



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

CUAUTITLÁN CAMPO 1

“ESTUDIO DE LA MUCOADHESIÓN Y TIEMPO DE RESIDENCIA DE
GELES DE ACETATO FTALATO DE CELULOSA EN VAGINA DE
CERDA”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:
ROMERO VIAZCÁN SAC-NITE

ASESORA:

DRA. ELIZABETH PIÑÓN SEGUNDO

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2013



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.

ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras.....	IV
Índice de ecuaciones.....	IV
Índice de tablas.....	V
Índice de gráficas.....	VII
Lista de abreviaturas.....	VIII
I. MARCO TEÓRICO.....	1
1. Anatomía y fisiología de la vagina.....	1
1.1. Capa mucosa.....	3
1.2. Microflora vaginal.....	5
1.3. Cambios cíclicos.....	5
1.4. pH vaginal.....	5
1.5. Ciclo menstrual.....	6
2. Preparaciones de uso vaginal.....	7
3. Absorción vaginal.....	8
4. Definiciones.....	8
4.1. Adhesión.....	8
4.2. Bioadhesión.....	9
4.3. Mucoadhesión.....	9
5. Mucoadhesivos.....	9
5.1. Clasificación de mucoadhesivos.....	10
5.2. Teorías y mecanismos de mucoadhesión.....	10
5.2.1. Teorías de bioadhesión.....	11
5.2.1.1. Teoría electrónica.....	12
5.2.1.2. Teoría de adsorción.....	12
5.2.1.3. Teoría de humectación.....	12
5.2.1.4. Teoría de la difusión.....	14

5.2.1.5. Teoría de la fractura.....	15
5.2.2. Mecanismo de mucoadhesión.....	15
6. Pruebas para evaluar la bioadhesión.....	16
6.1. Pruebas <i>in vitro</i>	16
6.2. Pruebas <i>in vivo</i>	17
6.3. Pruebas <i>ex vivo</i>	17
7. Geles de acetato ftalato de celulosa.....	19
7.1. Definición de gel.....	19
7.2. Clasificación de los geles.....	20
7.2.1. Según el número de fases en que están constituidos.....	20
7.2.2. De acuerdo a su fase continua.....	21
7.2.3. De acuerdo a sus propiedades.....	21
7.3. Acetato ftalato de celulosa.....	21
7.3.1. Descripción.....	22
7.3.2. Aplicaciones.....	23
II. OBJETIVOS.....	27
Objetivo general.....	27
Objetivos particulares.....	27
III. PARTE EXPERIMENTAL.....	28
1. Material y reactivos.....	28
2. Equipo.....	28
3. Material biológico.....	28
4. Metodología experimental.....	29
4.1. Pruebas de solubilidad del CAP.....	29
4.2. Preparación del gel de CAP.....	29
4.3. Preparación del gel de metilcelulosa.....	30

4.4.	Preparación de soluciones amortiguadoras de fosfatos.....	31
4.4.1.	Solución amortiguadora pH 4.5.....	31
4.4.2.	Solución amortiguadora pH 5.0.....	31
4.4.3.	Solución amortiguadora pH 5.5.....	31
4.5.	Evaluación de viscosidad del gel de CAP.....	31
4.6.	Pruebas de bioadhesividad.....	32
4.6.1.	Método 1.....	32
4.6.2.	Método 2.....	33
4.6.3.	Método 3.....	34
a)	Calibración del tensiómetro.....	34
b)	Medición de la fuerza de adhesión.....	34
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
1.	Pruebas de solubilidad del CAP.....	36
2.	Geles utilizados.....	37
3.	Evaluación de la viscosidad del gel.....	40
4.	Pruebas de bioadhesión.....	58
1.1.	Método 1.....	58
1.2.	Método 2.....	62
1.3.	Método 3.....	65
a)	Curva de calibración.....	66
b)	Medición de la fuerza de adhesión.....	67
V.	CONCLUSIONES.....	71
VI.	REFERENCIAS	72
VII.	ANEXO.....	75

Índice de figuras

Figura 1. Descripción gráfica de la vagina..... 2

Figura 2. Esquema de la mucosa vaginal. 1; vasos capilares. 2; arteria. 3; venas..... 2

Figura 3. Comparación del grosor de tejido epitelial vaginal. A- recién nacida. B - niña. C - adulta. D – Mujer menopáusica 2

Figura 4. Estructura de la molécula de mucina 4

Figura 5. Cambios hormonales y celulares durante el ciclo menstrual. 6

Figura 6. Presentación comercial de gel indicado en el tratamiento de infecciones vaginales 8

Figura 7. Influencia del ángulo de contacto en la mucoadhesión 14

Figura 8. Representación esquemática de la Teoría de difusión. 14

Figura 9 Proceso de contacto y consolidación..... 16

Figura 10. Aparato utilizado para medir el tiempo de residencia de polímeros bioadhesivos 18

Figura 11. Partes del tensiómetro de Du Nüoy modificado..... 19

Figura 12. Estructura química de Acetato Ftalato de Celulosa 22

Figura 13. Los microbicidas pueden evitar o reducir considerablemente el riesgo de transmisión del VIH-1 a través de varios mecanismos. 25

Figura 14. Viscosímetro Brookfield modelo CAP 2000 32

Figura 15. Adaptación al método para evaluar bioadhesividad ex vivo 33

Figura 16. Representación de la modificación al método de Nakamura & Ohta..... 33

Figura 17. A) Tensiómetro de Du Noüy modificado. B) Placa de teflón adaptada para sujetar el tejido vaginal de cerda en la plataforma del tensiómetro. 35

Figura 18. Pruebas de solubilidad del CAP en mezclas de acetona-agua 38

Figura 19. Prueba de solubilidad del CAP en mezcla de acetona-agua..... 38

Figura 20. Pruebas de solubilidad en diferentes medios 38

Figura 21. A) Representación del método 1, utilizando como medio solución amortiguadora de fosfatos. B) Placa de acero inoxidable con el tejido vaginal y el gel de CAP..... 59

Figura 22. Gel de CAP en tejido vaginal de cerda para la determinación de la bioadhesión por el método 2. A) adaptación de la placa de acero inoxidable. B) placa de acero sumergida en solución amortiguadora de fosfatos, en baño de agua a 37 °C. 63

Índice de ecuaciones

Ecuación 1..... 13

Ecuación 2..... 13

Ecuación 3..... 13

Ecuación 4..... 13

Ecuación 5.....	66
Ecuación 6.....	67

Índice de tablas

<i>Tabla 1 Estado de las formulaciones vaginales en fase de ensayo clínico</i>	<i>26</i>
<i>Tabla 2. Fórmula del gel de CAP.....</i>	<i>29</i>
<i>Tabla 3. Formulación del gel de metilcelulosa al 1.5 %.....</i>	<i>30</i>
<i>Tabla 4. Análisis de Varianza para Viscosidad</i>	<i>56</i>
<i>Tabla 5. Tiempos de residencia de los tres geles evaluados en el tejido vaginal de cerda a tres diferentes pH</i>	<i>59</i>
<i>Tabla 6. Análisis de Varianza para Tiempo de residencia</i>	<i>60</i>
<i>Tabla 7. Resultados experimentales del método 2.....</i>	<i>63</i>
<i>Tabla 8. Análisis de Varianza para el desplazamiento de los geles.....</i>	<i>64</i>
<i>Tabla 9. Promedio de los resultados de la curva de calibración del tensiómetro de Du Noüy modificado</i>	<i>66</i>
<i>Tabla 10. Resultados de la fuerza de adhesión de los geles de metilcelulosa, Epaq® y CAP en mucosa vaginal de cerda, utilizando el tensiómetro de Du Noüy modificado para realizar las mediciones.</i>	<i>68</i>
<i>Tabla 11. ANOVA para Bioadhesión por gel.....</i>	<i>69</i>
<i>Tabla 12. Viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte y temperatura constante, variando tiempo en un rango de 10 a 90 segundos</i>	<i>76</i>
<i>Tabla 13. Análisis estadístico de los resultados de viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte y temperatura constante, variando tiempo en un rango de 10 a 90 segundos.....</i>	<i>76</i>
<i>Tabla 14. Resultados de la viscosidad del gel de CAP a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm.....</i>	<i>77</i>
<i>Tabla 15. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm.....</i>	<i>78</i>
<i>Tabla 16. Resultados de la viscosidad del gel Epaq® a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm.....</i>	<i>79</i>
<i>Tabla 17. Resultados de la viscosidad del gel de CAP a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 1 minuto), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm</i>	<i>80</i>
<i>Tabla 18. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 1 minuto), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm.....</i>	<i>81</i>

<i>Tabla 19. Resultados de la viscosidad del gel Epaq[®] a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 1 minuto), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm</i>	<i>82</i>
<i>Tabla 20. Resultados de la viscosidad del gel de CAP a temperatura y tiempo de muestreo constantes (37 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm</i>	<i>83</i>
<i>Tabla 21. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a temperatura y tiempo de muestreo constantes (37 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm</i>	<i>84</i>
<i>Tabla 22. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a temperatura y tiempo de muestreo constantes (37 °C; 1 min), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm</i>	<i>85</i>
<i>Tabla 23. Resultados de la viscosidad del gel Epaq[®] a temperatura y tiempo de muestreo constantes (37 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm</i>	<i>86</i>
<i>Tabla 24. Resultados de la viscosidad del gel Epaq[®] a temperatura y tiempo de muestreo constantes (37 °C; 1 min), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm</i>	<i>87</i>
<i>Tabla 25. Viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (30 segundos)) constante, variando la temperatura en un rango de 10 °C a 50 °C</i>	<i>88</i>
<i>Tabla 26. Continuación de resultados de viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (30 segundos) constantes, variando la temperatura en un rango de 10 a 50 °C</i>	<i>88</i>
<i>Tabla 27. Viscosidad del gel de metilcelulosa a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (30 segundos) constante, variando la temperatura en un rango de 10 °C a 50 °C</i>	<i>89</i>
<i>Tabla 28. Continuación de resultados de viscosidad del gel de metilcelulosa a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (30 segundos) constantes, variando la temperatura en un rango de 10 a 50 °C</i>	<i>89</i>
<i>Tabla 29. Viscosidad del gel comercial Epaq[®] a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (30 segundos)) constante, variando la temperatura en un rango de 10 °C a 50 °C</i>	<i>90</i>
<i>Tabla 30. Continuación de resultados de viscosidad del gel de metilcelulosa a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (30 segundos) constantes, variando la temperatura en un rango de 10 a 50 °C</i>	<i>90</i>
<i>Tabla 31. Viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (1 minuto) constante, variando la temperatura en un rango de 10 °C a 50 °C</i>	<i>91</i>
<i>Tabla 32. Continuación de resultados de viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (1 minuto) constante, variando la temperatura en un rango de 10 °C a 50 °C</i>	<i>91</i>

Tabla 33. Resultados individuales de la curva de calibración del tensiómetro de Du Noüy modificado 92

Índice de gráficas

Gráfica 1. Viscosidad del gel de CAP a 25 °C y tiempo de muestreo 30 segundos 41

Gráfica 2. Resultados de la viscosidad del gel de CAP a 25 °C, tiempo de muestreo 1 minuto 41

Gráfica 3. Promedios de la viscosidad del gel de CAP a 25 °C a dos diferentes tiempos de muestreo 30 segundos y 1 minuto..... 42

*Gráfica 4. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a 25 °C y 30 s de muestreo*43

Gráfica 5. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a 25 °C y 1 min de muestreo 43

Gráfica 6. Promedios de la viscosidad del gel de metilcelulosa a dos tiempos de muestreo 30 s y 1 min 44

Gráfica 7. Resultados de la viscosidad del gel comercial a 30 s de muestreo..... 44

Gráfica 8. Resultados de viscosidad del gel comercial a 1 min de tiempo de muestreo..... 45

Gráfica 9. Promedios de la viscosidad del gel comercial a 25 °C y dos diferentes tiempos de muestreo 30 s y 1 min..... 46

Gráfica 10. Viscosidad del gel de CAP a 37°C y 30 s de muestreo 46

Gráfica 11. Promedio de la viscosidad del gel de CAP a 37°C, tiempo de muestreo 30 s..... 47

Gráfica 12. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a 37 °C y 30 s de muestreo 47

Gráfica 13. Promedio de la viscosidad del gel de metilcelulosa a 37 °C, tiempo de muestreo 30 s..... 48

Gráfica 14. Resultados de la viscosidad del gel comercial Epaq® a 37 °C y 30 s de muestreo 48

Gráfica 15. Promedio de la viscosidad del gel comercial EPAQ® a 37 °C, tiempo de muestreo 30 s 49

Gráfica 16. Promedios de la viscosidad del gel de CAP a 25 °C (tiempo de muestreo 30 segundos y 1 minuto) y 37 °C (tiempo de muestreo 30 segundos)..... 49

Gráfica 17. Promedios de la viscosidad del gel de metilcelulosa a 25 °C (tiempo de muestreo 30 segundos y 1 minuto) y 37 °C (tiempo de muestreo 30 segundos) 50

Gráfica 18. Promedios de la viscosidad del gel de comercial a 25 °C (tiempo de muestreo 30 segundos y 1 minuto) y 37 °C (tiempo de muestreo 30 segundos)..... 50

Gráfica 19. Comparación de resultados de las viscosidad al gel de CAP (25 °C y 30 s de muestreo; 25 °C y 1 min de muestreo; 37 °C y 30 s de muestreo), de metilcelulosa (25 °C y 30 s de muestreo; 25 °C y 1 min de muestreo; 37 °C y 30 s de muestreo) y el gel comercial EPAQ® (25 °C y 30 s de muestreo; 25 °C y 1 min de muestreo; 37 °C y 30 s de muestreo) .. 51

<i>Gráfica 20. Viscosidad del gel de CAP en función de la temperatura (en un rango de 10 a 50 °C), tiempo de muestreo 30 segundos.....</i>	<i>52</i>
<i>Gráfica 21. Viscosidad del gel de CAP en función de la temperatura (en un intervalo de 10 a 50 °C), tiempo de muestreo 1 minuto.....</i>	<i>53</i>
<i>Gráfica 22. Promedios de la viscosidad del gel de CAP en función de la temperatura en un intervalo de 20 a 50 °C, tiempo de muestreo 30 segundos y 1 minuto.....</i>	<i>53</i>
<i>Gráfica 23. Viscosidad en función de la temperatura para el gel de metilcelulosa, en un rango de 10 a 50 °C, tiempo de muestreo 30 s.....</i>	<i>54</i>
<i>Gráfica 24. Promedio de la viscosidad del gel de metilcelulosa en función de la temperatura en un intervalo de 20 a 50 °C, tiempo de muestreo 30 segundos.....</i>	<i>54</i>
<i>Gráfica 25. Viscosidad en función de la temperatura (en un intervalo de 10 a 50 °C), para el gel comercial a 30 s de tiempo de muestreo.....</i>	<i>55</i>
<i>Gráfica 26. Promedio de la viscosidad en función de la temperatura para el gel comercial.....</i>	<i>55</i>
<i>Gráfica 27. Resultados de viscosidad incrementando la temperatura en un rango de 10 a 50 °C, comparación de resultados de la evaluación al gel de CAP metilcelulosa y EPAQ®</i>	<i>56</i>
<i>Gráfica 28. Medias de Viscosidad con intervalos de confianza de 95 %.....</i>	<i>57</i>
<i>Gráfica 29. Tiempo de retención del gel de CAP en el tejido vaginal a diferentes pH y comparación con gel de metilcelulosa.</i>	<i>60</i>
<i>Gráfica 30. Comparación de medias para el tipo de gel con intervalos de confianza del 95 %</i>	<i>61</i>
<i>Gráfica 31. Desplazamiento de los geles en tejido de vagina, gel de CAP, gel de metilcelulosa, gel comercial marca Epaq®</i>	<i>64</i>
<i>Gráfica 32. Medias del desplazamiento con un intervalo de confianza del 95 %</i>	<i>65</i>
<i>Gráfica 33. Curva de calibración del tensiómetro de Du Noüy modificado.....</i>	<i>67</i>
<i>Gráfica 34. Medias de fuerza de adhesión con un intervalo de confianza del 95 %.....</i>	<i>69</i>
<i>Gráfica A1. Viscosidad del gel de CAP en función del tiempo</i>	<i>75</i>
<i>Gráfica A2. Promedios de la viscosidad del gel de CAP en función del tiempo.....</i>	<i>75</i>

Lista de abreviaturas

LH	Hormona Luteinizante
FSH	Hormona Folículo Estimulante
CAP	Acetato Ftalato de Celulosa
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana
HVS	Virus Herpes Simple
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
OMS	Organización Mundial de la Salud
ETS	Enfermedades de Transmisión Sexual
ITInt	Inhibidor de la Transcriptasa Inversa Análogo del Nucleótido
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
USP	United States Pharmacopeia

I. MARCO TEÓRICO

1. Anatomía y fisiología de la vagina

Por mucho tiempo la vagina ha sido utilizada como una vía de administración local, así como para la liberación de anticonceptivos, además de ser un órgano importante del aparato reproductor. La vagina es un órgano tubular fibromuscular, que se extiende desde el útero hasta el vestíbulo de los órganos genitales externos, en personas adultas el largo de la vagina varía entre 6 y 10 centímetros (Hussain & Ahan, 2005). La vagina se sitúa entre el recto, la vejiga y la uretra (Figura 1). Está compuesta por cuatro distintas capas: epitelio escamoso estratificado, lamina propia, capa muscular y capa adventicia como se muestra en la Figura 2 (das Neves & Bahia, 2006). El área superficial es extensa, tiene numerosos pliegues y crestas en la capa epitelial. El grosor del epitelio depende de la edad (Figura 3) al nacimiento es delgado, se engrosa en la pubertad y se torna delgado después de la menopausia (Figura 3-D). El espesor del epitelio de mujeres en etapa fértil es de 200 – 300 μm .; además con la actividad hormonal el epitelio aumenta de grosor y es más gruesa en la fase proliferativa, alcanzando el mayor contenido de glucógeno durante la ovulación (Valenta, 2005). El espesor del epitelio depende también de las diferentes etapas de la vida. Aunque no hay glándulas en la mucosa vaginal, la superficie se encuentra cubierta por fluido vaginal (Edsman & Hägerström, 2005). La vagina recibe su suministro de sangre de las arterias del útero y la arteria pudenda, arterias que nacen de las arterias ilíacas internas. La vagina está rodeada por un rico plexo venoso que finalmente desemboca en las venas ilíacas internas (Brannon-Peppas, 1993). Si bien carece de glándulas, el epitelio vaginal normalmente se cubre con una fina película de moco.

El epitelio vaginal es considerado comúnmente como una superficie mucosa, aunque no tiene células calciformes y carece de la liberación directa de mucina. El flujo vaginal es una mezcla de diferentes componentes, que incluyen trasudados a través del epitelio, moco cervical, exfoliación de células epiteliales, secreciones de glándulas de Bartholin y Skene (que se localizan en la pared anterior de la vagina cerca del orificio externo de la uretra), leucocitos y fluido endometrial (Vermani & Garg, 2000).

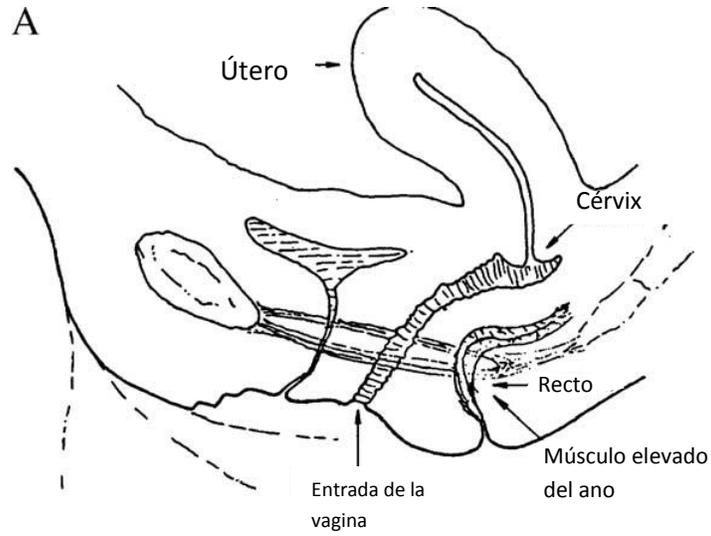


Figura 1. Descripción gráfica de la vagina (Modificado de Valenta, 2005)

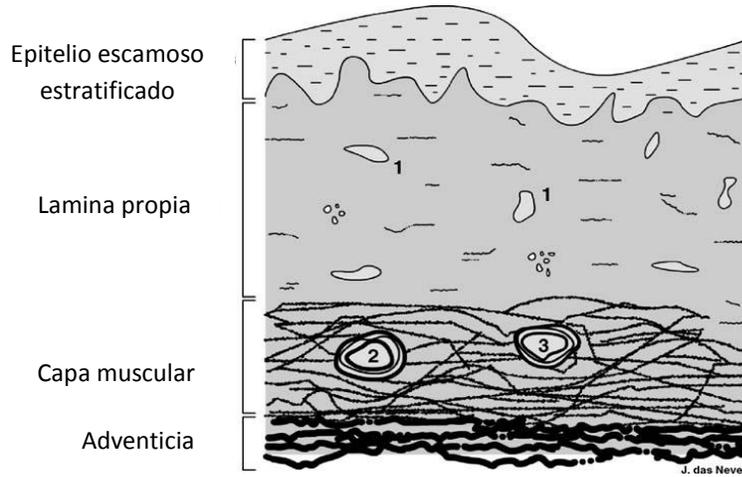


Figura 2. Esquema de la mucosa vaginal. 1; vasos capilares. 2; arteria. 3; venas (Modificado de das Neves & Bahia, 2006)

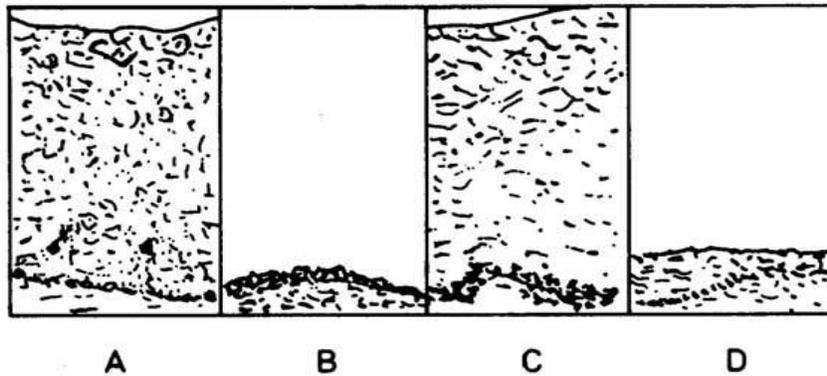


Figura 3. Comparación del grosor de tejido epitelial vaginal. A- recién nacida. B - niña. C - adulta. D - Mujer menopáusica (Valenta, 2005)

Las mujeres en edad reproductiva producen fluido a una velocidad aproximada de 6 mL/día, con 0.5-0.75 mL continuamente presente en la vagina. En mujeres posmenopáusicas la producción de fluido se reduce en un 50 % en comparación con las mujeres en edad reproductiva (Baloglu, Senyigit, Karavana, & Bernkop-Schnürch, 2009).

La actividad enzimática en la vagina es baja en comparación con el tracto gastrointestinal, pero hay una amplia variedad de enzimas tales como nucleasas, lisosomas y esterasas (Baloglu, Senyigit, Karavana, & Bernkop-Schnürch, 2009).

1.1. Capa mucosa

La composición del moco es compleja y cambia con la edad, la fase del ciclo menstrual, y estado de salud (Brannon-Peppas, 1993). El moco es una secreción traslúcida, viscosa que forma una delgada y continua manta de gel adherente a la superficie epitelial de la mucosa. El grosor de esta capa varía de 50 a 450 μm en humanos. El moco por lo general tiene la siguiente composición, la cual puede variar dependiendo del origen y función del moco en el estado de salud (Edsman & Hägerström, 2005; Ahuja, Khar, & Ali, 1997):

Agua	95 %
Glicoproteínas y lípidos	0.5-5 %
Sales minerales	1 %
Proteínas libres	0.5- 1 %

Las glicoproteínas poseen proteínas de alto peso molecular enlazadas a unidades de oligosacáridos. Estas unidades contienen en promedio de 8-10 residuos de monosacáridos de cinco diferentes tipos. Estos residuos se enlistan a continuación, mostrando su nombre sistemático entre paréntesis: *a) L-fucosa (6-desoxi-L-galactosa); b) D-galactosa; c) N-acetil-D-glucosamina (2-acetamida-2-desoxi-D-glucosa); d) N-acetil-D-galactosamina (2-acetamida-3,-5-desoxi-D-galactosa) y e) ácido siálico*. En humanos el único ácido siálico importante es el ácido N-aceteineurámico (ácido 5-acetamida-3,5-didesoxi-D-glicero-D-galacto-nonulosónico) (Jiménez-Castellanos, Zia, & Rhodes, 1993). Las mucinas son una familia de glicoproteínas con un peso molecular de 1-40 millones de Da. Se pueden encontrar en dos formas: secreción de mucina soluble y mucina unida a membrana. La secreción de mucina soluble forma geles viscoelásticos, debido a su alto peso molecular y

su capacidad de formar complejos como resultado de los puentes disulfuro intermoleculares e interacciones hidrofóbicas. El núcleo de la molécula es una proteína, por lo general con un alto contenido de serina y treonina, con cientos de uniones O-glucosídicos (Figura 4). Los oligosacáridos constituyen aproximadamente el 50-80 % del peso seco de las mucinas y son responsables de darles una conformación extendida (Edsman & Hägerström, 2005).



Figura 4. Estructura de la molécula de mucina (Modificado de Edsman & Hägerström, 2005)

La capa mucosal que cubre la superficie epitelial tiene varias funciones: Protección, Barrera, Adhesión y Lubricación (Ahuja, Khar, & Ali, 1997). La función de protección resulta particularmente de la hidrofobicidad de la mucosa, así como de la difusión de ácido clorhídrico a la luz de la superficie epitelial. La mucosa constituye una barrera de difusión, especialmente contra la absorción de fármacos; la difusión a través de la capa de moco depende en gran medida de las características fisicoquímicas del principio activo tales como: carga molecular, hidratación, habilidad de formar puentes de hidrógeno y peso molecular. Sin embargo, la naturaleza del moco también interfiere en el nivel del fenómeno de difusión, especialmente por la concentración de glicoproteínas y el grado de entrecruzamiento, o peso molecular promedio entre dos uniones en la cadena de moco. El papel de adhesión se presenta ya que el moco tiene fuertes propiedades cohesivas y fuertes uniones a las células de la superficie epitelial como una capa continua de gel. La capa de moco mantiene la membrana mucosal húmeda, la secreción continua de moco de las células calciformes es necesaria para compensar la eliminación de moco durante la degradación bacteriana y la solubilización de moléculas de mucina (Ahuja, Khar, & Ali, 1997; Jiménez-Castellanos, Zia, & Rhodes, 1993).

1.2. Microflora vaginal

La flora vaginal es un sistema dinámico y estrechamente interrelacionado, influenciada por factores como contenido de glucógeno en células epiteliales, glucosa, pH, niveles hormonales, trauma durante las relaciones sexuales, método de control anticonceptivo, edad; así como el tratamiento con antimicrobianos. Los lactobacilos (*Döderlein bacilli*) son los microorganismos que más predominan en el ambiente vaginal, junto con otros aerobios y anaerobios facultativos u obligados (Vermani & Garg , 2000).

1.3. Cambios cíclicos

Los cambios en los niveles hormonales (especialmente estrógenos) durante el ciclo menstrual conducen a alteraciones en el tejido celular de la capa epitelial, el ancho de los canales intercelulares, el pH y las secreciones vaginales. Las variaciones en la actividad enzimática (endopeptidasas y aminopeptidasas) con los cambios hormonales complica aún más la liberación adecuada del fármaco dentro de la vagina (Vermani & Garg , 2000).

1.4. pH vaginal

El volumen, propiedades reológicas, composición y pH del fluido vaginal varía con la edad y también con el ciclo menstrual (Edsman & Hägerström, 2005). El pH vaginal es mantenido por lactobacilos presentes en la vagina sana, los cuales juegan un rol importante en el control de infecciones por patógenos comunes. En mujeres fértiles el fluido es ácido y tiene un pH entre 4.5 y 5.5. Mujeres postmenopaúsicas experimentan cambios importantes en la fisiología vaginal tales como atrofia progresiva del epitelio vaginal, elevación del pH (pH= 6.0 – 7.5) y un decremento en la cantidad de secreciones (Edsman & Hägerström, 2005; das Neves & Bahia, 2006). Algunos otros autores reportan que el pH de la vagina se encuentra entre 3.5 y 4.5 (Valenta, 2005). Es importante mencionar que en la mayoría de las mujeres existe un gradiente de pH en la vagina. Además, el semen y las secreciones uterinas, cervicales y menstruales pueden actuar como agentes alcalinizantes, elevando el pH vaginal (Valenta, 2005).

1.5. Ciclo menstrual

El promedio de intervalo entre los ciclos menstruales es de 28 días, la duración incrementa al finalizar la vida reproductiva. El ciclo se puede dividir en cuatro fases funcionales: fase folicular, fase ovulatoria, fase lútea y fase menstrual; tal como se ilustra en la Figura 5. Un aumento en los niveles de estradiol durante la fase folicular hace que la capa epitelial aumente el espesor de 22 a 45 capas en el día 13. Este máximo espesor se mantiene durante la fase ovulatoria. El nivel de estrógeno disminuye durante la fase lútea, las capas de células epiteliales vuelven a un espesor de 22 capas. Para el día 19, el número de capas se reduce a 33, el día 24 hay 23 capas de células en el epitelio. La fase menstrual se produce durante los primeros días, 3 al 7, de la fase folicular (Knuth, Amiji, & Robinson, 1993).

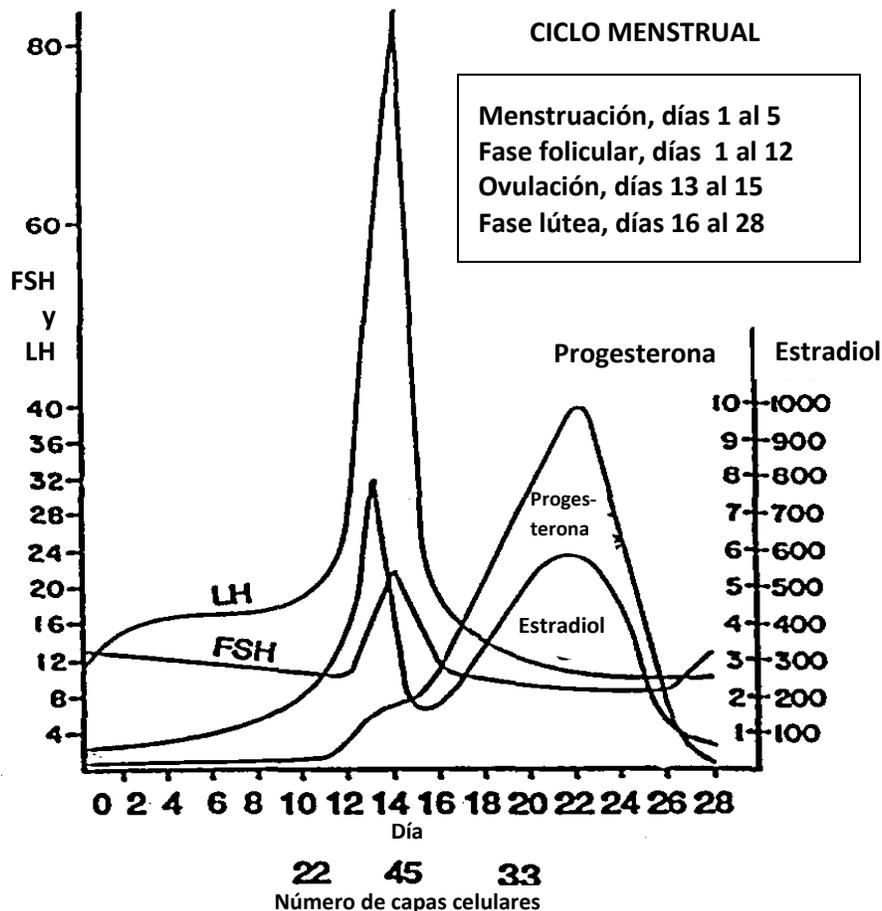


Figura 5. Cambios hormonales y celulares durante el ciclo menstrual. Niveles sanguíneos de hormonas durante la menstruación y como el estrógeno varía las capas celulares en la mucosa vaginal durante el ciclo menstrual (Modificado de Knuth y colaboradores, 1993).

2. Preparaciones de uso vaginal

Las formas de dosificación comúnmente usadas para esta vía son: soluciones, suspensiones, geles, cremas, ungüentos, espumas, pesarios, tabletas, insertos vaginales, anillos vaginales y supositorios. El tiempo de residencia de la formulación es normalmente corto debido a la acción de auto-limpieza de la vagina, la secreción de moco y la humedad del sitio de administración (Edsman & Hägerström, 2005; das Neves & Bahia, 2006).

La mayoría de preparaciones semisólidas empleadas para liberar principios activos en la vagina incluyen cremas, ungüentos, geles, supositorios y espumas (Knuth, Amiji, & Robinson, 1993). En el diseño de este tipo de sistemas debe de considerarse su consistencia y la capacidad de adhesión a la superficie por un periodo de tiempo razonable, antes de ser removidas por lavado u otros factores naturales. De hecho, uno de los principales problemas de los sistemas de liberación vaginal convencionales es la rápida remoción del sitio de acción. Los geles presentan diversas ventajas sobre otros sistemas de liberación vaginal tales como mayor biodisponibilidad, seguridad, versatilidad y menor precio (das Neves & Bahia, 2006). Se han propuesto geles para disminuir la resequedad vaginal ocasionada por la disminución de hormonas; algunos de estos productos disponibles comercialmente son formulaciones bioadhesivas que son retenidas en la cavidad vaginal (Valenta, 2005), por ejemplo Benzal[®] gel lubricante, Benzal[®] crema Vagisil[®], así como el gel Epaq[®]. En la Figura 6 se presenta la fotografía de Epaq[®] que es un gel indicado en tratamiento de infecciones vaginales, contiene metronidazol al 0.75 %. También existen geles que contienen estradiol (Essventia[®], Oestrogel[®]), indicados en la corrección de las carencias estrogénicas y síntomas por el déficit en estrógenos notablemente ligados a la menopausia natural o artificial; desórdenes vasomotores (bochornos vasomotrices), desórdenes genitourinarios, atrofia vulvovaginal, incontinencia urinaria y desórdenes psíquicos (problemas del sueño, astenia) y en prevención de osteoporosis (Diccionario de Especialidades Farmacéuticas PLM).



Figura 6. Presentación comercial de gel indicado en el tratamiento de infecciones vaginales

3. Absorción vaginal

Las vías de absorción del fármaco a través del tejido vaginal aparentemente no difieren de las de otros tejidos. Los medicamentos deben estar en solución antes de la absorción, la capa húmeda de la superficie vaginal ayuda a disolver el fármaco; sin embargo, las secreciones de moco del cuello uterino pueden ser una barrera para la absorción del fármaco, además las secreciones de moco llegan a eliminar las formas farmacéuticas. Propiedades fisicoquímicas de los fármacos tales como el peso molecular, lipofilidad, ionización, tamaño molecular, composición química y la acción local pueden influir en la absorción del fármaco. Los cambios cíclicos en el espesor del epitelio y en el pH vaginal también pueden afectar la absorción, un ejemplo de ello es la absorción de hormonas esteroideas, tales como el estrógeno y progesterona (Knuth, Amiji, & Robinson, 1993).

4. Definiciones

4.1. Adhesión

El término *Adhesión* se puede definir como el puente producido por el contacto entre un adhesivo sensible a la presión y una superficie. La ASTM (Sociedad Americana de Pruebas y Materiales) define el término anterior como el estado entre dos superficies que se mantienen unidas por fuerzas interfaciales que pueden consistir en fuerzas de valencia, acción de enclavamiento o ambos (Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

4.2. Bioadhesión

Bioadhesión es el estado en el que dos materiales, al menos uno de naturaleza biológica, se mantienen unidos por un largo periodo de tiempo por fuerzas interfaciales. También se define como la capacidad de un material (biológico o sintético) de que se adhiera a un tejido biológico por largos periodos de tiempo (Ahuja, Khar, & Ali, 1997). Edsman & Hägerström 1997, definen el término Bioadhesión simplemente como la adhesión entre dos materiales cuando al menos uno de los materiales es de origen biológico.

4.3. Mucoadhesión

Para los propósitos de liberación de fármacos el término bioadhesión implica la fijación de un sistema acarreador de fármaco a una ubicación biológica específica. La superficie biológica puede ser tejido epitelial o la capa de moco de la superficie del tejido. Si la fijación del adhesivo es a la capa de moco, el fenómeno se conoce como *mucoadhesión*. La mucoadhesión puede ser el modelo de la adherencia de moco en los tejidos epiteliales. La mucoadhesión, también puede ser descrita como la interacción entre la superficie de mucina y polímeros naturales o sintéticos (Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

El término mucoadhesión puede ser considerado para referirse a un subgrupo de bioadhesión y más específicamente al caso cuando la formulación interactúa con la capa mucosa que cubre al tejido mucosal (Edsman & Hägerström, 2005).

5. Mucoadhesivos

Un polímero bioadhesivo es un polímero natural o sintético que produce una interacción con una membrana biológica, o con una capa de moco, en tal caso el término que generalmente se utiliza es el de mucoadhesivo (Quintanar-Guerrero, Villalobos-García, Alvarez-Colín, & Cornejo-Bravo, 2001)

El concepto de adhesivos mucosos, o mucoadhesivos fue introducido en el área de liberación controlada de fármacos, alrededor de 1980. Los mucoadhesivos son polímeros naturales o sintéticos que interactúan con la capa de moco que cubre la superficie de la mucosa epitelial y las moléculas

de mucina que constituyen una parte importante de moco (Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

El objetivo del desarrollo de bioadhesivos es el de duplicar, imitar o mejorar los adhesivos biológicos. Deben ser duraderos cuando se requiera y degradables en caso necesario. No deben ser tóxicos. Los sistemas de liberación de fármacos mucoadhesivos utilizan la característica de bioadhesión de algunos polímeros solubles en agua que se convierten en adhesivos hidratados y por lo tanto pueden ser utilizados para orientar un fármaco a una región particular del cuerpo por largos periodos de tiempo (Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

5.1. Clasificación de mucoadhesivos

Los mucoadhesivos se clasifican en tres tipos basándose más en la observación fenomenológica, que en el mecanismo de bioadhesión.

- Tipo I: bioadhesión que es caracterizada por la adhesión ocurrida entre el objeto biológico sin envolverlo en materiales sintéticos.
- Tipo II: este tipo de bioadhesión puede ser representada por la adhesión celular en placas de cultivo o como la adhesión a una variedad de sustancias incluyendo metales, madera y otros materiales sintéticos.
- Tipo III: en este caso, se puede describir como la adhesión de sustancias artificiales a sustratos biológicos tales como la adhesión de polímeros a la piel u otro tejido suave (Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

5.2. Teorías y mecanismos de mucoadhesión

La bioadhesión es usualmente atribuida a interacciones no covalentes (puentes de hidrógeno), formación de enlaces específicos covalentes o la interdifusión de una especie polimérica en otra. La escala molecular de estas interacciones es apropiada para su estudio utilizando métodos analíticos de superficie (Mathiowitz, 1999).

A nivel molecular la mucoadhesión puede ser explicada con las bases de interacción molecular. Las interacciones entre dos moléculas se componen de atracción y repulsión. Las interacciones atractivas surgen de las fuerzas de

Van der Waals, atracciones electrostáticas, puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas. Las interacciones de repulsión ocurren debido a la repulsión electrostática y estérica. Para que la mucoadhesión se lleve a cabo las interacciones de atracción deben ser más duraderas que las de repulsión (Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

Para que se produzca la adhesión, la unión de moléculas deberá cruzar la interfase. Estos enlaces pueden surgir de las siguientes formas:

- a) Enlaces iónicos, donde dos iones con cargas opuestas se atraen entre sí a través de interacciones electrostáticas para formar un enlace fuerte.
- b) Enlaces covalentes, los electrones se comparten, en parejas, entre los átomos enlazados, con el fin de llenar los orbitales de ambos. Estos también son enlaces fuertes.
- c) Puentes de hidrógeno, en este caso, cuando un átomo de hidrógeno se une de forma covalente a átomos electronegativos como el oxígeno, flúor o nitrógeno, lleva una carga ligeramente positiva, y por lo tanto se siente atraído por otros átomos electronegativos. Este tipo de uniones generalmente es más débil que los enlaces iónicos o covalentes.
- d) Enlaces de Van der Waals, estas son algunas de las interacciones más débiles, surgen de las atracciones dipolo-dipolo y dipolo-dipolo inducido en las moléculas polares, así como las fuerzas de dispersión de las sustancias no polares.
- e) Enlace hidrofóbico, se describe con mayor precisión como el efecto hidrófobo, estas uniones son indirectas (los grupos sólo parecen sentirse atraídos el uno al otro), se producen cuando los grupos no polares están presentes en una solución acuosa. Las moléculas de agua adyacentes al hidrógeno de las estructuras de los grupos no polares forman un enlace, lo que reduce la entropía del sistema. Por lo tanto un aumento de la tendencia de asociación entre sí de los grupos no polares minimiza el efecto (Smart, 2005)

5.2.1. Teorías de Bioadhesión

Diferentes teorías tratan de explicar el fundamento de los mecanismos de adhesión. En un sistema particular, una o más teorías pueden explicar o contribuir a la formación de enlaces bioadhesivos (Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

Las cinco teorías comúnmente presentadas son la absorción, difusión, electrónica, fractura y humectación:

5.2.1.1. Teoría Electrónica

De acuerdo a esta teoría, la transferencia de electrones ocurre una vez que el polímero adhesivo entra en contacto con la cadena de glicoproteína de la mucosa, debido a sus diferencias en la estructura electrónica. Esto resulta de la formación de una doble capa eléctrica de la interface. La adhesión ocurre cuando las fuerzas de atracción cruzan la doble capa (Edsman & Hägerström, 2005).

5.2.1.2. Teoría de adsorción

Después del contacto inicial entre dos superficies, el material se adhiere debido a que las fuerzas de superficie actúan entre los átomos de las dos superficies. Dos tipos de enlaces químicos resultan de estas fuerzas, los cuales se clasifican en:

1. Enlaces químicos primarios de naturaleza covalente, los cuales son indeseables en bioadhesión.
2. Enlaces químicos secundarios que tienen diferentes fuerzas de atracción las cuales pueden ser fuerzas electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno e interacciones hidrófobas (Edsman & Hägerström, 2005; Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

5.2.1.3. Teoría de humectación

Esta teoría fue desarrollada para preparaciones líquidas, usando tensión interfacial para predecir la difusión y adhesión. Se analiza el comportamiento de contacto y adhesivo en términos de la capacidad de un líquido a lo largo de un sistema biológico. De la medición de tensión superficial e interfacial se puede calcular el trabajo realizado en un enlace adhesivo.

El trabajo de adhesión (expresada en términos de tensión superficial e interfacial, γ) es definido como la energía liberada por centímetro cuadrado cuando una interface es formada. El trabajo de adhesión está dado por:

$$W_a = \gamma_A + \gamma_B - \gamma_{AB} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde A y B se refieren a la membrana biológica y la formulación bioadhesiva respectivamente. El trabajo de cohesión está dado por:

$$W_c = 2\gamma_A \quad \text{o} \quad \gamma_B \quad \text{Ecuación 2}$$

Para un material bioadhesivo B de difusión en un sustrato biológico A, el coeficiente de difusión está dado por:

$$S_{B/A} = \gamma_A - (\gamma_B + \gamma_{AB}) \quad \text{Ecuación 3}$$

$S_{B/A}$ debe ser positiva para que el material bioadhesivo se adhiera a la membrana biológica (Edsman & Hägerström, 2005; Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

La teoría de la humectación se aplica a sistemas líquidos que presentan afinidad a la superficie para la difusión del mismo. Esta afinidad se puede encontrar mediante el uso de técnicas de medición tales como el ángulo de contacto. La regla general es que cuanto mayor sea el ángulo de contacto, mayor es la afinidad (Figura 7). El ángulo de contacto debe ser igual o cercano a cero para proporcionar extensibilidad adecuada. El coeficiente de extensibilidad (S_{AB}) puede calcularse a partir de la diferencia entre la superficie y las energías γ_B , γ_A , y la energía interfacial γ_{AB} como se indica en la ecuación 4. Esta teoría explica el ángulo de contacto y la reducción de la superficie y las energías interfaciales para lograr una buena mucoadhesión (Boddupalli, Mohammed, Nath, & Banji, 2010).

$$S_{AB} = \gamma_B - \gamma_A - \gamma_{AB} \quad \text{Ecuación 4}$$

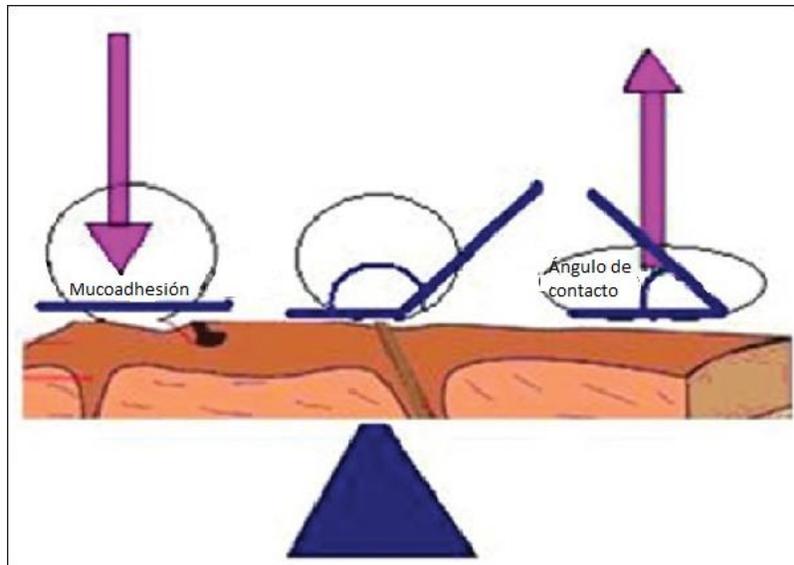


Figura 7. Influencia del ángulo de contacto en la mucoadhesión (Modificado de Boddupalli et al, 2010)

5.2.1.4. Teoría de la difusión

Esta teoría describe la interpenetración de la cadena de polímero y la mucina con una profundidad suficiente para crear un enlace adhesivo semipermanente (Figura 8). Se cree que incrementa la fuerza de adhesión con el grado de interpenetración de las cadenas poliméricas. La profundidad exacta a la que la cadena de polímero penetra el moco depende del coeficiente de difusión, la naturaleza de las cadenas mucoadhesivas, la movilidad y el tiempo de contacto. La profundidad requerida para producir un enlace bioadhesivo eficiente se encuentra en el rango de 0.2-0.5 μm (Boddupalli, Mohammed, Nath, & Banji, 2010).

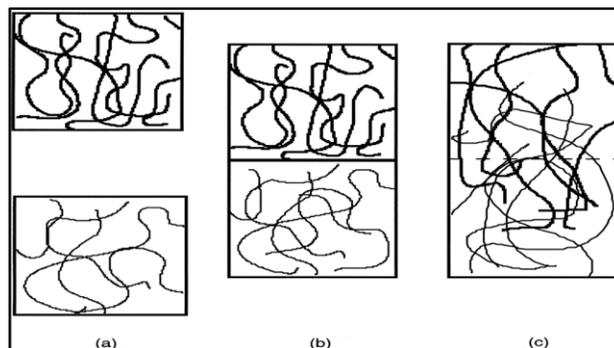


Figura 8. Representación esquemática de la Teoría de difusión. (a) La capa superior y la capa inferior antes del contacto. (b) la capa superior e inferior durante el contacto. (c) capa superior e inferior después de un periodo de contacto (Huang, Leobandung, Foss, & Peppas, 2000)

5.2.1.5. Teoría de la fractura

Está relacionada a la separación de dos superficies después de la adhesión y la fuerza de fractura; se considera que es igual a la fuerza de adhesión. Se supone que la fractura ocurre en la interface, la cual es rara o no existe. Esta teoría es principalmente utilizada para calcular enlaces de adhesión en formulaciones rígidas. La teoría de la fractura equivale a la fuerza de adhesión (G), que está dada por:

$$G = (E\epsilon/L)^{1/2} \text{ Ecuación 5}$$

Donde E es el Modulo de elasticidad de Young, ϵ es la energía de fractura, y L es la longitud de fisura crítica, cuando dos superficies son separadas (Jiménez-Castellanos, Zia, & Rhodes, 1993; Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

5.2.2. Mecanismo de Mucoadhesión

El mecanismo de mucoadhesion se divide generalmente en dos etapas: la fase de contacto y la de consolidación (Figura 9). La primera etapa se caracteriza por el contacto entre el mucoadhesivo y la membrana mucosa, con la difusión e hinchamiento de la formulación, inicia su contacto profundo con la capa de moco.

En la etapa de consolidación, los materiales mucoadhesivos se activan por la presencia de humedad. La humedad plastifica el sistema, lo que permite que las moléculas mucoadhesivas se liberen y se unan por fuerzas débiles de Van der Waals y puentes de hidrógeno. Existen dos teorías que pueden explicar el paso de consolidación: la teoría de la difusión y la teoría de la deshidratación. De acuerdo con la teoría de la difusión, las moléculas mucoadhesivas y las glucoproteínas del moco interactúan entre sí por medio de la interpenetración de las cadenas y la construcción de enlaces secundarios. Para que esto ocurra, el sistema tiene que poseer características mucoadhesivas para favorecer las interacciones químicas y mecánicas. Por ejemplo, las moléculas con grupos funcionales $-OH$, $-COOH$, con carga de superficie aniónica, de alto peso molecular, las cadenas flexibles y propiedades de superficie, que ayudan en la difusión a través de la capa de moco, pueden presentar propiedades mucoadhesivas (Boddupalli, Mohammed, Nath, & Banji, 2010).

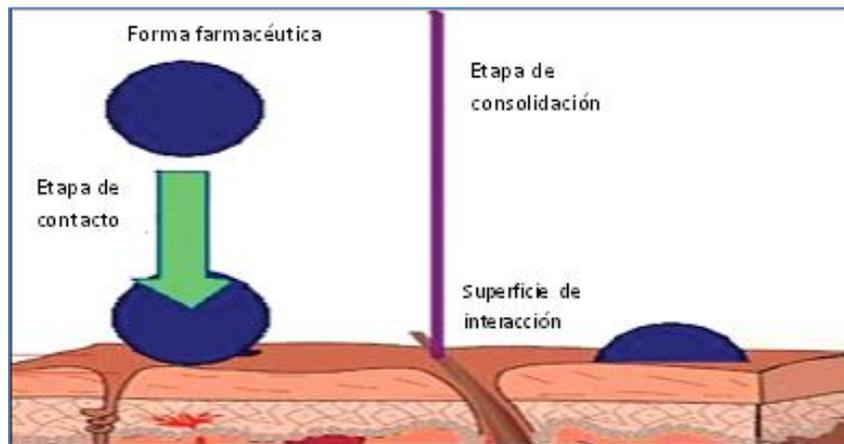


Figura 9 Proceso de contacto y consolidación.

6. Pruebas para evaluar la bioadhesión

Se han reportado diferentes pruebas para evaluar si una preparación es capaz de distribuirse y ser retenida en la vagina. Estas pruebas se pueden clasificar en dos grandes grupos *in vivo* e *in vitro* (das Neves & Bahia, 2006); sin embargo se puede incluir un tercer grupo dentro de la clasificación *ex vivo*. A continuación se describen estos grupos:

6.1. Pruebas *in vitro*

Para estas pruebas se utilizan simulaciones de tejido, fluidos corporales o modelos en los que se simula un órgano. Los métodos *in vitro* involucran a las pruebas de polímeros bioadhesivos en moco sintético, se basan en la medición de la tracción o la tensión de corte. La bioadhesividad determinada por la medición de la tensión puede ser subjetiva ya que no existe un método estándar de prueba establecido para la bioadhesión (Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

Existe un método donde se simula la penetración utilizando una mezcla del polímero en solución con mucina, parámetros reológicos como la viscosidad o elasticidad son evaluados en la mezcla, los valores obtenidos son comparados con las propiedades reológicas del polímero y la mucina por separado. El valor de la mezcla debe ser mayor que el de la suma de los valores del polímero y la mucina sin mezclar. Esto es debido a que los cambios conformacionales e interacciones químicas que ocurren en la

mezcla, producen un cambio en el comportamiento reológico (Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

Otros autores han medido la bioadhesión utilizando una membrana de celofán y evaluando la fuerza necesaria para romper el enlace adhesivo entre la muestra analizada y la membrana de celofán hidratada (das Neves & Bahia, 2006; Chopra, Motwani, Zeenat, Shusma, Farhan, & Roop, 2007). Algunos grupos de investigación han evaluado diferentes propiedades reológicas de los geles para estimar su desempeño en la vagina (Chang, Oh, Kim, & Kim, 2002). Otras pruebas *in vitro* utilizadas son: método de sonda fluorescente, espectroscopía mecánica, retención de flujo, adhesión por peso.

6.2. Pruebas *in vivo*

Este tipo de pruebas utilizan animales como ratones, ratas, conejos y en algunos casos particulares se llega a investigar en humanos, para evaluar la bioadhesividad de polímeros naturales o sintéticos en tiempo real. Los métodos para estudios de bioadhesión *in vivo* son escasos, algunos evalúan el tiempo de residencia en el sitio de aplicación utilizando scintigrafía gamma y colorantes, mientras que otros implican la medición del tiempo de transporte empleando radioisótopos. El uso exitoso de la adición de marcadores en la formulación se basa en las propiedades del vehículo no se modifican y, por lo tanto, se comportan de manera idéntica que, en ausencia del marcador, para que los resultados obtenidos reflejen el tiempo de residencia de la forma farmacéutica. Las posibles razones del uso reducido de los métodos *in vivo*, es que no se puede discriminar entre mucoadhesión y otros factores que afecten el tiempo de residencia, además de ser caros y estar acompañados por grandes desviaciones estándar (Edsman & Hägerström, 2005).

Existen algunos reportes en los que se ha simulado el coito con un falo plástico para estimar el efecto de la actividad sexual en la diseminación y retención de los geles en la vagina (das Neves & Bahia, 2006)

6.3. Pruebas *ex vivo*

Este tipo de métodos involucran el empleo de moco natural, muestras de tejido congelado, muestras de tejido recién extraído, por ejemplo en los

métodos basados en la medición de la tensión ya sea de desprendimiento o de corte cuando se separa la formulación del tejido (Ahuja, Khar, & Ali, 1997).

Nakamura y colaboradores (1996) utilizaron dos métodos para medir la bioadhesividad, ambos se basan en la utilización de placas de agar preparado con solución amortiguadora de fosfatos, estos se describen con mas detalle a continuación.

El primer método consta de una placa de agar con solución amortiguadora, o bien, tejido de animales como vaca, borrego, cerdo, rata o ratón. Sobre el agar o el tejido se coloca una muestra de 5 mm de diámetro del gel en estudio. La placa es inclinada a un ángulo fijo y se registra la máxima distancia recorrida por la muestra en un cierto tiempo (Nakamura & Ohta, 1996). En este trabajo de tesis, se utilizará una modificación a este método, la cual consiste en sustituir la placa de agar por una placa de acero inoxidable en la cual se fijará el tejido vaginal de cerda.

El otro método reportado, se basa en el aparato de desintegración de tabletas (USP), utilizando tejido de animales como cerdo, borrego, vaca, ratas o ratones, el cual es colocado en la placa como se muestra en la Figura 10, la muestra en la placa es sumergida en la solución amortiguadora. El tiempo de residencia de la muestra en la placa se determina por inspección visual (Nakamura & Ohta, 1996; Bacchav & Patravale, 2009).

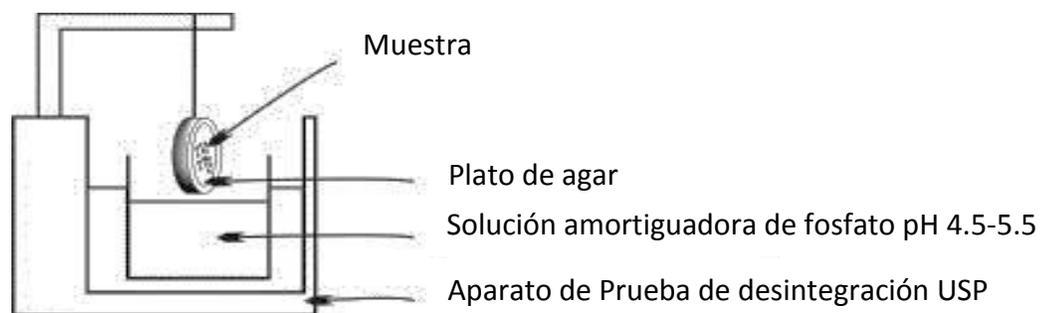


Figura 10. Aparato utilizado para medir el tiempo de residencia de polímeros bioadhesivos (Modificado de Nakamura & Ohta, 1996)

Existe otro método para la determinación de la fuerza de la adherencia a un tejido, éste utiliza una versión modificada del tensiómetro de du Noüy. El anillo es sustituido por una placa cuadrada metálica y el filamento original se

sustituye por un filamento de acero inoxidable similar a cuerdas de piano de calibre 25 de 0.51 mm de grosor, Figura 11. El dispositivo se calibra usando pesas de referencia. Cada sección de la mucosa se coloca en el plato con la superficie mucosa expuesta, sujetando con un soporte de plástico y grapas. La lectura de fuerza de adherencia se obtiene cuando el gel se separa de la mucosa (Quintanar-Guerrero, Villalobos-García, Alvarez-Colín, & Cornejo-Bravo, 2001)

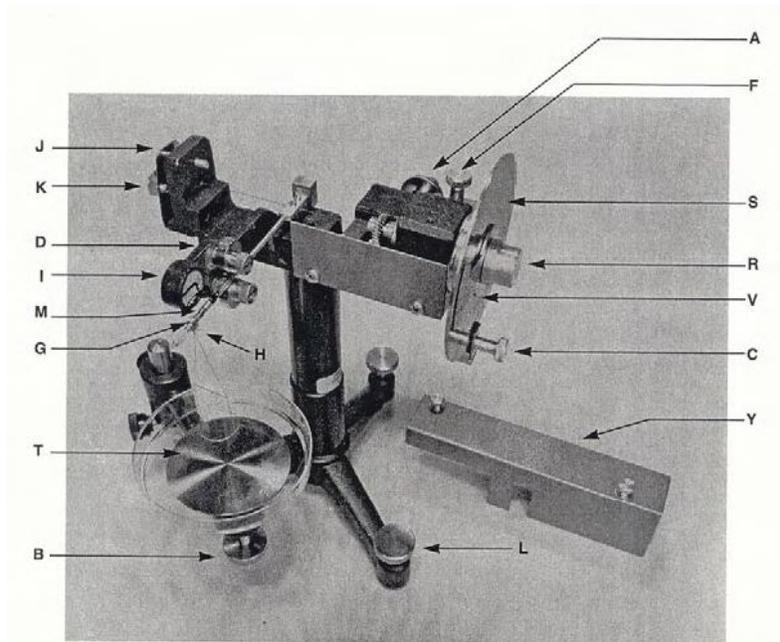


Figura 11. Partes del tensiómetro de Du Nüoy modificado. A) Perilla estriada; B) Tornillo ajustador de la placa de muestra; C) Sujetador del disco o dial; D) Tope ajustable; F) Tornillo para ajuste fino; G) tuerca de ajuste; H) gancho para colocar la placa; I) Espejo indicador; J) Tornillo de retención del alambre; K) Tornillo trasero de soporte del resorte; L) Tornillo nivelador de la base; M) Brazo nivelador de la torsión; R) Tapa; S) Dial o disco graduado; T) Placa donde se coloca la muestra; V) Vernier; Y) Tapa del alambre de torsión

7. Geles de Acetato Ftalato de Celulosa

7.1. Definición de gel

Los geles son sistemas semisólidos que comprenden pequeñas cantidades de sólidos, dispersos en cantidades relativamente grandes de líquido, sin embargo, poseen más un carácter sólido. Estos sistemas forman una matriz polimérica o red tridimensional. Están formados por largas cadenas que se conectan en puntos específicos, estas conexiones deben ser reversibles. Los

geles pueden presentar varias ventajas sobre otros sistemas de liberación de medicamentos, tales como una mayor biodisponibilidad, seguridad, versatilidad y ahorro económico (das Neves & Bahia, 2006).

La Farmacopea de los Estados Unidos de América (United States Pharmacopeia 29, USP) define los geles como sistemas semisólidos compuestos por pequeñas partículas inorgánicas o por grandes moléculas orgánicas interpenetradas por un líquido. La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 8ª edición (FEUM), define un gel como una preparación semisólida que contiene el o los principios activos o aditivos constituidos, por lo general de macromoléculas, dispersas en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite que forma una red que atrapa al líquido y que le restringe su movimiento, por lo tanto son preparaciones viscosas.

7.2. Clasificación de los geles

Los geles pueden ser clasificados de distintas formas, de acuerdo por el número de fases en que están constituidos, de acuerdo a su fase continua y a sus propiedades.

7.2.1. Según el número de fases en que están constituidos

- a) Geles de una sola fase, constan de macromoléculas orgánicas distribuidas uniformemente en todo el líquido, de tal manera que no existe ningún límite evidente entre las moléculas dispersas y el líquido. Este tipo de gel puede prepararse con macromoléculas sintéticas o con gomas naturales. A estos últimos también se les conoce como mucílagos. Aunque estos geles, por lo común son acuosos, se pueden emplear alcoholes y aceites como fase continua.
- b) Geles de dos fases, la masa de gel consiste en una red de partículas pequeñas separada del gel. Por ejemplo, el hidróxido de aluminio, en donde las partículas se encuentran dispersas en la fase líquida y son relativamente grandes. Constituidos por dos líquidos inmiscibles que forman una estructura transparente que presenta características de semisólido (USP 29 NF 24, 2006).

7.2.2. De acuerdo a su fase continua

- a) Geles hidrofílicos, son aquellos que presentan una fase acuosa continua. Preparaciones cuyas bases usualmente consisten en agua, glicerol y propilenglicol, gelificados con agente semejante al tragacanto, almidón, derivados de celulosa, polímeros de carboxivinil y silicatos de magnesio y aluminio.
- b) Geles hidrofóbicos, su fase continua es un solvente orgánico. Preparaciones cuyas bases usualmente consisten en parafinas líquidas como polietileno, o aceites grasos gelificantes como sílica coloidal y aluminio (USP 29 NF 24, 2006).

7.2.3. De acuerdo a sus propiedades

- a) Geles químicos, son aquellos que tienen entrecruzamientos mediante enlaces covalentes. Por lo tanto estos no se disuelven tan fácilmente en agua u otros disolventes orgánicos a menos que el enlace covalente sea roto.
- b) Geles físicos, involucran interacciones no covalentes, en las que incluyen puentes de hidrógeno, asociaciones iónicas, interacciones hidrofóbicas, fuerzas de van der Waals, entrecruzamientos por segmentos cristalinos y complejación del disolvente.

7.3. Acetato Ftalato de Celulosa

El acetato ftalato de celulosa, es una celulosa en la cual aproximadamente la mitad de los grupos hidroxilo está acetilado y alrededor de un cuarto están esterificados con uno de los dos grupos ácidos, siendo en este caso el ácido ftálico, y el grupo ácido remanente está libre.

Los nombres con los que se le conoce al acetato ftalato de celulosa en la Farmacopea Británica, Japonesa, Europea, y en la Americana son: "cellacefate", "cellulose acetate phtalate", "cellulosi acetas phtalas" y "cellacefate", respectivamente.

Algunos sinónimos son los siguientes: acetil ftalilo de celulosa, CAP (por sus siglas en inglés), acetato benceno-1,2-dicarboxilato de celulosa, acetato hidrógeno-1,2-bencendicarboxilato, acetato hidrógeno ftalato de celulosa,

acetato monoftalato de celulosa, acetoftalato de celulosa, acetuilftalato de celulosa.

Su nombre químico es acetato de celulosa 1,2-bencenodicarboxilato, su estructura química se muestra en la Figura 12.

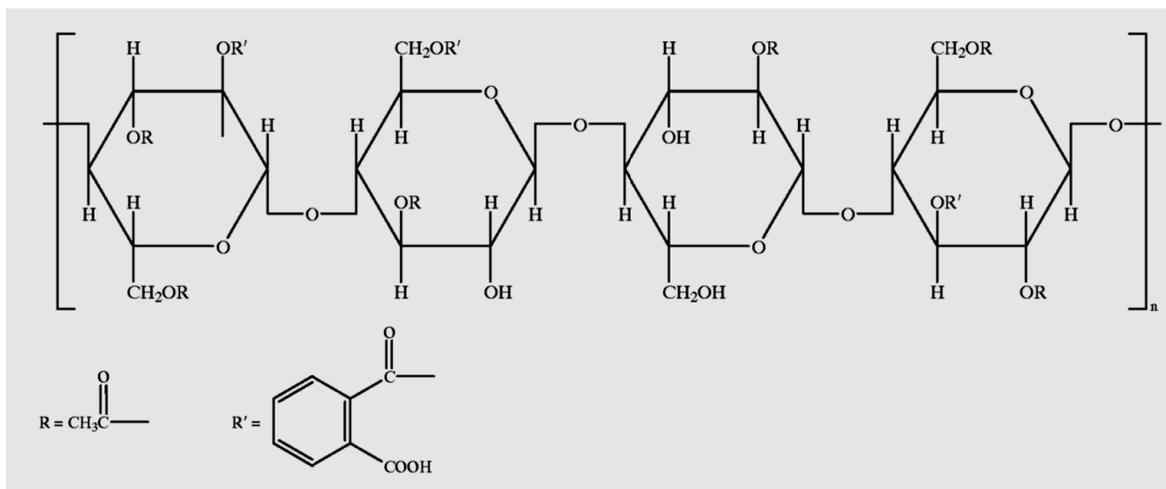


Figura 12. Estructura química de Acetato Ftalato de Celulosa (Rowe, Shekey, & Owen, 2006)

La Farmacopea Europea del 2005 y la USP NF 23, describen al acetato ftalato de celulosa como producto de la reacción entre el anhídrido ftálico y un éster parcial de acetato de celulosa que contiene 21.5-26.0 % de grupos acetyl (C₂H₃O) y 30.0-36.0 % de grupos (*o*-carboxibencil) ftalilo (C₈H₅O₃)

Los polímeros contienen grupos donadores de protones que se encuentran miscibles con aquellos que contienen grupos receptores de protones, lo cual se debe a interacciones específicas, como puentes de hidrógeno. El CAP tiene grupos hidroxilos libres que pueden actuar como donadores de protones (Bath & Kumar, 2006).

7.3.1. Descripción

El ftalato acetato de celulosa es un polvo de flujo libre, gránulos o escamas higroscópico, color blanco o blanquecino. Es insípido y sin olor, puede llegar a tener un olor ligero a ácido acético. Tiene un peso molecular elevado aproximado a 60,000 (Neurath, Debnath, Strick, & Li, 2001). Densidad de 0.26 g/cm³, su punto de fusión es de 192 °C y temperatura de transición vítrea de

160-170 °C. Tiene un contenido de humedad del 2.2 %. El acetato ftalato de celulosa es higroscópico por lo tanto se deben tomar las precauciones necesarias para evitar una humedad excesiva (Rowe, Shekey, & Owen, 2006). Es prácticamente insoluble en agua, alcoholes e hidrocarburos clorados y no clorados. Soluble en cetonas, ésteres, alcoholes éter, éteres cíclicos y ciertas mezclas de solventes, tales como, acetona: etanol (1:1), acetona: agua (97:3), benceno: metanol (1:1), acetato de etilo: etanol (1:1), clorometileno: etanol (3:1). Puede ser soluble en soluciones amortiguadoras acuosas con pH menores a 6.0. Tiene una solubilidad ≤ 10 % p/p, en un amplio rango de solventes, por ejemplo, acetona, diacetona, dioxano, etoxietil acetato, etil glicol monoacetato, etil lactato, metoxietil acetato, β - metoxietilacetato, metilacetato y metil etil cetona (Rowe, Shekey, & Owen, 2006).

Una solución al 15 % p/p en acetona con una humedad de 0.4 % tiene una viscosidad de 50-90 mPa·s (50-90 cPoise) (Rowe, Shekey, & Owen, 2006).

7.3.2. Aplicaciones

El acetato ftalato de celulosa (CAP) se utiliza como película entérica, este tipo de recubrimiento resiste el contacto prolongado con el ácido gástrico, pero se disuelve con ácidos débiles o en el medio intestinal. La forma micronizada del CAP (Aquateric®) contiene 66 a 73 % de CAP, poloxamero y destilado de monoglicéridos acetilados, es utilizada para recubrimiento. Otras formas comerciales del CAP son: granulado (Cellacefate®) y micronizado en suspensión acuosa (Aquacoat®) que contiene alrededor de 30 % de sólido del cual 19-27 % es CAP y 3-11 % es poloxamero 188 (Strick, 2009).

El CAP también es usado como aglutinante en la elaboración de tabletas y cápsulas (Rowe, Shekey, & Owen, 2006).

Existen reportes que indican que el acetato ftalato de celulosa presenta actividad microbicida, contra patógenos de enfermedades de transmisión sexual como el VIH, y diversos tipos de herpes (HVS) (Neurath, Debnath, Strick, & Li, 2001). Cuando se formula adecuadamente, en su forma micronizada puede inactivar VIH, HVS-1, HVS-2, citomegalovirus, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Haemophilus ducreyi* y *Chlamydia trachomatis*, sin embargo no afecta a *Lactobacilli*, componente natural de la

flora vaginal, el cual contribuye a la resistencia contra las enfermedades de transmisión sexual (Neurath, Strick, Li, Lin, & Jiang, 1999). La OMS define a los microbicidas como agentes (por ejemplo una sustancia química o antibiótico) que destruyen microbios (Trabajo, 2003). Un microbicida no debe causar daño epitelial, irritación local, ni alteración a la flora local; sin embargo, debe de tener un elevado índice de selectividad y específico para ciertas clases de organismos, asimismo una alta barrera genética a la resistencia (McGowan, 2006), estable a elevadas temperaturas, disponibilidad sin receta médica, con y sin propiedades anticonceptivas en función de la población (Nuttall, y otros, 2007).

El ciclo de vida del VIH nos proporciona ciertos puntos en los cuales un microbicida puede prevenir la infección. Para ello, se cree que el producto debe atacar el virus antes de la integración (es decir, antes de la inserción del ADN proviral en el ADN de la célula huésped). Los fármacos microbicidas en desarrollo pueden clasificarse en cuatro categorías:

1. Agentes destructores de la membrana
2. Agentes inhibidores de la entrada
3. Inhibidores de la transcriptasa inversa
4. Inhibidores de la recaptación de células dendríticas

Los polímeros candidatos a microbicidas no son específicos ya que pueden interrumpir la membrana viral o unirse electrostáticamente al virus y evitar la entrada a las células diana o incluso solo mantener un ambiente hostil para el virus (Nuttall, y otros, 2007).

En la Figura 13 se ejemplifican los mecanismos de los microbicidas para reducir el riesgo de enfermedades de transmisión sexual, como ya se mencionó anteriormente pueden ser, la restauración del pH vaginal para establecer un ambiente ácido que resulta hostil contra los microorganismos responsables de ETS, incluyendo el VIH. Los microbicidas alteran la capa del virus por lo tanto es inactivado, inhiben la fusión y la entrada de los receptores celulares para que el VIH no sea capaz de infectar las células diana, inhibidores de la transcriptasa inversa se absorben en la mucosa y crean una zona de actividad antirretroviral que inhibe la replicación viral (McGowan, 2006).

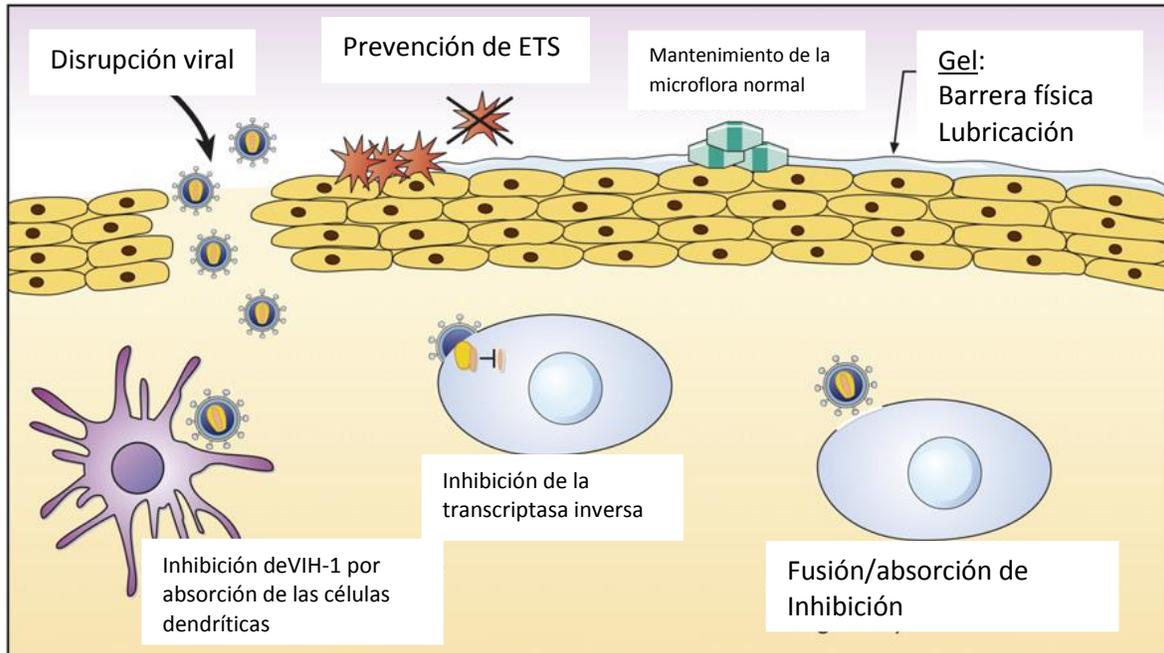


Figura 13. Los microbicidas pueden evitar o reducir considerablemente el riesgo de transmisión del VIH-1 a través de varios mecanismos (Modificado de McGowan, 2006).

Actualmente hay estudios sobre geles microbicidas que pueden contener retrovirales, en la Tabla 1 se muestra el estado de las formulaciones microbicidas que se encuentran en fase de ensayo clínico (Choudhury, Das, & Kar, 2011). Por ejemplo; Tenofovir es un inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleótido (ITINt), se usa en forma de comprimido y por vía oral, para el tratamiento del VIH, en combinación con otros antirretrovirales. Entra a la célula y, mediante su acción impide que el VIH pueda reproducirse. Tenofovir se comercializa con el nombre de Viread®, también se presenta coformulado con emtricitabina en Truvada® y con efavirenz y emtricitabina en Atripla®. El estudio lleva el nombre de CAPRISA 004, debido a que se realiza en el Centro para el Programa de Investigación del SIDA en Sudáfrica, y es un ensayo de fase IIb (VIH, 2010)

Tabla 1 Estado de las formulaciones vaginales en fase de ensayo clínico (Choudhury, Das, & Kar, 2011)

Formulación	Fase	Propósito	Estado
Gel de Naftaleno-2-sulfonato (polímero)	Fase I	Determinar si el gel PRO 2000/5 [®] causa irritación cuando es usado	Completo
Gel PRO 2000/5[®]	Fase I	Determinar la seguridad y aceptabilidad cuando lo usan las mujeres	En progreso
Gel de Tenofovir PMPA	Fase I	Evaluar el gel de PMPA en mujeres infectadas y no infectadas por VIH	En progreso
Efectividad de Buffergel[®] como anticonceptivo	Fases II y III	Comparar BufferGel [®] con Gynol II [®] , un gel anticonceptivo actualmente disponible	En progreso
Gel vaginal C31G SAVVY[®] al 1%	Fase III	Determinar la efectividad y seguridad para prevenir la transmisión de VIH, de hombre a mujer	En progreso
Gel vaginal de sulfato de celulosa al 6%	Fase III	Determinar la efectividad y seguridad para prevenir la infección de VIH	En progreso
Gel de Nonoxinol-9 (N-9)	Fase III	Determinar si se puede prevenir la propagación del VIH	En progreso

II. OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la bioadhesión y tiempo de residencia de geles de acetato ftalato de celulosa en mucosa vaginal de cerda aplicando tres métodos *ex vivo* para determinar su factibilidad de uso como sistemas vaginales de administración de fármacos.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Formular geles de acetato ftalato de celulosa para administración vaginal.
- Preparar un gel de metilcelulosa de aplicación vaginal para comparar sus propiedades bioadhesivas con las del gel de acetato ftalato de celulosa.
- Determinar la viscosidad dinámica de los geles obtenidos y comparar con la viscosidad de un gel vaginal comercial.
- Evaluar y analizar la mucoadhesión y tiempo de residencia del gel de acetato ftalato de celulosa, del gel de metilcelulosa y del gel comercial utilizando tres diferentes métodos *ex vivo* a pH 4.5, 5.0 y 5.5.

III. PARTE EXPERIMENTAL

1. Material y reactivos

- ❖ Material de vidrio de uso general
- ❖ Acetato ftalato de celulosa (CAP)
- ❖ Bicarbonato de sodio
- ❖ Agua destilada y bidestilada
- ❖ Propilenglicol
- ❖ Metil parabeno
- ❖ Propil parabeno
- ❖ Solución saturada de azul de anilina
- ❖ Fosfato monobásico de potasio
- ❖ Fosfato dibásico de potasio
- ❖ HCl concentrado
- ❖ HCl 0.1M
- ❖ NaOH 0.1M
- ❖ Metilcelulosa
- ❖ Gel comercial Epaq®

2. Equipo

- ❖ Balanza analítica VELAB VE-204. Científica Velaquin México
- ❖ Balanza OHAUS® Traveler™. OHAUS Corporation USA
- ❖ Agitador de velocidad variable IKA RW 20. IKA® Works, Inc. China
- ❖ Viscosímetro Brookfield® Modelo CAP 2000. Brookfield Engineering Laboratories USA
- ❖ Desintegrador Kinet®. México
- ❖ Juego de masas/pesas ASTM Clase 6, Brass/Aluminum, sin certificado OHAUS® Corp. USA
- ❖ Tensiómetro modificado de Du Noüy. Central Scientific Company USA.
- ❖ Cronómetro. Sper scientific

3. Material biológico

- ❖ Tejido vaginal de cerda sin tratamiento térmico. Obtenido del Rastro Nueva Distribuidora de Porcino TIF 194, ubicado en Av. Adolfo López Mateos No. 39, San Lorenzo Riotenco. Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

4. Metodología experimental

4.1. Pruebas de solubilidad del CAP

Para determinar el medio en el que se prepararía el gel se realizaron pruebas de solubilidad al CAP en agua, acetona, etanol, mezclas de acetona-agua (90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80, 10:90), mezclas de etanol-acetona (50:50) y solución amortiguadora de cloratos pH 1.6.

Las pruebas se realizaron con un volumen aproximado de 5 ml de solvente, agregando aproximadamente 15 mg de CAP granulado y agitando manualmente.

4.2. Preparación del gel de CAP

Se formuló el gel con base en la investigación teórica y las pruebas de solubilidad que se realizaron. La fórmula para el gel de acetato ftalato de celulosa al 30 % p/p es la siguiente:

Tabla 2. Fórmula del gel de CAP

Materia prima	Porcentaje (p/p)
Acetato ftalato de celulosa	30.000
Bicarbonato de sodio	7.000
Metilparabeno	0.150
Propilparabeno	0.015
Propilenglicol	2.000
Solución saturada de azul de anilina	qs
Agua cbp	100.000

Se preparó un lote de 500 g de gel de CAP al 30 % siguiendo el procedimiento que a continuación se describe:

- ❖ Se pesó la cantidad de acetato ftalato de celulosa- requerida para el lote de 500 g- en balanza analítica
- ❖ El CAP fue dispersado en agua destilada, usando un agitador de velocidad variable a 1000 rpm
- ❖ Se añade NaHCO_3 a la dispersión de acetato ftalato de celulosa, aumentando la velocidad de agitación (1800-2000 rpm)

- ❖ A la dispersión anterior se le agregó, una solución de parabenos, que previamente fueron disueltos en propilenglicol
- ❖ Una vez que se disolvió completamente el CAP, se adicionó unas gotas de solución saturada de azul de anilina en agua
- ❖ El gel fue agitado nuevamente hasta que su coloración fue homogénea

4.3. Preparación del gel de metilcelulosa

Se utilizó un gel de metilcelulosa al 1.5 %, para comparar el efecto bioadhesivo del gel de CAP, la formulación del gel es la siguiente:

Tabla 3. Formulación del gel de metilcelulosa al 1.5%

Materia prima	Porcentaje (p/p)
Metilcelulosa	1.500
Metilparabeno	0.150
Propilparabeno	0.015
Propilenglicol	2.000
Solución saturada de azul de anilina	qs
Agua cbp	100.000

Se preparó un lote de 200 g del gel de metilcelulosa al 1.5 % según el procedimiento descrito a continuación:

- ❖ Se pesó metilcelulosa en balanza analítica
- ❖ La metilcelulosa fue dispersada en agua bidestilada, con ayuda de un agitador mecánico a 1000 rpm
- ❖ Los parabenos fueron disueltos en el propilenglicol, una vez disueltos se agregaron a la dispersión de metilcelulosa, se continuó con la agitación mecánica
- ❖ Al gel anterior se agregaron unas gotas de solución saturada de azul de anilina, agitando mecánicamente hasta completa homogenización de color

4.4. Preparación de soluciones amortiguadoras de fosfatos

Se prepararon tres soluciones amortiguadoras de pH 4.5, 5.0 y 5.5, de acuerdo a las indicaciones de la FEUM 8ª edición, a continuación se describe el procedimiento para cada solución preparada

4.4.1. Solución amortiguadora pH 4.5

- ❖ Se pesaron 13.61 g de fosfato monobásico de potasio y se disolvieron en agua bidestilada
- ❖ El pH fue medido con ayuda del potenciómetro
- ❖ El pH se ajustó con HCl 0.1 M o NaOH 0.1 M
- ❖ La solución anterior fue transferida a un matraz de 1000 ml y llevada al aforo con agua bidestilada

4.4.2. Solución amortiguadora pH 5.0

- ❖ Se pesaron 1.36 g de fosfato monobásico de potasio y se disolvieron en agua bidestilada
- ❖ La solución anterior se agitó mecánicamente hasta completa disolución
- ❖ El pH fue medido con ayuda de un potenciómetro, y se ajustó pH a 5.0 con NaOH 0.1 M
- ❖ La solución amortiguadora se trasvasó a un matraz volumétrico de 1000 ml, se llevó al aforo con agua bidestilada

4.4.3. Solución amortiguadora pH 5.5

- ❖ Se pesaron 35.81 g de fosfato dibásico de potasio y 13.61 g de fosfato monobásico de potasio en balanza analítica
- ❖ Los fosfatos fueron disueltos en agua bidestilada
- ❖ Se agitó mecánicamente hasta completa disolución
- ❖ El pH fue medido con potenciómetro y ajustado con HCl concentrado
- ❖ La solución anterior se trasvasó a un matraz volumétrico de 1000 ml, se llevó al aforo con agua bidestilada

4.5. Evaluación de viscosidad del gel de CAP

Para evaluar la viscosidad del gel de acetato ftalato de celulosa se utilizó el viscosímetro Brookfield modelo CAP 2000® (Figura 14). Se determinó la viscosidad a diferentes tiempos y temperaturas, adicionalmente se analizó la viscosidad a diferentes velocidades. Este procedimiento también se aplicó para el gel comercial (Epaq®) y el gel de metilcelulosa.

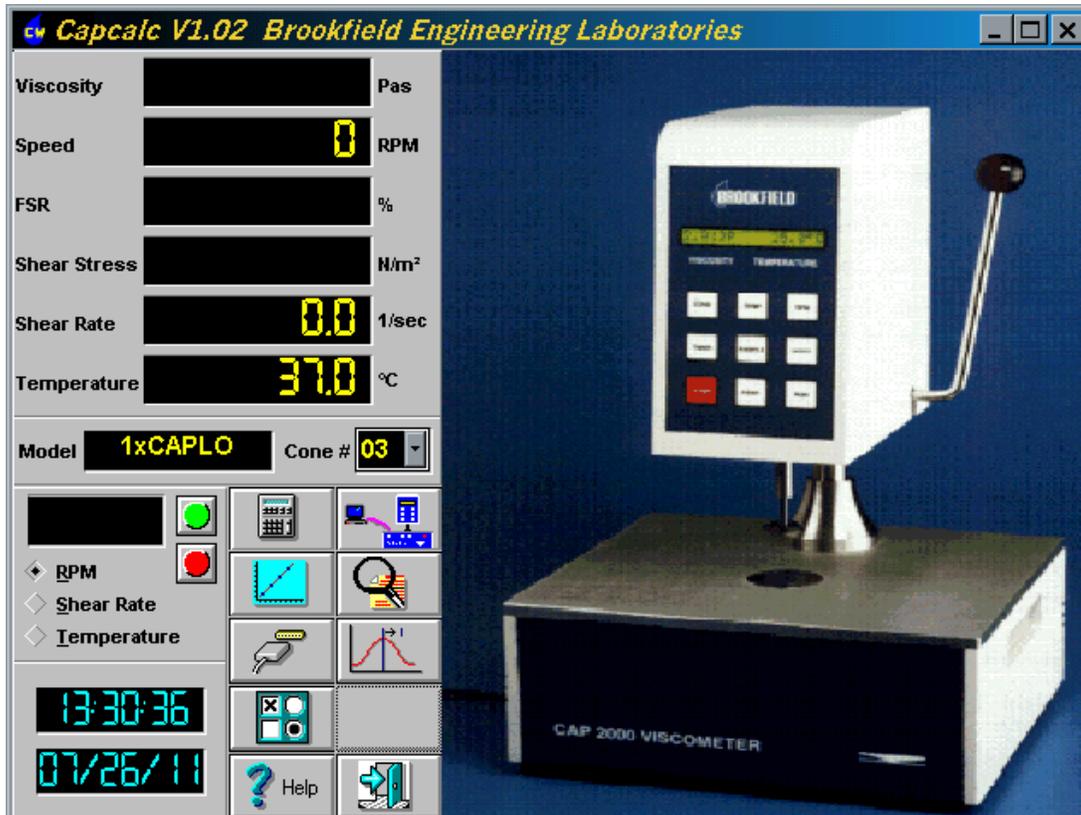


Figura 14. Viscosímetro Brookfield modelo CAP 2000

4.6. Pruebas de bioadhesividad

4.6.1. Método 1

Este método es una adaptación al método de Bacchav & Patravale (2009), Figura 15. En esta prueba se utilizó el aparato de desintegración de tabletas, la canastilla fue sustituida por una placa de acero inoxidable, diseñada en nuestro laboratorio, en la cual se colocó el tejido de vagina de cerda, sobre el tejido se aplicaron aproximadamente 0.95 g de gel de CAP, dejando reposar por 5 minutos en posición horizontal. Posteriormente se coloca la placa en lugar de la canastilla del aparato de desintegración, el tiempo fue cronometrado hasta que ya no se observó la película de gel de CAP en el

tejido, las determinaciones se realizaron por quintuplicado, en solución amortiguadora de fosfatos, a tres diferentes pH's (4.5, 5.0, 5.5) y a 37 °C. Además se realizó una determinación con un gel vaginal antibacterial comercial Epaq® y gel de metilcelulosa, a las mismas condiciones experimentales que para el gel de CAP.

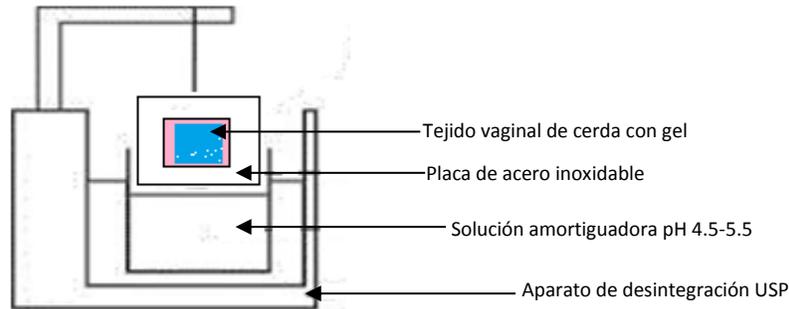


Figura 15. Adaptación al método para evaluar bioadhesividad *ex vivo*, modificación al reportado por Bacchav & Patravale (2009)

4.6.2. Método 2

Este es una modificación al método utilizado por Nakamura & Ohta (1996), el cual se basa en la distancia que recorre el gel a cierto ángulo de inclinación. La modificación consiste en cambiar la placa de agar por tejido vaginal de cerda, que es colocado en una placa de acero inoxidable a 45° de inclinación, esta placa es colocada en un recipiente en el cual se coloca solución amortiguadora de fosfatos (con volumen suficiente para cubrir la placa con tejido), la temperatura se mantuvo a 37 °C (Figura 16).

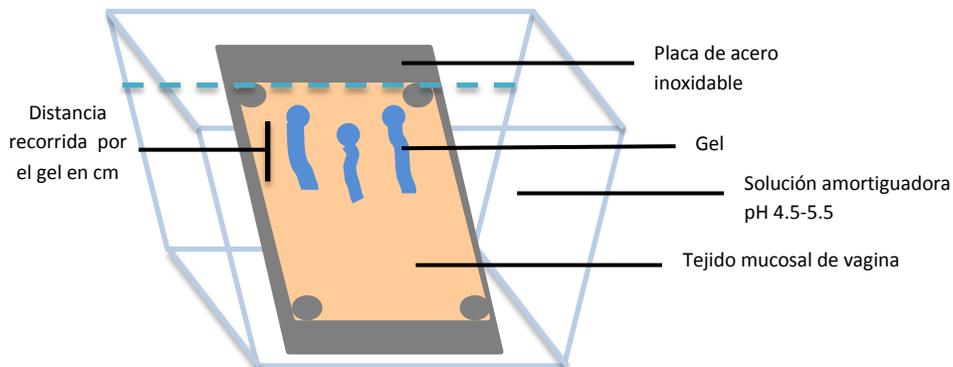


Figura 16. Representación de la modificación al método de Nakamura & Ohta (1996)

Una pequeña cantidad de gel fue colocada en el tejido, con ayuda de una microespátula, se colocó la placa de acero inoxidable en el recipiente con la solución amortiguadora, la placa de acero inoxidable se dejó 10 minutos, para que el gel recorriera el tejido. Una vez pasado el tiempo, se midió la distancia recorrida por el gel con ayuda de una regla. Las determinaciones se realizaron por quintuplicado a tres diferentes pH's (4.5, 5.0 y 5.5). También se realizó para el gel comercial Epaq® y de metilcelulosa.

4.6.3. Método 3

Este método se basa en la medición de la fuerza necesaria para romper la bioadhesión del gel con el tejido vaginal de cerda. Se utilizó una modificación al tensiómetro de Du Noüy. A continuación se describe el procedimiento tanto de la calibración como de la medición de la fuerza de adhesión

a) Calibración del tensiómetro

Antes de realizar la calibración se tiene que llevar a cero el aparato, esto se realiza chequeando que el nivelador se encuentre alineado con la línea que se encuentra en el espejo, de no ser así se ajusta moviendo el vernier con el tornillo que se encuentra a un costado del dial (en la Figura 11 se pueden identificar las partes del tensiómetro). Posteriormente se alinean los ceros tanto del vernier como del dial, esto se puede realizar desatornillando un poco el dial para desplazar el cero hasta que se encuentre con el cero del vernier. La calibración se realizó utilizando un marco de pesas de referencia marca OHAUS® de 1.0012 g, 2.0015 g, 5.0025 g y 10.0015 g; se utilizaron las combinaciones necesarias para realizar la curva de calibración en un rango de 1 hasta 15 g, unidad por unidad. La pesa es colocada en la placa metálica, y se mide la fuerza necesaria para levantar la placa, girando el vernier hasta que el nivelador se encuentre nuevamente con la línea marcada en el espejo del tensiómetro. El procedimiento se realizó por quintuplicado.

b) Medición de la fuerza de adhesión

En el laboratorio se limpió el tejido vaginal de cerda y se hicieron cortes para obtener secciones cuadradas de 3.5 cm de lado, aproximadamente. Las muestras de tejido fueron colocadas sobre la plataforma del tensiómetro (Figura 17 A) y sujetadas con una placa de teflón de forma circular con un centro cuadrado hueco (ver Figura 17 B) que permite sujetar el tejido y exponer la superficie mucosal, el gel de CAP fue distribuido en la superficie

expuesta. Simultáneamente, se verificó que el tensiómetro de Du Noüy modificado se encontrara calibrado y en ceros. Una vez que el tejido fue fijado y el gel depositado en la mucosa, la plataforma del tensiómetro fue elevada hasta que tocara ligeramente la placa metálica, en está fue situada una pesa de 20 g. Nuevamente se verificó que el nivelador estuviera alineado con la marca del espejo del tensiómetro, en el momento en el cual la placa entró en contacto con el gel, fueron cronometrados 30 seg, y posteriormente se comenzó a girar el dial hasta que la placa se separó del tejido. Las lecturas del dial se consideran como unidades del aparato. Las mediciones de fuerza de adhesión se realizaron para los geles de metilcelulosa, Epaq® y CAP, por quintuplicado.



Figura 17. A) Tensiómetro de Du Noüy modificado. B) Placa de teflón adaptada para sujetar el tejido vaginal de cerda en la plataforma del tensiómetro.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La administración de fármacos por vía vaginal ha adquirido gran relevancia debido a que presenta grandes ventajas tales como: accesibilidad, no ser una vía invasiva de administración, dirigirse a un tejido altamente perfundido, y lo más importante, la posibilidad de anular metabolismo de primer paso hepático. Además, la vagina parece ser significativamente permeable a muchos fármacos, especialmente a proteínas de gran peso molecular y fármacos peptídicos. La especificidad de género, la influencia de las relaciones sexuales y las preocupaciones de higiene personal son los principales inconvenientes (tiempo de residencia corto) a esta vía de administración de fármacos (Knuth, Amiji, & Robinson, 1993). Por ello se decidió elaborar un gel de CAP de administración vaginal, que presente buenas propiedades bioadhesivas, para evitar que se elimine rápidamente de la cavidad vaginal, por acción de auto limpieza de la vagina.

Para evaluar el tiempo de residencia del gel elaborado se utilizaron tres métodos *ex vivo*, además de que se comparó con un gel que se encuentra disponible comercialmente a la población femenina sin receta médica y con un gel de metilcelulosa para aplicación vaginal. Como se señaló anteriormente, recientemente han sido documentadas las propiedades microbidas del CAP (McGowan, 2006; Neurath, Debnath, Strick, & Li, 2001); este trabajo de tesis se enfocó en el desarrollo de un gel de CAP y en el análisis de sus capacidades bioadhesivas. Es importante mencionar que este proyecto forma parte de una línea de investigación más extensa que comprende el desarrollo y caracterización de diferentes formas farmacéuticas que contienen CAP y/o principios activos eficaces en el tratamiento de padecimientos vaginales.

1. Pruebas de solubilidad del CAP

El primer solvente a elegir para la preparación del gel de CAP fue el agua pero al ser éste insoluble en aquella se evaluaron diferentes solventes. En las Figura 18 y 19 se muestran los resultados de las pruebas de solubilidad. Puede observarse que en la Figura 18, el CAP es insoluble en agua y en las mezclas de acetona agua, cuando el agua se encuentra en mayor cantidad, mientras que en mezclas que contienen mayor cantidad de acetona sí es posible solubilizar completamente el CAP (Figura 19); sin embargo, en una

proporción 1:1 de acetona-agua es poco soluble ya que la solución se observa turbia (Figura 20). Asimismo, el CAP es insoluble en etanol, etanol-acetona (1:1), en acetona y en solución amortiguadora de cloratos pH 1.6.

De acuerdo con los resultados anteriores el medio en el cual el CAP es soluble es la mezcla acetona-agua, siempre y cuando la acetona este en mayor cantidad, pero este es un medio que resultaría agresivo en el tejido vaginal, por lo cual se decidió utilizar una dispersión de CAP en agua, agregando un poco de bicarbonato de sodio para solubilizar el CAP (Strick, 2009).

2. Geles utilizados

Se utilizaron tres geles: CAP, metilcelulosa y Epaq[®]. Es importante mencionar que para fines de la línea de investigación a la que pertenece este proyecto el gel de mayor interés es el de CAP el cual fue preparado mediante la dispersión de acetato ftalato de celulosa en agua y adicionando bicarbonato de sodio para solubilizar el CAP, además fueron incorporados conservadores (parabenos) y colorante para distinguir el gel en las pruebas de bioadhesión. El interés de trabajar con el gel de CAP surgió debido a que presenta propiedades microbidas, los microbidas son agentes profilácticos autoadministrables que impiden la transmisión del VIH y otros patógenos de transmisión sexual, en un criterio más amplio, el término microbicida incluye productos que pueden ser usados por cualquier ruta o modo de administración para prevenir una infección (Nuttall, y otros, 2007). Se pretende utilizar los datos obtenidos en este proyecto de tesis con otras formulaciones de CAP que actualmente se desarrollan en el Laboratorio de Sistemas de Liberación Modificada (L-13) de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria; además es importante señalar que los métodos de evaluación del tiempo de residencia de los geles adaptados en esta tesis serán usados para evaluar otras formas farmacéuticas incluidas en la línea de investigación principal.

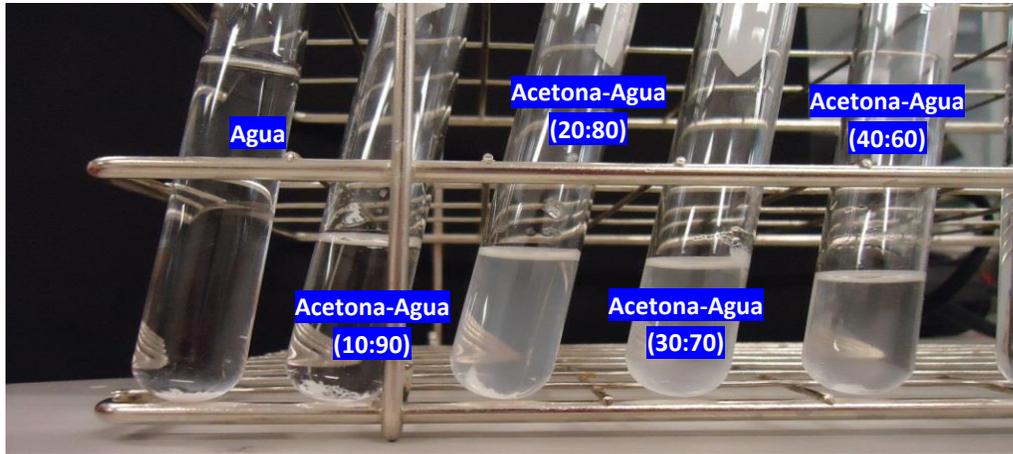


Figura 18. Pruebas de solubilidad del CAP en mezclas de acetona-agua

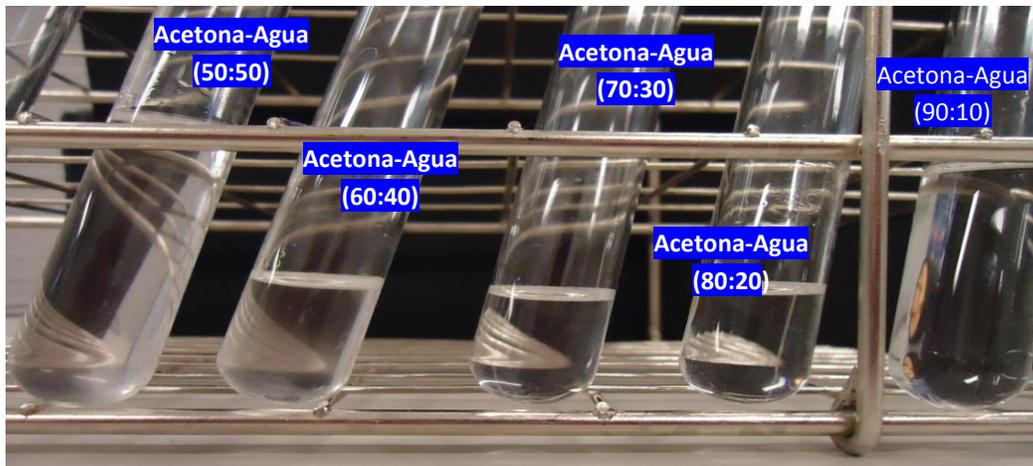


Figura 19. Prueba de solubilidad del CAP en mezcla de acetona-agua

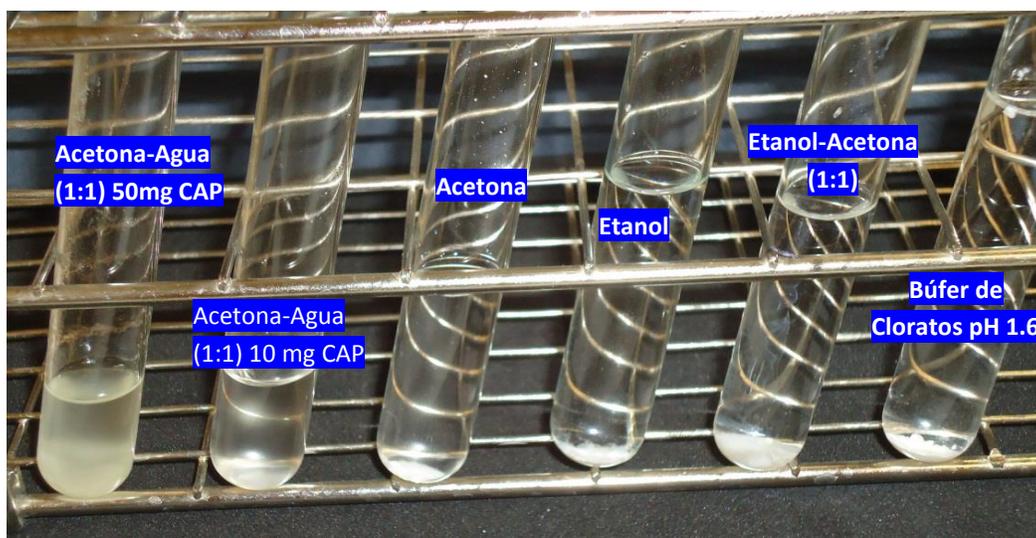


Figura 20. Pruebas de solubilidad en diferentes medios

El desarrollo de productos tópicos que contienen CAP (por ejemplo, usando Aquateric®) como inhibidor de entrada, se encuentran en la fase I (Nuttall, y otros, 2007). Para que el VIH pueda infectar una célula, requiere de tres etapas principales: la unión de la proteína gp120 sobre la capa viral al receptor de las células CD4, un cambio conformacional en la gp120 que permite la unión a otros receptores de células, y un cambio conformacional en la gp41 que conduce a la fusión de la membrana de la célula huésped sobre una amplia variedad de anticuerpos neutralizantes que han sido generadas a partir de células B de memoria en la respuesta a pacientes infectados con VIH. Muchos de estos anticuerpos neutralizados de elevada afinidad están dirigidos a la gp120, a los sitios de unión CD4, y el sitio de unión del co-receptor. Estos estudios validan que la respuesta del huésped a la entrada del VIH, así como la fusión comprende múltiples respuestas de anticuerpos neutralizantes con actividades contra varios tipos de la gp120. La interacción de la gp120 con el receptor CD4 en la superficie celular proporciona un objetivo viable para la prevención de la infección (Tsou, Chen, Dutschman, Gheng, & Hamilton, 2012).

Se decidió utilizar como gel de referencia un gel de metilcelulosa debido a que existen diversos reportes que indican que este es utilizado como gel vaginal a concentraciones de 1.0 al 5.0% (Rowe, Shekey, & Owen, 2006; das Neves & Bahia, 2006), además de que los geles de metilcelulosa poseen propiedades bioadhesivas (Valenta, 2005).

En el mercado mexicano existe un gel vaginal antibacterial, el cual para su venta no requiere receta médica, además de tener un costo accesible para la población en general, se trata del gel Epaq®. Indicado en el tratamiento de la vaginosis bacteriana, este término abarca una serie de infecciones como lo son: vaginitis por *Haemophilus*, *Gardnerella*, inespecífica, *Corynebacterium* y anaerobia. El marbete del gel Epaq® indica que contiene la siguiente formulación:

Fórmula: cada 100 g contienen:	
Metronidazol	0.75 g
Aditivos cbp	100 g

El gel se presenta en tubos de 40 g y de acuerdo con el marbete contiene los siguientes aditivos: agua purificada (diluyente), metilparabeno (conservador),

propilparabeno (conservador), propilenglicol (co-solvente), carbómero 934P (gelificante) y edetato disódico (quelante). Como se puede observar en la fórmula el agente gelificante es un carbómero el cual posee notables propiedades bioadhesivas (das Neves & Bahia, 2006). Es importante señalar que se desconoce la concentración exacta del carbómero.

3. Evaluación de la viscosidad de los geles

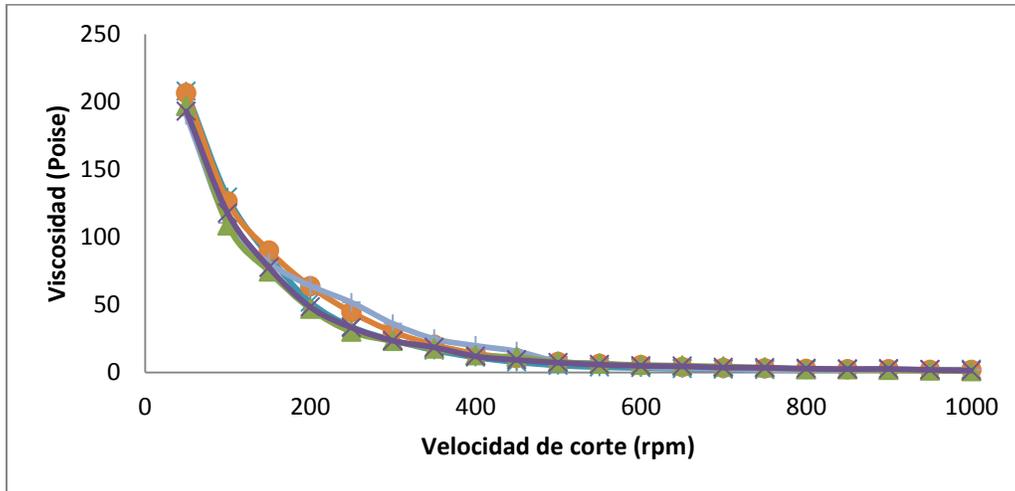
Para determinar la viscosidad se utilizó el viscosímetro Brookfield® modelo CAP 2000, el cual utiliza una aguja cónica de acuerdo a la viscosidad que se espera tenga la muestra. Este equipo puede ser configurado para evaluar la viscosidad, manipulando variables como la temperatura, tiempo de muestreo y velocidad de corte. Para determinar el efecto de las diferentes variables sobre la viscosidad dinámica de la muestra se realizaron pruebas en el viscosímetro, en las cuales se modificaba una variable y el resto se mantuvo constante.

Primero, para evaluar el efecto del tiempo de muestreo, se mantuvieron constantes la temperatura (25 °C) y la velocidad de corte (100 rpm), el tiempo se aumentó de 10 en 10 segundos en un rango 10 a 90 segundos, se evaluó por quintuplicado (gráfica A1 del anexo). Los resultados puntuales así como el análisis estadístico se encuentran en las Tabla 12 y 13 del anexo. Al promediar los resultados y obtener la gráfica correspondiente, en el intervalo de 20 a 30 s, se presenta un punto máximo, después de 40 s la viscosidad se mantiene constante (gráfica A2 del anexo). Por ello se decidió utilizar dos tiempos de muestreo a 30 y 60 s, para las evaluaciones posteriores.

Se decidió estudiar dos temperaturas de muestreo, 25 °C debido a que es la temperatura de almacenamiento o de anaquel de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana relacionada con la estabilidad de fármacos y medicamentos (NOM-073-SSA1-2005, 2006) y 37 °C ya que es la temperatura a la que se administrarían los geles (temperatura corporal).

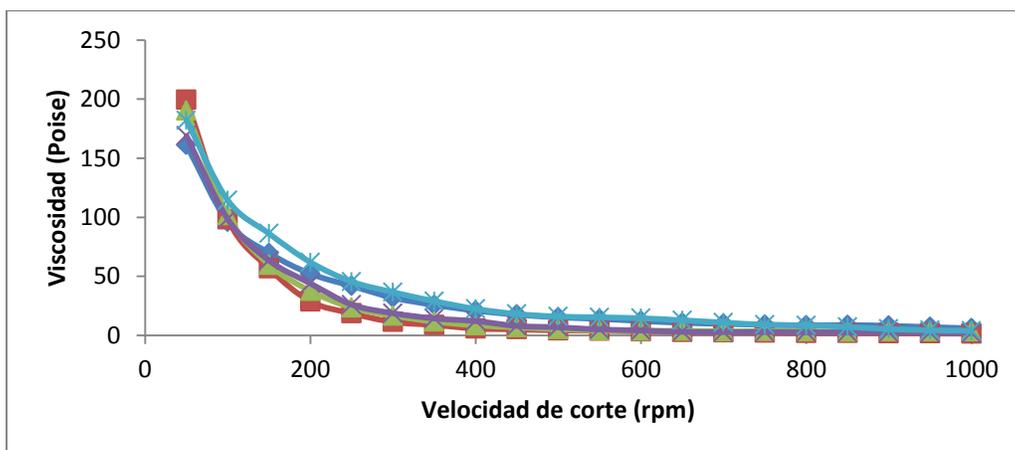
Una vez seleccionados los valores de la temperatura (25 °C y 37 °C) y tiempo de muestreo (30 y 60 s), se procedió a obtener un estudio de viscosidad en función de la velocidad de corte y temperatura de cada uno de los geles (CAP, metilcelulosa y comercial). Los resultados puntuales así como el análisis estadístico se encuentran en el anexo de la Tabla 10 a la 23.

En Gráfica 1 se muestran los resultados de las cinco evaluaciones de viscosidad para el gel de CAP a 25 °C y tiempo de muestreo de 30 s, donde no se observa variación entre las diferentes curvas, además de tener una clara tendencia de que a mayor velocidad de corte se presenta menor viscosidad. Este comportamiento es clásico de un fluido no newtoniano, pues se observa una disminución de la viscosidad aparente frente al aumento de la velocidad de rotación aplicada.



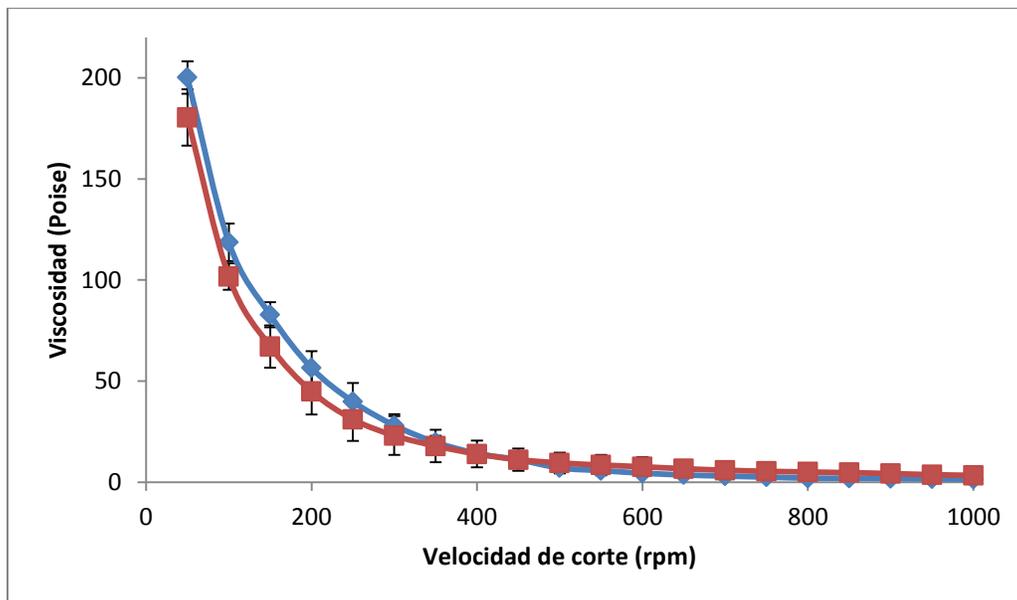
Gráfica 1. Viscosidad del gel de CAP a 25 °C y tiempo de muestreo 30 segundos.

En la Gráfica 2 se muestran los resultados de las cinco evaluaciones de viscosidad del gel de CAP, a 25 °C y 1 min de muestreo, presenta una tendencia similar a la anterior, a mayor velocidad de corte menor viscosidad (fluido no newtoniano). Sin embargo, la variación de los datos es mayor que para las mediciones después de 30 s (Gráfica 1).



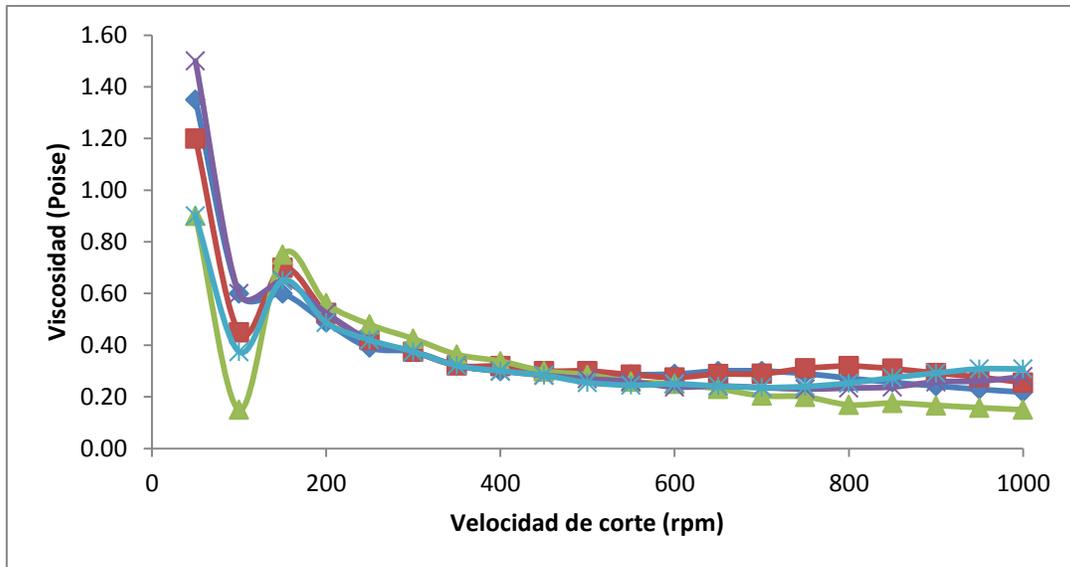
Gráfica 2. Resultados de la viscosidad del gel de CAP a 25 °C, tiempo de muestreo 1 minuto

Para comprobar que no existiera variación entre los datos se obtuvo el promedio de las cinco repeticiones y se calculó la desviación estándar. En la Gráfica 3 se incluyen los promedios para los dos diferentes tiempos de muestreo (30 s y 1 min) y las barras de error representan una desviación estándar. Puede observarse que las barras de error son pequeñas, incluso en algunos casos, son menores a los marcadores de los promedios. La dispersión entre los datos no es muy grande, lo cual nos indica una adecuada repetibilidad en la prueba.



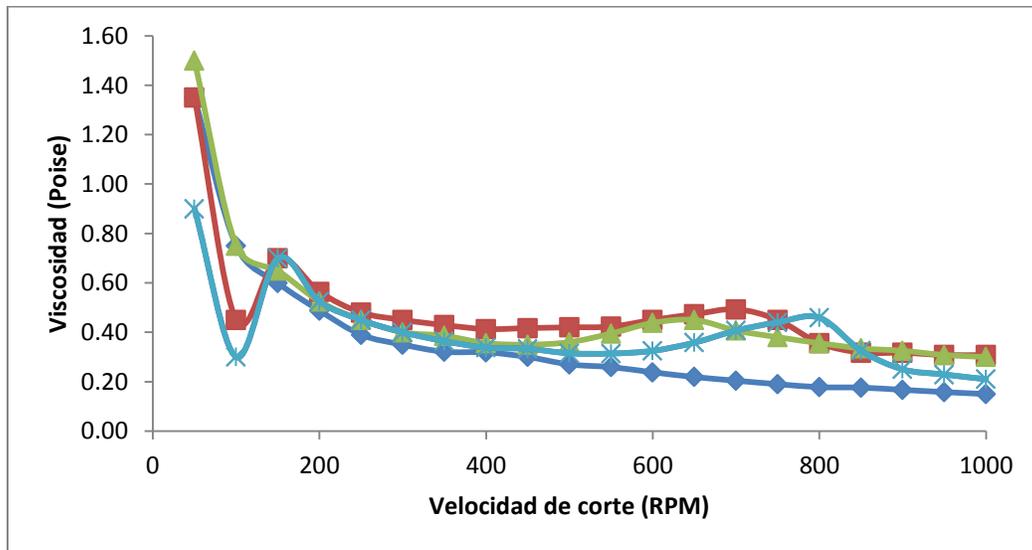
Gráfica 3. Promedios de la viscosidad del gel de CAP a 25 °C a dos diferentes tiempos de muestreo 30 segundos — y 1 minuto —

En la Gráfica 4 se encuentran los resultados de las cinco determinaciones de la viscosidad de la metilcelulosa, en función de la velocidad de corte a 25 °C y 30 s de muestreo. Se observa que existe una considerable dispersión de los datos. Además de mostrar que a mayor velocidad de corte la viscosidad es menor, este tipo de comportamiento es el que presentan los fluidos no newtonianos.



Gráfica 4. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a 25 °C y 30 s de muestreo.

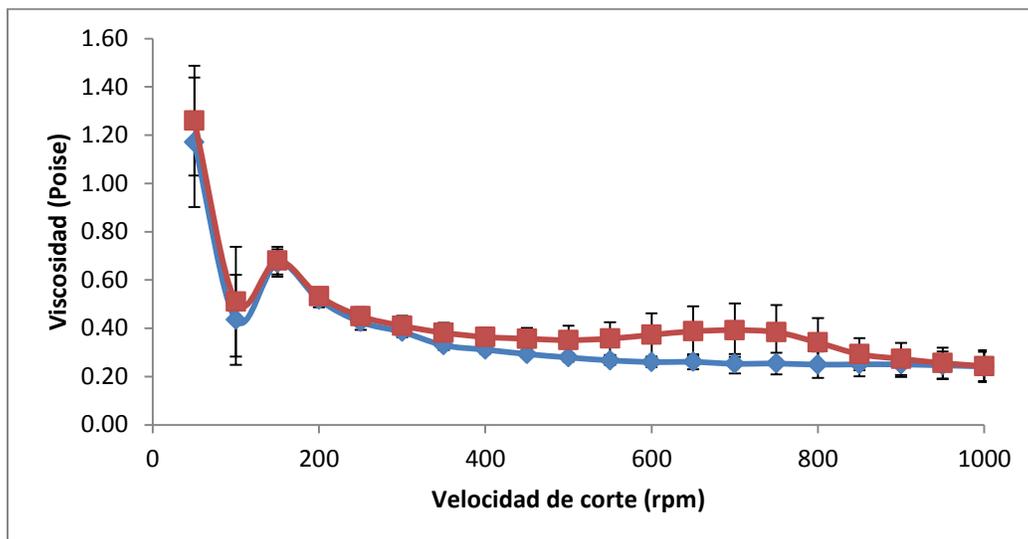
La Gráfica 5 incluye los resultados experimentales de las cinco repeticiones de la viscosidad del gel de metilcelulosa a 25 °C y 1 min de muestreo, en función de la velocidad de corte. La dispersión de los datos es mayor que para los resultados de la determinación a 30 s.



Gráfica 5. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a 25 °C y 1 min de muestreo

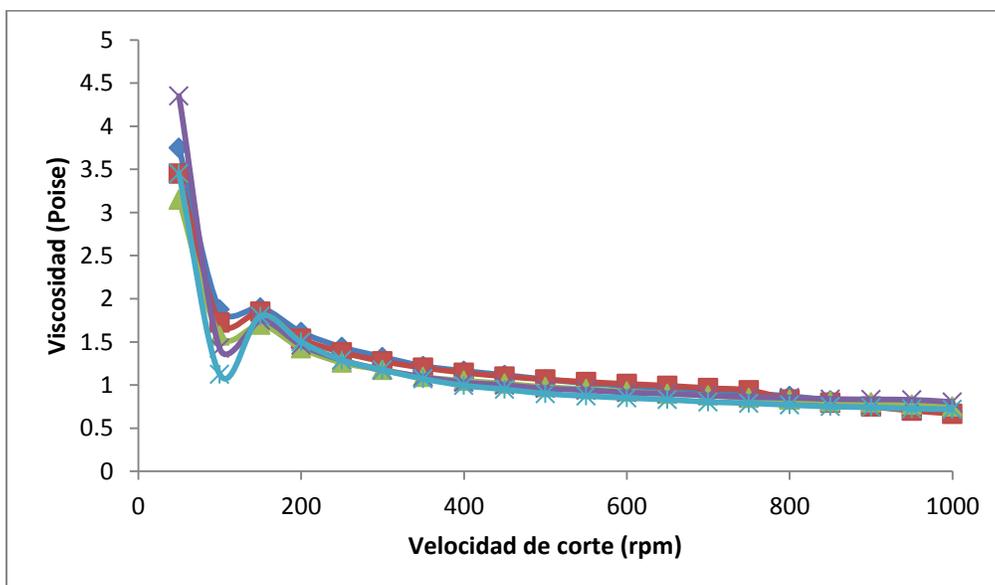
Se calculó el promedio y la desviación estándar (barras de error) de las cinco repeticiones, y posteriormente se graficó para determinar si existía diferencia entre los tiempos de muestreo. La Gráfica 6 muestra que la diferencia es mínima entre los tiempos de muestreo de la viscosidad. Puede apreciarse

una mayor dispersión que para los geles de CAP. Además, las dispersiones de las mediciones a 30 segundos son menores a las de 1 minuto.



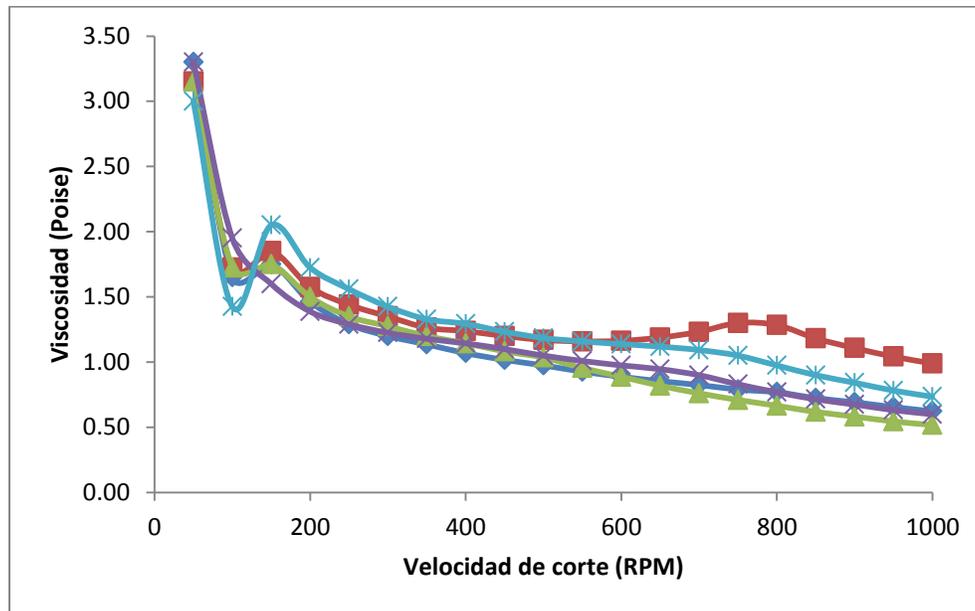
Gráfica 6. Promedios de la viscosidad del gel de metilcelulosa a dos tiempos de muestreo 30 s y 1 min.

Los resultados de las mediciones de viscosidad en función de la velocidad de corte (rpm) del gel comercial Epaq® a 25 °C y 30 s de muestreo por quintuplicado, se encuentran en la Gráfica 7. Puede apreciarse que la viscosidad disminuye ligeramente al aumentar la velocidad de corte. Asimismo, la dispersión de los datos es mínima.



Gráfica 7. Resultados de la viscosidad del gel comercial a 30 s de muestreo.

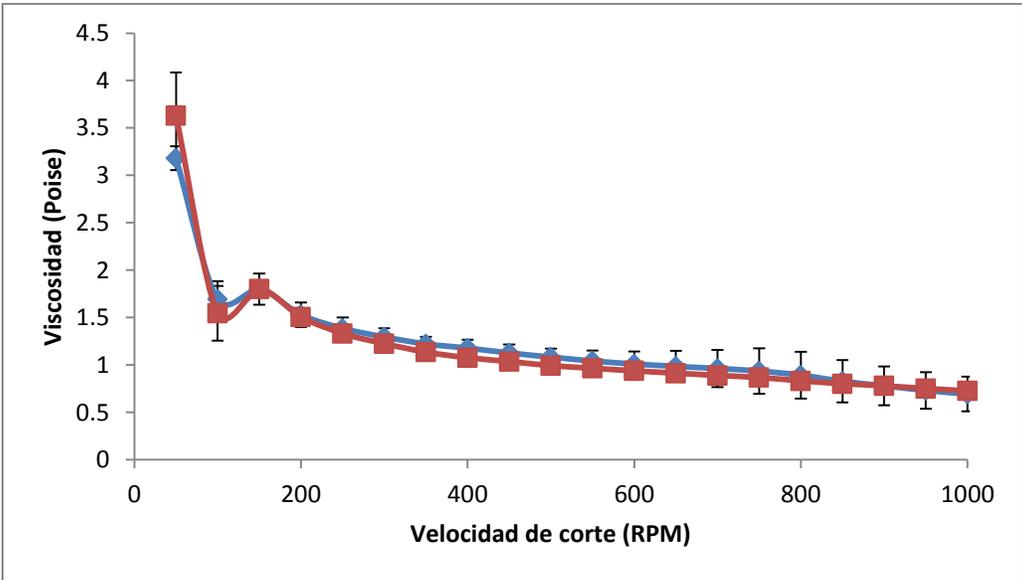
La Gráfica 8 corresponde a los resultados de la evaluación por quintuplicado de la viscosidad del gel comercial Epaq® a 25 °C y 1 min de muestreo. Con los resultados de 25 °C y los dos tiempos de muestreo obtenidos del gel comercial se calculó el promedio y la desviación estándar, estos se muestran en la Gráfica 9 (los resultados puntuales se encuentran en las tablas 16 a 19 del anexo). Es evidente que al aumentar la velocidad de corte disminuye ligeramente la viscosidad



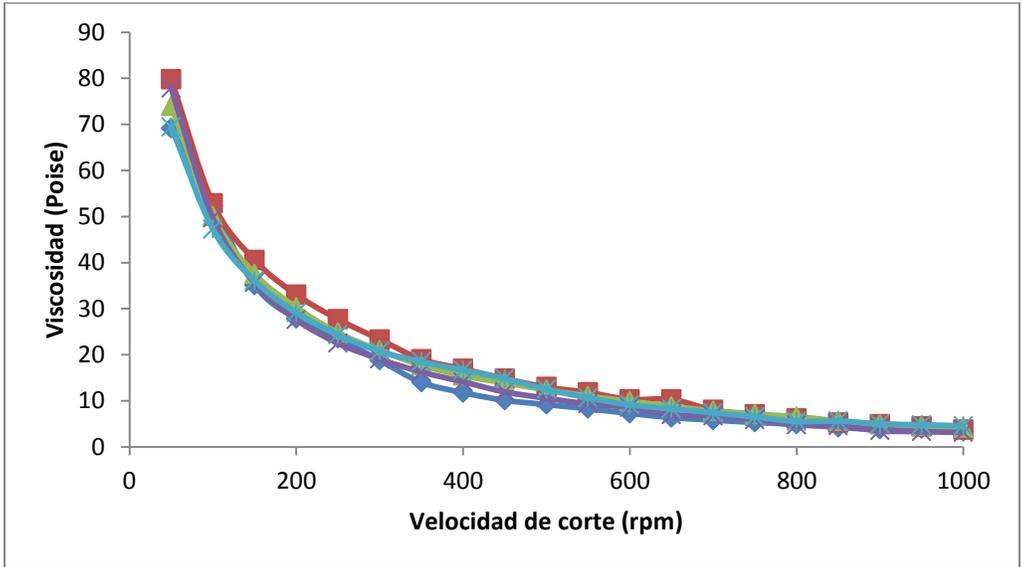
Gráfica 8. Resultados de viscosidad del gel comercial a 1 min de tiempo de muestreo.

Como ya se mencionó anteriormente, además de realizar la evaluación de viscosidad a 25 °C, que es la temperatura de almacenamiento o de anaquel (NOM-073-SSA1-2005, 2006). También se hicieron estudios a 37 °C, ya que esta es la temperatura de administración.

En la gráfica 10 se pueden observar los resultados de la evaluación de la viscosidad aumentando la velocidad de corte en un intervalo de 50 a 1000 rpm. La tendencia es la misma que para 30 s, aumentando la velocidad de corte disminuye la viscosidad, la dispersión de los datos no es muy amplia.

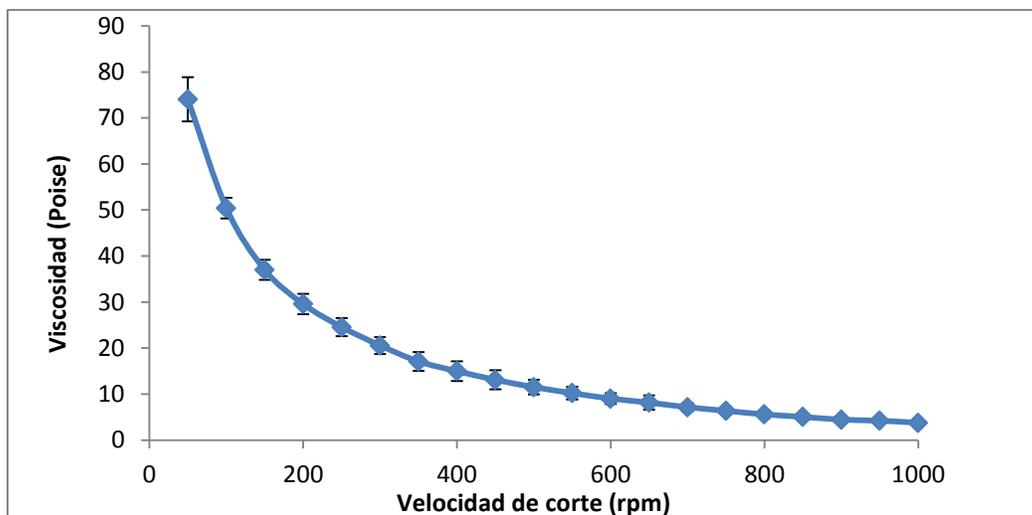


Gráfica 9. Promedios de la viscosidad del gel comercial a 25 °C y dos diferentes tiempos de muestreo 30 s — y 1 min —.



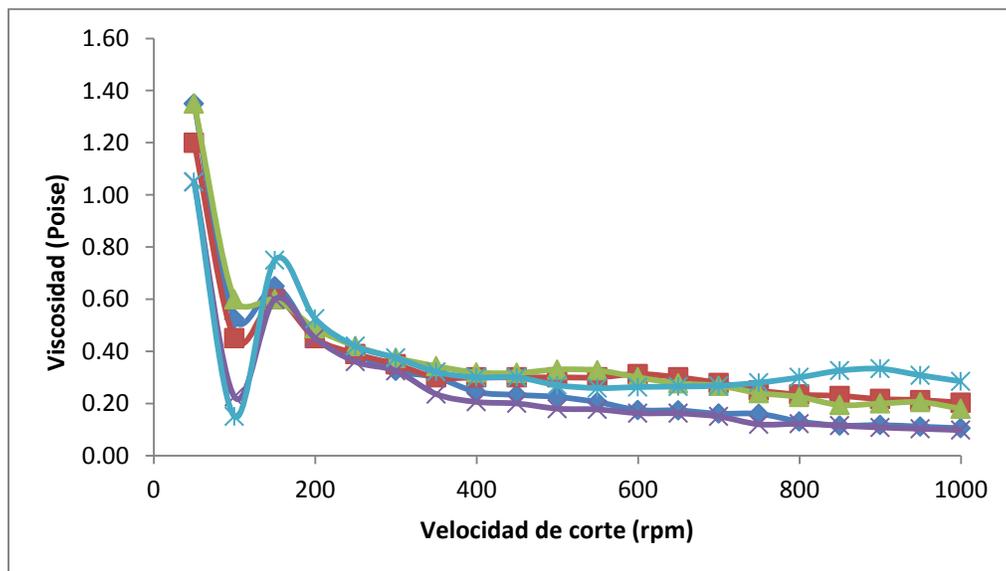
Gráfica 10. Viscosidad del gel de CAP a 37 °C y 30 s de muestreo.

Para poder visualizar mejor los resultados, se promediaron las cinco evaluaciones de la viscosidad del gel de CAP (Gráfica 11), así como la desviación estándar (barras de error).



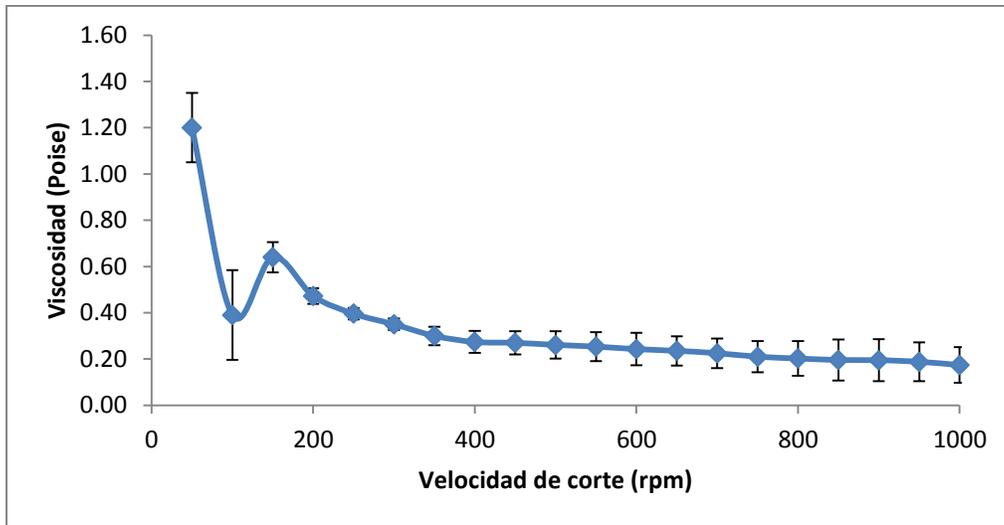
Gráfica 11. Promedio de la viscosidad del gel de CAP a 37 °C, tiempo de muestreo 30 s.

Los resultados de la evaluación de la viscosidad para el gel de metilcelulosa se encuentran en la gráfica 12, estos resultados fueron promediados y graficados nuevamente, los nuevos resultados se pueden apreciar en la gráfica 13.

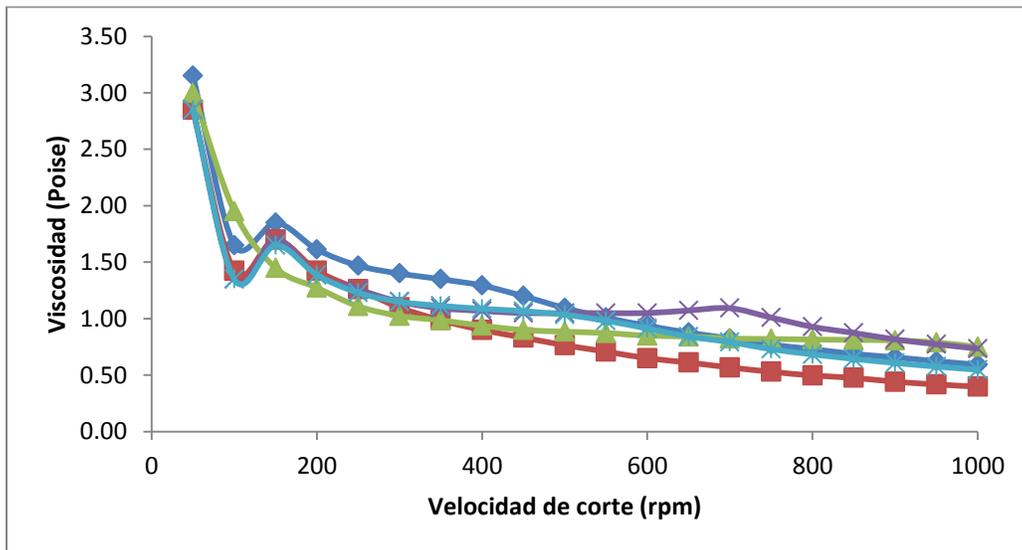


Gráfica 12. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a 37 °C y 30 s de muestreo.

Los resultados de la viscosidad para el gel comercial se muestran en la tabla 23 del anexo, a continuación se muestra la gráfica con los resultados.



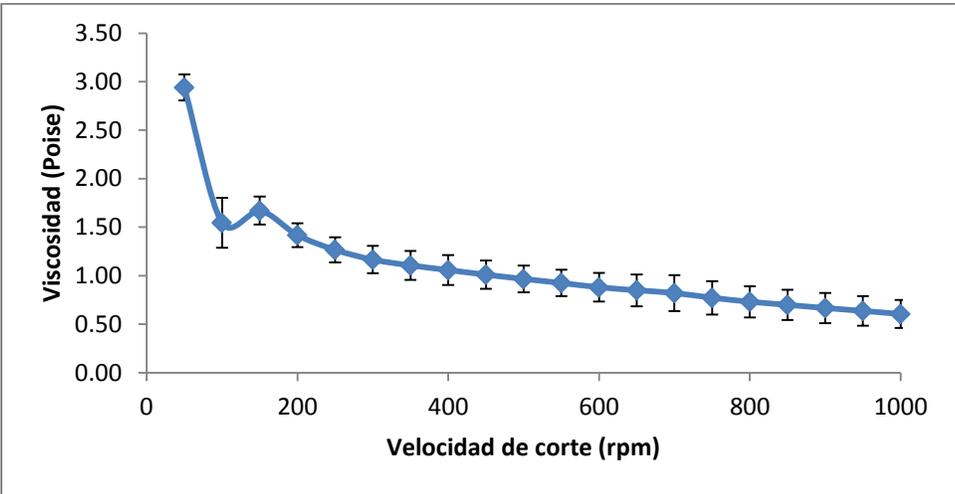
Gráfica 13. Promedio de la viscosidad del gel de metilcelulosa a 37 °C, tiempo de muestreo 30 s.



Gráfica 14. Resultados de la viscosidad del gel comercial Epaq® a 37 °C y 30 s de muestreo.

La Gráfica 15 corresponde a los promedios de las cinco determinaciones de la viscosidad del gel de metilcelulosa a temperatura y tiempo de muestreo constante.

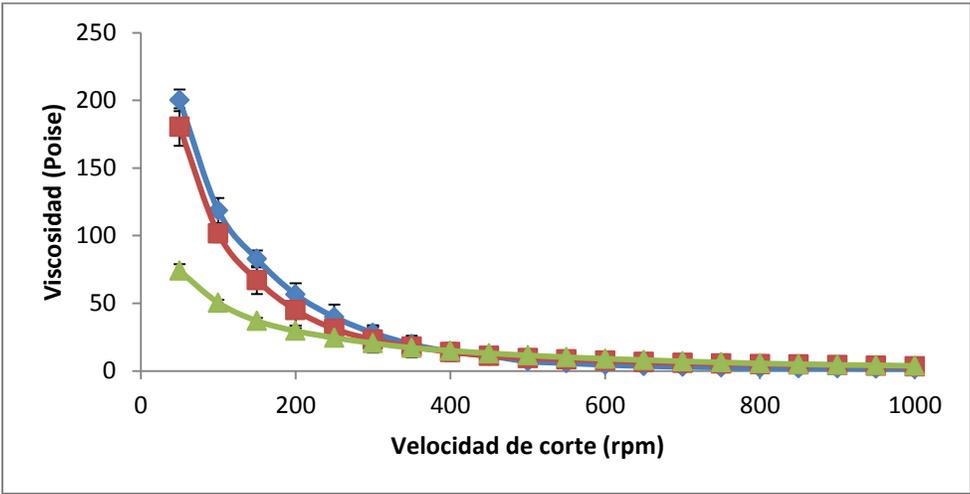
Para comparar los resultados se agruparon las tres gráficas correspondientes a los promedios de cada determinación en una sola, para cada gel. En la Gráfica 16 se muestran los resultados promedio del gel de CAP a 25°C, 30 seg y 1 min de muestreo, junto con los resultados promedio del gel de CAP a 37 °C y 30 seg de muestreo.



Gráfica 15. Promedio de la viscosidad del gel comercial Epaq® a 37 °C, tiempo de muestreo 30 s.

En general, puede afirmarse que la velocidad de corte influye en la viscosidad, a mayor velocidad de corte menor viscosidad, este tipo de comportamiento es característico de un fluido no newtoniano pseudoplástico.

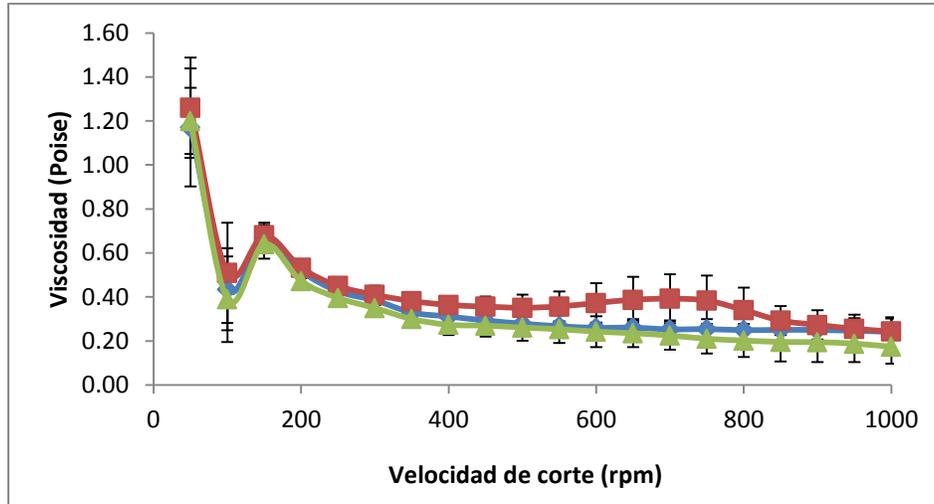
También es notable que la temperatura afecta la viscosidad, disminuyéndola, los marcadores verdes representan la viscosidad a 37 °C. La cual es más baja que a 25 °C, marcadores azules y rojos.



Gráfica 16. Promedios de la viscosidad del gel de CAP a 25°C (tiempo de muestreo 30 segundos y 1 minuto) y 37°C (tiempo de muestreo 30 segundos).

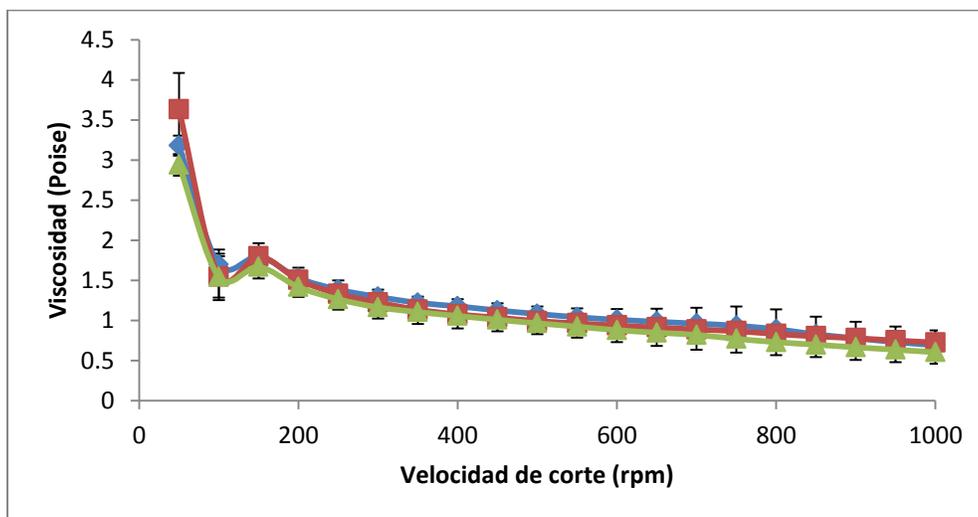
En la Gráfica 17 se pueden observar los resultados agrupados para el gel de metilcelulosa, a 25 °C y 37 °C. Las barras de error representan la desviación estándar. Como se puede observar la dispersión de los datos es mayor con

respecto a la del gel de CAP. Sin embargo, la escala en la que se encuentran graficados los valores tiene que ser considerada. También es notorio que la temperatura no afecta considerablemente la viscosidad de los geles de metilcelulosa.



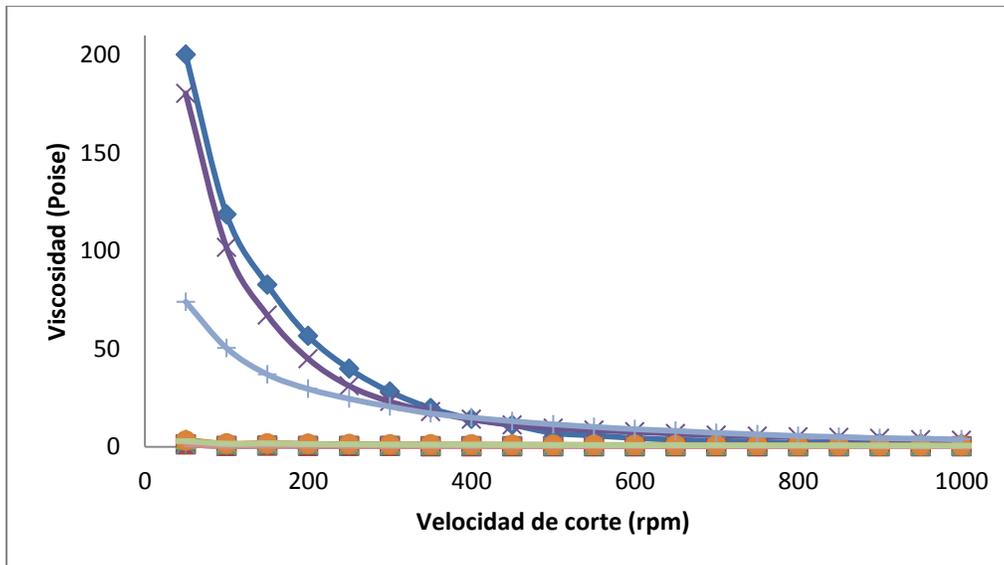
Gráfica 17. Promedios de la viscosidad del gel de metilcelulosa a 25°C (tiempo de muestreo 30 segundos — y 1 minuto —) y 37°C (tiempo de muestreo 30 segundos —).

La Gráfica 18 corresponde a los resultados promediados de la viscosidad del gel comercial Epaq®, en función de la velocidad de corte a las dos temperaturas utilizadas y tiempo de muestreo 30 seg y 1 min. Las barras de error representan la desviación estándar. Al igual que para la metilcelulosa la dispersión de los datos es mayor que en el gel de CAP.



Gráfica 18. Promedios de la viscosidad del gel de comercial a 25°C (tiempo de muestreo 30 segundos — y 1 minuto —) y 37°C (tiempo de muestreo 30 segundos —).

Para hacer la comparación de las viscosidades se unieron las gráficas 16, 17 y 18 las cuales corresponden a los promedios de los resultados obtenidos de la evaluación de la viscosidad de los geles de CAP, metilcelulosa y Epaq®. Sin embargo, para los geles de metilcelulosa y Epaq® se observa una línea recta paralela al eje horizontal debido a que las viscosidades son muy bajas respecto al gel de CAP (Gráfica 19). Para los tres geles al aumentar la velocidad de corte disminuye la viscosidad, esto es una característica de fluidos no Newtonianos pseudo-plásticos (Kim, 2004).



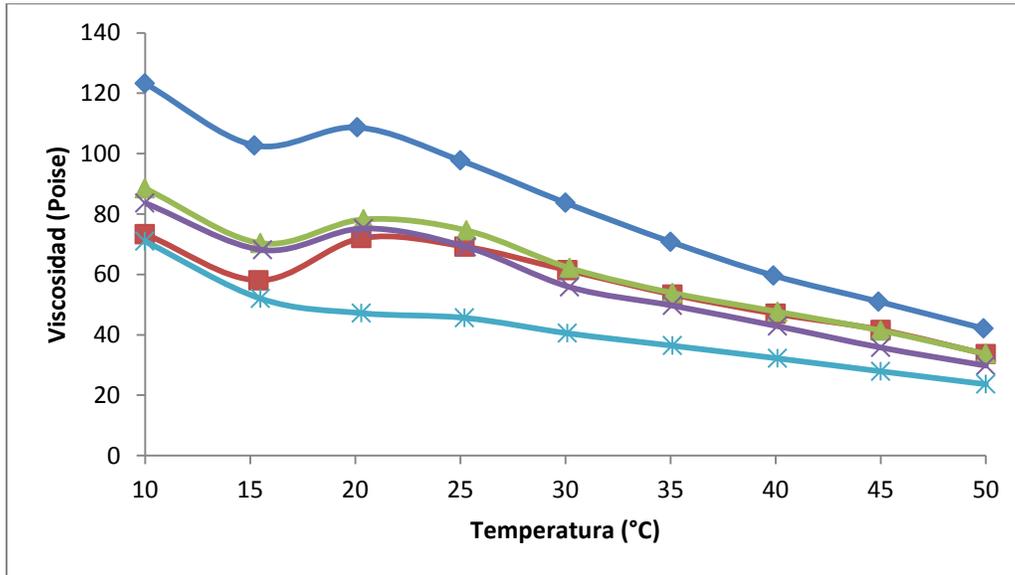
Gráfica 19. Comparación de resultados de las viscosidad al gel de CAP (—♦— 25°C y 30 s de muestreo; —×— 25°C y 1 min de muestreo; —+— 37°C y 30 s de muestreo), de metilcelulosa (—■— 25°C y 30 s de muestreo; —*— 25°C y 1 min de muestreo; —— 37°C y 30 s de muestreo) y el gel comercial EPAQ® (—▲— 25°C y 30 s de muestreo; —●— 25°C y 1 min de muestreo; —— 37°C y 30 s de muestreo).

Para el gel de CAP a un tiempo de muestreo de 1 min a 37 °C no se pudo concluir la evaluación ya que al incrementar la velocidad de corte la muestra se secó por lo tanto la aguja ya no giraba y se tenía que detener el equipo. Por lo cual solo se presentaron los resultados a 30 s de muestreo, para los tres geles evaluados. Los resultados se encuentran en las tablas 22 a la 24 del anexo.

Debido a que el gel de CAP se secaba cuando la velocidad de corte superaba 100 rpm a un minuto de muestreo y 37 °C, se analizó la influencia de la temperatura en la viscosidad. Para ello se realizaron evaluaciones variando la temperatura en un intervalo de 10 °C a 50 °C, a tiempo de muestreo y

velocidad de corte constantes, las determinaciones se realizaron por quintuplicado para cada uno de los geles utilizados.

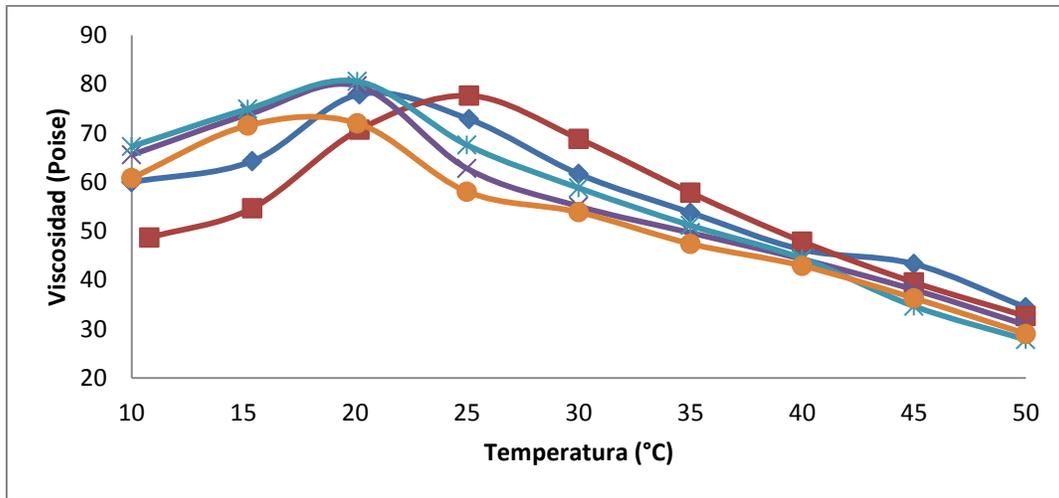
En la Gráfica 20 se muestran los resultados para el gel de CAP a 100 rpm y 30 s de muestreo. Se puede observar que hay cierto grado de dispersión de los datos.



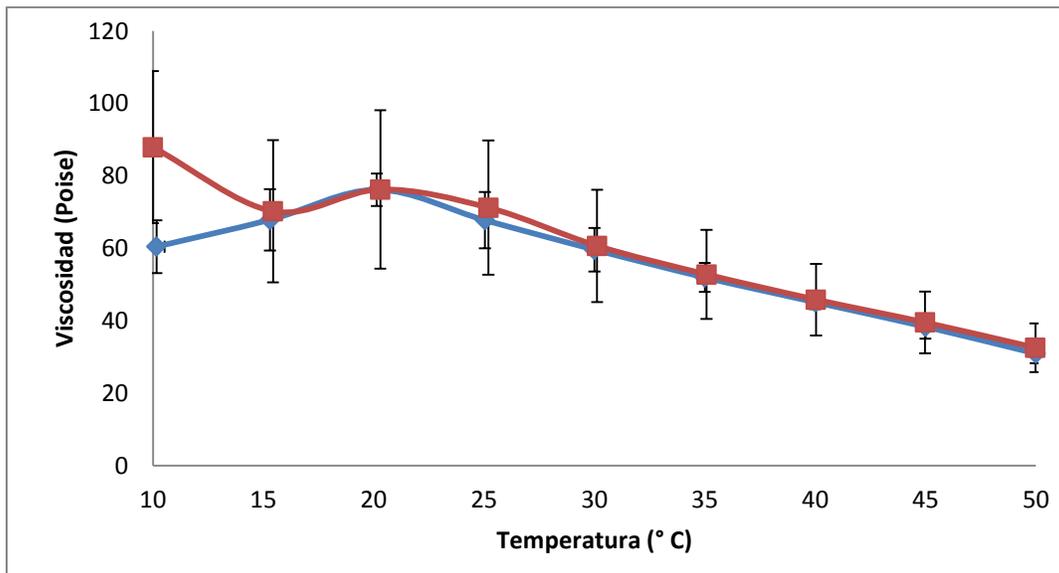
Gráfica 20. Viscosidad del gel de CAP en función de la temperatura (en un rango de 10 a 50°C), tiempo de muestreo 30 segundos.

La Gráfica 21 muestra los resultados obtenidos para el gel de CAP a 100 rpm y 1 min de muestreo. Los resultados de las cinco evaluaciones para cada tiempo de muestreo del gel de CAP fueron promediados y se graficaron (Gráfica 22). En general al aumentar la temperatura, la viscosidad disminuye.

En la Gráfica 22 las barras de error representan la dispersión de los datos. La dispersión es mayor para los promedios de 30 s de muestreo (marcadores rojos).



Gráfica 21. Viscosidad del gel de CAP en función de la temperatura (en un intervalo de 10 a 50 °C), tiempo de muestreo 1 minuto

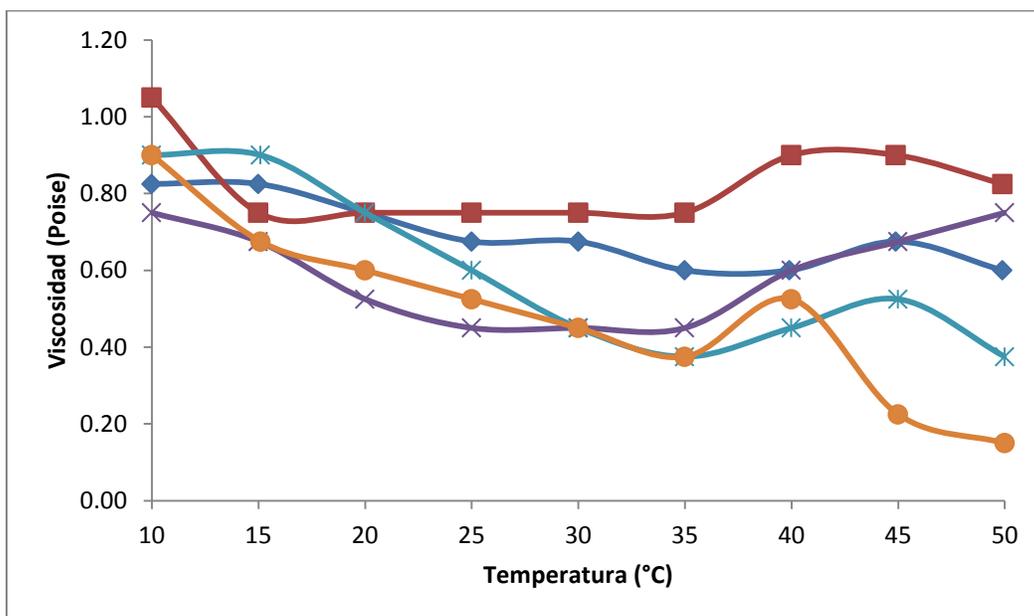


Gráfica 22. Promedios de la viscosidad del gel de CAP en función de la temperatura en un intervalo de 20 a 50 °C, tiempo de muestreo 30 segundos —■— y 1 minuto —▲—.

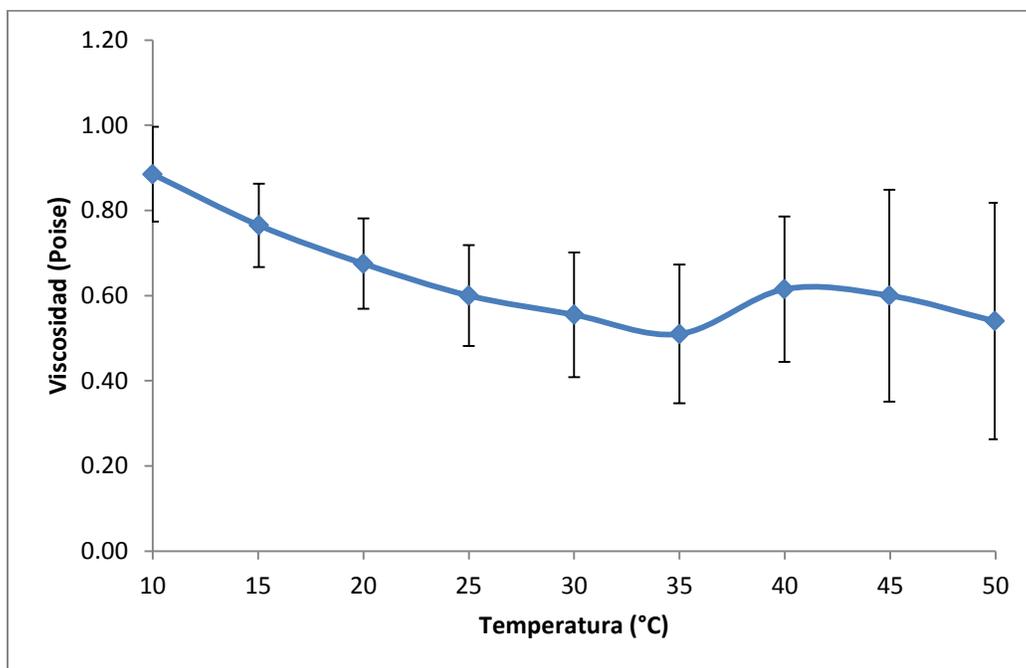
Debido a que no existe gran diferencia entre los tiempos de muestreo variando la temperatura, para el gel comercial y metilcelulosa las determinaciones solo se realizaron a un tiempo de muestreo, 30 s.

En la Gráfica 23 se puede observar el resultado de las cinco determinaciones de viscosidad del gel de metilcelulosa a 100 rpm y tiempo de muestreo de 30 s. Estos resultados se promediaron y se obtuvo la gráfica correspondiente

(Gráfica 24), en ella se aprecia que la dispersión de los datos (barras de error) es mayor que para el gel de CAP.

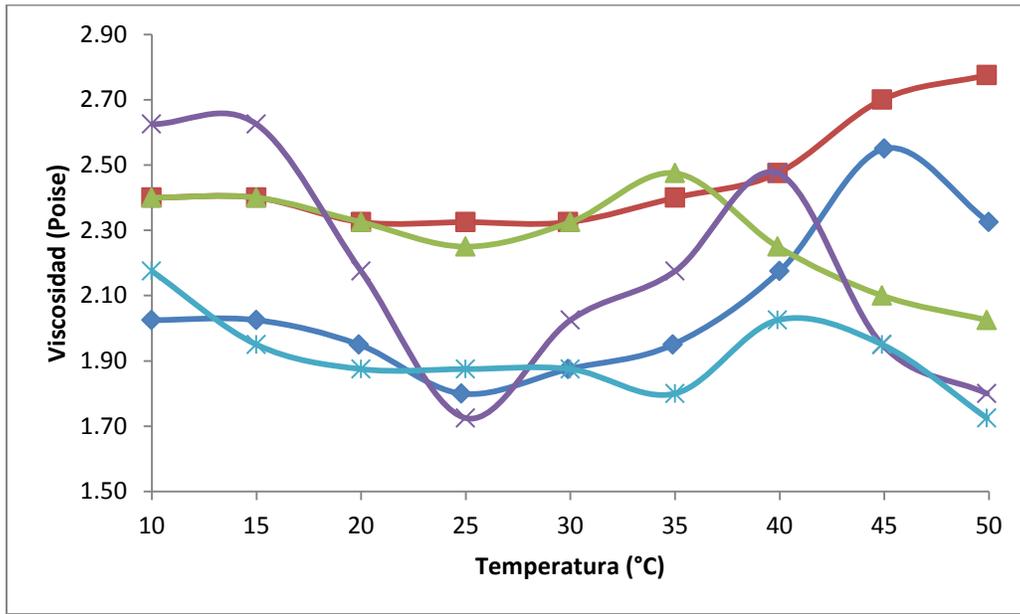


Gráfica 23. Viscosidad en función de la temperatura para el gel de metilcelulosa, en un rango de 10 a 50 °C, tiempo de muestreo 30 s.

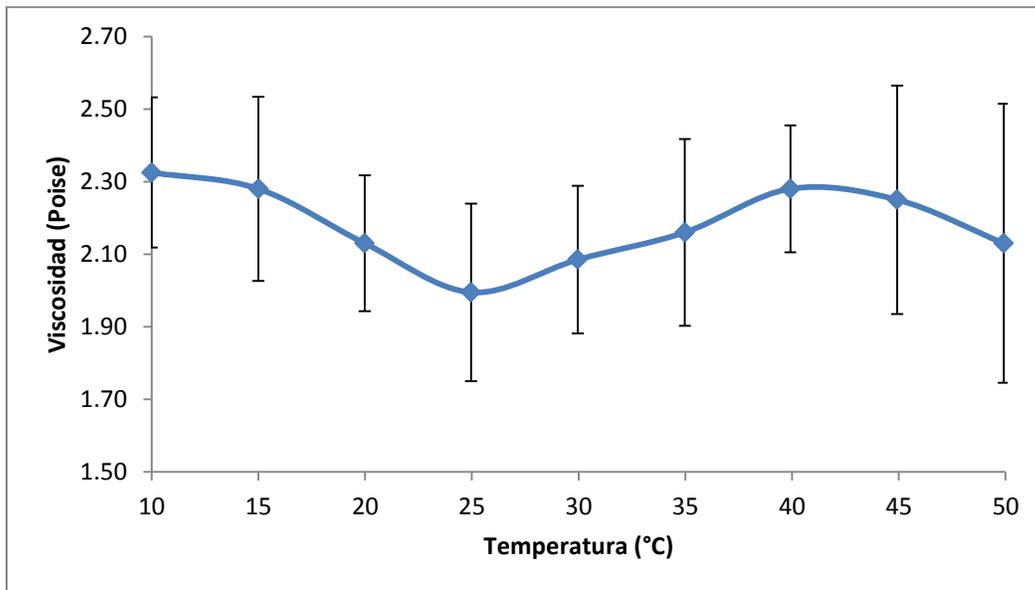


Gráfica 24. Promedio de la viscosidad del gel de metilcelulosa en función de la temperatura en un intervalo de 20 a 50°C, tiempo de muestreo 30 segundos.

Los resultados de la evaluación de viscosidad a diferentes temperaturas para el gel comercial se encuentran en la Gráfica 25, como podemos ver la dispersión de los datos es grande. Los promedios de las cinco determinaciones se pueden apreciar en la Gráfica 26, las barras de error representan la dispersión de los datos.

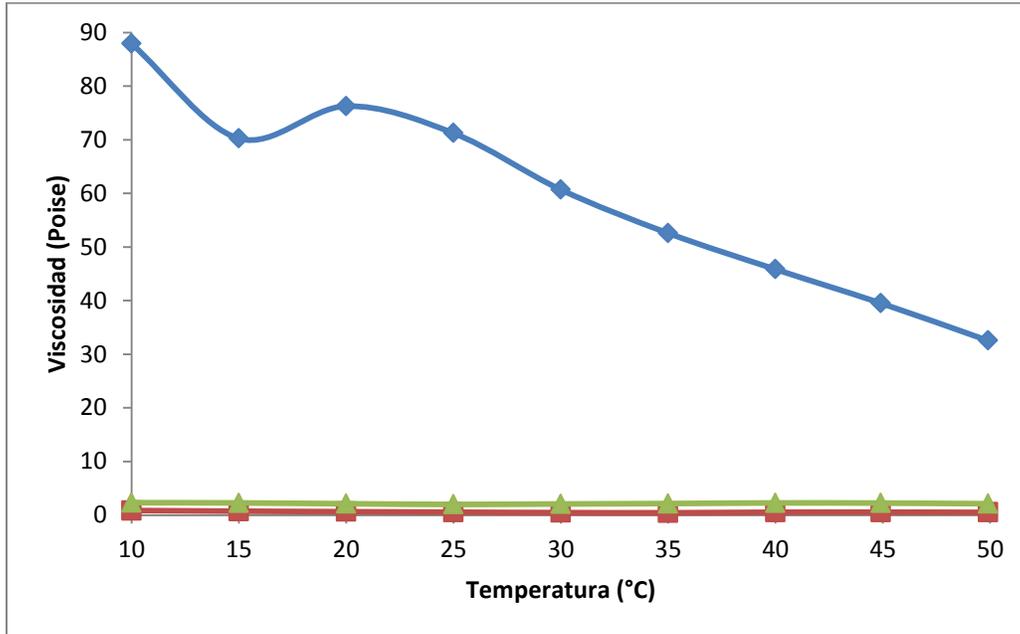


Gráfica 25. Viscosidad en función de la temperatura (en un intervalo de 10 a 50 °C), para el gel comercial a 30 s de tiempo de muestreo.



Gráfica 26. Promedio de la viscosidad en función de la temperatura para el gel comercial.

Para realizar la comparación de los resultados de los tres geles evaluados se juntaron las gráficas 22, 24 y 26. Sin embargo los resultados de la viscosidad en función de la temperatura del gel comercial y el gel de metilcelulosa no se pueden apreciar bien, debido a que las viscosidades son muy pequeñas, mientras que las del gel de CAP son grandes.



Gráfica 27. Resultados de viscosidad incrementando la temperatura en un rango de 10 a 50 °C, comparación de resultados de la evaluación al gel de CAP — metilcelulosa — y EPAQ® —

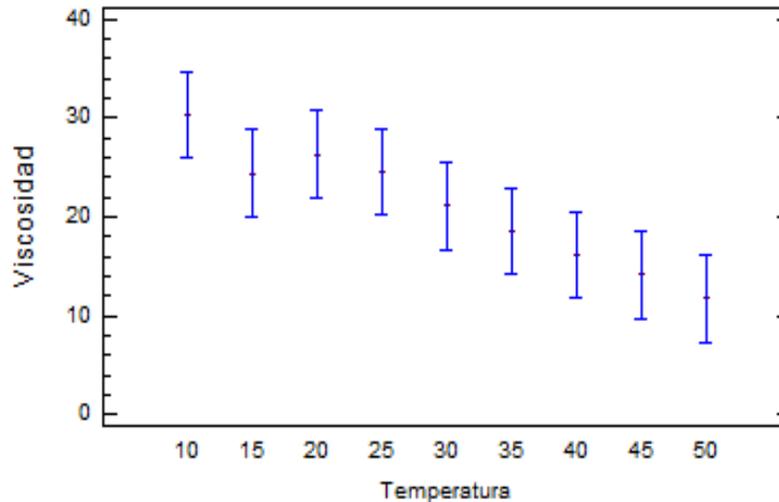
Para determinar la influencia de la temperatura en la viscosidad se realizó un análisis de varianza de dos factores (temperatura y viscosidad). Los resultados del análisis de varianza se muestran en la Tabla 4:

Tabla 4. Análisis de Varianza para Viscosidad - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	4544.26	8	568.033	3.92	0.0004
B:Gel	101896.	2	50947.8	351.18	0.0000
RESIDUOS	17989.2	124	145.074		
TOTAL (CORREGIDO)	124429.	134			

Dado que P es menor que 0.05 para los dos factores, el tipo de gel y la temperatura tienen influencia en la viscosidad. En la Gráfica 28, se puede

observar la interacción de las medias de viscosidad a las diferentes temperaturas y detectar cuáles de ellas son estadísticamente diferentes.



Gráfica 28. Medias de Viscosidad con intervalos de confianza de 95%

Las formulaciones semisólidas son capaces de facilitar el contacto con la superficie de absorción y mejorar la biodisponibilidad de los fármacos. Las propiedades reológicas de los geles son importantes para su retención en la superficie de la vagina, así como para su eficacia. Para formulaciones de este tipo, es importante seleccionar una viscosidad correcta para proveer su adecuada retención y distribución en la vagina (Baloglu, Senyigit, Karavana, & Bernkop-Schnürch, 2009)

De acuerdo con lo que se reporta en el manual de excipientes farmacéuticos (Rowe, Shekey, & Owen, 2006) la viscosidad de la metilcelulosa depende del grado de polimerización, concentraciones acuosas de 2% pueden producir viscosidades entre 5-75 000 mPa·s (5-750 Poise), la viscosidad puede aumentar si la concentración de la metilcelulosa aumenta. Los resultados de viscosidad obtenidos entran dentro del parámetro indicado anteriormente, el valor es de aproximadamente 126 cPoise obtenido de las gráficas 6 y 17. La temperatura también afecta la temperatura ya que al aumentarla, la viscosidad se reduce (Rowe, Shekey, & Owen, 2006).

El manual de excipientes reporta que el Carbómero 934P (0.5 % p/v) tiene una viscosidad de 294–394 Poise, siguiendo el método de la USP NF 23. En la Gráfica 18, podemos observar que el valor más alto de viscosidad es de 3.-63

Poise, al contrastar este resultado con el teórico correspondiente al gel comercial, no concuerdan los valores, esto puede atribuirse a la concentración de carbómero en el gel comercial, la cual no está especificada en el marbete. Las dispersiones coloidales de carbómero son de baja viscosidad, al ser neutralizados producen geles de alta viscosidad, a pH entre 6-11, sin embargo, a pH menores de 3 y mayores de 12 o en presencia de electrolitos fuertes la viscosidad se reduce considerablemente (Rowe, Shekey, & Owen, 2006).

4. Pruebas de bioadhesión

Para las pruebas de bioadhesión se decidió utilizar tejido vaginal de cerda debido a que presenta mayor similitud con el tejido de vagina humana de acuerdo con lo que mencionan Squier y col. (2008), además de ser más accesible de conseguir, cabe señalar que ningún animal fue sacrificado exclusivamente para la realización de este ensayo experimental, las vaginas fueron conseguidas en un rastro certificado por las Normas Mexicanas.

4.1. Método 1

Este método es una adaptación al reportado por Bacchav & Patravale (2009) y desarrollado por Nakamura & Ohta (1996), el cual originalmente consiste en utilizar una placa de agar y acoplarla en aparato para la prueba de desintegración (USP 29 NF 24, 2006), en la placa se coloca la muestra y se enciende el aparato, el cual sumerge y saca la muestra, en el medio utilizado. La adaptación consiste en cambiar la placa de agar por una placa de acero inoxidable (Figura 21-B), en la cual se coloca y sujeta el tejido vaginal de cerda y el gel a evaluar, esta placa es acoplada al aparato de desintegración (Figura 21-A). El tiempo de residencia del gel en el tejido es determinado a simple vista cuando, la capa de gel ha desaparecido del tejido. La prueba se realizó para evaluar el gel de CAP, metilcelulosa y comercial, por quintuplicado.

Los resultados de la prueba realizada se encuentran en la Tabla 5, como se puede apreciar, el orden de tiempo de residencia es:

Gel comercial (Epaq®) > gel de metilcelulosa > gel de CAP



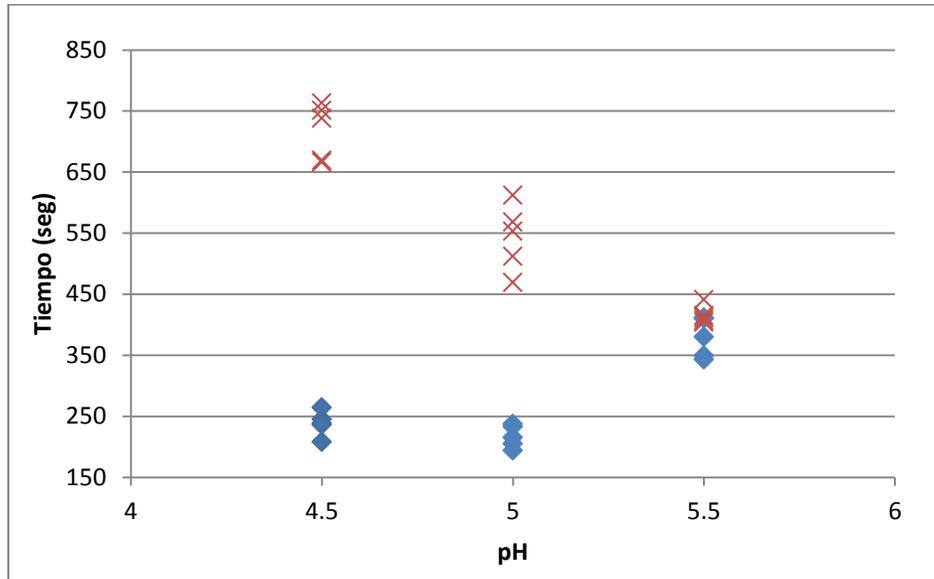
Figura 21. A) Representación del método 1, modificado del desarrollado por Nakamura & Ohta (1996) y reportado por Bacchav & Patravale (2009), utilizando como medio solución amortiguadora de fosfatos. B) Placa de acero inoxidable con el tejido vaginal y el gel de CAP.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por El- Kamel et al, (2002) que indica, el carbopol es más mucoadhesivo que la metilcelulosa.

Tabla 5. Tiempos de residencia de los tres geles evaluados en el tejido vaginal de cerda a tres diferentes pH

pH	Gel evaluado	Tiempo de residencia (segundos)					Promedio	Desv. Est
4.5	CAP	245	236	264	208	238	238.2	20.18
	Metilcelulosa	669	666	751	763	738	729.5	46.41
	Comercial (Epaq®)	> 1200	> 1200	> 1200	> 1200	> 1200	> 1200	---
5.0	CAP	215	237	205	233	194	216.8	18.25
	Metilcelulosa	568	612	512	553	469	536.5	54.60
	Comercial (Epaq®)	> 1200	> 1200	> 1200	> 1200	> 1200	> 1200	---
5.5	CAP	380	349	410	343	411	378.6	32.33
	Metilcelulosa	404	441	411	407	415	418.5	14.79
	Comercial (Epaq®)	> 1200	> 1200	> 1200	> 1200	> 1200	> 1200	---

La gráfica 29 muestra los resultados del tiempo de retención de los tres geles evaluados, a tres diferentes pH, el gel comercial no se encuentra graficado, debido a que los resultados obtenidos son mayores a 1200 s como se muestra en la Tabla 5. En rombos se presentan las cinco repeticiones de tiempo de residencia del gel de CAP y con cruces las cinco repeticiones del gel de metilcelulosa. Puede observarse una mayor dispersión entre los datos obtenidos para el gel de metilcelulosa a pH 5.0.



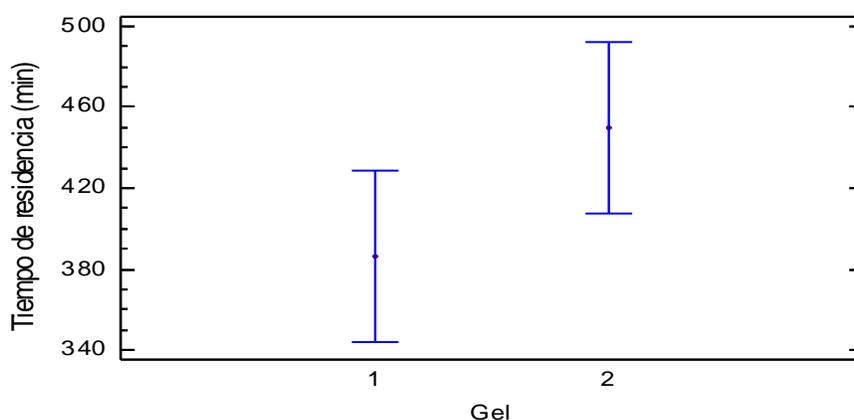
Gráfica 29. Tiempo de retención del gel de CAP (◆) en el tejido vaginal a diferentes pH y comparación con gel de metilcelulosa (X).

Para determinar si el pH tiene algún efecto en el tiempo de residencia de los geles en el tejido vaginal los datos fueron analizados estadísticamente utilizando el software Statgraphics Centurion XV. Se aplicó un análisis de varianza de dos factores. Cabe señalar que los valores para el gel comercial no se consideraron, porque no hay un valor puntual, sólo se determinó que el gel permanece más de 1200 s. Del análisis estadístico se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 6):

Tabla 6. Análisis de Varianza para Tiempo de residencia - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Gel	30146.7	1	30146.7	2.40	0.1336
B:pH	569355.	2	284678.	22.64	0.0000
RESIDUOS	326969.	26	12575.7		
TOTAL (CORREGIDO)	926471.	29			

En la Tabla 6, se puede apreciar que un valor de probabilidad (P) es menor que 0.05, el cual corresponde a pH, por lo tanto este factor tiene un efecto estadísticamente significativo con un 95 % de confianza en el tiempo de residencia, el cual es un indicativo de la bioadhesión. Para el tipo de gel el valor de P es mayor a 0.05, lo cual indica que no existe evidencia estadísticamente significativa de que el tipo de gel tenga influencia sobre el tiempo de residencia, con un nivel de confianza del 95 %. En la Gráfica 30 se aprecia la interacción de las medias del tiempo de residencia para cada gel y se comprueba que no hay un efecto del tipo de gel (CAP o metilcelulosa) sobre el tiempo de residencia



Gráfica 30. Comparación de medias para el tipo de gel con intervalos de confianza del 95%

Bachhav & Patravale (2009) utilizan este método para evaluar un gel que contiene fluconazol como principio activo y lo comparan con una muestra comercial (Candid-V® gel). Colocan 50 mg del gel en el centro de una placa de agar (1 % p/p), el medio utilizado es una solución amortiguadora de fosfato citrato pH 4.5. Después de 5 min de reposo la placa de agar es aclopada en el aparato para la prueba de desintegración. El resultado de tiempo de residencia que reportan es 48 ± 3.5 min para el gel que ellos proponen y 24 ± 1.5 min para el gel comercial, el mayor tiempo de retención lo atribuyen a la presencia de carbopol en su formulación.

Nakamura y colaboradores (1996) desarrollaron este método para evaluar cuatro polímeros, goma xantana (GX), hidroxipropilcelulosa (HPC), goma tamarindo (GT) y alcohol polivinílico (APV). Utilizan una placa de agar (1.5 % p/p) de 7 cm de diámetro, preparado con solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2. Colocaron 5 mg de muestra, dejaron reposar 5 minutos y posteriormente colocaron la placa de agar en el aparato para la prueba de

desintegración. Los resultados de tiempo de residencia obtenidos para GX, GT, HPC y APV fueron 41, 14, 13 y 4 min respectivamente.

Los geles estudiados en este trabajo de tesis presentan menores tiempos de residencia que los reportados por los investigadores anteriormente mencionados. Es importante resaltar que en este trabajo de tesis las evaluaciones se hicieron con tejido de vagina de cerda, lo cual implica variación en los datos.

4.2. Método 2

Este método es una modificación al reportado por Nakamura & Ohta (1996), el cual se basa en la distancia que recorre el gel a cierto ángulo de inclinación. La modificación aplicada al modelo original consistió en sustituir la placa de agar por tejido vaginal de cerda, que es colocado en una placa de acero inoxidable a 45° de inclinación (Figura 22-A), esta placa es colocada en un recipiente en el cual se coloca solución amortiguadora de fosfatos (Figura 22-B) a tres diferentes pH (4.5, 5.0 y 5.5) los cuales se encuentran en el intervalo de pH que tiene la vagina, la temperatura se mantuvo a 37 °C (das Neves & Bahia, 2006).

Los resultados de la medición de bioadhesión utilizando el método 2 se encuentran en la Tabla 7. De acuerdo con estos resultados el orden de adhesividad de los geles es:

Gel comercial (Epaq®) > gel de metilcelulosa > gel de CAP

Lo anterior es debido a que el que mayor distancia recorrió pasados los 10 min fue el gel de CAP.

Con lo anterior se corrobora que el Carbopol® presenta mayor bioadhesividad que la metilcelulosa, mientras que el CAP tiene bioadhesividad menor a los dos anteriores.

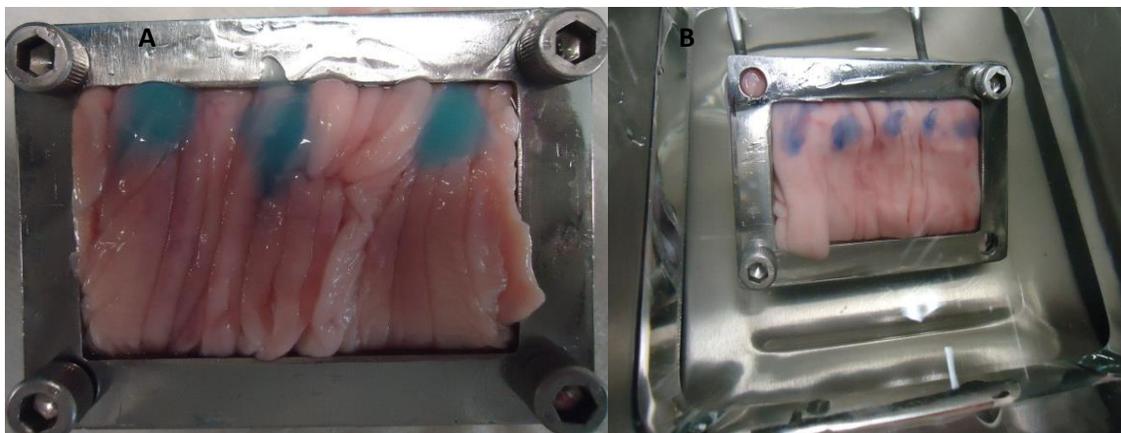
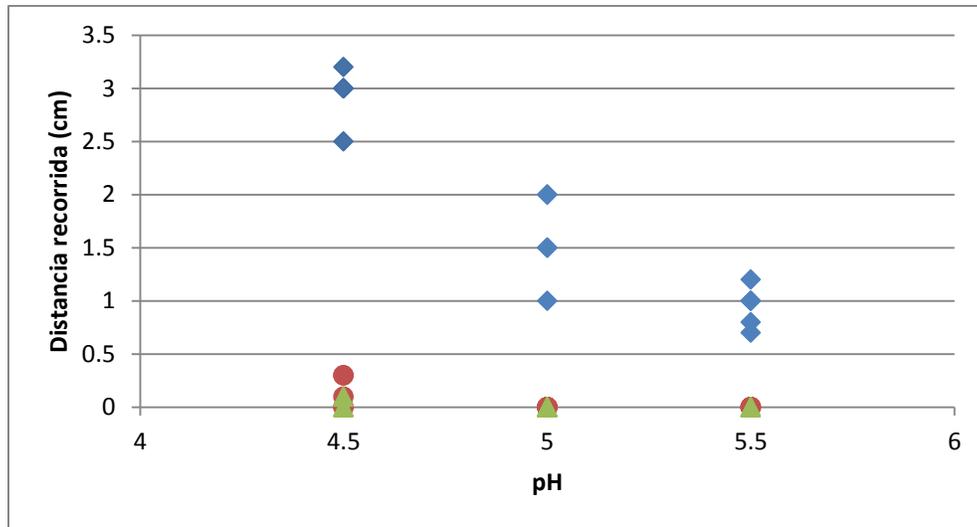


Figura 22. Gel de CAP en tejido vaginal de cerda para la determinación de la bioadhesión por el método 2. Modificación al método reportado por Nakamura & Ohta (1996). A) adaptación de la placa de acero inoxidable. B) placa de acero sumergida en solución amortiguadora de fosfatos, en baño de agua a 37 °C.

Tabla 7. Resultados experimentales del método 2

pH	Gel evaluado	Distancia recorrida (cm)					Promedio	Desv. Est.
4.5	CAP	3.0	2.5	2.25	3.0	3.2	2.94	0.26
	Metilcelulosa	0.3	0.1	0	0	0	0.14	0.15
	Comercial (EPAQ®)	0.1	0	0	0.1	0	0.4	0.5
5.0	CAP	1.0	2.0	2.0	1.5	1.5	1.6	0.42
	Metilcelulosa	0	0	0	0	0	0	---
	Comercial (EPAQ®)	0	0	0	0	0	0	---
5.5	CAP	1.0	1.2	0.7	1.0	0.8	0.94	0.19
	Metilcelulosa	0	0	0	0	0	0	---
	Comercial (EPAQ®)	0	0	0	0	0	0	---

Para visualizar el comportamiento de los tres geles evaluados se graficaron los resultados. En rombos azules se muestran las cinco repeticiones para el gel de CAP, con círculos rojos el gel de metilcelulosa y con triángulos verdes el gel comercial (Epaq®). Como se puede observar en la Gráfica 31, los que tienen menor desplazamiento son los geles de carbopol y metilcelulosa. La dispersión de los datos es mayor para el gel de CAP en los tres pH.



Gráfica 31. Desplazamiento de los geles en tejido de vagina, (◆) gel de CAP, (●) gel de metilcelulosa, (▲) gel comercial marca Epaq®

Para determinar si existe diferencia significativa entre las medias de los desplazamientos, así como la influencia del pH utilizado y el tipo de gel evaluado mediante un análisis de varianza de dos factores, utilizando el programa Statgraphics Centurion XV.

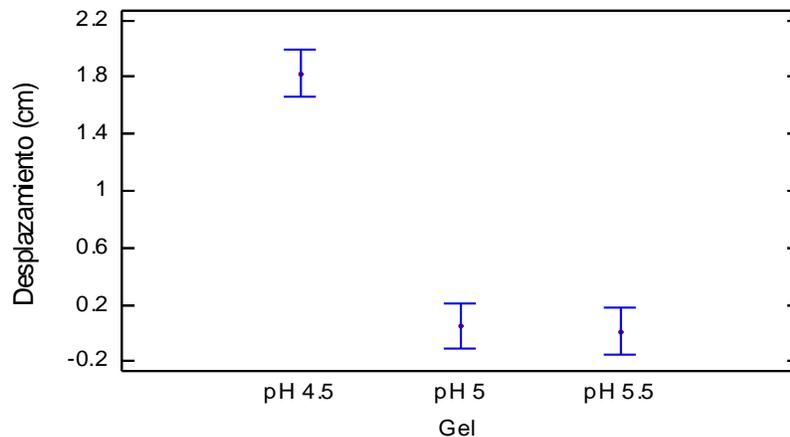
Tabla 8. Análisis de Varianza para el desplazamiento de los geles - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:pH	32.2884	2	16.1442	85.89	0.0000
B:Gel	4.16578	2	2.08289	11.08	0.0001
RESIDUOS	7.51822	40	0.187956		
TOTAL (CORREGIDO)	43.9724	44			

Los valores de P mostrados en la Tabla 8 para el tipo de gel (0.0001) y el pH (0.0000) empleados en el desplazamiento de los geles sobre el tejido vaginal de cerda son menores a 0.05. Se determina que el tipo de gel y pH tienen efecto estadísticamente significativo sobre el desplazamiento del gel, con un nivel de confianza del 95 %. Este método permite estimar indirectamente las propiedades bioadhesivas de los geles analizados; mientras menor desplazamiento se registre, se asume que hay una mayor bioadhesión del gel hacia el tejido vaginal.

Para determinar entre qué pH existe diferencia significativa se realizó la gráfica de medias con un intervalo de confianza del 95% (Gráfica 32). En ella

se aprecia la interacción entre las medias a los tres pH evaluados, el pH muestra la diferencia significativa es 4.5 el cual no tiene interacción con ninguno de los otros dos pH.



Gráfica 32. Medias del desplazamiento con un intervalo de confianza del 95%

Nakamura y colaboradores (1996) realizaron el estudio de bioadhesión en una placa de agar de 7 cm de diámetro para cuatro polímeros; goma xantana (GX), hidroxipropilcelulosa (HPC), goma tamarindo (GT) y alcohol polivinílico (APV). Dibujaron un círculo de 5 mm de diámetro en el centro de la placa y colocaron 5 mg de muestra. La placa fue inclinada a 30° y se midió el desplazamiento. La GX no presentó cambio incluso después de 4 h, a este mismo tiempo se observó que la GT presentó 3 cm de desplazamiento, a las 3 h la HPC también se había desplazado 3 cm. el desplazamiento más rápido se registró con APV (3 cm en una hora).

En este trabajo de tesis el gel de CAP presenta un mayor desplazamiento a pH 4.5 con casi 3 cm en 10 min, lo cual es menor a lo que reporta Nakamura y colaboradores (1996). El desplazamiento para el gel de metilcelulosa es mínimo mientras que el gel comercial no se desplazó. El agar es una superficie lisa y el tejido de vagina tiene pliegues por lo tanto el gel puede quedarse retenido.

4.3. Método 3

Este método se basa en el desarrollado y reportado por Aguilera y colaboradores (1993) en el cual se aplicó una modificación al tensiómetro de Du Nüoy. Antes de medir la fuerza de adhesión se obtiene una curva de calibración la cual se describe a continuación:

a) Curva de calibración

La curva de calibración se obtuvo utilizando pesas de referencia de 1.0012 g, 2.0015 g, 5.0025 g y 10.0015 g, a las cuales se les verificó su peso en la balanza analítica VELAB® VE-204, y haciendo las combinaciones necesarias para obtener pesos de 1 a 15 gramos, con cambios de gramo en gramo. Para realizar la gráfica de la calibración fue necesario convertir los gramos a Dinass siguiendo el siguiente razonamiento:

$$\begin{aligned}
 1 \text{ Dina} &= 10^{-5} N & 1g &= 0.00981N \\
 N &= Kg \cdot m/s^2 & 1g &= 981 \text{ Dinass} \\
 N &= 0.001 g \cdot 9.81 m/s^2
 \end{aligned}$$

Los resultados individuales de la transformación de gramos a Dinass, se encuentran en la Tabla 33 del anexo. Mientras que los promedios de las Unidades de aparato y las Dinass las cuales se emplearon para realizar la gráfica se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Promedio de los resultados de la curva de calibración del tensiómetro de Du Noüy modificado

Dinass	Unidades del aparato
982.18	5.5
1963.47	10.7
2944.96	16.2
3925.47	21.5
4907.45	26.7
5888.16	32.2
6869.35	37.6
7851.14	42.9
8831.65	48.3
9811.47	53.6
10792.28	59.2
11773.28	64.5
12755.45	69.8
13735.47	75.4
14721.87	80.6

La curva de calibración (Gráfica 33), fue utilizada para determinar la fuerza de adhesión, en ella se observa la ecuación de la línea recta:

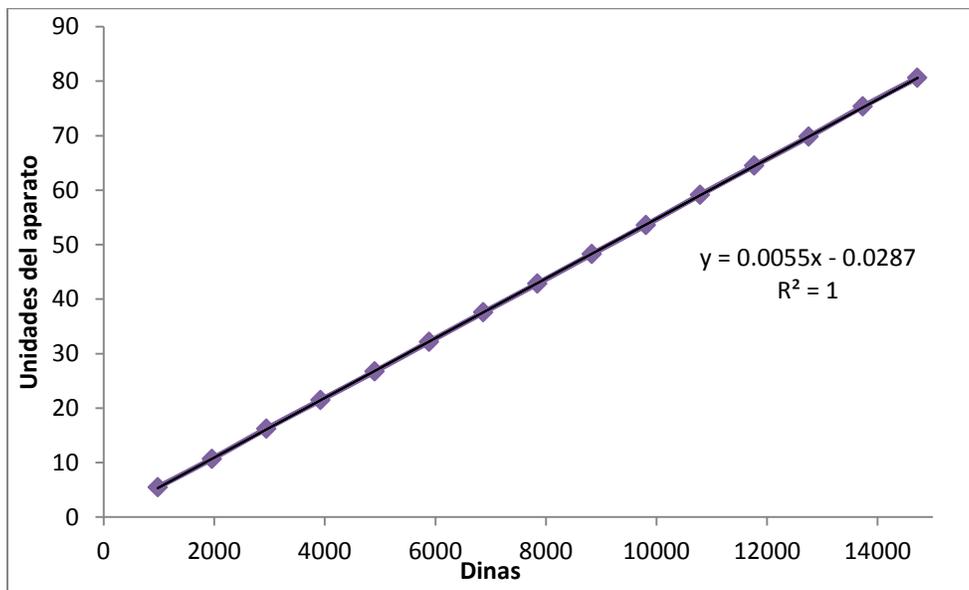
$y = 0.0055x - 0.0287$ (donde y = unidades del aparatato; x = Dinass Ecuación 6

Así como el coeficiente de correlación $R^2 = 1$, de la ecuación 5, despejando x para convertir las unidades del aparato a Días, se obtiene la ecuación 6:

$$x = \frac{y - 0.0287}{0.0055} \quad \text{Ecuación 7}$$

b) Medición de la fuerza de adhesión

Se utilizaron secciones de vagina de cerda para medir la fuerza de adhesión. El tejido se colocó en la plataforma del tensiómetro. Con una placa de teflón de forma circular con un cuadrado hueco al centro se sujetó el tejido. Se verificó que el tensiómetro de Du Noüy modificado se encontrara calibrado y en ceros. En la placa metálica se colocó una pesa de 20 g, para mantener una fuerza de contacto constante. Evitar que se extienda por los costados de la placa metálica. Las mediciones de fuerza de adhesión se realizaron para los geles de metilcelulosa, Epaq® y CAP, por quintuplicado.

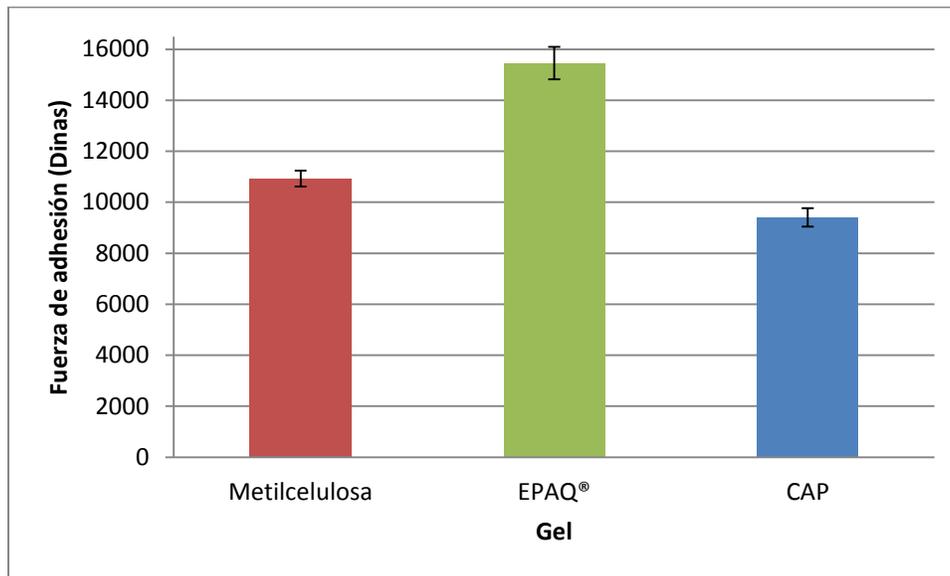


Gráfica 33. Curva de calibración del tensiómetro de Du Noüy modificado

A partir de la ecuación 6, se calcula la fuerza de adhesión para los geles de CAP, metilcelulosa y Epaq®, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 10, como se puede observar el gel comercial Epaq® es el que presenta mayor fuerza de adhesión.

Tabla 10. Resultados de la fuerza de adhesión de los geles de metilcelulosa, Epaq® y CAP en mucosa vaginal de cerda, utilizando el tensiómetro de Du Noüy modificado para realizar las mediciones.

Gel	Metilcelulosa	EPAQ®	CAP
Fuerza de adhesión (Dinas)	10823.40	15914.31	9041.58
	10514.40	15023.40	9968.85
	10968.85	16241.58	9368.85
	10932.49	15150.67	9150.67
	11387.04	14968.85	9477.95
Promedio	10925.22	15459.76	9401.58
Desv. Est.	314.00	639.11	360.99



Gráfica 34 Comparación de la fuerza bioadhesiva de los tres geles evaluados.

De la tabla 10 y la Gráfica 34 Comparación de la fuerza bioadhesiva de los tres geles evaluados. se puede deducir que el orden de la fuerza de adhesión de los geles es el siguiente:

$$\text{Gel Epaq}^{\circledR} > \text{gel de metilcelulosa} > \text{gel de CAP}$$

El gel comercial es 1.44 veces más bioadhesivo que el gel de metilcelulosa y 1.64 veces más bioadhesivo que el gel de CAP. Aguilera y colaboradores (1993) reportaron que el Carbopol tiene una fuerza de adhesión (6717.42 Dinias) mayor que la metilcelulosa (3083.18 Dinias). Utilizan la misma

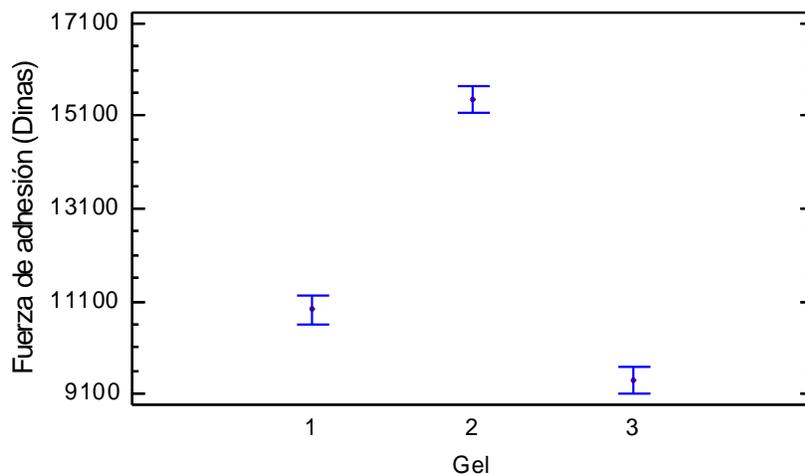
modificación al tensiómetro de Du Nüoy, así como el procedimiento de calibración y medición de la fuerza de adhesión. Sin embargo, las condiciones de trabajo, así como el tipo forma farmacéutica empleada no fueron iguales, ellos utilizaron comprimidos.

A las fuerzas de adhesión obtenidas se les aplicó un análisis de varianza de un factor (tipo de gel) utilizando el software Statgraphics Centurion XV para determinar si existía influencia del tipo de gel en la fuerza de adhesión. Los resultados del análisis estadístico se encuentran en la tabla 11.

Tabla 11. ANOVA para fuerza de bioadhesión por gel

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	9.93084E7	2	4.96542E7	263.60	0.0000
Intra grupos	2.26043E6	12	188369.		
Total (Corr.)	1.01569E8	14			

Debido a que el valor de P es menor que 0.05, se determina que si existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la fuerza de adhesión y los tipos de geles evaluados con un nivel de confianza del 95 %. En la Gráfica 35 se puede observar que no hay ningún tipo de interacción entre las medias de la fuerza de adhesión.



Gráfica 35. Medias de fuerza de adhesión con un intervalo de confianza del 95%

De acuerdo con los tres métodos empleados en los estudios de bioadhesión de los geles, los geles evaluados presentan el siguiente comportamiento bioadhesivo:

Gel comercial > gel metilcelulosa > gel de CAP

El estudio de las propiedades mucoadhesivas de los sistemas que son utilizados para aplicación vaginal es muy importante, ya que el tiempo que permanezcan en contacto con la mucosa vaginal es determinante para un adecuado efecto farmacológico.

Existen diferentes métodos para medir directa o indirectamente la bioadhesión vaginal. En este trabajo de tesis se aplicaron técnicas que son de fácil adaptación y que no requieren el uso de equipos sofisticados. Se tomaron como referencia métodos previamente reportados (Bacchav & Patravale, 2009; Nakamura & Ohta, 1996) pero se introdujo el uso de tejidos vaginales de cerda para poder obtener resultados representativos de lo que ocurre *in vivo* que aquellos obtenidos con membranas sintéticas o placas con agar.

Es importante recordar que este trabajo de tesis forma parte de una línea de investigación que desarrolla diferentes formas farmacéuticas convencionales y no convencionales que apliquen las propiedades microbicidas del CAP al tratamiento de padecimientos vaginales. Los resultados obtenidos en este trabajo de tesis son alentadores ya que confirman que el CAP por si sólo presenta propiedades bioadhesivas. Sin embargo, en comparación con el gel comercial y el gel de metilcelulosa, el CAP mostró menores tiempos de residencia y menor fuerza de adhesión; por lo que la formulación propuesta debe ser optimizada. Se propone la incorporación de un agente bioadhesivo (por ejemplo, Carbopol®, carboximetilcelulosa o metilcelulosa) para potenciar el efecto mucoadhesivo.

Las técnicas estandarizadas en este proyecto están siendo aplicadas para evaluar otras formas farmacéuticas de aplicación vaginal; actualmente se evalúan hidrogeles de dimetilaminoetilmetacrilato cargados con agentes antimicóticos para tratamiento de vaginitis.

V. CONCLUSIONES

Se obtuvieron geles para aplicación vaginal usando acetato ftalato de celulosa al 30 % p/p.

Se preparó un gel con metilcelulosa al 1.5 % p/v. El gel de CAP presento una viscosidad dinámica de 200.14 Poise a 25 °C y de 74.04 Poise a 37 °C (evaluado con un viscosímetro tipo rotacional digital, aguja no. 3 a 30 s de muestreo, n=5).

Las viscosidades del gel de metilcelulosa y del gel comercial fueron de 1.17 Poise y 3.63 Poise, respectivamente (evaluado con un viscosímetro tipo rotacional digital, aguja no. 3 a 30 s de muestreo, n=5).

El pH (4.5, 5.0 y 5.5) tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el tiempo de residencia de los geles sobre tejido vaginal, cuando se utilizó el método modificado de Nakamura y colaboradores utilizando el equipo de desintegración de tabletas.

El desplazamiento de los geles colocados sobre el tejido vaginal es dependiente del tipo de gel (CAP, metilcelulosa y comercial (Epaq®) y del pH (4.5, 5.0 y 5.5). Existe evidencia estadísticamente significativa de que el pH y el tipo gel tienen efecto sobre el desplazamiento de los geles cuando son aplicados sobre el tejido vaginal de cerda.

La fuerza de bioadhesión determinada con el tensiómetro de Du Nöuy demuestra que el gel comercial es 1.44 veces más bioadhesivo que el gel de metilcelulosa y este a su vez presenta mayor bioadesividad que el gel de CAP.

A pesar de que el gel de CAP tiene propiedades microbidas, las propiedades bioadhesivas fueron muy bajas por lo que se propone combinar con otro polímero para aumentar bioadhesividad y pueda ser utilizado para administración vaginal.

VI. REFERENCIAS

- Aguilera, C. E., Peña Romero, A., Cervantes, O. R., Villalobos, G. R., & Quintanar Guerrero, D. (March de 1993). Development of a new method to measure polymer bioadhesion (Exposure area and humectation time effect on adhesion force). *The 12th Pharmaceutical Technology Conference , I*, 115-123.
- Ahuja, A., Khar, R. K., & Ali, J. (1997). Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 5(23), 489-515.
- Bacchav, Y. G., & Patravale, V. B. (2009). Microemulsion based vaginal gel of fuconazole: formulation in vitro and in vivo evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 365, 175-179.
- Baloglu, E., Senyigit, Z. A., Karavana, S. Y., & Bernkop-Schnürch, A. (2009). Strategies to prolong the intravaginal residence time of drug delivery systems. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 12(3), 312-336.
- Bath, K. D., & Kumar, S. M. (2006). Biodegradability of PMMA blends with some cellulose derivates. *Journal of Polymer and the Environment*, 385-392.
- Boddupalli, B. M., Mohammed , Z. N., Nath, R. A., & Banji, D. (2010). Mucoadhesive drug delivery systems. *Journal of Advanced Pharmaceutical technology Research*, 1(4), 381-387.
- Brannon-Peppas, L. (1993). Novel vaginal drug release applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2, 163-177.
- Chang, J. Y., Oh, Y. K., Kim, Y. B., & Kim, C. K. (2002). Rheological evaluation of thermosensitive and mucoadhesive vaginal gel in physiological conditions. *International Journal of Pharmaceutics*, 241, 155-163.
- Chopra, S., Motwani, S. K., Zeenat, I., Shusma, T., Farhan, J. A., & Roop, K. K. (2007). Optimization of a polyherbal gels for vaginal drug delivery by Box-Behnken statical design. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmacy*, 67, 120-131.
- Choudhury, A., Das, S., & Kar, M. (2011). A Review on Novelty and Potentiality of Vaginal Drug Delivery. *International Journal of PharmTech Research*, 3(2), 1033-1044.
- das Neves, J., & Bahia, M. F. (2006). Gels as vaginal drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 1-14.
- Diccionario de Especialidades Farmacéuticas PLM.* (s.f.). (roc-web.com, Productor) Recuperado el 20 de Febrero de 2012, de <http://www.medicamentosplm.com/>

- Edsman, K., & Hägerström, H. (2005). Pharmaceutical applications of mucoadhesion for the non-oral routes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* (57), 3-22.
- El- Kamel, A. H., Sokar, M. S., Naggar, V. F., & Al Gamal, S. S. (2002). Bioadhesive controlled release metronidazole vaginal tablets. *Acta Pharmaceutica*, 52(3), 171-179.
- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (9ª ed.). (2008). Secretaria de Salud, México: Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
- Huang, Y., Leobandung, W., Foss, A., & Peppas, N. A. (2000). Molecular aspects of muco- and bioadhesion: Tethered structures and site-specific surfaces. *Journal of Controlled Release*, 65, 63-71.
- Hussain, A., & Ahan, F. (2005). The vagina as a route for systemic drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*(103), 301-313.
- Jiménez-Castellanos, R., Zia, H., & Rhodes, T. C. (1993). Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 19(1&2), 143-194.
- Kim, C.-J. (2004). *Advanced pharmaceuticals: Physicochemical principles*. USA: CRC Press.
- Knuth, K., Amiji, M., & Robinson, J. R. (1993). Hydrogel delivery systems for vaginal and oral applications. Formulation and biological considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 11, 137-167.
- Mathiowitz, E. (Ed.). (1999). *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. USA: Jon Wiley & Sons Inc.
- McGowan, I. (2006). Microbicides: A new frontier in HIV prevention. *The International Association for Biologicals*, 241-255.
- Nakamura, F., & Ohta, R. (1996). In vitro and in vivo nasal mucoadhesion of some water-soluble polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 57, 173-181.
- Nava Jaimes, H., Pezet Sandoval, F., & Hernández Gutiérrez, I. (Mayo de 2001). *El Sistema Internacional de Unidades*. Recuperado el 14 de Mayo de 2012, de Centro Nacional de Metrología: <http://satori.geociencias.unam.mx/LGM/Unidades-CENAM.pdf>
- Neurath, R. A., Debnath, A. K., Strick, N., & Li, Y.-Y. (September de 2001). Cellulose acetate phthalate, a common pharmaceutical excipient, inactivates HIV-1 and blocks the coreceptor binding site on the virus envelope glycoprotein gp120. *BMC Infectious Diseases*, 1(17).
- Neurath, R. A., Strick, N., Li, Y.-Y., Lin, K., & Jiang, S. (1999). Design of a microbicide for prevention of Sexually Transmitted Diseases using inactive pharmaceutical excipients. *The International Association for Biologicals*, 11-21.

- NOM-073-SSA1-2005. (4 de Enero de 2006). Estabilidad de fármacos y medicamentos. Mexico: Secretaria de Salud.
- Nuttall, J., Romano, J., Douville, K., Galbreath, C., Nel, A., Heyward, W., y otros. (2007). The future of HIV prevention: Prospects for an effective anti-HIV microbicide. *Infectious Disease Clinics of North America*(21), 219-239.
- Quintanar-Guerrero, D., Villalobos-García, R., Alvarez-Colín, E., & Cornejo-Bravo, J. M. (2001). In vitro evaluation of the bioadhesive properties of hydrophobic polybasic gels containing N,N-dimethylmethacrylate-co-methyl metacrylate. *Biomaterials*, 22, 957-961.
- Rowe, R., Shekey, P., & Owen, S. (Edits.). (2006). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (5ª ed.). Gran Bretaña: Pharmaceutical Press.
- Smart, J. (2005). The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(11), 1556-1568.
- Squier, C. A., Mantz, M. J., Schlievert, P. M., & Davis, C. C. (2008). Porcine vagina Ex vivo as a model for studying permeability and phatogenesis in mucosa. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(1), 9-21.
- Strick, N. (2009). *Patente nº US 2009/0234027 A1*. United States of America.
- Trabajo, O. I. (2003). *OMS*. Recuperado el 27 de Junio de 2011, de Aplicación de las recomendaciones prácticas de la OIT sobre VIH/SIDA y el mundo del trabajo: http://www.who.int/occupational_health/activities/oehcdrom11.pdf
- Tsou, L. k., Chen, C.-H., Dutschman, G. E., Gheng, Y.-C., & Hamilton, A. H. (2012). Blocking HIV-1 entry by a gp120 surface binding inhibitor. *Biorganic & Medicinal Chemistry Letters*.
- United State Pharmacopeia 29 NF 24* (29 ed.). (2006). Maryland, United States: United State Pharmacopeial Convention.
- Valenta, C. (2005). The use of mucoadhesive polymers in vaginal delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1692-1712.
- Vermani, K., & Garg , S. (2000). The scope and potential of vaginal drug delivery. *Pharmaceutical Sciences & Technology Today*, 3(10), 359-364.
- VIH, g. -G. (21 de 07 de 2010). *Especial Viena 2010: boletín del miércoles*. Recuperado el 20 de Diciembre de 2011, de Un microbicida con tenofovir protege frente al VIH y el virus del herpes simple tipo 2: http://gtt-vih.org/actualizate/la_noticia_del_dia/21-07-10#microbicida

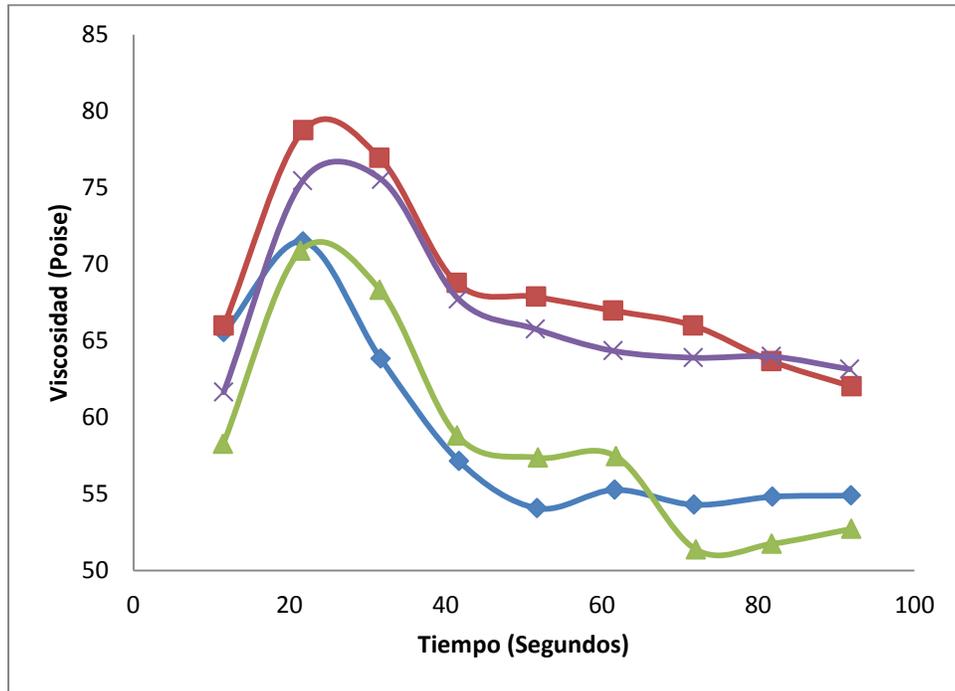
5.

6.

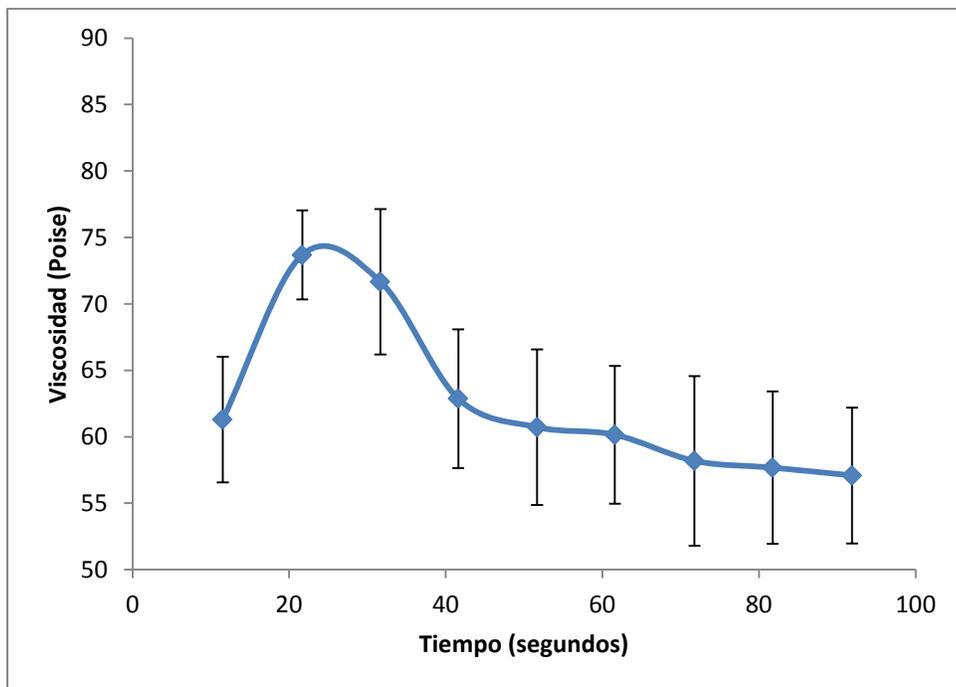
7.

8.

VII. ANEXO



Gráfica A1. Viscosidad del gel de CAP en función del tiempo



Gráfica A2. Promedios de la viscosidad del gel de CAP en función del tiempo

Tabla 12. Viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte y temperatura constante, variando tiempo en un rango de 10 a 90 segundos

Velocidad (rpm)	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Viscosidad (Poise)	Tiempo2 (s)	Viscosidad2 (Poise)	Tiempo3 (s)	Viscosidad3 (Poise)	Tiempo4 (s)	Viscosidad4 (Poise)	Tiempo5 (s)	Viscosidad5 (Poise)
100.00	25.00	11.59	65.55	11.57	66.00	11.50	58.28	11.56	61.65	11.38	54.97
100.00	25.00	21.72	71.47	21.78	78.75	21.39	70.88	21.67	75.45	21.78	71.85
100.00	25.00	31.68	63.83	31.53	76.95	31.57	68.32	31.79	75.53	31.68	73.72
100.00	25.00	41.69	57.15	41.40	68.78	41.47	58.80	41.64	67.72	41.80	61.88
100.00	25.00	51.70	54.08	51.59	67.88	51.81	57.38	51.48	65.78	51.75	58.50
100.00	25.00	61.66	55.28	61.43	66.97	61.82	57.45	61.43	64.35	61.66	56.70
100.00	25.00	71.78	54.30	71.66	66.00	72.05	51.38	71.72	63.90	71.61	55.35
100.00	25.00	81.83	54.83	81.71	63.67	81.75	51.75	81.73	63.97	81.67	54.15
100.00	25.00	91.91	54.90	91.98	62.03	91.94	52.72	91.74	63.15	91.91	52.65

Tabla 13. Análisis estadístico de los resultados de viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte y temperatura constante, variando tiempo en un rango de 10 a 90 segundos

Velocidad RPM	Promedio segundos	Desviación Estándar	Promedio Poise	Desviación Estándar
100.00	11.52	0.08	61.29	4.73
100.00	21.67	0.16	73.68	3.35
100.00	31.65	0.10	71.67	5.47
100.00	41.60	0.16	62.87	5.21
100.00	51.67	0.13	60.72	5.85
100.00	61.60	0.17	60.15	5.18
100.00	71.77	0.17	58.18	6.39
100.00	81.74	0.06	57.68	5.73
100.00	91.89	0.09	57.09	5.11

Tabla 14. Resultados de la viscosidad del gel de CAP a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm

Velocidad	Temperatura	Viscosidad	Promedio	Desviación								
(rpm)	(°C)	Tiempo	Viscosidad	estándar								
		(s)	(Poise)	(Poise)								
50.00	25.00	31.40	207.75	31.57	206.25	31.40	189.75	31.63	196.80	31.68	192.90	200.14
100.00	25.00	31.57	129.45	31.57	126.30	31.52	110.25	31.63	108.53	31.51	117.60	118.63
150.00	25.00	31.73	85.80	31.57	89.90	31.57	80.95	31.63	74.45	31.90	77.50	82.77
200.00	25.00	31.63	51.86	31.63	63.49	31.63	63.97	31.87	46.91	31.63	48.22	56.56
250.00	25.00	31.63	33.75	31.52	44.43	31.40	51.60	31.82	29.82	31.90	33.06	39.90
300.00	25.00	31.57	23.77	31.64	29.95	31.46	35.85	31.62	23.05	31.90	23.40	28.16
350.00	25.00	31.46	16.37	31.61	20.38	31.57	24.77	31.63	17.51	31.90	18.49	19.76
400.00	25.00	31.46	11.04	31.68	13.95	31.49	19.71	31.52	12.41	31.85	11.87	14.28
450.00	25.00	31.52	7.52	31.85	10.32	31.60	15.57	31.57	11.32	31.90	9.18	11.18
500.00	25.00	31.52	5.11	31.63	7.50	31.90	8.04	31.52	7.82	31.90	7.17	7.12
550.00	25.00	31.63	3.89	31.63	6.29	31.90	6.72	31.57	6.35	31.90	5.74	5.81
600.00	25.00	31.63	3.26	31.63	5.20	31.63	4.22	31.90	5.47	31.90	4.84	4.54
650.00	25.00	31.46	2.60	31.63	3.93	31.90	3.10	31.63	4.97	31.68	4.46	3.65
700.00	25.00	31.63	2.19	31.63	3.21	31.90	2.71	31.63	4.30	31.57	3.56	3.10
750.00	25.00	31.60	2.04	31.63	2.89	31.90	1.86	31.57	3.56	31.90	3.45	2.59
800.00	25.00	32.70	2.05	31.63	2.32	31.63	1.63	31.62	2.27	31.90	2.81	2.07
850.00	25.00	32.10	1.97	31.63	2.20	31.68	1.68	31.90	2.17	31.78	2.50	2.01
900.00	25.00	31.90	1.92	31.63	2.07	31.90	1.82	31.90	1.63	31.75	2.61	1.86
950.00	25.00	31.63	1.98	31.90	1.77	31.90	1.68	31.90	1.33	31.66	1.86	1.69
1000.00	25.00	31.90	2.08	31.90	1.75	31.63	1.61	31.90	0.86	31.79	1.36	1.58

Tabla 15. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm

Velocidad	Temperatura	Viscosidad	Promedio	Desviación								
(rpm)	(°C)	Tiempo (s)	(Poise)	Tiempo (s)	(Poise)	estándar						
50.00	25.00	72.10	1.35	31.40	1.20	31.95	0.90	31.79	1.50	31.90	0.90	1.17
100.00	25.00	31.46	0.60	31.68	0.45	31.85	0.15	31.68	0.60	31.73	0.38	0.44
150.00	25.00	31.57	0.60	31.63	0.70	31.85	0.75	31.67	0.65	31.84	0.65	0.67
200.00	25.00	31.74	0.49	31.57	0.52	31.73	0.56	31.76	0.52	31.52	0.49	0.52
250.00	25.00	31.73	0.39	31.62	0.42	31.73	0.48	31.65	0.42	31.57	0.42	0.43
300.00	25.00	31.84	0.38	31.68	0.38	31.73	0.43	31.68	0.38	31.69	0.38	0.39
350.00	25.00	31.90	0.32	31.74	0.32	32.02	0.36	31.90	0.32	31.84	0.32	0.33
400.00	25.00	31.73	0.30	31.79	0.32	31.68	0.34	31.68	0.30	31.63	0.30	0.31
450.00	25.00	31.73	0.30	31.85	0.30	31.90	0.30	31.79	0.28	31.62	0.28	0.29
500.00	25.00	31.85	0.28	31.79	0.30	31.68	0.28	31.95	0.27	31.90	0.26	0.28
550.00	25.00	31.57	0.29	31.85	0.29	31.79	0.26	31.74	0.26	31.68	0.24	0.27
600.00	25.00	31.46	0.29	31.67	0.28	31.85	0.25	31.57	0.24	31.52	0.25	0.26
650.00	25.00	31.57	0.30	31.57	0.29	31.84	0.23	31.57	0.24	31.90	0.24	0.26
700.00	25.00	31.58	0.30	31.79	0.29	31.79	0.20	31.79	0.24	31.68	0.24	0.25
750.00	25.00	31.52	0.29	31.68	0.31	31.73	0.20	31.57	0.23	32.07	0.24	0.25
800.00	25.00	31.61	0.27	31.78	0.32	31.78	0.17	31.78	0.23	31.90	0.25	0.25
850.00	25.00	31.42	0.26	31.85	0.31	31.79	0.18	31.79	0.24	31.73	0.27	0.25
900.00	25.00	31.63	0.24	32.01	0.29	31.62	0.17	31.62	0.26	31.73	0.29	0.25
950.00	25.00	31.58	0.23	31.95	0.28	31.78	0.16	31.84	0.26	31.85	0.31	0.25
1000.00	25.00	31.57	0.22	31.73	0.26	31.73	0.15	31.79	0.28	31.59	0.31	0.24

Tabla 16. Resultados de la viscosidad del gel Epaq® a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm

Velocidad	Temperatura	Viscosidad	Promedio	Desviación								
(rpm)	(°C)	Tiempo	Viscosidad	estándar								
		(s)	(Poise)									
50.00	25.00	31.90	31.52	31.52	31.63	31.63	31.90	31.90	31.90	31.90	3.63	0.00
100.00	25.00	31.90	31.40	31.40	31.40	31.40	31.90	31.90	31.90	31.90	1.55	0.00
150.00	25.00	31.90	31.57	31.57	31.52	31.52	31.90	31.90	31.90	31.90	1.80	0.00
200.00	25.00	31.90	31.57	31.57	31.68	31.68	31.90	31.90	31.90	31.90	1.51	0.00
250.00	25.00	31.90	31.46	31.46	31.90	31.90	31.63	31.63	31.90	31.90	1.33	0.00
300.00	25.00	31.90	31.90	31.90	31.63	31.63	31.90	31.90	31.90	31.90	1.22	0.00
350.00	25.00	31.90	31.90	31.90	31.63	31.63	31.90	31.90	31.90	31.90	1.14	0.00
400.00	25.00	31.90	31.85	31.85	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	1.08	0.00
450.00	25.00	31.63	31.96	31.96	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	1.04	0.00
500.00	25.00	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.63	31.63	0.99	0.00
550.00	25.00	31.63	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.68	31.68	0.97	0.00
600.00	25.00	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	0.94	0.00
650.00	25.00	31.63	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	0.91	0.00
700.00	25.00	31.63	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	0.89	0.00
750.00	25.00	31.90	31.90	31.90	31.68	31.68	31.90	31.90	31.90	31.90	0.87	0.00
800.00	25.00	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.68	31.68	0.83	0.00
850.00	25.00	31.62	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	0.80	0.00
900.00	25.00	31.89	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	0.78	0.00
950.00	25.00	31.90	31.90	31.90	31.89	31.89	31.90	31.90	31.74	31.74	0.75	0.00
1000.00	25.00	31.90	31.90	31.90	31.62	31.62	31.90	31.90	31.99	31.99	0.73	0.00

Tabla 17. Resultados de la viscosidad del gel de CAP a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 1 minuto), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm

Velocidad (rpm)	Temperatura (°C)	Viscosidad Tiempo (s)	Viscosidad (Poise)	Tiempo (s)	Viscosidad Tiempo (s)	Viscosidad (Poise)	Viscosidad Tiempo (s)	Viscosidad (Poise)	Viscosidad Tiempo (s)	Viscosidad (Poise)	Promedio Viscosidad (Poise)	Desviación estándar	
50.00	25.00	61.38	161.10	61.38	199.35	61.49	190.35	61.64	168.90	61.54	181.95	180.33	13.89
100.00	25.00	61.88	96.07	61.36	98.10	61.77	101.55	61.84	98.40	61.60	114.30	101.69	6.55
150.00	25.00	61.87	69.75	61.62	56.75	61.38	59.80	61.88	63.40	61.38	86.20	67.18	10.45
200.00	25.00	61.88	52.24	61.60	28.80	61.88	37.69	61.77	44.03	61.60	61.95	44.94	11.46
250.00	25.00	61.87	41.88	61.88	18.69	61.87	23.52	61.60	26.10	61.88	45.54	31.15	10.59
300.00	25.00	61.66	31.92	61.88	11.40	61.88	16.65	61.60	18.88	61.88	36.65	23.10	9.57
350.00	25.00	61.88	25.80	61.88	8.85	61.87	11.72	61.77	14.40	61.88	29.04	17.96	7.98
400.00	25.00	61.88	21.02	61.88	5.87	61.93	8.51	61.88	12.17	61.88	22.50	14.01	6.65
450.00	25.00	61.88	17.57	61.88	5.20	61.87	6.85	61.60	8.08	61.88	18.18	11.18	5.55
500.00	25.00	61.88	15.36	61.88	4.28	61.88	5.31	61.66	6.93	61.88	16.04	9.58	5.07
550.00	25.00	61.82	14.03	61.81	4.01	61.87	4.24	61.88	5.06	61.88	15.37	8.54	5.06
600.00	25.00	61.54	12.27	61.56	3.42	61.88	3.85	61.82	4.28	61.60	14.63	7.69	4.77
650.00	25.00	61.55	10.71	61.88	2.94	61.87	4.03	61.54	3.09	61.88	12.88	6.73	4.21
700.00	25.00	61.55	9.85	61.88	2.67	61.88	3.48	61.88	2.89	61.60	10.98	5.97	3.65
750.00	25.00	61.59	9.04	61.65	2.44	61.87	3.68	61.88	2.99	61.60	9.08	5.45	2.98
800.00	25.00	61.88	8.56	61.87	2.11	61.87	3.48	61.87	2.77	61.56	8.59	5.10	2.87
850.00	25.00	61.86	8.81	61.88	1.98	61.87	3.20	61.88	2.59	61.59	7.20	4.76	2.73
900.00	25.00	61.87	8.21	61.87	1.92	61.60	3.35	61.65	2.71	61.66	5.47	4.33	2.27
950.00	25.00	61.65	7.09	61.88	1.69	61.60	3.28	61.83	2.35	61.54	4.41	3.76	1.90
1000.00	25.00	61.71	6.11	61.60	1.63	61.60	3.34	61.86	2.16	61.88	3.92	3.43	1.57

Tabla 18. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 1 minuto), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm

Velocidad	Temperatura	Viscosidad	Promedio	Desviación								
(rpm)	(°C)	Tiempo	Viscosidad	estándar								
		(s)	(Poise)	(Poise)								
50.00	25.00	61.66	1.20	61.93	1.50	61.66	0.90	61.71	1.35	61.88	1.35	1.26
100.00	25.00	61.81	0.30	61.93	0.75	61.71	0.30	61.71	0.45	61.54	0.75	0.51
150.00	25.00	61.72	0.75	61.77	0.65	61.87	0.70	61.65	0.70	61.49	0.60	0.68
200.00	25.00	61.71	0.56	61.76	0.52	61.83	0.52	61.71	0.56	61.77	0.49	0.53
250.00	25.00	61.71	0.48	61.66	0.45	61.82	0.45	61.77	0.48	61.76	0.39	0.45
300.00	25.00	61.54	0.45	61.93	0.40	61.66	0.40	61.82	0.45	61.82	0.35	0.41
350.00	25.00	61.55	0.41	61.76	0.39	61.71	0.36	61.99	0.43	61.76	0.32	0.38
400.00	25.00	61.38	0.39	61.49	0.36	61.82	0.34	61.82	0.41	61.82	0.32	0.36
450.00	25.00	61.87	0.38	61.71	0.35	61.82	0.33	61.71	0.42	61.56	0.30	0.36
500.00	25.00	61.88	0.39	61.60	0.36	61.77	0.32	61.87	0.42	61.86	0.27	0.35
550.00	25.00	61.82	0.39	61.71	0.39	61.82	0.31	61.93	0.42	62.04	0.26	0.36
600.00	25.00	61.82	0.41	61.82	0.44	61.60	0.32	61.87	0.45	61.60	0.24	0.37
650.00	25.00	61.82	0.44	61.65	0.45	61.66	0.36	61.66	0.47	61.66	0.22	0.39
700.00	25.00	61.71	0.45	61.88	0.41	61.93	0.41	61.87	0.49	61.82	0.20	0.39
750.00	25.00	61.77	0.46	61.71	0.38	61.71	0.44	61.77	0.45	61.71	0.19	0.38
800.00	25.00	61.87	0.36	61.81	0.36	61.87	0.46	61.87	0.36	61.82	0.18	0.34
850.00	25.00	61.88	0.31	61.87	0.34	61.71	0.33	61.82	0.32	61.82	0.18	0.29
900.00	25.00	62.04	0.31	61.66	0.32	61.76	0.25	61.75	0.32	61.71	0.17	0.27
950.00	25.00	61.72	0.28	61.71	0.31	61.82	0.23	61.88	0.31	61.88	0.16	0.26
1000.00	25.00	61.77	0.25	61.66	0.30	61.71	0.21	61.82	0.31	61.66	0.15	0.24

Tabla 19. Resultados de la viscosidad del gel Epaq[®]a temperatura y tiempo de muestreo constantes (25 °C; 1 minuto), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm

Velocidad	Temperatura	Viscosidad	Promedio	Desviación								
(rpm)	(°C)	Tiempo	Viscosidad	estándar								
		(s)	(Poise)	(Poise)								
50.00	25.00	61.60	3.30	61.88	3.15	61.60	3.15	61.88	3.30	61.88	3.00	3.18
100.00	25.00	61.64	1.65	61.66	1.73	61.43	1.73	61.88	1.95	61.88	1.42	1.70
150.00	25.00	61.97	1.75	61.65	1.85	61.60	1.75	61.88	1.60	61.82	2.05	1.80
200.00	25.00	61.30	1.46	61.88	1.58	61.38	1.50	61.88	1.39	61.60	1.73	1.53
250.00	25.00	61.88	1.29	61.59	1.44	61.55	1.35	61.88	1.29	61.88	1.56	1.39
300.00	25.00	61.88	1.20	61.82	1.35	61.43	1.27	61.88	1.23	61.88	1.42	1.30
350.00	25.00	61.88	1.14	61.97	1.26	61.49	1.20	61.88	1.18	61.88	1.33	1.22
400.00	25.00	61.88	1.07	61.91	1.24	61.49	1.14	61.88	1.14	61.88	1.29	1.18
450.00	25.00	61.88	1.02	61.94	1.20	61.88	1.08	61.88	1.10	61.66	1.23	1.13
500.00	25.00	61.88	0.98	61.58	1.17	61.87	1.03	61.88	1.05	61.87	1.18	1.08
550.00	25.00	61.88	0.93	61.77	1.16	61.77	0.95	61.87	1.01	61.88	1.16	1.04
600.00	25.00	61.88	0.89	61.76	1.16	61.54	0.89	61.88	0.98	61.87	1.14	1.01
650.00	25.00	61.88	0.85	61.60	1.19	61.88	0.82	61.88	0.95	61.88	1.12	0.99
700.00	25.00	61.60	0.82	61.60	1.23	61.90	0.76	61.77	0.90	61.65	1.09	0.96
750.00	25.00	61.88	0.79	61.87	1.30	61.85	0.71	61.88	0.83	61.60	1.05	0.94
800.00	25.00	61.87	0.77	61.72	1.28	61.87	0.67	61.87	0.77	61.87	0.98	0.89
850.00	25.00	61.88	0.72	61.78	1.18	61.88	0.62	61.88	0.72	61.88	0.90	0.83
900.00	25.00	61.38	0.69	61.78	1.11	61.88	0.58	61.66	0.68	61.88	0.84	0.78
950.00	25.00	61.43	0.65	61.81	1.04	61.87	0.55	61.88	0.63	61.87	0.78	0.73
1000.00	25.00	61.66	0.62	61.66	0.99	61.88	0.52	61.88	0.60	61.88	0.73	0.69

Tabla 20. Resultados de la viscosidad del gel de CAP a temperatura y tiempo de muestreo constantes (37 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm

Velocidad	Temperatura	Viscosidad	Promedio	Desviaci								
(rpm)	(°C)	Tiempo	Viscosidad	estándar								
		(s)	(Poise)	(s)	(Poise)	(s)	(Poise)	(s)	(Poise)	(s)	(Poise)	(Poise)
50.00	37.00	31.85	69.15	31.73	79.80	31.46	73.95	31.63	77.85	31.52	69.45	74.04
100.00	37.00	31.90	52.28	31.46	52.88	31.63	50.10	31.46	49.65	31.40	47.25	50.43
150.00	37.00	31.67	35.10	31.46	40.55	31.63	37.55	31.79	35.65	31.62	36.10	36.99
200.00	37.00	31.90	27.83	31.46	33.04	31.63	30.26	31.84	27.64	31.85	29.14	29.58
250.00	37.00	31.84	23.55	32.01	27.72	31.63	24.78	31.90	22.50	31.79	24.33	24.58
300.00	37.00	31.63	18.77	35.21	23.33	31.41	20.95	31.73	19.05	31.62	20.77	20.58
350.00	37.00	31.63	14.01	32.01	19.03	31.46	17.72	31.74	16.27	31.85	18.49	17.10
400.00	37.00	31.63	11.77	31.73	16.93	31.57	15.47	31.79	14.12	31.85	16.67	14.99
450.00	37.00	31.46	10.12	31.52	14.82	31.46	13.87	31.73	11.93	31.95	14.83	13.11
500.00	37.00	31.73	9.20	31.73	12.98	31.46	12.39	31.85	10.57	31.63	12.49	11.53
550.00	37.00	31.90	8.28	31.95	11.81	31.51	11.03	31.73	9.31	31.73	10.65	10.22
600.00	37.00	31.79	7.28	31.90	10.30	32.01	9.91	31.84	8.56	31.85	9.13	9.04
650.00	37.00	31.57	6.37	32.01	10.32	31.73	8.82	31.85	6.99	31.68	8.30	8.16
700.00	37.00	31.74	5.83	31.79	8.00	31.52	7.80	31.74	6.74	31.63	7.41	7.16
750.00	37.00	31.67	5.31	31.79	7.06	31.68	7.10	31.73	5.90	31.74	6.53	6.38
800.00	37.00	31.78	4.89	31.79	6.20	31.46	6.58	31.84	4.76	31.84	5.52	5.59
850.00	37.00	31.79	4.24	31.90	5.29	31.57	5.64	31.89	4.56	31.85	5.60	5.07
900.00	37.00	31.73	3.78	31.84	4.95	31.95	5.02	31.89	3.51	31.73	4.99	4.45
950.00	37.00	31.84	3.97	31.79	4.42	31.68	4.60	31.74	3.32	31.85	4.82	4.22
1000.00	37.00	31.85	3.32	31.90	3.72	31.89	4.14	31.95	3.13	31.63	4.55	3.77

Tabla 21. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a temperatura y tiempo de muestreo constantes (37 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm

Velocidad	Temperatura	Viscosidad	Promedio	Desviaci								
(rpm)	(°C)	Tiempo	Viscosidad	estándar								
		(s)	(Poise)	(s)	(Poise)	(s)	(Poise)	(s)	(Poise)	(s)	(Poise)	(Poise)
50.00	37.00	31.73	1.35	31.73	1.20	31.57	1.35	31.90	1.05	31.68	1.05	1.20
100.00	37.00	31.73	0.52	31.90	0.45	31.68	0.60	31.79	0.22	31.79	0.15	0.39
150.00	37.00	31.73	0.65	31.95	0.60	31.74	0.60	31.85	0.60	31.62	0.75	0.64
200.00	37.00	31.79	0.45	31.74	0.45	31.90	0.49	31.90	0.45	31.90	0.52	0.47
250.00	37.00	31.90	0.39	31.57	0.39	31.90	0.42	31.73	0.36	31.73	0.42	0.40
300.00	37.00	31.95	0.32	31.84	0.35	31.68	0.38	31.95	0.32	31.80	0.38	0.35
350.00	37.00	31.73	0.30	31.68	0.30	31.68	0.34	31.79	0.24	31.95	0.32	0.30
400.00	37.00	31.80	0.24	31.90	0.30	31.79	0.32	31.73	0.21	31.73	0.30	0.27
450.00	37.00	31.79	0.23	31.84	0.30	31.85	0.32	31.96	0.20	32.01	0.30	0.27
500.00	37.00	31.96	0.22	31.76	0.30	31.79	0.33	31.68	0.18	31.73	0.27	0.26
550.00	37.00	31.73	0.20	31.66	0.30	31.68	0.33	31.90	0.18	31.85	0.26	0.25
600.00	37.00	31.90	0.17	31.95	0.31	31.74	0.30	31.68	0.16	31.90	0.26	0.24
650.00	37.00	31.68	0.17	31.84	0.30	31.89	0.28	31.79	0.16	31.85	0.26	0.24
700.00	37.00	31.95	0.16	31.90	0.28	31.90	0.27	31.73	0.15	31.90	0.27	0.23
750.00	37.00	31.84	0.16	31.79	0.25	31.73	0.24	31.68	0.12	31.68	0.28	0.21
800.00	37.00	31.68	0.13	31.79	0.23	31.84	0.22	31.56	0.12	31.85	0.30	0.20
850.00	37.00	31.68	0.12	31.73	0.23	31.68	0.19	31.90	0.12	31.95	0.33	0.20
900.00	37.00	31.74	0.12	31.73	0.22	31.79	0.20	31.79	0.11	31.73	0.33	0.20
950.00	37.00	31.95	0.11	32.01	0.21	31.85	0.20	31.73	0.10	31.84	0.31	0.19
1000.00	37.00	31.95	0.11	31.73	0.20	31.73	0.18	31.79	0.10	31.79	0.28	0.17

Tabla 22. Resultados de la viscosidad del gel de metilcelulosa a temperatura y tiempo de muestreo constantes (37 ° C; 1 min), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm

Velocidad	Temperatura	Viscosidad	Promedio	Desviaci									
(rpm)	(°C)	Tiempo (s)	(Poise)	Tiempo (s)	(Poise)	Viscosidad (Poise)	estándar						
50.00	37.00	61.77	1.35	61.66	1.20	61.93	1.35	61.60	1.05	61.82	1.05	1.20	0.15
100.00	37.00	61.49	0.52	61.82	0.45	61.88	0.60	61.74	0.22	61.82	0.15	0.39	0.19
150.00	37.00	61.60	0.65	61.83	0.60	61.60	0.60	61.96	0.60	61.66	0.75	0.64	0.07
200.00	37.00	61.43	0.45	61.75	0.45	61.77	0.49	61.73	0.45	61.77	0.52	0.47	0.03
250.00	37.00	61.66	0.39	61.77	0.39	61.87	0.42	61.63	0.36	61.66	0.42	0.40	0.03
300.00	37.00	61.80	0.32	61.77	0.35	61.71	0.38	61.71	0.32	61.66	0.38	0.35	0.03
350.00	37.00	61.84	0.30	61.66	0.30	61.76	0.34	61.88	0.24	61.49	0.32	0.30	0.04
400.00	37.00	61.49	0.24	61.87	0.30	61.76	0.32	61.66	0.21	61.82	0.30	0.27	0.05
450.00	37.00	61.81	0.23	61.82	0.30	61.71	0.32	61.77	0.20	61.71	0.30	0.27	0.05
500.00	37.00	61.50	0.22	61.60	0.30	61.88	0.33	61.77	0.18	61.82	0.27	0.26	0.06
550.00	37.00	61.51	0.20	61.88	0.30	61.77	0.33	61.88	0.18	61.71	0.26	0.25	0.06
600.00	37.00	61.47	0.17	61.71	0.31	61.87	0.30	61.76	0.16	61.66	0.26	0.24	0.07
650.00	37.00	61.38	0.17	61.77	0.30	61.60	0.28	61.77	0.16	61.77	0.26	0.24	0.06
700.00	37.00	61.71	0.16	61.82	0.28	61.82	0.27	61.65	0.15	61.71	0.27	0.23	0.06
750.00	37.00	61.49	0.16	61.66	0.25	61.94	0.24	61.92	0.12	61.88	0.28	0.21	0.07
800.00	37.00	61.76	0.13	61.53	0.23	61.93	0.22	61.77	0.12	61.93	0.30	0.20	0.08
850.00	37.00	61.88	0.12	61.88	0.23	61.74	0.19	61.77	0.12	61.60	0.33	0.20	0.09
900.00	37.00	62.42	0.12	61.76	0.22	61.93	0.20	61.82	0.11	61.82	0.33	0.20	0.09
950.00	37.00	61.44	0.11	61.76	0.21	61.65	0.20	61.66	0.10	61.98	0.31	0.19	0.08
1000.00	37.00	61.54	0.11	61.87	0.20	61.77	0.18	61.92	0.10	61.82	0.28	0.17	0.08

Tabla 23. Resultados de la viscosidad del gel Epaq® a temperatura y tiempo de muestreo constantes (37 °C; 30 segundos), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm

Velocidad	Temperatura	Viscosidad	Promedio	Desviaci									
(rpm)	(°C)	Tiempo	(Poise)	Tiempo	(Poise)	Tiempo	(Poise)	Tiempo	(Poise)	Tiempo	(Poise)	estándar	
		(s)		(s)		(s)		(s)		(s)			
50.00	37.00	102.63	3.15	31.90	2.85	31.90	3.00	31.95	2.85	31.68	2.85	2.94	0.00
100.00	37.00	32.06	1.65	31.68	1.42	31.90	1.95	31.95	1.35	31.90	1.35	1.55	0.00
150.00	37.00	31.68	1.85	31.90	1.70	31.74	1.45	31.63	1.70	31.90	1.65	1.67	0.00
200.00	37.00	31.90	1.61	32.01	1.42	31.62	1.27	31.90	1.39	31.90	1.39	1.42	0.00
250.00	37.00	31.68	1.47	31.90	1.26	31.90	1.11	31.90	1.26	31.68	1.23	1.27	0.00
300.00	37.00	31.62	1.40	31.68	1.10	31.79	1.02	31.90	1.15	31.90	1.15	1.16	0.00
350.00	37.00	31.96	1.35	31.73	0.99	31.95	0.99	31.90	1.09	31.63	1.11	1.11	0.00
400.00	37.00	31.90	1.29	31.90	0.90	31.95	0.94	31.95	1.07	31.68	1.09	1.06	0.00
450.00	37.00	31.68	1.20	31.90	0.83	31.73	0.90	31.73	1.05	31.90	1.07	1.01	0.00
500.00	37.00	31.74	1.09	31.79	0.77	31.90	0.89	31.90	1.05	31.90	1.03	0.97	0.00
550.00	37.00	31.52	1.01	31.90	0.71	31.63	0.87	31.90	1.05	31.96	0.98	0.92	0.00
600.00	37.00	31.68	0.94	31.95	0.65	31.68	0.85	31.63	1.05	31.73	0.91	0.88	0.00
650.00	37.00	32.07	0.88	31.68	0.61	31.90	0.84	31.96	1.07	31.90	0.84	0.85	0.00
700.00	37.00	31.71	0.82	31.63	0.57	31.68	0.82	31.73	1.09	31.63	0.79	0.82	0.00
750.00	37.00	31.35	0.77	31.73	0.53	31.79	0.82	31.79	1.01	31.90	0.73	0.77	0.00
800.00	37.00	31.55	0.73	31.79	0.50	31.89	0.82	31.90	0.93	31.89	0.68	0.73	0.00
850.00	37.00	31.40	0.69	31.73	0.48	31.79	0.81	31.68	0.87	31.90	0.64	0.70	0.00
900.00	37.00	31.90	0.66	31.90	0.44	31.68	0.81	31.90	0.82	31.95	0.61	0.67	0.00
950.00	37.00	31.90	0.62	31.90	0.42	31.90	0.79	31.90	0.77	31.90	0.58	0.64	0.00
1000.00	37.00	31.62	0.59	31.90	0.40	31.68	0.75	31.90	0.73	31.90	0.55	0.60	0.00

Tabla 24. Resultados de la viscosidad del gel Epaq® a temperatura y tiempo de muestreo constantes (37 °C; 1 min), variando la velocidad de corte en un rango de 50 a 1000 rpm

Velocidad	Temperatura	Viscosidad	Promedio	Desviaci									
(rpm)	(°C)	Tiempo	Viscosidad	estándar									
		(s)	(Poise)										
50.00	37.00	61.66	3.15	61.87	2.55	61.77	3.30	61.88	3.30	61.88	2.55	2.97	0.39
100.00	37.00	61.87	1.50	61.66	1.27	61.65	1.42	61.88	1.35	61.88	1.05	1.32	0.17
150.00	37.00	61.71	1.65	61.66	1.30	61.88	1.50	61.82	1.40	61.88	1.45	1.46	0.13
200.00	37.00	61.88	1.35	61.66	1.05	61.66	1.13	61.88	1.16	61.56	1.13	1.16	0.11
250.00	37.00	61.88	1.14	61.87	0.90	61.88	0.90	61.87	0.99	61.59	0.99	0.98	0.10
300.00	37.00	61.60	1.00	61.93	0.80	61.71	0.77	61.87	0.88	61.60	0.85	0.86	0.09
350.00	37.00	61.88	0.90	61.65	0.71	61.60	0.66	61.88	0.77	61.88	0.77	0.76	0.09
400.00	37.00	61.65	0.81	61.60	0.64	61.88	0.58	61.88	0.68	61.88	0.69	0.68	0.08
450.00	37.00	61.88	0.73	61.93	0.60	61.60	0.52	61.88	0.62	61.87	0.63	0.62	0.08
500.00	37.00	61.66	0.66	61.66	0.54	61.66	0.47	61.88	0.57	61.88	0.57	0.56	0.07
550.00	37.00	61.88	0.61	61.65	0.51	61.88	0.42	61.88	0.52	61.87	0.52	0.52	0.07
600.00	37.00	61.88	0.56	61.77	0.46	61.66	0.38	61.88	0.49	61.88	0.49	0.48	0.07
650.00	37.00	61.66	0.52	61.55	0.43	61.88	0.35	61.88	0.45	61.88	0.45	0.44	0.06
700.00	37.00	61.88	0.48	61.71	0.40	61.66	0.31	61.87	0.42	61.88	0.42	0.41	0.06
750.00	37.00	61.65	0.45	61.71	0.37	61.66	0.29	61.88	0.38	61.87	0.39	0.38	0.06
800.00	37.00	61.88	0.42	61.65	0.35	61.65	0.26	61.65	0.36	61.87	0.37	0.35	0.06
850.00	37.00	61.87	0.40	61.82	0.33	61.87	0.25	61.88	0.34	61.87	0.34	0.33	0.05
900.00	37.00	61.71	0.38	61.65	0.31	61.88	0.22	61.66	0.32	61.87	0.32	0.31	0.05
950.00	37.00	61.37	0.36	61.71	0.29	61.93	0.20	61.88	0.31	61.65	0.31	0.29	0.05
1000.00	37.00	61.50	0.34	61.71	0.28	61.88	0.19	61.88	0.29	61.88	0.29	0.28	0.05

Tabla 25. Viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte (100rpm) y tiempo (30 segundos)) constante, variando la temperatura en un rango de 10 °C a 50 °C

Velocidad (rpm)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)									
100.00	186.17	10.00	123.22	299.54	10.00	73.35	360.14	10.00	88.43	371.56	10.00	
100.00	45.49	15.20	102.75	45.16	15.40	58.05	44.83	15.50	70.35	44.93	15.60	
100.00	45.25	20.10	108.68	44.82	20.30	72.00	44.93	20.40	78.22	44.99	20.40	
100.00	45.88	25.00	97.72	45.38	25.20	69.22	45.32	25.30	74.55	44.77	25.30	
100.00	46.16	30.00	83.70	46.20	30.10	61.35	45.76	30.20	62.10	45.49	30.20	
100.00	46.08	35.00	70.80	46.09	35.10	53.33	45.76	35.10	53.85	45.71	35.10	
100.00	46.59	39.90	59.63	45.65	40.00	46.95	46.31	40.10	47.63	46.21	40.10	
100.00	46.75	44.90	51.00	46.59	45.00	41.63	46.97	45.00	41.40	46.63	45.00	
100.00	47.52	49.90	42.08	47.08	50.00	33.60	47.30	50.00	33.67	47.13	50.00	

Tabla 26. Continuación de resultados de viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (30 segundos) constantes, variando la temperatura en un rango de 10 a 50 °C

Velocidad (rpm)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Promedio Temperatura (°C)	Desviación estándar	Promedio Viscosidad (Poise)	Desviación estándar
100.00	270.32	10.00	70.95	10.00	0	87.91	21.01
100.00	44.90	15.50	51.97	15.44	0.15	70.24	19.64
100.00	44.94	20.30	47.17	20.30	0.12	76.26	21.91
100.00	45.27	25.20	45.60	25.20	0.12	71.23	18.56
100.00	45.59	30.10	40.50	30.12	0.08	60.69	15.52
100.00	45.82	35.10	36.38	35.08	0.04	52.80	12.30
100.00	46.42	40.10	32.17	40.04	0.09	45.84	9.88
100.00	47.03	45.00	27.90	44.98	0.04	39.54	8.50
100.00	46.80	50.00	23.63	49.98	0.04	32.55	6.72

Tabla 27. Viscosidad del gel de metilcelulosa a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (30 segundos) constante, variando la temperatura en un rango de 10 °C a 50 °C

Velocidad (rpm)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)
100.00	255.17	10.00	1.05	254.69	10.00	0.82	265.11	10.00	0.75	239.87	10.00	0.75
100.00	75.57	15.00	0.75	75.46	15.00	0.82	75.51	15.00	0.68	75.18	15.10	0.68
100.00	75.90	20.00	0.75	76.23	20.00	0.75	75.81	20.00	0.52	75.84	20.00	0.52
100.00	76.29	25.00	0.75	76.56	25.00	0.68	76.32	25.00	0.45	76.07	25.00	0.45
100.00	76.34	30.00	0.75	76.45	30.00	0.68	76.72	30.00	0.45	76.56	30.00	0.45
100.00	76.72	35.00	0.75	77.11	35.00	0.60	77.00	35.00	0.45	76.62	35.00	0.45
100.00	77.88	40.00	0.90	77.60	39.90	0.60	77.49	40.00	0.60	77.06	40.00	0.60
100.00	78.16	44.90	0.90	77.98	44.90	0.68	77.99	45.00	0.68	77.88	45.00	0.68
100.00	78.38	49.90	0.82	78.86	49.90	0.60	78.70	50.00	0.75	77.60	50.00	0.75

Tabla 28. Continuación de resultados de viscosidad del gel de metilcelulosa a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (30 segundos) constantes, variando la temperatura en un rango de 10 a 50 °C

Velocidad (rpm)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Promedio Temperatura (°C)	Desviación estándar	Promedio Viscosidad (Poise)	Desviación estándar
100.00	281.34	10.00	0.90	10	0	0.88	0.11
100.00	75.03	15.10	0.68	15	0.05	0.76	0.10
100.00	75.73	20.00	0.60	20	0	0.68	0.11
100.00	76.01	25.00	0.52	25	0	0.60	0.12
100.00	76.34	30.00	0.45	30	0	0.55	0.15
100.00	76.72	35.00	0.38	35	0	0.51	0.16
100.00	77.06	40.00	0.52	40	0.04	0.61	0.17
100.00	77.77	45.00	0.22	45	0.05	0.60	0.25
100.00	77.82	50.00	0.15	50	0.05	0.54	0.28

Tabla 29. Viscosidad del gel comercial Epaq® a velocidad de corte (100rpm) y tiempo (30 segundos) constante, variando la temperatura en un rango de 10 °C a 50 °C

Velocidad (rpm)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Visco (Po
100.00	119.54	10.00	2.03	236.30	10.00	2.40	244.47	10.00	2.40	246.90	10.00	
100.00	76.56	15.00	2.03	75.56	15.00	2.40	75.41	15.00	2.40	75.19	15.00	
100.00	76.94	19.90	1.95	76.24	20.00	2.33	75.84	20.00	2.33	75.63	20.00	
100.00	77.39	24.80	1.80	77.05	25.00	2.33	76.67	25.00	2.25	76.01	25.00	
100.00	77.77	29.90	1.88	76.99	29.90	2.33	76.99	30.00	2.33	76.45	30.00	
100.00	78.66	34.90	1.95	77.22	35.00	2.40	76.90	35.00	2.47	76.72	35.00	
100.00	181.94	40.00	2.17	77.99	39.90	2.47	77.66	39.90	2.25	77.60	39.90	
100.00	175.12	45.00	2.55	78.54	44.90	2.70	78.10	44.90	2.10	78.48	44.90	
100.00	170.60	50.00	2.33	79.42	49.90	2.78	78.54	49.90	2.03	79.09	49.90	

Tabla 30. Continuación de resultados de viscosidad del gel de metilcelulosa a velocidad de corte (100 rpm) y tiempo (30 segundos) constantes, variando la temperatura en un rango de 10 a 50 °C

Velocidad (rpm)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Promedio Temperatura (°C)	Desviación estándar	Promedio Viscosidad (Poise)	Desviación estándar
100.00	248.27	10.00	2.17	10	0	2.33	0.21
100.00	75.68	15.00	1.95	15	0.05	2.28	0.25
100.00	76.29	20.00	1.88	20	0	2.13	0.19
100.00	76.34	25.00	1.88	25	0	2.00	0.24
100.00	76.61	30.00	1.88	30	0	2.09	0.20
100.00	77.17	35.00	1.80	35	0	2.16	0.26
100.00	77.71	39.90	2.03	40	0.04	2.28	0.17
100.00	78.43	44.90	1.95	45	0.05	2.25	0.31
100.00	78.76	49.90	1.73	50	0.05	2.13	0.38

Tabla 31. Viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte (100rpm) y tiempo (1 minuto) constante, variando la temperatura en un rango de 10 a 50 °C

Velocidad (rpm)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Visco
100.00	289.52	10.00	60.00	73.20	10.80	48.67	276.50	10.00	65.55	260.02	10.00	
100.00	74.97	15.40	64.28	74.47	15.40	54.67	75.18	15.30	73.95	75.30	15.20	
100.00	75.29	20.20	77.93	75.24	20.20	70.72	75.19	20.10	79.65	75.46	20.10	
100.00	76.06	25.10	72.82	75.41	25.10	77.63	75.68	25.00	62.78	75.52	25.00	
100.00	75.57	30.00	61.65	75.79	30.00	68.85	76.39	30.00	55.05	76.50	30.00	
100.00	76.23	35.00	53.78	76.29	35.00	57.83	76.67	35.00	49.65	76.56	35.00	
100.00	77.00	40.00	46.20	76.83	40.00	47.85	77.06	40.00	44.25	76.72	40.00	
100.00	76.84	45.00	43.28	77.06	45.00	39.53	77.49	45.00	38.03	77.22	45.00	
100.00	77.34	50.00	34.42	77.55	50.00	32.63	77.28	50.00	30.83	77.60	50.00	

Tabla 32. Continuación de resultados de viscosidad del gel de CAP a velocidad de corte (100rpm) y tiempo (1 minuto) constante, variando la temperatura en un rango de 10 °C a 50 °C

Velocidad (rpm)	Tiempo (segundos)	Temperatura (°C)	Viscosidad (Poise)	Promedio Viscosidad (Poise)	Desviación estándar
100.00	244.44	10.00	60.83	60.47	7.27
100.00	75.08	15.20	71.55	67.88	8.48
100.00	74.96	20.10	72.00	76.17	4.51
100.00	75.73	25.00	58.05	67.77	7.78
100.00	76.18	30.00	53.85	59.64	6.00
100.00	76.34	35.00	47.40	51.96	4.01
100.00	76.39	40.00	42.90	45.12	1.93
100.00	77.06	45.00	36.30	38.36	3.30
100.00	77.11	50.00	29.02	30.95	2.66

Tabla 33. Resultados individuales de la curva de calibración del tensiómetro de Du Noüy modificado

Peso	(Dinas)	Unidades del aparato			Promedio (D/cm)
1.0012	982.18	5.4	5.5	5.6	5.5
2.0015	1963.47	10.6	10.7	10.8	10.7
3.0020	2944.96	16.2	16.2	16.3	16.2
4.0015	3925.47	21.4	21.5	21.5	21.5
5.0025	4907.45	26.7	26.7	26.8	26.7
6.0022	5888.16	32.1	32.3	32.1	32.2
7.0024	6869.35	37.5	37.7	37.5	37.6
8.0032	7851.14	42.9	42.8	42.9	42.9
9.0027	8831.65	48.2	48.2	48.4	48.3
10.0015	9811.47	53.8	53.5	53.5	53.6
11.0013	10792.28	59.2	59.2	59.1	59.2
12.0013	11773.28	64.3	64.6	64.6	64.5
13.0025	12755.45	69.8	69.7	69.9	69.8
14.0015	13735.47	75.5	75.2	75.4	75.4
15.0070	14721.87	80.6	80.4	80.9	80.6