticas diseñadas comúnmente y empleadas para la prevención, cuidado y tratamiento de infecciones vaginales como lo son: soluciones, suspensiones, geles, cremas, ungüentos, espumas, tabletas y supositorios, formuladas con diversos principios activos.

En las formas farmacéuticas empleadas para tratar infecciones vaginales se ha observado que el tiempo de residencia es normalmente muy corto debido a la acción de auto limpieza de la vagina. Por esto, en años recientes se investigan y se ponen a prueba distintos materiales con propiedades bioadhesivas para el desarrollo de nuevos medicamentos que prolonguen el tiempo de contacto con el tejido vaginal. Los geles elaborados para la administración de medicamentos vaginales son diseñados con esta propiedad para que una vez que se encuentren en la vagina aumenten el tiempo de residencia en ella y se logren mayores beneficios.

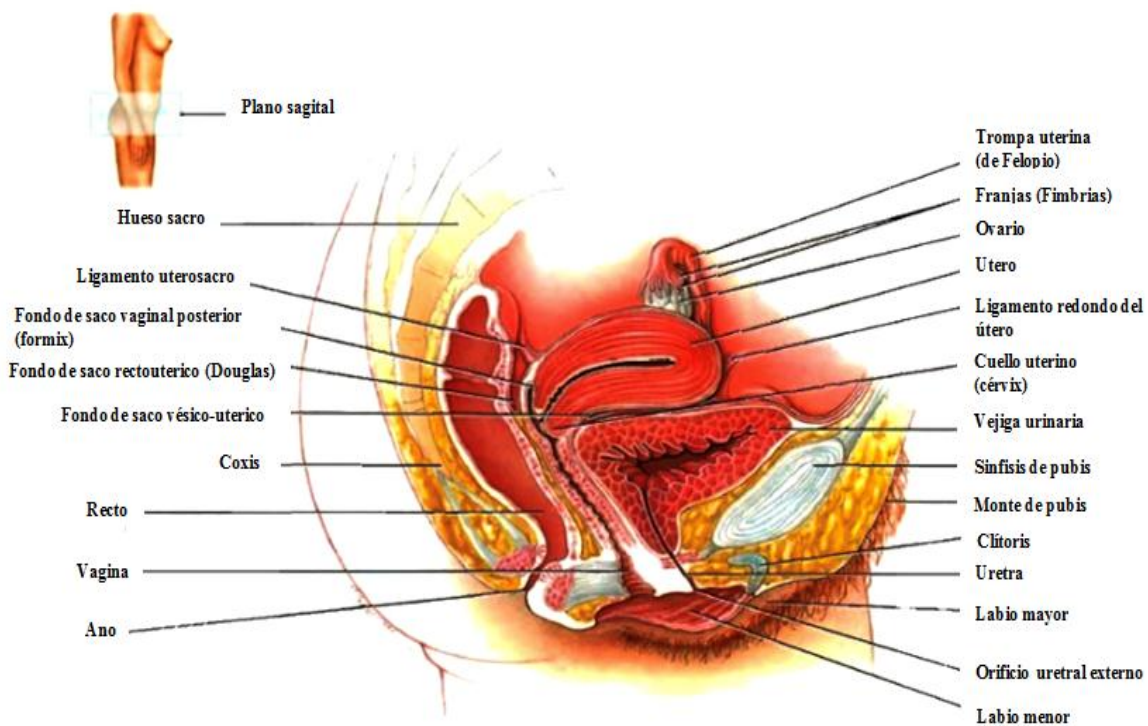
En este proyecto experimental se evaluaron tres geles con diferente concentración de Carbopol® 974P NF, mediante métodos *in vitro* y *ex vivo*, para comprobar su factibilidad de uso en la administración vaginal de metronidazol.



## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Anatomía y fisiología de la vagina

Uno de los órganos femeninos más estudiados al paso de los años ha sido la vagina por su importancia dentro del aparato reproductor femenino. Sabemos a ciencia cierta que la vagina es un órgano tubular y fibromuscular que se encuentra entre los 7 y 10 cm de largo, tiene más de 4 cm de ancho y 150 – 200  $\mu\text{m}$  de espesor (figura 1) (Machado et al., 2015). Alrededor de la porción intravaginal del cuello uterino se forman los fondos de saco de la vagina constituidos por un fondo de saco posterior, más profundo, otro anterior, y dos laterales. La pared posterior de la vagina es más larga, unos 11 cm, mientras que la anterior mide unos 8 cm (Perea, 2010).

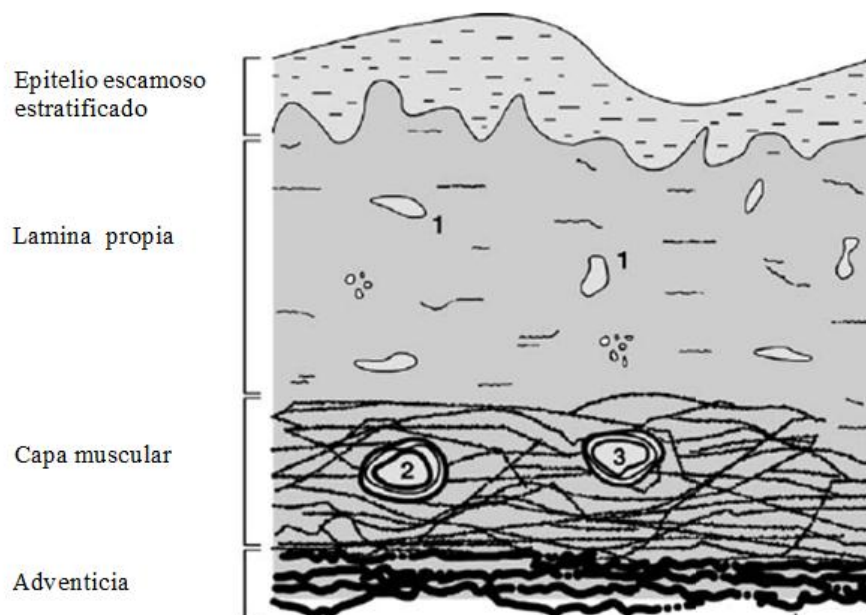


**Figura 1.** Anatomía del aparato reproductor femenino (Tortora, 2013).

Entre las funciones que desempeña la vagina se encuentran: la utilidad como un conducto para el flujo menstrual, sirve como cavidad para el pene durante la relación sexual o coito y conforma la parte inferior del canal para el parto (Tortora, 2013).

La mucosa de la vagina tiene una apariencia rugosa y forma pequeños pliegues de 2 a 5 mm de espesor. Se sabe que la vagina normal no cuenta con glándulas, la secreción vaginal es una mezcla de fluidos de varias fuentes. A este revestimiento de moco se le atribuyen varias funciones fisiológicas importantes, adquiriendo un papel en la absorción o acción del fármaco (das Neves, & Bahia, 2006). Koeppen & Staton y otros autores describen la mucosa como un tejido compuesto de epitelio escamoso estratificado no queratinizado que cumple la función de soportar la fricción a la que se somete durante el coito. La mucosa cuenta también con tejido conectivo areolar dispuesto en una sucesión de pliegues transversos llamadas arrugas (Tortora, 2013).

La pared vaginal se compone de varias capas celulares (figura 2): epitelio escamoso estratificado no queratinizado, lámina propia, capa muscular y túnica adventicia que cubre sólo los segmentos proximales (das Neves & Bahia, 2006).



**Figura 2.** Representación esquemática de la mucosa vaginal: 1; vasos capilares, 2; arterias, 3; venas (Modificado de das Neves & Bahia, 2006).

### 2.1.2 Capa mucosa

La mucosa tiene un aspecto translúcido característico y de secreción viscosa. Es secretada por las células caliciformes epiteliales y mantiene a la membrana de la mucosa húmeda. Su

grosor varía entre 50 y 450 µm en los humanos. Dependiendo de la edad, salud y origen, la mucosa se compone por lo siguiente: agua 95%, glicoproteínas y lípidos 0.5 – 5%, sales minerales 1%, proteínas libres 0.5 – 1% (Edsman & Hägerström, 2005).

Su viscosidad se debe a las propiedades de lubricación de las secreciones de moco. Esta forma una capa delgada de gel adherida a la superficie epitelial de la mucosa. Las propiedades de cohesión y firmeza le permiten unirse a la superficie celular epitelial como un gel de capa continua (Edsman & Hägerström, 2005). Cabe mencionar que la mucosa vaginal contiene grandes reservas de glucógeno, cuya descomposición produce ácidos orgánicos (Tortora, 2013). Ésta también posee la capacidad de ser una barrera de difusión para las moléculas y depende de las características fisicoquímicas del ingrediente activo, tales como: la carga molecular, radio de hidratación y peso molecular, estas características influyen, en gran medida, en los procesos de difusión a través de la capa de mucosa (Edsman & Hägerström, 2005).

### **2.1.3 Lámina propia**

La lámina propia es una de las capas celulares de la vagina, está constituida por tejido conectivo rico en sangre y vasos linfáticos que drenan a la vena ilíaca interna. Esto explica por qué los productos absorbidos evitan la circulación hepática como paso inicial. Se estima que hay un remplazo de células vaginales que va de entre 10 – 15 capas en una semana (Machado et al., 2015).

### **2.1.4 Capa muscular**

Esta capa está constituida principalmente de un revestimiento circular externo y otro longitudinal interno de musculo liso, el cual se estira de manera considerable para dar cavidad al pene durante el coito y al feto durante el nacimiento (Tortora, 2013).

### **2.1.5 Túnica adventicia**

La adventicia es la capa superficial de la vagina que está formada por tejido conectivo areolar, que fija la vagina a órganos adyacentes, como la uretra y la vejiga en el plano anterior, y el recto y conducto anal en el posterior (Tortora, 2013).

### **2.1.6 Flora vaginal**

Hay distintos tipos de microorganismos que representan a la flora vaginal pero los principales son los que pertenecen al género *Lactobacillus spp.*, que son un género de bacterias Gram positivas anaerobias, denominadas así debido a que convierten a la lactosa y algunos monosacáridos en ácido láctico. A estos se les atribuye que el pH sea relativamente bajo en el ambiente vaginal (Caramella et al., 2015).

En la menopausia ocurren cambios muy importantes, el epitelio se vuelve delgado y atrófico. Surgen cambios en los niveles hormonales que son responsables de la disminución de los fluidos vaginales y la concentración de glucógeno, de modo que el ambiente se vuelve hostil a los lactobacilos protectores responsables de la producción de ácido láctico y como consecuencia, el pH vaginal aumenta. Por lo tanto, los sistemas de administración de fármacos se enfrentan a un entorno que puede variar dependiendo de los cambios hormonales, relaciones sexuales o patologías, con posibles consecuencias en su rendimiento (Caramella et al., 2015).

### **2.1.7 Microbiota vaginal**

La microbiota vaginal desempeña un papel importante como protectora de la mucosa frente al establecimiento de microorganismos patógenos utilizando tres mecanismos: 1) adherencia específica al epitelio, que interfiere con su implantación, 2) producción de compuestos antimicrobianos y 3) coagregación con patógenos, los cuales permiten potenciar su efecto microbiocida. Desempeña un papel muy importante en el bienestar del tracto reproductivo femenino. Por otro lado, el epitelio escamoso estratificado muda continuamente, mejorando así la barrera física ante infecciones y proporciona una fuente de glucógeno para promover el crecimiento de los lactobacilos (Ensign et al., 2014).

### **2.1.8 Epitelio vaginal**

El epitelio vaginal es la capa de tejido que cubre las paredes internas de la cavidad vaginal. Está constituido por una capa de células epiteliales y mantiene un espesor de 200 - 300 micras que depende de la edad y los niveles hormonales (Caramella et al., 2015).

La superficie epitelial vaginal está recubierta por una delgada capa de líquido que incluye secreciones endometriales, cervicales y vestibulares, residuos de orina y productos de autólisis celular y cantidades variables de trasudado vaginal (Machado et al., 2015).

Estudios diversos sugieren una producción de fluido vaginal de alrededor de 6 mL / día, y un volumen presente en la vagina de aproximadamente 0.5 – 0.75 mL. Las células epiteliales de la vagina producen grandes cantidades de glucógeno que es un sustrato de procesos microbianos y enzimáticos que resultan en la producción de ácido láctico, cuya concentración es estimada entre 3 y 5 g / L, este ayuda a mantener el pH vaginal ligeramente ácido en un rango de 4.4 – 5.0. La acidez vaginal es una barrera que ayuda a mantener el órgano libre de infecciones, pero también resulta hostil a los espermatozoides (Caramella et al., 2015).

### **2.1.9 pH vaginal**

El pH vaginal indica la concentración de iones hidronio presentes en la mucosa vaginal, conociendo así el grado de acidez o alcalinidad que presenta en un determinado momento. Este tiene la característica de tener un nivel ácido que va entre (3.5 – 4.5) en las mujeres sanas durante la edad reproductiva. Puede variar su estado en: las etapas del ciclo menstrual, la frecuencia del coito, la cantidad de moco cervical presente en la vagina, la cantidad de trasudado vaginal y, no obstante, de igual manera varía a lo largo de la vagina, siendo más alto cerca del cuello uterino y más bajo en el fórnix anterior. Las bacterias, principalmente *Lactobacillus spp.*, son encargadas del mantenimiento del pH debido a que los microorganismos metabolizan al ácido láctico y disacáridos que resultan de la ruptura autolítica de células vaginales (Machado et al., 2015).

En cuanto a la eficacia de los sistemas de administración de fármacos el pH vaginal es un parámetro importante, ya que se presentan cambios en la fisiología vaginal de las mujeres posmenopáusicas, como la atrofia progresiva del epitelio vaginal, elevación del pH vaginal (6.0 – 7.5) y disminución de la cantidad de secreciones vaginales. Por estos motivos pueden cambiar de gran manera el rendimiento de los sistemas de administración de fármacos (das Neves & Bahia, 2006).

### 2.1.10 Ciclo menstrual

Las mujeres suelen producir gametos de forma cíclica y mensual cada 28 días en un intervalo normalmente entre 24 y 35 días. Estos periodos son conocidos como ciclo menstrual ya que comienzan con un periodo entre 3 y 7 días en donde se produce sangrado uterino llamado menstruación. Para que se presente este ciclo menstrual, durante el mes se presenta un aumento y disminución de hormonas (Silverthorn, 2009).

El ciclo está compuesto de tres fases: folicular, ovulatoria y lútea. En la fase 1 conocida como folicular, crecen los folículos del ovario, con una duración entre 10 días y 3 semanas. Cuando se presenta una maduración de uno o dos folículos, el ovario libera el o los ovocitos durante la ovulación (fase 2). En la fase 3 que es considerada lútea por su nombre que proviene de la transformación del folículo roto en un cuerpo lúteo, son secretadas hormonas por el cuerpo lúteo, éstas continúan los preparativos en caso de que se produzca un embarazo (Silverthorn, 2009).

En las diferentes fases del ciclo menstrual, el moco presenta distintas características que suelen ser variables. En la primera fase, cuando las condiciones son las apropiadas y la exposición del estrógeno predomina, el moco suele ser delgado y fácilmente penetrable; en cambio, en la segunda parte del ciclo se produce en menor cantidad y es más grueso debido a la progesterona. Por otro lado, los cambios hormonales influyen en cierta medida en la producción de moco con una tasa mayor principalmente en la fase ovulatoria (Caramella et al., 2015).

Las características del fluido vaginal pueden cambiar según la estimulación sexual y aumentar considerablemente su volumen. Se presentan diversos cambios de interés durante la menopausia que es el tiempo en la vida de una mujer en que cesa la menstruación. Este es un cambio corporal normal y natural que casi siempre ocurre entre los 45 y 55 años de edad. En esta etapa, es cuando se considera que el epitelio se vuelve delgado y atrófico. Los cambios hormonales son los responsables de la disminución de fluido vaginal y la concentración de glucógeno, por esta misma situación el medio ambiente se vuelve hostil a lactobacilos que son responsables de la producción de ácido láctico (Koeppen & Staton, 2009)

## 2.2 Formas farmacéuticas de uso vaginal

Las formas farmacéuticas que se diseñan comúnmente y que son empleadas para la prevención, cuidado y tratamiento de infecciones vaginales han sido: soluciones, suspensiones, geles, cremas, ungüentos, espumas, tabletas y supositorios. De tales formulaciones se ha observado que el tiempo de residencia es normalmente muy corto debido a la temperatura corporal, pH, ciclo menstrual y acción de auto limpieza de la vagina. El mecanismo de permeación para la mayoría de estas sustancias es la difusión simple, donde las sustancias con propiedades hidrófobas se absorben preferentemente por vía intracelular, mientras que las hidrófilas son preferentemente absorbidas por los poros presentes en la mucosa vaginal (das Neves & Bahia, 2006).

Para poder elegir una forma de administración vaginal deben de observarse ciertas cualidades que tienen impacto significativo como: el estado reproductivo y el ciclo menstrual. En estas etapas se han encontrado diversas causas que pueden modificar la absorción de los fármacos (Ensign et al., 2014).

Los sistemas vaginales de administración de fármacos deben de cumplir con distintos requerimientos de uso como: ser discretos, de aplicación reversible, fáciles de aplicar para el paciente, rentables, ampliamente disponibles y seguros para la administración continua. Es muy importante que estos sistemas permitan la autoadministración, con la mínima interferencia del funcionamiento corporal y la vida diaria, y obtener una alta biodisponibilidad con otros fármacos (das Neves, & Bahia, 2006). Para que estos sistemas de administración cumplan con su función se deben de respetar las propiedades biológicas de la vagina tales como su ambiente y los microorganismos que habitan en ella (Caramella et al., 2015).

Las diversas ventajas que presenta la administración por vía vaginal van desde: evitar el primer paso hepático del metabolismo, la disminución de los efectos secundarios hepáticos de fármacos tales como esteroides y la supresión del dolor, el daño tisular, la reducción de la incidencia y la gravedad de los efectos secundarios gastrointestinales; hasta la probable infección observada con las vías parentales (das Neves & Bahia, 2006).

Como ya fue mencionado, los sistemas vaginales como suspensiones, geles, cremas, ungüentos, espumas, tabletas, tampones y supositorios se usan comúnmente en la administración de fármacos. Tales formulaciones presentan diversas limitaciones como falta de retención y causan incomodidad a los usuarios. Para contrarrestar estas limitaciones, hoy en día se utilizan distintos polímeros con propiedades bioadhesivas que son incorporados a las formulaciones vaginales para que se adhieran con mayor facilidad a la mucosa vaginal durante un prolongado tiempo. Los sistemas de administración vaginal bioadhesivos presentan diferentes ventajas si los comparamos con las formas de dosificación convencionales, éstas son localizadas con mayor facilidad en la región de aplicación, mejoran la biodisponibilidad de los fármacos, proporcionan un contacto íntimo de la formulación con la superficie de absorción subyacente y reducen los efectos secundarios debido a la administración del fármaco (Gafiuanu et al., 2016).

Los geles bioadhesivos a diferencia de otros dispositivos de administración de fármacos presentan varias ventajas sobre ellos, tales como: mayor biodisponibilidad, seguridad, versatilidad y ahorro económico (das Neves & Bahia, 2006). Se utilizan para la administración tópica de algunos fármacos antibacterianos. Y deben de cumplir con distintas cualidades como: de fácil uso, no tóxicos y no irritantes para la membrana mucosa. (Gafiuanu et al., 2016).

Hoy en día existen diversos principios activos para tratar infecciones vaginales como lo son: sertaconazol, clotrimazol, metronidazol, itraconazol y miconazol, entre otros. El más utilizado en formulaciones de geles vaginales es el metronidazol por su excelente solubilidad en agua y bajo costo. En el mercado existen medicamentos que contienen este principio activo, por ejemplo: Epaq<sup>TM</sup> que es un gel indicado en el tratamiento de vaginosis bacteriana con metronidazol al 0.75%, Metrogel<sup>MR</sup> gel utilizado para tratar las infecciones vaginales causadas por bacterias, contiene 0.75% de metronidazol. Femin<sup>®</sup> es un gel antibacteriano sistémico, antiprotozoario y microbicida; activo contra la mayoría de las bacterias anaerobias obligadas y protozoos, contiene metronidazol al 0.75%, entre otros (Diccionario de Especialidades Farmacéuticas PLM).



### 2.2.1 Absorción vaginal

Existen dos pasos clave que hacen que un fármaco se absorba a través de la vagina y estos son: la disolución del fármaco en el fluido vaginal y la penetración epitelial. Los factores asociados con la fisiología vaginal y perfil de la formulación también influirán de cierta manera para obtener éxito en la entrega de fármacos. La absorción de los fármacos en la vagina se puede originar por un proceso pasivo o activo (Machado et al., 2015).

Se ha demostrado que la mayoría de las sustancias activas penetran en la vagina a través de mecanismos de difusión, esto según estudios realizados sobre permeación vaginal de fármacos. Los esteroides son sustancias lipofílicas que son absorbidas principalmente por vía transcelular; por otro lado, los fármacos hidrofílicos siguen un mecanismo de difusión paracelular. El peso molecular juega un papel muy importante en la absorción de fármacos, se sabe que los fármacos lipófilos de peso molecular bajo son más propensos a ser mejor absorbidos que las moléculas más grandes o incluso los fármacos hidrófilos. Existen diversos factores que pueden alterar la absorción del fármaco en la vagina, como la cantidad de líquido vaginal y su composición, afectando en cierta medida la disolución del fármaco antes del transporte. Otro factor de alteración puede ser si se presenta un contenido excesivo de fluidos, este promoverá un "lavado" que originará una deficiente retención del fármaco, aunque la bioadhesión aumentará en presencia de moco cervical (Machado et al., 2015).

Las hormonas sexuales como los estrógenos también influyen en la farmacocinética del fármaco a través de la vagina debido a que presentan una estimulación en la proliferación de células epiteliales. La absorción de los fármacos y excipientes dependen de sus características fisicoquímicas tanto la ionización, el peso molecular, la carga superficial y la naturaleza química de las moléculas representan las propiedades más relevantes que determinan su capacidad para permear tanto las membranas apicales como las basolaterales de las células epiteliales (Machado et al., 2015).

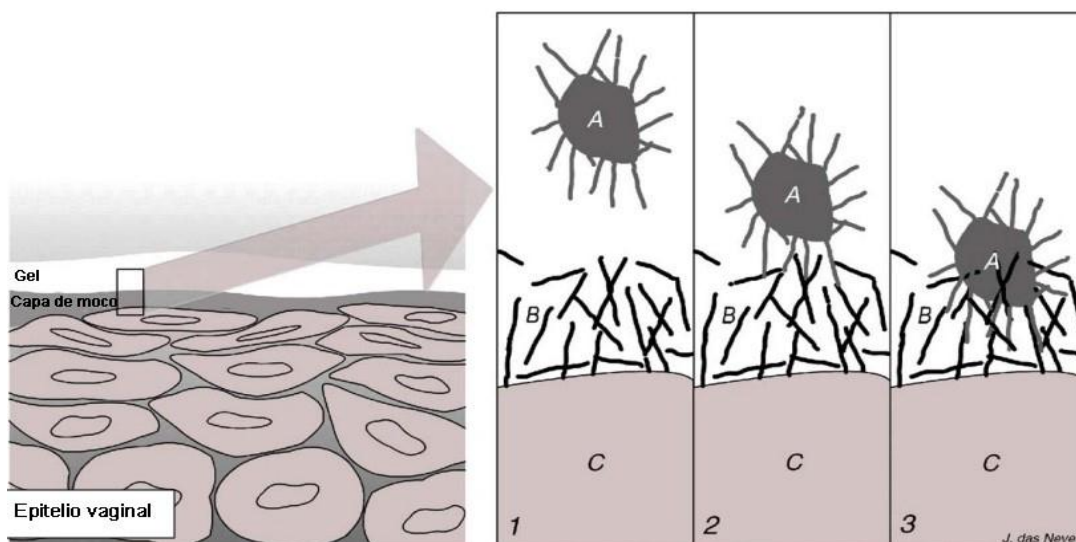
### 2.2.2 Mucoadhesión

La mucoadhesión se define comúnmente como la adhesión entre dos materiales, al menos uno de los cuales es una superficie mucosa. A las correspondientes formas de administración que se fijan a las mucosas se les denominan mucoadhesivas, siendo su objetivo, el mantenerse fijadas en el lugar donde se realiza la liberación y/o absorción del fármaco. Es originada por una interacción atractiva que implica una forma de dosificación farmacéutica y secreción de moco o una membrana mucosa. Los mecanismos que están relacionados con este fenómeno de mucoadhesión implican en primer lugar una etapa de contacto, en la que la hidratación, humectación y esparcimiento son las etapas más importantes, y posteriormente una etapa de consolidación, que implica el refuerzo de la articulación polímero-mucina, gracias a la interpenetración de las cadenas poliméricas en el moco. Cabe resaltar que esta propiedad adhesiva imparte propiedades a la formulación como: aumento en la biodisponibilidad debido a que prolonga un mayor contacto del fármaco con la superficie vaginal e incrementa los periodos de residencia. Para proporcionar el fenómeno de mucoadhesión a una formulación se emplean excipientes poliméricos (Caramella et al., 2015).

Para ser estudiada la fuerza de mucoadhesión es necesario utilizar diversos métodos tanto *in vitro* como *ex vivo*. Se ha observado en algunos estudios la correlación que existe entre la reología de un gel y la mucoadhesión, por ello se recomienda que los estudios reológicos de los geles vaginales se realicen sobre mezclas de formulaciones y moco, lo que proporcionaría información valiosa sobre la relación que existe entre la interacción de estos dos fluidos. En la formulación del gel se puede dar el caso de que surja un sinergismo reológico dentro de una cierta concentración de algunos polímeros, lo que puede dar lugar a un efecto de refuerzo de gel cuando se mezcla con moco (das Neves & Bahia, 2006).

Se ha tratado de explicar, en términos generales el fenómeno de mucoadhesión pero es imposible que una sola teoría pueda explicar este fenómeno originado en todas las diferentes formulaciones farmacéuticas mucoadhesivas. Sin embargo, muchas teorías relacionadas pueden fusionarse y dar origen a una imagen que describe este proceso. Existen diversas teorías, pero una de las más aceptadas es la teoría de interpenetración la cual está en investigación sustancial. Esta teoría puede resumirse en dos etapas: creación de

un contacto íntimo entre la forma de dosificación y la mucosa y la interpenetración de los componentes de ambos sistemas como lo muestra la figura 3 (das Neves & Bahia, 2006).



**Figura 3.** Representación esquemática de los pasos que se originan en la teoría de interpenetración: 1) Cadenas de polímero que se aproximan a la capa de moco. 2) Interpenetración de cadenas de polímero y mucina. 3) Consolidación de las fuerzas de adhesión. A: partículas de polímero, B: capa de moco, C: recubrimiento de células epiteliales (Modificado de das Neves & Bahia, 2006).

### 2.2.3 Bioadhesión

La bioadhesión se puede describir como el estado que poseen dos materiales, uno de los cuales es de naturaleza biológica, manteniéndose unidos durante tiempos muy prolongados debido a fuerzas interfaciales (das Neves & Bahia, 2006). En el caso de la administración de fármacos este término se usa para describir la adhesión entre los polímeros, ya sean sintéticos o naturales. El fenómeno de bioadhesión es originado por medio de interrelaciones entre algunas agrupaciones químicas concretas de los polímeros y presencia de tejidos biológicos (Edsman & Hägerström, 2005). Hay diversos tipos de polímeros que son utilizados en la industria farmacéutica, los polímeros naturales poseen la cualidad de tener grupos funcionales hidrófilos que pueden interactuar con moléculas de mucina presentes en el moco que conducen a enlaces bioadhesivos (das Neves & Bahia, 2006).

La bioadhesión en la industria farmacéutica es de gran importancia debido a sus diversas características y aplicaciones que presenta. Un ejemplo de esto es su utilización en

formulaciones con liberaciones controladas, modificadas y prolongadas (Edsman & Hägerström, 2005). Los sistemas de administración vaginal bioadhesivos presentan diversas ventajas si son comparadas con las formas de dosificación convencionales como en el mejoramiento de la biodisponibilidad, reducción de efectos secundarios y de fácil administración (Gafuanu et al., 2016).

#### 2.2.4 Teorías de bioadhesión

Hay distintas teorías que explican los mecanismos de bioadhesión a partir del comportamiento de los materiales en la interfase. La ciencia ha interpretado las teorías aceptadas para adhesión, asimiladas al comportamiento de las interfases polímero-sustrato biológico; así, para estudiarlo pueden clasificarse de acuerdo con el mecanismo químico o físico de la interacción como: teoría electrónica, teoría de absorción, teoría de humectación, teoría de difusión y teoría de fractura. Estas teorías se describen brevemente a continuación.

- Teoría electrónica

Esta teoría está fundamentada en que el sistema adhesivo-sustrato se comporta como un condensador, que se carga por contacto entre los dos materiales. La separación de las partes, como una interfase de ruptura, da lugar a una separación de carga y a una diferencia de potencial que aumenta hasta que ocurre la descarga. En la formación de la doble capa, la energía  $A_c$  es necesaria para separar la interfase dada por:

$$A_c = \frac{h_c \epsilon_d}{8\pi} \left( \frac{dV_c}{dh_c} \right)^2$$

Donde  $V_c$  es el potencial de descarga, en la distancia  $h_c$  y  $\epsilon_d$  es la constante dieléctrica. La interpretación en el comportamiento bioadhesivo establece que tanto el polímero como el tejido sustrato presentan diferente estructura electrónica, la cual da lugar a una doble capa con carga eléctrica localizada en la interfase entre el bioadhesivo y el tejido. Las fuerzas de atracción electrostática se deben a la transferencia de electrones, entre las glicoproteínas de la mucina del tejido biológico y el material bioadhesivo, lo cual induce atracciones electrostáticas entre las dos superficies (Vallejo & Perilla, 2008).

- Teoría de adsorción

También conocida como teoría de adsorción termodinámica, explica la bioadhesión en términos del desarrollo de fuerzas superficiales que generan uniones químicas entre el polímero y el sustrato como enlaces covalentes y enlaces iónicos o fuerzas débiles como puentes de hidrógeno y del tipo Van der Waals. De acuerdo con este modelo, la adhesión se produce cuando el adhesivo moja al sustrato. Para cuantificar esta capacidad se miden los ángulos de contacto ( $\theta$ ) de diversos líquidos patrón sobre la superficie del sustrato. A partir de los valores de ángulo de contacto se puede calcular la energía de superficie ( $W_A$ ) del sustrato (Vallejo & Perilla, 2008).

$$W_A = Y_1(1 + \cos\theta)$$

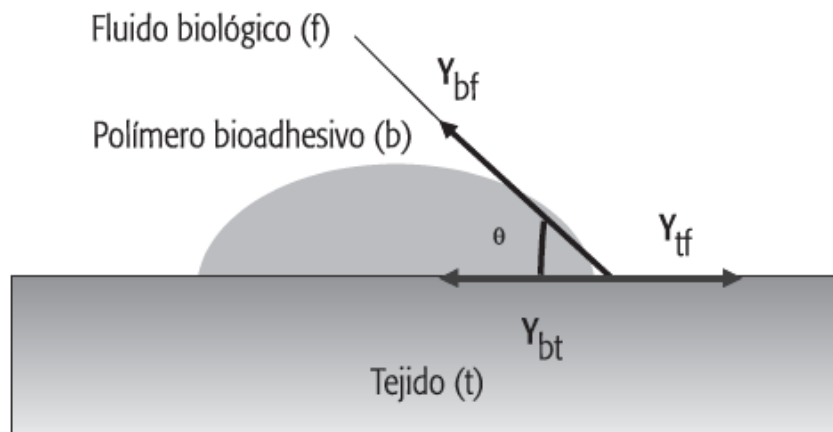
- Teoría de humectación

Ha sido la teoría más aceptada para explicar el comportamiento de bioadhesivos líquidos y para analizar la bioadhesión en términos de la capacidad de un material para distribuirse sobre una superficie biológica. La capacidad bioadhesiva de un polímero es función de su coeficiente de dispersión, para desarrollar contacto con el sustrato biológico.

Mediante la ecuación de Young se relacionan las tensiones en las tres fases de contacto y el ángulo formado por el líquido bioadhesivo, (subíndice  $b$ ) con el tejido que actúa como sustrato (subíndice  $t$ ), en un ambiente fisiológico (subíndice  $f$ ). Las tensiones en las tres fases de contacto se denotan  $bf$ , en el punto líquido / vapor  $bt$  en el punto sólido / líquido y  $tf$  en el punto sólido / vapor (figura 4). La siguiente ecuación de Young tiene la forma:

$$Y_{tf} = Y_{bt} + Y_{bf} \cos \theta$$

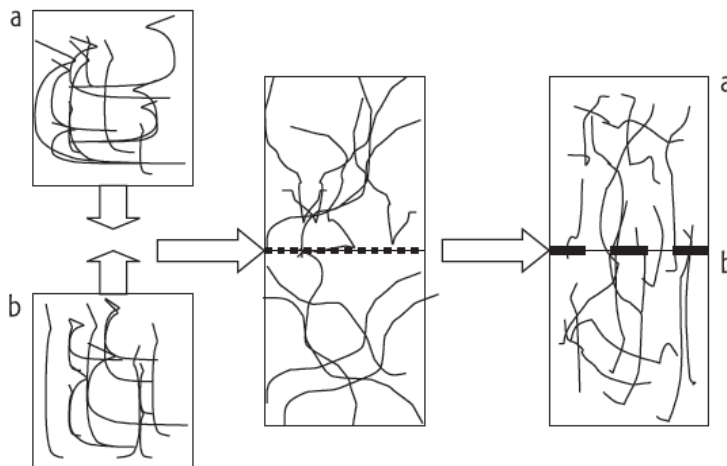
Cuando el ángulo  $\theta$  es mayor que  $0^\circ$ , el líquido no se distribuye sobre la superficie, pero cuando es igual a  $0^\circ$ , el líquido humecta al sólido completamente y de manera espontánea se esparce sobre la superficie a una velocidad que depende de factores como la viscosidad del líquido y la rugosidad de la superficie sólida, figura 4 (Vallejo & Perilla, 2008).



**Figura 4.** Representación gráfica del ángulo de contacto y humectación de la superficie (Vallejo & Perilla, 2008).

- Teoría de difusión

Es también conocida como teoría de la interpenetración. Se utilizó inicialmente en el estudio del comportamiento adhesivo y es actualmente una de las más importantes para describir el fenómeno bioadhesivo, mediante la difusión. La bioadhesión es el resultado de un gradiente de concentración entre las moléculas del sustrato biológico, como la mucina, y las cadenas flexibles del polímero hasta desarrollar el enredamiento físico entre los dos tipos de moléculas como lo muestra la figura 5.



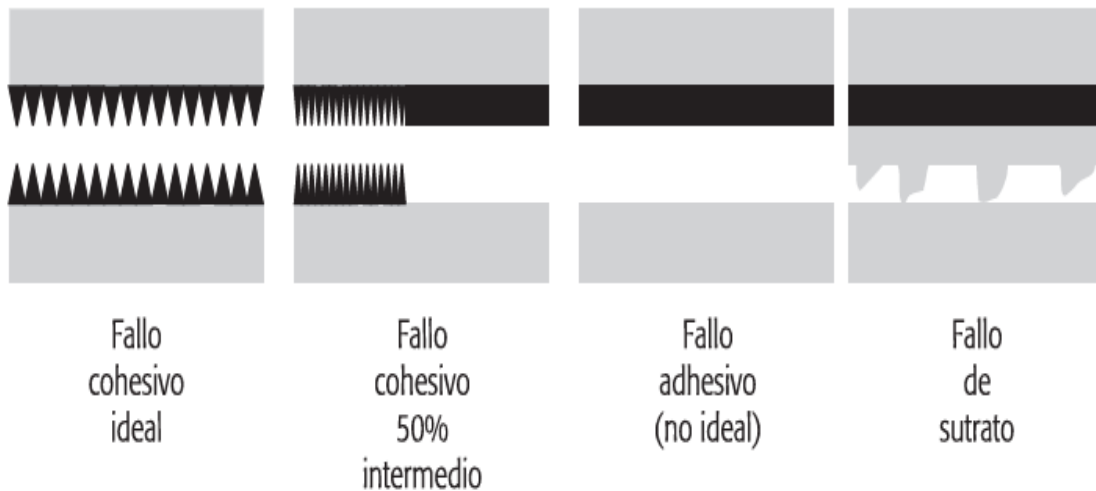
**Figura 5.** Interpenetración de las cadenas de polímeros presentes en una unión bioadhesiva, a) polímero bioadhesivo, b) superficie mucosa (Vallejo & Perilla, 2008).

Los valores encontrados para el coeficiente de difusión de polímeros a través de redes de glicoproteínas de *mucus* se encuentran entre  $10^{-10}$  -  $10^{-16}$   $\text{cm}^2/\text{seg}$ ; la profundidad exacta de interpenetración necesaria para que tenga lugar la unión adhesiva se estima que sea del orden de 0,2 - 0,5  $\mu\text{m}$ . De esta manera es posible calcular el tiempo para la bioadhesión, según la siguiente ecuación, en la cual  $l$  es la profundidad de interpenetración y  $D_b$  corresponde al coeficiente de difusión del polímero bioadhesivo a través de la mucosa (Vallejo & Perilla, 2008).

$$t = \frac{l^2}{D_b}$$

- **Teoría de fractura**

En esta teoría se relacionan las fuerzas de adhesión con la fuerza necesaria para separar las dos superficies adheridas. Se utiliza para explicar el comportamiento bioadhesivo de polímeros rígidos; también se conoce como modelo de capas débiles de rotura preferente como lo muestra la figura 6 (Vallejo & Perilla, 2008).



**Figura 6.** Posibles modos de falla de una unión adhesiva (Vallejo & Perilla, 2008).

El esfuerzo de fractura asociado con la falla,  $\sigma$ , que es equivalente a la fuerza de la unión bioadhesiva, se puede calcular mediante la siguiente ecuación, en la que E corresponde al módulo de elasticidad de Young,  $\epsilon$  es la energía de fractura y L la longitud crítica de fractura durante la separación de las dos superficies.

$$\sigma = \sqrt{\frac{E\epsilon}{L}}$$

El estudio se realiza sobre la propagación de la falla en la unión adhesiva, la cual no se produce en la zona interfacial, sino que se manifiesta hacia zonas débiles de la superficie del sustrato o del adhesivo y se denomina falla cohesiva (Vallejo & Perilla, 2008).

### 2.2.5 Excipientes utilizados en geles vaginales

En la elaboración de geles vaginales se utilizan diversos excipientes y polímeros que son añadidos a la formulación como: agentes gelificantes, humectantes, vehículos y conservantes. Diversos polímeros son utilizados como agentes gelificantes en la elaboración de geles vaginales, entre ellos se encuentran una gran variedad como se muestra en la tabla 1. Antes de ser utilizado un excipiente es analizado para conocer sus propiedades físicas, químicas y toxicológicas. Se eligen excipientes que sean toxicológicamente inertes en la formulación (das Neves & Bahia., 2006).

**Tabla 1.** Polímeros utilizados en geles hidrófilos para uso vaginal

<b>Polímeros bioadhesivos</b>
Carbopol® (974P, 980, 971P y 943)
Hidroxietilcelulosa
Hidroxipropilcelulosa
Hidroxipropilmetilcelulosa
Metilcelulosa
Polietilenglicol
Polivinilpirrolidona
Alginato de sodio
Carboximetilcelulosa sódica
Almidón



Los polímeros utilizados en formulaciones mucoadhesivas se clasifican en: aniónicos, catiónicos o no iónicos. Los aniónicos cuentan con diversas propiedades mucoadhesivas debido al enlace que existe entre el hidrógeno y capa de moco (Woertz et al., 2013).

Los polímeros mucoadhesivos normalmente se dividen en dos: naturales y sintéticos. Estos se caracterizan uno de otro por su mecanismo de adhesión. Los conocidos como sintéticos suelen contener ciertos derivados de celulosa como polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico y polihidroxietilmetilacrilato. Los polímeros naturales reúnen entre otros, al almidón cuyo monómero es la glucosa y al algodón, hecho de celulosa, cuyo monómero también es la glucosa. En estos polímeros se encuentran, por ejemplo: el alginato de sodio, la goma guar y el quitosano (Woertz et al., 2013).

### **2.2.6 Métodos de evaluación de bioadhesión/mucoadhesión y permeabilidad**

Existen diversos métodos utilizados para el estudio de bioadhesión. Estos se clasifican en tres categorías: *in vitro*, *in vivo* y *ex vivo*.

- Método *in vitro*

Un método *in vitro* es una técnica que se utiliza para llevar a cabo un estudio determinado en un tubo de ensayo, o por lo regular en un ambiente controlado (laboratorio) fuera del organismo vivo. En este método se utilizan líneas celulares humanas o cultivos celulares primarios con la finalidad de evitar problemas relacionados con el uso de tejido animal en modelos *in vitro*. Una limitación que presenta este modelo es la imposibilidad de implementar a la célula factores externos que son imprescindibles para la función del organismo (Machado et al., 2015).

- Método *in vivo*

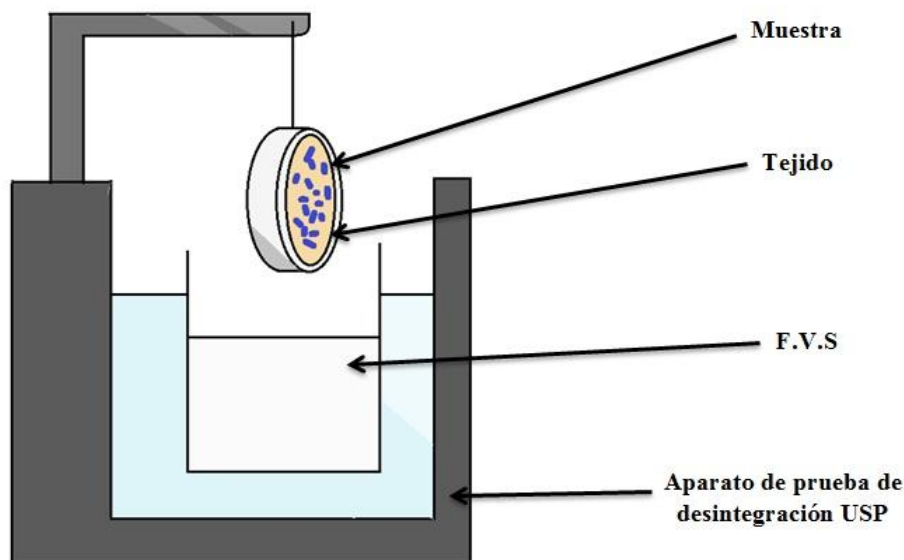
El termino *in vivo* se refiere principalmente a la experimentación hecha dentro del tejido de un organismo vivo. Hoy en día las pruebas de estudio para medir fuerza de bioadhesión de un gel en alguna técnica *in vivo* son muy pocas. No obstante, algunos métodos reportados

se han basado en observar la bioadhesión que presenta una formulación mediante la medición del tiempo de residencia en el sitio de aplicación. Para el uso de estas pruebas en ocasiones se llegan a utilizar seres humanos, pero comúnmente se utilizan animales de experimentación. En estos métodos suelen evaluarse el tiempo de transporte con ayuda de radioisótopos, una técnica costosa (Edsman & Hägerström, 2005).

- Método *ex vivo*

*Ex vivo* es un término que significa lo que tiene lugar fuera de un organismo. Es un método experimental realizado sobre tejidos biológicos de un organismo en un ambiente controlado fuera del organismo con alteraciones mínimas. Dependiendo del estudio se utilizan diversos tejidos de animal, por ejemplo, la vagina de cerda puede ser utilizada para el estudio de bioadhesión, permeación y tiempo de residencia de un gel vaginal. Los investigadores realizan diversas pruebas utilizando diferentes especies de animales como: roedores, conejos, monos, vacas, cerdas y ovejas. Se utilizan este tipo de animales ya que existen similitudes anatómicas y fisiológicas con la del humano (Machado et al., 2015).

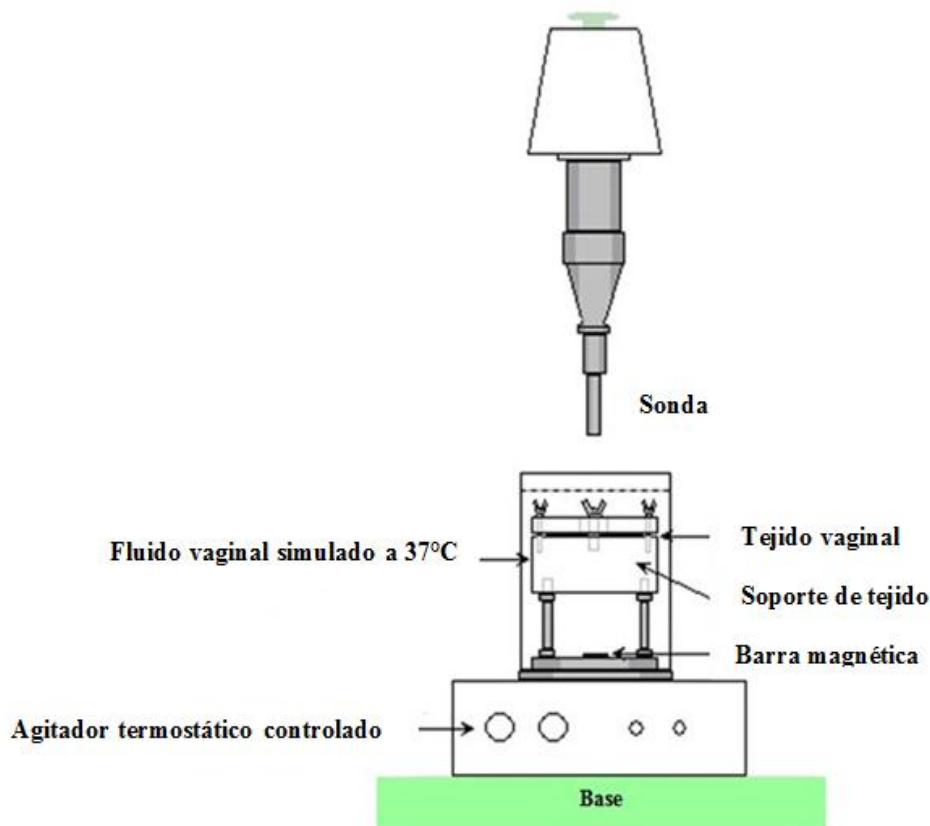
Un método *ex vivo* utilizado para estudiar la bioadhesión es el aparato de desintegración de tabletas que viene descrito en la USP. Este equipo es modificado para medir el tiempo de resistencia de polímeros bioadhesivos. Para ello se toma una cantidad conocida de gel y se coloca en el tejido. Este se fija a una placa de acero inoxidable que va sujeta a la parte del brazo del equipo. Al iniciar la prueba el brazo baja y sube a un ritmo constante sumergiendo el tejido junto con la muestra en una solución de fluido vaginal simulado (F.V.S.) a pH 4.2 como lo muestra la figura 7. El tiempo de residencia es determinado visualmente cuando la muestra (gel) se separa a su totalidad del tejido (Bachhav & Patravale, 2009).



**Figura 7.** Equipo utilizado para la prueba de tiempo de residencia para polímeros bioadhesivos (Modificado de Bachhav & Patravale, 2009).

Hay diversos métodos que son utilizados para cuantificar las propiedades mucoadhesivas de distintos polímeros. Estos se clasifican en directos e indirectos. Las mediciones directas evalúan la fuerza para separar una formulación de un tejido o determinar el tiempo requerido para eliminar una formulación del tejido. Y las mediciones indirectas se caracterizan por interacciones entre el polímero y el tejido. Uno de los métodos utilizados es un analizador de textura con la finalidad de examinar la fuerza que se necesita para romper las uniones adhesivas entre un gel y el tejido vaginal. Este equipo nos permite medir la fuerza de desprendimiento y el trabajo total de adhesión que es resultado del área bajo la curva de fuerza y la distancia aplicada (Woertz et al., 2013).

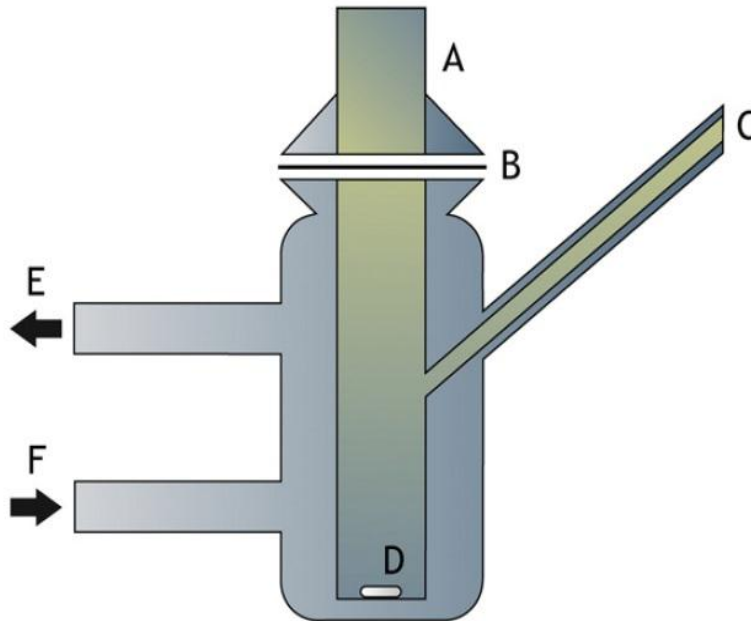
El analizador de textura está compuesto por una sonda con un diámetro aproximado de 10 mm. El tejido de estudio va sujeto a un soporte que tiene en su parte superior un orificio de 14 mm de diámetro que permite el contacto de la sonda con el tejido (figura 8). Para iniciar con la medición se coloca una cantidad conocida de la formulación al lado inferior de la sonda. Esta baja al tejido con una velocidad *post-test* definida. Al entrar en contacto la sonda con el tejido se ejerce una fuerza durante un tiempo definido y una fuerza definida (Woertz et al., 2013).



**Figura 8.** Representación esquemática de analizador de textura utilizado para la prueba de fuerza adhesiva (Modificado de Woertz et al., 2013).

Existen métodos *ex vivo* que permiten el estudio de la permeabilidad de un medicamento uno de ellos es el uso de celdas tipo Franz, que por su simplicidad pueden proporcionar mediciones confiables y reproducibles de la liberación del principio activo a partir de formulaciones semisólidas. En esta prueba se colocan en la parte superior entre 200 a 400 mg de la formulación de prueba sobre el tejido a estudiar. El sitio de aplicación varía dependiendo de la muestra, pero normalmente es cercano a los 15 mm de diámetro. Si el estudio trata de geles vaginales la temperatura idónea es de  $37 \pm 1$  ° C. Se recogen muestras del líquido receptor cada cierto periodo de tiempo y el volumen que es retirado se reemplaza por medio nuevo (figura 9). Cabe mencionar que el medio receptor debe tener una alta capacidad para disolver el fármaco y no debe superar el 10% de la concentración del estándar al final de la prueba. Se recomienda realizar esta prueba con dos series de 6 celdas para documentar la velocidad de liberación. Las muestras utilizadas para esta prueba son extraídas de diversos animales dado que los tejidos humanos son difíciles de obtener. La

mayoría de los estudios *ex vivo* se realizan con tejidos congelados para ello se descongelan y se usan. Diversos estudios demostraron que este procedimiento no afecta la permeabilidad del tejido haciéndolos aún más factibles para su uso (das Neves et al., 2015).



**Figura 9.** Representación esquemática de una celda tipo Franz. A) Compartimento de donantes; B) Membrana; C) Puerto de muestreo; D) Agitador; E) Salida de agua; F) Entrada de agua (das Neves et al., 2015).

## 2.3 Gel

### 2.3.1 Definición de gel

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos define un gel como una preparación semisólida, que contiene el o los fármacos y aditivos, constituida por lo general por macromoléculas dispersas en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite, que forman una red que atrapa al líquido y que le restringe su movimiento, por lo tanto, son preparaciones viscosas (FEUM, 2014). Los geles son formulaciones semisólidas, con un grado de flexibilidad muy similar al tejido natural, debido a su significativo contenido de agua (Gafiuanu et al., 2016).

### 2.3.2 Características de los geles

Los geles están conformados por pequeñas partículas inorgánicas y también de grandes moléculas orgánicas que están interpenetradas en un líquido. Existe una clasificación para los geles de una y dos fases:

- La clasificación que hace referencia a los geles de una sola fase considerada como monofásica, consiste en macromoléculas orgánicas uniformemente distribuidas a través de un líquido de tal manera que no existen límites aparentes entre las macromoléculas dispersadas y el líquido. Los geles monofásicos pueden estar hechos de macromoléculas sintéticas, por ejemplo, carbómero, o de gomas naturales, por ejemplo, goma tragacanto. Estas últimas preparaciones también se llaman mucílago. Aunque estos geles son comúnmente acuosos, se pueden usar alcoholes y aceites como fase continua.
- Los geles de dos fases son originados cuando la masa de gel está constituida por una red de pequeñas partículas discretas. Si el tamaño de la partícula de la fase dispersada es relativamente grande, la masa de gel es referenciada como magma. Tanto el magma como el gel pueden sufrir de tixotropía que es una propiedad que poseen algunos fluidos no newtonianos y pseudoplásticos al mostrar cambios de su viscosidad en el tiempo; cuanto más se someta el fluido a esfuerzos de cizalla, más disminuye su viscosidad. Originando con esto semisólidos, cuando están en reposo, y que se transforman en líquidos al agitarse (USP 32 NF 27, 2009).

Los geles pueden usarse para administrar medicamentos tópicamente o en cavidades corporales (USP 32 NF 27, 2009). Con el tiempo los geles pierden su condición y su estructura y pueden llegar a romperse y por ende, su estabilidad depende de su correcta formulación. Los factores que deben de cuidarse, ya que afectan la estabilidad de un gel son: temperatura, cambios de pH, agitación y electrolitos (Pavelic et al., 2005).

Los ensayos que se le realizan a un gel son: identificación y valoración de principio activo en caso de que cuente con él y viscosidad a distintas fuerzas de corte. Los ensayos de mayor peso son los reológicos (Pavelic et al., 2005).

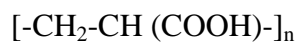
La incorporación del principio activo en un gel, por lo general, se efectúa por disolución en el medio líquido, previo a la incorporación de la base gelificante. Si por las características del principio activo no es posible la incorporación inicialmente, entonces se añade sobre el gel mediante agitación, una vez que este fue obtenido (das Neves & Bahia, 2006).

## 2.4 Carbopol<sup>®</sup> 974P NF

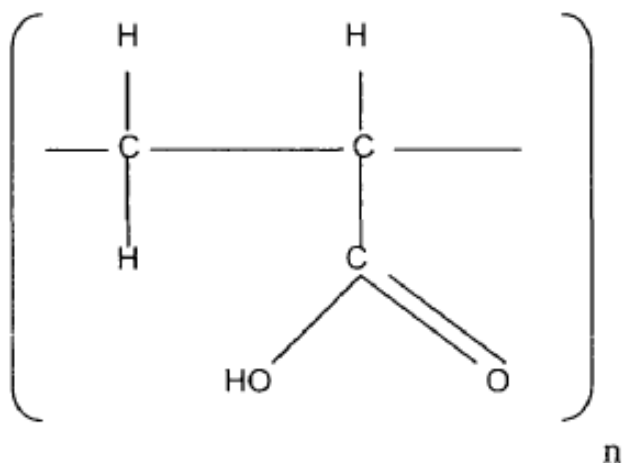
El Carbopol<sup>®</sup> es un polímero reticulado del ácido acrílico, de alto peso molecular y de carácter aniónico del 0.75 – 2%. Es un polímero hidrofílico y, por lo tanto, no repele el agua. Este se emplea como agente emulsificante, viscosante, suspensor y gelificante. Existen distintos tipos de Carbopol<sup>®</sup> que vienen designados por un número. Los que llevan la letra P después del número son de elevada pureza, con un contenido residual de benceno muy bajo. En la industria farmacéutica se utilizan tanto en formulaciones líquidas y semisólidas por poseer propiedades bioadhesivas. Tanto el Carbopol<sup>®</sup> 974P NF como el 971P NF presentan una reacción de polimerización en acetato de etilo, por esta razón es una alternativa toxicológicamente preferida para formulaciones vaginales (Bonacucina et al., 2004).

El Carbopol<sup>®</sup> 974 se obtiene mediante una reacción de reticulación de ácido acrílico con alil pentaeritritilo, seguido de una reacción de polimerización en acetato de etilo y neutralización con hidróxido de potasio acuoso al 1 – 3%. El Carbopol<sup>®</sup> 974P NF cuenta con un alto grado de reticulación, es insoluble en agua, a diferencia de los polímeros lineales hidrófilos solubles en disolventes polares, cuya capacidad de absorción depende del peso molecular (figura 10). Cabe mencionar que el grado de reticulación es el parámetro determinante de la capacidad de absorción de la matriz (Ochiuz et al., 2015). En la tabla 2 se presentan las propiedades fisicoquímicas que poseen los polímeros de Carbopol<sup>®</sup>.

- Fórmula química



- Estructura química



**Figura 10.** Estructura química general de los polímeros de Carbopol® (Ochiuz et al., 2015).

- Propiedades fisicoquímicas

**Tabla 2.** Propiedades fisicoquímicas generales de polímeros Carbopol® (Ochiuz et al., 2015).

Propiedades	Observaciones
pH	2.7 - 3.5 para 0.5% w/v dispersión acuosa
	2.5 - 3.0 para 1% w/v dispersión acuosa
Densidad (masa)	1.76 - 2.08 g/cm <sup>3</sup>
T transición vítrea	100 - 105°C
Punto de fusión	Aprox. 260°C (descomponen a los 30 min)
Solubilidad	Neutralizada la dispersión, es soluble en agua, alcohol, y glicerina
Apariencia y color	Polvo blanco o casi blanco, esponjoso, higroscópico

- Funciones de Carbopol®

Los polímeros Carbopol® por sus características fisicoquímicas imparten buenas propiedades a la compresibilidad logrando una compresión a bajas presiones. Pueden ser utilizados junto con otros agentes hidrófilos formadores de matriz ya que cuentan con la cualidad de ser compatibles con muchos excipientes. En algunas formulaciones ayudan a enmascarar el sabor, proporcionan propiedades ácidas y bioadhesivas (Ochiuz et al., 2015).



## 2.5 Metronidazol (MTZ)

El metronidazol se clasifica dentro de la clase de nitroimidazoles y es un agente sintético antibacteriano y antiparasitario (figura 11). En sus orígenes fue indicado para el tratamiento de infecciones provocadas por *Trichomonas vaginalis*, al paso de los años su efectividad aumentaba ampliando el espectro de acción, permitiendo combatir protozoarios como *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*. El metronidazol hoy en día es utilizado para el tratamiento de una gran variedad de infecciones producidas por distintos organismos convirtiéndolo en uno de los fármacos más eficaces para combatir infecciones por bacterias anaerobias tanto Gram negativas como positivas, en la tabla 3 se muestran algunos organismos que son susceptibles a este principio activo. Se encuentra disponible en una gran variedad de formulaciones orales, parenterales, vaginales y tópicas (Bendesky & Menéndez, 2001).

**Tabla 3.** Organismos susceptibles al metronidazol (Bendesky & Menéndez, 2001).

<b>Protozoarios</b>	✓ <i>Trichomonas vaginalis</i>
	✓ <i>Giardia lamblia</i>
	✓ <i>Entamoeba histolytica</i>
<b>Anaerobios Gram - positivos</b>	✓ <i>Peptostreptococcus spp.</i>
	✓ <i>Clostridium perfringes</i>
	✓ <i>Clostridium difficile</i>
<b>Anaerobios Gram - negativos</b>	✓ <i>Bacteroides fragilis</i>
	✓ <i>Otros Bacteroides spp.</i>
	✓ <i>Fusobacterium spp.</i>
	✓ <i>Actinobacillus spp.</i>
	✓ <i>Campylobacter fetus</i>
	✓ <i>Helicobacter pylori</i>
✓ <i>Gardenerella vaginalis</i>	

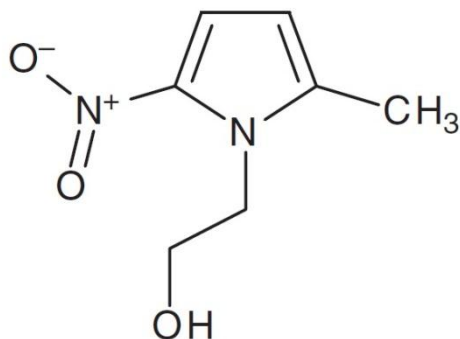
- Nombre químico

2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il) etanol

- Fórmula

$C_6H_9N_3O_3$

- Estructura química



**Figura 11.** Estructura química de metronidazol (Bendesky & Menéndez, 2001).

- Funciones de metronidazol

El metronidazol es utilizado en diferentes tratamientos. Su mecanismo de acción consiste principalmente en inhibir la síntesis de ácidos nucleicos y otros derivados de nitroimidazol que son compuestos redox activos que realizan una actividad antibiótica significativa basada en la reducción intracelular de un grupo nitro a un nitroradical ( $R - NO_2 + e^- \rightarrow R - NO_2 \cdot^-$ ), razón por la cual es utilizado en diversos ecosistemas microbianos, incluido el vaginal (Nyirjesy et al., 2006).

Los geles compuestos por metronidazol al 0.75% han sido aprobados para su uso en pacientes con problemas de vaginosis bacteriana (VB). Su objetivo terapéutico es permitirle al ambiente vaginal su restablecimiento de forma normal mediante la disminución de la flora anormal asociada con VB, evitando un impacto negativo en el crecimiento de las especies normales de *Lactobacillus* (Nyirjesy et al., 2006).

El metronidazol se ha convertido en uno de los fármacos de mayor uso para el tratamiento de VB por su efectividad y su bajo costo en comparación con otros fármacos como la clindamicina. En los tratamientos en donde es utilizado el metronidazol se ha encontrado una disminución increíble en los microorganismos patógenos asociados a VB. Los geles han tenido una gran aceptación para los tratamientos locales en comparación con los medicamentos orales. En el mercado farmacéutico internacional existen diversos geles que contienen este principio activo como: Epaq<sup>TM</sup>, Metrogel<sup>MR</sup>, Rosadan<sup>TM</sup> y Rozex<sup>®</sup> entre

otros (figura 12). El gel de la marca Epaq™ está indicado en el tratamiento de la vaginosis bacteriana. La dosis recomendada de este producto es un aplicador lleno (aproximadamente 5 g que contienen alrededor de 37.5 mg de metronidazol) por vía vaginal una vez al día, durante 5 días por la noche, al acostarse. El metronidazol al 0.75% en dosis de 5 g ha producido valores de máxima concentración en plasma de 0.2 a 0.3 mg/L después de 8.5 horas de ser administrado (Singh et al., 2014).



**Figura 12.** Medicamento marca Epaq™, indicado para el tratamiento de Vaginitis Bacteriana.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo general

Evaluar mediante métodos *in vitro* y *ex vivo* geles a base de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF para comprobar la factibilidad de uso en la administración vaginal de metronidazol.

#### 3.2 Objetivos particulares

1. Preparar y caracterizar geles bioadhesivos a base de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF formulados con metronidazol para administración vaginal.
2. Evaluar los perfiles de liberación *in vitro* de metronidazol contenido en los geles.
3. Determinar la bioadhesión *ex vivo* de geles de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF con metronidazol utilizando un analizador de textura en vagina de cerda.
4. Evaluar el tiempo de residencia *ex vivo* de geles de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF en vagina de cerda.
5. Evaluar la permeabilidad del metronidazol incluido en geles a través del tejido vaginal de cerda.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1 Polímero

- \* Carbopol<sup>®</sup> 974P NF (Donado por Lubrizol de México S.A. de C.V.)

### 4.2 Principio activo

- \* Metronidazol (Donado por Globe Chemicals S.A. de C.V.)

### 4.3 Reactivos

- |  |  |
|--|--|
| * Metilparabeno de sodio (Farmacia París)                      | * Hidróxido de calcio (Farmacia París) |
| * Propilparabeno de sodio (Farmacia París)                     | * Ácido láctico (Farmacia París)       |
| * Glicerina (Farmacia París)                                   | * Ácido Acético (Farmacia París)       |
| * Trietanolamina (Droguería Cosmopolita)                       | * Alcohol metílico (Fermont)           |
| * Cloruro de sodio (Droguería Cosmopolita)                     | * Glicerol (Farmacia París)            |
| * Ácido clorhídrico (Fermont)                                  | * Urea (Farmacia París)                |
| * Hidróxido de potasio (Farmacia París)                        | * Glucosa (Farmacia París)             |
| * Gel de Carbopol <sup>®</sup> Epaq <sup>™</sup> (More Pharma) |  |

### 4.4 Material y equipos

- \* Balanza VE-204 (Velab, México).
- \* Reómetro DV3T con módulo Helipath para geles (Brookfield, Canadá).
- \* Espectrofotómetro UV/VIS (Thermoscientific Genesys 10s, USA).
- \* Baño termostático con agitación horizontal Dubnoff (Quimis<sup>®</sup>, Brasil).
- \* pH-metro Hi 2211 (Hanna Instruments<sup>®</sup>, México).
- \* Parrilla eléctrica con agitación MSH-20A (Wisestir<sup>®</sup>, USA).
- \* Centrífuga UNIVERSAL 320 (Hettich, México).
- \* Recirculador de líquidos con termostato (Polyscience, USA).
- \* Analizador de textura CT3 (Brookfield, Canadá).
- \* Desintegrador de tabletas BJ -2 (Vanguard Pharmaceutical Machinery, USA).
- \* Cronómetro (Sper Scientific, México).
- \* Material de cristalería.
- \* Membrana de celulosa para diálisis (Sigma–Aldrich, USA).

### 4.5 Material biológico

- \* Tejido vaginal de cerda, procedente del rastro Nueva Distribuidora de Porcino TIF 194, Av. López Mateos 39, Colonia San Lorenzo Río Tenco, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, C.P. 54713.

## 4.6 Metodología experimental

### 4.6.1 Preparación de geles vaginales

Se elaboraron y caracterizaron 50 g de tres tipos de geles a base de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF con metronidazol, con distintas concentraciones de polímero: 0.5%, 1% y 2% p/p. En la tabla 4 se muestran las formulaciones para cada tipo de gel.

**Tabla 4.** Componentes para la formulación de geles a base de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF con metronidazol.

Componentes	Gel Carbopol <sup>®</sup> 974P NF		
	gel 0.5%	gel 1%	gel 2%
	(g)	(g)	(g)
<b>Carbopol<sup>®</sup> 974P NF</b>	0.25	0.50	1.00
<b>Metronidazol</b>	0.16	0.16	0.16
<b>Agua desionizada</b>	41.99	41.74	41.24
<b>Metilparabeno de sodio</b>	0.09	0.09	0.09
<b>Propilparabeno de sodio</b>	0.01	0.01	0.01
<b>Glicerina USP</b>	7.50	7.50	7.50

En un vaso de precipitados de 250 mL se disolvieron 0.16 g de metronidazol en agua desionizada. Una vez disuelto el principio activo, se adicionó el Carbopol<sup>®</sup> 974P NF en esta solución y se dejó hidratar durante 1 h. Pasado el tiempo de hidratación, se mezcló con agitación magnética a temperatura ambiente. Por separado en un vaso de 50 mL se disolvieron el metilparabeno y el propilparabeno en 10 mL de agua con agitación magnética y calentando a 60 °C; una vez disueltos, se enfrió la solución hasta 40 °C y se adicionó al contenedor de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF con metronidazol, manteniendo la agitación magnética constante. Después de homogenizar esta mezcla se adicionó la glicerina y se ajustó el pH del gel entre 5 – 6 con trietanolamina, agitando con una varilla de vidrio manualmente. Al término de la preparación, cada gel se colocó en un frasco de vidrio y fue almacenado a temperatura ambiente ( $\approx 25^{\circ}\text{C}$ ). El proceso de elaboración se esquematiza en la figura 13.

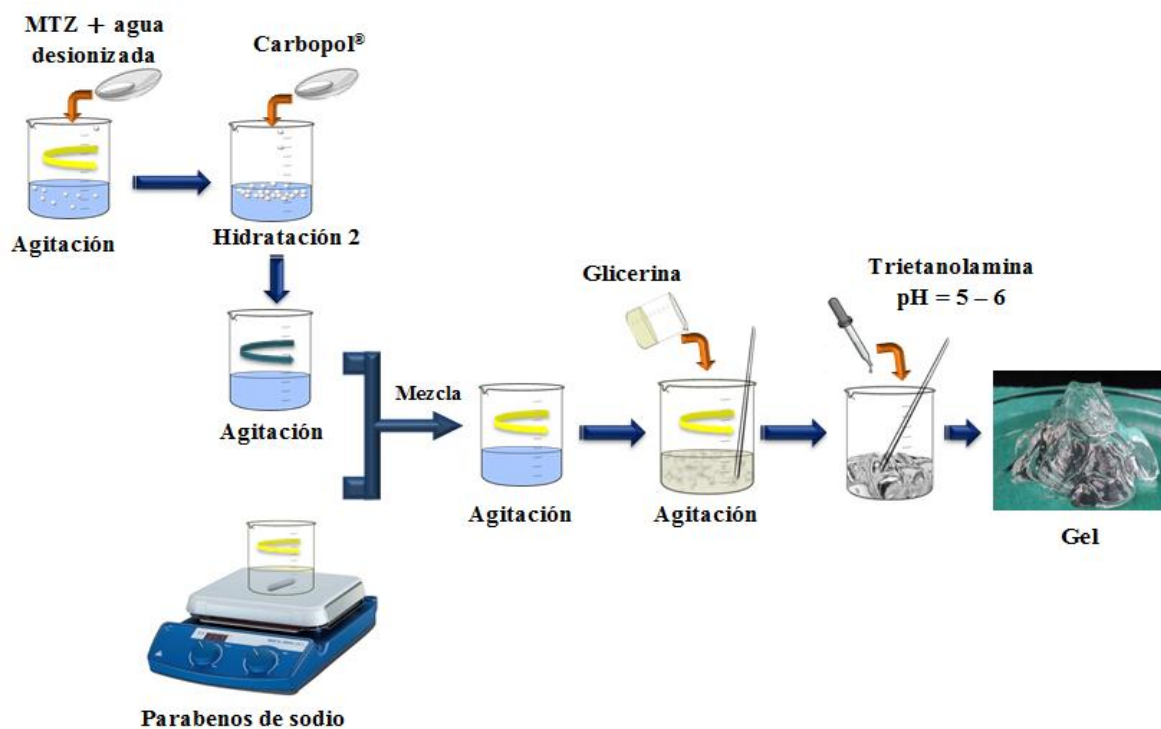


Figura 13. Representación esquemática de la elaboración de gel a base Carbopol® 974P NF.

#### 4.6.2 Caracterización

- pH

Para medir el pH de cada uno de los geles se utilizó un medidor de pH portátil.

- Viscosidad

Se colocaron en un vaso de precipitados 150 g de gel. La muestra se posicionó debajo de la aguja de lectura del equipo; se usaron agujas especiales para medir geles. Antes de iniciar con la prueba se fijaron las condiciones de estudio, mismas que se muestran en la tabla 5. Realizado esto se inició la medición de viscosidad con cada uno de los geles a temperatura ambiente. En la figura 14 se muestra el equipo utilizado.

**Tabla 5.** Condiciones propuestas para medición de viscosidad.

Condición	gel 0.5%	gel 1%	gel 2%
Aguja	T-F (96)	T-F (96)	T-F (96)
Tiempo	2 min	2 min	2 min
Velocidad	60 rpm	7 rpm	3 rpm



**Figura 14.** Equipo utilizado para medición de la viscosidad: 1) Reómetro DV3T Brookfield, 2) aguja, 3) gel.



### 4.6.3 Cuantificación de metronidazol

Se pesaron 10 mg de metronidazol y se disolvieron en 25 mL de F.V.S. Se tomó una alícuota de 1 mL, llevándola a un volumen de 10 mL con F.V.S. La preparación del F.V.S. se describe en el Anexo 1. De esta solución se tomó 1 mL y se llevó a un volumen de 10 mL con F.V.S. En el espectrofotómetro UV/Vis se hizo un barrido espectrofotométrico con longitudes de onda entre 200 – 400 nm.

Se determinó la longitud de onda ( $\lambda$ ) de máxima absorción para el metronidazol. En la figura 15 se muestra esquemáticamente este procedimiento.

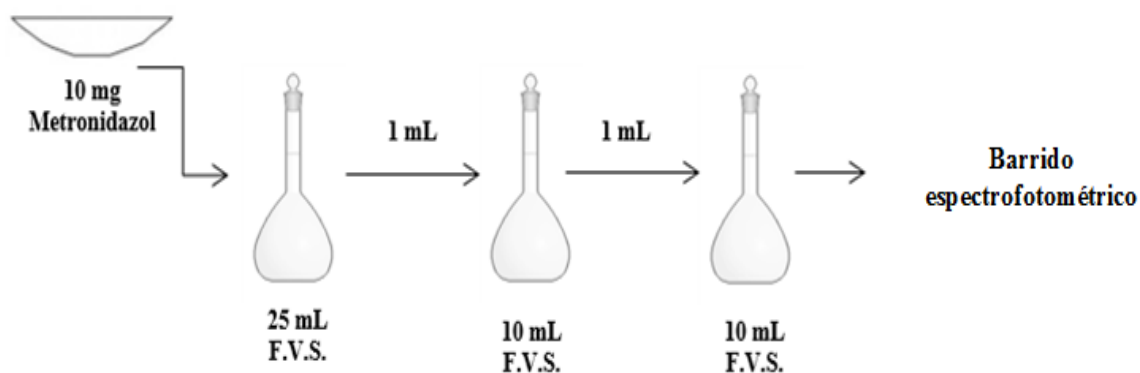
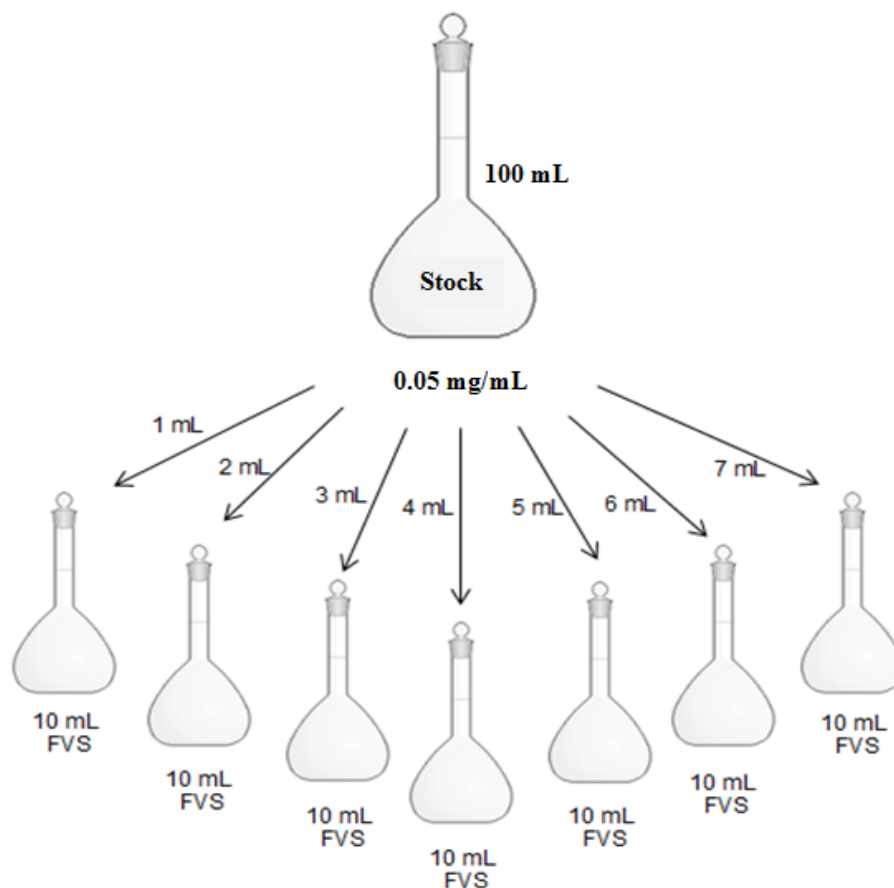


Figura 15. Preparación de la solución de metronidazol para determinar la  $\lambda$  máxima absorción.

### 4.6.4 Curva de calibración de metronidazol en F.V.S.

Una vez determinada la longitud de onda de máxima absorción se preparó una solución stock de metronidazol pesando 0.0050 g, disolviéndolos en F.V.S. y llevando la solución a un volumen de aforo de 100 mL con F.V.S. De esta solución se tomaron alícuotas de: 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL y 7 mL y se llevaron a un volumen de 10 mL con F.V.S. Se realizó este paso obteniendo así 21 sistemas. Posteriormente, se leyeron cada una de las muestras a una longitud de onda de 320 nm en el espectrofotómetro UV/Vis. En la figura 16 se simplifica el método de elaboración de la curva de calibración que se llevó a cabo.



**Figura 16.** Representación esquemática de la preparación de la curva de calibración de metronidazol en F.V.S.

#### 4.6.5 Especificidad en la cuantificación de metronidazol

Con la finalidad de asegurar que la respuesta analítica obtenida a 320 nm solo corresponde al metronidazol y no a los otros componentes del gel se obtuvieron barridos espectrofotométricos de 200 a 400 nm de una solución de metronidazol con F.V.S. y una solución de gel diluido en F.V.S. usando como blanco la solución de F.V.S. a pH de 4.2.

##### a) Solución de metronidazol con F.V.S.

Se preparó una solución de F.V.S. con metronidazol con una concentración de 15 mg metronidazol / 30 mL F.V.S. Se tomó una muestra y se leyó en el espectrofotómetro UV/Vis a una longitud de onda a 320 nm.

b) Gel a base Carbopol<sup>®</sup> 974P diluido en F.V.S.

Se realizó un barrido usando una solución de 2 g de gel al 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF/ 10 mL de F.V.S., se utilizó como blanco la solución de F.V.S. a pH = 4.2.

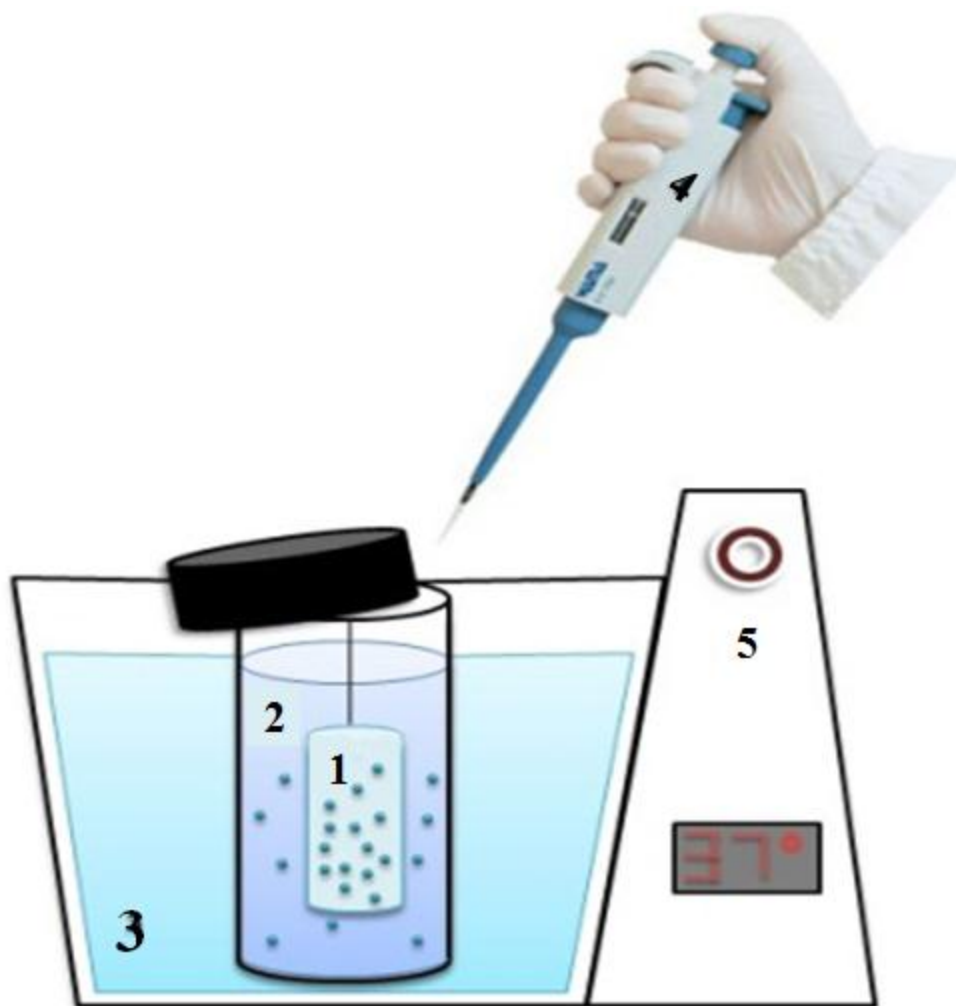
#### **4.7 Perfiles de liberación *in vitro***

##### Solución de metronidazol

Se preparó una solución de metronidazol con 30 mg / 10 mL de F.V.S. De esta solución se tomó un 1 mL y se colocó dentro de una membrana de celulosa. La membrana se sumergió dentro de un matraz con 100 mL de F.V.S. El matraz con la bolsa se colocó dentro de un baño termostático con agitación horizontal a temperatura de  $37 \pm 0.5$  °C. Se tomaron muestras a diferentes tiempos: 1 min, 15 min, 30 min, 45 min, 1 h, 1 h 30 min, 2 h, 4 h, 8 h, 24 h y 25 h. Se leyó cada muestra a 320 nm en el espectrofotómetro UV/Vis. Los experimentos se hicieron por triplicado.

##### Perfiles de liberación para los geles de Carbopol<sup>®</sup> 974P al 0.5%, 1% y 2% con metronidazol

Se pesaron 0.98 g de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF cargado con metronidazol y se colocaron dentro de una membrana de celulosa. La bolsa se introdujo en un matraz que contenía 100 mL de F.V.S. La prueba se realizó por triplicado para cada tipo de gel. Los matraces con las bolsas se colocaron dentro de un baño dubnoff con agitación horizontal a temperatura de  $37 \pm 0.5$  °C. Se tomaron muestras a diferentes tiempos: 1 min, 15 min, 30 min, 45 min, 1 h, 1 h 30 min, 2 h, 4 h, 8 h, 24 h y 25 h. Se leyó cada muestra a 320 nm en espectrofotómetro UV/Vis. En la figura 17 se esquematiza el equipo utilizado en esta prueba.



**Figura 17.** Equipo y material empleado para prueba de perfiles de liberación: 1) membrana de diálisis, 2) medio de disolución, 3) agua, 4) micropipeta y 5) baño termostático con agitación Dubnoff.

#### 4.8 Evaluación *ex vivo*

##### 4.8.1 Fuerza de adhesión

Se cortaron cuadros de tejido de vagina de cerda de 3 x 3 cm. Previo a la prueba, los trozos de vagina se hidrataron con 25  $\mu$ L de F.V.S. por 5 min. El tejido se fijó perfectamente en la placa del módulo de bioadhesión. El módulo y la muestra se colocaron en la base del analizador de textura. El equipo cuenta con una sonda cilíndrica donde se pusieron 0.5 g de gel; cuando la sonda baja entra en contacto con el tejido y aplica una fuerza específica

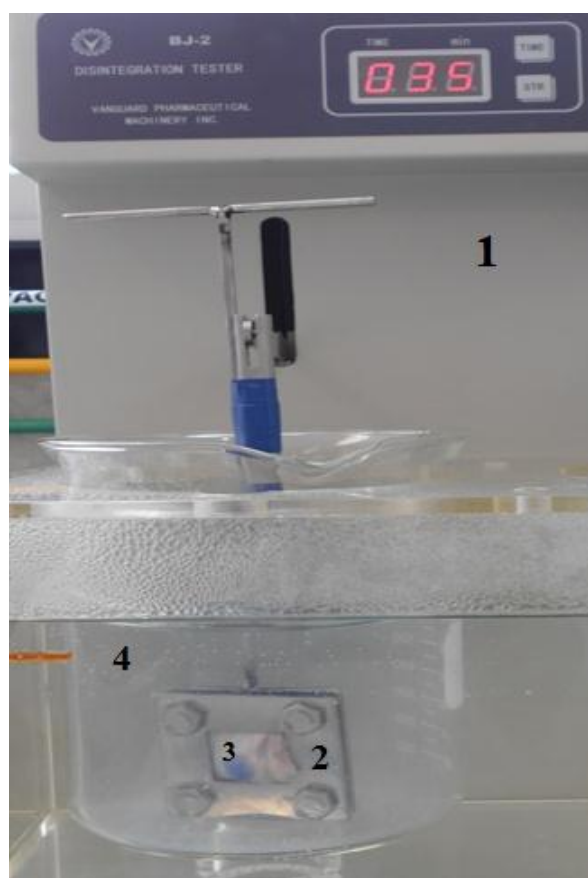
durante cierto tiempo. Se fijaron las siguientes condiciones de estudio: valor meta 0.5, carga de activación 0.70, velocidad de test 0.50 y velocidad *post-test* 0.05. La prueba se realizó para los geles de Carbopol® 974P NF al 0.5%, 1.5% y 2% y para el gel comercial Epaq™ al 2% de Carbopol®. En cada gel se midió: fuerza adhesiva, adhesión y trabajo total. En la figura 18 se muestra el equipo utilizado.



**Figura 18.** Equipo y tejido utilizado para fuerza de adhesión: 1) analizador de textura BrookfieldCT3, 2) soporte, 3) sonda cilíndrica, 4) módulo de bioadhesión, 5) muestra de gel, 6) vagina de cerda.

#### 4.8.2 Tiempo de residencia

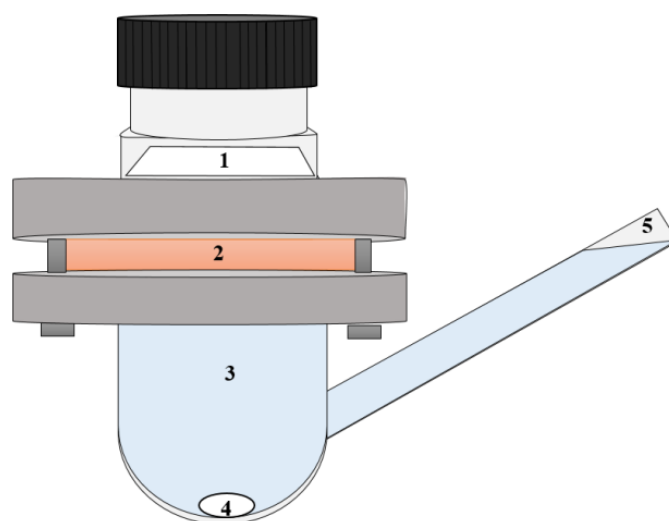
Esta prueba se aplicó para los geles de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF al 0.5%, 1.5% y 2% con metronidazol y también para un gel comercial de uso vaginal de la marca Epaq<sup>™</sup> que contiene 2% de Carbopol<sup>®</sup>. Para esta prueba se utilizaron 6 cuadros de 3 x 3 de tejido de vagina de cerda. A los geles se les aplicó un colorante vegetal azul para poder visualizar su desprendimiento del tejido. Cada cuadro se fijó a una placa de acero inoxidable que estaba sujeta al brazo del desintegrador de tabletas. Sobre el tejido se colocaron 0.5 g de gel. Al iniciar la prueba la placa junto con la muestra eran sumergidas en F.V.S. a pH 4.2 a una temperatura de  $37 \pm 0.5$  °C. El tiempo de residencia del gel se registró una vez que el gel se desprendía totalmente del tejido. En la figura 19 se muestra el equipo empleado en esta prueba.



**Figura 19.** Equipo empleado para tiempo de residencia: 1) desintegrador de tabletas, 2) placa de acero inoxidable, 3) vagina de cerda, 4) medio (F.V.S).

### 4.8.3 Prueba de permeabilidad para gel al 2 % de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF

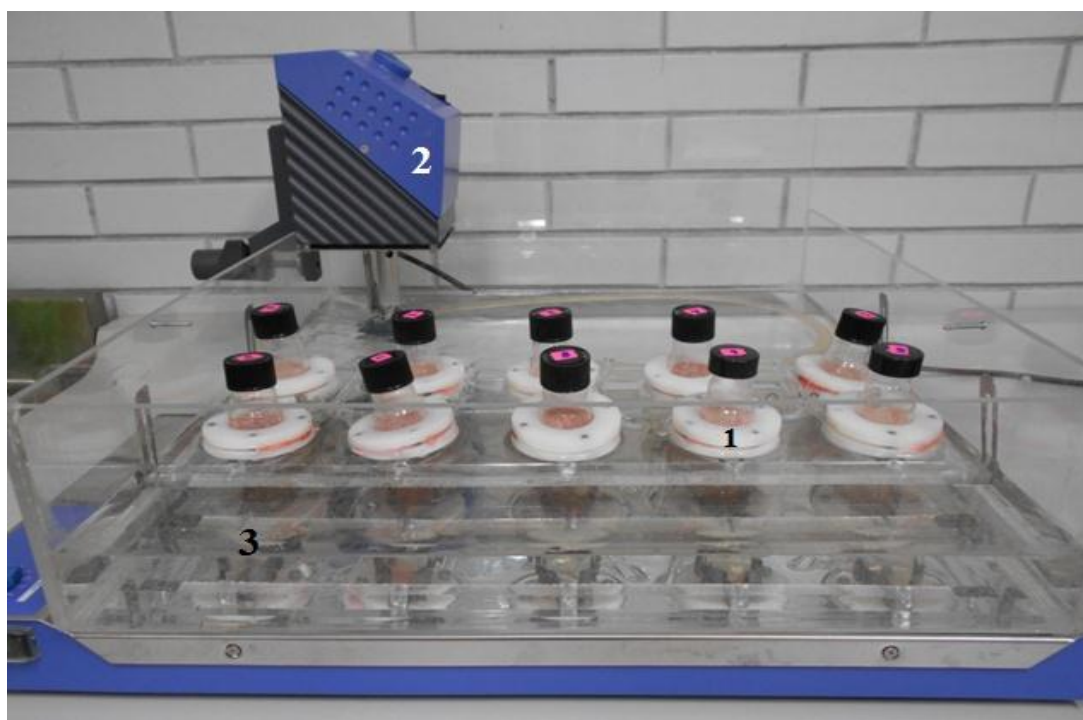
En esta prueba fue requerido el uso de 8 celdas tipo Franz. Las celdas constan de dos compartimientos. Se cortaron cuadros de tejido de vagina de cerda de 3 x 3 cm y se colocaron en el centro de los compartimientos (figura 20). En la parte donadora de cinco de ellas se colocaron aproximadamente 2 g de gel de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF al 2% con metronidazol y en tres más se colocaron 2 g de gel de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF al 2% sin principio activo siendo los blancos de referencia. En la parte receptora se colocaron 20 mL de F.V.S. Las celdas se posicionaron en un recirculador con una agitación constante a una temperatura de  $37 \pm 0.5$  °C. Iniciada la prueba se tomaron muestras a distintos tiempos: 30 min, 1 h, 1 h 30 min, 2 h, 3 h, 4 h, 8 h y 24 h. Cada muestra se leyó a 320 nm en espectrofotómetro UV/Vis.



**Figura 20.** Representación esquemática de celda de Franz: 1 muestra, 2 tejido animal, 3 medio, 4 barra magnética, 5 brazo de muestreo.

Al término del tiempo establecido se desmontaron las celdas y se limpió el tejido con agua desionizada. Cada tejido se cortó en trozos chicos y se colocó en matraces Erlenmeyer que contenían 15 mL de agua. Las muestras se dejaron en agitación magnética constante por 24 h. Al término del tiempo la solución de cada matraz fue centrifugada a 5000 rpm durante 15 min. Cada muestra se leyó a 320 nm en espectrofotómetro UV/Vis.

Para comparar los perfiles de liberación de los geles con una solución de metronidazol se realizó el siguiente procedimiento: Se cortaron cuadros de tejido de vagina de cerda de 3 x 3 cm y se colocaron en medio de los compartimentos de la celda de Franz. En la parte donadora de cinco celdas tipo Franz se colocaron aproximadamente 2 g de una solución de 40 mg de metronidazol en 10 mL de F.V.S. y en otras tres celdas se colocaron 2 g únicamente de F.V.S. En todos los compartimentos receptores se colocaron 20 mL de F.V.S. Las celdas se mantuvieron en un baño de agua a una temperatura de  $37 \pm 0.5$  °C. Iniciada la prueba se tomaron muestras del compartimento receptor a distintos tiempos: 30 min, 1 h, 1 h 30 min, 2 h, 3 h, 4 h, 8 h y 24 h. Cada muestra se leyó a 320 nm en espectrofotómetro UV/Vis. Al término del tiempo establecido se desmontaron las celdas y se limpió el tejido con agua desionizada. Cada tejido se cortó en trozos chicos y se colocó en matraces Erlenmeyer que contenían 15 mL de agua. Las muestras se pusieron en agitación magnética constante por 24 h. Al término del tiempo la solución de cada matraz fue centrifugada a 5000 rpm durante 15 min. Cada muestra se leyó a 320 nm en espectrofotómetro UV/Vis. En la figura 21 se muestra el equipo utilizado en esta prueba.



**Figura 21.** Equipo para prueba de permeabilidad: 1) celdas tipo Franz, 2) recirculador de líquidos con termostato Polyscience 3) agua a  $37 \pm 0.5$  °C.



## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**




Las formas farmacéuticas de administración vaginal como: cremas, supositorios, geles, tampones y tabletas, presentan algunas limitaciones que ya se mencionaron anteriormente. Por esta razón, hoy en día se utilizan polímeros bioadhesivos en las formulaciones vaginales permitiéndoles adherirse al tejido vaginal por periodos prolongados. Estos sistemas bioadhesivos proporcionan distintas ventajas: aumentan la biodisponibilidad del fármaco, se localizan con facilidad en la zona de aplicación, promueven un contacto íntimo de la formulación con la superficie de absorción subyacente y evitan la administración repetida del fármaco (Gafiuanu et al., 2016). En este trabajo de tesis se considera la obtención de una formulación bioadhesiva que pueda prolongar su tiempo de residencia en la vagina y que favorezca el efecto de un fármaco hidrosoluble como el metronidazol. A continuación se muestran los resultados obtenidos en el proyecto.

### **5.1 Geles utilizados**

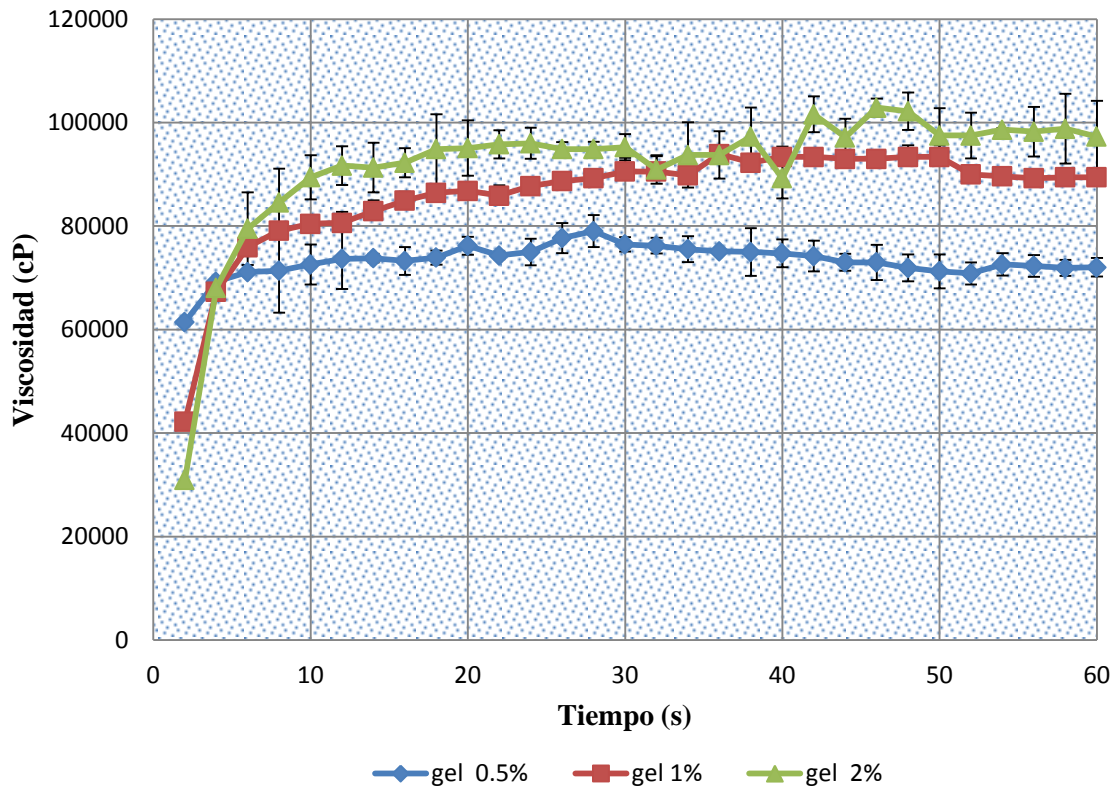
Los geles que se desarrollaron y caracterizaron fueron elaborados con un polímero con propiedades bioadhesivas (Carbopol<sup>®</sup> 974P NF). Este es un polímero sintético del ácido acrílico, de alto peso molecular y de carácter aniónico. Los polímeros utilizados comúnmente en el mercado farmacéutico para formulaciones bioadhesivas son el Carbopol<sup>®</sup> 934, Carbopol<sup>®</sup> 940 y Carbopol<sup>®</sup> 974P NF. En este proyecto se formularon tres geles a una concentración p/p de 0.5%, 1% y 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF con 0.32% de metronidazol. Se caracterizaron midiendo pH y viscosidad, así como observando apariencia y color (tabla 6). Para la medición de la viscosidad se usó el módulo Helipath y agujas especiales en forma helicoidal especialmente diseñadas para sistemas tipo gel o sistemas de altas viscosidades. Para determinar la viscosidad se consideraron los valores obtenidos en un rango de 20 – 40s, debido a que es en este lapso donde la aguja se posiciona en la parte central del contenedor del gel y se registra la viscosidad de manera confiable; en este lapso los valores de viscosidad permanecen casi constantes, aunque la aguja siga girando y moviéndose a través del gel y hacia la parte baja del contenedor. Se obtuvo un promedio

entre los valores de viscosidad de 20 a 40s y los resultados se muestran en la tabla 6, junto con los resultados de la evaluación visual y medición de pH de los geles.

**Tabla 6.** Propiedades fisicoquímicas de los geles formulados con distinta concentración de Carbopol® 974P NF.

Gel Carbopol® 974P NF	Apariencia	Color	pH	Viscosidad (cp)
0.5%		Incoloro, Transparente	5.5	75915
1%		Incoloro, Translúcido	5.7	89830
2%		Incoloro, Translúcido	5.6	94209

Las viscosidades que se registraron presentaron diferencias entre las muestras de gel de Carbopol® 974P NF. En este caso entre mayor sea la concentración del polímero bioadhesivo mayor será la viscosidad de la formulación. En la gráfica 1 se registraron las viscosidades de cada gel con sus respectivas barras de error correspondientes a una desviación estándar.



**Gráfica 1 .** Viscosidades obtenidas a partir de tres geles de concentración 0.5%, 1% y 2% de Carbopol® 974P NF.

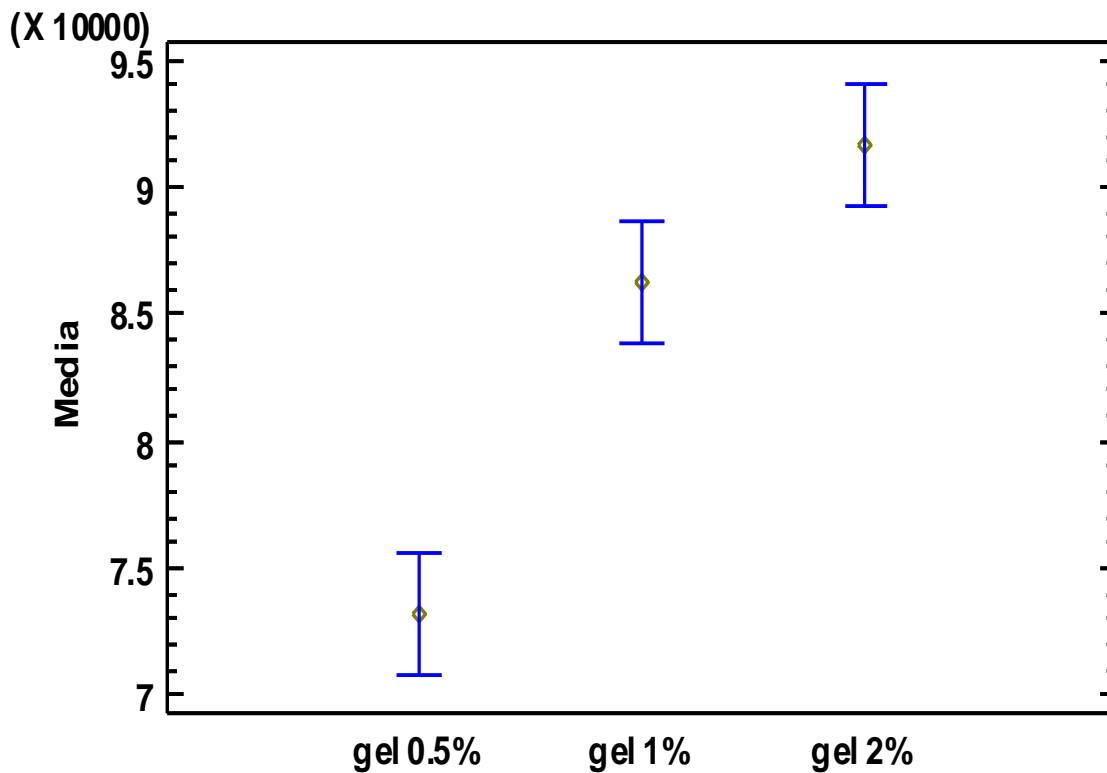
La viscosidad como se observa en la gráfica 1 depende en este caso de la concentración de Carbopol® 974P NF presente en la formulación.

Se llevó a cabo un análisis de varianza para determinar si existe alguna diferencia significativa entre las tres muestras de gel. Se observó que el valor P de la prueba F es menor que 0.05, y por ende existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las muestras con un nivel del 95.0% de confianza, tabla 7.

Tabla 7. Análisis de varianza para viscosidad.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón F	Valor P
Entre grupos	5.73283E9	2	2.86642E9	31.21	0.0000
Intra grupos	8.54143E9	93	9.18433E7		
Total (Corr.)	1.42743E10	95			

En la gráfica 2 se aprecia que las muestras de gel presentan diferencia una de otra debido al aumento de concentración de Carbopol® 974P NF en cada una de las formulaciones. La mayor diferencia se encuentra con la concentración más baja.

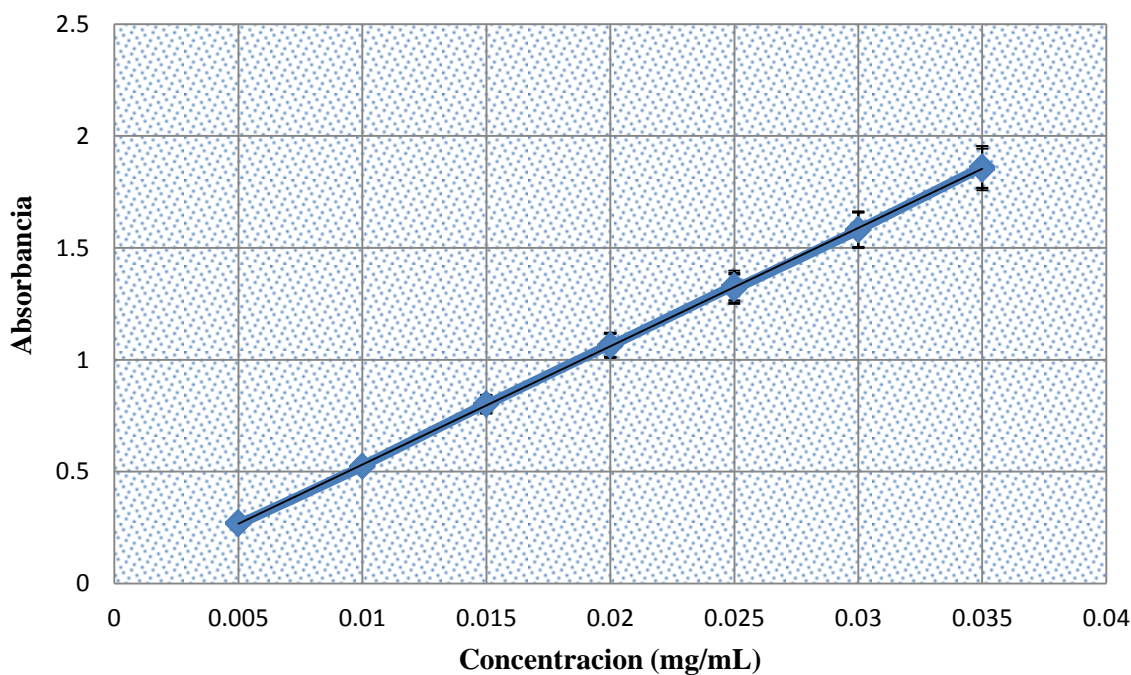


Gráfica 2. Medias e intervalos límites de la desviación estándar al 95% para viscosidad.

### 5.2 Curva de calibración de metronidazol

Se llevó a cabo un barrido espectrofotométrico con una longitud de onda entre 200 – 400 nm para así obtener la longitud de onda de máxima absorción que fue de 320 nm para el caso de este principio activo.

Para poder cuantificar el metronidazol liberado se realizó una curva de calibración (gráfica 3).



Gráfica 3. Curva de calibración de metronidazol.

Con los valores obtenidos se calculó  $r^2$ , m, b, desviación estándar y coeficiente de variación los resultados se presentan en la tabla 8.

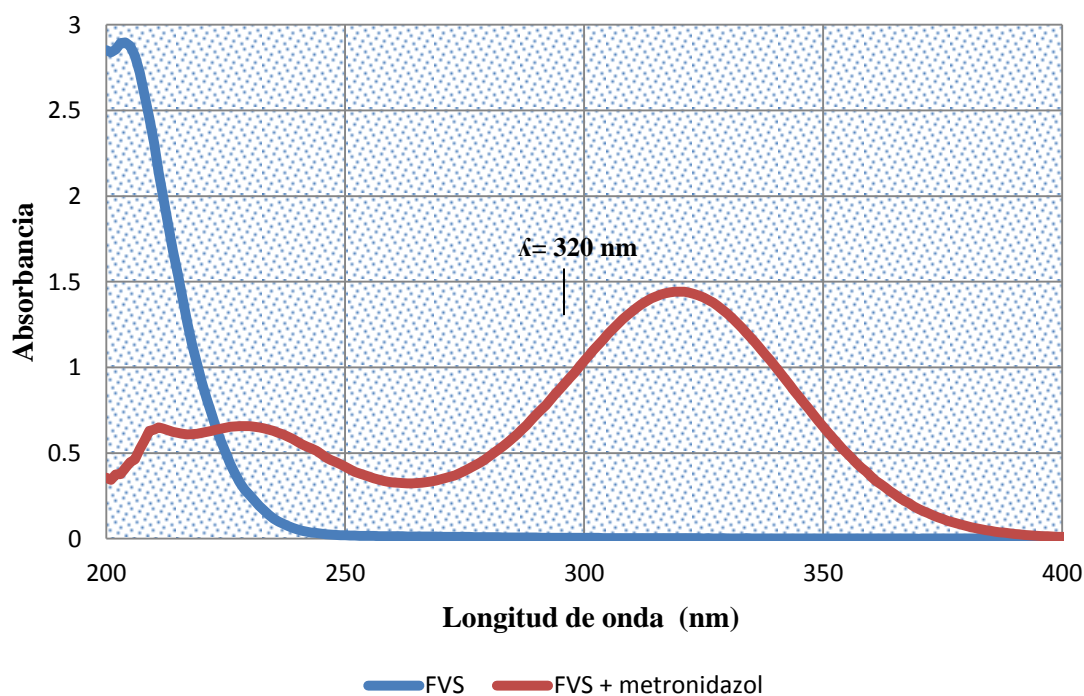
Tabla 8. Valores estadísticos obtenidos de la curva de calibración de metronidazol.

$r^2$	m	b	Desviación estándar	Coficiente de variación
0.9998	52.869	0.0031	0.544	1.024

Al analizar el valor obtenido del coeficiente de variación se observó que la curva de calibración del metronidazol cumple con los valores establecidos para ser utilizada de manera confiable durante la cinética de liberación para la cuantificación de principio activo (ver anexo III).

### 5.3 Especificidad en la cuantificación de metronidazol

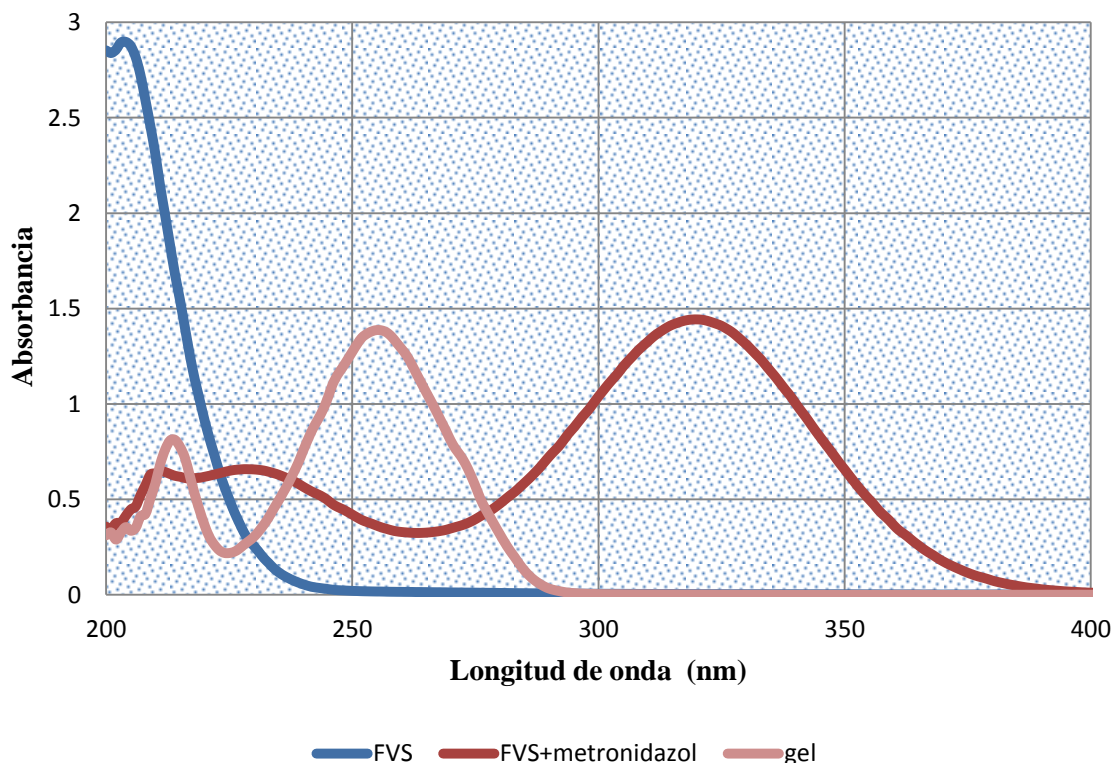
Para asegurar que la respuesta analítica únicamente correspondiera al metronidazol y no a los componentes del gel, se realizaron barridos espectrofotométricos con una solución de metronidazol en F.V.S. y una solución de gel diluido en F.V.S. usando como blanco la solución de F.V.S. a pH de 4.2 leídas a una longitud de onda de 320 nm (gráfica 4).



Gráfica 4. Barrido espectrofotométrico de solución de metronidazol con F.V.S.

En la gráfica 4 se muestra la tendencia que sigue la solución de F.V.S. + metronidazol y la del F.V.S. apreciando la diferencia que existe entre una y otra.

En la gráfica 5 se muestra la tendencia que sigue la solución de gel diluido en F.V.S. Se puede apreciar de igual manera la diferencia que existe entre las soluciones si son comparadas entre sí. Con esto se puede corroborar que la respuesta analítica se debió únicamente al metronidazol y no a los componentes del gel.



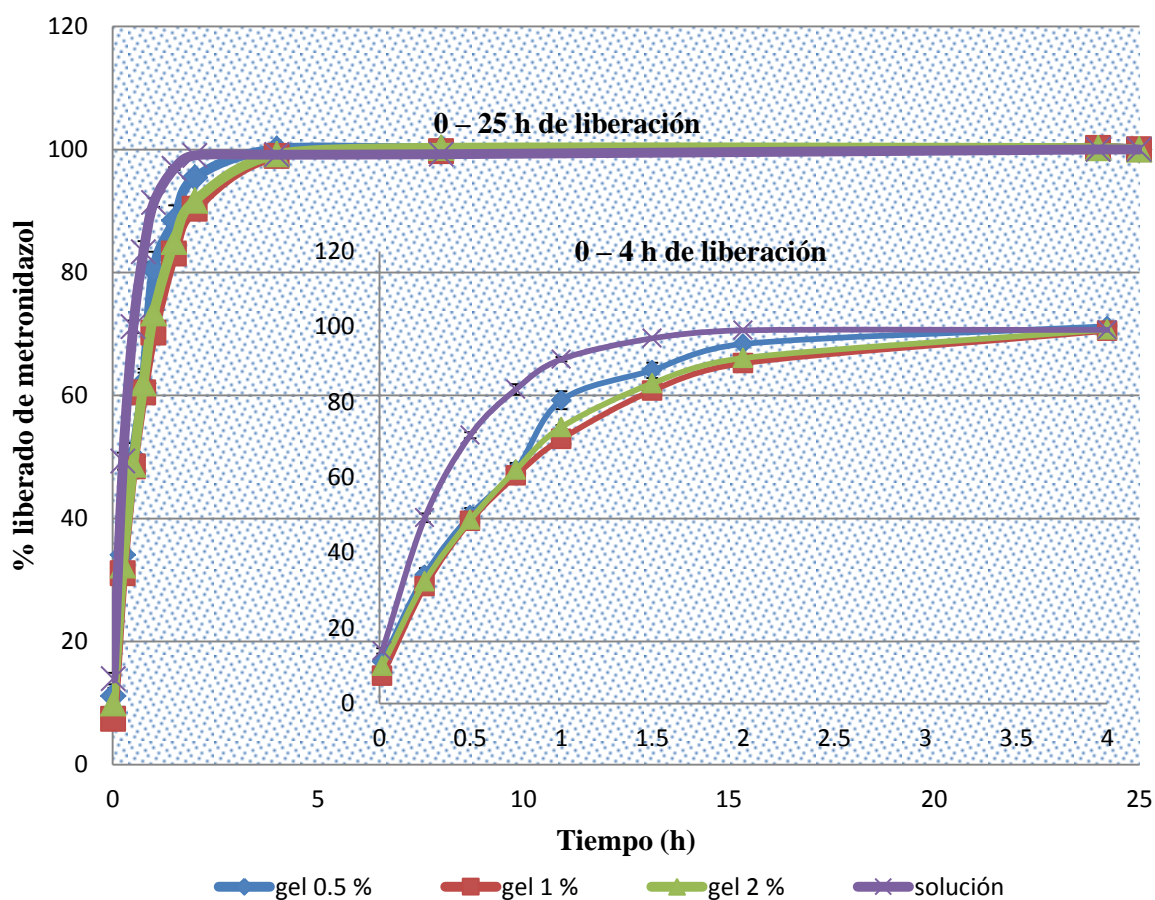
**Gráfica 5.** Barrido espectrofotométrico de solución de gel diluido en F.V.S.

#### 5.4 Cinética de liberación de metronidazol

El metronidazol se ha convertido hoy en día en uno de los principales principios activos para combatir una gran variedad de infecciones producidas por distintas bacterias anaerobias tanto Gram negativas como positivas. Este activo combinado con un polímero bioadhesivo como el Carbopol<sup>®</sup> 974P NF aumenta el tiempo de residencia y efecto del fármaco sobre la zona de acción. El metronidazol se encuentra disponible en una gran variedad de formulaciones: orales, parenterales, vaginales y tópicas (Gafiuanu et al., 2016).

Se obtuvieron perfiles de liberación de principio activo para conocer si la concentración de Carbopol® 974P NF retarda o no el porcentaje liberado de metronidazol. Se utilizaron tres geles de metronidazol con 0.5%, 1% y 2% de Carbopol® 974P NF.

En la gráfica 6, se presenta el porcentaje liberado de metronidazol a distintos tiempos de los geles con 0.5%, 1% y 2% de Carbopol® 974P NF y el de una solución de 3 mg de metronidazol / mL de F.V.S. Se muestra el promedio (n = 3) y las barras de error correspondientes a una desviación estándar.



**Gráfica 6.** Perfil de liberación *in vitro* de metronidazol a distintos tiempos a partir de geles con 0.5%, 1% y 2% de Carbopol® 974P NF y una solución de 3 mg de metronidazol / mL de F.V.S. n = 3.

Se aprecia en la gráfica 6, que la cantidad de metronidazol liberado de los geles aumenta conforme pasa el tiempo hasta alcanzar alrededor del 100% a las 4 h. Cabe mencionar que los geles presentan una cinética de liberación muy similar.



En la tabla 9 se muestran los porcentajes de metronidazol liberados a diferentes tiempos. A simple vista, se puede apreciar que existen claras diferencias entre las cantidades liberadas a partir de los tres geles de Carbopol® 974P NF y la solución de metronidazol.

**Tabla 9.** Porcentaje liberado de metronidazol a partir de tres geles de concentración: 0.5%, 1% y 2% de Carbopol® 974P NF y una solución de metronidazol (3 mg / mL de F.V.S) a diferentes tiempos, n=3.

Muestra		Porcentaje liberado de metronidazol (Promedio ± Desv.Est.)					
		30 min	60 min	90 min	2 h	4 h	8 h
gel Carbopol® 974P NF	0.5%	49.99 ± 2.29	80.48 ± 2.92	88.43 ± 2.51	95.43 ± 0.56	100.09 ± 0.45	100.20 ± 0.20
	1.0%	48.42 ± 1.85	70.21 ± 1.71	83.04 ± 1.40	90.32 ± 0.70	98.92 ± 0.38	99.67 ± 0.50
	2.0%	48.77 ± 1.01	73.34 ± 0.70	84.96 ± 0.20	91.68 ± 0.18	99.22 ± 0.10	100.28 ± 0.37
Solución metronidazol	3mg/mL	71.20 ± 2.07	91.36 ± 0.52	96.92 ± 0.23	99.04 ± 0.23	99.15 ± 0.84	99.24 ± 0.70

Aun cuando el fármaco es libremente soluble en agua, se aprecia que al ser incorporado en el gel, las redes poliméricas retienen o retrasan la salida del fármaco. En contraste, para la solución del principio se observa la difusión continua del metronidazol, demostrando que la membrana de diálisis no retarda la salida del fármaco y que, por tanto, el retraso en la liberación del metronidazol en los geles se debe a la formulación. Con esto se comprueba que los geles bioadhesivos preparados pueden retardar la liberación del metronidazol (das Neves & Bahia, 2006). Aunque deben realizarse pruebas posteriores para determinar si este retraso en la liberación es significativo y favorece el efecto farmacológico. Sin embargo, es altamente probable que al incluirse el activo en un material viscoso y bioadhesivo se dificulte la eliminación del fármaco por los procesos de autolavado de la vagina, en comparación con la eliminación del fármaco en solución.

Para analizar el comportamiento de los perfiles de liberación *in vitro* se usaron los modelos matemáticos de Peppas y Higuchi, que nos permitieron conocer la cinética de liberación y velocidad que siguen los geles.

### 5.5 Modelos matemáticos

Peppas propuso un modelo matemático que describe la liberación del fármaco desde matrices de distintas formas geométricas:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K \cdot t^n$$

Donde  $K$  es la constante de velocidad de liberación que incorpora características estructurales y geométricas del sistema de liberación y  $n$  es el exponente que indica el mecanismo mediante el cual ocurre la liberación del fármaco (metronidazol). El valor del exponente  $n$  brinda información sobre la cinética de liberación del fármaco, por lo que si  $n$  es igual a 0.5, la liberación del fármaco tiene lugar a través de un fenómeno de difusión de tipo fickiano, si  $n$  toma valores entre 0.5 y 1 indica que la liberación del fármaco es debida a un mecanismo de difusión no fickiano o anómalo y cuando  $n$  es igual a 1, el mecanismo de liberación del fármaco depende del proceso de relajación de las cadenas poliméricas. La ecuación que se obtendría en este caso es una cinética de orden cero, independiente del tiempo, tabla 10 (Lowman & Peppas, 1999).

**Tabla 10.** Mecanismos de transporte y tipo de liberación de acuerdo al valor de “n” en el modelo semi-empírico de Peppas (Lowman & Peppas, 1999).

Valor de “n”	Mecanismo de Transporte	Tipo de liberación
0.5	Difusión Fickiana Únicamente para sistemas planos	Dependiente del tiempo $f(t^{1/2})$
$0.5 < n < 1$	Transporte No Fickiano (Anómalo)	Dependiente del tiempo $f(t^{n,1})$
1	Transporte Caso II	Independiente del tiempo (orden cero)
$n > 1$	Transporte Súper Caso II	Dependiente del tiempo $f(t^{n,1})$

Higuchi propuso un modelo matemático ampliamente utilizado para describir el proceso de velocidad de liberación controlada de fármacos en un sistema matricial, que cumple con la ley de Fick representada en la siguiente ecuación:

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

Donde  $M_t/M_\infty$  es la fracción de metronidazol liberada en un tiempo  $t$  y  $K$  es la constante de velocidad de liberación.

En la tabla 11 se muestran los valores correspondientes a los modelos matemáticos de Peppas y Higuchi. El valor que se obtiene de la constante  $n$  es cercano a 0.5 lo que implica que el metronidazol se libera del gel por difusión fickiana dependiente del tiempo. En la tabla 12 se muestra el análisis de varianza realizado a los valores obtenidos para  $n$ .

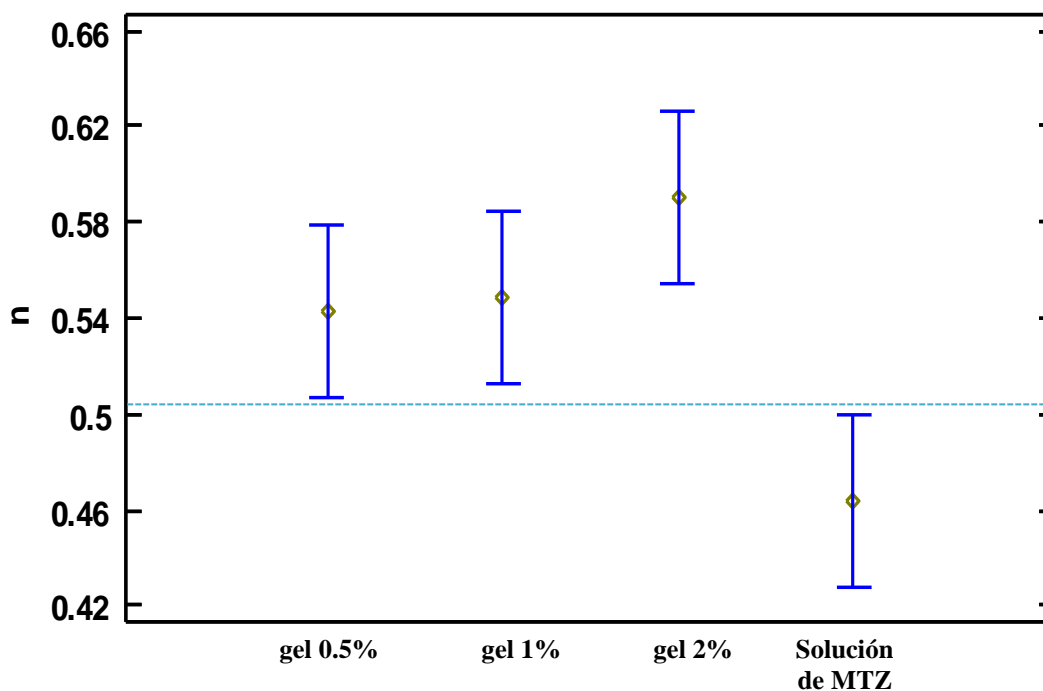
**Tabla 11.** Valores obtenidos de las constantes del modelo matemático de Peppas y Higuchi a partir de geles de 0.5%, 1% y 2%.de Carbopol® 974P NF.

gel de Carbopol® 974P NF	Muestra	Valor de $n$	$r^2$	Valor de $K_H$	$r^2$
0.5%	1	0.5827	0.9968	0.8239	0.9993
	2	0.5522	0.9925	0.6859	0.9982
	3	0.4629	0.9958	0.6691	0.9952
	<b>X</b>	<b>0.5326</b>	<b>0.9950</b>	<b>0.7263</b>	<b>0.9976</b>
1%	1	0.5865	0.9999	0.7163	0.9985
	2	0.5057	0.9937	0.7081	0.9943
	3	0.5544	0.9997	0.7427	0.9988
	<b>X</b>	<b>0.5468</b>	<b>0.9978</b>	<b>0.7221</b>	<b>0.9972</b>
2%	1	0.6172	0.9994	0.7254	0.9902
	2	0.5738	0.9998	0.7212	0.9933
	3	0.5801	0.9982	0.7339	0.9942
	<b>X</b>	<b>0.5898</b>	<b>0.9991</b>	<b>0.7268</b>	<b>0.9926</b>
Solución metronidazol 3 mg/mL	1	0.4874	0.9989	0.9220	0.9952
	2	0.4861	0.9989	0.7157	0.9972
	3	0.4170	0.9988	0.9352	0.9975
	<b>X</b>	<b>0.4635</b>	<b>0.9989</b>	<b>0.8576</b>	<b>0.9966</b>

Tabla 12. Análisis de varianza para  $n$  de Peppas.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Razón F	Valor P
Entre grupos	0.0252	3	0.0084	5.70	0.0219
Intra grupos	0.0118	8	0.0014		
Total (Corr.)	0.0370	11			

En la gráfica 7 se puede observar la diferencia que existe en los valores de  $n$  siendo similares en los geles y presentando una diferencia significativa en la solución.



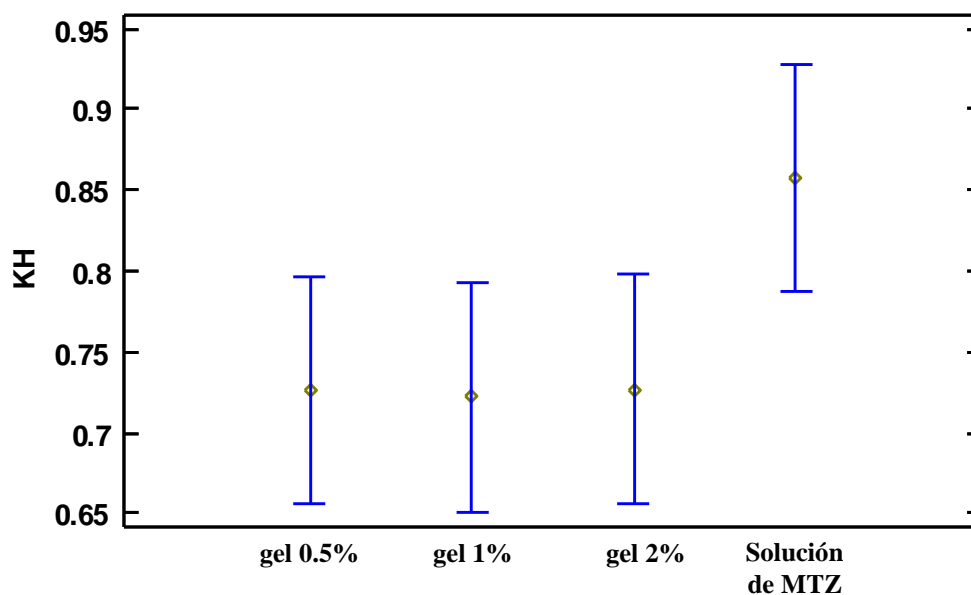
Gráfica 7. Medias e intervalo límites de la desviación estándar al 95% para  $n$ .

Se demostró mediante un análisis de varianza (tabla 13) que estadísticamente el valor P de la razón F es mayor o igual que 0.05, por ende, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las constantes de Higuchi ( $K_H$ ) con un valor de confianza del 95%. Por lo que se puede afirmar que la velocidad de liberación del metronidazol en los tres geles no es dependiente de la concentración de Carbopol® 974P NF.

Tabla 13. Análisis de varianza para  $K_H$  de Higuchi.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Razón F	Valor P
Entre grupos	0.0395	3	0.0131	2.32	0.1521
Intra grupos	0.0454	8	0.0056		
Total (Corr.)	0.0849	11			

En la gráfica 8 se puede observar que no existe diferencia estadística en cuanto a la velocidad de liberación ( $K_H$ ) del metronidazol entre los geles y la solución, con un valor de confianza del 95%.



Gráfica 8. Medias e intervalo límites de la desviación estándar al 95% para  $K_H$ .

La liberación del metronidazol es similar en las tres formulaciones de gel y aunque estadísticamente no hay diferencia con la solución se puede apreciar en la gráfica 6 que sí hay un ligero retraso en la velocidad de liberación del metronidazol incorporado en los geles.

Tugcu-Demiröz y colaboradores (2013) mencionan que el mecanismo de liberación de un fármaco a partir de matrices poliméricas hidrofílicas implica penetración del disolvente, hidratación e hinchamiento del polímero. En su estudio sobre el desarrollo de geles vaginales bioadhesivos encontraron que los modelos matemáticos expresaban el porcentaje de difusión de fármaco *in vitro* de todas las formulaciones que se desarrollaron.

Los valores que obtuvieron los autores de  $r^2$  mostraron claramente que la mejor linealidad se encontró en la gráfica de la ecuación de Higuchi, indicando la liberación del fármaco del gel como raíz cuadrada de un proceso dependiente del tiempo basado en una difusión Fickiana (tabla 14). La difusión está relacionada con el transporte del fármaco desde la matriz del gel al medio *in vitro* circundante, y depende de la concentración del fármaco. A medida que el gradiente varía, el fármaco se libera y la distancia para la difusión aumenta (Tugcu-Demiröz et al., 2013). Esto podría explicar por qué el metronidazol difunde a un ritmo considerablemente más lento.

**Tabla 14.** Valores obtenidos de  $r^2$  (Tugcu-Demiröz et al., 2013).

Gel	Valor de $K_H$	$r^2$
1	12.9	0.695
2	13.6	0.760
3	12.9	0.747
4	13.1	0.774
5	13.3	0.812
6	13.3	0.828
7	13.9	0.671

### **5.6 Fuerza adhesiva**

Al conjunto de interacciones físicas y químicas que se presentan en la interfase adhesivo – adherente se le conoce como “adhesión”. La adhesión implica la formación de enlaces atractivos entre dos sustratos que resisten la separación. La bioadhesión es un caso específico de adhesión en el que al menos uno de los dos sustratos implica un tejido biológico (Woertz et al., 2013).

La mucoadhesión se evaluó mediante una prueba de tracción, donde se midió la fuerza máxima (fuerza de desprendimiento), o el trabajo (trabajo de adhesión) necesario para separar un fragmento de tejido vaginal de una muestra de gel, después de un período inicial de contacto íntimo, que es indicativo del potencial mucoadhesivo del gel. Para esta prueba se requirió de un analizador de textura Brookfield CT3 que nos permitió medir las fuerzas involucradas en el proceso de desprendimiento. Se utilizó también un gel vaginal comercial que no requiere receta médica Epaq™, con la finalidad de observar si existe alguna diferencia entre los geles que se formularon y un gel comercial. Para iniciar con la prueba se definieron parámetros de estudio cambiando los valores: meta, carga de activación, velocidad test y velocidad post-test. Woertz et al 2013, en sus estudios de fuerza de adhesividad presentan una tabla de configuraciones con diferentes parámetros para las mediciones que se realizan en un analizador de textura (tabla 15). El objetivo de su trabajo fue definir parámetros para las mediciones cambiando los valores de la fuerza aplicada, el tiempo de contacto, carga de activación y la velocidad posterior a la prueba. Usaron geles de gelatina de diferentes concentraciones como geles modelo para imitar la mucosa vaginal. En las evaluaciones utilizaron una sonda cilíndrica, que se fijó al brazo índice, pero el diámetro de la sonda difería de 6 mm de diámetro a 20 mm de diámetro. Las mediciones se realizaron utilizando un tiempo predefinido (0.5, 2, 4, 6, 8, 10 min), una fuerza de 0.1 N y una velocidad de test de 1 mm / s. Los resultados mostraron una mayor interacción entre el tejido al aumentar el tiempo de contacto y la concentración de polímero al aplicar una presión por periodos mayores a 2 min aunque no exista una atracción entre el polímero y el tejido.

Por lo mencionado anteriormente se decidió utilizar en este trabajo un tiempo de contacto de 3 min haciendo referencia a los estudios de Woertz (2013).

**Tabla 15.** Parámetros para mediciones de fuerza adhesiva en un analizador de textura (Woertz et al., 2013).

Fuerza aplicada (N)	Tiempo de contacto (s)	Velocidad post-test (mm / s)	Temperatura (°C)
----	120-1200	0.1	37
0.1	30-600	1.0	No reportado
0.1	60	0.05	37
1.0	60	0.1	No reportado
0.5	60	0.1	No reportado
2.0	10	0.01	No reportado
0.1	60	1.0	37
0.5	60	0.1	Ambiente
2.0	180	1.0	Ambiente
2.0	100	0.01	No reportado

Se llevaron a cabo una serie de pruebas tomando como referencia las condiciones del trabajo de Woertz (tabla 15). Después de realizar esas pruebas preliminares, se obtuvieron los parámetros bajo los cuales se llevó a cabo el estudio y estos se muestran en la tabla 16.

**Tabla 16.** Parámetros utilizados para la evaluación de fuerza adhesiva de cuatro geles de 0.5, 1 y 2% de Carbopol® 974P NF.

Parámetros	Valores
Valor meta (mm)	0.5
Carga de activación (N)	0.7
Velocidad de test (mm)	0.5
Velocidad post-test (mm/seg)	0.05

En la tabla 17 se registraron los valores obtenidos de la fuerza adhesiva de los cuatro geles de concentración 0.5%, 1% y 2% de Carbopol® 974P NF.



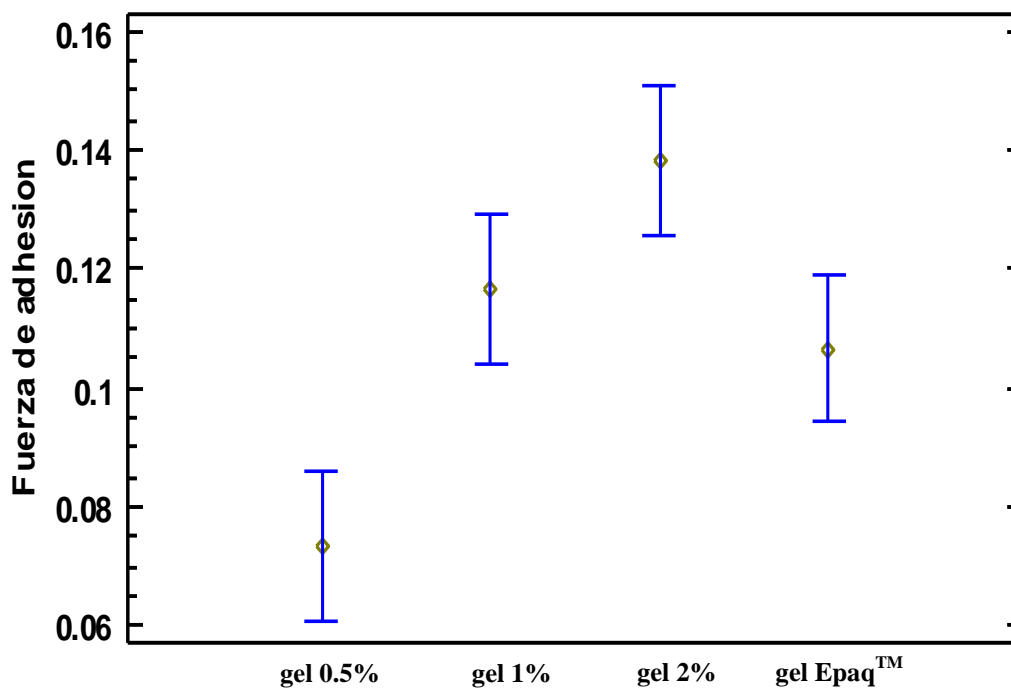
**Tabla 17.** Valores de fuerza de adhesión de geles de concentración: 0.5%, 1% y 2% de Carbopol® 974P NF.

Muestra	Fuerza adhesiva (N)			
	gel 0.5%	gel 1%	gel 2%	gel 2% Epaq™
<b>1</b>	0.07	0.12	0.16	0.14
<b>2</b>	0.07	0.10	0.11	0.14
<b>3</b>	0.06	0.12	0.13	0.15
<b>4</b>	0.08	0.11	0.15	0.15
<b>5</b>	0.07	0.11	0.16	0.15
<b>6</b>	0.06	0.14	0.16	0.14

Se analizaron los resultados mediante un análisis de varianza (tabla 18) y se demostró que el valor de P de la prueba F es menor que 0.05, existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 muestras con un nivel del 95% de confianza. En la gráfica 9 se observa que los geles de 1% y 2% de concentración de Carbopol® 974P NF presentan una mayor fuerza de adhesión en comparación con el gel 0.5% de Carbopol® 974P NF. Demostrando que entre mayor sea la concentración del polímero bioadhesivo mayor será su fuerza adhesiva.

**Tabla 18.** Análisis de varianza para fuerza de adhesión.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón F	Valor P
<b>Entre grupos</b>	0.0131	3	0.0043	10.12	0.0003
<b>Intra grupos</b>	0.0086	20	0.0004		
<b>Total (Corr.)</b>	0.0218	23			



**Gráfica 9.** Medias e intervalo límites de la desviación estándar al 95% para fuerza de adhesión.

Basándonos en el análisis estadístico se puede observar que no existe ninguna diferencia significativa entre los geles de mayor concentración que son los de 1% y 2%, pero sí existe una diferencia con respecto al de menor concentración (0.5%) como se aprecia en la gráfica 9. Esto se puede explicar con lo referido con Vallejo & Perilla (2008), en su revisión de elementos conceptuales para estudiar el comportamiento bioadhesivo en polímeros, los autores mencionan que existen factores asociados con el polímero que determinan su comportamiento bioadhesivo sobre el tejido, tales como:

- 1) Peso molecular, que juega un papel muy importante ya que al aumentar éste, la fuerza adhesiva del polímero crece.
- 2) Flexibilidad, se requiere un alto grado para lograr enredamientos con el mucus.
- 3) Capacidad de formación de puentes de hidrógeno, la mucoadhesión de un polímero se encuentra en función de la capacidad para formar este tipo de uniones.
- 4) Densidad de entrecruzamiento.

5) Carga.

6) Concentración del polímero bioadhesivo (en altas concentraciones, el polímero puede presentar poca bioadhesión).

7) Hidratación e hinchamiento.

8) Solubilidad.

Los polímeros bioadhesivos suelen presentar una mayor fuerza de adhesión conforme aumenta su concentración como se observa en los geles de 1% y 2% de Carbopol® 974P NF que al entrar en contacto con el tejido vaginal ejercen una mayor fuerza de desprendimiento contrario a los de baja concentración como el de 0.5%.

Existen factores indirectos que pueden afectar la unión bioadhesiva entre el gel y el tejido. Desde el punto de vista fisiológico, existen algunas consideraciones que pueden interferir sobre la bioadhesión y que se relacionan con la renovación natural de las moléculas de mucina de la capa de *mucus*, mismas que limitan el tiempo de residencia de los compuestos bioadhesivos sobre el tejido; esta renovación genera que los compuestos bioadhesivos sean desprendidos, independientemente de su fuerza adhesiva. Es de importancia considerar los factores asociados a estados patológicos ya que pueden afectar las propiedades fisicoquímicas del *mucus*; de acuerdo con la vía de administración, se puede o no efectuar una presión inicial sobre la superficie de aplicación del tejido, lo cual afecta la profundidad de la interpenetración (Vallejo & Perilla, 2008).

Al observar los resultados obtenidos podemos afirmar que la adhesión que se origina entre el gel y el tejido vaginal se ve favorecida conforme aumenta el tiempo de contacto y la concentración del polímero bioadhesivo.

### **5.7 Tiempo de contacto**

Para poder evaluar el tiempo de residencia de los tres geles formulados se requirió del uso de un desintegrador de tabletas descrito en la farmacopea. (United States Pharmacopeia USP 32). El equipo nos permitió analizar el tiempo que permanece adherido el gel de

Carbopol<sup>®</sup> 974P NF sobre el tejido vaginal de cerda. Se compararon los geles formulados con un gel de venta en el mercado que no requiere receta médica Epaq<sup>TM</sup>. En la tabla 19 se presentan los resultados obtenidos del tiempo de residencia de cada uno de los geles.

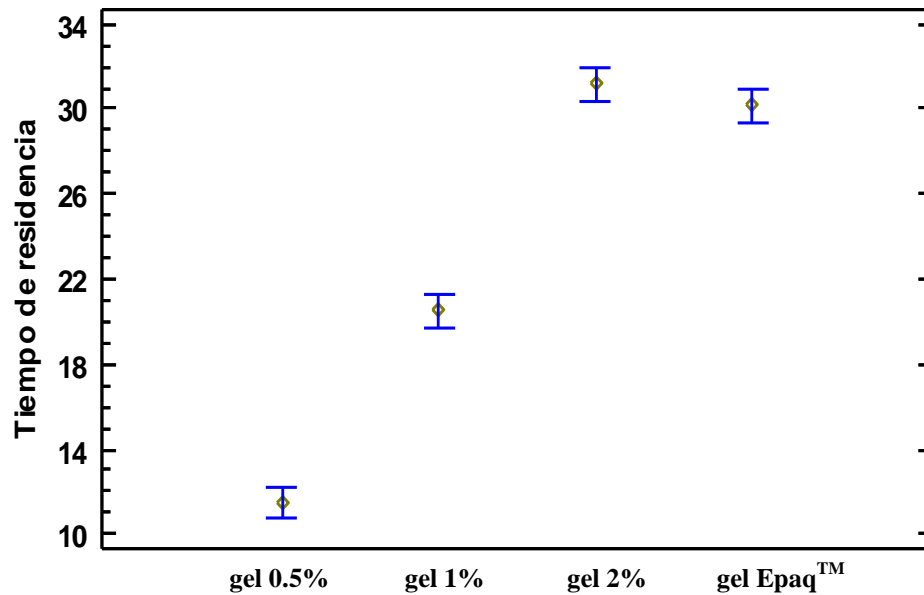
**Tabla 19.** Tiempos de residencia obtenidos de geles de concentración 0.5%, 1% y 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF.

Muestra	Tiempo de residencia (min)			
	gel 0.5%	gel 1%	gel 2%	gel 2% Epaq <sup>TM</sup>
<b>1</b>	12	21	32	30
<b>2</b>	12	20	30	28
<b>3</b>	11	20	31	30
<b>4</b>	11	20	29	31
<b>5</b>	10	21	32	29
<b>6</b>	13	21	33	33

Se analizaron los resultados mediante un análisis de varianza (tabla 20) y se demostró que el valor de P de la prueba F es menor que 0.05, por lo que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 variables con un nivel del 95% de confianza. En la gráfica 10 se puede observar como el tiempo de residencia varía entre los tres geles formulados. Los de concentración de 2% presentaron una mayor adhesión al tejido.

**Tabla 20.** Análisis de varianza para tiempo de residencia.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Razón F	Valor P
<b>Entre grupos</b>	1536.67	3	512.222	313.61	0.0000
<b>Intra grupos</b>	32.6667	20	1.63333		
<b>Total (Corr.)</b>	1569.33	23			



**Gráfica 10.** Medias e intervalo límites de la desviación estándar al 95% para tiempo de residencia.

Woertz y colaboradores (2013) mencionan que existen dos pasos en el proceso adhesivo que describe la interacción que existe entre los materiales mucoadhesivos y un tejido. En el paso 1, llamado etapa de contacto, se origina un contacto íntimo entre el gel bioadhesivo y el tejido vaginal. En algunos casos, estas dos superficies se pueden unir colocando un sistema de entrega dentro de la cavidad de la vagina. En el paso 2 que es la etapa de consolidación, se producen diversas interacciones fisicoquímicas originadas para consolidar y fortalecer la unión adhesiva, lo que conlleva a una adhesión prolongada.

Se ha observado que los materiales bioadhesivos se adhieren con mayor fuerza a las superficies sólidas y secas siempre que se activen por la presencia de humedad. La humedad plastificará de manera efectiva el sistema, permitiendo que las moléculas mucoadhesivas se liberen, se ajusten a la forma de la superficie y se adhieran predominantemente a los enlaces más débiles de Van der Waals y de hidrógeno. Por lo consiguiente, al aumentar la concentración del polímero bioadhesivo la adhesión es más

fuerte y el tiempo de contacto entre el gel al tejido aumenta. Se puede observar en los resultados que la concentración de Carbopol® 974P NF influye en el tiempo de residencia entre el gel bioadhesivo y el tejido vaginal, permaneciendo por mucho más tiempo los geles de concentración de 2% de Carbopol® 974P NF.

Se ha demostrado que los geles bioadhesivos más concentrados se retienen en las superficies del tejido durante períodos prolongados y los de menor concentración son eliminados mucho más rápido (Woertz et al., 2013). Como se observa en los geles de concentración de 0.5% y 1% de Carbopol® 974P NF desarrollados en este trabajo, presentan una menor adhesión al tejido debido al proceso mediante el cual las dispersiones poliméricas se extienden y se retienen en el tejido vaginal. La interacción del semisólido con fluidos biológicos en términos de velocidad y extensión de la mezcla y disolución, también serán factores clave que influyen en la retención.

Bassi & Kaur 2015, utilizan este mismo método para el estudio de tiempo de residencia de una formulación semisólida sobre tejido vaginal de cerda, para así conocer la capacidad que tienen diversos materiales de adherirse al tejido, permitiendo que la concentración de fármaco liberado sea mayor en el sitio de acción.

Por lo mencionado anteriormente podemos afirmar que los geles de mayor concentración de un polímero bioadhesivo, en este caso Carbopol® 974P NF, pueden aumentar el contacto por mucho más tiempo al tejido vaginal y así prolongar el efecto del fármaco.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los estudios de liberación *in vitro* y en los estudios *ex vivo* como fuerza de adhesión y tiempo de residencia. Se decidió elegir el gel de concentración al 2% de Carbopol® 974P NF. A este se le realizó la prueba de cinética de permeación para conocer la cantidad de metronidazol que atraviesa al tejido vaginal y así comprobar que el efecto que se espera es local.

### **5.8 Cinética de permeación *in vitro***

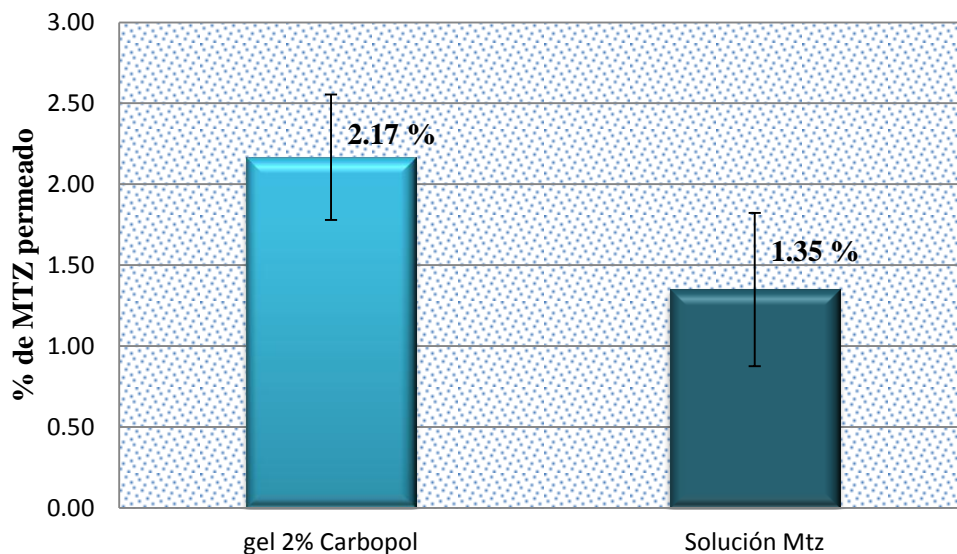
Se sabe que los fármacos se transportan a través de la vagina por medio de distintas rutas, transcelular e intracelular o por mecanismo de transporte vesicular y mediado por

receptores. Cabe mencionar que existe diversos factores fisiológicos y fisicoquímicos que afectan la absorción del fármaco a través del epitelio vaginal como: cambios cíclicos, grosor, porosidad del epitelio, volumen, viscosidad, pH del fluido vaginal, peso molecular, lipofilia e ionización. La prueba de permeabilidad es requerida para los geles que son destinados a lograr una absorción sistémica. En estudios de permeabilidad es requerido el uso de tejido ya sea humana o animal para estudios *in vitro* debido a que el conocimiento exacto del comportamiento farmacocinético y farmacodinámico de los geles en el tejido vaginal es fundamental para determinar que se obtiene un beneficio clínico (Demiröza, Acartürka & Erdogan, 2013).

Después de la evaluación de las formulaciones de gel en términos de pH, viscosidad, cinética de liberación y propiedades de bioadhesión, la formulación de gel de 2% de Carbopol<sup>®</sup> fue elegida para los estudios de permeación de fármaco.

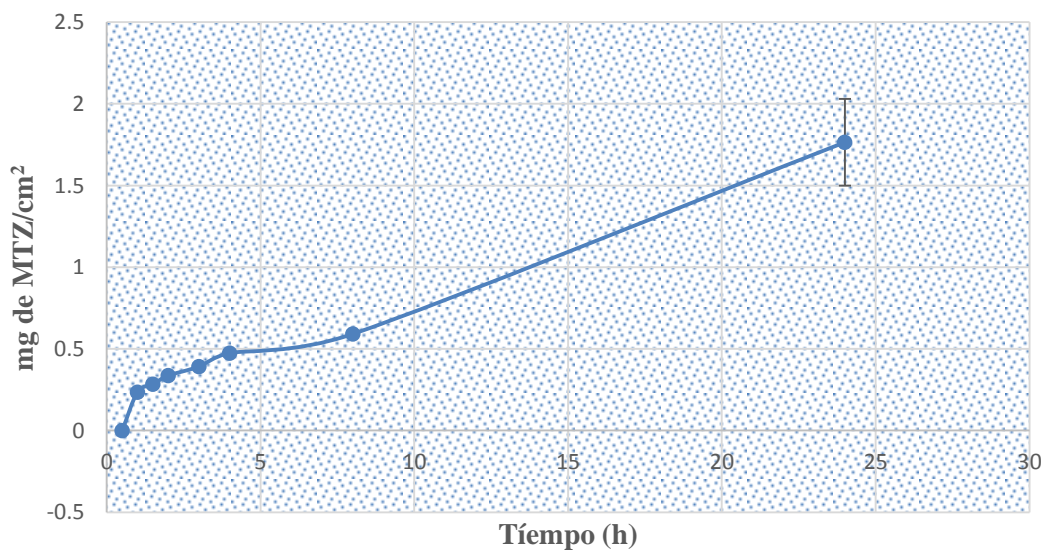
Para esta prueba fueron requeridas celdas tipo Franz. Baena y colaboradores (2012) afirman que las celdas de Franz permiten evaluar la cinética de liberación a partir de diferentes sistemas farmacéuticos de moléculas biológicamente activas. Por lo tanto, el sistema de difusión de celdas de Franz generalmente se considera el método *in vitro* más apropiado para evaluar la liberación de fármacos de geles tópicos para uso vaginal. El tejido utilizado aquí como en las demás pruebas fue tejido vaginal de cerda debido a su morfología general que es comparable con la piel humana (Machado et al., 2015). El estudio se realizó por quintuplicado tanto para el gel al 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF como para una solución de metronidazol.

El efecto del gel formulado al 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF es de tipo local permitiendo que el metronidazol actué en el sitio de acción, por lo que se esperaba que no existiera permeación. Sin embargo, hay una permeación muy baja tanto del gel como de la solución; 2.17% para el gel y 1.35% para la solución (gráfica 11). En el gel de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF la permeación se origina debido a que el gel está formado por diversos componentes que crean canales que permiten que las moléculas de metronidazol atraviesen fácilmente. Mientras que en la solución no existe algún agente que facilite su penetración o que la mantenga adherida al tejido y, por ende, gran parte de la solución se pierde una vez administrado (Cook & Brown, 2018).



**Gráfica 11.** Porcentaje total de metronidazol permeado a partir de un gel de 2% de Carbopol® 974P NF y de una solución de 4 mg de metronidazol / mL de F.V.S.

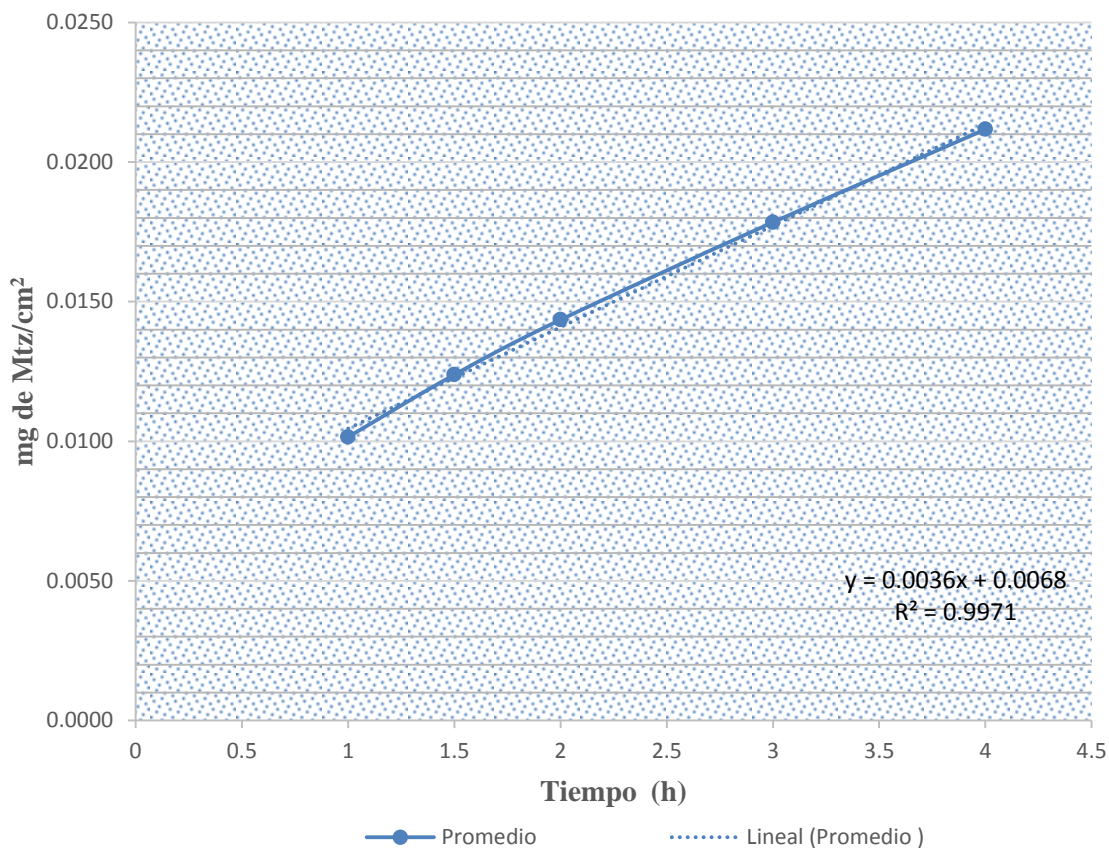
Con los datos obtenidos se construyó la gráfica de metronidazol permeado por unidad de área expuesta en función del tiempo, a partir de esta gráfica solo se seleccionaron las primeras ocho horas y con ellas se obtiene una línea recta con la finalidad de obtener el flujo (J) de metronidazol desde los sistemas hacia el medio receptor como se muestra en la gráfica 12.





**Gráfica 12.** Cinética de permeación de metronidazol a través del tejido vaginal de cerda, n = 6.

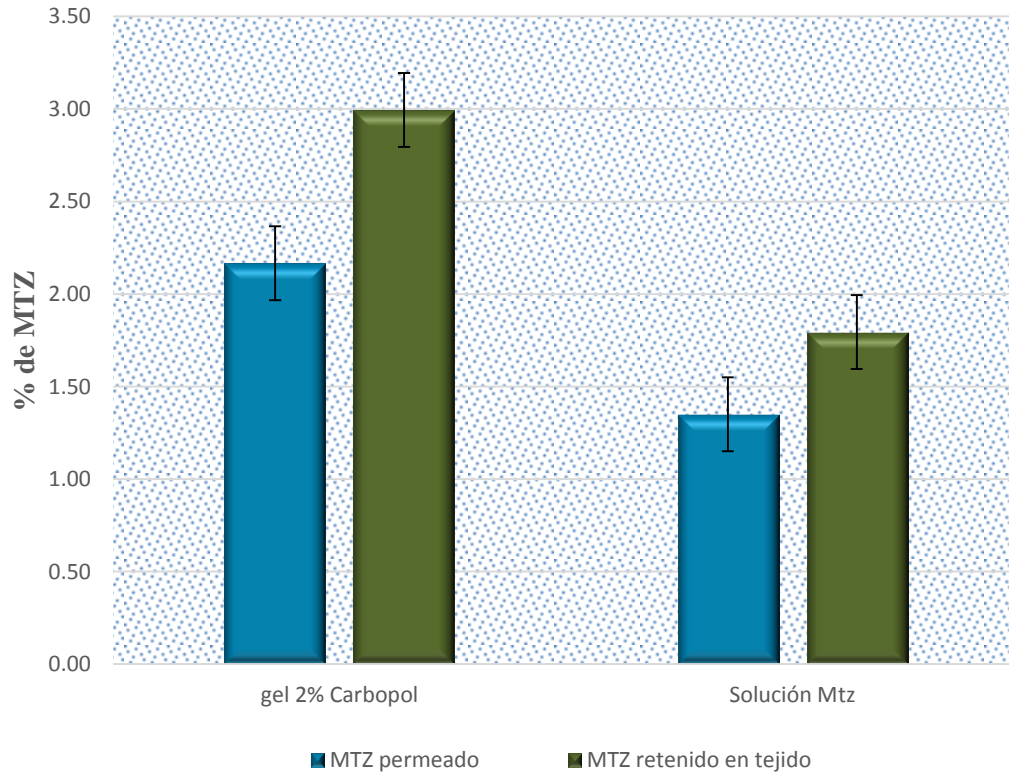
A partir de la gráfica 13 se obtuvo un flujo de  $0.0036 \text{ mg cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$  con un coeficiente de correlación de 0.9971.



**Gráfica 13.** mg de metronidazol por unidad de área con respecto al tiempo, n = 5.

El porcentaje de activo retenido en el tejido de gel al 2% de Carbopol® 974P NF fue de 2.99% y para la solución de 4 mg de metronidazol / mL de F.V.S fue de 1.79% (grafica 14). Los datos fueron corregidos con el porcentaje de recobro obtenido para el método analítico, utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de MTZ retenido corregido} = \frac{\% \text{ de MTZ retenido}}{\% \text{ de recobro}} * 100$$



**Gráfica 14.** Porcentaje de metronidazol retenido y permeado del tejido vaginal en los estudios de liberación *in vitro*.

Al observar la gráfica 14 se observa que el porcentaje de metronidazol retenido en el tejido con el gel al 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF es mayor con el 3% en comparación al retenido de la solución de 1.80%. Debido a la adhesión que se origina entre el tejido y el gel se permite actuar por mucho más tiempo en el sitio de acción, y así tener un porcentaje mayor de retención a diferencia de la solución que no tiene algún agente que le proporcione un mayor contacto en el tejido vaginal (das Neves et al., 2015). La cantidad permeada de metronidazol tanto del gel como de la solución son bajas a diferencia de las retenidas. La mayor parte del metronidazol incorporado en el gel permaneció en el tejido vaginal de cerca sin ser permeado dando como resultado un efecto local, como se esperaba.

## 6. CONCLUSIONES

Se elaboraron y caracterizar tres geles bioadhesivos con Carbopol<sup>®</sup> 974P NF (0.5, 1.0 y 2.0 % p/p) formulados con metronidazol que fueron evaluados mediante métodos *ex vivo* y comparados con un gel comercial de nombre Epaq<sup>™</sup>. Solo el gel de 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF fue elegido por sus propiedades fisicoquímicas para ser evaluado mediante una cinética de permeación *in vitro*, lo que nos permitió compararlo con una solución de metronidazol y observar a si la diferencia que existe entre la permeación y retención sobre el tejido vaginal.

Los geles elaborados presentaron una apariencia física similar, pero en viscosidad son muy distintos, siendo el de concentración de 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF el que presenta una mayor viscosidad.

Los perfiles de liberación del principio activo demostraron que el porcentaje de metronidazol liberado de los tres tipos de geles no presentaron alguna diferencia significativa con el tiempo. Al compararlos con una solución de 3 mg / mL de F.V.S. se observó que el porcentaje liberado de metronidazol en la solución es mayor que en los geles. Además, la liberación de metronidazol *in vitro* se ve retrasada si este activo se incorpora en geles de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF.

La fuerza de adhesión que se ejerce entre el gel y el tejido se ve favorecida en concentraciones mayores a 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF.

Las formulaciones con mayor proporción de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF prolongan el tiempo de residencia en tejido vaginal.

El fármaco incorporado en los geles es capaz de permear a través del tejido vaginal en un 2.17%, lo que significa que no atraviesa con facilidad el tejido vaginal y, por ende, se favorece un efecto local. El porcentaje de retención del metronidazol en el tejido vaginal fue de 2.99%.

## 7. REFERENCIAS

- Bachhav, G.Y., Patravale, B.V. (2009). Microemulsion based vaginal gel of fluconazole: Formulation, in vitro and in vivo evaluation. *International Journal of Pharmaceutic*, 365, 175 – 179.
- Baena, Y., Dallos, J.L., Manzo, H.R., Ponce, F.L. (23 de 01 de 2012). Estandarización de celdas de Franz para la realización de ensayos de liberación de fármacos a partir de complejos conpolielectrolitos, INTECH:[https://www.researchgate.net/publication/272149674\\_Estandarizacion\\_de\\_celdas\\_de\\_Franz\\_para\\_la\\_realizacion\\_de\\_ensayos\\_de\\_liberacion\\_de\\_farmacos\\_a\\_partir\\_de\\_complejos\\_con\\_polielectrolitos](https://www.researchgate.net/publication/272149674_Estandarizacion_de_celdas_de_Franz_para_la_realizacion_de_ensayos_de_liberacion_de_farmacos_a_partir_de_complejos_con_polielectrolitos).
- Bassi, P., Kaur, G. (2015). Bioadhesive vaginal drug delivery of nystatin using a derivatized polymer: Development and characterization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 96, 174 – 182.
- Bendesky, A., Menéndez, D. (2001). Metronidazol: una visión integral. *Facultad de Medicina, UNAM*. 44, 255 – 258. <http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no44-6/RFM44605.pdf>.
- Bommareddy, S.G., Paker - Leggs, S., Saripella, K.K., Neau, H.S. (2006). Extruded and spheronized beads containing Carbopol® 974P to deliver nonelectrolytes and salts of weakly basic drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 321, 62 – 69.
- Bonacucina, G., Martelli, S., Palmieri, F.G. (2004). Rheological, mucoadhesive and release properties of Carbopol® gels in hydrophilic cosolvents. *International Journal of Pharmaceutics*, 282, 115-116.

- Caramella, C., Rossi, S., Ferrari, F., Bonferoni, M., Sandri, G. (2015). Mucoadhesive and thermogelling systems for vaginal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 92, 3-7.
- Cooka, T.M., Brown, B.M. (2018). Polymeric gels for intravaginal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 270, 145 – 154.
- das Neves J., Nunes R., Machado A., Sarmiento B. (2015). Polymer – based nanocarriers for vaginal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 92, 53 – 70.
- das Neves, J., Bahia, M.F. (2006). Gels as vaginal drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 318, 1 – 6.
- Demiröza, T. F., Acartürka, F., Erdogan, D. (2013). Development of long-acting bioadhesive vaginal gels of oxybutynin: Formulation, *in vitro* and *in vivo* evaluations. *International Journal of Pharmaceutics*, 457, 25 – 34.
- *Diccionario de Especialidades Farmacéuticas PLM.* (s.f.). (roc-web.com, Productor) Recueperado el 2 de Octubre de 2016, de <http://www.medicamentosplm.com/>.
- Edsman, K., & Hägerström, H. (2005). Pharmaceutical applications of mucoadhesión for the nonoral routers. *Journal of Pharmacology*, 57, 2- 26.
- Ensign, M., Cone, R., & Hanes, J. (2014). Nanoparticle-based drug delivery to the vagina: A review. *Journal of Controlled Release*, 501-506.
- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (11 ed.). (2014). Secretaria de Salud, México: Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

- Gafiuanu, A.C., Filip, D., Cernatescu, C., Ibanescu, C., Danu, M., Pâslaru, E., Rusu, D., Tuchiluş, G.C., & Macocinschi, D. (2016). Formulation and evaluation of anise-based bioadhesive vaginal gels. *International Journal of Pharmaceutics*, 83, 485-486.
- Grah, A.A., Bouchemal, K., Koffi, A., Agnely, F., Zhang, M., Djabourov, M., Ponchel, G. (2010). Formulation of mucoadhesive vaginal hydrogels insensitive to dilution with vaginal fluids.
- Koeppen, M., & Staton, R. B. (2009). *Fisiología* (6 ed.). España: Elsevier.
- Lowman, M. y Peppas, N. A. (1999). “Hydrogels” en *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*, Vol. 1. (Mathiowitz, E., ed) John Wiley & Sons, Inc. E. U. A, 397-418.
- Machado, M.R., Oliveira, P.A., Gasper, C., Oliveira, M.J., & Oliveira, P.R. (2015). Studies and methodologies on vaginal drug permeation. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 92, 3 - 5.
- Nyirjesy, P., McIntosh, M.J., Gattermeir, D.J., Schumacher, R.J., Steinmetz, J.I., Joffrion, J.L. (2006). The effects of intravaginal clindamycin and metronidazole therapy on vaginal lactobacilli in patients with bacterial vaginosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 194, 1278 – 1280.
- Ochiuz, L., Grigoras, A.G., Ghiciuc, C.M. (4 de 03 de 2015). Hydrophilic Matrix Tablets Based on Carbopol® for Improving the Oral Bioavailability of Sodium Alendronate - In vitro and In vivo Assessment. Recuperado el 26 de 10 de 2017, INTECH:<https://www.intechopen.com/books/advances-in-osteoporosis/hydrophilic-matrix-tablets-based-on-carbopol-for-improving-the-oral-bioavailability-of-sodium-alendr#article-front>.

- Pavelic, Z., Skalko-Basnet, N., & Jalsenjak, I.J. (2005). Characterisation and *in vitro* evaluation of bioadhesive liposome gels for local therapy of vaginitis. *International Journal of Pharmaceutics*, 301, 141 – 147.
- Perea, E.J. (25 de 05 de 2010). Infecciones del aparato genital femenino: vaginitis, vaginosis y cervicitis. Recuperado el 25 de 10 de 2016, de Facultad de Medicina UNAM:[http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Vaginitis\\_vaginosis\\_cervicitis\\_Medicine2010.pdf](http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Vaginitis_vaginosis_cervicitis_Medicine2010.pdf).
- Silverthorn, D.U. (2009). Fisiología humana (4 ed.). Argentina. Panamericana.
- Singh, V.K., Anis, A., Banerjee, I., Pramanik, K., Bhattacharya, M.K., Pal, K. (2014). Preparation and characterization of novel Carbopol<sup>®</sup> based bigels for topical delivery of metronidazole for the treatment of bacterial vaginosis. *Materials Science and Engineering C*. 44, 151 – 158.
- Tortora, D. (2013). Principios de anatomía y fisiología (13 ed.). México, D.F.: Panamericana.
- Tugcu-Demiröza, F., Acartürka, F.,Erdogan, D., (21013). Development of long-acting bioadhesive vaginal gels of oxybutynin: Formulation, in vitro and in vivo evaluations. *International Journal of Pharmaceutics*, 457, 25–39.
- *United States Pharmacopeia 32 NF 27* (37 ed.). (2009). Maryland, United States: United State Pharmacopeial Convention.
- Vallejo, D.B., & Perilla, E.J. (22 de septiembre de 2008). rccqf Elementos conceptuales para estudiar el comportamiento bioadhesivo en polímeros. Recuperado el 08 de 02 de 2017, de Scientific Electronic Library Online: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v37n1/v37n1a03.pdf>.

- Woertz, C., Preis, M., Breitreutz, J., Kleinebudde, P. (2013). Assessment of test methods evaluating mucoadhesive polymers and dosage forms: An overview. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 85, 843 – 849.



## 8. ANEXOS

### Anexo I

#### Elaboración de fluido vaginal simulado (F.V.S)

En un vaso de precipitados de 1L se colocaron 800 mL de agua desionizada. Se fueron adicionando cada uno de los componentes de la formulación al vaso con agitación magnética. Una vez disueltos los componentes, el pH de la solución se ajustó a 4.2 con HCl. Después de esto la solución se llevó a un volumen de 1000 mL para posteriormente vaciarla en un frasco de vidrio y guardarla en refrigeración.

En la tabla A1 se presenta la formulación de F.V.S a pH = 4.2 que se utilizó para este proyecto (Grah et al., 2010).

**Tabla A1.** Fluido vaginal simulado a pH = 4.2

<b>Componentes</b>	<b>Cantidad (g)</b>
NaCl	3.51
KOH	1.40
Ca (OH) <sub>2</sub>	0.22
Ac. Láctico	2.00
Ac. Acético	1.00
Glicerina	0.16
Urea	1.40
Glucosa	5.00
Agua destilada	cbp 1L

## Anexo II Cinética de liberación

**Tabla A2.** Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 0.5% Carbopol® 974P NF, de la réplica 1.

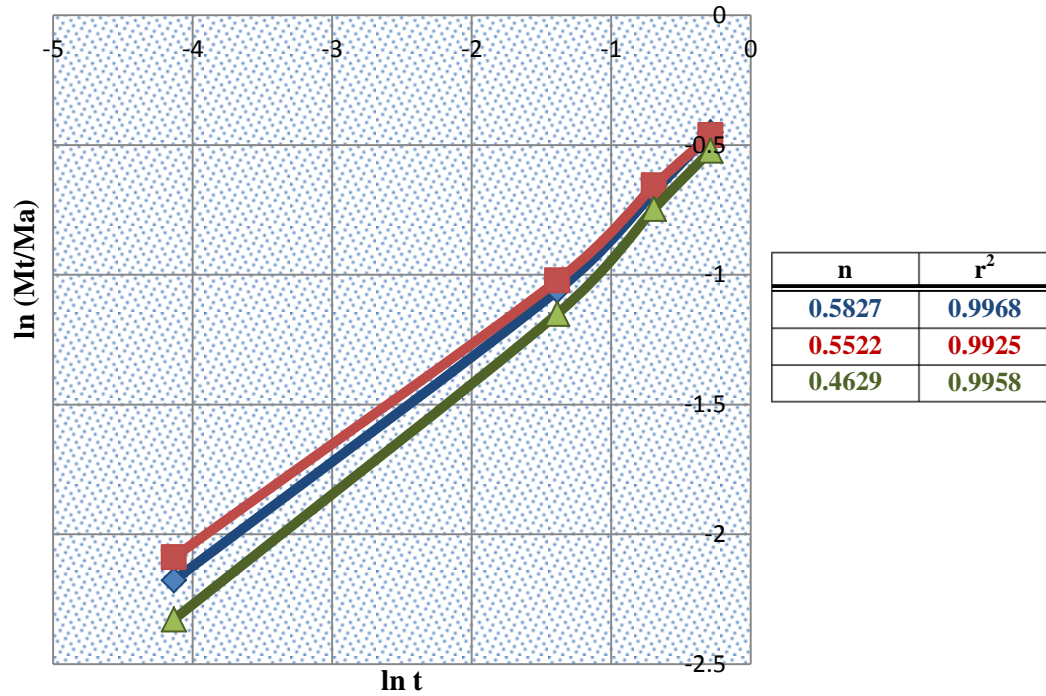
Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							t 1/2	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
<b>0.016</b>	0.0037	0.3743	0.0000	0.0000	0.3743	11.3280	0.1265	0.1133	-4.1352	-2.1779
<b>0.25</b>	0.0113	1.1328	0.0112	0.0112	1.1440	34.6214	0.5000	0.3462	-1.3863	-1.0607
<b>0.50</b>	0.0163	1.6284	0.0340	0.0452	1.6736	50.6470	0.7071	0.5065	-0.6931	-0.6803
<b>0.75</b>	0.0201	2.0104	0.0489	0.0941	2.1045	63.6880	0.8660	0.6369	-0.2877	-0.4512
<b>1</b>	0.0244	2.4417	0.0603	0.1544	2.5961	78.5641	1.0000	0.7856	0.0000	-0.2413
<b>1.5</b>	0.0273	2.7349	0.0733	0.2276	2.9625	89.6532	1.2247	0.8965	0.4055	-0.1092
<b>2</b>	0.0285	2.8540	0.0820	0.3097	3.1637	95.7424	1.4142	0.9574	0.6931	-0.0435
<b>4</b>	0.0290	2.8956	0.0856	0.3953	3.2909	99.5928	2.0000	0.9959	1.3863	-0.0041
<b>8</b>	0.0282	2.8219	0.0869	0.4822	3.3040	99.9893	2.8284	0.9999	2.0794	-0.0001
<b>24</b>	0.0274	2.7405	0.0847	0.5668	3.3074	100.0899	4.8990	1.0009	3.1781	0.0009
<b>25</b>	0.0266	2.6554	0.0822	0.6490	3.3045	100.0021	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000

**Tabla A3.** Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 0.5% Carbopol® 974P NF, de la réplica 2.

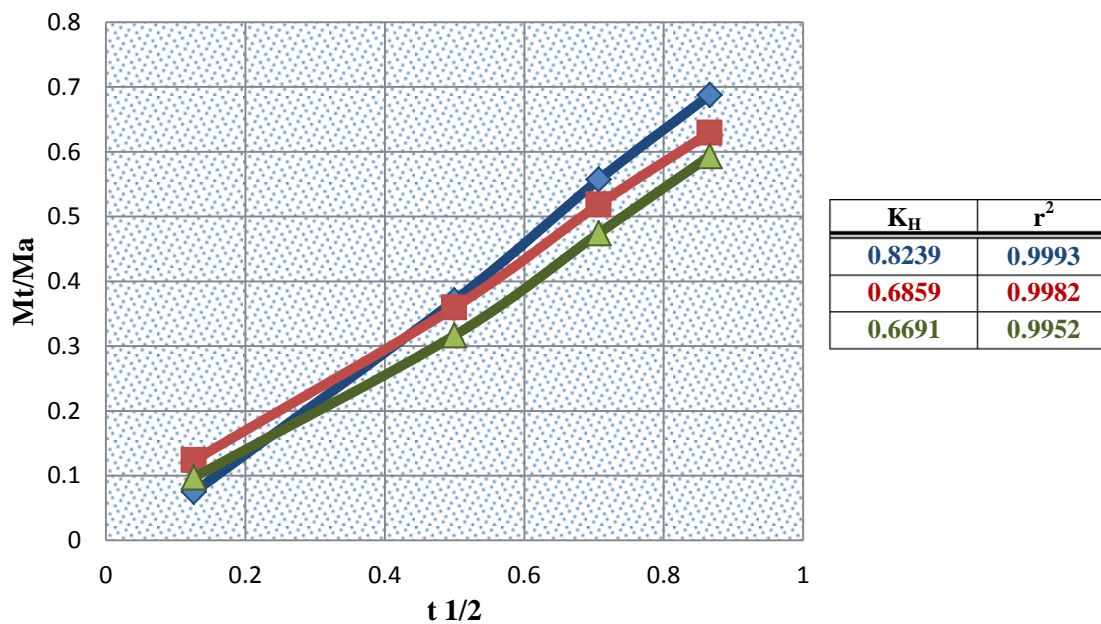
Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							$t^{1/2}$	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
<b>0.016</b>	0.0042	0.4216	0.0000	0.0000	0.4216	12.3846	0.1265	0.1238	-4.1352	-2.0887
<b>0.25</b>	0.0121	1.2122	0.0126	0.0126	1.2249	35.9807	0.5000	0.3598	-1.3863	-1.0222
<b>0.50</b>	0.0172	1.7173	0.0364	0.0490	1.7663	51.8838	0.7071	0.5188	-0.6931	-0.6562
<b>0.75</b>	0.0204	2.0426	0.0515	0.1005	2.1431	62.9536	0.8660	0.6295	-0.2877	-0.4628
<b>1</b>	0.0253	2.5287	0.0613	0.1618	2.6905	79.0328	1.0000	0.7903	0.0000	-0.2353
<b>1.5</b>	0.0283	2.8294	0.0759	0.2377	3.0671	90.0954	1.2247	0.9010	0.4055	-0.1043
<b>2</b>	0.0294	2.9373	0.0849	0.3226	3.2598	95.7558	1.4142	0.9576	0.6931	-0.0434
<b>4</b>	0.0301	3.0091	0.0881	0.4107	3.4198	100.4556	2.0000	1.0046	1.3863	0.0045
<b>8</b>	0.0292	2.9165	0.0903	0.5009	3.4174	100.3849	2.8284	1.0038	2.0794	0.0038
<b>24</b>	0.0283	2.8257	0.0875	0.5884	3.4141	100.2880	4.8990	1.0029	3.1781	0.0029
<b>25</b>	0.0273	2.7311	0.0848	0.6732	3.4043	100.0000	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000

**Tabla A4.** Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 0.5% Carbopol® 974P NF, de la réplica 3.

Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							$t^{1/2}$	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
<b>0.016</b>	0.0035	0.3516	0.0000	0.0000	0.3516	9.7516	0.1265	0.0975	-4.1352	-2.3278
<b>0.25</b>	0.0113	1.1309	0.0105	0.0105	1.1415	31.6561	0.5000	0.3166	-1.3863	-1.1503
<b>0.50</b>	0.0167	1.6662	0.0339	0.0445	1.7107	47.4422	0.7071	0.4744	-0.6931	-0.7457
<b>0.75</b>	0.0204	2.0445	0.0500	0.0945	2.1389	59.3197	0.8660	0.5932	-0.2877	-0.5222
<b>1</b>	0.0287	2.8673	0.0613	0.1558	3.0231	83.8392	1.0000	0.8384	0.0000	-0.1763
<b>1.5</b>	0.0284	2.8427	0.0860	0.2418	3.0845	85.5428	1.2247	0.8554	0.4055	-0.1562
<b>2</b>	0.0309	3.0905	0.0853	0.3271	3.4176	94.7796	1.4142	0.9478	0.6931	-0.0536
<b>4</b>	0.0319	3.1945	0.0927	0.4198	3.6143	100.2360	2.0000	1.0023	1.3863	0.0023
<b>8</b>	0.0310	3.0980	0.0958	0.5156	3.6137	100.2185	2.8284	1.0022	2.0794	0.0022
<b>24</b>	0.0301	3.0091	0.0929	0.6086	3.6177	100.3306	4.8990	1.0033	3.1781	0.0033
<b>25</b>	0.0291	2.9070	0.0903	0.6989	3.6059	100.0016	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000



**Gráfica A1.** Modelo de Peppas empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 0.5% de Carbopol® 974P NF.



**Gráfica A2.** Modelo de Higuchi empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 0.5% de Carbopol® 974P NF.

**Tabla A5.** Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 1% Carbopol® 974P NF, de la réplica 1.

Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							$t^{1/2}$	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
<b>0.016</b>	0.0022	0.2192	0.0000	0.0000	0.2192	6.1002	0.1265	0.0610	-4.1352	-2.7969
<b>0.25</b>	0.0109	1.0855	0.0066	0.0066	1.0921	30.3890	0.5000	0.3039	-1.3863	-1.1911
<b>0.50</b>	0.0163	1.6321	0.0326	0.0391	1.6713	46.5061	0.7071	0.4651	-0.6931	-0.7656
<b>0.75</b>	0.0201	2.0142	0.0490	0.0881	2.1023	58.5004	0.8660	0.5850	-0.2877	-0.5361
<b>1</b>	0.0231	2.3055	0.0604	0.1485	2.4540	68.2874	1.0000	0.6829	0.0000	-0.3814
<b>1.5</b>	0.0271	2.7084	0.0692	0.2177	2.9261	81.4228	1.2247	0.8142	0.4055	-0.2055
<b>2</b>	0.0292	2.9183	0.0813	0.2990	3.2173	89.5260	1.4142	0.8953	0.6931	-0.1106
<b>4</b>	0.0315	3.1529	0.0876	0.3865	3.5394	98.4887	2.0000	0.9849	1.3863	-0.0152
<b>8</b>	0.0308	3.0810	0.0946	0.4811	3.5621	99.1206	2.8284	0.9912	2.0794	-0.0088
<b>24</b>	0.0302	3.0167	0.0924	0.5735	3.5902	99.9031	4.8990	0.9990	3.1781	-0.0010
<b>25</b>	0.0293	2.9297	0.0905	0.6640	3.5937	100.0004	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000

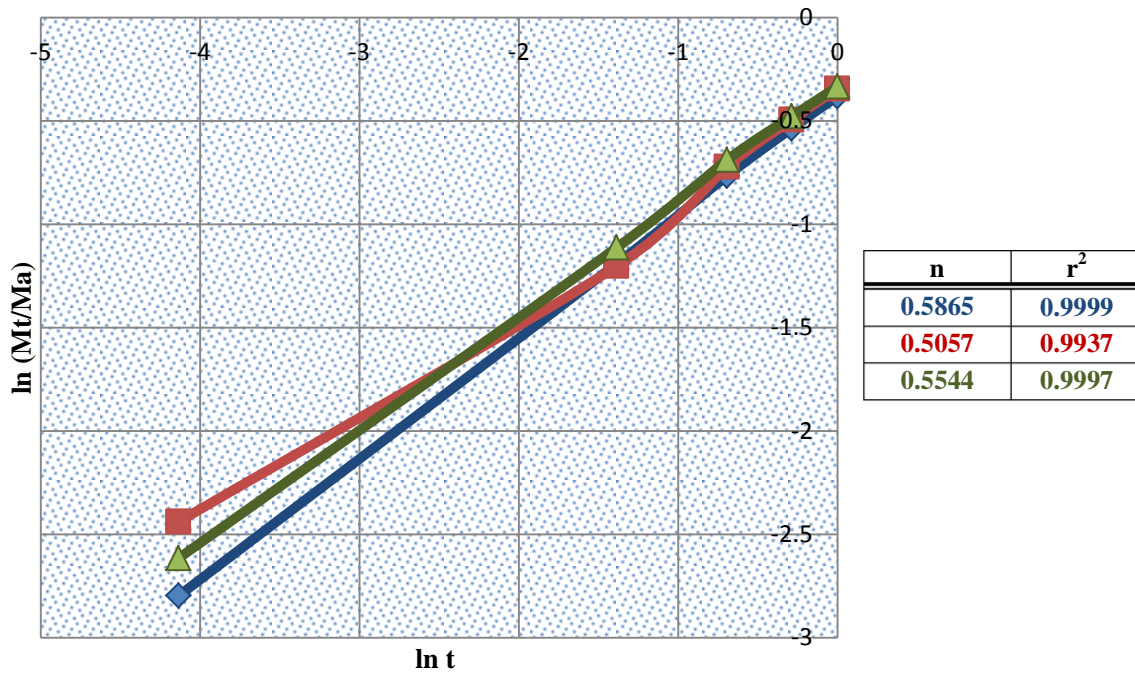
**Tabla A6.** Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 1% Carbopol® 974P NF, de la réplica 2.

Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							$t^{1/2}$	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
<b>0.016</b>	0.0031	0.3081	0.0000	0.0000	0.3081	8.7266	0.1265	0.0873	-4.1352	-2.4388
<b>0.25</b>	0.0105	1.0515	0.0092	0.0092	1.0607	30.0416	0.5000	0.3004	-1.3863	-1.2026
<b>0.50</b>	0.0167	1.6738	0.0315	0.0408	1.7145	48.5597	0.7071	0.4856	-0.6931	-0.7224
<b>0.75</b>	0.0206	2.0615	0.0502	0.0910	2.1525	60.9638	0.8660	0.6096	-0.2877	-0.4949
<b>1</b>	0.0235	2.3471	0.0618	0.1528	2.5000	70.8046	1.0000	0.7080	0.0000	-0.3453
<b>1.5</b>	0.0274	2.7368	0.0704	0.2233	2.9600	83.8344	1.2247	0.8383	0.4055	-0.1763
<b>2</b>	0.0289	2.8938	0.0821	0.3054	3.1991	90.6061	1.4142	0.9061	0.6931	-0.0987
<b>4</b>	0.0311	3.1075	0.0868	0.3922	3.4997	99.1182	2.0000	0.9912	1.3863	-0.0089
<b>8</b>	0.0304	3.0394	0.0932	0.4854	3.5248	99.8300	2.8284	0.9983	2.0794	-0.0017
<b>24</b>	0.0296	2.9618	0.0912	0.5766	3.5384	100.2161	4.8990	1.0022	3.1781	0.0022
<b>25</b>	0.0287	2.8654	0.0889	0.6654	3.5308	100.0006	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000

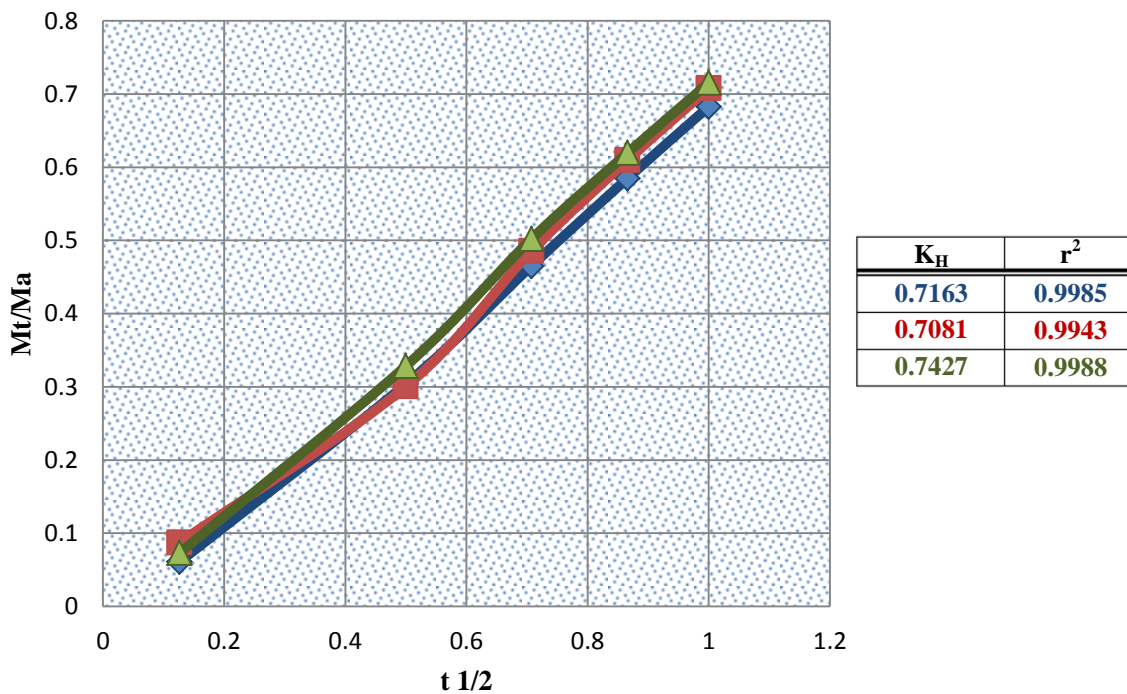
**Tabla A7.** Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 1% Carbopol<sup>®</sup> 974P NF, de la réplica 3.

Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							$t^{1/2}$	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
<b>0.016</b>	0.0026	0.2646	0.0000	0.0000	0.2646	7.3173	0.1265	0.0732	-4.1352	-2.6149
<b>0.25</b>	0.0118	1.1801	0.0079	0.0079	1.1880	32.8520	0.5000	0.3285	-1.3863	-1.1132
<b>0.50</b>	0.0177	1.7721	0.0354	0.0433	1.8155	50.2021	0.7071	0.5020	-0.6931	-0.6891
<b>0.75</b>	0.0214	2.1447	0.0532	0.0965	2.2412	61.9760	0.8660	0.6198	-0.2877	-0.4784
<b>1</b>	0.0243	2.4266	0.0643	0.1608	2.5874	71.5486	1.0000	0.7155	0.0000	-0.3348
<b>1.5</b>	0.0280	2.7992	0.0728	0.2336	3.0328	83.8655	1.2247	0.8386	0.4055	-0.1760
<b>2</b>	0.0297	2.9675	0.0840	0.3176	3.2851	90.8426	1.4142	0.9084	0.6931	-0.0961
<b>4</b>	0.0318	3.1794	0.0890	0.4066	3.5860	99.1625	2.0000	0.9916	1.3863	-0.0084
<b>8</b>	0.0312	3.1169	0.0954	0.5020	3.6190	100.0740	2.8284	1.0007	2.0794	0.0007
<b>24</b>	0.0304	3.0375	0.0935	0.5955	3.6330	100.4630	4.8990	1.0046	3.1781	0.0046
<b>25</b>	0.0293	2.9297	0.0911	0.6867	3.6164	100.0015	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000





**Gráfica A3.** Modelo de Peppas empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 1% de Carbopol® 974P NF.



**Gráfica A4.** Modelo de Higuchi empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 1% de Carbopol® 974P NF.

**Tabla A8.** Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 2% Carbopol® 974P NF, de la réplica 1.

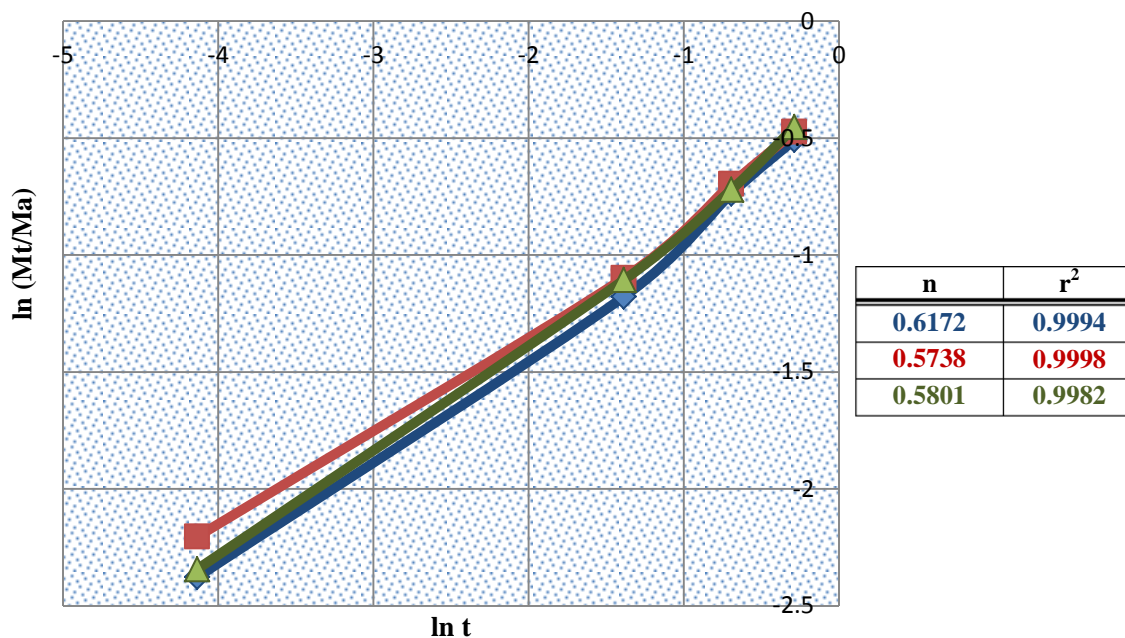
Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							$t^{1/2}$	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
<b>0.016</b>	0.0033	0.3327	0.0000	0.0000	0.3327	9.2837	0.1265	0.0928	-4.1352	-2.3769
<b>0.25</b>	0.0109	1.0931	0.0100	0.0100	1.1031	30.7791	0.5000	0.3078	-1.3863	-1.1784
<b>0.50</b>	0.0167	1.6719	0.0328	0.0428	1.7146	47.8442	0.7071	0.4784	-0.6931	-0.7372
<b>0.75</b>	0.0206	2.0634	0.0502	0.0929	2.1563	60.1689	0.8660	0.6017	-0.2877	-0.5080
<b>1</b>	0.0246	2.4568	0.0619	0.1548	2.6117	72.8740	1.0000	0.7287	0.0000	-0.3165
<b>1.5</b>	0.0281	2.8086	0.0737	0.2285	3.0372	84.7474	1.2247	0.8475	0.4055	-0.1655
<b>2</b>	0.0297	2.9656	0.0843	0.3128	3.2784	91.4791	1.4142	0.9148	0.6931	-0.0891
<b>4</b>	0.0315	3.1510	0.0890	0.4018	3.5528	99.1339	2.0000	0.9913	1.3863	-0.0087
<b>8</b>	0.0308	3.0829	0.0945	0.4963	3.5792	99.8716	2.8284	0.9987	2.0794	-0.0013
<b>24</b>	0.0300	2.9997	0.0925	0.5888	3.5885	100.1300	4.8990	1.0013	3.1781	0.0013
<b>25</b>	0.0291	2.9051	0.0900	0.6788	3.5839	100.0022	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000

**Tabla A9.** Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 2% Carbopol® 974P NF, de la réplica 2.

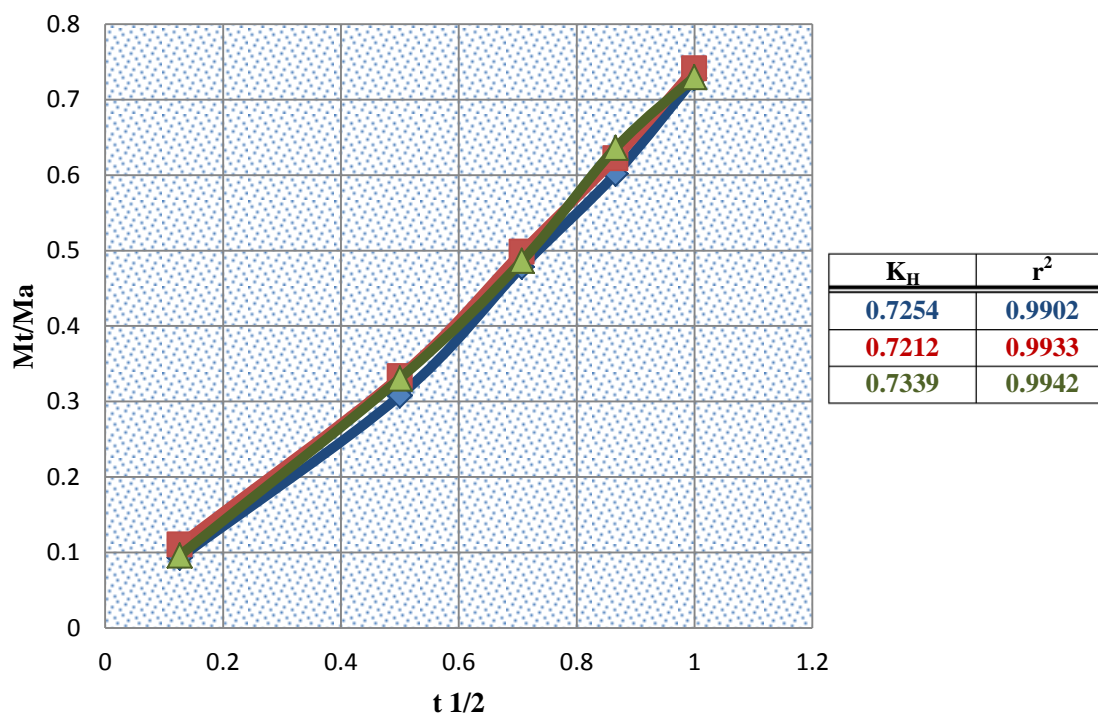
Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							$t^{1/2}$	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
<b>0.016</b>	0.0039	0.3913	0.0000	0.0000	0.3913	11.0337	0.1265	0.1103	-4.1352	-2.2042
<b>0.25</b>	0.0117	1.1706	0.0117	0.0117	1.1824	33.3362	0.5000	0.3334	-1.3863	-1.0985
<b>0.50</b>	0.0172	1.7210	0.0351	0.0469	1.7679	49.8451	0.7071	0.4984	-0.6931	-0.6963
<b>0.75</b>	0.0211	2.1088	0.0516	0.0985	2.2073	62.2332	0.8660	0.6223	-0.2877	-0.4743
<b>1</b>	0.0247	2.4682	0.0633	0.1618	2.6299	74.1494	1.0000	0.7415	0.0000	-0.2991
<b>1.5</b>	0.0278	2.7841	0.0740	0.2358	3.0199	85.1430	1.2247	0.8514	0.4055	-0.1608
<b>2</b>	0.0294	2.9354	0.0835	0.3193	3.2547	91.7641	1.4142	0.9176	0.6931	-0.0860
<b>4</b>	0.0311	3.1113	0.0881	0.4074	3.5187	99.2065	2.0000	0.9921	1.3863	-0.0080
<b>8</b>	0.0306	3.0583	0.0933	0.5007	3.5590	100.3449	2.8284	1.0034	2.0794	0.0034
<b>24</b>	0.0297	2.9656	0.0917	0.5925	3.5581	100.3187	4.8990	1.0032	3.1781	0.0032
<b>25</b>	0.0287	2.8654	0.0890	0.6814	3.5468	100.0007	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000

**Tabla A10.** Porcentaje liberado de metronidazol de un gel de concentración de 2% Carbopol® 974P NF, de la réplica 3.

Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							$t^{1/2}$	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
<b>0.016</b>	0.0035	0.3497	0.0000	0.0000	0.3497	9.6017	0.1265	0.0960	-4.1352	-2.3433
<b>0.25</b>	0.0119	1.1933	0.0105	0.0105	1.2038	33.0502	0.5000	0.3305	-1.3863	-1.1072
<b>0.50</b>	0.0172	1.7248	0.0358	0.0463	1.7711	48.6251	0.7071	0.4862	-0.6931	-0.7211
<b>0.75</b>	0.0222	2.2185	0.0517	0.0980	2.3165	63.5992	0.8660	0.6360	-0.2877	-0.4526
<b>1</b>	0.0249	2.4947	0.0666	0.1646	2.6592	73.0081	1.0000	0.7301	0.0000	-0.3146
<b>1.5</b>	0.0286	2.8559	0.0748	0.2394	3.0954	84.9813	1.2247	0.8498	0.4055	-0.1628
<b>2</b>	0.0302	3.0186	0.0857	0.3251	3.3437	91.7994	1.4142	0.9180	0.6931	-0.0856
<b>4</b>	0.0320	3.2021	0.0906	0.4157	3.6177	99.3228	2.0000	0.9932	1.3863	-0.0068
<b>8</b>	0.0315	3.1529	0.0961	0.5117	3.6646	100.6099	2.8284	1.0061	2.0794	0.0061
<b>24</b>	0.0305	3.0451	0.0946	0.6063	3.6514	100.2468	4.8990	1.0024	3.1781	0.0024
<b>25</b>	0.0294	2.9448	0.0914	0.6977	3.6425	100.0026	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000



**Gráfica A5.** Modelo de Peppas empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF.



**Gráfica A6.** Modelo de Higuchi empleado sobre la liberación de metronidazol de un gel de concentración 2% de Carbopol<sup>®</sup> 974P NF.

Tabla A11. Porcentaje liberado de metronidazol de una solución de 3 mg de metronidazol / mL de F.V.S., de la réplica 1.

Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							$t^{1/2}$	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
0.016	0.0036	0.3554	0.0000	0.0000	0.3554	12.5311	0.1265	0.1253	-4.1352	-2.0770
0.25	0.0134	1.3352	0.0107	0.0107	1.3458	47.4525	0.5000	0.4745	-1.3863	-0.7455
0.50	0.0193	1.9348	0.0401	0.0507	1.9855	70.0056	0.7071	0.7000	-0.6931	-0.3566
0.75	0.0224	2.2393	0.0580	0.1088	2.3481	82.7893	0.8660	0.8279	-0.2877	-0.1889
1	0.0241	2.4114	0.0672	0.1759	2.5874	91.2267	1.0000	0.9123	0.0000	-0.0918
1.5	0.0251	2.5079	0.0723	0.2483	2.7562	97.1786	1.2247	0.9718	0.4055	-0.0286
2	0.0249	2.4909	0.0752	0.3235	2.8144	99.2312	1.4142	0.9923	0.6931	-0.0077
4	0.0242	2.4247	0.0747	0.3982	2.8229	99.5317	2.0000	0.9953	1.3863	-0.0047
8	0.0235	2.3528	0.0727	0.4710	2.8238	99.5622	2.8284	0.9956	2.0794	-0.0044
24	0.0229	2.2866	0.0706	0.5416	2.8282	99.7167	4.8990	0.9972	3.1781	-0.0028
25	0.0223	2.2261	0.0686	0.6102	2.8362	100.0013	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000

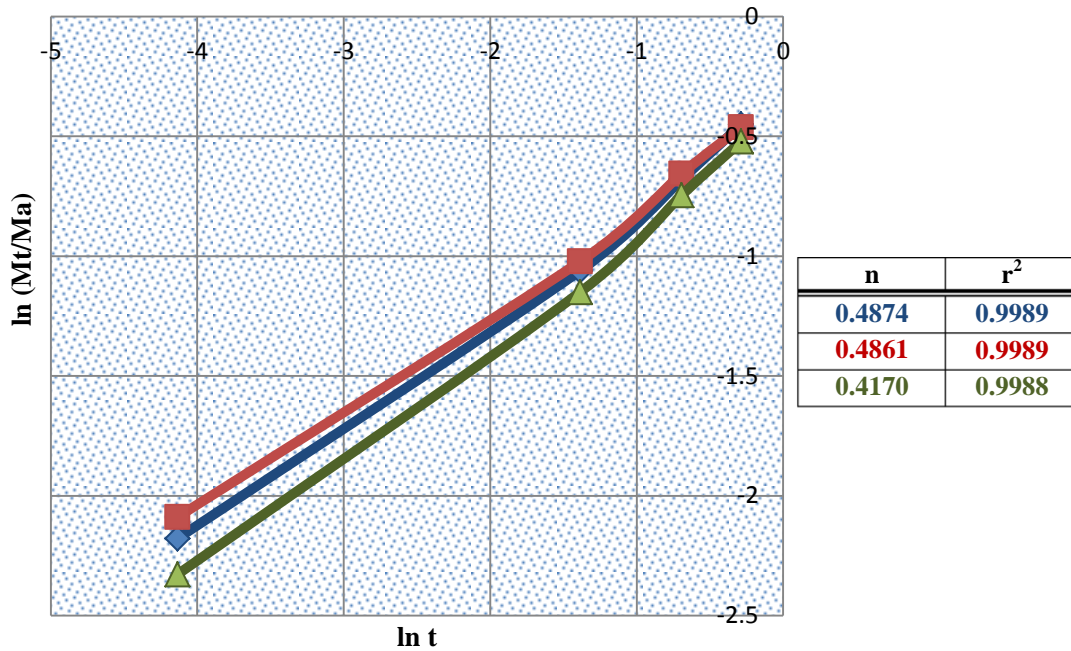
Tabla A12. Porcentaje liberado de metronidazol de una solución de 3 mg de metronidazol / mL de F.V.S., de la réplica 2.

Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							$t^{1/2}$	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
0.016	0.0035	0.3535	0.0000	0.0000	0.3535	12.5480	0.1265	0.1255	-4.1352	-2.0756
0.25	0.0134	1.3371	0.0106	0.0106	1.3477	47.8360	0.5000	0.4784	-1.3863	-0.7374
0.50	0.0192	1.9215	0.0401	0.0507	1.9723	70.0053	0.7071	0.7000	-0.6931	-0.3566
0.75	0.0221	2.2109	0.0576	0.1084	2.3193	82.3235	0.8660	0.8232	-0.2877	-0.1945
1	0.0239	2.3868	0.0663	0.1747	2.5615	90.9216	1.0000	0.9092	0.0000	-0.0952
1.5	0.0248	2.4795	0.0716	0.2463	2.7258	96.7530	1.2247	0.9675	0.4055	-0.0330
2	0.0246	2.4625	0.0744	0.3207	2.7832	98.7891	1.4142	0.9879	0.6931	-0.0122
4	0.0237	2.3717	0.0739	0.3946	2.7663	98.1887	2.0000	0.9819	1.3863	-0.0183
8	0.0234	2.3433	0.0712	0.4657	2.8090	99.7071	2.8284	0.9971	2.0794	-0.0029
24	0.0228	2.2828	0.0703	0.5360	2.8188	100.0540	4.8990	1.0005	3.1781	0.0005
25	0.0221	2.2128	0.0685	0.6045	2.8173	100.0008	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000

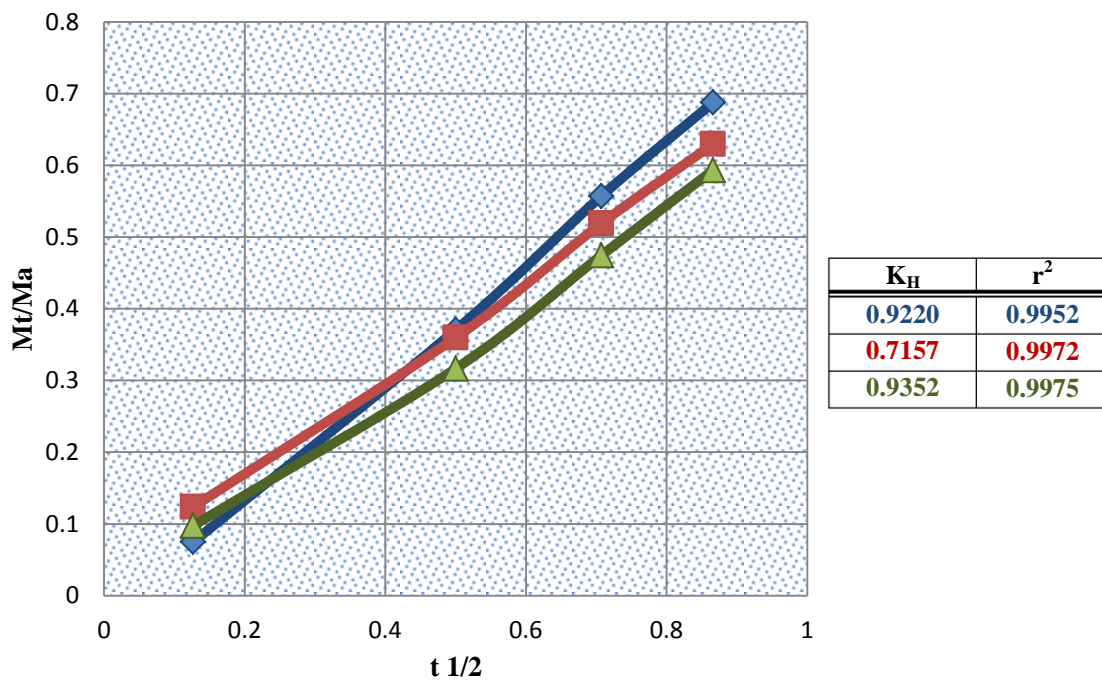
Tabla A13. Porcentaje liberado de metronidazol de una solución de 3 mg de metronidazol / mL de F.V.S., de la réplica 3.

Tiempo (h)	Concentración (mg/mL)	Cantidad (mg)	Cantidad Retenida (mg)	Cantidad Retenida Acumulada (mg)	Cantidad Corregida (mg)	% Liberado	Higuchi		Peppas	
							$t^{1/2}$	Mt/Ma (mg)	ln t	ln (Mt/Ma)
<b>0.016</b>	0.0045	0.4538	0.0000	0.0000	0.4538	16.8572	0.1265	0.1686	-4.1352	-1.7804
<b>0.25</b>	0.0141	1.4052	0.0136	0.0136	1.4188	52.7076	0.5000	0.5271	-1.3863	-0.6404
<b>0.50</b>	0.0193	1.9253	0.0422	0.0558	1.9811	73.5973	0.7071	0.7360	-0.6931	-0.3066
<b>0.75</b>	0.0217	2.1731	0.0578	0.1135	2.2866	84.9482	0.8660	0.8495	-0.2877	-0.1631
<b>1</b>	0.0230	2.2961	0.0652	0.1787	2.4748	91.9375	1.0000	0.9194	0.0000	-0.0841
<b>1.5</b>	0.0236	2.3585	0.0689	0.2476	2.6061	96.8153	1.2247	0.9681	0.4055	-0.0324
<b>2</b>	0.0235	2.3490	0.0708	0.3184	2.6674	99.0924	1.4142	0.9909	0.6931	-0.0091
<b>4</b>	0.0230	2.2961	0.0705	0.3888	2.6849	99.7429	2.0000	0.9974	1.3863	-0.0026
<b>8</b>	0.0219	2.1920	0.0689	0.4577	2.6497	98.4371	2.8284	0.9844	2.0794	-0.0158
<b>24</b>	0.0217	2.1750	0.0658	0.5235	2.6985	100.2477	4.8990	1.0025	3.1781	0.0025
<b>25</b>	0.0210	2.1031	0.0652	0.5887	2.6918	100.0016	5.0000	1.0000	3.2189	0.0000





**Gráfica A7.** Modelo de Peppas empleado sobre la liberación de una solución de metronidazol de 3 mg / mL de F.V.S.



**Gráfica A8.** Modelo de Higuchi empleado sobre la liberación de metronidazol de una solución de metronidazol de 3 mg / mL de F.V.S.

### Anexo III

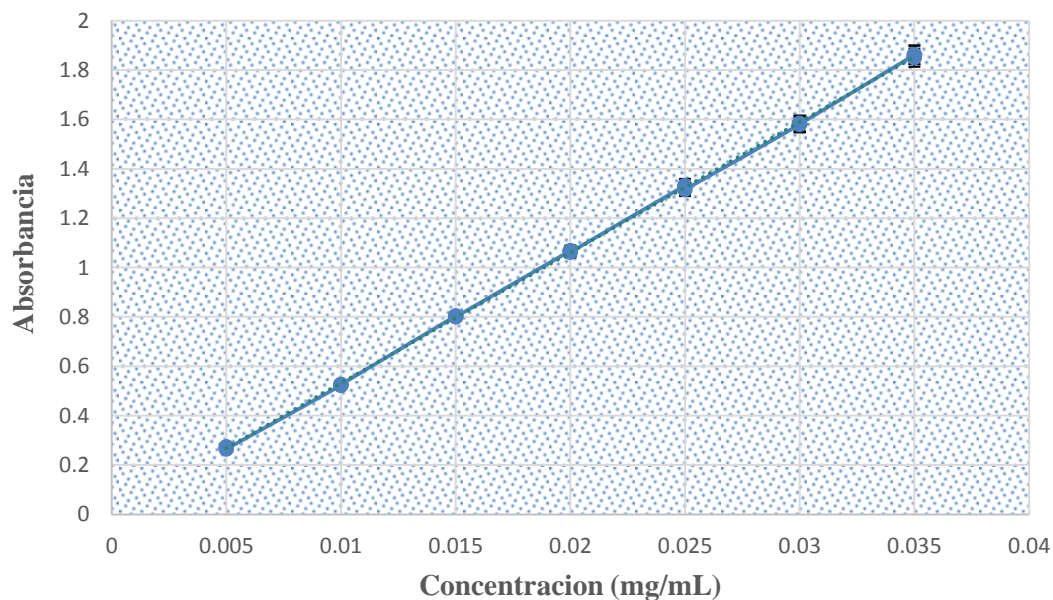
#### Cuantificación de metronidazol

- **Selectividad**

Se realizaron barridos espectrofotométricos del F.V.S. a pH = 4.2, de un gel sin principio activo, y una solución de metronidazol para corroborar que no existen interferencias y que la respuesta obtenida sea únicamente del analito de estudio.

- **Linealidad**

Se prepararon tres curvas de calibración de metronidazol con siete diferentes concentraciones, la primera curva con F.V.S, y la segunda con FVS en contacto con tejido vaginal de cerda y la tercera con agua. Se llevó a cabo el análisis estadístico, así como el cálculo de la desviación estándar y coeficiente de variación para cada sistema (gráfica A9, A10 y 11).



**Gráfica A9.** Curva de calibración de metronidazol en F.V.S.

$$Absorbancia = \left[ 52.869 \times MTZ \frac{mg}{mL} \right] + 0.0031$$

**Tabla A14.** Curva de calibración de metronidazol en F.V.S.

<b>Conc</b>	<b>Abs</b>	<b>Abs/Conc</b>
0.005	0.268	53.600
0.005	0.274	54.800
0.005	0.265	53.000
0.010	0.523	52.300
0.010	0.524	52.400
0.010	0.526	52.600
0.015	0.804	53.600
0.015	0.802	53.467
0.015	0.800	53.333
0.020	1.068	53.400
0.020	1.066	53.300
0.020	1.062	53.100
0.025	1.332	53.280
0.025	1.323	52.920
0.025	1.316	52.640
0.030	1.579	52.633
0.030	1.584	52.800
0.030	1.581	52.700
0.035	1.861	53.171
0.035	1.862	53.200
0.035	1.850	52.857
	<b>Promedio</b>	53.100
	<b>DE</b>	0.544
	<b>CV</b>	1.024

**Tabla A15.** ANOVA para la curva de calibración de metronidazol en F.V.S.

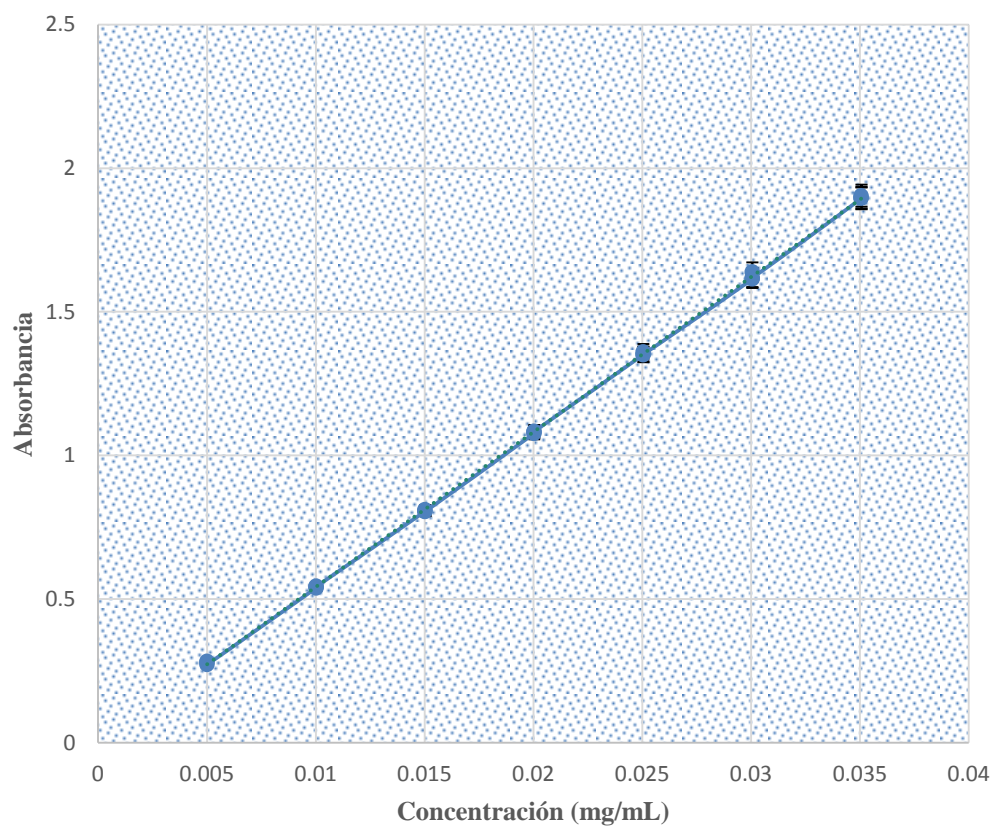
<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón F</b>	<b>Valor P</b>
Entre grupos	0.0001	2	0.0000	0.00	0.9998
Intra grupos	5.8705	18	0.3261		
Total (Corr.)	5.8706	20			

**Tabla A16.** Curva de calibración de metronidazol en tejido vaginal de cerda.

Conc	Abs	Abs/Conc
0.005	0.283	56.487
0.005	0.279	55.689
0.005	0.272	54.291
0.010	0.539	53.792
0.010	0.545	54.391
0.010	0.543	54.192
0.015	0.806	53.626
0.015	0.811	53.959
0.015	0.805	53.560
0.020	1.077	53.743
0.020	1.082	53.992
0.020	1.084	54.092
0.025	1.351	53.932
0.025	1.361	54.331
0.025	1.352	53.972
0.030	1.615	53.726
0.030	1.639	54.524
0.030	1.619	53.859
0.035	1.895	54.035
0.035	1.904	54.291
0.035	1.897	54.092
	Promedio	54.218
	DE	0.684
	CV	1.261

**Tabla A17.** ANOVA para la curva de calibración de metronidazol en tejido vaginal de cerda.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Razón F	Valor P
Entre grupos	0.0002	2	0.0001	0.00	0.9996
Intra grupos	6.1457	18	0.3414		
Total (Corr.)	6.1460	20			



**Gráfica A10.** Curva de calibración de metronidazol más tejido vaginal de cerda,

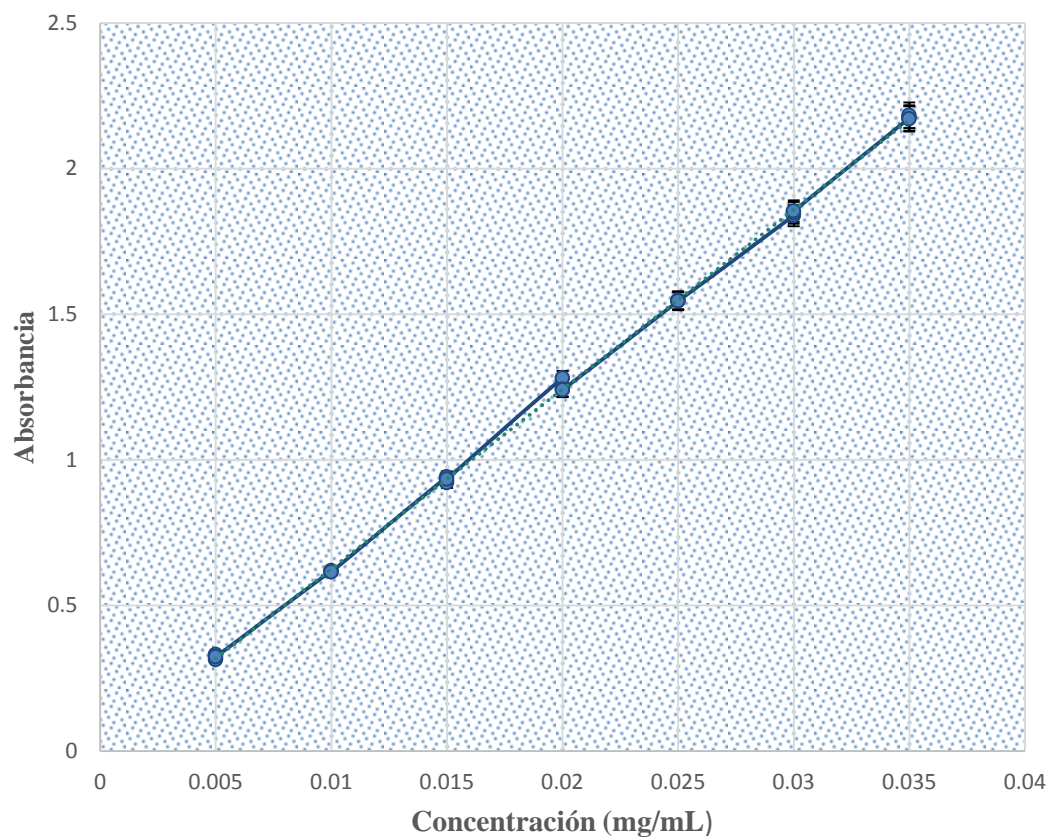
$$Absorbancia = \left[ 53.987 \times MTZ \frac{mg}{mL} \right] + 0.0019$$

**Tabla A18.** Curva de calibración de metronidazol en agua.

Conc	Abs	Abs/Conc
0.005	0.331	66.200
0.005	0.314	62.800
0.005	0.323	64.600
0.010	0.619	61.900
0.010	0.616	61.600
0.010	0.615	61.500
0.015	0.941	62.733
0.015	0.921	61.400
0.015	0.933	62.200
0.020	1.280	64.000
0.020	1.242	62.100
0.020	1.240	62.000
0.025	1.545	61.800
0.025	1.548	61.920
0.025	1.545	61.800
0.030	1.839	61.300
0.030	1.848	61.600
0.030	1.854	61.800
0.035	2.174	62.114
0.035	2.183	62.371
0.035	2.170	62.000
	<b>Promedio</b>	62.3685
	<b>DE</b>	1.1934
	<b>CV</b>	1.9134

**Tabla A19.** ANOVA para la curva de calibración de metronidazol en agua.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Razón F	Valor P
Entre grupos	0.0002	2	0.0001	0.00	0.9997
Intra grupos	7.9898	18	0.4438		
Total (Corr.)	7.9901	20			



**Gráfica A11.** Curva de calibración de metronidazol en agua,

$$Absorbancia = \left[ 61.671 \times MTZ \frac{mg}{mL} \right] + 0.0085$$

## Anexo IV

**Cinéticas de permeación *in vitro***

**Tabla A20.** Valores obtenidos de la cinética de permeación de un gel con 2% de Carbopol® 974P NF, muestra 1.

Muestra 1							
Tiempo (h)	Conc mg/mL	Cantidad mg	Cantidad Retirada	Cantidad Retirada Acumulada	Cantidad Corregida mg	% Permeado	Q mg Mtz/cm <sup>2</sup>
0.5	0.0028	0.0554	0.0000	0.0000	0.0554	0.8279	0.0110
1	0.0037	0.0730	0.0110	0.0110	0.0840	1.2544	0.0167
1.5	0.0038	0.0754	0.0113	0.0223	0.0977	1.4594	0.0194
2	0.0039	0.0776	0.0116	0.0339	0.1116	1.6666	0.0222
3	0.0043	0.0854	0.0128	0.0467	0.1322	1.9742	0.0263
4	0.0045	0.0906	0.0136	0.0603	0.1509	2.2547	0.0300
8	0.0053	0.1062	0.0159	0.0762	0.1824	2.7251	0.0363
24	0.0154	0.3077	0.0462	0.1224	0.4301	6.4251	0.0855

**Tabla A21.** Valores obtenidos de la cinética de permeación de un gel con 2% de Carbopol® 974P NF, muestra 2.

Muestra 2							
Tiempo (h)	Conc mg/mL	Cantidad mg	Cantidad Retirada	Cantidad Retirada Acumulada	Cantidad Corregida mg	% Permeado	Q mg Mtz/cm <sup>2</sup>
0.5	0.0036	0.0721	0.0000	0.0000	0.0721	1.0865	0.0143
1	0.0037	0.0741	0.0111	0.0111	0.0852	1.2848	0.0169
1.5	0.0040	0.0795	0.0119	0.0230	0.1025	1.5455	0.0204
2	0.0040	0.0806	0.0121	0.0351	0.1157	1.7445	0.0230
3	0.0044	0.0873	0.0131	0.0482	0.1355	2.0423	0.0269
4	0.0044	0.0888	0.0133	0.0615	0.1503	2.2653	0.0299
8	0.0052	0.1032	0.0155	0.0770	0.1802	2.7163	0.0358
24	0.0151	0.3014	0.0452	0.1222	0.4236	6.3847	0.0842



**Tabla A22.** Valores obtenidos de la cinética de permeación de un gel con 2% de Carbopol® 974P NF, muestra 3.

<b>Muestra 3</b>							
<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc mg/mL</b>	<b>Cantidad mg</b>	<b>Cantidad Retirada</b>	<b>Cantidad Retirada Acumulada</b>	<b>Cantidad Corregida mg</b>	<b>% Permeado</b>	<b>Q mg Mtz/cm<sup>2</sup></b>
0.5	0.0008	0.0162	0.0000	0.0000	0.0162	0.2391	0.0032
1	0.0009	0.0178	0.0027	0.0027	0.0205	0.3034	0.0041
1.5	0.0015	0.0291	0.0044	0.0070	0.0362	0.5353	0.0072
2	0.0019	0.0376	0.0056	0.0127	0.0503	0.7450	0.0100
3	0.0026	0.0525	0.0079	0.0206	0.0730	1.0808	0.0145
4	0.0039	0.0784	0.0118	0.0323	0.1107	1.6388	0.0220
8	0.0070	0.1395	0.0209	0.0532	0.1928	2.8534	0.0383
24	0.0149	0.2988	0.0448	0.0981	0.3969	5.8751	0.0789

**Tabla A23.** Valores obtenidos de la cinética de permeación de un gel con 2% de Carbopol® 974P NF, muestra 4.

<b>Muestra 4</b>							
<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc mg/mL</b>	<b>Cantidad mg</b>	<b>Cantidad Retirada</b>	<b>Cantidad Retirada Acumulada</b>	<b>Cantidad Corregida mg</b>	<b>% Permeado</b>	<b>Q mg Mtz/cm<sup>2</sup></b>
0.5	4.8160	0.0010	0.0000	0.0000	0.0010	0.0143	0.0002
1	4.0936	0.0082	0.0012	0.0012	0.0094	0.1394	0.0019
1.5	9.7431	0.0195	0.0029	0.0042	0.0236	0.3499	0.0047
2	9.9283	0.0199	0.0030	0.0071	0.0270	0.3995	0.0054
3	1.3448	0.0269	0.0040	0.0112	0.0381	0.5635	0.0076
4	1.4189	0.0284	0.0043	0.0154	0.0438	0.6484	0.0087
8	2.4932	0.0499	0.0075	0.0229	0.0728	1.0773	0.0145
24	1.8645	0.3729	0.0559	0.0788	0.4517	6.6880	0.0898

**Tabla A24.** Valores obtenidos de la cinética de permeación de un gel con 2% de Carbopol® 974P NF, muestra 5.

Muestra 5							
Tiempo (h)	Conc mg/mL	Cantidad mg	Cantidad Retirada	Cantidad Retirada Acumulada	Cantidad Corregida mg	% Permeado	Q mg Mtz/cm <sup>2</sup>
0.5	0.0019	0.0388	0.0000	0.0000	0.0388	0.5815	0.0077
1	0.0024	0.0489	0.0073	0.0073	0.0563	0.8446	0.0112
1.5	0.0019	0.0384	0.0058	0.0131	0.0515	0.7725	0.0102
2	0.0019	0.0376	0.0056	0.0187	0.0564	0.8461	0.0112
3	0.0022	0.0447	0.0067	0.0254	0.0701	1.0523	0.0139
4	0.0022	0.0447	0.0067	0.0321	0.0768	1.1529	0.0153
8	0.0033	0.0665	0.0100	0.0421	0.1087	1.6306	0.0216
24	0.0297	0.5933	0.0890	0.1311	0.7245	10.8716	0.1440

**Tabla A25.** Valores obtenidos de la cinética de permeación de una solución de 40 mg de metronidazol / 10 mL de F.V.S, muestra 1.

Muestra 1							
Tiempo (h)	Conc mg/mL	Cantidad mg	Cantidad Retirada	Cantidad Retirada Acumulada	Cantidad Corregida mg	% Permeado	Q mg Mtz/cm <sup>2</sup>
0.5	0.0004	0.0080	0.0000	0.0000	0.0080	0.0964	0.0004
1	0.0007	0.0141	0.0021	0.0021	0.0162	0.1955	0.0007
1.5	0.0006	0.0112	0.0017	0.0038	0.0149	0.1800	0.0006
2	0.0007	0.0143	0.0021	0.0059	0.0202	0.2437	0.0007
3	0.0007	0.0136	0.0020	0.0080	0.0215	0.2593	0.0007
4	0.0008	0.0162	0.0024	0.0104	0.0265	0.3197	0.0008
8	0.0009	0.0180	0.0027	0.0131	0.0311	0.3745	0.0009
24	0.0158	0.3164	0.0475	0.0606	0.3770	4.5403	0.0158

**Tabla A 26.** Valores obtenidos de la cinética de permeación de una solución de 40 mg de metronidazol / 10 mL de F.V.S, muestra 2.

<b>Muestra 2</b>							
<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc mg/mL</b>	<b>Cantidad mg</b>	<b>Cantidad Retirada</b>	<b>Cantidad Retirada Acumulada</b>	<b>Cantidad Corregida mg</b>	<b>% Permeado</b>	<b>Q mg Mtz/cm<sup>2</sup></b>
0.5	0.0049	0.0984	0.0000	0.0000	0.0984	1.1783	0.0196
1	0.0050	0.0993	0.0149	0.0149	0.1142	1.3678	0.0227
1.5	0.0049	0.0978	0.0147	0.0296	0.1274	1.5258	0.0253
2	0.0050	0.1002	0.0150	0.0446	0.1449	1.7347	0.0288
3	0.0051	0.1028	0.0154	0.0600	0.1629	1.9505	0.0324
4	0.0051	0.1025	0.0154	0.0754	0.1779	2.1301	0.0354
8	0.0052	0.1032	0.0155	0.0909	0.1941	2.3244	0.0386
24	0.0211	0.4227	0.0634	0.1543	0.5770	6.9101	0.1147

**Tabla A 27.** Valores obtenidos de la cinética de permeación de una solución de 40 mg de metronidazol / 10 mL de F.V.S, muestra 3.

<b>Muestra 3</b>							
<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc mg/mL</b>	<b>Cantidad mg</b>	<b>Cantidad Retirada</b>	<b>Cantidad Retirada Acumulada</b>	<b>Cantidad Corregida mg</b>	<b>% Permeado</b>	<b>Q mg Mtz/cm<sup>2</sup></b>
0.5	-0.0006	-0.0120	0.0000	0.0000	-0.0120	-0.1445	-0.0024
1	-0.0006	-0.0114	-0.0017	-0.0017	-0.0132	-0.1585	-0.0026
1.5	-0.0007	-0.0137	-0.0021	-0.0038	-0.0174	-0.2099	-0.0035
2	-0.0005	-0.0090	-0.0014	-0.0051	-0.0142	-0.1705	-0.0028
3	-0.0004	-0.0087	-0.0013	-0.0064	-0.0151	-0.1817	-0.0030
4	-0.0004	-0.0083	-0.0012	-0.0077	-0.0160	-0.1922	-0.0032
8	0.0003	0.0069	0.0010	-0.0066	0.0003	0.0031	0.0001
24	0.0277	0.5535	0.0830	0.0764	0.6299	7.5823	0.1252

**Tabla A 28.** Valores obtenidos de la cinética de permeación de una solución de 40 mg de metronidazol / 10 mL de F.V.S, muestra 4.

<b>Muestra 4</b>							
<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc mg/mL</b>	<b>Cantidad mg</b>	<b>Cantidad Retirada</b>	<b>Cantidad Retirada Acumulada</b>	<b>Cantidad Corregida mg</b>	<b>% Permeado</b>	<b>Q mg Mtz/cm<sup>2</sup></b>
0.5	0.0003	0.0061	0.0000	0.0000	0.0061	0.0737	0.0012
1	0.0005	0.0093	0.0014	0.0014	0.0107	0.1282	0.0021
1.5	0.0004	0.0074	0.0011	0.0025	0.0100	0.1194	0.0020
2	0.0006	0.0117	0.0018	0.0043	0.0160	0.1915	0.0032
3	0.0007	0.0143	0.0021	0.0064	0.0207	0.2483	0.0041
4	0.0012	0.0239	0.0036	0.0100	0.0339	0.4068	0.0067
8	0.0013	0.0265	0.0040	0.0140	0.0405	0.4856	0.0081
24	0.0236	0.4713	0.0707	0.0847	0.5559	6.6645	0.1105

**Tabla A 29.** Valores obtenidos de la cinética de permeación de una solución de 40 mg de metronidazol / 10 mL de F.V.S, muestra 5.

<b>Muestra 5</b>							
<b>Tiempo (h)</b>	<b>Conc mg/mL</b>	<b>Cantidad mg</b>	<b>Cantidad Retirada</b>	<b>Cantidad Retirada Acumulada</b>	<b>Cantidad Corregida mg</b>	<b>% Permeado</b>	<b>Q mg Mtz/cm<sup>2</sup></b>
0.5	0.0003	0.0058	0.0000	0.0000	0.0058	0.0717	0.0011
1	0.0004	0.0074	0.0011	0.0011	0.0086	0.1062	0.0017
1.5	0.0002	0.0049	0.0007	0.0018	0.0067	0.0831	0.0013
2	0.0003	0.0069	0.0010	0.0029	0.0098	0.1212	0.0019
3	0.0008	0.0169	0.0025	0.0054	0.0223	0.2767	0.0044
4	0.0018	0.0365	0.0055	0.0109	0.0474	0.5883	0.0094
8	0.0036	0.0725	0.0109	0.0218	0.0942	1.1690	0.0187
24	0.0198	0.3968	0.0595	0.0813	0.4781	5.9312	0.0950

Resultados de extracción del % de metronidazol en tejido vaginal de cerda.

**Tabla A30.** Cálculos para obtener el % de recobro de un gel de concentración de 2% de Carbopol® 974P NF.

Sistema	Abs.	Conc. (mg / mL)	mg de Mtz	% de retenido
1	1.0675	0.0197	0.2961	4.4229
2	0.8845	0.0163	0.2452	3.6633
3	0.6835	0.0126	0.1894	2.8290
4	0.4995	0.0092	0.1383	2.0653
5	0.4825	0.0089	0.1335	1.9948
<b>Promedio</b>				2.9951
<b>D.E</b>				0.9357

**Tabla A 31.** Cálculos para obtener el % de recobro de una solución de concentración igual a 40 mg de metronidazol / mL F.V.S.

Sistema	Abs.	Conc. (mg / mL)	mg de Mtz	% Mtz retenido
1	1.2775	0.0236	0.3544	2.1344
2	1.3745	0.0254	0.3814	2.2967
3	1.0495	0.0194	0.2911	1.7529
4	1.1605	0.0215	0.3219	1.9386
5	0.5115	0.0094	0.1416	0.8527
<b>Promedio</b>				1.7950
<b>D.E</b>				0.5054

## Anexo IV

**Fuerza de adhesión**

**Tabla A32.** Fuerza de adhesión obtenida de un gel de concentración de 0.5% de Carbopol® 974P NF.

<b>Muestra</b>	<b>Fuerza adhesiva (N)</b>	<b>Adhesividad (mJ)</b>	<b>Trabajo total (mJ)</b>	<b>Tiempo de espera (s)</b>
<b>1</b>	0.07	0.1	0.4	180
<b>2</b>	0.07	0.1	0.4	180
<b>3</b>	0.06	0.1	0.5	180
<b>4</b>	0.08	0.1	0.5	180
<b>5</b>	0.07	0.1	0.4	180
<b>6</b>	0.06	0.1	0.4	180

**Tabla A33.** Fuerza de adhesión obtenida de un gel de concentración de 1% de Carbopol® 974P NF.

<b>Muestra</b>	<b>Fuerza adhesiva (N)</b>	<b>Adhesividad (mJ)</b>	<b>Trabajo total (mJ)</b>	<b>Tiempo de espera (s)</b>
<b>1</b>	0.12	0.2	0.6	180
<b>2</b>	0.10	0.2	0.5	180
<b>3</b>	0.12	0.2	0.4	180
<b>4</b>	0.11	0.2	0.5	180
<b>5</b>	0.11	0.2	0.4	180
<b>6</b>	0.14	0.2	0.6	180

**Tabla A34.** Fuerza de adhesión obtenida de un gel de concentración de 2% de Carbopol® 974P NF.

<b>Muestra</b>	<b>Fuerza adhesiva (N)</b>	<b>Adhesividad (mJ)</b>	<b>Trabajo total (mJ)</b>	<b>Tiempo de espera (s)</b>
1	0.16	0.5	0.6	180
2	0.11	0.4	0.4	180
3	0.13	0.5	0.4	180
4	0.15	0.6	0.4	180
5	0.16	0.6	0.4	180
6	0.16	0.6	0.5	180

**Tabla A35.** Fuerza de adhesión obtenida de un gel maraca comercial Epaq™ de concentración de 2% de Carbopol® 974P NF.

<b>Muestra</b>	<b>Fuerza adhesiva (N)</b>	<b>Adhesividad (mJ)</b>	<b>Trabajo total (mJ)</b>	<b>Tiempo de espera (s)</b>
1	0.14	0.2	0.4	180
2	0.14	0.2	0.5	180
3	0.15	0.2	0.5	180
4	0.15	0.2	0.4	180
5	0.15	0.3	0.4	180
6	0.14	0.4	0.4	180