



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

“Desarrollo y evaluación de una película bioadhesiva
cargada con gluconato de clorhexidina para el tratamiento
de padecimientos periodontales”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

RODRÍGUEZ GUERRA MARCOS ADOLFO

ASESORA:

Dra. Elizabeth Piñón Segundo



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

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

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

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

Desarrollo y evaluación de una película bioadhesiva cargada con gluconato de clorhexidina para el tratamiento de padecimientos periodontales.

Que presenta el pasante: **Marcos Adolfo Rodríguez Guerra**

Con número de cuenta: 304034008 para obtener el Título de la carrera: Química Farmacéutico Biológica

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

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de Abril de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	D.A.R. Juan José Díaz Esquivel	
VOCAL	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	
SECRETARIO	Dra. Elizabeth Piñón Segundo	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Adriana Lucero González González	
2do. SUPLENTE	M. en C. Gabriela Rodríguez Patiño	

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

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

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

“La ciencia que sirve para hacernos orgullosos y que degenera en pedantería no vale más que para deshonrarnos.”

-San Francisco de Sales (1567 – 1622)-



AGRADECIMIENTOS

Señor Dios mío, haz que mi corazón te desee, y te busque deseándote, te encuentre buscándote, te ame encontrándote, y amándote sea redimido de mis males, y no recaiga en los pecados perdonados. Inspira, Dios mío, a mi corazón la penitencia, a mi espíritu la contrición, a mis ojos el torrente de las lágrimas, a mis manos la generosidad de la limosna. Señor, Rey mío, extingue en mí los deseos de la carne y enciende el fuego de tu amor. Redentor mío, expulsa de mí el espíritu de soberbia y concédeme propicio el tesoro de tu humildad. Salvador mío, aleja de mí el furor de la ira y otórgame benigno el sereno espíritu de la paciencia. Creador mío, arranca de mí el rencor del alma, y otórgame, Señor, la dulzura de un alma mansa. Concédeme, Padre clementísimo, una fe sólida, una esperanza bien ordenada, una caridad permanente. Señor, mi guía soberana, aleja de mí la vanidad, la inconstancia de la mente, la divagación del corazón, la ligereza del lenguaje, el orgullo de la vista, la glotonería del vientre, todo ultraje contra el prójimo, los pecados de detracción, el afán de la curiosidad malsana, el deseo de las riquezas, la usurpación de las dignidades, el apetito de vanagloria, el mal de la hipocresía, la vergüenza de la adulación, el desprecio de los pobres, la opresión de los débiles, el ardor de la avaricia, el orín de la envidia y la muerte de la blasfemia.

Librame, Creador mío, de toda temeridad, de la pertinacia, la inquietud, la ociosidad, la somnolencia y la pereza, la pesadez del espíritu, la ceguera del corazón, la obstinación en mis opiniones, la crueldad de las costumbres, la desobediencia a los preceptos del bien, y la resistencia a los buenos consejos. Aparta también de mí la intemperancia del lenguaje, todo lo que pueda violar los derechos de los pobres y de los débiles, toda calumnias contra los inocentes, toda negligencia contra mis súbditos, toda iniquidad contra mis domésticos, toda ingratitud contra mis amigos y toda dureza respecto de mi prójimo.

¡Oh Dios mío, misericordia mía, te pido por tu amado Hijo, que me concedas hacer obras de caridad y misericordia, compartir los dolores de los afligidos, socorrer las necesidades de los indigentes, ayudar a los desgraciados, volver al buen camino a los extraviados, consolar a los tristes, proteger a los oprimidos, tender la mano a los pobres, levantar a los abatidos, pagar a mis deudores, perdonar a los que me han ofendido, amar a quienes me odian, dar bien por mal, no despreciar a ninguno, sino honrar a todos, imitar a los buenos, desconfiar de los malvados, abrazar todas las virtudes y rechazar todos los vicios, ser paciente en la adversidad, moderado en la prosperidad, poner una guardia a mi boca y una barrera en torno a mis labios, pisotear los bienes terrenos y tener sed de los celestiales.



Ante la mirada del Dios eterno y guiado por los principios de rectitud y justicia, es menester de un alma agradecida el hacer notar su gratitud a aquellos por cuyo favor se ve adornado su ser. Su paciencia y generosidad, la probidad de sus preceptos y el confort de su compañía, la siempre dulce corrección, las manifestaciones generosas de amor y paciencia, contribuciones de la majestad divina en instrumentos tan afables de caridad, nombres en los que se gozan mis labios y aún más mi espíritu, seres con rostros imborrables presentes en la memoria y otros tantos ocultos bajo la discreción de actos sencillos, pero igualmente necesarios y de gran valía en la contrición del ser.

A todos ellos gracias, gracias desde lo más íntimo de mi corazón, desde ese pequeño tabernáculo que de morada sirve para que todo hombre guarde con profundo celo sus más grandes tesoros, Dios premie y pague su generosidad y los colme en vida de aquello que su corazón más anhele, de honor como sumo bien les sirva y de gloria al eterno Señor sea. Y que estas líneas pese a su simpleza de momento basten para poner de manifiesto las verdades que les comuniqué, habrá de ser mi suplica.

A mis dos grandes amores; mi madre, María Tarasa Guerra Pastlan y mi hermana Ana Belén Rodríguez Guerra, que junto conmigo, peregrinos en este valle de lágrimas, se han convertido en un baluarte frente a las dificultades de la vida, un bálsamo cara a los grandes dolores, una cálida sonrisa en las aún más loables victorias y alegrías, pero sobre todo al ayudarme a vivir la dulce virtud de la resiliencia ante las vicisitudes de la propia existencia.

A mis bienhechores, que en gentil acto de desinterés han obrado para bien de mí y los míos y en cuya gentileza encontré el brazo inquebrantable del Dios de las misericordias. A mis deudores, de quienes recibí la razón propicia para el fortalecimiento del corazón, la sobriedad de la mente y la templanza del espíritu. A mis profesores, que como instrumentos nobles del saber han puesto mis pies sobre el camino del conocimiento y me han sido propicios en la enseñanza al caminar con firmeza en él. A los compañeros que hicieron entrañable ese peregrinar, con nobles gestos como palmadas en la espalda o aquellos que como piedras de tropiezo, resultaron de tal suerte ante la fatiga, una oportunidad perfecta para reposar en los brazos del bien amado príncipe de la paz. A la UNAM que me permitió formar parte de una gran comunidad y me brindó la que sin duda es una de las más entrañables aventuras de la vida y de forma muy especial a la FES Cuautitlán a quien debo la instrucción y por quien he de esforzarme para que mi nombre sea un sinónimo de su grandeza.

A la Dra. Elizabeth Piñón Segundo, a quien tengo la necesidad y el deseo sincero de agradecer la oportunidad de ser partícipe de este proyecto; a su profesionalismo y a la paciencia que manifiesto en todo momento con cada palabra y gesto y que hicieron posible la elaboración de este trabajo; así como el concederme la fortuna de conocer, aprender y sobre todo vivir experiencias nuevas. Gracias

Y finalmente y no menos importantes; a mis compañeros y amigos de Lab-13, entrañables y afables personitas que llevaré siempre en mi corazón y en mi memoria.

Resumiré pues todo ello en una frase, más su valía no habrá de menguar, pues la justificación misma descansa en la verdad que he comunicado y ante verdades como esas sólo es necesaria una apertura de corazón...

Gracias al eterno Dios, a la vida y a quienes la comparten conmigo.



ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras	IV
Índice de tablas	V
Índice de gráficas	VII
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. OBJETIVOS	4
1. Objetivo General	4
2. Objetivos Particulares	4
IV. HIPÓTESIS	4
V. MARCO TEÓRICO	5
1. Anatomía Funcional de los Tejidos Periodontales	5
1.1 Periodonto	5
1.2 Encía	5
1.3 Ligamento Periodontal	7
1.4 Cemento	7
1.5 Hueso Alveolar	8
2. Enfermedades Periodontales	10
2.1 Definición	10
2.2 La Enfermedad Periodontal en México	10
2.3 Clasificación	11
2.4 Etiología, Signos y Síntomas	14
3. Tratamiento de la Enfermedad Periodontal	17
3.1 Objetivo	17
3.2 Procedimientos no Quirúrgicos	18
3.3 Tratamiento con Antibióticos	18
3.4 Tratamiento con Medicamentos de Liberación Local	19
3.5 Principales Antisépticos en el Tratamiento de Periodontitis	19
3.6 Presentaciones Farmacéuticas	19
4. Clorhexidina (Chx)	20
4.1 Propiedades Físicoquímicas	20
4.2 Mecanismo de Acción	21
4.3 Reacciones Adversas	22
5. Sistemas Bioadhesivos	23
5.1 Ventajas de Sistemas Bioadhesivos	24
6. Bioadhesión	25
6.1 Definición	25
6.2 Mecanismos de Bioadhesión	26
7. Teorías de Adhesión	27
7.1 Teoría Mecánica	27



7.2	Teoría de Difusión	27
7.3	Teoría Electrónica	28
7.4	Teoría de Humectación	28
7.5	Teoría de Fractura	29
7.6	Teoría de Adsorción Termodinámica	29
8.	Películas Bioadhesivas	30
8.1	Clasificación	30
8.2	Formulación (Polímeros Bioadhesivos)	33
8.3	Características Ideales	34
9.	Quitosán	34
9.1	Propiedades Físicoquímicas	35
10.	Métodos de Obtención de Películas	36
10.1	Fundición de Películas (Moldeo con Disolvente)	36
10.2	Extrusión de Fusión en Caliente	37
10.3	Moldeo con Mezcla Semisólida	37
10.4	Extrusión de Dispersión Sólida	37
10.5	Moldeo con Rodillos o "Rolling"	38
11.	Evaluación	38
11.1	Uniformidad de Masa	38
11.2	Espesor	38
11.3	Resistencia al Plegado	39
11.4	Uniformidad de Contenido	39
11.5	Porcentaje de Elongación	39
11.6	Resistencia a la Ruptura/ Desgarro/ Tracción/ Tensión	39
11.7	Propiedades de Hinchamiento	40
11.8	Transparencia	40
11.9	Tiempo de Desintegración	40
11.10	pH	41
11.11	Fuerza Bioadhesiva <i>ex vivo</i>	41
11.12	Estudios de Liberación <i>in vitro</i>	41
VI.	DESARROLLO EXPERIMENTAL	42
1.	Principio Activo, Materias Primas y Reactivos	42
2.	Equipos	42
3.	Metodología	44
3.1	Preparación de Fluido Salival Simulado	44
3.2	Pruebas de Compatibilidad entre Componentes de la Formulación	44
3.3	Curva de Calibración	45
3.3.1	Linealidad del Sistema	45
3.3.2	Precisión del Sistema	46
3.3.3	Repetibilidad	46
3.3.4	Exactitud	46



4.	Formulación y Preparación de Laminillas	46
4.1	Laminillas/ Películas Dispersables de HPMC	46
4.2	Laminillas/ Películas Bioadhesivas (Quitosán)	48
4.3	Pruebas de Caracterización	48
4.3.1	Apariencia	48
4.3.2	Control de Espesor	49
4.3.3	Uniformidad de Masa	49
4.3.4	Pruebas Mecánicas	49
4.3.4.1	Resistencia al Plegado	49
4.3.4.2	Porcentaje de Elongación (% E) y Resistencia a la Ruptura (Tensión)	49
4.3.5	Uniformidad de Contenido	49
4.3.6	pH	50
4.3.7	Tiempo de Desintegración	50
4.3.8	Porcentaje de Hinchamiento (% H)	51
4.3.9	Perfiles de Liberación <i>in vitro</i> de GluChx en Laminillas de Quitosán	51
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
1.	Curva de calibración de GluChx en FSS	52
2.	Caracterización de las Películas	53
2.1	Repetibilidad	55
2.2	Apariencia	55
2.3	Control del Espesor	57
2.4	Uniformidad de Masa	65
2.5	Pruebas Mecánicas	75
2.6	Porcentaje de Hinchamiento (% H)	81
2.7	Uniformidad del Contenido	90
2.8	Tiempo de Desintegración	96
2.9	pH	100
2.10	Perfiles de Liberación <i>in vitro</i> en Laminillas de Quitosán	104
VIII.	CONCLUSIONES	117
IX.	REFERENCIAS	119
X.	ANEXOS	122



Índice de figuras

Figura 1. Esquema general del periodonto	5
Figura 2. Componentes de la encía	6
Figura 3. Anatomía funcional de ligamento periodontal	7
Figura 4. Componentes del ligamento periodontal y ubicación	8
Figura 5. Esquema del hueso alveolar y sus componentes	9
Figura 6. Composición y estructura del biofilm. Formación desde el fondo de la superficie dental por una mezcla de bacterias gram-negativas y gram-positivas	14
Figura 7. Proceso degenerativo de las encías durante la enfermedad periodontal	15
Figura 8. Tratamiento mecánico de la periodontitis. El raspado y alisado radicular no se consideran procedimientos separados; la diferencia entre ellos es solo cuestión de grado	18
Figura 9. Estructura química de las presentaciones de clorhexidina (Chx)	20
Figura 10. Mecanismo de acción de la Chx frente a bacterias Gram negativas	22
Figura 11. Representación gráfica del ángulo de contacto y humectación de la superficie	28
Figura 12. Representación esquemática de la interdifusión de las cadenas de polímero en el proceso de mucoadhesión a) capa de mucus y polímero antes del contacto b) capas de polímero y mucus en contacto c) las cadenas comienzan a difundir a partir de la interface después de un período de contacto	30
Figura 13. Clasificación de sistemas orales (películas) de acuerdo a la zona de aplicación	31
Figura 14. Esquema simplificado para películas según sus características y propiedades	31
Figura 15. Liberación del fármaco en los tipos de preparaciones mucoadhesivas. M, mucosa. P, polímero. D, depósito de fármaco. S, protector adhesivo. A, capa adhesiva. B, capa impermeable de refuerzo	32
Figura 16. Estructura química del quitosán	35
Figura 17. Principales métodos usados en la preparación de películas orodispersables	36
Figura 18. Vaciado del gel sobre el molde momentos antes de ser introducido a la estufa para su secado (A); obtención del film después de las 20 horas de secado en la estufa (B)	47
Figura 19. Tamaño y forma final de las laminillas	47
Figura 20. Adaptación de la canastilla de desintegración (A); prueba de desintegración en ejecución (B).	50
Figura 21. Apariencia final de las laminillas de quitosán y de HPMC.	55
Figura 22. Laminilla de quitosán antes (A) y después de ejercer tensión (B).	77
Figura 23. Laminilla de HPMC antes (A), durante (B) y después de ejercer tensión (B).	77
Figura 24. Laminilla de HPMC antes (arriba) y después de hincharse (abajo); logra advertirse un aumento en su área después de la captación de agua.	84
Figura 25. Laminilla de quitosán antes (abajo) y después de hincharse (arriba); logra advertirse un aumento en su área después de la captación de agua.	87
Figura 26. Montaje de la prueba de liberación en FSS.	105



Índice de tablas

Tabla No. 1a. Clasificación de la Enfermedad Periodontal, descrita por la Academia Americana de Periodoncia. Gingivitis	12
Tabla No. 1b. Clasificación de la Enfermedad Periodontal, descrita por la Academia Americana de Periodoncia. Periodontitis	13
Tabla No. 2. Especies bacterianas asociadas a la periodontitis	16
Tabla No. 3. Descripción de las interacciones involucradas en el fenómeno de mucoadhesión	27
Tabla No. 4. Formulación para la preparación de Fluido Salival Simulado (FSS)	44
Tabla No. 5. Curva de Calibración de GluChx en FSS	45
Tabla No. 6. Formulación de Laminillas Dispersables	46
Tabla No. 7. Formulación de Laminillas Bioadhesivas	48
Tabla No. 8. Resultados de la evaluación realizada a la Curva de Calibración de GluChx	53
Tabla No. 9. Resultados obtenidos para la prueba de Espesor para cada Formulación y sus respectivos lotes	59
Tabla No. 10. Medias por Mínimos Cuadrados para Espesor con Intervalos de Confianza del 95.0% (HPMC)	59
Tabla No. 11. Medias por Mínimos Cuadrados para Espesor con Intervalos de Confianza del 95.0% (Quitosán)	59
Tabla No. 12. Análisis de Varianza para Espesor - Suma de Cuadrados Tipo III (HPMC)	61
Tabla No. 13. Análisis de Varianza para Espesor - Suma de Cuadrados Tipo III (Quitosán)	62
Tabla No. 14. Análisis de Varianza para Espesor - Suma de Cuadrados Tipo III	63
Tabla No. 15. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Masa. Lote 1	66
Tabla No. 16. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Masa. Lote 2	66
Tabla No. 17. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Masa. Lote 3	66
Tabla No. 18. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Masa con intervalos de confianza del 95.0% (HPMC)	68
Tabla No. 19. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Masa con Intervalos de Confianza del 95.0% (Quitosán)	68
Tabla No. 20. Análisis de Varianza para Masa - Suma de Cuadrados Tipo III (HPMC)	68
Tabla No. 21. Análisis de Varianza para Masa - Suma de Cuadrados Tipo III (Quitosán)	70
Tabla No. 22. Análisis de Varianza para Masa - Suma de Cuadrados Tipo III	71
Tabla No. 23. Pruebas de Múltiple Rangos para Masa por Lote	72
Tabla No. 24. Comparaciones Múltiples entre los lotes de ambas Formulaciones	72
Tabla No. 25. Resultados para la prueba de Resistencia al Plegado, para laminillas de HPMC y Quitosán.	76
Tabla No. 26. Resultados de la prueba de Hinchamiento para cada Formulación. Lote 1	82
Tabla No. 27. Resultados de la prueba de Hinchamiento para cada Formulación. Lote 2	83
Tabla No. 28. Resultados de la prueba de Hinchamiento para cada Formulación. Lote 3	83
Tabla No. 29. Resumen Estadístico para % H (HPMC)	84
Tabla No. 30. Resumen Estadístico para % H (Quitosán)	84
Tabla No. 31. Resumen ANOVA para % H por Lote (HPMC)	85
Tabla No. 32. Resumen ANOVA para % H por Lote (Quitosán)	85
Tabla No. 33. Análisis de Varianza para % H para ambas Formulaciones - Suma de Cuadrados Tipo III	85



Tabla No. 34. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Contenido. Lote 1	91
Tabla No. 35. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Contenido. Lote 2	91
Tabla No. 36. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Contenido. Lote 3	91
Tabla No. 37. Resumen Estadístico para Concentración GluChx (HPMC)	91
Tabla No. 38. Resumen Estadístico para Concentración GluChx (Quitósán)	92
Tabla No. 39. Resumen ANOVA para Concentración GluChx por Lote (HPMC)	92
Tabla No. 40. Resumen ANOVA para GluChx por Lote (Quitósán)	93
Tabla No. 41. Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) y Concentraciones Mínimas Bactericidas (CMB) para gluconato de clorhexidina (GluChx)	94
Tabla No. 42. Resultados experimentales para la prueba de Desintegración (HPMC)	96
Tabla No. 43. Medias por Mínimos Cuadrados para Desintegración con Intervalos de Confianza del 95.0%	97
Tabla No. 44. Análisis de Varianza para Desintegración - Suma de Cuadrados Tipo III	97
Tabla No. 45. Resultados experimentales para la prueba de pH	100
Tabla No. 46. Análisis de Varianza para pH - Suma de Cuadrados Tipo III	103
Tabla No. 47. Análisis de Varianza para % Liberado - Suma de Cuadrados Tipo III	105
Tabla No. 48. Resultados de Liberación <i>in vitro</i> con ajustes en el tiempo en los diferentes Modelos Cinéticos	109
Tabla No. 49. Mecanismos de transporte desde Sistemas Matriciales de acuerdo al modelo Korsmeyer-Peppas	110
Tabla No. 50. Tipo de Liberación de acuerdo al mecanismo de transporte según el modelo Korsmeyer-Peppas	110
Tabla No. 51. Tratamiento Estadístico para la evaluación de la curva	122
Tabla No. 52. Precisión del sistema	124
Tabla No. 53. Repetibilidad	125
Tabla No. 54. Exactitud	125
Tabla No. 55. Liberación <i>in vitro</i> para GluChx desde laminillas de Quitósán, 1	126
Tabla No. 56. Liberación <i>in vitro</i> para GluChx desde laminillas de Quitósán, 2	127
Tabla No. 57. Liberación <i>in vitro</i> para GluChx desde laminillas de Quitósán, 3	128



Índice de gráficas

Gráfico 1. % de incidencia de padecimientos periodontales (Periodontitis Severa, PS; periodontitis moderada, PM; periodontitis leve, PL) en diferentes edades.	10
Gráfico 2. Espesores promedio para cada Formulación y lote	58
Gráfico 3. Gráfico de Medias de Fisher para los lotes de HPMC	62
Gráfico 4. Gráfico de Medias de Fisher para los lotes de Quitosán	63
Gráfico 5. Comparación de los diferentes lotes para cada formulación según Fisher, Quitosán (Q); HPMC (H)	64
Gráfico 6. Masa promedio para las laminillas de HPMC a diferentes tiempos de secado	67
Gráfico 7. Masa promedio para las laminillas de Quitosán a diferentes tiempos de secado	67
Gráfico 8. Gráfico de Medias de Fisher para los distintos lotes de HPMC	69
Gráfico 9. Gráfico de Medias de Fisher para los distintos tiempos de HPMC	69
Gráfico 10. Gráfico de Medias de Fisher para los distintos lotes de Quitosán	70
Gráfico 11. Gráfico de Medias de Fisher para los distintos tiempos Quitosán	71
Gráfico 12. Porcentaje de Hinchamiento para los tres lotes de cada Formulación	82
Gráfico 13. Gráfico de Medias de Fisher para ambas formulaciones: Quitosán (Q) y HPMC (H).	86
Gráfico 14. Gráfico de Medias de Fisher para Contenido de GluChx ($\mu\text{g/ml}$) en los distintos lotes de las laminillas de HPMC	93
Gráfico 15. Gráfico de Medias de Fisher para Contenido de GluChx ($\mu\text{g/ml}$) en los distintos lotes de las laminillas de Quitosán	93
Gráfico 16. Tiempo de Desintegración para los tres lotes de la Formulación con HPMC	96
Gráfico 17. Gráfica de Medias de Fisher para HPMC (Desintegración)	98
Gráfico 18. pH para cada uno de los lotes y su respectiva Formulación	101
Gráfico 19. Gráfico de Medias de Fisher para pH en los lotes de HPMC	103
Gráfico 20. Gráfico de Medias de Fisher para las Liberaciones de los tres lotes	106
Gráfico 21. Perfiles de Liberación del GluChx desde las laminillas de Quitosán, % Liberado vs Tiempo (min)	107
Gráfico 22. Curva de Calibración de GluChx pH 6.8 (Abs vs Conc. $\mu\text{g/ml}$)	122
Gráfico 23. Modelo Cinético de Orden Cero, con valores completos	129
Gráfico 24. Modelo cinético de Orden Uno, con valores completos	129
Gráfico 25. Modelo de Korsmeyer-Peppas con ajuste de datos	130
Gráfico 26. Modelo de Higuchi con ajuste de datos	130
Gráfico 27. Modelo de Hixson-Crowell con ajuste de datos	130
Gráfico 28. Modelo de Weibull con ajuste de datos	130



I. RESUMEN

Este proyecto de tesis tiene por objetivo principal el desarrollo de una película polimérica con características bioadhesivas para la liberación de gluconato de clorhexidina (GluChx); este último ampliamente reconocido y utilizado en el tratamiento de padecimientos orales como la gingivitis y periodontitis, gracias a su amplio espectro y efectiva acción frente a las bacterias asociadas a estos padecimientos.

La selección de una película con cualidades bioadhesivas como vehículo portador y liberador del fármaco, (características asociadas a los polímeros utilizados para su preparación) contribuyen con numerables ventajas relacionadas con la intención de promover una liberación retardada y localizada; de tal modo, que su uso puede ofrecer una complementaria y efectiva alternativa en el tratamiento de importantes infecciones orales como las diferentes manifestaciones en las llamadas enfermedades periodontales.

Una primera etapa del proyecto consistió en la aplicación de un método analítico de tipo espectrofotométrico UV-Vis para la cuantificación del principio activo (GluChx), determinando y evaluando parámetros como: linealidad, límite de detección y cuantificación, precisión, exactitud y repetibilidad.

Se prepararon dos tipos de películas con diferente agente filmógeno (HPMC y Quitosán) mediante la técnica de moldeo con disolvente. Se realizaron pruebas previas de incompatibilidad para la formulación de quitosán por medio de la preparación física de mezclas binarias entre los ingredientes que la conformaban. Para las laminillas de HPMC estas pruebas no fueron necesarias, debido a que en un proyecto de tesis anterior para la licenciatura en farmacia fueron optimizadas (dentro del mismo laboratorio donde se concluyó este proyecto).

Las películas obtenidas fueron caracterizadas y evaluadas en distintos aspectos como, apariencia, espesor, uniformidad de masa, uniformidad de contenido, pH, tiempo de desintegración, porcentaje de hinchamiento, pruebas mecánicas y perfiles de liberación; comparando ambas formulaciones en algunos de estos parámetros.

Las películas de HPMC registraron tiempos de desintegración cortos inferiores al minuto, a diferencia de las de quitosán las cuales no mostraban desintegración, su apariencia también resulto ser totalmente distinta observándose que las de HPMC se expresaban como laminillas delgadas, lisas y translucidas mientras que las de quitosán resultaron ser delgadas, opacas, poco rugosas y de color marrón.

El pH en las dos formulaciones se situó en un intervalo de 7.0 - 7.4; en lo referente al hinchamiento, se apreció que en ambos casos se presentaba captación de agua al manifestarse un aumento considerable en las



dimensiones de las películas en las dos formulaciones; con un % H de 108.39 % en las laminillas de HPMC, y 185.10 % para las laminillas de quitosán.

Se logró la incorporación de GluChx en un porcentaje de 81.5 % para la formulación de HPMC y de 75.2 % para la formulación con quitosán, en ambos casos se obtuvieron cantidades efectivas del fármaco como las utilizadas en otras formas farmacéuticas en el tratamiento de la gingivitis y periodontitis. La liberación del GluChx desde las laminillas de quitosán se alcanzó en su totalidad a las 8 horas de iniciada la prueba con un efecto “burst” durante los primeros min, y ajustándose a los modelos propuestos de Korsmeyer-Peppas, Higuchi, y Hixson-Crowell.

La mayoría de los resultados obtenidos en las pruebas resultaron ser totalmente distintos cuando se evaluaban formulaciones diferentes, con excepción del pH donde la diferencia resulto mínima y estadísticamente despreciable; no obstante, que en todos los casos donde la comparación se hacía entre lotes de una misma formulación estos no mostraron diferencias estadísticamente significativas.



II. INTRODUCCIÓN

Los dientes juegan un papel importante en la nutrición y la salud general de todo individuo, por lo que su cuidado es sin duda un tema recurrente y de gran interés para la sociedad en el mundo, y no solo por los aspectos técnicos bajo los cuales dependemos significativamente de ellos, sino también por el aporte estético que su presencia garantiza. Sin embargo, los factores a los cuales las estructuras dentales están expuestas, así como el mal cuidado que se les otorga, desencadena una de las problemáticas más comunes de salud pública y que de manera genérica reciben el nombre de “*enfermedades periodontales*”, por ser sobre los tejidos que rodean y dan soporte a los dientes los lugares bajo los cuales se desarrolla y actúa la enfermedad (Periodonto).

La clorhexidina es uno de los fármacos más utilizados en el tratamiento de tales afecciones, siendo particularmente su presentación como GluChx una de las más empleadas. Es un compuesto químico sintético que pertenece al grupo de las biguanidas; su uso como un antiséptico antimicrobiano es debido principalmente a su amplio espectro, baja toxicidad y gran afinidad sobre mucosas.

En la actualidad la mejor alternativa para tratar los padecimientos periodontales en su condición más severa, es mediante el uso de ciertos procedimientos de tipo mecánicos con la finalidad de reducir la presencia de la microbiota patógena sobre la zona afectada a una que no entre en conflicto con la salud periodontal normal y que resulte biológicamente aceptable para el organismo, además de complementar el tratamiento con algún tipo de agente antiséptico. Sin embargo, la administración de antimicrobianos a través de sistemas de liberación controlada está siendo una importante opción en periodoncia, encontrando entre las diferentes posibilidades; enjuagues bucales, ungüentos, geles, sistemas de irrigación oral y sistemas de irrigación subgingival mediante jeringas o aparatos de irrigación mecánica (Palacio y cols., 2008).

Más recientemente la liberación de fármacos desde vehículos que proveen una liberación sostenida, que permitan la administración subgingival del principio activo lentamente y manteniendo niveles apropiados en el sitio de acción es más común, demostrando que este tipo de sistemas resultan beneficiosos al promover una disminución en la profundidad de sondaje periodontal y en la ganancia de los niveles clínicos en pacientes con periodontitis; debido a la mayor concentración del antimicrobiano en la bolsa periodontal, mayor duración del fármaco en el sitio, menos efectos adversos y mejores efectos sobre las bacterias periodonto patógenas.



III. OBJETIVOS

1. Objetivo General

Desarrollar y caracterizar una película bioadhesiva obtenida por el método de moldeo con disolvente para evaluar su potencial uso como un auxiliar en el tratamiento de gingivitis y periodontitis.

2. Objetivos Particulares

1. Preparar una película bioadhesiva a base de Quitosán, cargada con gluconato de clorhexidina, usando el método de moldeo con disolvente.
2. Caracterizar las películas, realizando pruebas de apariencia, grosor, uniformidad de masa, contenido químico, pH, tiempo de desintegración, índice de hinchamiento, pruebas mecánicas y perfiles de liberación.
3. Comparar las películas bioadhesivas de Quitosán con películas de hidroxipropilmetilcelulosa (optimizadas en un trabajo previo) por apariencia, grosor, uniformidad de masa, contenido químico, pH, índice de hinchamiento y pruebas mecánicas.
4. Preparar una curva de calibración aplicando un método espectrofotométrico para la cuantificación de gluconato de clorhexidina en fluido salival simulado y evaluar su linealidad, repetibilidad, precisión y exactitud.
5. Evaluar los perfiles de liberación *in vitro* del gluconato de clorhexidina incluido en las laminillas de Quitosán usando como medio de disolución fluido salival simulado pH = 6.8.

IV. HIPÓTESIS

La incorporación de gluconato de clorhexidina en una película mucoadhesiva de aplicación periodontal puede aumentar el tiempo de residencia del fármaco en el sitio donde es requerido para favorecer el efecto terapéutico.

V. MARCO TEÓRICO

1. Anatomía Funcional de los Tejidos Periodontales

Los tejidos periodontales en condiciones funcionales normales (periodonto) se componen de cuatro estructuras principales: la encía, el ligamento periodontal, el cemento y el hueso alveolar. Cada componente, a pesar de presentar características distintas en cuanto a ubicación, arquitectura de tejido y composición química y bioquímica, funcionan como una sola unidad coordinada y funcional (Newman y cols., 2014).

1.1 Periodonto

Dentro de la gama de funciones que desempeña el periodonto (figura 1) se encuentra el acoplamiento de los dientes en las mandíbulas, facilitar la unión entre las estructuras dentales y el epitelio oral, la absorción de las fuerzas oclusales y facilitar el movimiento del diente dentro de la mandíbula (Hughes, 2015).

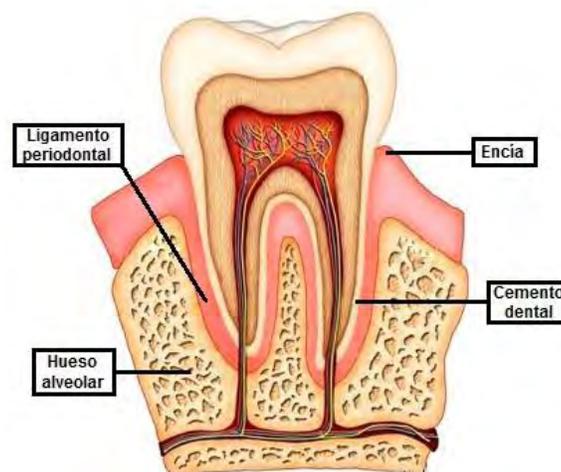


Figura 1. Esquema general del periodonto, modificado de <https://thumbs.dreamstime.com/z/dental-anatomy-8747128.jpg>

1.2 Encía

La función de los tejidos gingivales es proporcionar una condición de sellado entre el diente y el epitelio oral con la finalidad de mantener condiciones de aislamiento frente a factores externos y para la retención de los fluidos corporales. En un estado saludable, la encía además de estar unida firmemente al diente tiene una coloración rosada (figura 2) (Hughes, 2015).

La encía forma parte de la mucosa masticatoria, que se encuentra recubriendo al diente en su porción cervical, y la apófisis alveolar. Está compuesta por epitelio, y por debajo de este, tejido conectivo (lámina propia), adquiere su forma y textura definitivas con la erupción de los dientes (Lindhe y cols., 2009). Con respecto a su anatomía, la encía se divide en tres áreas claramente diferenciadas; área marginal, área adherida e interdental (Newman y cols., 2014).

La encía marginal o libre (EL), se caracteriza por tener una coloración rosada coralina y de consistencia firme. Comprende el tejido gingival en la cara vestibular y lingual/palatal de los dientes y la encía interdental o papila interdental. En las caras tanto vestibular, como lingual/palatal, la encía libre se extiende desde el margen gingival (límite coronal), hasta el surco gingival (límite apical) el cual se encuentra ubicado a un mismo nivel de la unión cemento-esmalte (UCE) o amelocementaria (Lindhe y cols., 2009).

La encía interdental o papila interdental, forma parte de las áreas que comprende la encía libre, adquiere su forma por los contactos interdentes, el ancho de las superficies interproximales de los dientes, y el trazado de la UCE. La papila en las regiones anteriores tiene una forma piramidal, mientras que en las región de los molares son más aplanadas en sentido vestibulo lingual; además, debido a la presencia de superficies de contacto en la región premolar/ molar, se forma una concavidad, llamada col, que comparte características similares con el epitelio de unión (Lindhe y cols., 2009).

Por último esta la encía adherida (EA) posee una textura firme y de coloración rosado coralino, se extiende desde el surco gingival (en caso de que no esté presente, su límite coronal será un plano horizontal que corresponde con la UCE) hasta la línea mucogingival, hasta apreciarse de forma continua con la mucosa de revestimiento alveolar. En esta parte se encuentran pequeñas depresiones con una superficie punteada que da la apariencia de piel de naranja (Hughes, 2015).

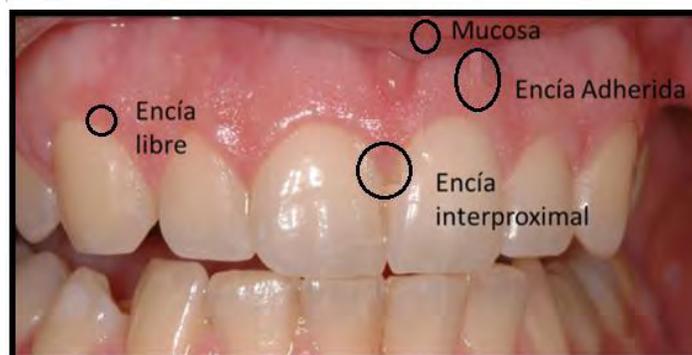


Figura 2. Componentes de la encía.

1.3 Ligamento Periodontal

Caracterizado por ser la estructura que rodea la raíz y la une al hueso alveolar; es la continuación de la lámina propia de la encía. Ocupa el espacio entre la superficie radicular y la superficie del hueso alveolar. Está compuesto por células, fibras, vasos sanguíneos y linfáticos (figura 3) (Bascones, 2009).

Las fibras principales, son fibras de colágena, y su principal función es insertarse en el cemento y el hueso alveolar, atravesando todo el espacio periodontal. Se encargan de estabilizar la encía, como de proveerle resistencia al unirla con la superficie del diente subyacente al epitelio de unión.

Debido a los componentes del ligamento periodontal este realiza una serie de funciones desde la resistencia, y transmisión de las fuerzas oclusales, gracias al sistema vascular, hidrodinámico, resilente y las fibras que presenta; hasta la función formativa (gracias a sus células involucradas en la formación y reabsorción de los tejidos) y nutritiva, al permitir el paso de elementos nutritivos hacia la encía, al hueso y al cemento debido a su alta vascularización sanguínea y linfática (Bascones, 2009; Lindhe y cols., 2009).

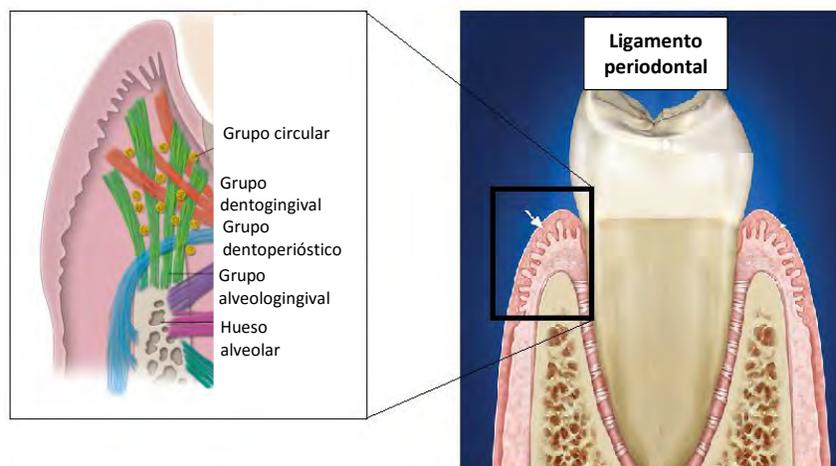


Figura 3. Anatomía funcional de ligamento periodontal, copiado y editado de: <http://www.owossodentalcenter.com/blog/post/periodontal-probing-increases-accuracy-in-diagnosing-gum-disease.html>

1.4 Cemento

El cemento radicular, es un tejido especializado calcificado o mineralizado. Recubre el área radicular de los dientes, y en ciertos casos, porciones muy pequeñas de la corona, es el tejido conectivo mineralizado más externo de la superficie radicular, comparte con el hueso características similares como la composición química y la dureza, difiriendo mucho de este último en aspectos de tipo funcional.

Su componente principal es la hidroxiapatita, con un porcentaje cercano al 65% del peso total, siendo un poco mayor que el del hueso (60%). El cemento sirve como un medio de inserción para sujetar el ligamento periodontal a la raíz; sin embargo, también cumple una función importante en lo que se refiere a la reparación radicular cuando esta se ve afectada por algún tipo de daño. Desde el punto de vista microscópico se pueden distinguir los siguientes tipos de cemento. (Bascones, 2009).

- 1) Cemento acelular no fibroso (AAC): se encuentra en el límite del esmalte una vez concluida la maduración pre-eruptiva del esmalte y en algunas ocasiones durante la erupción del diente; es secretado por los cementoblastos. (Rojo)
- 2) Cemento extrínseco fibroso (AEC): es secretado por los fibroblastos. En las porciones apicales de la raíz, comprende una porción del cemento fibroso mixto.
- 3) Cemento intrínseco fibroso celular (CIC): Es sintetizado por los cementoblastos pero no contiene fibras de colágeno "sharpey". Aparece pre-eruptivo y pos-eruptivo. (Azul)
- 4) Cemento mixto fibroso celular (CMC): está formado por cementoblastos y fibroblastos; es una combinación de fibras intrínsecas celulares y fibras extrínsecas (naranja/verde) (figura 4) (Wolf y Hassel, 2006).

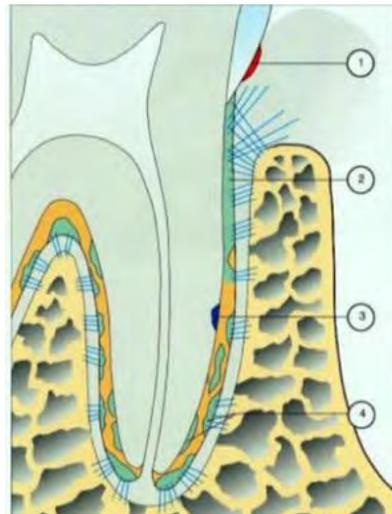


Figura 4. Componentes del ligamento periodontal y ubicación, Modificada de Wolf y Hassel, 2006.

1.5 Hueso Alveolar

Es el encargado de formar y sostener los alveolos dentales. La apófisis alveolar (parte del hueso maxilar o mandíbula que aloja las raíces de los dientes superiores e inferiores respectivamente), está compuesto por una pared interna, denominada lámina cribiforme (límite óseo del ligamento periodontal, y donde se insertan las

fibras de Sharpey), que está formada por hueso compacto y un hueso de tipo esponjoso o trabecular, denominado hueso de sostén (figura 5) (Bascones, 2009; Lindhe y cols., 2009).

Junto con el cemento radicular y el ligamento periodontal, el hueso alveolar constituye el aparato de unión del diente, cuya función principal consiste en distribuir las fuerzas generadas por la masticación y otros contactos dentarios. Está constituido por osteoblastos durante su desarrollo y remodelado a través de su vida de forma frecuente por la relación osteoblasto/osteoclasto. Los osteoblastos producen colágeno, glicoproteínas y proteoglicanos para generar la matriz del hueso que es entonces mineralizada con calcio y fosfato. El mineral principal es la hidroxiapatita (60 %de su peso total). Cuando los osteoblastos quedan atrapados bajo el tejido óseo se denominan osteocitos. Los osteocitos residen en lagunas y se comunican entre sí por canaliculos. Los osteocitos rodean los grupos de nervios y forman los llamados osteones. Un osteón es la unidad fundamental del hueso compacto y son unidades cilíndricas. Los osteoclastos son derivados de monocitos y reabsorben el hueso por un rasgo llamado superficie bordeada (Palumbo, 2011).

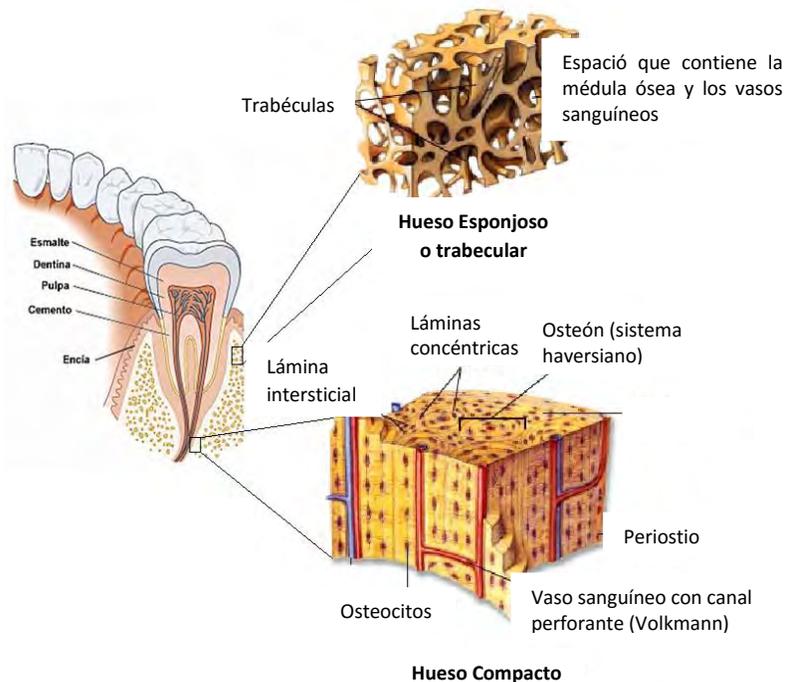


Figura 5. Esquema del hueso alveolar y sus componentes, modificado de <http://slideplayer.es/slide/1107858/>.

2. Enfermedades Periodontales

2.1 Definición

El concepto de enfermedades periodontales es un término amplio que de forma genérica sirve para describir varias condiciones patológicas localizadas que afectan a las estructuras que sirven de soporte al diente y las encías, causadas por ciertas bacterias provenientes de la placa bacteriana (Bascones y Figuero, 2005).

El glosario de términos periodontales de la Asociación Americana de Periodoncia, define la(s) enfermedad(es) periodontal(es) (EP) como “una inflamación de los tejidos de soporte del diente. Usualmente un cambio destructivo progresivo que lleva a la pérdida de hueso y ligamento periodontal. Una extensión de la inflamación de la encía al hueso y ligamento adyacentes” (The American Academy of Periodontology 2001).

2.2 La Enfermedad Periodontal en México

Esta condición en alguna de sus formas afecta alrededor del 90% de la población adulta a nivel mundial, con importantes variaciones a nivel geográfico. En el caso de la República Mexicana; estudios epidemiológicos realizados en diferentes entidades del país permitieron observar la incidencia, prevalencia y severidad de la periodontitis asociada directamente con el aumento de la edad (Macín, 2010) (gráfico 1).

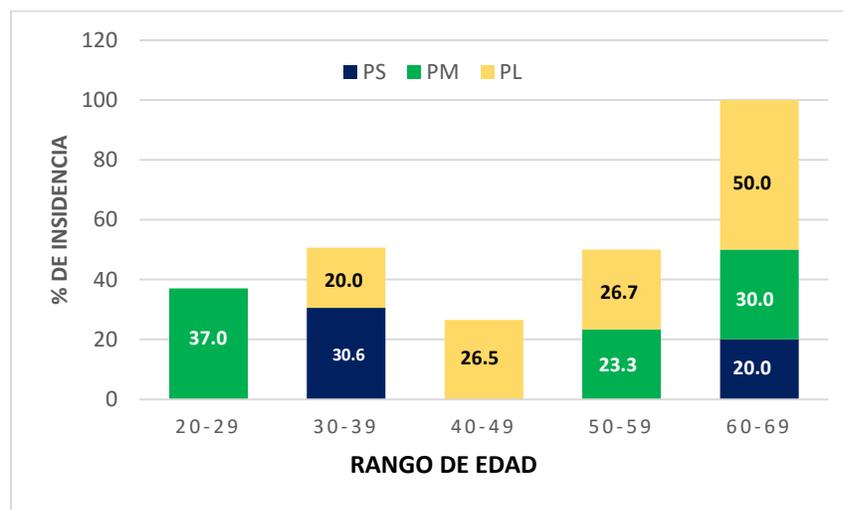


Gráfico 1. % de incidencia de padecimientos periodontales (Periodontitis Severa, PS; periodontitis moderada, PM; periodontitis Leve, PL) en diferentes edades (Macín, 2010).



2.3 Clasificación

Las enfermedades periodontales al tratarse de un término amplio se clasifican actualmente por su efecto sobre estos tejidos, y de acuerdo a la presentación más característica, la progresión y factores etiológicos; tales características permiten al concepto incluir condiciones patógenas como las enfermedades gingivales, la periodontitis crónica, periodontitis agresiva, periodontitis sistémica asociada a la enfermedad, la periodontitis necrotizante, abscesos al periodonto, periodontitis asociada a lesiones endotérmicas y condiciones y deformidades adquiridas o del desarrollo; esta clasificación según descrita por la Academia Americana de Periodoncia en 1999 (tabla 1a-1b). Dichos padecimientos se caracterizan por una destrucción del ligamento periodontal, una resorción del hueso alveolar y la migración del epitelio de unión a lo largo de la superficie del diente.



Tabla No. 1a. Clasificación de la Enfermedad Periodontal, descrita por la Academia Americana de Periodoncia. **Gingivitis.**

<p>A. ENFERMEDAD GINGIVAL INDUCIDA POR PLACA I. Gingivitis asociada únicamente a placa a. Sin otros factores contribuyentes locales b. Con otros factores contribuyentes locales</p>	<p>B. LESIONES GINGIVALES NO INDUCIDAS POR PLACA I. Enfermedad gingival de origen bacteriano específico a. Lesiones asociadas a <i>Neisseria gonorrhoea</i> b. Lesiones asociadas a <i>Treponema pallidum</i> c. Lesiones asociadas a <i>Streptococcus sp.</i> d. Lesiones asociadas a otras especies</p>
<p>II. Enfermedades gingivales modificadas por factores sistémicos a. Asociadas al sistema endocrino a.1. Gingivitis asociada a la pubertad a.2. Gingivitis asociada al ciclo menstrual a.3.1. Gingivitis asociada al embarazo a.3.2. Granuloma piogénico asociado al embarazo a.4. Gingivitis asociada a diabetes mellitus b. Asociadas a discrasias sanguíneas b.1. Gingivitis asociada a leucemia b.2. Otras</p>	<p>II. Enfermedad gingival de origen viral a. Infecciones por herpes virus a.1. Gingivostomatitis herpética primaria a.2. Herpes oral recurrente a.3. Infecciones por varicela-zoster b. Otras</p>
<p>III. Enfermedades gingivales modificadas por medicamentos a. Enfermedades gingivales influidas por fármacos a.1. Hiperplasia gingival influida por fármacos a. 2. Gingivitis influida por fármacos a.2.1. Gingivitis asociada a anticonceptivos orales a.2.2. Otras</p>	<p>III. Enfermedades gingivales de origen fúngico a. Infecciones por especies de <i>Candida</i> a.1. Candidiasis gingival generalizada b. Eritema gingival lineal c. Histoplasmosis d. Otras</p>
<p>IV. Enfermedades gingivales modificadas por malnutrición a. Gingivitis por deficiencia de ácido ascórbico b. Otras</p>	<p>IV. Lesiones gingivales de origen genético a. Fibromatosis gingival hereditaria b. Otras</p>
	<p>V. Manifestaciones gingivales de condiciones sistémicas a. Desórdenes mucocutáneos a.1. Liquen plano a.2. Penfigo a.3. Penfigo vulgaris a.4. Eritema multiforme a.5. Lupus eritematoso a.6. Inducidas por fármacos a.7. Otros b. Reacciones alérgicas b.1. A materiales de restauración dental b.1.1. Mercurio b.1.2. Níquel b.1.3. Acrílico b.1.4. Otros b.2. Reacciones atribuibles a: b.2.1. Dentríficos y pastas dentales b.2.2. Enjuagues bucales b.2.3. Aditivos de goma de mascar b.2.4. Alimentos y aditivos b.3. Otros</p>
	<p>VI. Lesiones traumáticas (iatrogenias, accidentes) a. Por sustancias químicas b. Por golpes o alguna acción física c. Por quemaduras</p>
	<p>VII. Reacciones a cuerpos extraños</p>
	<p>VIII. Otras causas no específicas (NOS)</p>

Tabla No. 1b. Clasificación de la Enfermedad Periodontal, descrita por la Academia Americana de Periodoncia. **Periodontitis.**

<p>I. Periodontitis crónica† a. Localizada b. Generalizada</p>	<p>II. Periodontitis agresiva† a. Localizada b. Generalizada</p>
<p>III. Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas a. Asociadas a desórdenes hematológicos a.1. Neutropenia adquirida a.2. Leucemia a.3. Otras b. Asociadas a desórdenes genéticos b.1. Neutropenia familiar y cíclica b.2. Síndrome de Down b.3. Síndromes de deficiencia de adhesión leucocitaria b.4. Síndrome Papillo-Lefèvre b.5. Síndrome Chediak-Higashi b.6. Síndromes de Histiocitosis b.7. Enfermedad por acumulación de glicógeno b.8. Agranulocitosis genética infantil b.9. Síndrome de Cohen b.10. Síndrome Ehlers-Danlos (Tipos IV y VIII) b.11. Hipofosfatasa b.12. Otras c. Otras no especificadas (NOS)</p>	<p>IV. Enfermedad periodontal necrotizante a. Gingivitis ulcerativa necrotizante (NUG) b. Periodontitis ulcerativa necrotizante (NUP)</p> <p>V. Abscesos en el periodonto a. Absceso gingival b. Absceso periodontal c. Absceso pericoronar</p> <p>VI. Periodontitis asociada a lesiones endodónticas a. Lesiones combinadas periodonto-endodonto</p> <p>VII. Condiciones y deformidades adquiridas o desarrolladas a. Periodontitis o enfermedad gingival localizada inducida por placa y a factores relacionados con el diente a.1. Factores anatómicos de los dientes a.2. Restauraciones / accesorios dentales a.3. Fracturas de la raíz a.4. Resorción cervical de la raíz y fracturas del cemento b. Condiciones alrededor del diente y deformidades mucogingivales b.1. Recesión de tejido blando / gingival b.1.1. Superficies facial o lingual b.1.2. Región interproximal (papilar) c. Pérdida de encía queratinizada d. Reducción de la profundidad vestibular e. Anomalía en el frenillo o posición muscular f. Exceso de encía f.1. Pseudobolsa f.2. Margen gingival inconsistente f.3. Exposición gingival excesiva f.4. Alargamiento gingival g. Coloración anormal</p>
	<p>VIII. Deformaciones mucogingivales y condiciones sobre espacios edéntulos a. Deficiencia espacial vertical u horizontal b. Pérdida de tejido gingival / queratinizado c. Alargamiento de tejido blando / gingival d. Anomalía en el frenillo o posición muscular e. Reducción de la profundidad vestibular f. Coloración anormal</p>

2.4 Etiología, Signos y Síntomas

En términos actuales la enfermedad periodontal o piorrea es la segunda patología oral más común (solo por detrás de la caries) y una de las principales causantes de la pérdida de piezas dentales a nivel mundial. Ésta es el resultado de interacciones complejas entre agentes infecciosos y el hospedero; se inicia por la presencia de numerosos microorganismos de la placa bacteriana subgingival formando así una biopelícula (figura 6) producto de la acumulación heterogénea de una comunidad microbiana variada, tanto aerobia como anaerobia, rodeada por una matriz intercelular de polímeros de origen salival y microbiano (Palacio y cols., 2008).

FORMACIÓN DEL BIOFILM

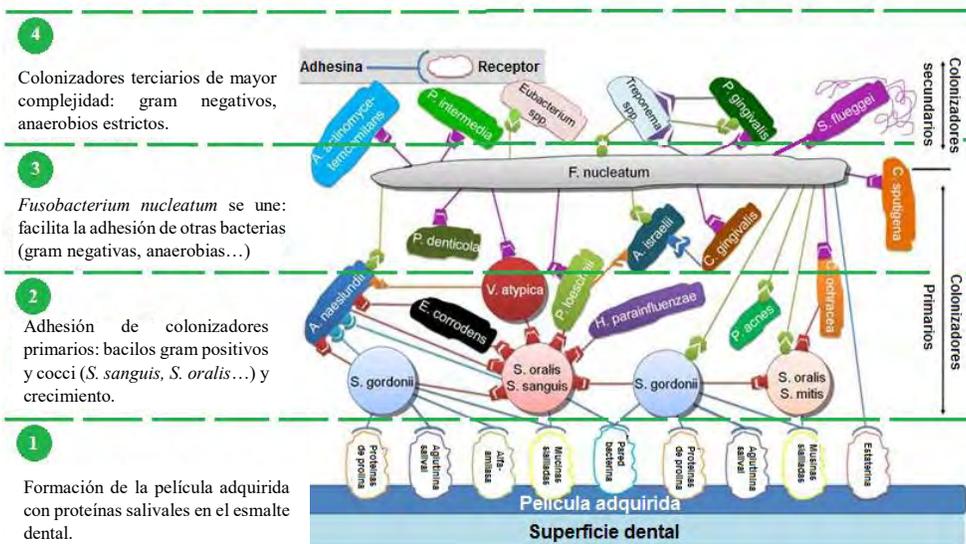


Figura 6. Composición y estructura del biofilm. Formación desde el fondo de la superficie dental por una mezcla de bacterias gram-negativas y gram-positivas. (Modificada de Frias, 2014).

En general la periodontitis es una respuesta inflamatoria localizada de protección resultado de la infección de los tejidos periodontales que rodean al diente, formando el llamado “bolsillo periodontal” derivado a partir de la acumulación de placa bacteriana en la zona subgingival dentro de la cavidad oral. Hay en existencia más de 500 especies de bacterias dentro de la placa dental, no obstante sólo unas pocas de estas especies son las encargadas de liberar ciertas toxinas que inducen en el anfitrión la respuesta inflamatoria que resulta en la destrucción de los tejidos conectivos y el hueso alveolar (figura 7) (Fonseca y Rueda, 2004).

Proceso degenerativo de las encías

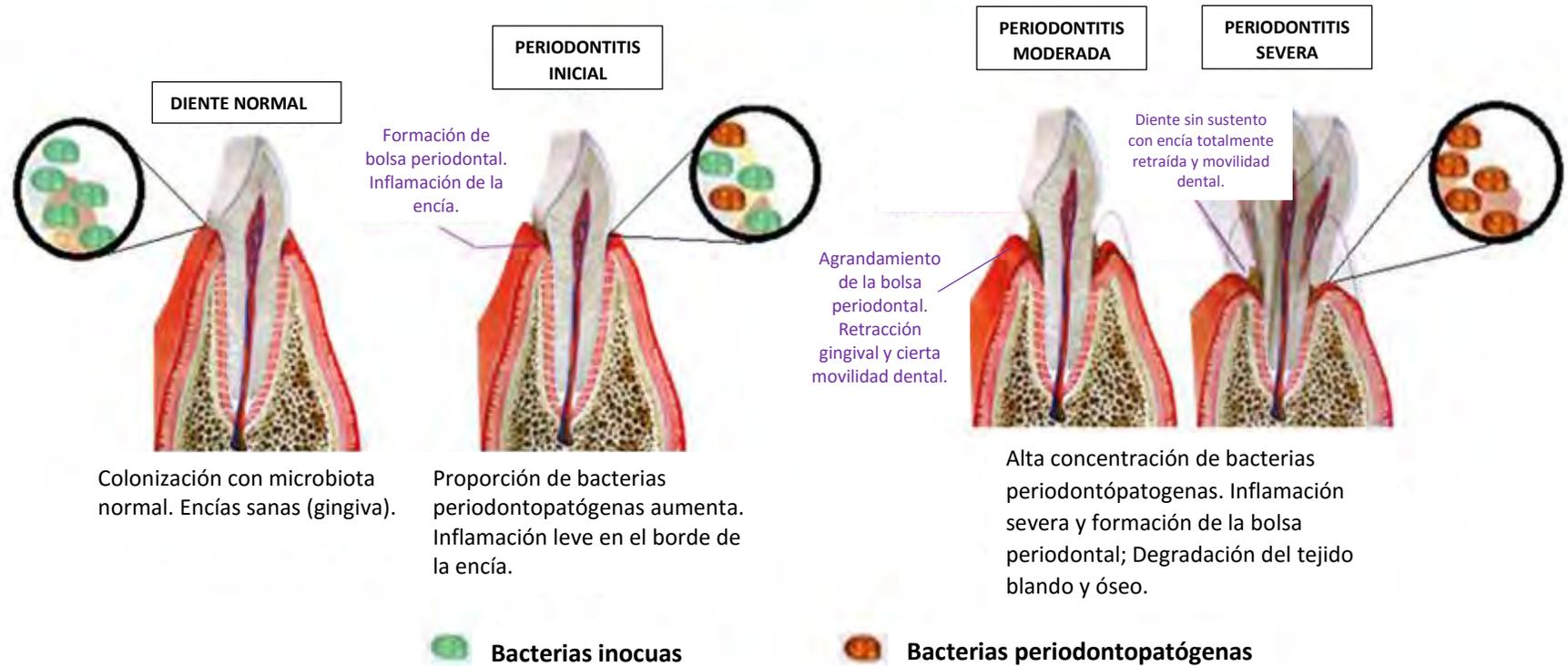


Figura 7. Proceso degenerativo de las encías durante la enfermedad periodontal, modificado de <http://www.dentaltitanium.com/img/periodontitis.pn>



Los signos clínicos visibles de la periodontitis son los cambios en la morfología de los tejidos gingivales, enrojecimiento y sangrado de encías de forma involuntaria o después de ser expuestos a un traumatismo menor como el cepillado o la masticación (gingivitis). Su presencia generalmente no causa molestia y es reversible; de no tratar la enfermedad la destrucción progresiva de los tejidos es eminente provocando el aumento de la movilidad dental, una apariencia estética pobre, pérdida de la función, halitosis, así como formación de bolsas periodontales de mayor tamaño (periodontitis) (Schwach-Abdellaouia y cols., 2000).

La progresión de la periodontitis se caracteriza por ser normalmente lenta, pero varía considerablemente entre los individuos en función de su susceptibilidad y el cuidado bucal. La destrucción de los tejidos periodontales se produce por lapsos con ráfagas rápidas de destrucción periodontal intercalados con períodos largos de inactividad, en los que persiste la inflamación, pero la enfermedad no parece progresar (Hughes, 2015).

Los microorganismos que colonizan la zona subgingival y que resultan propios de la microbiota normal representan en consideración el factor etiológico principal en el desarrollo de la afección. El Periodonto sano se asocia con una población bacteriana simple que predominantemente consiste en células cocoides no móviles y bacilos. Sin embargo, aun cuando la población bacteriana forma parte de la microbiota normal, en cuanto al desarrollo de la enfermedad refiere, la principal razón es aquella que compete al crecimiento y desarrollo desproporcionado de estos microorganismos (biofilm) (Bascones y Figuero, 2005).

Los mecanismos exactos de la destrucción de los tejidos gingivales no han sido del todo dilucidados; sin embargo, se ha encontrado que las bacterias anaerobias gram negativas más importantes y prevalentes en el área subgingival son el *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Tannerella forsythensis* (Tf); entre otras. Todas ellas como una constante en este tipo de padecimientos (tabla 2) (Leszczyńska y cols., 2011).

Tabla No. 2. Especies bacterianas asociadas a la periodontitis.

Ampliamente asociadas	Moderadamente Asociadas
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Prevotella nigrescens</i>
<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Bacteroides forsythus</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>Treponema denticola</i>	<i>Eikenella corrodens</i>
<i>Campylobacter rectus</i>	<i>Eubacterium sp</i>
<i>Capnocytophaga sp.</i>	



Según Macín (2010) cuando el delicado equilibrio presente entre la microbiota y el individuo se rompe y la salud bucal se ve comprometida, es debido al aumento en número de bacterias de la biopelícula y a la producción de factores de virulencia que superan la respuesta del individuo. La reducción de la respuesta del hospedero o una hiperactividad en la respuesta inflamatoria ante una agresión bacteriana, así como las características propias de cada especie bacteriana son factores claves en el desarrollo de la gingivitis o de la periodontitis y en el proceso de la destrucción periodontal, dentro de todo un complejo mecanismo de patogénesis multifactorial.

Aun cuando estas bacterias son esenciales para el inicio de la afección, debe ser considerado el hecho de que existen factores predisponentes asociados al hospedero y otros tantos microbianos que influyen en la patogénesis de la enfermedad, como lo es el fumar y beber, padecimientos como la diabetes, cáncer, SIDA y sus respectivos tratamientos, ciertos medicamentos, cambios hormonales en niñas y mujeres, así como una predisposición genética (Bascones y Figuero, 2005).

3. Tratamiento de la Enfermedad Periodontal

La consecuencia inmediata de no ser tratada de forma oportuna la EP es la pérdida de piezas dentales, lo que supondría un desenlace poco halagador para el paciente que presenta dicha condición; sin embargo, bajo un panorama aún más optimista el tratamiento que puede constar desde la aplicación de sencillas terapias locales o sistémicas, cirugía o incluso una combinación de estos (dependiente de la severidad), permitiría de manera satisfactoria el contrarrestar dicho padecimiento, recuperar la salud y desde luego el conservar la dentadura.

3.1 Objetivo

El objetivo de la terapia periodontal tiene por propósito la eliminación de los depósitos bacterianos de la superficie del diente, y de esta manera disminuir la presencia de la microbiota patógena a una que no entre en conflicto con la salud periodontal normal (Marcin, 2010).

Si tomamos en cuenta que la principal causa de esta condición es la presencia de microorganismos en la placa subgingival en un crecimiento desproporcionado, así como los agentes tóxicos o factores de virulencia que son capaces de liberar para producir como respuesta la inflamación del periodonto, es lógico el pensar en la implementación de una terapia a base de agentes antimicrobianos para contrarrestar dicho padecimiento, no obstante los resultados más halagadores provienen de una combinación a la hora de llevar a cabo el tratamiento, incorporando además de los medicamentos o dispositivos diseñados para contrarrestar la afección una correcta higiene bucal y la supervisión de un especialista.

3.2 Procedimientos no Quirúrgicos

En la actualidad, lo más utilizado para el tratamiento de la periodontitis severa, es la implementación de un procedimiento mecánico con el propósito de alterar la microbiota en el bolsillo periodontal, dicho procedimiento recibe el nombre de raspado y alisado radicular (figura 8). Como resultado del tratamiento, existe una disminución de la inflamación gingival, así como profundidad de sondaje clínico.

Desafortunadamente, en algunos casos, la compleja anatomía de la raíz y la severidad de la lesión pueden dificultar el tratamiento y evitar la reducción de la carga bacteriana a una que sea biológicamente aceptable para el diente, por lo que todo estará sujeto a la capacidad y habilidad del especialista encargado de llevar a cabo dicho procedimiento. Además, el control de la placa supragingival es esencial como tratamiento complementario con el fin de prevenir la recolonización de la zona subgingival por patógenos periodontales (Schwach-Abdellaouia y cols., 2000) (Marcin, 2010).

Varios estudios clínicos han indicado claramente que el raspado y alisado radicular, en combinación con una adecuada higiene oral, resultan en una alteración positiva de la placa subgingival, deteniendo la destrucción periodontal en la mayoría de los casos. También se ha demostrado que los pacientes que no logran alcanzar el control de la placa subgingival durante o después del tratamiento tienden con frecuencia a sufrir la reincidencia, de ahí la imperiosa necesidad de acompañarlo con hábitos de salud oral más frecuentes (Schwach-Abdellaouia y cols., 2000).

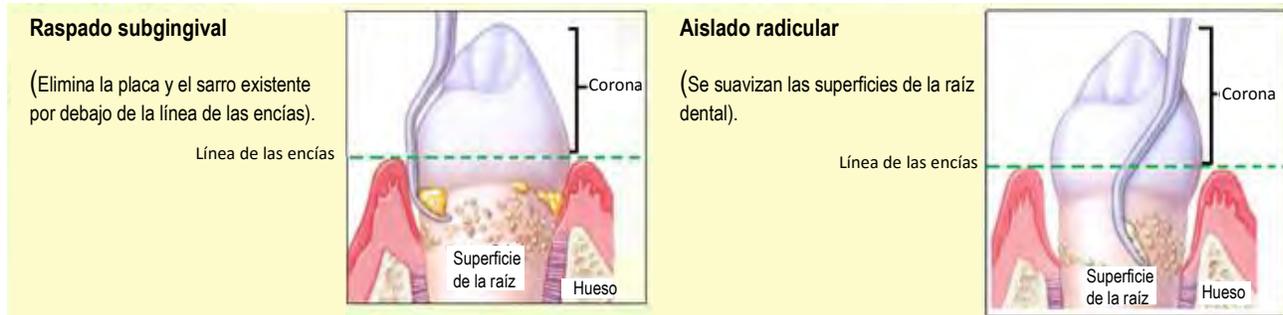


Figura 8. Tratamiento mecánico de la periodontitis, El raspado y alisado radicular no se consideran procedimientos separados; la diferencia entre ellos es solo cuestión de grado. Modificado de: <http://www.dentista-benidorm.com/Portals/0/9%20periodontitis.jpg>

3.3 Tratamiento con Antibióticos

La administración de antibióticos de aplicación sistémica podrían considerarse como una alternativa a la hora de llevar a cabo el tratamiento; sin embargo, esta ruta puede no ser ideal, debido a la preocupación generada sobre el posible desarrollo de la resistencia bacteriana como consecuencia de una terapia inducida durante



largos periodos de tiempo; además de considerar que la terapia sistémica con antibióticos también plantea el riesgo de efectos secundarios indeseables tales como náuseas, diarrea, fiebre, dolor abdominal y colitis pseudomembranosa, por mencionar algunos (Southard y Godowski. 1998) (Marcin, 2010).

3.4 Tratamiento con Medicamentos de Liberación Local

Por otro lado, el éxito de los medicamentos de liberación local depende de su capacidad para liberar el agente antimicrobiano en la profundidad de la bolsa en una concentración bactericida y bacteriostática, que garantice la permanencia del fármaco por el tiempo que es requerido (Palacio y cols., 2008).

No obstante, la respuesta a la terapia ha sido desigual y en muchos casos, aunque se logra la disminución de la población bacteriana del bolsillo periodontal, la terapia requiere de la asistencia de un profesional de la salud y un control frecuente en los tiempos de administración para obtener mejores resultados (Southard y Godowski, 1998).

3.5 Principales Antisépticos en el Tratamiento de Periodontitis

En la actualidad existen múltiples sustancias utilizadas en el tratamiento de esta enfermedad entre las cuales se encuentran: Antibióticos como la penicilina, vancomicina, kanamicina, espiramicina, etc. Enzimas como: proteasas, lipasas, nucleasas, dextranasa, mutanasa, glucosa oxidasa, amilogucosidasa. Antisépticos bisguanídicos como: clorhexidina, alexidina, octenidina. Compuestos de amonio cuaternario como: cloruro de cetilpiridino, cloruro de benzalconio. Fenoles y aceites esenciales: timol, hexilresorcinol, eucalipto, triclosan. Productos naturales como: sanguinaria. Fluoruros: sódico, monofluorofosfato sódico, fluoruro estañoso, fluoruro de amina. Sales metálicas de estaño, zinc, cobre. Agentes oxidantes: peróxido de hidrógeno, peroxiborato sódico, peroxicarbonato sódico. Detergentes: laurilsulfato sódico. Alcoholes aminados: octapinos, delmopinol. (Bascones y cols., 2002).

3.6 Presentaciones Farmacéuticas

Las presentaciones farmacéuticas que acompañan a los activos que intervienen en el tratamiento de la afección, que depende en muchas ocasiones del tipo de lesión y la selección del médico por la terapia a seguir (*Tratamiento odontológico, Tratamiento quirúrgico, Tratamiento antimicrobiano, Tratamiento sistémico de soporte*) (Rodríguez-Alonso y Rodríguez-Monje, 2009) encontramos entre los de mayor frecuencia de uso, colutorios, enjuagues bucales, pastas dentífricas, chip antisépticos, geles antibióticos, microesferas de

antibiótico, píldoras supresoras de enzimas, aceites esenciales en forma de caramelos, pastas de dientes y tabletas (Bascones y cols., 2002).

4. Clorhexidina (Chx)

Un importante objetivo de la terapia periodontal en endodoncia es eliminar las bacterias del conducto radicular para crear un entorno más favorable para la curación. Esto es logrado a través de la limpieza mecánica y el uso de agentes que ayuden a contrarrestar la infección.

La clorhexidina es un eficaz agente antimicrobiano de uso oral. Se ha utilizado en la terapia periodontal en la prevención de caries y como agente terapéutico para las infecciones orales en general; posee muchas propiedades que la hacen un candidato ideal, entre los cuales destacan su amplio espectro (bacterias, levaduras y virus). La sustantividad (actividad residual extendida) de la clorhexidina mejora este efecto bactericida, permitiendo su retención en la cavidad oral y un prolongado efecto residual antimicrobiano durante un máximo de 12 horas o más dependiendo de la dosis y una relativa ausencia de toxicidad (Mahendra y cols., 2014).

4.1 Propiedades Fisicoquímicas

Existe en el mercado una variedad de sales de clorhexidina (figura 9), entre ellas se incluyen acetato, gluconato, clorhidrato y digluconato, pero la forma digluconato es la más soluble en agua (Masquio y cols., 2013).

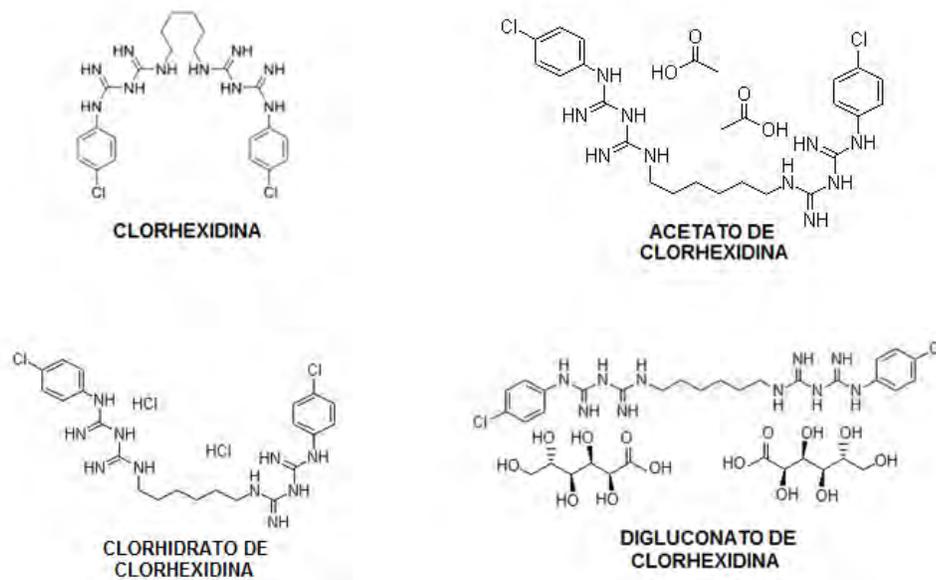


Figura 9. Estructura química de las presentaciones de clorhexidina (Chx).



4.2 Mecanismo de Acción

La clorhexidina es una biguanida que por sí sola es una base fuerte con propiedades catiónicas, así que tiene afinidad por estructuras que se encuentran cargadas negativamente. Tanto los tejidos dentarios como sus componentes (la mucosa bucal, película dental, mucina salival) se encuentran cargados negativamente, facilitando así la unión de la Chx a estas estructuras y su liberación al medio bucal en un aproximado de 6 a 8 horas posterior a su aplicación.

Las bacterias también poseen carga negativa en la pared bacteriana, de tal modo que la Chx también ejercerá una acción atractiva hacia ellas promoviendo su unión.

Su eficacia es causada por la interacción de la carga positiva de la molécula y los grupos fosfato cargados negativamente en la pared celular de las bacterias, causando la alteración del equilibrio osmótico de las células. Esto aumenta la permeabilidad de la pared celular, lo que permite que las moléculas Chx penetren en la bacteria. A una concentración baja (0.2%), las sustancias de bajo peso molecular, específicamente iones potasio y fósforo, se escapan fuera de la célula.

Por otro lado, a una concentración más alta (2%), Chx es bactericida causando la precipitación de los contenidos citoplásmicos, lo que resulta en la muerte celular; Además, la Chx se adsorbe a superficies cubiertas de proteínas ácidas, tales como ácidos nucleicos y la hidroxiapatita (mineral propio del diente) permitiendo que gradualmente sea liberada en forma de un catión activo y siga desempeñando su efecto por un periodo de tiempo prolongado (sustantividad) (Souza y cols., 2012).

En resumidas cuentas, la Chx actúa en primera instancia como un antiséptico bactericida; es decir, produce la muerte de las bacterias. Y en un segundo papel, a una concentración más baja (debido a la sustentividad, la concentración va bajando paulatinamente) es bacteriostático, pues no produce la muerte a las bacterias, pero impide su reproducción (figura 10).

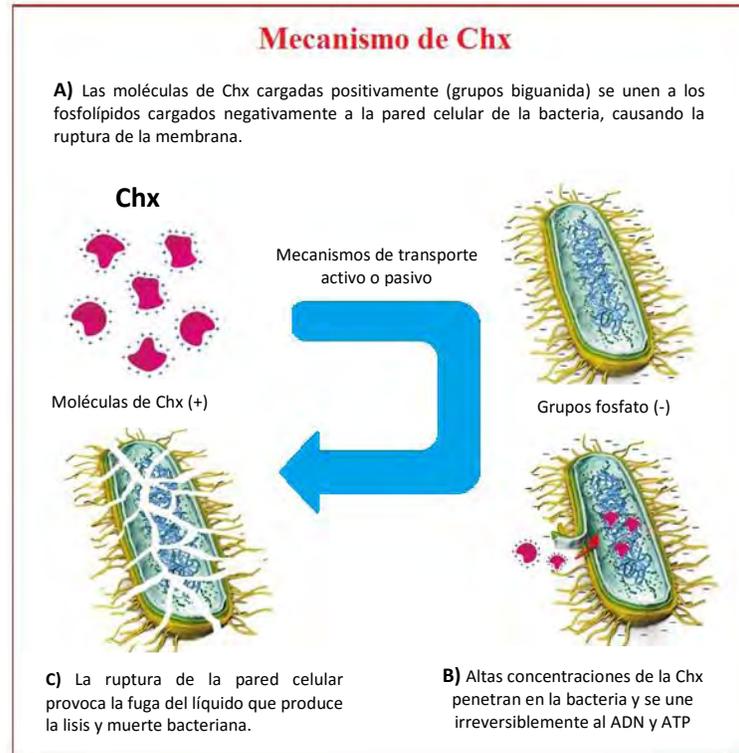


Figura 10. Mecanismo de acción de la Chx frente a bacterias Gram negativas. Modificado de: <http://www.medical-labs.net/wp-content/uploads/2014/06/Chlorhexidine-CHX-Mechanism-of-action.jpeg>

4.3 Reacciones Adversas

Los fármacos además de sus notorias acciones terapéuticas vienen acompañados también de efectos adversos y la Chx no es la excepción, entre los efectos tras un uso prolongado se mencionan la presencia de manchas en los dientes, alteraciones sobre el gusto conocida como hipoglosia (habilidad reducida para percibir los sabores) se presenta normalmente con sabores amargo y salado manteniendo intacta la percepción de los sabores dulces o ácidos, y la disgeusia (distorsión del gusto); además, de la disminución de la mucosa oral por erosión y en algunos casos hipertrofia de la glándula parótida y finalmente, tinción de dientes y mucosas, asociadas a:

- a) Degradación de la molécula de clorhexidina y liberación de p-cloroanilina;
- b) Reacción de Maillard (glicosilación de compuestos nitrogenados para formar melanoidinas);
- c) Desnaturalización de proteínas con formación de sulfuros metálicos;
- d) Precipitación de cromógenos de la dieta (terpenos presentes en bebidas como el café) (Dumitrescu, 2010).



5. Sistemas Bioadhesivos

La investigación básica Farmacéutica se ha centrado durante mucho tiempo en la búsqueda y desarrollo de nuevas moléculas que brinden una respuesta terapéutica a enfermedades cuyo tratamiento aún no se conoce, así como el de ocuparse de fármacos ya existentes que por medio de modificaciones estructurales logren hacer que sus acciones terapéuticas sean más selectivas, duraderas o con menos efectos adversos, buscando en la medida de lo posible mejorar o facilitar alguno de los procesos farmacocinéticos involucrados.

Sin embargo, aún y con todo el avance logrado en el área de la tecnología farmacéutica, existen una serie de problemas relacionados con la baja efectividad terapéutica de distintos fármacos, asociados a problemas del sistema portador tratándose de excipientes o la forma farmacéutica implementada si hablamos de su presentación final, así como también a la vía de administración seleccionada; por lo tanto, por lo que refiere al área de investigación, en paralelo a desarrollo de nuevas moléculas, ha mostrado un especial interés en lo que respecta a la solución de problemas inherentes a la liberación del fármaco teniendo como puntos claves la dosis administrada, el sitio de acción y la forma farmacéutica (Llabot y cols.,2006).

En la actualidad, alrededor del 70 % de los fármacos transportados en medicamentos que ingresan al organismo lo hacen por la vía oral, debido principalmente a la facilidad en su administración. Sin embargo, también es de conocimiento que esta vía presenta una serie de condiciones que pueden hacer que en muchos casos un número importante de medicamentos presente una terapia ineficiente y errática, por lo que no es de extrañar que se busquen otro tipo de alternativas para la administración de fármacos que brinden además de comodidad o facilidad en su aplicación, los mejores resultados. Por ejemplo, algunas variables fisiológicas normales como el metabolismo gastro-intestinal y hepático (efecto de primer paso) pueden influir de forma determinante en la absorción de un fármaco en el caso de aquellos en los que la vía seleccionada sea la oral (Llabot y cols., 2006).

Por otro lado, de tratarse de la administración de un fármaco por vía intravenosa, los requerimientos involucran la acción de personal calificado e incluso en algunos casos, la hospitalización del paciente al tratarse de condiciones más severas; mientras que por la vía intramuscular o subcutánea, la dosis administrada puede sufrir metabolización en el sitio de aplicación y el riesgo de contraer infecciones; por lo que en ambos casos se encuentran motivos suficientes para dirigir la mirada hacia sistemas novedosos, que faciliten o disminuyan en la medida de lo posible los problemas que las vías convencionales acarrearán para sí.

Ante las problemáticas de las formas de administración común y con el propósito de mejorar la biodisponibilidad de este tipo de fármacos, puede recurrirse a la estrategia de administrarlas por vías alternativas. Es por ello que



en la búsqueda de tales vías hacen acto de presencia las mucosas como blancos de interés, que entre otras cosas destacan por su practicidad y comodidad, resultando una alternativa de interés creciente para la administración de nuevos medicamentos (Llabot y cols., 2006).

Los sistemas bioadhesivos han sido empleados en el campo de la salud, especialmente para aplicaciones odontológicas y ortopédicas, como también para uso oftálmico y quirúrgico y actualmente en el estudio sobre reemplazo de tejidos y la liberación controlada y localizada de principios activos sobre mucosas (Castro, 2014).

5.1 Ventajas de Sistemas Bioadhesivos

Tanto la investigación como el desarrollo de las formas bioadhesivas poseen un atractivo asociado a lo que con ellas se pretende lograr, algunos de estos propósitos son, por ejemplo:

- ❖ La colocación y adecuabilidad del sistema medicamentoso en una región específica en el organismo, minimizando hasta cierto punto, los procesos naturales de la eliminación local.
- ❖ Aumento en el tiempo de permanencia de un medicamento sobre una región específica al disminuir la velocidad de tránsito con respecto a otras formas de dosificación, consiguiendo un aumento sustancial del tiempo de efectividad del medicamento.
- ❖ Mejoría notable en el contacto del fármaco disuelto con la mucosa de los tejidos mediante la cual se efectúa el fenómeno de absorción.
- ❖ Posibilidad de ser formulados como sistemas de liberación prolongada o controlada.
- ❖ Posibilidad de incorporar y administrar sustancias de fácil degradación como el caso de péptidos y proteínas, debido que al facilitarse el contacto íntimo entre mucoadhesivo y mucosa se minimiza la alteración de estas sustancias con respecto al entorno biológico (Rodríguez y cols., 2000).

Además estas formas mucoadhesivas poseen algunas cuantas ventajas relacionadas con el sitio de aplicación que justifican su condición como sistemas novedosos y viables para su uso en medicamentos, entre las cuales se destacan las diversas y abundantes vías de administración que incluyen las cavidades donde la presencia de *mucus* es dominante, una característica en común que facilita para tal fin los procesos de adhesión; tal es el caso de la cavidad rectal y bucal, la nariz y la vía respiratoria, el ojo, cavidad gastrointestinal y la zona vaginal, desde donde pueden obtenerse efectos terapéuticos sistémicos y/o localizados dependientes de los propósitos de una terapia específica (Roy y Prabhakar, 2010).



En lo que respecta a las características fisicoquímicas del fármaco y su compatibilidad con los demás ingredientes de la formulación, es posible presentarle en variadas formas farmacéuticas bioadhesivas adaptadas a la vía de administración más adecuada, para dar respuesta a las necesidades terapéuticas del paciente. Este ha sido el motivo por el cual se han estudiado y puesto en mercado comprimidos, formas multiparticulares (pellet, micro y nanopartículas), pomadas, geles y películas o parches mucoadhesivos, buscando satisfacer las necesidades de los consumidores y facilitarles su recuperación (Rodríguez y cols., 2000).

6. Bioadhesión

6.1 Definición

El término bioadhesión se ha utilizado para describir el fenómeno relacionado con la capacidad que tienen algunas macromoléculas tanto de origen natural como de síntesis para adherirse a tejidos biológicos, se fundamenta en los mecanismos de la adhesión convencional, con la peculiaridad que representan las características y propiedades de los tejidos (Vallejo y Perrilla, 2008).

Todo material tiene la capacidad de adherirse a un tejido biológico y con mayor facilidad sobre las mucosas debido a la naturaleza viscosa que les caracteriza, sin que en ello intervenga ligazones específicos propios del polímero y del tejido, esta cualidad no necesariamente implica un fenómeno de bioadhesión propiamente dicho, ya que para que se considere como tal deben existir ciertas interacciones químicas entre el polímero adherente y la superficie de los tejidos (Rodríguez y cols., 2000).

Teniendo en cuenta que en muchas de las vías de administración la presencia de una capa de *mucus* es una constante y que dichas cavidades se encuentran revestidas por esta capa, no demora mucho el surgimiento de la idea de adaptar el fenómeno de *adhesión* (unión durante un tiempo suficientemente prolongado de dos superficies por fuerzas interfaciales de tipo físico y/o químico) y su aplicación concreta como una forma de dosificación propiamente dicha en una zona particular del cuerpo (tejido biológico). Esta primicia describe propiamente lo que refiere al fenómeno de *bioadhesión* (una de las superficies adheridas es de naturaleza biológica) y aun de manera más específica de *mucoadhesión*, esto debido a que en una de las superficies está presente una membrana mucosa que recubre una membrana superficial (Rodríguez y cols., 2000).

Estos *mucus* son secreciones viscosas y translúcidas que se encuentran en constante renovación y que en su mayoría se encuentran compuestas por agua en un porcentaje mayor al 95 %, también por glicoproteínas (mucina) en cantidades no mayores al 5 %, por sales inorgánicas aproximadamente en 1 %, carbohidratos y lípidos en porcentajes menores al 1 % (Andrade, 2010).



6.2 Mecanismos de Bioadhesión

El fenómeno de bioadhesión en materiales poliméricos está ampliamente regido por interacciones y entrecruzamientos entre las cadenas del polímero y las glicoproteínas del tejido, que dependientes de los diferentes grupos funcionales en ambos componentes, propiciarán la formación de uniones físicas, uniones químicas primarias (enlaces iónicos o covalentes) y uniones químicas secundarias (fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno). En la adhesión convencional, las uniones químicas primarias se obtienen a partir de la reacción química entre los grupos funcionales del material adhesivo con el sustrato. Su principal aplicación es en adhesivos utilizados en ortopedia y odontología, cuando los tiempos de uso requeridos son en cierto modo prolongados (Vallejo y Perrilla, 2008).

En el caso de las uniones químicas secundarias a diferencia de las uniones químicas primarias sus enlaces son de menor energía, lo que les permite presentar características más apropiadas para la bioadhesión debido a su transitoriedad; es decir, que estas fuerzas serán las que predominantemente formen parte de los sistemas bioadhesivos cuyos tiempos de permanencia son relativamente cortos.

Para que ocurra la bioadhesión, la interacción atractiva debe ser mayor que la repulsión no específica (Tabla No. 3); es decir, que deben existir moléculas que interactúen químicamente entre sí de tal forma que generen fuerzas de intercambio atractivo; caso contrario ocurre con aquellas moléculas en las que no existe interacción química, por lo que las fuerzas interactuantes entre ellas serán del tipo repulsivo (Sudhakar y cols., 2006).

Este tipo de fuerzas contribuye significativamente y en orden prioritario sobre las propiedades bioadhesivas de los polímeros, particularmente las fuerzas de Van der Waals y la formación de puentes de hidrógeno, ampliamente relacionados con la estructura química del material adhesivo, como el caso de aquellos polímeros que presentan una buena cantidad de grupos carboxilos e hidroxilos en su estructura, dando consecuentemente lugar a mejores comportamientos bioadhesivos (Vallejo y Perrilla, 2008).

Por lo que respecta a los mecanismos físicos que intervienen en el comportamiento adhesivo de los polímeros, este se ve establecido una vez y se produce un contacto íntimo entre el polímero y la superficie irregular del tejido, concretamente en la interface, originándose una interpenetración de las moléculas poliméricas hacia la mucosa y viceversa, dando lugar a uniones de carácter semipermanente que promueven la posterior interacción química propiamente bioadhesiva (Vallejo y Perrilla 2008).



Tabla No. 3. Descripción de las interacciones involucradas en el fenómeno de mucoadhesión

Interacciones Atractivas	
Electrostáticas (iónicas)	Formadas por la atracción de iones con cargas opuestas para formar una unión de tipo fuerte (uniones primarias).
Covalentes	Interacciones que tienen lugar al compartir electrones entre los átomos. Estas interacciones también son consideradas de tipo fuertes
Puentes de hidrógeno	Un átomo de hidrógeno cargado positivamente atrae a otro átomo de carga opuesta. Este tipo de uniones son consideradas de fuerza débil (uniones secundarias).
Van-der-Walls	Formadas por uniones dipolo-dipolo y dipolo- dipolo inducido, es un tipo de interacción débil.
Hidrofóbicas	Son interacciones de tipo "indirectas" que ocurren cuando existen grupos no-polares en soluciones acuosas.
Interacciones Repulsivas	
Repulsión electrostática	Ocurren cuando existen grupos no-polares en consecuencia de la presencia de dos polielectrólitos de igual carga.
Repulsión estérica	En ausencia de interacciones atractivas, las moléculas se repelen por interacciones estéricas.

7. Teorías de Adhesión

Los mecanismos de acción bajo los cuales los sistemas bioadhesivos llevan a cabo el fenómeno de adhesión sobre una superficie biológica no son del todo claros, sin embargo ciertas teorías han surgido como posibles respuestas para dicho fenómeno:

Teoría Mecánica, Teoría de Difusión, Teoría Electrónica, Teoría de Humectación, Teoría de Fractura y Teoría de Adsorción.

7.1 Teoría Mecánica

Es considerado como el primer modelo descrito y más viejo de todos. Esta teoría plantea el fenómeno de adhesión como el resultado de un anclaje entre los poros del polímero (adhesivo) y las irregularidades superficiales del sustrato. La penetración del adhesivo en el relieve superficial del sustrato hace que la zona de contacto entre los dos materiales sea considerablemente mayor (aumento de área superficial) con respecto a la superficie aparente de contacto. Por tanto, rugosidad y porosidad son factores favorables a la adhesión (Madrid, s.f.).

7.2 Teoría de Difusión

Utilizada para describir la adhesión entre los polímeros interactuantes. Plantea dicho fenómeno como resultado de un cambio en el gradiente de concentración entre las moléculas del sustrato biológico y las cadenas del polímero, con la respectiva formación de un espacio de transición entre el adhesivo y el adherente en la superficie de contacto, nombrada como interface densa o "interface", como consecuencia de la interdifusión de las cadenas de los polímeros hasta el desarrollo de un enredamiento físico entre ambos tipos de moléculas. El

mecanismo parece ser basado en la migración de las cadenas poliméricas largas que son mutuamente solubles (Madrid, s.f.; Vallejo y Perrilla, 2008; Roy y Prabhakar, 2010).

7.3 Teoría Electrónica

Compara la relación del sistema adhesivo/sustrato a un condensador plano cuyas placas están constituidas por la doble capa eléctrica que se forma cuando dos materiales de naturaleza diferente se ponen en contacto (Madrid, s.f.). Dicha teoría establece que tanto el polímero como la superficie adherente o bien el tejido que sirve de sustrato al tratarse de una estructura biológica, presentan una diferente estructura electrónica, la cual da lugar a una doble capa con carga eléctrica localizada en la interface entre el bioadhesivo y el tejido. Las fuerzas de atracción electrostática son causadas por la transferencia de electrones, entre las glicoproteínas de la mucina del tejido y el material bioadhesivo, lo cual induce atracciones electrostáticas entre las dos superficies (Vallejo y Perrilla 2008).

7.4 Teoría de Humectación

Describe la capacidad de un polímero bioadhesivo para extenderse o distribuirse sobre una superficie biológica. Una forma de medir la energía superficial libre de un sólido consiste en observar el ángulo que forma un líquido de tensión superficial conocida en contacto con tal material. El ángulo de contacto es una característica interfacial independiente de la masa de líquido depositada o de sus propiedades reológicas (Madrid, s.f.).

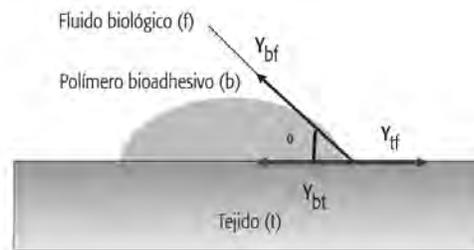


Figura 11. Representación gráfica del ángulo de contacto y humectación de la superficie. Tomado de Vallejo y cols., (2008).

Se considera que un líquido moja a un sólido cuando el ángulo de contacto es inferior a 90° . Esto sólo se produce cuando la tensión superficial del líquido es igual o inferior a la energía superficial del sustrato. En caso contrario se dice que tal líquido no moja el sólido en cuestión (figura 11) (Madrid, s.f.).



7.5 Teoría de Fractura

Relaciona la fuerza necesaria para el desprendimiento de polímeros.

7.6 Teoría de Adsorción Termodinámica

Explica el fenómeno de bioadhesión en términos del desarrollo de fuerzas superficiales que generan uniones químicas entre el polímero y el sustrato (*enlaces covalentes y enlaces iónicos*) o fuerzas débiles (*puentes de hidrógeno y del tipo Van der Waals*).

La base de la teoría de la difusión es el entrelazamiento de cadenas entre las glicoproteínas del *mucus* en la superficie biológica y el polímero mucoadhesivo. Al iniciar el contacto entre estos dos, la difusión de la cadena de polímero bioadhesivo en la red de *mucus* crea una red enmarañada entre ambos. Las fuerzas intermoleculares que se desarrollan en la interface son suficientes para garantizar una adhesión del mismo orden de magnitud, no existiendo por tanto una frontera clara entre difusión y adsorción termodinámica (Salamat-Miller y cols., 2005).

Aun cuando las diferentes teorías pretenden explicar el fenómeno de adhesión, no existe una sola teoría que sea considerada como universal o unificadora; sin embargo, cada una de ellas parece aportar un rasgo que contribuye a la explicación y comprensión de dicho fenómeno. En resumidas cuentas, el proceso de bioadhesión comprende dos grandes pasos:

- El contacto íntimo por parte del polímero en sus diferentes aplicaciones dentro de una formulación (ya sea como comprimidos, geles, films, etc.) y la mucosa (sustrato), éste contacto resulta por ende indispensable para garantizar una adecuada humectación del polímero, utilizando la humedad natural proveniente de la mucosa y dar lugar posteriormente a un segundo fenómeno entre los polímeros interactuantes conocido como “hinchamiento”, causando la relajación de las cadenas poliméricas de estos y formando una red enmarañada en la interface con las cadenas poliméricas de la mucosa (mucina) como consecuencia al fenómeno de interpenetración entre ambos (Llabot y cols., 2006).
- La formación de uniones interfaciales entre las cadenas de ambos polímeros (Sistema Bioadhesivo y la mucina) de tipo secundario como son las fuerzas electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas; obteniendo en consecuencia la adhesión del Sistema Bioadhesivo y el tejido (Llabot y cols., 2006).

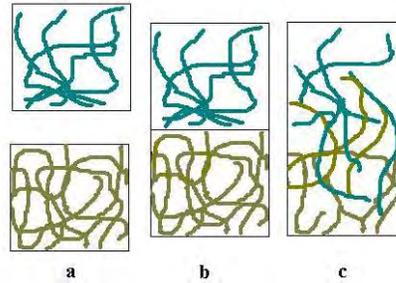


Figura 12. Representación esquemática de la interdifusión de las cadenas de polímero en el proceso de mucoadhesión a) capa de mucus y polímero antes del contacto b) capas de polímero y mucus en contacto c) las cadenas comienzan a difundir a partir de la interface después de un período de contacto. (Andrade y cols., 2010).

8. Películas Bioadhesivas

Las películas bioadhesivas como formas de dosificación han ganado importancia en la industria farmacéutica como un sistema novedoso junto con la administración bucal, convirtiéndose esta última en una de las vías de administración alternativa más estudiada debido a sus ventajosas peculiaridades (permeabilidad aceptable, altamente vascularizada y la ausencia del efecto de primer paso); además, de la comodidad y practicidad que puede llegar a caracterizar a un dispositivo de este tipo orientado particularmente a esta zona del cuerpo.

Entre las diversas rutas transmucosales, la mucosa bucal ofrece otras ventajas que la hacen todavía más atractiva, entre las cuales destacan una excelente vía de acceso, una extensión aceptable para su aplicación sobre el músculo liso y una cantidad suficiente de mucosa, además de ser relativamente inmóvil; ventajas como baja actividad enzimática, lo ideal que resultan su uso en medicamentos por su fácil administración y remoción, la versatilidad en el diseño de los sistemas de liberación de tipo multidireccional o unidireccional para acciones locales o sistémicas, la dosis, estabilidad y la precisión; resultando comparativamente mejores a otros sistema de suministro de fármacos bucales tales como geles, cremas o ungüentos (Meher y cols., 2013; Sudhakar y cols., 2006).

8.1 Clasificación

Las películas de aplicación oral se describen en su mayoría en la literatura dependiendo del tiempo de desintegración y su diseño. Sin embargo, algunos autores hacen hincapié en que no existe una clasificación oficial, lo que puede justificar las diferentes denominaciones que se pueden encontrar (Silva y cols., 2015); por ello muchas de ellas al compartir ciertas características imposibilitan en cierta medida una clasificación propiamente dicha, por lo que en muchos de las ocasiones su distinción estará dada por la zona de aplicación dentro de la cavidad oral (figura 13).

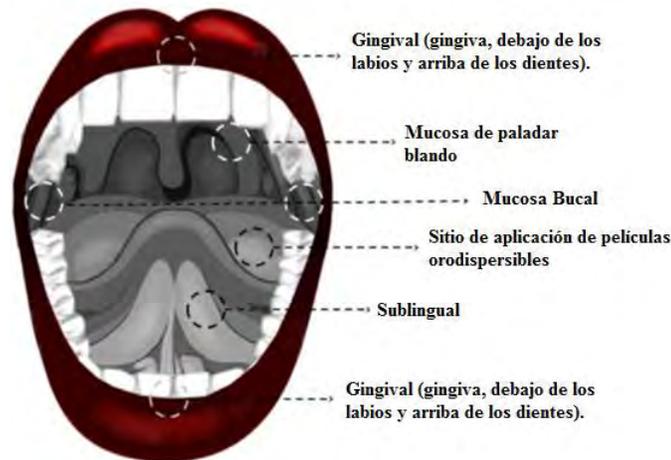


Figura 13. Clasificación de sistemas orales (películas) de acuerdo a la zona de aplicación. (Borges y cols., 2015).

En el caso de la Farmacopea Europea el apartado que describe las preparaciones mucoadhesivas, se hace referencia a las películas bucales y las define como: "hojas sueltas o de múltiples capas que se adhieren a la mucosa bucal y se pueden disolver".

La FDA por otra parte no cuenta con una definición clara o designación específica para este tipo de sistemas; sin embargo, una película bucal puede ser aceptada si la presentación es comparable a la de una marca comercial llamada Onsolis® la cual es tomada como un ejemplo referente. Por último, es importante señalar que las designaciones adicionales podrían ser utilizadas para especificar y diferenciar la tecnología de desarrollo implementada por cada empresa, así como aquellos casos en los que se toma en consideración ciertas características o propiedades como el tiempo de desintegración y adhesión (figura 14) (Borges y cols., 2015).



Figura 14. Esquema simplificado para películas según sus características y propiedades. Modificado de Preis y cols., 2015; Borges y cols., 2015

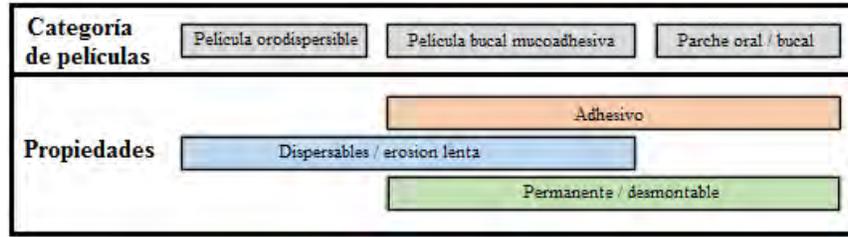


Figura 14 continuación. Esquema simplificado para películas según sus características y propiedades. Modificado de Preis y cols., 2015; Borges y cols., 2015

Un ejemplo de ello es la clasificación en función de su geometría:

Tipo I se trata de un dispositivo de una sola capa donde el fármaco se libera en forma multidireccional, es decir, en varias direcciones; no obstante, este tipo de forma farmacéutica presenta un inconveniente relacionado con la pérdida de fármaco debido a la ingestión.

Tipo II el dispositivo posee una capa de soporte impermeable colocada sobre la parte superior de la capa bioadhesiva cargada con el fármaco, previniendo la pérdida del fármaco de la superficie superior.

Tipo III es un dispositivo de descarga de una sola dirección o unidireccional, la pérdida del fármaco en este tipo de dispositivo es mínima, ya que es liberado en un sólo sentido directamente sobre la mucosa bucal (Salamat-Miller y cols., 2005).

Una película para ser considerada bajo el término de ideal debe poseer ciertas características como flexibilidad, elasticidad y suavidad, aún en condiciones extremas para resistir la rotura debido a la tensión de movimientos de la boca. También debe ser poseedora de una buena fuerza adhesiva con el fin de mantenerse en la boca durante el tiempo necesario para su acción. El hinchamiento de la película, si se produce, no debe ser demasiado extenso para evitar molestias (Castro, 2014).

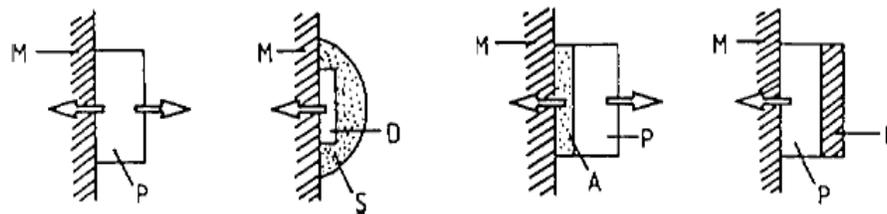


Figura 15. Liberación del fármaco en los tipos de preparaciones mucoadhesivas. M, mucosa. P, polímero. D, depósito de fármaco. S, protector adhesivo. A, capa adhesiva. B, capa impermeable de refuerzo. Tomado de Rodríguez y cols., (2000).



8.2 Formulación (Polímeros Bioadhesivos)

Todo sistema bioadhesivo debe sus propiedades a la inclusión de uno o varios tipos de moléculas poliméricas que, en condiciones apropiadas, son capaces de establecer interacciones con la superficie biológica, reteniendo así el fármaco por el tiempo que sea necesario.

La gran mayoría de los sistemas poseedores de cualidades bioadhesivas tienen como principal componente dentro de la formulación la presencia de algún tipo de polímero. En general, los polímeros adhesivos pueden ser clasificados como sintéticos o naturales, frente a insolubles en agua, solubles en agua, y cargados o no cargados. Frecuentemente las formulaciones más utilizadas son a menudo solubles en agua, de modo que al estar en una forma seca atraen para sí el agua de la superficie biológica con la que están en contacto, haciendo que esta transferencia de agua conduzca a una interacción fuerte. Estos polímeros a su vez tienen la cualidad de forman líquidos viscosos cuando se hidratan con agua que aumenta su tiempo de retención sobre las superficies mucosas, dando lugar a interacciones adhesivas (Sudhakar y cols., 2006).

Las moléculas estudiadas debido a sus características como mucoadhesivos son numerosas. Entre ellas se incluyen las clásicas formadoras de hidrocoloides, de múltiple y variado uso tecnológico, ejemplo de estas son: goma de tragacanto (alta concentración), goma guar, goma de karaya (alta concentración), alginato sódico, gelatina, quitosán; derivados de celulosa como metilcelulosa (bajo peso molecular), carboximetilcelulosa sódica (alto peso molecular), hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa y otras. Polietilenglicoles (alto peso molecular), alcohol polivinílico, carbopol, polímeros y copolímeros del ácido acrílico y metacrílico, polialquilcianoacrilatos, policarbofil, etc. (Rodríguez y cols., 2000).

La mayoría de los polímeros que se utilizan como mucoadhesivos son polímeros hidrofílicos que predominantemente se hincharán y permitirán interacciones de las moléculas de la cadena con la mucina en la mucosa bucal. Ejemplos de estos polímeros incluyen hidroxipropilcelulosa (HPC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxietilcelulosa (HEC), carboximetilcelulosa sódica (SCMC), poli vinil pirrolidona (PVP) y quitosán (Morales, y McConville, 2011).

Otros polímeros como es el caso de las familias del ácido poliacrílico (Carbopol) y derivados de celulosa han sido ampliamente utilizados como mucoadhesivos, formando parte de los llamados mucoadhesivos de primera generación. Estos polímeros requieren ser hidratados con el fin de exhibir sus propiedades mucoadhesivas; sin embargo, un grado crítico de hidratación limita el fenómeno (Morales y McConville, 2011).



Es evidente que la gran mayoría de los polímeros con propiedades adhesivas explorados en la literatura son hidrófilos. Sin embargo, se ha informado que diferentes grados de Eudragit[®] (insoluble) pueden exhibir algunas propiedades mucoadhesivas cuando se usan solos o en combinación con otros polímeros hidrofílicos (Morales y McConville, 2011).

8.3 Características Ideales

Las características deseadas, así como los factores relacionados con el polímero se han discutido brevemente en la sección anterior. Además, de las características estructurales de los polímeros; como lo son la presencia de fuertes grupos capaces de formar enlaces con el hidrógeno, fuertes cargas aniónicas o catiónicas, su alto peso molecular, la flexibilidad de la cadena, y las propiedades superficiales de energía para favorecer la difusión del polímero en la capa de *mucus*; hay otras cualidades que de igual modo deben ser consideradas.

- ❖ El polímero y sus productos de degradación no deben ser tóxicos, irritantes y estar libres de impurezas.
- ❖ Deben tener una buena capacidad de extensión, humectación, hinchazón, solubilidad y buenas propiedades de biodegradabilidad.
- ❖ pH debe ser biocompatible y debe poseer buenas propiedades viscoelásticas.
- ❖ Deben adherirse rápidamente a mucosa bucal y debe poseer suficiente resistencia mecánica.
- ❖ El polímero debe estar fácilmente disponible y su costo no debe ser alto.
- ❖ Debe mostrar buenas propiedades bioadhesivas tanto en seco como estado líquido.
- ❖ Deben demostrar la inhibición de la enzima local y propiedades de penetración.
- ❖ Deben demostrar una vida útil aceptable.
- ❖ Deben tener un peso molecular óptimo.
- ❖ No debe ayudar en el desarrollo de infecciones secundarias como la caries dental (Sudhakar y col. 2006).

9. Quitosán

La quitina forma parte de la estructura de soporte de numerosos organismos vivos, tales como artrópodos (crustáceos e insectos), moluscos y hongos. El quitosán es un polisacárido que se obtiene a partir de la quitina parcialmente desacetilada y el segundo más abundante en la naturaleza después de la celulosa.

Es un copolímero lineal formado por unidades de glucosamina y en menor medida de N-acetil D-glucosamina unidos por enlaces β 1-4, cuya denominación química, según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada

(IUPAC), es 2 amino 2 desoxi - D-glucopiranososa (D-glucosamina GlcN) y 2 acetamida- 2 desoxi- D glucopiranososa N-acetil glucosamina (Rodríguez-Pedroso y cols., 2009) (figura 16).

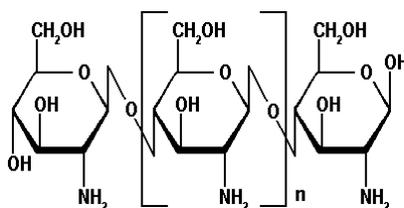


Figura 16. Estructura química del quitosán.

9.1 Propiedades Físicoquímicas

Las principales propiedades fisicoquímicas del quitosán que determinan sus propiedades funcionales son su grado de desacetilación y su peso molecular promedio (Expósito, 2010). El quitosán tiene un contenido de nitrógeno (N) mayor al 7 % y posee una distribución regular de los grupos aminos libres, que pueden ser protonados por ciertos ácidos cargándose positivamente lo que le confiere un comportamiento de policación (Rodríguez-Pedroso y cols., 2009).

El quitosán es el único polisacárido catiónico natural; lo que lo dota de propiedades especiales que lo hacen útil en numerables aplicaciones. Algunas de las propiedades funcionales del quitosán son: biodegradabilidad, biocompatibilidad, mucoadhesión, capacidad filmogénica, hemostático, promotor de absorción, actividad antimicrobiana, anticolesterolemica y antioxidante. Sumado a estas características sus propiedades gelificantes y filmogénicas, el quitosán ha llamado la atención dentro de la industria farmacéutica por su potencial uso en el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos (Expósito, 2010).

La hidrólisis del grupo N-acetilo producto de la desacetilación de la quitina, aumenta la capacidad hidrofílica del quitosán y pasa a ser soluble en soluciones ácidas diluidas (acético, fórmico, clorhídrico, entre otros) debido al valor de su pKa por el grupo amino del quitosán de 6.5, resultando por tal razón insoluble en agua, ácidos concentrados, álcalis, alcohol y acetona. Algunos ácidos inorgánicos como el nítrico, perclórico o fosfórico pueden ser utilizados en la preparación de soluciones de quitosán, mientras la solución sea mantenida bajo agitación por un largo período para que pueda haber una completa disolución del polisacárido (Rodríguez, A., 2011; Expósito, 2010).

El quitosán se comporta como un poli electrólito en medio acuoso a pH's ácidos, ya que presenta una alta densidad de carga positiva atribuida a las unidades de glucosamina, por lo que interactúa fuertemente con

estructuras aniónicas como proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos y otras moléculas con carga negativa, generando neutralidad eléctrica (Knorr, 1984).

Una propiedad importante del quitosán es su estructura rígida, caracterizada por numerosos enlaces por puentes de hidrógeno, la cual le confiere una buena estabilidad térmica. Su descomposición aparente es aproximadamente a 170 °C y se degrada antes de fundirse, lo cual es un fenómeno característico de los polisacáridos que poseen muchos enlaces por puentes de hidrógeno (Rodríguez-Pedroso y cols., 2009).

10. Métodos de obtención de películas

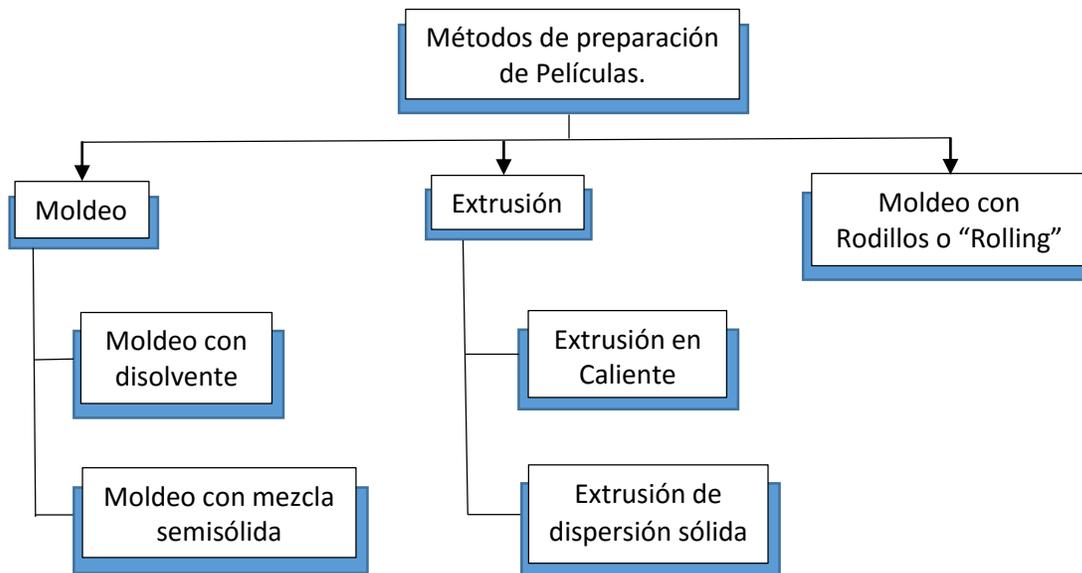


Figura 17. Principales métodos usados en la preparación de películas orodispersables, modificado de (Irfan y cols., 2015).

10.1 Fundición de Películas (Moldeo con Disolvente)

Por lo general, la fabricación de películas biodegradables se realiza mediante el método de moldeo con disolvente. El proceso consta de al menos seis pasos: fármaco y polímero(s) son disueltos en un disolvente o mezcla de disolventes; seguido por la desaireación de la solución y transferencia del apropiado volumen en un molde, el secado de la solución de moldeo, el corte de la forma de dosificación final ya sea simple o laminado con una capa de soporte o revestimiento de liberación y por último el embalaje. Durante la fabricación de



películas se da particular importancia a las propiedades reológicas de la solución o suspensión, burbujas de aire atrapadas, uniformidad de contenido y disolventes residuales (Morales y McConville., 2011).

El método de moldeo con disolvente es simple, pero le acompañan algunas desventajas, incluyendo tiempo de procesamiento y el alto costo al medio ambiente debidos a los disolventes utilizados (Salamat-Millery col., 2005).

Morales y McConville (2011), mencionan algunas ventajas asociadas a este método, sin olvidar el hecho de que es el más utilizado en la preparación de estos sistemas de liberación, esta su facilidad de proceso y el bajo costo que representa el sistema para su aplicación a nivel laboratorio. Además, este método no necesita de equipos como extrusores o la formación de productos intermedios como dispersiones sólidas. También se evitan condiciones de proceso extremas, como la temperatura en el caso de la extrusión en caliente, lo cual tiene, un alto impacto en la estabilidad del principio activo seleccionado.

10.2 Extrusión de Fusión en Caliente

Los inconvenientes presentes en el método anterior pueden ser superados por el método de extrusión por fusión en caliente. Una mezcla de ingredientes es fundida y luego forzada a pasar a través de un orificio (la matriz) para proporcionar un material más homogéneo en diferentes formas, tales como granulados, tabletas o películas. Este método se ha utilizado para la fabricación de la matriz de comprimidos de liberación controlada y gránulos, así como películas de desintegración por vía oral (Morales y McConville, 2011).

10.3 Moldeo con Mezcla Semisólida

La selección de este método se sugiere cuando las películas usan polímeros ácidos insolubles en agua como base de su formulación. La masa de gel se obtiene preparando una primera solución con los ingredientes solubles para posteriormente ser mezclada con la solución de polímeros insolubles en ácido, ambas soluciones se mezclan y se les adiciona la cantidad correcta de plastificante. La masa de gel finalmente es moldeada en cintas o laminas en rodillos bajo condiciones de temperatura controlada (Panda y cols., 2012).

10.4 Extrusión de Dispersión Sólida

Este método involucra la dispersión sólida del fármaco incorporado al polímero fundido, de tal manera que el fármaco sea cargado. El fármaco se disuelve en un solvente líquido apropiado y la solución obtenida se añade al polímero fundido, por debajo de los 70 °C sin la remoción del solvente líquido para obtener la dispersión (Bala y col. 2013).



10.5 Moldeo con Rodillos o “Rolling”

En el método de laminación, tanto en la solución de fármaco y la solución de polímeros se mezclan hasta tener una solución o suspensión la cual somete a la acción de los rodillos. La solución o suspensión debe tener en consideración una propiedad reológica específica para optimizar su paso por estos. La película finalmente se seca en los rodillos, se corta en formas y tamaños deseados (Bala y cols., 2013).

11. Evaluación

Hasta el momento se han abordado los conceptos básicos referentes tanto a los principios de la bioadhesión como las cualidades y características de los polímeros de mayor frecuencia de uso que las presentan y los métodos de fabricación más utilizados; ahora toca lugar a las pruebas de evaluación que entre tanto, permiten avalar dichas formas farmacéuticas en características referentes a seguridad como efectividad.

Las pruebas a las cuales son sometidas las laminillas resultan dependientes de los objetivos que se pretenden cumplir con su implementación, como por ejemplo la zona de aplicación o el tipo de liberación; estableciendo con ello las pruebas a realizar.

11.1 Uniformidad de Masa

La uniformidad de masa es comúnmente determinada mediante el uso una balanza digital. Karki y cols. (2016), mencionan que este parámetro puede obtenerse pesando de manera individual una laminilla y obteniendo el peso promedio. El valor medio de las laminillas se resta del peso individual de las laminillas y los valores medios se calculan. Una gran variación en el peso está asociada a la ineficiencia del método aplicado además de aumentar las posibilidades de no presentar uniformidad en otros parámetros como el caso particular del contenido químico. Esta prueba según algunos compendios oficiales establece un total de 30 unidades de dosificación.

11.2 Espesor

El espesor de las películas (dependiendo de su forma) se mide en tres posiciones diferentes seleccionados al azar utilizando un vernier; los resultados obtenidos permiten la determinación de un valor medio, por ende, la cantidad de películas sometidas a evaluación deberán ser las necesarias para un análisis estadístico confiable (por lo menos 20 a 30 unidades) (Bassi y Kaur 2015).



11.3 Resistencia al Plegado

Para la prueba de resistencia al plegado las películas son sometidas a estrés manualmente, es decir; son dobladas en el mismo lugar en varias ocasiones, las películas que consigan plegarse un mínimo de 300 veces sin romperse, se dice que pasan esta prueba (Bassi y Kaur 2015).

11.4 Uniformidad de Contenido

El contenido de principio activo en una película puede ser determinado por cualquier método de ensayo estándar específico para el activo en cuestión, como el caso de los diferentes métodos propuestos por las farmacopeas internacionales (Irfan y cols., 2015). Puede ser de tal caso su determinación mediante la disolución de la película en una solución isotónica de 100 ml de búfer de fosfatos (pH 6.6) durante 2 h con agitación ocasional. Tomando alícuotas y realizando diluciones de ser necesario con búfer de fosfatos pH 6.6. La solución resultante es filtrada a través de un papel de filtro Whatman de 0.45 mm. El contenido de fármaco puede determinarse espectrofotométricamente. El contenido debe oscilar entre 85 % y 115 % con una desviación estándar menor o igual a 6 % según la USP 27 (Kaur y Kaur, 2012).

11.5 Porcentaje de Elongación

Al ejercer presión sobre una película, la muestra se extiende generando sobre esta cierta tensión provocando un cambio en las dimensiones originales de dicha película causando su deformación. El porcentaje de alargamiento o elongación (% E) está relacionada cuantitativamente con la cantidad de plastificante utilizado asociado generalmente a una mayor elongación de la laminilla a medida que la concentración aumenta (Irfan y cols., 2015). Y es definido como el cambio entre la longitud de la película en su estado final y la longitud inicial de la misma.

$$\text{Porcentaje de elongación} = \frac{\text{incremento de tamaño}}{\text{tamaño original}} * 100$$

11.6 Resistencia a la Ruptura/ Desgarro/ Tracción/ Tensión

Es la máxima fuerza aplicada al punto que la laminilla se rompe. Se calcula con la carga aplicada en la ruptura entre el área transversal de la laminilla de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Resistencia a la ruptura} = \frac{\text{Fuerza aplicada (kp)}}{(\text{Espesor} * \text{ancho})}$$



11.7 Propiedades de Hinchamiento

El hinchamiento es una propiedad de las películas, en el cual aumenta el volumen acuoso dentro de la matriz polimérica, así como su tamaño tridimensional, permitiéndole al fármaco difundir a través de la película al medio externo (Castro, 2014).

Para su determinación, cada película es pesada de forma individual (peso inicial) y colocada sobre una malla de acero inoxidable. Esta malla junto con la muestra se sumerge en la solución de saliva simulada o un búfer de fosfatos (pH 6.6). El aumento en el peso de la película es registrado hasta que el peso es constante. El grado de hinchamiento se determina por los siguientes parámetros (Irfan y cols., 2015).

$$\text{Grado de hinchamiento} = \frac{\text{Peso final } (W_t) - \text{Peso inicial } (W_o)}{\text{Peso inicial } (W_o)}$$

También suele reportarse como porcentaje de hinchamiento (% E)

11.8 Transparencia

La Transparencia de una película puede ser determinada mediante el uso de un espectrofotómetro. Esta prueba se realiza para la evaluación del aspecto visual de la formulación. Pequeñas porciones de la película son cortadas en formas rectangulares y colocadas en el lado interno de la celda del espectrofotómetro. La Transmitancia de la película se trabaja a una longitud de onda de 600 nm (Irfan y cols., 2015). Fórmula para determinar la transparencia se da como:

$$\text{Transparencia} = (\log T_{600})/b = -\epsilon c$$

T_{600} = Transmitancia a 600 nm, b = espesor de la película (mm), c = concentración

11.9 Tiempo de Desintegración

El uso del aparato de desintegración para tabletas descrito por las diferentes farmacopeas oficiales permite evaluar el tiempo de desintegración de películas. Dicho tiempo depende significativamente de la composición de la película, (formulación) y generalmente oscila de 5 a 30 s, en el caso de laminillas orodispersables (Irfan y cols., 2015).

En algunos casos el *tiempo de residencia* (tiempo en el cual la película se erosiona completamente o se desprende) y el *tiempo de mucoadhesión*, pueden ser evaluados utilizando el mismo criterio, haciendo solo



pequeñas modificaciones relacionadas a la disposición (ubicación) de las muestras en el aparato. El tiempo necesario para la desintegración completa o desprendimiento de la película de la superficie de la mucosa es considerado como el tiempo de desintegración, residencia o mucoadhesión (Kaur y Kaur, 2012); además, pueden evaluarse *in vitro* o *ex vivo*. En cualquiera de los casos el medio de disolución puede ser una solución amortiguadora de fosfatos o fluido salival simulado pH 6.6 en un volumen de 600 ml y temperatura controlada de 37 °C.

11.10 pH

El valor del pH puede determinarse colocando sobre una caja Petri una de las laminillas, humedeciéndola con agua destilada alrededor de una hora a temperatura ambiente y finalmente obtener dicho valor tocando la película en su superficie con un electrodo medidor de pH (Irfan y cols., 2015).

11.11 Fuerza Bioadhesiva *ex vivo*

Este tipo de ensayos contribuyen de forma indirecta al estudio referente a la adhesión de los sistemas bioadhesivos sobre la mucosa bucal. Para ello, el uso de tejido bucal del cerdo es una opción viable, debido a que su morfología no queratinizada, resulta ser muy similar al epitelio bucal de un ser humano (Castro, 2014).

Para esta prueba, el tejido oral es colocado en el fondo del vaso que forma parte del analizador de textura y los sistemas bioadhesivos se colocan sobre la mucosa oral porcina. Una vez colocada es humedecida con solución búfer de fosfatos pH 6.6 para posteriormente fijar la membrana entre dos discos circulares que están en apoyo de la base inferior. El disco circular superior posee una cavidad de 12.7 mm de diámetro a través de la cual la membrana mucosa será expuesta a la sonda. El vaso es llenado con la solución búfer a 37 °C \pm 1 durante 30 min. La masa (g) que se requieren para separar los parches de la superficie de la mucosa se toma como la fuerza mucoadhesiva (Avachat, y cols., 2013).

11.12 Estudios de Liberación *in vitro*

Los estudios de liberación *in vitro* pueden ser realizados empleando el método II propuesto por la USP, utilizando 900 ml de búfer de fosfato (pH 6.6) como medio de disolución a 50 rpm, manteniendo una temperatura de 37 \pm 0.5 °C durante 8 h, retirando una serie de alícuotas a diferentes intervalos de tiempo y reemplazándolos con la adición de búfer (pH 6.6) a la misma temperatura (Kaur y Kaur, 2012). En este proyecto se utilizó como medio FSS pH 6.8, tal como se indica en la metodología.



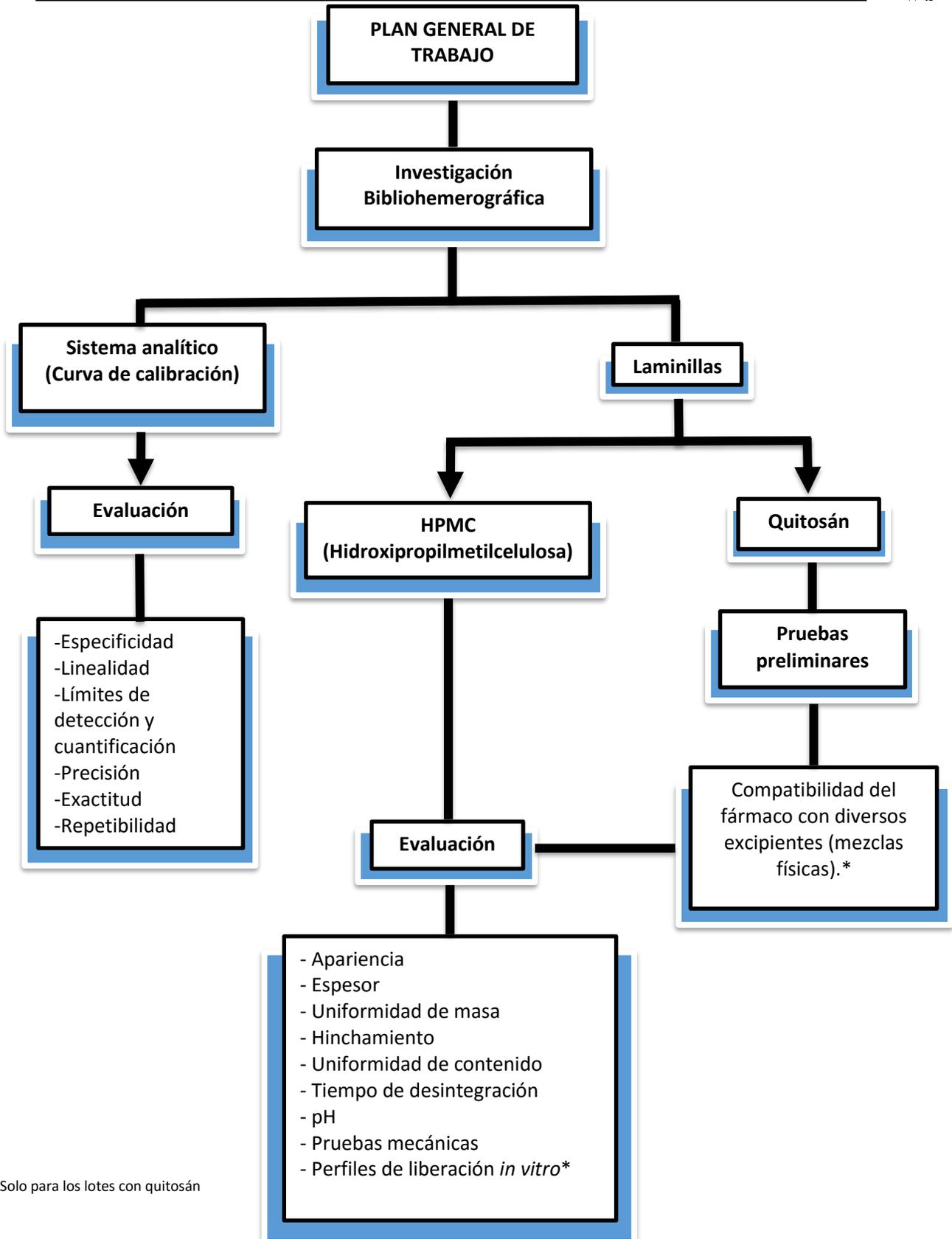
VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

1. Principio Activo, Materias Primas y Reactivos

- Gluconato de clorhexidina, solución acuosa al 20 % p/v (GluChx) (Sigma Aldrich).
- Pharmacoat® 615 (Shin-Etsu Chemical Co, Japón.)
- Quitosán, poly (*D*-glucosamine)* desacetylated chitin, (Sigma Aldrich).
- Cloruro de sodio USP grado reactivo, (Droguería Cosmopolita, México).
- Cloruro de potasio USP grado reactivo, (Droguería Cosmopolita, México).
- Fosfato de Potasio Monobásico ACS, P.M. 136.09 grado reactivo, (Productos Químicos Monterrey, México).
- Fosfato de Potasio Dibásico ACS, P.M. 174.18 grado reactivo, (Productos Químicos Monterrey, México).
- Tiocianato de Potasio ACS, P.M. 97.1 grado reactivo, (Productos Químicos Monterrey, México).
- Bicarbonato de Sodio USP grado reactivo, (Droguería Cosmopolita, México).
- Ácido cítrico USP grado reactivo, (Droguería Cosmopolita, México).
- Glicerina USP grado reactivo, (Droguería Cosmopolita, México).
- Ácido acético USP grado reactivo (Farmacia Paris, México).

2. Equipos

- Ultrasonido UP200Ht, Hielscher®.
- Espectrofotómetro Genesys® 10S UV-VIS, (USA).
- Multímetro HI2221-02, HANNA® Instruments, (Rumania).
- Balanza analítica VE-204, VELAB® (México).
- Desintegrador BJ-2, Vanguard Pharmaceutical Machinery Inc.
- Agitador magnético multiplazas IKA-WERKE® RO 15, (USA).
- Estufa de secado Quimis® (Brasil).
- Agitador de hélice IKA® (USA).
- Micropipetas.
- Material de vidrio.
- Vernier.



*Solo para los lotes con quitosán



3. Metodología

3.1 Preparación de Fluido Salival Simulado

Considerando que las laminillas cargadas con GluChx tienen como propósito la liberación del fármaco dentro de la cavidad oral, fue necesaria la preparación de fluido salival simulado (FSS) con el fin de representar parte de las condiciones fisiológicas del entorno y ser utilizado como medio en la preparación de los sistemas para la construcción de la curva de calibración, parámetros y pruebas de evaluación al producto final. Su elaboración se hizo conforme a las cantidades descritas en la Tabla No. 4.

Tabla No. 4. Formulación para la preparación de Fluido Salival Simulado (FSS). (Duffó y Quezada, 2004)

INGREDIENTES	g/L
Cloruro de sodio	0.600
Cloruro de potasio	0.720
Fosfato monobásico de potasio	0.680
Fosfato dibásico de potasio	0.856
Tiocianato de potasio	0.060
Bicarbonato de sodio	1.500
Ácido cítrico	0.100

En un vaso de precipitados con agua desionizada fueron adicionados uno a uno los reactivos de la tabla No. 4 y sometidos a agitación magnética a temperatura ambiente hasta total disolución. El pH esperado oscila entre 6.5 - 6.9; para corroborar dicho parámetro se utilizó un potenciómetro.

3.2 Pruebas de Compatibilidad entre los Componentes de la Formulación

Para evaluar si existían o no incompatibilidades entre los ingredientes involucrados en la preparación de las laminillas de quitosán, se prepararon mezclas binarias de GluChx con glicerol, GluChx con quitosán, y quitosán con glicerol. La mezcla de GluChx con glicerol se mostró como una solución transparente, mientras que las dos restantes se mostraron como mezclas físicas ya que el quitosán no se solubilizaba ni en el glicerol ni en la solución de GluChx.

Posteriormente, se adicionó un pequeño volumen de Ac. Acético al 2 % v / v a cada una de las mezclas binarias. Con la presencia del Ac. Acético se logró solubilizar el quitosán; como resultado final se obtuvieron tres soluciones: una transparente (Glicerina / GluChx / Ac. Acético) y dos translúcidas (quitosán / GluChx / Ac. Acético; quitosán / glicerina / Ac. Acético).



La ausencia de turbidez en los sistemas es un indicativo de la compatibilidad entre los diferentes componentes en la formulación y que el GluChx; por tanto, se encontrara disuelto en la mezcla final durante la etapa de moldeo y al momento del corte.

Estas pruebas se realizaron únicamente a la formulación con quitosán, debido a que existía ya un antecedente descrito para la formulación con HPMC. Almonaci (2016), en nuestro laboratorio (Sistemas Farmacéuticos de Liberación Modificada, Lab-13, UIM) previo a la preparación de laminillas con GluChx y HPMC realizó pruebas para la posible incompatibilidad entre los ingredientes implicados, encontrando como resultado que la mezcla de los componentes se encontraba libre de estas.

3.3 Curva de Calibración

Para la curva de calibración se preparó una solución stock a partir del reactivo analítico (GluChx al 20 % p/v), tomando una alícuota de 100 µl, depositándola en un matraz volumétrico de 25 ml y llevando la solución a su volumen final de aforo con FSS (Sol. A).

De la Sol. A se tomó una alícuota de 10 ml y se depositó en un matraz volumétrico de 100 ml y se llevó hasta la marca de aforo con FSS, obteniendo una solución con una concentración de 80 µg/ml. De esta solución se tomaron una serie de alícuotas según se describe en la Tabla No. 5, las cuales fueron leídas espectrofotométricamente a 263 nm. El ensayo se realizó por triplicado.

Tabla No. 5. Curva de Calibración de GluChx en FSS.

SISTEMA	I	II	III	IV	V	VI	VII
Sol. B (80 µg/ml) ml	1	2	3	4	5	6	7
FSS Vol. Final de Aforo (ml)	10	10	10	10	10	10	10
Conc. Teórica (µg/ml)	8	16	24	32	40	48	56

Tanto los parámetros evaluados como sus criterios de aceptación fueron seguidos según lo descrito en la Guía de Validación de Métodos Analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México A.C., (2002). Por lo que se determinó para tal fin, la linealidad del sistema, precisión de sistema, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC), exactitud y repetibilidad.

3.3.1 Linealidad del Sistema

La linealidad del sistema se definió mediante la preparación de una serie de sistemas por triplicado con siete concentraciones diferentes (8, 16, 24, 32, 40, 48 y 56 µg/ml) las culés fueron leídas a 263 nm en un espectrofotómetro UV-Vis.



3.3.2 Precisión del Sistema

La precisión del sistema se obtuvo con la preparación de un conjunto de concentraciones por sextuplicado que representarían el 100 % de la concentración real; es decir, la concentración intermedia de la curva con 32 µg/ml, y leídas espectrofotométricamente a 263 nm.

3.3.3 Repetibilidad

La capacidad de un operador para repetir de manera uniforme la misma medición en una muestra, utilizando el mismo sistema de medición y bajo las mismas condiciones, se denomina repetibilidad. Para la determinación de este parámetro se construyeron tres curvas de calibración utilizando las mismas concentraciones que las previstas en el parámetro de linealidad, considerando como única variable de cambio el tiempo. La prueba fue realizada en tres diferentes días, por el mismo analista y bajo las mismas condiciones.

3.3.4 Exactitud

Se compararon una serie de concentraciones (8, 32, 56 µg / ml) preparadas en tres días diferentes. Se analizaron según las especificaciones: porcentaje de recobro $\geq 98 \%$ y $CV_{\text{recobro}} \leq 2 \%$

4. Formulación y Preparación de Laminillas

4.1 Laminillas/ Películas Dispersables de HPMC

La preparación de las laminillas se realizó con la técnica de moldeo con disolvente para un volumen total de 70 ml; tanto la formulación como las cantidades utilizadas aparecen descritas en la Tabla No. 6. Esta formulación fue desarrollada previamente en un trabajo de tesis de la Licenciatura en Farmacia dentro del laboratorio de investigación en el que se culminó este proyecto de tesis.

Tabla No. 6. Formulación de Laminillas Dispersables

INGREDIENTES	CONCENTRACIÓN (% p/v)
Gluconato de clorhexidina	1
HPMC (Pharmacoat® 615)	3
Glicerol	5
Propilenglicol	5
Agua desionizada	c.b.p.

En un vaso se precipitados de 100 ml se vertieron aproximadamente 50 ml de agua desionizada calentados a 80 °C. Se adicionaron los plastificantes (glicerol y propilenglicol) y el filmógeno (HPMC) agitando manualmente

hasta su total disolución, manteniendo durante este tiempo la temperatura. La mezcla se mantuvo en agitación a 600 rpm durante una hora, suspendiendo durante el mezclado el calentamiento.

Transcurrido el tiempo de agitación, la mezcla resultante se dejó en reposo por 24 horas a una temperatura de 5 °C para favorecer la hidratación del polímero, y de forma consecuente eliminar las burbujas que se formaron durante la mezcla de los ingredientes.

Cumplido el tiempo de reposo se adicionó el GluChx (principio activo) y se sometió a una segunda agitación a 300 rpm durante 10 min. Las burbujas resultantes fueron eliminadas en un baño de ultrasonido de 5 - 7 min a 25 °C. El lote se llevó a un volumen final de 70 ml.

La mezcla se vertió en un molde de vidrio de 10.5 cm de ancho por 16.5 cm de largo (figura 18) y secada en una estufa bajo condiciones de temperatura controlada y tiempo (42 °C por 20 h).

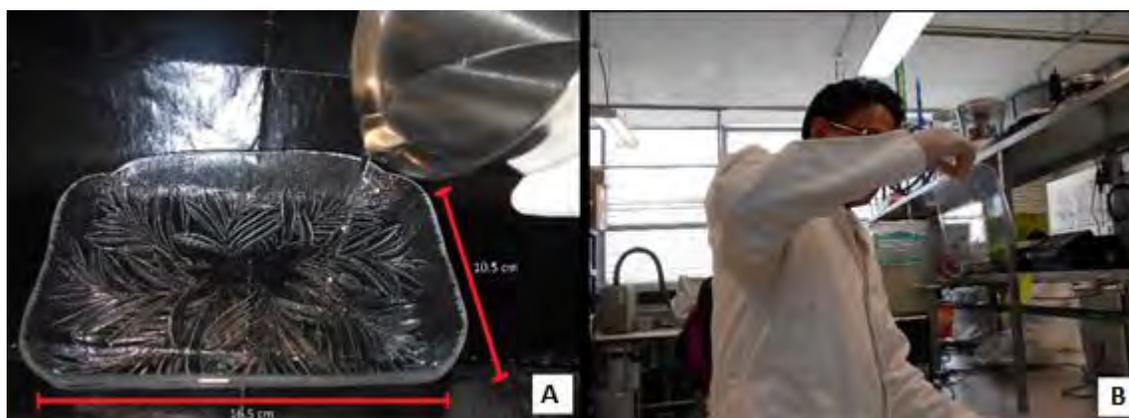


Figura 18. Vaciado del gel sobre el molde momentos antes de ser introducido a la estufa para su secado (A); obtención del film después de las 20 horas de secado en la estufa (B).

La película obtenida fue cortada en laminillas con medidas de 5 cm X 1 cm, y almacenadas en un desecador a 25 °C durante 48 h para posterior análisis (figura 19).

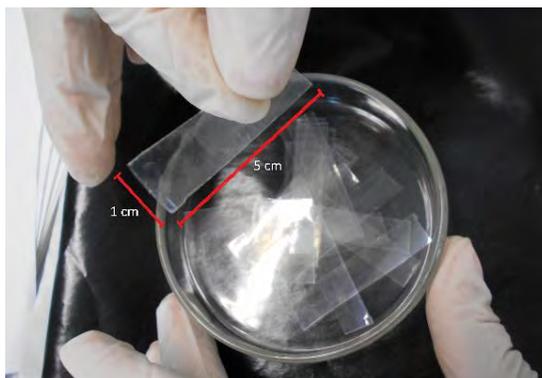


Figura 19. Tamaño y forma final de las laminillas.



4.2 Laminillas/ Películas Bioadhesivas (Quitosán)

Las laminillas de HPMC se prepararon con la misma técnica para un volumen de 70 ml, sólo se hicieron pequeñas modificaciones en el proceso. La formulación completa aparece descrita en la Tabla No. 7

Tabla No. 7. Formulación de laminillas bioadhesivas.

INGREDIENTES	CONCENTRACIÓN (% v/v)
Gluconato de clorhexidina (GluChx)	3.00
Quitosán en HAc 2 %	3.83
Glicerol	1.15
Ácido acético (HAc) 2%	c.b.p

Se preparó una solución de ácido acético (HAc) al 2 % v/v y se calentó a una temperatura de 60 °C preparando con ella una segunda solución al 4 % p/v del agente filmógeno (quitosán).

Todos los ingredientes fueron contenidos en un vaso de acero inoxidable y sometidos a mezclado para su homogenización durante 1 h a 800 rpm con un agitador mecánico de propela.

Con la finalidad de promover la hidratación del gel y la eliminación de burbujas, la mezcla se dejó en reposo durante 24 h a una temperatura de 5 °C.

Se adicionó el GluChx a la mezcla y se agito a 600 rpm por 10 min. Las burbujas existentes se eliminaron en un baño de ultrasonido por 2 h a 25 °C.

La mezcla finalmente se vertió en un molde de vidrio de las mismas dimensiones que el utilizado en la formulación con HPMC y secado en estufa a 42 °C por 20 h.

Por último, la película obtenida fue cortada en laminillas con medidas de 5 cm X 1 cm, y almacenadas en un desecador a 25 °C durante 48 h para posterior análisis.

4.3 Pruebas de Caracterización

4.3.1 Apariencia

El análisis de apariencia se determinó mediante la inspección visual de las laminillas de cada formulación, el principal propósito fue la búsqueda de cualquier anomalía como la presencia de burbujas, agregados sólidos o sedimentos, además de posibles cambios en su coloración o textura.



4.3.2 Control de Espesor

Para cada una de las formulaciones se tomaron un total de 30 laminillas a las cuales se les realizó la medición de su grosor en la parte central con el uso de un vernier; a los valores resultantes se les determinó promedio, desviación estándar y el coeficiente de variación. Se evaluaron los tres lotes de cada formulación (diez laminillas por lote) realizando la medición en tres días diferentes y consecutivos, dos lotes por día (uno de HPMC y el otro de quitosán).

4.3.3 Uniformidad de Masa

De cada formulación se pesaron de manera individual 30 laminillas en una balanza analítica. La medición se realizó a 10 laminillas por lote los cuales se evaluaron en días distintos (dos por día, uno de HPMC y el otro de quitosán). A los resultados se les determinó peso promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y uniformidad de masa.

4.3.4 Pruebas Mecánicas

4.3.4.1 Resistencia al Plegado

Para esta prueba se tomaron diez laminillas de cada lote realizando la medición en un día diferente (se evaluaron dos lotes por día, uno por cada formulación). Las laminillas se sometieron de forma manual a una condición de stress, dicha condición consistía en realizar una serie de dobleces de forma repetida en una misma zona un total de 300 veces. Se considera la prueba como aceptable si las laminillas superan el número de dobleces sin mostrar fractura.

4.3.4.2 Porcentaje de Elongación (% E) y Resistencia a la Ruptura (Tensión)

La resistencia a la ruptura es definida como una tensión que se mide en unidades de fuerza por unidad de área. Su medición se realiza con un analizador de textura, por medio de un ensayo de tracción sobre una laminilla y registrando la tensión en función de la deformación (elongación o alargamiento); y determinando el punto más elevado de la curva tensión-deformación (tensión de rotura).

4.3.5 Uniformidad de Contenido

Se colocó una laminilla en el interior de un vaso de precipitados con 20 ml de FSS y puesta en agitación magnética hasta completa disolución. En el caso de las elaboradas con quitosán el tiempo de agitación fue de 24 h.

La muestra en solución fue transferida a un matraz volumétrico de 25 ml para su aforo con el medio. De esta solución se tomaron 2 ml y se transfirieron a un matraz volumétrico de 10 ml llevando hasta volumen de aforo con FSS. La solución final fue leída espectrofotométricamente a 263 nm.

La evaluación se realizó a diez muestras por cada lote. Cada lote (uno por cada formulación) fue evaluado en un día distinto y consecutivo. Se determinó el valor promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y uniformidad de contenido

4.3.6 pH

El pH de las laminillas con HPMC se determinó con un potenciómetro; se colocó una laminilla en un vaso de precipitados con 20 ml de FSS y se puso en agitación magnética hasta completa disolución.

Para aquellas con quitosán; se colocó una laminilla en el interior de una caja Petri y se humedeció con FSS durante 10 minutos. El pH se registró de forma superficial utilizando tiras reactivas. El procedimiento se realizó a 12 laminillas; es decir, 6 por cada formulación, evaluando dos lotes por día.

4.3.7 Tiempo de Desintegración

La medición del tiempo de desintegración se realizó tomando como base la prueba convencional para evaluar la desintegración de tabletas, según la USP. Se utilizó este equipo pero las películas no se colocaron dentro de los tubos de la canastilla del desintegrador; sino que se adaptó la canastilla de forma tal que la laminilla quedara sujeta entre los dos extremos de la misma; es decir, se eliminaron los tubos (Figura 20 A), evitando con ello que las laminillas flotaran una vez inmersas en el medio. Sobre la canastilla modificada se colocaron seis laminillas perfectamente aseguradas y ésta a su vez, acoplada al desintegrador de tabletas con 900 ml de FSS a una temperatura de 37 ± 0.5 °C (figura 20).

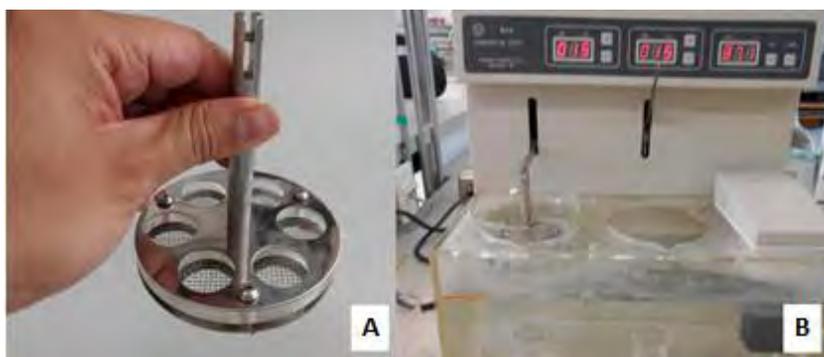


Figura 20. Adaptación de la canastilla de desintegración (A); prueba de desintegración en ejecución (B).



Se determinó el tiempo requerido para que las laminillas se desintegraran totalmente. Se calculó el tiempo promedio, desviación estándar y coeficiente de variación para cada lote. Esta prueba se realizó únicamente a los lotes de la formulación con HPMC; cada lote en un día distinto.

4.3.8 Porcentaje de Hinchamiento (% H)

Una de las laminillas es cortada en fracciones con un valor de área de 1 cm². Cada fracción es previamente pesada y colocada en una caja Petri con 10 ml de FSS; se registró el incremento en el peso de la muestra hasta que éste se vuelve constante. El aumento en sus dimensiones se apreció con el uso de una hoja de papel milimétrico bajo la base de la caja Petri y una laminilla de 5 cm². El porcentaje de hinchamiento se calculó según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de hinchamiento} = \frac{\text{Peso final } (W_t) - \text{Peso inicial } (W_o)}{\text{Peso inicial } (W_o)} * 100$$

La prueba se realizó a diez laminillas de cada lote. Como todas las pruebas hasta ahora; dos lotes por día, uno por cada formulación.

4.3.9 Perfiles de Liberación *in vitro* de GluChx en Laminillas a base de Quitosán.

Una laminilla es cortada de tal forma que su área sea de 1 cm² y colocada en el interior de un frasco con tapa de baquelita, que contiene a su vez 25 ml de FSS pH 6.8 y puesta en agitación magnética a una temperatura de 37 ± 0.5 °C.

De la muestra en agitación son tomadas una serie de alícuotas de 3 ml a diferentes tiempos (0, 1, 2, 3, 4, 5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480 min) y leídas espectrofotométricamente a 263 nm. Con cada toma de muestra el volumen retirado es remplazado por medio fresco (FSS) a la misma temperatura. Esta prueba se realizó únicamente a las laminillas de la formulación con quitosán. La prueba se realizó por triplicado.



VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Curva de calibración para GluChx en FSS

Se preparó una curva de calibración con GluChx en FSS pH 6.8. El método utilizado fue espectrofotométrico, debido a las numerosas ventajas que ofrece (rapidez, accesibilidad y la facilidad de preparación de muestras), además de que la técnica UV-Vis tiene una alta sensibilidad para la detección de compuestos.

En una serie de matraces volumétricos de 10 ml, se prepararon varios sistemas a partir de la solución estándar de GluChx (80 μg / ml) de tal forma que cada una de las soluciones presentará una concentración teórica de 8, 16, 24, 32, 40, 48, y 56 μg / ml y midiendo su absorbancia a 263 nm. La calibración incluyó la selección de un modelo para estimar los parámetros que permitan determinar la linealidad de la curva. Y, en consecuencia, la capacidad de la curva para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del GluChx en una muestra, dentro del intervalo de trabajo (Dosal y Villanueva, 2008).

A partir de la curva de calibración (conjunto de concentraciones que describen el intervalo en el cual se deberá cuantificar el compuesto por analizar) y a fin de asegurar que la recta encontrada con los puntos experimentales se ajuste correctamente al modelo matemático de la ecuación, se calcularon los valores de la ordenada al origen, la pendiente y el coeficiente de determinación (r^2).

Es importante señalar que los métodos analíticos son establecidos por instituciones nacionales o internacionales que proporcionan procedimientos y características del método y que concluyen con indicadores de calidad (denominados características del desempeño analítico) que suelen incluir: exactitud, precisión, especificidad además de los parámetros que se determinan a partir de las curvas de calibración (Dosal y Villanueva, 2008), en este caso dichos criterios se siguieron según el método descrito por la Guía de Validación de Métodos Analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México A.C., (2002).

Los resultados se muestran en la Tabla No. 8.

Tabla No. 8. . Resultados de la evaluación realizada a la Curva de Calibración de GluChx.

PARÁMETRO	EVALUACIÓN DEL PARÁMETRO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO	CONCLUSIÓN
Especificidad	Determinar si existen sustancias interferentes con la respuesta del analito	La respuesta se debe únicamente al analito	La absorbancia a 263 nm se debe únicamente al GluChx	cumple
Linealidad	Preparar por lo menos cinco niveles de concentración de la solución de referencia. La concentración central debe ser igual al 100 % de la muestra analítica.	$r^2 \geq 0.98$ $CV \leq 1.5 \%$ IC($\beta 1$) no debe incluir el cero	$r^2 = 0.9997$ CV = 1.16 % IC($\beta 1$) = 0.0335 - 0.0328	cumple
Límites de detección y cuantificación	Preparar 3 concentraciones del analito a valores menores o que incluya la especificación para la muestra.	$r^2 \geq 0.98$ IC($\beta 1$) no debe incluir el cero	$r^2 = 0.9997$ IC($\beta 1$) = 0.0300 - 0.0306 LD = 0.5869 ppm LC = 1.7784 ppm	cumple
Precisión	Por lo menos un sextuplicado de soluciones a la concentración del analito correspondiente al 100 % de la muestra para su medición	CV $\leq 1.5 \%$	CV = 0.78 %	cumple
Repetibilidad	Tres niveles de concentración por triplicado en tres días diferentes	$r^2 \geq 0.98$ CV _{y/x} $\leq 2 \%$	Día 1 $r^2 = 0.9997$ CV _{y/x} = 1.1619 %	cumple
			Día 2 $r^2 = 0.9999$ CV _{y/x} = 0.8146 %	
			Día 3 $r^2 = 0.9998$ CV _{y/x} = 0.8916 %	
Exactitud	Tres niveles de concentración por triplicado en tres días diferentes	Porcentaje de recobro $\geq 98 \%$ CV porcentaje de recobro $\leq 2 \%$	Recobro = 98.69 % CV = 1.45 %	cumple

Los parámetros completos y la curva de calibración se muestran en el ANEXO A.

2. Caracterización de las Películas

Los polímeros empleados en la preparación de las laminillas, fueron seleccionados en gran medida con base en sus características referidas por un número considerable de autores y artículos científicos. La HPMC fue elegida en función de su capacidad para controlar la liberación de fármacos; concretamente para la liberación de principios activos desde sistemas de matriz hidrófila (hinchables), así como su accesibilidad en cuanto a bajo costo y versatilidad de uso.

Este polímero será el encargado de proporcionar cuerpo a la laminilla y dotar a las películas de cualidades bioadhesivas; además de que suele ser uno de los más empleados en la elaboración de películas de aplicación farmacéutica, en recubrimientos de tabletas y cápsulas de gelatina dura.



Incluyendo su amplio uso en otras formas medicamentosas, debido a los atributos y características que posee como aglutinante de granulados (Curtis y cols., 2012), agente estabilizador (viscosante) de suspensiones y emulsiones (Ansel y cols., 2006), y evitando la coalescencia y la formación de sedimentos al actuar como protector de coloides (Rowe y cols., 2003).

La HPMC es un polímero poseedor de cualidades semielásticas así como bioadhesivas e inertes, es generalmente reconocida como segura; además de estar incluida por la FDA como un ingrediente inofensivo. Su naturaleza biocompatible y biodegradable junto con las propiedades bioadhesivas y retardadoras de la velocidad de liberación la convierten en un excipiente interesante para la elaboración de una película con estas características.

El quitosán deriva su éxito sobre algunos otros polímeros como constituyente en la elaboración de películas bucales, debido a que posee excelentes cualidades bioadhesivas y de permeación; además de contar con características como inocuidad, biodegradabilidad y biocompatibilidad, nula toxicidad y actividad microbiana; sumado a su amplio uso dentro de la industria farmacéutica, alimenticia y el sector agrícola (Kumar y cols., 2011; Aranaz y cols., 2016; Elgadir y cols., 2015).

La presencia de la glicerina y de propilenglicol (este último sólo en laminillas de HPMC) dentro de las formulaciones hacen la función de plastificantes, favoreciendo algunas cualidades en las películas como la flexibilidad y la resistencia, además de contribuciones adicionales al ser poseedores de atributos como cosolventes, baja volatilidad, higroscopia y al ayudar evitando la cristalinidad (Sakhare y cols., 2012).

Por ejemplo, el quitosán es un polímero que por sí solo es frágil, por lo que la adición de un plastificante reducirá las fuerzas intermoleculares entre las cadenas poliméricas, como los puentes de hidrógeno y las fuerzas iónicas; de esta manera se mejoraran de forma considerable las propiedades mecánicas de las laminillas (Suyatma y cols., 2005). El uso de glicerina como plastificante es sustentado además en antecedentes descritos por algunos autores (Kerch y Korkhov, 2011 y Rossi y cols., 2003) que vinculan su incorporación, en películas biodegradables como mucoadhesivas, obteniendo resultados satisfactorios en varias de sus propiedades mecánicas.

Para considerar una película como ideal, esta debe poseer una serie de características o atributos como una adecuada flexibilidad, suavidad, elasticidad y buenas propiedades fisicoquímicas asociadas a su estabilidad. La caracterización de este tipo de formas de dosificación es un requisito previo que puede incluir la evaluación de propiedades tales como apariencia, fuerza mecánica, hidratación, liberación *in vitro* y morfología superficial

(Jaipal y cols., 2015). A lo largo de este apartado se hace un análisis de algunos de estos aspectos según los objetivos descritos en el proyecto de tesis.

2.1 Repetibilidad

La preparación de laminillas tanto de quitosán como de HPMC se realizó en tres ocasiones, cada una de ellas en diferentes días bajo las mismas condiciones y por el mismo analista, de tal forma que se prepararon 3 lotes de cada tipo de película. Debido a que el número de unidades resultantes por lote era de tan solo 32, cada uno de los lotes fue sometido a todas la pruebas señaladas con anterioridad; por tanto, se evaluaron los lotes de cada formulación en días consecutivos. Cada día se evaluaron dos lotes, uno de HPMC y otro de quitosán.

2.2 Apariencia

Las películas obtenidas presentaron una aparente homogeneidad en ambas formulaciones; aquellos cuyo agente filmógeno comprendió la adición de HPMC, mostraron una apariencia translúcida y lisa (sin burbujas o precipitados) lo que de momento supondría una buena distribución, mezclado e incorporación de los ingredientes en la formulación (figura 21). Las películas de HPMC también manifestaron una buena flexibilidad y una consistencia ligeramente oleosa al tacto, posiblemente por la presencia de la glicerina.



Figura 21. Apariencia final de las laminillas de quitosán como de HPMC.

La aparente transparencia de las películas es característica de los polímeros utilizados. Sin embargo, transcurridos 31 días presentaron un ligero cambio en su coloración adoptando un tono ligeramente rosado, el cual es causado posiblemente por la presencia de *p*-cloroanilina, producto de la hidrólisis de la clorhexidina incorporada.



Esta molécula resulta inocua en concentraciones bajas tras su formación a temperatura ambiente, pero importante a altas temperaturas o pH's extremos tanto ácidos como básicos debido a su toxicidad por el aumento en su concentración bajo estas condiciones. Los efectos tóxicos de la *p*-cloroanilina se suele presentar a concentraciones de 0.1 a 1.0 mg/ml, y los efectos inmunotóxicos a concentraciones de 0.01 a 0.001 mg/ml (Onetto y cols., 2015).

Las autoridades sanitarias europeas establecieron como valor máximo permitido de cloroanilina en preparados de Chx destinados a uso humano en 500 ppm, resultando que en la mayoría de las soluciones disponibles en el mercado presentan dicho compuesto en torno a 5 ppm, por lo que conservan un amplio margen de seguridad (Ruppert y Schlagenhauf, 2005).

Según mencionan Hernández y Martínez (2004), si una solución de GluChx se encuentra expuesta a temperaturas superiores a los 25 °C, podría producirse una reacción que promoviera la liberación de *p*-cloroanilina. Además de ello, se sabe que este compuesto es sensible a la radiación solar, por lo que la *p*-cloroanilina podría liberarse a partir de una solución de Chx si se encuentra expuesta además de a una temperatura mayor a los 25 °C, a la luz del sol.

Un estudio realizado por Kohlbecker (1989), donde se evaluó la presencia de la molécula en cinco productos diferentes (enjuagues bucales), encontró que en los frascos que se encontraban a 5 °C y almacenados en un lugar oscuro había presencia de *p*-cloroanilina de 1.7 a 8.5 mmol por cada mol de GluChx al 0.2 %; mientras que en frascos ámbar observó una menor presencia del compuesto acompañado adicionalmente de *p*-clorofenil-isocianato y *p*-clorofenil-carbodiimida.

En frascos ámbar a temperaturas de 20 - 25 °C y expuestas a la luz, se presentó un aumento considerable de los compuestos, y los frascos que se encontraban en las mismas condiciones pero a 35 °C, presentaban niveles incluso aún más altos de *p*-cloroanilina.

Por otro lado, las laminillas elaboradas con quitosán mostraron una coloración marrón similar al ámbar; sin embargo, es de considerar que este color es variable y bien puede ser dependiente de factores relacionados con el polímero como lo es el peso molecular, grado de desacetilación y tipo de quitosán, pues algunos autores como Valenzuela y Arias (2012), describen películas de quitosán como transparentes e incoloras.



Las películas de quitosán además de presentar color resultaron ser notablemente más delgadas y rígidas pero bastante flexibles y resistentes, de apariencia poco rugosa sobre la cara externa donde el gel se encontraba expuesta al entorno y sobre la cual no tenía contacto con el molde durante la etapa de secado.

La rugosidad presente bien puede ser un indicativo de la repulsión de cargas entre el quitosán y el GluChx debido a los grupos amino (-NH₂) presentes en sus estructuras al dotar a ambas moléculas de una carga positiva.

Estas a su vez se mostraron libres de burbujas, fisuras o precipitados incluyendo la variación en su tonalidad después de 31 días. En su mayoría el quitosán es capaz de formar películas opacas a diferencia de la HPMC que forma películas translúcidas, esta es la razón principal por la cual de estar presente la *p*-cloroanilina, su apreciación se dificulta debido al tenue cambio que ocasiona su baja concentración.

2.3 Control del Espesor

El espesor de una película puede ser determinado con el uso de un calibrador digital vernier y luego de varias mediciones reportar su valor promedio y desviación estándar. Generalmente, su evaluación se hace en tres zonas diferentes de la laminilla (aunque no es una regla fija), ambos extremos y la parte media. La variación de peso como de espesor son cruciales ya que ambos son directamente proporcionales a la dosis exacta de fármaco incorporado (Karki y cols., 2016).

Para esta prueba un total de 60 muestras fueron evaluadas, 30 de ellas correspondientes a los tres lotes de la formulación con HPMC y 30 a las laminillas de quitosán; la medición se realizó en la parte media a cada una de las láminas.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla No. 9.

Tabla No. 9. Resultados obtenidos para la prueba de Espesor para cada Formulación y sus respectivos lotes.

ESPESOR (mm)							
	HPMC				QUITOSÁN		
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3		LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3
1	0.45	0.32	0.38	1	0.16	0.16	0.15
2	0.32	0.36	0.42	2	0.16	0.15	0.14
3	0.39	0.4	0.48	3	0.15	0.14	0.14
4	0.37	0.36	0.36	4	0.14	0.17	0.16
5	0.33	0.35	0.39	5	0.17	0.15	0.16
6	0.35	0.34	0.49	6	0.16	0.15	0.15
7	0.49	0.38	0.39	7	0.17	0.16	0.17
8	0.35	0.43	0.42	8	0.15	0.16	0.16
9	0.31	0.39	0.3	9	0.16	0.17	0.17
10	0.34	0.33	0.32	10	0.15	0.15	0.15
\bar{X}	0.37	0.36	0.39	\bar{X}	0.15	0.15	0.15
DESVEST	0.0583	0.034	0.0611	DESVEST	0.0094	0.0096	0.0108
CV	15.75%	9.30%	15.48%	CV	6.04%	6.19%	6.96%

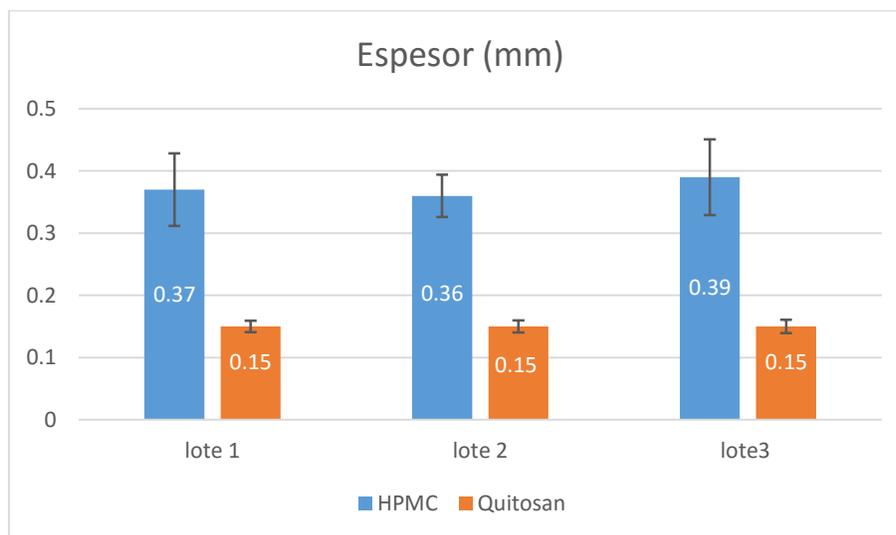


Gráfico 2. Espesores promedio para cada formulación y lote.

Los resultados tanto de la Tabla No. 9 y el Gráfico 2, muestran que las películas cuyo componente principal es la HPMC presentan un espesor mayor que las laminillas con quitosán, y que es justificado a su vez por el valor de la media global resultante 0.377 mm (Tabla No. 10); mientras que la media global de la formulación con quitosán resultó aproximadamente 2.4 veces menor, con un valor de 0.156 mm para las laminillas con este biopolímero (Tabla No. 11).

Aun cuando los coeficientes de variación son altos, las laminillas pertenecientes a los lotes de una misma formulación se muestran con cierta uniformidad; sin embargo, para asegurar que el señalamiento es correcto, se realizó un análisis de varianza sobre los resultados obtenidos que se describe más adelante.



Tabla No. 10. Medias por Mínimos Cuadrados para Espesor con Intervalos de Confianza del 95.0% (HPMC)

NIVEL	CASOS	MEDIA	ERROR EST.	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
MEDIA GLOBAL	30	0.3770			
LOTE					
1	10	0.3700	0.0166	0.3358	0.4041
2	10	0.3660	0.0166	0.3318	0.4001
3	10	0.3950	0.0166	0.3608	0.4291

Tabla No. 11. Medias por Mínimos Cuadrados para Espesor con Intervalos de Confianza del 95.0% (Quitosán)

NIVEL	CASOS	MEDIA	ERROR EST.	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
MEDIA GLOBAL	30	0.1560			
LOTE					
1	10	0.1570	0.0031	0.1505	0.1634
2	10	0.1560	0.0031	0.1495	0.1624
3	10	0.1550	0.0031	0.1485	0.1614

Algunos autores como Kouchak y cols. (2015), en su proyecto titulado *Evaluation of the Mechanical Properties and Drug Permeability of Chitosan/Eudragit® RL Composite Film*. Elaboraron una serie de películas en cuyos componentes se encontraban quitosán y Eudragit®; este último a diferentes concentraciones (0.0 %, 0.5 %, 1 % y 1.5 %), entre las evaluaciones realizadas a sus dimensiones, encontraron que en la formulación que contenía únicamente quitosán mostraba valores promedio de espesor de $94 \pm 11.40 \mu\text{m}$.

Bof y cols. (2015), prepararon varias películas de quitosán de distinto peso molecular (bajo, mediano y alto) y almidón de maíz, evaluando la influencia del mismo sobre la estructura de la película y algunas de sus propiedades. Entre los resultados de espesor obtuvieron los siguientes valores: $77.72 \mu\text{m} \pm 6.67$ para las películas de bajo peso molecular; $86.22 \mu\text{m} \pm 2.34$ para las de mediano peso molecular y finalmente $88.38 \mu\text{m} \pm 7.86$ para las de alto peso molecular. Lo observado les permitió concluir que el peso de este biopolímero tiene cierta importancia cuando se asocia a las dimensiones de la laminilla, estableciendo incluso una relación proporcional entre su peso molecular y ciertas cualidades de carácter estructural, entre ellas su espesor.

Kundu y cols. (2008), realizaron un estudio donde se pretendía evaluar la fabricación de películas mucoadhesivas mediante la mezcla de Fibroína (Fib) con HPMC y Polietilenglicol 400 (PEG 400), observando que una de las formulaciones (HPMC 8.5: Fib 0.0: PEG 1.5 p/p) presentó un valor promedio de $76.13 \pm 1.94 \mu\text{m}$ de espesor; mientras que Akhtar y cols. (2013), obtuvieron valores de $48.2 \pm 3.5 \mu\text{m}$ para un grupo control con HPMC y $49.0 \pm 4.1 \mu\text{m}$, $49.5 \pm 5.5 \mu\text{m}$ en películas con 1 % y 4 % de glicerina adicional respectivamente.



Trastullo y cols. (2016), quienes caracterizaron películas de aplicación bucal para la liberación sostenida de odansetrón a partir de la mezcla de varios polímeros; entre ellos quitosán y HPMC. Reportaron que las laminillas en las que se utilizaba la HPMC mostraban valores de espesor promedio de $107 \mu\text{m} \pm 6$, mientras que aquellas elaboradas con quitosán, $63 \mu\text{m} \pm 1$; notablemente más delgadas para la formulación que hacía uso de este último biopolímero.

Liu y cols. (2013), en películas de quitosán con variaciones en la cantidad de glicerol utilizado, encontraron entre sus resultados un valor de $80 \mu\text{m}$ en aquellas películas donde únicamente estaba presente el quitosán; y con glicerol en diferentes concentraciones (2.5 %, 5.0 % y 10 %) espesores de $73 \mu\text{m} \pm 0.004$, $157 \mu\text{m} \pm 0.017$ y $191 \mu\text{m} \pm 0.024$; notando una relación proporcional asociada al incremento entre las dimensiones las películas y la cantidad de glicerol adicionada.

Autores como Bonilla y cols. (2013), señalan que además de la concentración y proporción entre los diferentes polímeros, el espesor de las películas muy probablemente se ve influenciado por las diferencias en el empaquetamiento de los polímeros durante la etapa de secado, además de las capacidades de los polímeros de retener agua.

Al considerar el hecho de que las dimensiones de una laminilla están asociadas a su composición como a las condiciones de proceso, no es de extrañar que la uniformidad en torno a un valor estándar para este parámetro no exista, siendo en muchos de los casos factores como la comodidad o la zona de aplicación criterios que son tomados como referentes en compensación a este contratiempo; de tal caso que este parámetro en particular suele reportarse en intervalos amplios.

Ejemplo de ello es lo mencionado por Nair y cols. (2013), quienes establecen un rango de aceptación para las dimensiones de las películas orales con valores de entre $50 - 1000 \mu\text{m}$, considerando estas medidas como ideales en relación a la comodidad del sujeto que las utiliza. Por otro lado Bala y cols. (2015), señalan intervalos variables para diferentes tipos de películas según sus propiedades y características: películas de desintegración rápida inferior a 1 min de $5 - 200 \mu\text{m}$; películas mucoadhesivas con desintegración a los pocos minutos y formación de gel, de $50 - 500 \mu\text{m}$ y finalmente, películas mucoadhesivas de liberación sostenida y tiempo de desintegración de entre 8 - 10 h, de $50 - 250 \mu\text{m}$.

En todos los casos, tanto en los reportados en este proyecto como el de otros autores en trabajos previos, se aprecia la diferencia entre las dimensiones de las laminillas según los componentes utilizados; coincidiendo particularmente en el hecho de que existe un mayor espesor en las películas de HPMC que en las de quitosán.



Sin embargo; partiendo de la relación existente entre las dimensiones y la dosis del principio activo incorporado, la varianza tiene especial valía; debido a que con ella se establecen los criterios que denotan si las diferencias entre las medias muestrales revelan las verdaderas diferencias entre los valores medios de cada una de las poblaciones, o si las diferencias entre los valores medios de la muestra son más indicativas de una variabilidad de muestreo; es por ello que a los resultados anteriores se les aplicó un análisis estadístico con el propósito de identificar si había diferencias significativas entre los distintos lotes de una misma formulación, así como entre formulaciones.

Parte del análisis comprendió la evaluación individual de cada formulación mediante una prueba de ANOVA, el objetivo era identificar si entre lotes existía alguna diferencia referente al parámetro evaluado. Cabe resaltar que de cada formulación se prepararon tres lotes, cada uno de ellos en días distintos, así que no solo la evaluación comprende lotes diferentes, sino también diversos días de preparación. Los resultados se muestran en la Tabla No. 12.

Tabla No. 12. Análisis de Varianza para Espesor - Suma de Cuadrados Tipo III (HPMC)

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
EFEKTOS PRINCIPALES					
LOTE	0.0049	2	0.0024	0.8900	0.4212
RESIDUOS	0.0746	27	2.76E-3		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0796	29			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

La tabla No. 12 muestra los resultados del análisis de varianza realizado a los datos de la formulación con HPMC. El valor-P prueba la significancia estadística del factor (Lote); puesto que el valor-P resultante (0.4212) es mayor que 0.05, el factor no tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el espesor de las laminillas con un 95.0 % de nivel de confianza.

Por lo tanto para las laminillas de HPMC, se establece; que los lotes como el día de preparación, no representan un factor de cambio importante o que afecte directamente los resultados, asegurando así la uniformidad de las laminillas en este parámetro.

Esto se muestra en el gráfico de medias de Fisher (Gráfico 3).

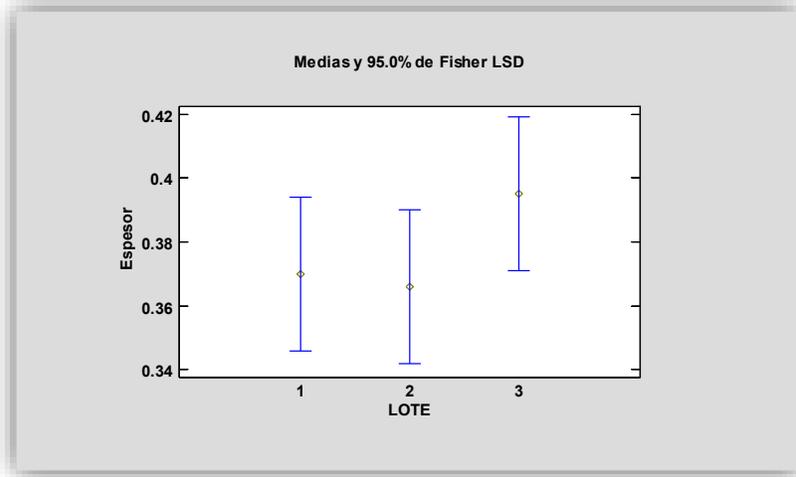


Gráfico 3. Gráfico de Medias de Fisher para los lotes de HPMC.

El método LSD (diferencia mínima significativa, por sus siglas en inglés) de Fisher se utiliza en el ANOVA para crear intervalos de confianza para todas las diferencias en parejas entre las medias de los niveles de los factores, controlando al mismo tiempo la tasa de error individual en un nivel especificado. El método LSD de Fisher utiliza la tasa de error individual y varias comparaciones para calcular el nivel de confianza simultáneo para todos los intervalos de confianza. Este nivel de confianza simultáneo es la probabilidad de que todos los intervalos de confianza contengan la diferencia verdadera. En términos simples, se dice que no hay diferencias significativas entre las diferentes medias de espesor asociadas a cada uno de los lotes, si dentro de los intervalos las mediciones se empalman o sobreponen.

Del mismo modo, se realizó un análisis de varianza a los resultados de las laminillas de la formulación con quitosán. Los resultados del ANOVA se muestran en la tabla 13.

Tabla No. 13. Análisis de Varianza para Espesor - Suma de Cuadrados Tipo III (quitosán)

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
LOTE	2E-5	2	1E-5	0.1000	0.9052
RESIDUOS	0.0027	27	0.0001		
TOTAL (CORREGIDO)	2.72E-3	29			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

Como el caso anterior, el Valor-P (0.9052) al resultar mayor a 0.05, se asegura que el factor no tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el espesor con un 95.0 % de nivel de confianza. Por lo que el señalamiento es similar al descrito en formulación con HPMC y se comprueba con ello la uniformidad de las laminillas en los

tres lotes (Gráfico 4).

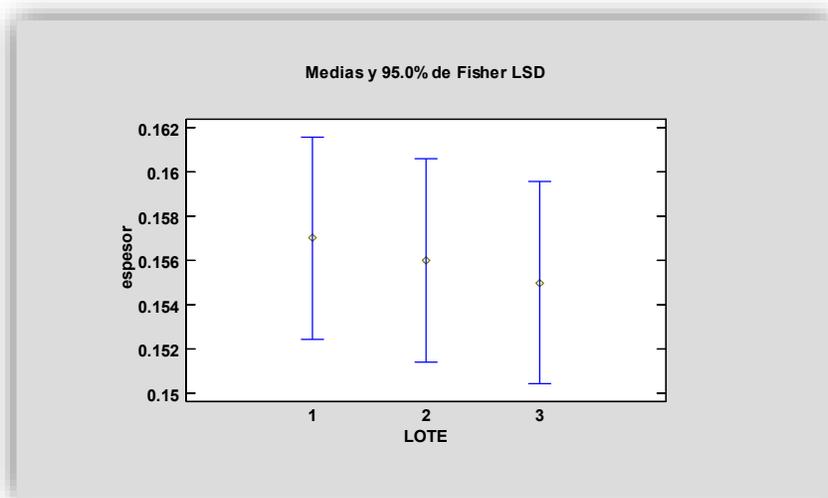


Gráfico 4. Gráfico de medias de Fisher para los lotes de quitosán.

Mediante un análisis ANOVA multifactorial se evaluó además de la diferencia entre lotes de una misma formulación, las posibles diferencias entre formulaciones. Los resultados obtenidos se reportan en la Tabla No. 14.

A simple vista se aprecian diferencias en el grosor de las películas; sin embargo, la ejecución de un análisis de varianza contribuye con datos claros a la confirmación de esta observación; al resultar el valor-P menor que 0.05, se comprueba que este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el espesor con un 95.0 % de nivel de confianza. De tal modo que la diferencia entre las formulaciones con respecto al parámetro es estadísticamente significativa.

Tabla No. 14. Análisis de Varianza para Espesor - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
LOTE	0.7375	5	0.1475	102.93	0.0000
RESIDUOS	0.0773	54	0.0014		
TOTAL (CORREGIDO)	0.8149	59			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

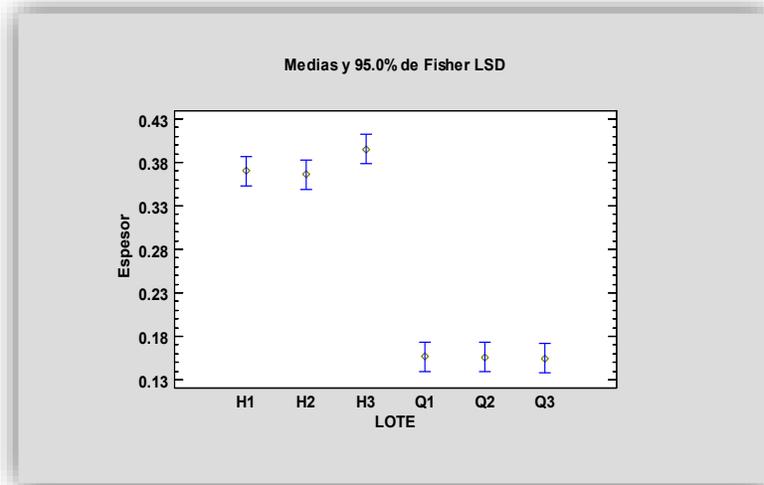


Gráfico 5. Comparación de los diferentes lotes para cada formulación según Fisher. Quitosán (Q); HPMC (H).

El gráfico de medias de Fisher (Gráfico 5) permite apreciar lo descrito con anterioridad de forma sencilla, al observar que ninguno de los lotes asociados a formulaciones diferentes no comparten rangos de espesor similares, por lo que la diferencia entre formulaciones es evidente.

Realizando un análisis recopilatorio de las posibles causas descritas y su relación con el valor de espesor tanto en los reportados por otros autores como los obtenidos en este proyecto, en su mayoría gira en torno a la cantidad en peso, de ingredientes utilizada (plastificantes) así como algunas propiedades de los filmógenos y su acomodo con los plastificantes. Es de considerar que en relación a este criterio, la formulación con HPMC además de la cantidad de glicerol presente también contaba con la presencia de polietilenglicol y que la cantidad de glicerol utilizado en las películas de quitosán era notoriamente menor que el adicionado en las películas de HPMC.

Es importante señalar que las dimensiones de las películas también guardan una relación con el molde utilizado y la cantidad de volumen dispuesto para el moldeo, por lo que no es de extrañar la variabilidad de espesor reportado por los diferentes autores y los obtenidos experimentalmente.

Considerando los planteamientos anteriores, así como los resultados y el análisis estadístico realizado, lo importante en última instancia es asegurar que el espesor en todos los casos sea uniforme y que de presentarse una diferencia entre laminillas ésta no sea estadísticamente significativa, de tal grado que al ser despreciables puedan considerarse uniformes y repetibles y en consecuencia en pruebas posteriores se pueda suponer un resultado uniforme y de bajo impacto; ejemplo de ello, la uniformidad de contenido.



2.4 Uniformidad de Masa

La determinación relacionada a la variación de peso generalmente se hace con el propósito de asegurar que cada película contiene la cantidad consistente de fármaco sin presentar una desviación significativa (Karki y cols., 2016).

De acuerdo a la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 9ª edición (2009), para los procedimientos generales que competen la evaluación de *uniformidad de masa* como de *uniformidad de contenido*, deben seleccionarse no menos de treinta unidades de dosificación; sin embargo, para este proyecto debido a limitaciones asociadas directamente a la cantidad de laminillas obtenidas por lote (32 laminillas), se decidió por fines prácticos utilizar para cada una de estas solo diez unidades. La evaluación se realizó a los tres lotes de cada formulación, obteniendo así 30 unidades medibles.

La medición se hizo en dos períodos de tiempo; el primero de ellos una vez cortadas las laminillas (t_0) y el segundo, tras pasar 48 horas en un desecador (t_{48}). Para el análisis de uniformidad de masa y contenido se utilizó el término de desviación estándar relativa (RSD) debido a que este mismo es usado por los compendios oficiales como FEUM y USP, además de ser el equivalente al coeficiente de variación (CV).

Los resultados obtenidos se muestran en las tablas 15, 16 y 17; y en los gráficos 6 y 7.

Tabla No. 15. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Masa. **Lote 1**

LOTE 1	HPMC		Qitosán	
	Masa (g)	Masa (g)	Masa (g)	Masa (g)
Laminilla	T ₀	T ₄₈	T ₀	T ₄₈
1	0.2147	0.22	0.1193	0.1205
2	0.2104	0.2012	0.1170	0.1117
3	0.2062	0.2029	0.1160	0.1121
4	0.2222	0.2026	0.1170	0.1070
5	0.2077	0.2317	0.1070	0.1119
6	0.2019	0.2022	0.1108	0.1108
7	0.2132	0.2080	0.1153	0.1142
8	0.2123	0.2130	0.1096	0.1105
9	0.2010	0.2123	0.1190	0.1122
10	0.2206	0.2010	0.1207	0.1142
X̄	0.2110	0.2091	0.1151	0.1125
SD	7.11E-03	0.0106	4.55E-03	3.46E-03
RSD	3.36%	5.07%	3.95%	3.08%

Tabla No. 16. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Masa. **Lote 2**

LOTE 2	HPMC		Qitosán	
	Masa (g)	Masa (g)	Masa (g)	Masa (g)
Laminilla	T ₀	T ₄₈	T ₀	T ₄₈
1	0.2168	0.2015	0.1186	0.1208
2	0.2134	0.2135	0.1176	0.1132
3	0.2245	0.2098	0.1164	0.1098
4	0.2096	0.2073	0.1198	0.1024
5	0.2158	0.2201	0.1073	0.1136
6	0.2064	0.2065	0.1235	0.1106
7	0.2134	0.2135	0.1134	0.1124
8	0.2243	0.2084	0.1127	0.1102
9	0.2107	0.2135	0.1204	0.1174
10	0.2119	0.2034	0.1192	0.1074
X̄	0.2146	0.2097	0.1168	0.1117
S	0.0059	0.0055	0.0046	0.0050
RSD	2.75 %	2.64 %	3.98 %	4.55 %

Tabla No. 17. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Masa. **Lote 3**

LOTE 3	HPMC		Qitosán	
	Masa (g)	Masa (g)	Masa (g)	Masa (g)
LAMINILLA	T ₀	T ₄₈	T ₀	T ₄₈
1	0.2015	0.2086	0.1243	0.1162
2	0.2164	0.2105	0.1136	0.1173
3	0.2189	0.2045	0.1158	0.1134
4	0.2037	0.2136	0.1205	0.1207
5	0.2165	0.2117	0.1137	0.1121
6	0.2136	0.2046	0.1182	0.1232
7	0.2172	0.2167	0.1112	0.1124
8	0.2214	0.2162	0.1202	0.1102
9	0.2105	0.2098	0.1178	0.1174
10	0.2178	0.2046	0.1164	0.1094
X̄	0.2137	0.2100	0.1171	0.1152
S	0.0065	0.0045	0.0038	0.0045
RSD	3.07%	2.18%	3.31%	3.91%

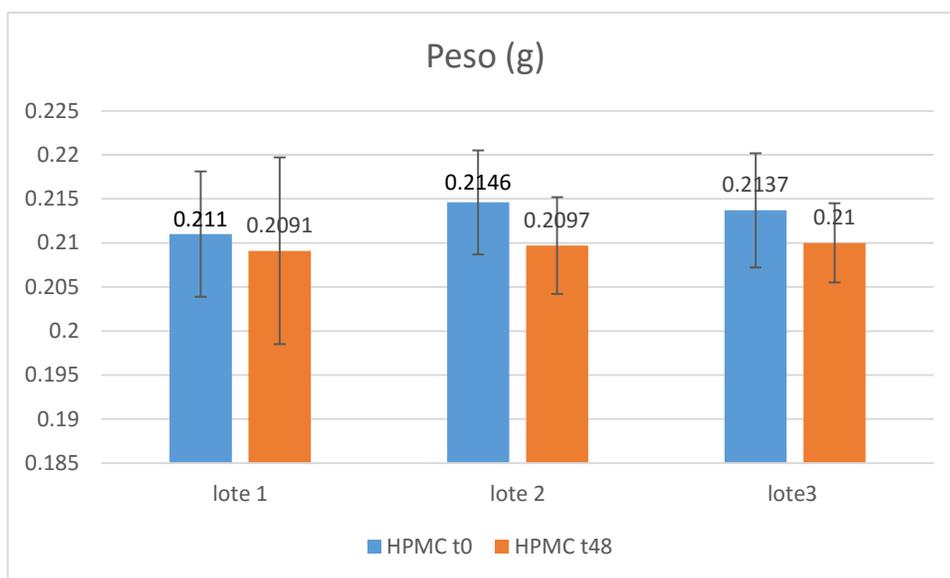


Gráfico 6. *Peso promedio para las laminillas de HPMC a diferentes tiempos de secado.*

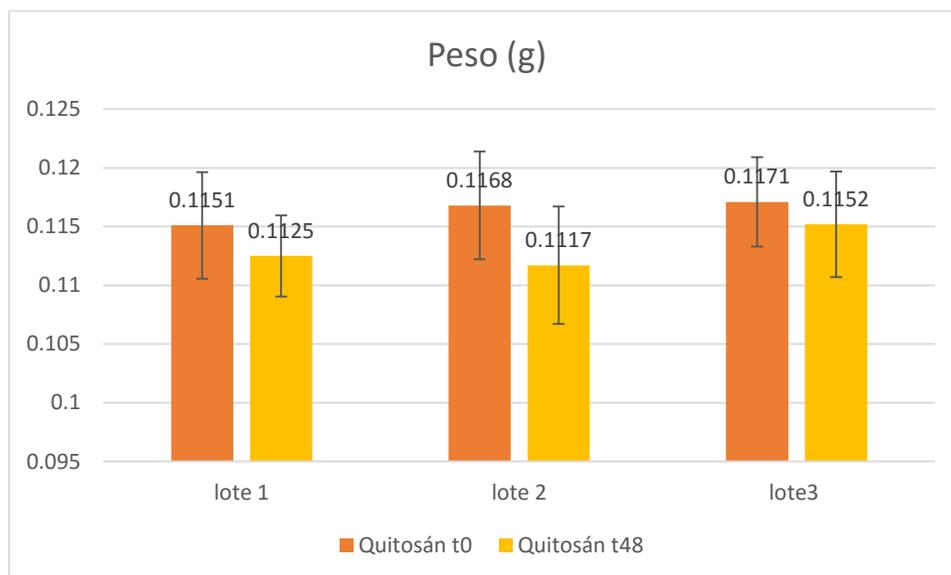


Gráfico 7. *Peso promedio para las laminillas de quitosán a diferentes tiempos de secado.*

Los resultados para el lote de HPMC presentaron una RSD para t_0 de 3.06 % y de 3.29 % para t_{48} . Para las películas de quitosán, la variación de peso después de ser secadas en la estufa ($t_0 = 3.84$ %) y el obtenido tras permanecer 48 h en el desecador ($t_{48} = 3.74$ %) resultaron mayores que las de la formulación con HPMC en ambos tiempos.

Tabla No. 18. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Masa con Intervalos de Confianza del 95.0% (HPMC)

NIVEL	CASOS	MEDIA	ERROR EST.	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
MEDIA GLOBAL	60	0.2114			
Lote					
1	20	0.2102	1.51E-3	0.2072	0.2132
2	20	0.2122	1.51E-3	0.2091	0.2152
3	20	0.2119	1.51E-3	0.2088	0.2149
Tiempo					
0	30	0.2131	1.23E-3	0.2106	0.2156
48	30	0.2097	1.23E-3	0.2072	0.2122

Tabla No. 19. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Masa con Intervalos de Confianza del 95.0% (Quitosán)

NIVEL	CASOS	MEDIA MEDIA	ERROR EST.	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
MEDIA GLOBAL	60	0.1147			
Lote					
1	20	0.1138	9.77E-4	0.1118	0.1157
2	20	0.1143	9.77E-4	0.1123	0.1162
3	20	0.1162	9.77E-4	0.1142	0.1181
Tiempo					
0	30	0.1164	7.98E-4	0.1148	0.1180
48	30	0.1131	7.98E-4	0.1115	0.1147

Los valores promedio de peso para cada lote en las laminillas de HPMC a pesar de su alto RSD; guardan cierta relación con este factor asociada a valores similares: 0.2102, 0.2122 y 0.2119 g y de 0.2131 y 0.2097 g con relación al factor tiempo (Tabla No.18).

Por lo que respecta a las laminillas de quitosán los valores medios reportados para cada lote fueron de 0.1138, 0.1143 y 0.1162 g; y de 0.1164 y 0.1131 g con respecto al tiempo (Tabla No. 19). Para asegurarse si existía alguna diferencia significativa entre el peso de las laminillas en cada una de las formulaciones, y los factores tiempo de secado y lote, se procedió a un análisis de varianza. Los resultados se muestran en la Tabla No. 20.

Tabla No. 20. Análisis de Varianza para Masa - Suma de Cuadrados Tipo III (HPMC)

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
Lote	4.45E-5	2	2.22E-5	0.49	0.6175
Tiempo	1.71E-4	1	1.71E-4	3.73	0.0585
RESIDUOS	2.56E-3	56	4.58E-5		
TOTAL (CORREGIDO)	2.78E-3	59			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores (Tiempo y Lote). Puesto que ningún valor-P es menor que 0.05, ninguno de los factores tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la masa, todo esto con un 95.0 % de confianza. Esto exclusivamente para la formulación con HPMC.

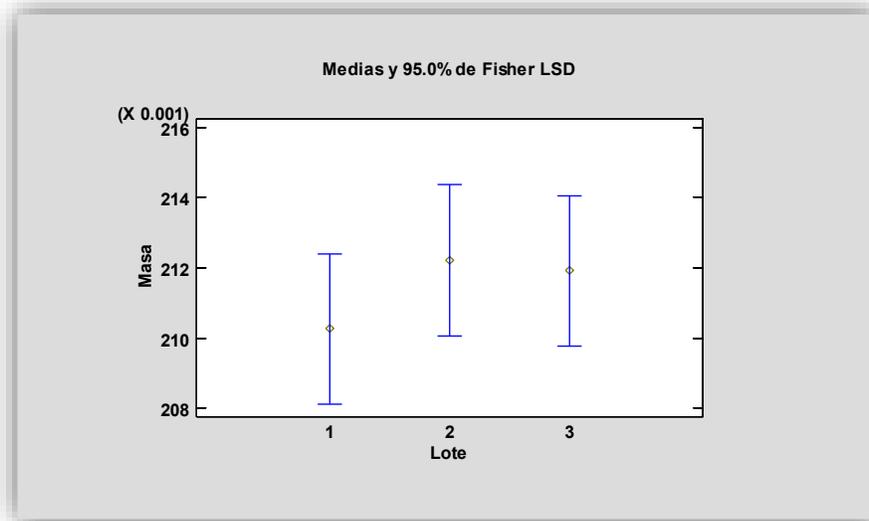


Gráfico 8. Gráfico de medias de Fisher para los distintos lotes de HPMC.

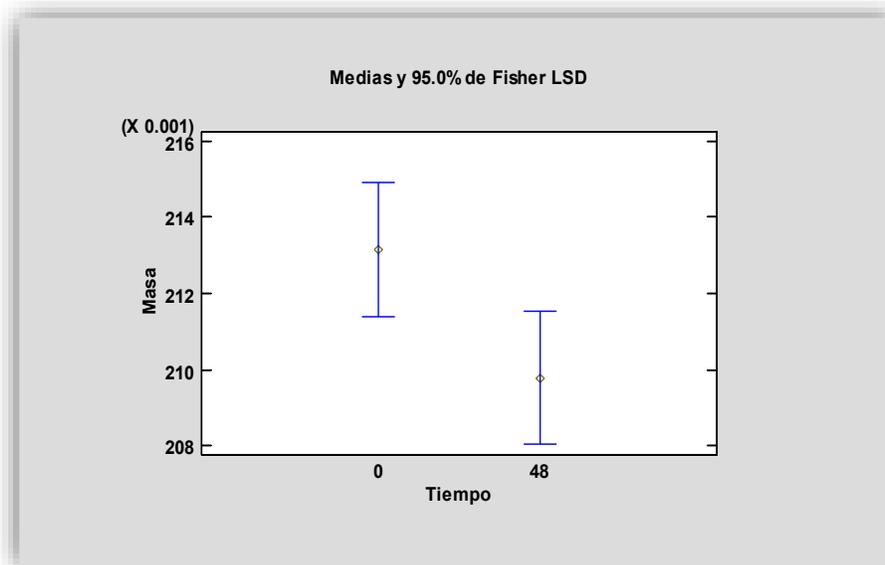


Gráfico 9. Gráfico de medias de Fisher para los distintos tiempos de HPMC.

Los resultados del análisis de varianza y los gráficos de medias (gráficos 8 y 9), permiten comprobar la uniformidad de los tres lotes, a razón de que la diferencia entre las interacciones de los factores y la respuesta es pequeña, resultando estadísticamente despreciables.

Por otro lado el factor tiempo en la formulación con quitosán al parecer si establece una diferencia estadísticamente significativa de acuerdo al valor-P con un valor inferior a 0.05 (Tabla No.21).

Tabla No. 21. Análisis de Varianza para Masa - Suma de Cuadrados Tipo III (Quitosán)

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
Lote	6.21E-5	2	3.10E-5	1.63	0.2060
Tiempo	1.56E-4	1	1.56E-4	8.21	0.0059
RESIDUOS	1.07E-3	56	1.91E-5		
TOTAL (CORREGIDO)	1.28E-3	59			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Este resultado establece, que si bien la masa de las laminillas entre los distintos lotes es uniforme a tal grado de considerar las pequeñas diferencias como despreciables, la medición realizada a las laminillas después de 48 horas en el desecador, si muestra una diferencia para esta formulación en particular al grado de considerarse estadísticamente significativa (Gráficos 10 y 11).

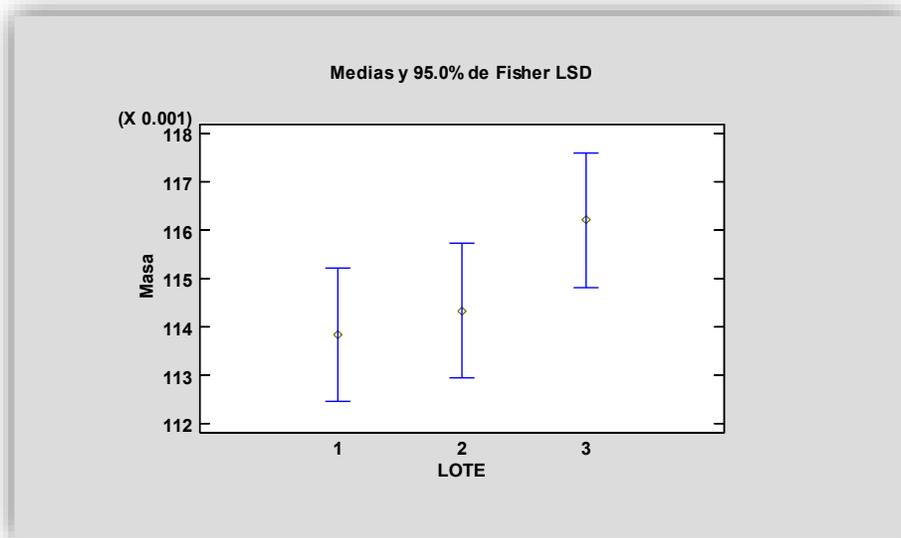


Gráfico 10. Gráfico de medias de Fisher para los distintos lotes de Quitosán

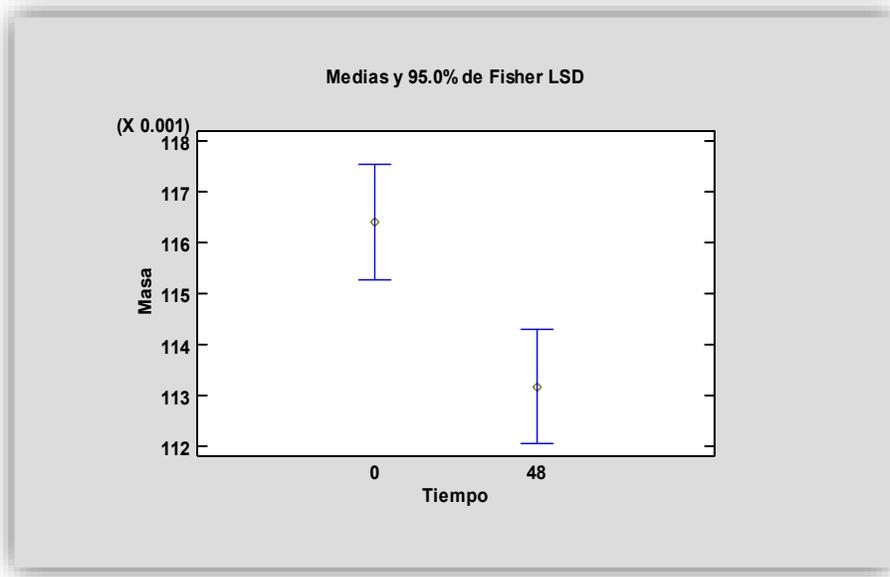


Gráfico 11. Gráfico de medias de Fisher para los distintos tiempos Quitosán.

Además de los resultados individuales descritos para cada lote en su respectiva formulación, el análisis ANOVA permitió realizar una comparación entre formulaciones y las interacciones entre los factores (Tiempo y Lote). Los resultados se reportan en la Tabla No. 22.

Tabla No. 22. Análisis de Varianza para Masa - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
Lote	0.2804	5	0.0560	1742.44	0.0000
Tiempo	3.28E-4	1	3.28E-4	10.19	0.0018
RESIDUOS	3.63E-3	113	3.21E-5		
TOTAL (CORREGIDO)	0.2844	119			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Los resultados señalados en color rojo; muestran dos valores-P menores que 0.05 por lo que se establece que dichos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la masa con un 95.0 % de nivel de confianza; es decir, que las formulaciones de HPMC y quitosán en cuanto a este parámetro no gozan de similitud alguna.

Esto se puede notar con mayor claridad en la Tabla No. 23 de rangos múltiples.

Tabla No. 23. Pruebas de Múltiple Rangos para Masa por Lote.

Lotes	Casos	Media Ls	Sigma Ls	Grupos Homogéneos
QUITOSAN1	20	0.1138	12.68E-4	X
QUITOSAN2	20	0.1143	12.68E-4	X
QUITOSAN3	20	0.1162	12.68E-4	X
HPMC1	20	0.2102	12.68E-4	X
HPMC3	20	0.2119	12.68E-4	X
HPMC2	20	0.2122	12.68E-4	X

Método: 95.0 porcentaje LSD

La Tabla No. 23 muestra 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en dos columnas por el método de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Refirmando lo que en la Tabla No. 22 para cada formulación y sus respectivos lotes fue descrito; al no existir diferencias estadísticamente significativas entre aquellos casos que compartan una misma columna de X's.

Los valores descritos en la Tabla No. 24 según el procedimiento de comparación múltiple, permite apreciar y determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. En dicha tabla los valores señalados con un asterisco y en color rojo, indica que estos pares muestran diferencias significativas con un nivel del 95.0 % de confianza.

Tabla No. 24. Comparaciones múltiples entre los lotes de ambas formulaciones.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
HPMC1 - HPMC2		-0.0019	0.0035
HPMC1 - HPMC3		-0.0016	0.0035
HPMC1 - QUITOSAN1	*	0.0964	0.0035
HPMC1 - QUITOSAN2	*	0.0959	0.0035
HPMC1 - QUITOSAN3	*	0.0940	0.0035
HPMC2 - HPMC3		0.0003	0.0035
HPMC2 - QUITOSAN1	*	0.0983	0.0035
HPMC2 - QUITOSAN2	*	0.0978	0.0035
HPMC2 - QUITOSAN3	*	0.0960	0.0035
HPMC3 - QUITOSAN1	*	0.0980	0.0035
HPMC3 - QUITOSAN2	*	0.0975	0.0035
HPMC3 - QUITOSAN3	*	0.0957	0.0035
QUITOSAN1 - QUITOSAN2		-0.0004	0.0035
QUITOSAN1 - QUITOSAN3		-0.0023	0.0035
QUITOSAN2 - QUITOSAN3		-0.0018	0.0035

* indica una diferencia significativa.

Al igual que en otras pruebas como la relacionada con las dimensiones, la masa de una película también guarda una relación directa con la uniformidad de contenido, por lo que el peso también dependerá del molde seleccionado así como el volumen vertido; razón por la cual, no hay un parámetro que pueda ser utilizado como referencia (Irfan y cols., 2015).



Incluso una gran cantidad de artículos omite este parámetro al considerar como molde una caja Petri, así como un volumen seleccionado a criterio por parte de los diferentes autores. Por citar algunos, Leceta y cols. (2015); Trastullo y cols. (2016); Aranaz y cols. (2016); Liu y cols. (2013) y Dick y cols. (2015).

Todos ellos con mención de uno o ambos criterios, bien sea un volumen conocido o el uso de cajas Petri como molde; además de considerar que las películas que obtuvieron son circulares tras adoptar la forma del molde que se utilizó, mientras que las reportadas en este proyecto son rectangulares y más pequeñas.

No obstante Kundu y cols. (2008), si hace una excepción de este parámetro y reportó valores promedio de $14.22 \text{ mg/cm}^2 \pm 0.13$ en una formulación que utilizaba HPMC en combinación con PEG-400.

Sin embargo; lo relevante hasta este punto es asegurar que la masa de cada una de las unidades de dosificación obtenidas, no presente una variación muy grande que pueda repercutir directamente sobre otros parámetros debido a que muchos de estos están altamente ligados como el caso de la dosis.

Varios factores asociados tanto a los ingredientes como a las condiciones de proceso influyen en los valores de peso sobre este tipo de sistemas y una de las propiedades que es importante señalar, es la relacionada con la fluidez de la mezcla; esto a razón de que el comportamiento reológico de la suspensión filmógena permite determinar las mejores condiciones de proceso.

Esta es precisamente una de las principales causas para la variación de este parámetro dentro de los resultados experimentales, puesto que durante su manipulación resultó difícil controlar la distribución del gel sobre el recipiente en el cual fue depositado.

Esta característica suele vincularse con la uniformidad de dosis por lo que al existir una dificultad en el vaciado debido a la viscosidad de la mezcla, la uniformidad de peso será variable y por consecuencia la uniformidad de la dosis, debido a que durante esta etapa, la resistencia de la mezcla a fluir puede promover pérdidas.

Por otro lado, la superficie de la estufa al momento del secado al no ser perfectamente recta dificultó un poco el reparto homogéneo de la solución sobre el molde, pues incluso aun siendo mínima la diferencia de acuerdo al volumen vaciado, al considerar las dimensiones de una película, aun tratándose de un cambio pequeño e insignificante en apreciación, puede ejercer un efecto al momento del corte sobre parámetros como el espesor y su masa, y que pueda ser estadísticamente significativo.



Algo similar es reportado por algunos autores en trabajos previos donde se hace hincapié en algunas fases del proceso. Tal es el caso de Preis y cols. (2014), quienes señalan la importancia que representa la temperatura de secado y moldeo, debido a que estas insidien de forma directa en las propiedades de la laminilla sobre algunos parámetros como su masa, flexibilidad y dosis.

También es importante el mencionar que la concentración del polímero en la solución formadora de película (filmógeno) es un parámetro que debe ser considerado como crítico, ya que altas concentraciones del polímero favorecen el aumento de la viscosidad haciendo que la solución sea difícil de disolver, manipular y transportar. Caso contrario, si la viscosidad es excesivamente baja las soluciones presentarían problemas asociados con la imposibilidad de formar películas que puedan adherirse a un producto o soporte específico (Bof y cols., 2015).

Inclusive existe una relación entre la viscosidad de la suspensión filmógena y el grosor de la película cuando se obtienen mediante la técnica de moldeo. Estas características suelen condicionar las propiedades estructurales de los materiales incidiendo sobre el secado, densidad, presencia de poros y grietas asociadas con la dificultad que genera la eliminación de burbujas debido a su alta viscosidad alterando el peso de las laminillas (Bof y cols., 2015).

Otra de las consideraciones que podrían explicar la variación de los pesos en los diferentes tiempos, podrían ser las propias características del filmógeno; una de estas, relacionada con su capacidad de absorber fácilmente la humedad del ambiente, la naturaleza hidrofílica de una membrana polimérica induce a la absorción de vapor de agua (Kouchak y cols., 2015) y la HPMC es un polímero que posee dicha cualidad por ser de carácter higroscópico; sin embargo, la cantidad de agua absorbida al depender del contenido inicial de humedad, de la temperatura y de la humedad relativa del aire circundante, hace que las películas según las condiciones de trabajo bajo las cuales fueron secadas hagan notar ese cambio ligero de sus respectivos pesos (Sánchez y cols., 2010).

Las laminillas de HPMC al manifestar una diferencia de casi el doble respecto a las laminillas de quitosán, bien podrían obedecer además de las condiciones de proceso a otras características en los polímeros utilizados además de las ya mencionadas; como su peso molecular principalmente, ya que como se analizó en la sección anterior no solo se modifican sus dimensiones sino también su peso. Además, existe la relación entre la cantidad de plastificante presente en la formulación que se sabe aumenta el espesor de la película ligeramente (Karki y cols., 2016) y que de ser considerada dicha observación, las cantidades adicionadas de agentes plastificantes



en ambas formulaciones representarían una diferencia, puesto que para la formulación de HPMC además de glicerol, está presente el propilenglicol el cual en la formulación a base de quitosán no se utilizó.

Es por ello que en lo referente a esta prueba pueden apreciarse variaciones de peso entre ambos tiempos; sin embargo, en cualquiera de los casos las diferencias según el análisis de varianza no son estadísticamente significativos con excepción de la formulación con quitosán y el factor tiempo.

Siguiendo un criterio en función de lo planteado, los resultados obtenidos, así como su análisis de varianza y las condiciones bajo las cuales fue llevado el proceso, se considera que hasta el momento los resultados son buenos, repetibles y con posibilidades de mejora.

2.5 Pruebas Mecánicas (Resistencia al Plegado, % E y Tensión)

Toda forma farmacéutica durante su caracterización considera ciertas cualidades o atributos que les confieren cierta durabilidad y resistencia a factores externos, así como al entorno biológico con el que mantendrá contacto. Para los objetivos de este proyecto las pruebas mecánicas que pretendían la medición de parámetros como elasticidad y resistencia, a través de pruebas de tensión y porcentaje de elongación (%E) no fueron posibles, a excepción de la prueba de resistencia al plegado que era de carácter manual y no involucraba el uso de aparatos o equipos.

Para las pruebas de tensión y elongación se pretendía el uso de un analizador de textura; sin embargo la imposibilidad de su uso radica en que para su medición había ciertos requerimientos establecidos por la ASTM (American Society for Testing and Materials) y que particularmente las laminillas por sus dimensiones no cumplían, debido a que su preparación y corte siempre considero la zona de aplicación (encías) como parámetro para sus dimensiones.

El límite para el tamaño de este tipo de sistemas es variable situándose en un intervalo de 10–15 cm²; sin embargo, para aquellas orientadas a ser aplicadas dentro de la cavidad oral en muchos de los casos se opta por los cuales presentan un menor tamaño (1-3 cm²) y una forma elipsoidal al resultar mucho más convenientes y confortables debido a su práctico tamaño, favoreciendo su aplicación en diversas zonas (labial, bucal, sublingual y gingival) al colocarse únicamente en la posición central de la mucosa bucal (Rodríguez y col. 2000).

Por consiguiente solo se muestran los resultados de la prueba de resistencia al plegado (Tabla No. 25)

Tabla No. 25 Resultados para la prueba de Resistencia al Plegado, para laminillas de HPMC y Quitosán

HPMC				Quitosán			
laminilla	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Laminilla	Lote 1	Lote 2	Lote 3
	No. Dobleces	No. Dobleces	No. Dobleces		No. Dobleces	No. Dobleces	No. Dobleces
1	300	300	300	1	280	287	296
2	300	300	300	2	276	283	287
3	300	300	300	3	286	285	285
4	300	300	300	4	281	279	283
5	300	300	300	5	294	281	290
6	300	300	300	6	287	286	283
7	300	300	300	7	296	293	284
8	300	300	300	8	275	284	295
9	300	300	300	9	286	286	276
10	300	300	300	10	282	283	287
\bar{X}	300	300	300	\bar{X}	284.3	284.7	286.6
DEVEST	0	0	0	DESVEST	6.9450	3.8020	5.9479
CV	0	0	0	CV	2.4 %	1.3 %	2.0 %

Con base en los resultados de la tabla No. 25 y lo observado durante la prueba, las películas de HPMC mostraron una notable flexibilidad tras cumplir el requerimiento de 300 dobleces sin sufrir fractura de acuerdo a lineamiento especificado. Por otro lado las películas de quitosán aunque presentan a primera vista una buena resistencia a la manipulación; por lo que refiere al cumplimiento en el número de dobleces señalados en la prueba, las laminillas de quitosán no cumplen con el criterio establecido; sin embargo, queda muy cerca del objetivo a unos escasos dobleces de diferencia (≈ 15 dobleces).

Las laminillas hechas con quitosán resultaron ser más resistentes que las preparadas con HPMC a pesar de no haberse realizado pruebas de tensión propiamente. Era apreciable (aunque de forma manual) la necesidad de mayor fuerza para romperlas, algo que de forma contraria ocurrió con las laminillas de HPMC pues se desgarraban con mayor facilidad y con un mínimo esfuerzo, de acuerdo con el criterio que el concepto de tensión refiere.

Esto mismo permitió la apreciación de la elongación, aunque desde un punto de vista subjetivo, pues, aunque las películas de HPMC aparentemente necesitaban de poca fuerza de tensión para romperse tenían una gran cualidad elástica, rompiéndose en todos los casos en la parte media; situación que era contraria para las películas de quitosán al resultar poco elásticas, pero más resistentes a la tensión y rompiéndose a nivel de la zona más próxima donde se encontraba sujeta (figura 22 y 23).

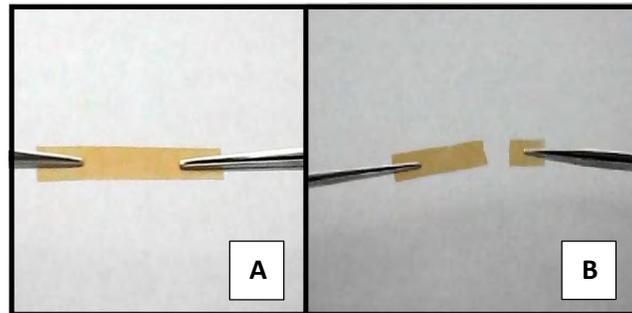


Figura 22. Laminilla de quitosán antes (A) y después de ejercer tensión (B).

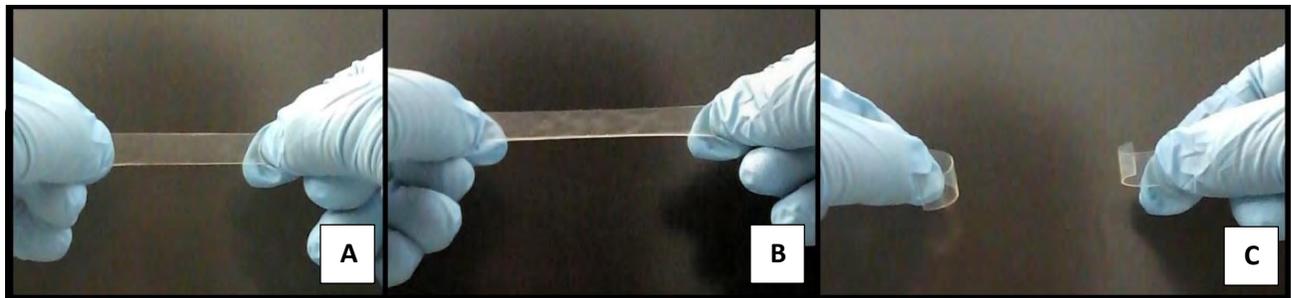


Figura 23. Laminilla de HPMC antes (A), durante (B) y después de ejercer tensión (C).

La resistencia mecánica de las películas puede verse afectada en gran medida por el estado morfológico que presenta. Por lo tanto, diferentes factores como el agente filmógeno, los plastificantes, tipo de proceso de fabricación, el espesor así como el tipo y cantidad de principio activo incorporado tienen que ser considerados para controlar y optimizar sus propiedades mecánicas y de acuerdo a los propósitos deseados (Karki y cols., 2016).

Estas propiedades, pueden verse en gran medida mejoradas con la adición de plastificantes a la formulación. Por lo general la concentración del plastificante maneja intervalos de 0 % a 20 % p / p y los ejemplos más comunes son: PEG, glicerol, ftalato de dietilo, citrato de trietilo, citrato de tributilo, etc. (Irfan y cols., 2015).

Tal es el caso de lo reportado por Obinna y cols. (2016), quienes mencionan algunas ventajas importantes relacionadas a propiedades mecánicas como aumento de la flexibilidad en películas a base de HPMC, en una concentración del 2 % p/v de glicerol. El efecto del plastificante se observó en una mezcla que contenía HPMC con concentraciones variadas de glicerol en porcentajes de 0 % p/v a 4 % p/v, encontrando como resultado una disminución notable de la fragilidad y la rigidez de las películas, además del aumento de su elasticidad.



Kundu y cols. (2008), observaron que si la cantidad de HPMC era 40 % (p / p), el % de alargamiento y su resistencia a la ruptura expuso su valor máximo, mientras que en el caso de otras películas donde las cantidades del filmógeno eran inferiores a este valor, el % de alargamiento previo a la ruptura fue menor. Considerando todos los parámetros que fueron determinados dentro de las propiedades mecánicas de las películas, concluyeron que el contenido de HPMC en la película en una mezcla de aproximadamente un 40 % (p / p) con respecto a peso total de la formulación reporto los mejores resultados.

Otros parámetros evaluados fueron la elasticidad y resistencia a la ruptura, para tal caso descubrieron que películas con concentraciones por encima del 2 % p / v de este plastificante presentaban una resistencia a la tensión muy baja, haciéndolas sumamente elásticas.

Dick y cols. (2015), evaluaron la acción de glicerol a diferentes concentraciones (25, 50, 75 % p / p) en películas comestibles a partir de mucílago de semilla de chía; entre las propiedades mecánicas evaluadas, reportaron una resistencia a la tracción de 17.75 MPa \pm 1.18 para la formulación con un porcentaje de glicerol de 25 % p/p; 13.20 MPa \pm 0.26 para la constituida por 50 % p/p de glicerol y finalmente 9.44 MPa \pm 0.20 en la formulación con 75 % p/p de glicerol; por otro lado, para el porcentaje de elongación, reportaron valores de 1.93 % \pm 0.34; 10.78 % \pm 1.06 y 15.89 % \pm 2.34 % respectivamente. Entablando una relación proporcional entre las propiedades mecánicas (resistencia a la tensión y elongación) y la concentración del plastificante.

El efecto del plastificante, por tanto, disminuye la fragilidad (resistencia a la tracción) y la rigidez (resistencia al plegado), y el aumento de la elasticidad (porcentaje de alargamiento) de las películas de ambas formulaciones, pero en mayor medida en las películas de HPMC que en las de quitosán, debido principalmente a la diferente concentración utilizada de este polímero en cada formulación.

Las películas HPMC tienen mejor respuesta a elongación y menor resistencia a la tracción, posiblemente debido a la interacción con el plastificante. Pues este presenta segmentos intercalados por HPMC mediante la formación de puentes de hidrogeno favoreciendo la movilidad segmentaria de la cadena del material, del mismo modo que provoca una reducción en los enlaces presentes entre los segmentos de la HPMC en la película causando de este modo la interrupción de la interacción polímero-polímero; en consecuencia, la estructura terciaria de los polímeros se transforma en una más flexible y porosa mejorando así su movilidad. Por esta razón, el material plastificado se deforma a menor resistencia a la tracción en comparación con un polímero en el cual no estuviera presente un plastificante (Karki y cols., 2016).



Sin embargo, debe tenerse cuidado con la adición de agentes plastificantes debido principalmente a que su exceso provocaría efectos indeseables que pueden dar lugar a dificultades en la manipulación de las películas debido a su naturaleza pegajosa. Dicho exceso podría resultar en un mayor volumen libre entre polímeros causando en las películas características un tanto indeseables como el hacerlas altamente resbaladizas y por consecuencia difíciles de manipular por ser sumamente pegajosas, dichas propiedades se ponen de manifiesto en concentraciones que sobrepasan el 2 % p/v con respecto al volumen total de la solución.

El filmógeno por otro lado es capaz de poseer atributos que le confieren cierta flexibilidad y resistencia a una película y la HPMC no es la excepción. Tedesco y cols. (2016), hicieron un análisis comparativo entre la adición de diferentes polímeros entre los cuales se encontraba la HPMC y gelatina; sus resultados mostraron que la película que contenía sólo gelatina en la formulación tenía una resistencia a la tracción más alta y menores valores de elongación que las películas que contienen únicamente HPMC. Por otra parte, un aumento de la concentración de HPMC en las películas orales provocó una reducción de la resistencia a la tracción pasando originalmente de 38.18 ± 2.28 MPa con una concentración de 25 g/ 100 g de polímero a 29.54 ± 0.95 MPa al ser únicamente HPMC y un aumento en el % E de $2.66 \% \pm 0.23$ a $12.67 \% \pm 1.28$ para las mismas concentraciones (Nota: Concentración de polímero = HPMC + GEL = 2 g / 100 g de solución formadora de película).

Ahora bien no solo la adición de un agente que mejore la flexibilidad de una material es lo único a considerar en una formulación; el perfil mecánico de las películas también depende de otra características como lo es el peso molecular de los polímeros, particularmente del filmógeno y que posiblemente en este caso en especial dicho factor sea uno de los que inciden de forma especial en cuanto a los resultados obtenidos para este tipo de películas.

Leceta y cols. (2015), encontraron que películas formuladas con quitosán de alto peso molecular se mostraban frágiles y rígidas; en la prueba de tensión registraron valores de 61.82 ± 3.49 MPa para un grupo control y de 43.41 ± 3.11 MPa y 31.89 ± 5.93 MPa con cantidades variables de glicerol (15 % y 30 %). Para la prueba de elongación, registraron un % E de 4.59 ± 0.49 % para las películas sin glicerol, y de 11.14 ± 0.70 % y 30.51 ± 1.75 % en películas con el mismo porcentaje de glicerol que en la prueba de tensión.

Para las películas de bajo peso molecular obtuvieron en la prueba de tensión valores de 55.83 ± 2.96 MPa en aquellas que únicamente estaba presente este biopolímero y 36.85 ± 3.55 MPa, y 23.87 ± 3.79 MPa con el mismo porcentaje de glicerol que en las formuladas con quitosán de alto peso molecular. Un % E de 4.58 ± 0.38 % en películas sin glicerol, y de 27.34 ± 3.38 % y 37.67 ± 2.16 % con glicerol respectivamente; además,



observaron que el tiempo de almacenamiento modificaba los valores en ambas pruebas, debido a que las moléculas de agua interactúan con los grupos polares en el quitosán a través de puentes de hidrógeno, mostrándose en películas con una estructura suave y un aumento de la movilidad molecular, y la pérdida de agua debido al almacenamiento prologado daría como resultado películas más rígidas y menos elásticas.

El peso molecular del quitosán actuaría sobre el tipo y número de interacciones presentes entre polímero-polímero, polímero-plastificante y finalmente polímero-solvente lo que condicionaría la estructura y características de la matriz, reflejándose en sus propiedades mecánicas.

El quitosán de alto peso molecular presenta cadenas con un alto grado de polimerización, lo que favorece las interacciones polímero-polímero, dando como resultado la presencia de películas de matriz fuerte con alta resistencia. Contrariamente, para el quitosán de bajo peso molecular, las interacciones entre polímero-plastificante y polímero-solvente llegan a ser importantes para el desarrollo de materiales de alta elasticidad viéndose favorecidos por estas mismas condiciones (Bof y cols., 2015).

Martínez- Camacho y cols. (2010), Explicaron que al igual que en el caso de las películas de HPMC la presencia de un plastificante juega un papel importante y de manera muy particular aquellas películas que utilizan quitosán de mediano peso molecular describiendo que la cantidad de esfuerzo necesario para su deformación se reduce notablemente, así como la deformación de estas antes de su ruptura.

Leceta y cols. (2013), Quienes trabajaron con películas basadas en quitosán en su proyecto titulado *Functional properties of chitosan based films* se percataron que la tensión y módulo elástico (constante elástica que involucra una medida relacionada con la tensión y una medida relacionada con la deformación) aumentaba mientras que el alargamiento antes de la rotura disminuía cuando el peso molecular de quitosán aumentó, debido según se explica a la formación de una red más compacta.

Tomando en consideración lo reportado anteriormente así como los antecedentes descritos, es fácil el notar que la mezcla del filmógeno junto con la presencia de glicerina y de propilenglicol tuvieron un efecto sinérgico positivo sobre las laminillas en ambas formulaciones favoreciendo así algunas de sus propiedades mecánicas; a pesar de ello, aunque la adición de plastificantes favorece cualidades como la flexibilidad y la elongación, las características de los filmógeno también tienen un papel importante como el caso muy particular del quitosán por lo que la adición del plastificante si bien ayuda en estas cualidades no resulto en la misma magnitud que con la HPMC, por lo que de tomar en cuenta esta característica aunque se trate de un nivel muy superficial las películas de quitosán tendrían una evidente limitación en cuanto a características como la flexibilidad.



Sin embargo, teniendo en consideración la zona de aplicación (zona gingival) dentro de la cavidad oral y la poca movilidad que se presenta en dicho sitio; el parámetro y los resultados podrían ser sujetos a criterio y considerarse aun con el fallo en el resultado para la prueba de resistencia al plegado y el análisis superficial subjetivo de su tensión y elongación; como adecuado, puesto que como bien se hizo mención el estrés al que se someterían en el interior de la boca sería mínimo.

2.6 Porcentaje de Hinchamiento (% H)

Tanto la hidratación como el comportamiento hinchable influyen en el perfil de disolución de un fármaco, debido a que mecanismos como la difusión, hinchamiento y la erosión son los encargados de promover la liberación del fármaco contenido dentro de la matriz polimérica.

La hidrofiliidad es una cualidad en los polímeros que está dada por el grado de hinchamiento, el cual se calcula a partir de la relación entre el volumen de gel hinchado y el volumen de gel seco. Durante dicho proceso se produce la entrada de líquido al interior de la matriz, producto de la diferencia de potencial químico del disolvente dentro y fuera de ella, provocando una dilatación de la misma. Al proceso de dilatación se opone una fuerza elástica-retráctil, la cual se opone a la penetración del solvente. El equilibrio de hinchamiento se alcanza cuando se igualan la fuerza de hinchamiento y la fuerza elástica-retráctil (Expósito 2010).

Para la evaluación de la prueba; a partir de una laminilla de tamaño estándar (completa) fueron cortadas una serie de pequeños cuadros con un valor de área de 1cm^2 (para cada una de las formulaciones) que fueron colocados sobre un acetato previamente pesado, y puesto en el interior en una caja Petri con 10 ml de FSS. El tiempo en el cual la película se encontraba en contacto con el medio fue de 2 min para las laminillas de HPMC y de 10 min para las de quitosán.

La opción de utilizar un acetato como base se hizo debido a que las películas de HPMC una vez inmersas en el medio manifestaban desintegración, y para que al momento de remover la laminilla del FSS pudiera en la medida de lo posible garantizarse su integridad.

Una hoja de papel milimétrico se colocó sobre la base exterior de la caja Petri, de tal forma que tras presentarse el fenómeno de hinchazón y por consecuencia el aumento en las dimensiones de la película, pudieran ser más fácilmente apreciadas. Los resultados aparecen en las siguientes tablas (26, 27 y 28) y el Gráfico 12.

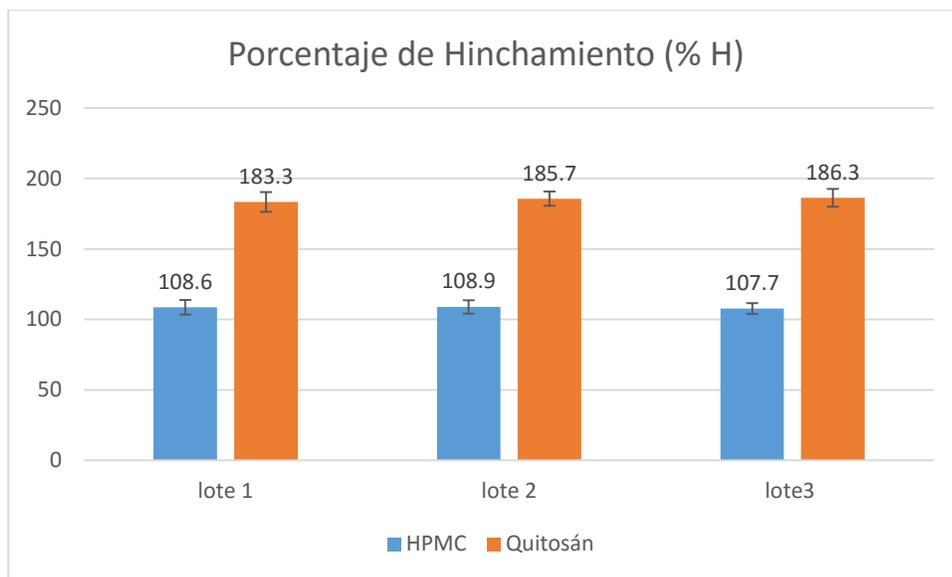


Gráfico 12. Porcentaje de hinchamiento para los tres lotes de cada Formulación

Tabla No. 26. Resultados de la prueba de Hinchamiento para cada Formulación. Lote 1

laminillas	HPMC	LOTE 1	Qitosán	LOTE 1
	GH	%H	GH	%H
1	1.0429	104.2	1.7843	178.4
2	1.0738	107.3	1.8431	184.3
3	1.0115	101.1	1.9711	197.1
4	1.1239	112.3	1.7455	174.5
5	1.0085	100.8	1.7670	176.7
6	1.1402	114.0	1.8385	183.8
7	1.0827	108.2	1.7950	179.5
8	1.1020	110.2	1.8378	183.7
9	1.1250	112.5	1.9275	192.7
10	1.1492	114.9	1.8213	182.1
\bar{X}	1.0860	108.6	1.8331	183.3
DESVEST	0.0513	5.1325	0.0700	7.0016
CV	4.72 %	4.72 %	3.81 %	3.81 %

Tabla No. 27. Resultados de la prueba de Hinchamiento para cada Formulación. Lote 2

laminillas	HPMC	LOTE 2	Quitosán	LOTE 2
	GH	%H	GH	%H
1	1.0396	103.9	1.8433	184.3
2	1.1735	117.3	1.8135	181.3
3	1.0412	104.1	1.8791	187.9
4	1.1249	112.4	1.9415	194.1
5	1.0146	101.4	1.7908	179.0
6	1.1120	111.2	1.8341	183.4
7	1.0847	108.4	1.7975	179.7
8	1.0940	109.4	1.8978	189.7
9	1.1213	112.1	1.8573	185.7
10	1.0892	108.9	1.9176	191.7
\bar{X}	1.0895	108.9	1.8572	185.7
DESVEST	0.0474	4.7498	0.0510	5.1085
CV	4.35 %	4.35 %	2.75 %	2.7 %

Tabla No. 28. Resultados de la prueba de Hinchamiento para cada Formulación. Lote 3

laminillas	HPMC	LOTE 3	Quitosán	LOTE 3
	GH	%H	GH	%H
1	1.1053	110.5	1.9256	192.5
2	1.0736	107.3	1.8636	186.3
3	1.0612	106.1	1.7917	179.1
4	1.1456	114.5	1.8493	184.9
5	1.1124	111.2	1.9387	193.8
6	1.0167	101.6	1.7861	178.6
7	1.0825	108.2	1.7975	179.7
8	1.0692	106.9	1.8574	185.7
9	1.0263	102.6	1.8573	185.7
10	1.0832	108.3	1.9715	197.1
\bar{X}	1.0776	107.7	1.8639	186.3
DESVEST	0.0385	3.8514	0.0640	6.4082
CV	3.57 %	3.57 %	3.43 %	3.43 %

Los resultados obtenidos muestran un porcentaje de hinchamiento (% H) promedio de 108.39 % para los tres lotes de la formulación con HPMC (Tabla No. 29) y de 185.10 % para las laminillas de quitosán (Tabla No. 30). Estos valores poseen cierta coherencia tras una primera inspección visual (figura 24), mostrando que la apariencia de las películas de HPMC presentaban un aumento de tamaño que principalmente se evidenciaba en torno al grosor, pues daban la impresión de “inflarse” a los pocos instantes después de su inmersión en el medio, seguido de un cambio en su consistencia a semejanza de un gel después de 20 a 30 s, pero mantenido sus dimensiones iniciales (largo y ancho) casi sin cambios.

Tabla No. 29. Resumen Estadístico para % H (HPMC)

Lote	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
1	10	108.55	5.1487	4.74%	100.8	114.9	14.1
2	10	108.91	4.7507	4.36%	101.4	117.3	15.9
3	10	107.72	3.8516	3.57%	101.6	114.5	12.9
Total	30	108.39	4.4824	4.13%	100.8	117.3	16.5

Tabla No. 30. Resumen Estadístico para % H (Quitosán)

Lote	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
1	10	183.28	7.0007	3.81%	174.5	197.1	22.6
2	10	185.68	5.1087	2.75%	179.0	194.1	15.1
3	10	186.34	6.4003	3.43%	178.6	197.1	18.5
Total	30	185.10	6.1491	3.32%	174.5	197.1	22.6

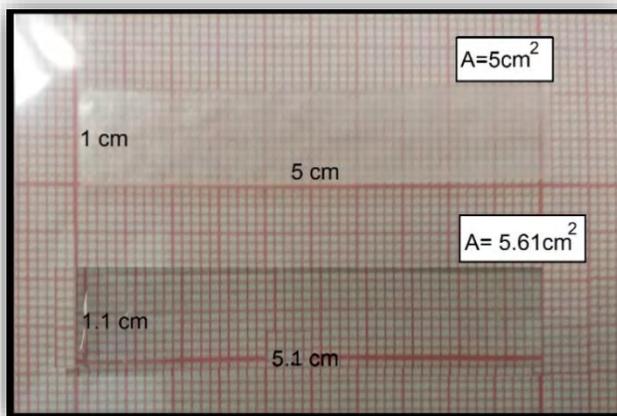


Figura 24. Laminilla de HPMC antes (arriba) y después de hincharse (abajo); logra advertirse un aumento en su área después de la captación de agua.

Se realizó una prueba de ANOVA para cada una de las formulaciones y sus respectivos lotes, esto con el propósito de identificar si existía diferencia significativa entre los factores y los valores de hinchamiento. Los resultados aparecen descritos en la Tabla No. 31.

Tabla No. 31. Resumen ANOVA para % H por Lote (HPMC)

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	7.4486	2	3.7243	0.1700	0.8406
Intra grupos	575.23	27	21.3048		
Total (Corr.)	582.679	29			

La prueba de ANOVA descompone la varianza del % H en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente intra grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.17, es el cociente entre el estimado entre grupos y el estimado intra grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F resulto mayor a 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media del % H y los lotes, con un nivel de 5 % de significancia.

Para las películas de quitosán, como el valor-P de la razón-F resulto mayor a 0.05, se asume que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre el % H y los distintos lotes de la formulación dos (Tabla No. 32).

Tabla No. 32. Resumen ANOVA para % H por Lote (Quitosán)

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	51.8640	2	25.9320	0.6700	0.5199
Intra grupos	1044.68	27	38.6917		
Total (Corr.)	1096.54	29			

El análisis de varianza también abarco la comparación entre las dos formulaciones; el objetivo era observar si entre ellas existía alguna diferencia respecto al parámetro evaluado. Los resultados se muestran en la Tabla No. 33.

Tabla No. 33. Análisis de Varianza para % H para ambas Formulaciones - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
Lote	88318.0	5	17663.6	588.82	0.0000
RESIDUOS	1619.91	54	29.9983		
TOTAL (CORREGIDO)	89937.9	59			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

En la Tabla No. 33 se observa una diferencia estadísticamente significativa entre los lotes de cada formulación y el % H, dado que el valor-*P* resulto menor que 0.05. El gráfico de medias de Fisher permite apreciar la diferencia con mayor facilidad al observar que estas no comparten el mismo rango cuando se habla de formulaciones distintas (Gráfico 13).

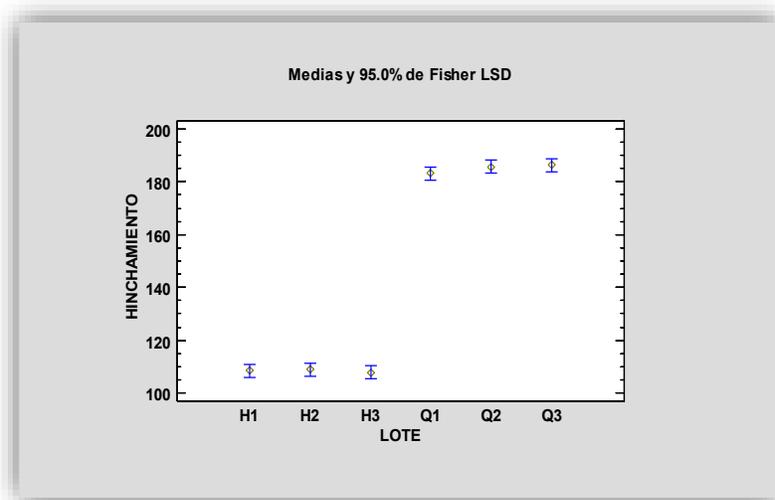


Gráfico 13. Gráfico de medias de Fisher para ambas formulaciones: quitosán (Q) y HPMC (H).

La propiedad que posee la HPMC de alta hinchazón y su afinidad por el agua (absorción), explica el alto índice de hinchamiento en aquellas películas en las cuales este polímero es utilizado. Obinna y cols. (2016), describen ese comportamiento en particular en formulaciones bucales con HPMC y alginato de sodio (SA), comparando los valores obtenidos con variaciones en las cantidades de alginato.

Sus resultados mostraron que las películas únicamente elaboradas con HPMC en comparación con otras formulaciones con cantidades diferentes de SA (0,25, 0,50 y 0.75 p/v), revelaban una disminución en el hinchamiento como consecuencia del aumento en la concentración de SA.

Trastullo y cols. (2016), en formulaciones compuestas por HPMC y en combinaciones con quitosán encontraron que en películas con HPMC, después de estar sumergidas en el medio (agua) durante 80 min presentaban en su comportamiento hinchable valores porcentuales de hasta 1246.46 ± 38.23 %.

En lo realizado experimentalmente, se observó que la rápida entrada de FSS provocó el aumento de tamaño en la película registrando un % H de 108 % en un periodo aproximado de 1 a 2 minutos, y permaneciendo sin cambios posteriores después de este tiempo.

Sin embargo; a diferencia de las películas de quitosán, las laminillas de HPMC de forma inmediata comenzaban a manifestar señales de desintegración así como sensibilidad al contacto. Esto supondría un contratiempo si se considera que aun cuando las estructuras gingivales en esencia son relativamente inmóviles, se encuentran en cercanía con otras dentro de la cavidad oral, por lo que el roce debido al contacto es inevitable, esta situación bien podría comprometer en algún grado su permanencia en el interior de la boca; por consecuencia, la administración del principio activo se vería afectado, sin olvidar el hecho de que uno de los principales objetivos es promover una liberación desde la matriz polimérica, con un efecto localizado y prolongado.

Las laminillas de quitosán por otro lado, presentaron un comportamiento distinto debido principalmente a las propiedades de este biopolímero. A pesar de que el quitosán no es soluble en agua, es altamente hidrófilo; por lo que tiende a retener agua, lo que se traduce en el incrementando de tamaño.

Los resultados obtenidos y que se enlistan en las tablas No 26, 27 y 28 muestran los valores de hinchamiento para este biopolímero; sin embargo, retomando el análisis visual, durante el fenómeno de hinchamiento las laminillas en las que se utilizó este biopolímero denotaban un aumento de sus dimensiones de mayor presencia que las preparadas con HPMC; es de notar que incluso antes de cumplidos los primeros 2 minutos ya manifestaba un aumento significativo en su geometría y que posiblemente representaría entre el 85 a 90 % de su volumen final en el equilibrio; además, de que estas no mostraban signos de desintegración o cambios en su consistencia como en el caso anterior (Figura 23).

No obstante, aun cuando se mantuvieron integras y sin una aparente erosión, si manifestaban mayor fragilidad tornándose en cierto grado quebradizas cuando se ejercía sobre ellas cierta presión o se pretendía hacer sobre ellas alguna flexión.

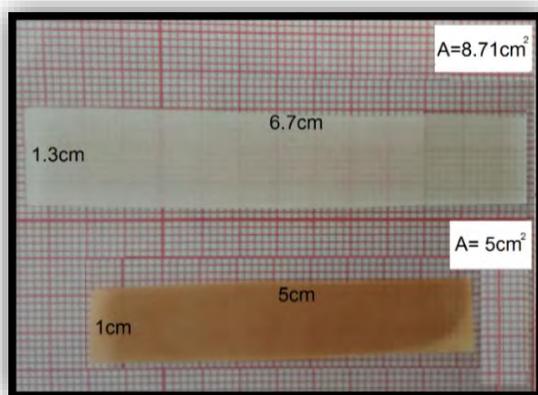


Figura 25. Laminilla de Quitosán antes (abajo) y después de hincharse (arriba); logra advertirse un aumento en su área después de la captación de agua.



Este comportamiento tiene que ver precisamente con el grado de desacetilación (porcentaje de grupos amino que quedan libres en la molécula de quitosán), debido a que está estrechamente vinculado con su solubilidad y su hinchamiento.

El pH del medio también desempeña un papel importante dentro de las propiedades de hinchamiento y esto mismo fue reportado por Aldana y cols. (s.f), al evaluar este parámetro en películas de quitosán a diferente pH (3.4 y 7.2), observando un mayor índice de captación de agua a un pH 3.4 (995 %), que a pH 7.4 (187 %) y concluyendo al igual que Expósito (2010), que a menor pH o por debajo del valor de pKa del quitosán, los grupos amino libres del polímero se encuentran protonados ($-NH_3^+$) generando una repulsión electrostática, probablemente responsable de un mayor hinchamiento.

Blanquicet y cols. (2015), prepararon una serie de películas con quitosán y lactosuero. El porcentaje de hinchamiento resultó en un intervalo de 11.24 a 62.40 % con diferentes cantidades de quitosán; destacando aquellas donde este último se encontraba solo, registrando un valor promedio de 173 %. Adicionalmente observaron que los métodos de secado pueden afectar el grado de hinchamiento en las películas; debido a que el tratamiento térmico de quitosán lleva a la formación de un grupo amida, lo que puede reducir el número de grupos hidrofílicos y la consecuente disminución del % H.

Las propiedades amorfas de las películas aun cuando dan la apariencia de ser lisas, desempeñan un papel importante dentro de la hidratación e hinchamiento; cuando los materiales son amorfos la superficie de contacto con el medio de disolución está más expuesta, facilitando la penetración del agua al interior de las matrices e interaccionando con las cadenas del polímero, lo que adicionalmente promueve una mejor velocidad de disolución y liberación del fármaco hacia el exterior.

Según lo describe Tang y cols. (2014), el hinchamiento bien puede estar vinculado a la estructura porosa y a la hidrofilia de la película hecha con este biopolímero, pues manifiesta una fuerte hidratación, lo que tendría por consecuencia su hinchamiento; promoviendo a partir de este una rápida adhesión del polímero con el sustrato biológico. Un resultado muy útil en la administración de fármacos sobre mucosas o en este caso sobre la encía.

A diferencia de las películas de la formulación con HPMC, las hechas a base de quitosán, no manifestaban señales de erosión o desintegración incluso aún después de 24 h, pero si una mayor fragilidad. Aunque la erosión de la laminilla en el medio según mencionan Tang y cols. (2014), puede alcanzar el 41,4 % en un aproximado de 120 min como el obtenido en su proyecto que incluía, la preparación de películas de quitosán cargadas con ibuprofeno; también se apreció que las películas de quitosán conservaron su integridad durante



todo el experimento. Algunos de estos ejemplos están presentes en ciertos autores como lo es el caso de Kouchak y cols. (2015), con un % H después de 48 h de 108.18 ± 1.61 % en laminillas de quitosán.

En ambos casos dicho comportamiento hinchable recae sobre las cadenas poliméricas de los agentes filmógenos; una cadena polimérica que tiene una baja capacidad de formar enlaces de hidrógeno es incapaz de formar una red que estructuralmente sea fuerte, por lo tanto la penetración del agua difícilmente suele ocurrir.

Cuando el número de enlaces de hidrógeno aumenta del mismo modo la fuerza entre los polímeros aumenta, por lo que la hidratación debido a la difusión de las partículas de agua en la matriz se produce aunque a un ritmo lento (Karki y cols., 2016). Esto mismo es sugerido por Di Pierro y cols. (2006), quienes mencionan que el grado de hinchamiento en materiales poliméricos depende en gran medida de la cantidad y la naturaleza de las interacciones intermoleculares de la cadena.

Adicionalmente esto fue demostrado por Panomsuk y cols. (1996), que tras la adición de manitol en una matriz polimérica de metilcelulosa, el índice de hinchamiento en la membrana se veía disminuido; según se explica, es el resultado de la formación de enlaces de hidrógeno entre el fármaco y la matriz polimérica al disminuir con ello el número de hidrógenos libres.

La medición del hinchamiento o grado de hidratación del polímero desempeña un papel importante en el suministro de información, puesto que la hidratación de los polímeros es la razón por la cual se lleva a cabo la relajación y la interpenetración de las cadenas poliméricas que resultan en importantes cualidades relacionadas con el fenómeno de bioadhesión; Sin embargo, la sobrehidratación es un factor que debe ser considerado debido que ocasiona la disminución de las propiedades bioadhesivas en los polímeros (Karki y cols., 2016).

Incluso algunos autores como el caso de Expósito (2010), utilizaron agentes entrecruzantes como el tripolifosfato sódico (TPP) en la elaboración de películas de quitosán, y evaluaron las propiedades de hinchamiento en un pH de 7.4, observando que la incorporación del TPP a las películas en concentraciones variadas (0 – 5 % p/v) disminuía de forma significativa su índice de hinchamiento.

De acuerdo con sus resultados las películas no entrecruzadas presentaron un grado de hinchamiento de 2; es de decir, un % H del 200 % mientras que las entrecruzadas con soluciones de TPP al 1 y 5 % (p/v) durante 1 hora, presentaron un grado de hinchamiento significativamente más bajo, 0.8 y 0.6 respectivamente. Esto indica que la interacción iónica entre el quitosán y el TPP dio lugar a una matriz entrecruzada que impidió la entrada de agua y, por este motivo, las películas entrecruzadas se hincharon muy poco.



Sin embargo, la importancia de esta prueba no solo se limita a los aspectos relacionados con la solubilidad de la laminillas, la adhesión de las mismas sobre la mucosa oral o la liberación de los activos atrapados dentro de los polímeros, sino también aquellos aspectos asociados con la comodidad y practicidad de uso, debido a que una de las razones por las cuales este parámetro es importante es que durante su implementación una vez comiencen a llevarse a cabo los procesos de bioadhesión, al aumentar las dimensiones del polímero tras su hidratación con el medio; su tamaño puede llegar a causar incomodidad, además de que podría verse comprometida su integridad si el reblandecimiento excesivo de las cadenas se produce.

En resumen, cada una de las formulaciones aunque presentaron un valor hinchable distinto, las características mostradas durante dicho fenómeno bien podrían plantear ventajas y desventajas en ambos casos, pues si bien las laminillas de HPMC se hinchaban, sus dimensiones no eran de tal grado que pudieran considerarse incómodas una vez en el interior de la boca, además de que aparentemente se promueven sin mayor dificultad los mecanismos de bioadhesión; sin embargo, dentro de las desventajas encontradas una de ellas tiene que ver justamente con su desintegración, ya que esta ocurre en muy poco tiempo y posiblemente en mayor medida si existe alguna interacción con el entorno, por lo que su permanencia y la liberación del principio activo también se vería en algún grado afectado.

Por otro lado las laminillas de quitosán según lo observado, su comportamiento hinchable presentaría una dificultad aparente asociada directamente a sus dimensiones, debido a que su tamaño resultó considerablemente mayor que los de la formulación con HPMC y que posiblemente tenga un efecto sobre la comodidad; no obstante, al no presentar desintegración esto supondría una mayor ventaja pues de favorecerse la adhesión y la permanencia íntegra de la laminillas en el sustrato biológico se promovería una mejor liberación desde la matriz polimérica.

2.7 Uniformidad del Contenido

El contenido químico de una película se puede determinar implementando un método de ensayo estándar especificado para el principio activo en cuestión, según los diferentes compendios oficiales como las farmacopeas. Para los fines de este proyecto la prueba se realizó a un total de 60 muestras, 30 de ellas pertenecientes a las laminillas con HPMC en sus diferentes lotes y el resto a las preparadas con quitosán en sus correspondientes tres lotes.

El valor de aceptación establece una variación en torno al 15 % de acuerdo con la Farmacopea Japonesa. Por otro lado; según la USP 27, el contenido de activo debe oscilar entre 85 % y 115 % con una desviación estándar

menor o igual a 6 %, del mismo modo la farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) en su 9ª edición, establece esos mismos lineamientos plantando la posibilidad de ampliar el rango de aceptación a valores porcentuales de 75 % a 125 % y una desviación no mayor a 7.8 % cuando los primeros dos parámetros no se cumplen, realizándose a 20 unidades más.

La uniformidad de contenido es elaborada para la estimación de la cantidad de fármaco en la película de forma individual (Irfan y cols., 2015). Los resultados obtenidos aparecen reportados en las tablas No 34, 35 y 36.

Tabla No. 34. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Contenido. Lote 1

LOTE 1	HPMC		QUITOSÁN	
	GluChx (µg/ml)	GluChx mg/ laminilla	GluChx (µg/ml)	GluChx mg/ laminilla
1	26.4728	3.3091	74.3343	9.2917
2	25.6596	3.2074	71.6234	8.9529
3	26.9849	3.3731	73.8524	9.2315
4	26.1114	3.2639	72.7379	9.0922
5	26.1114	3.2639	72.2259	9.0282
6	26.0210	3.2526	72.9186	9.1148
7	26.2620	3.2827	71.5632	8.9454
8	27.8885	3.4860	72.5873	9.0734
9	26.3825	3.2978	72.0753	9.0094
10	26.3222	3.2902	72.1957	9.0244
X̄	26.4216	3.3027	72.6114	9.0764
DESVEST	0.61843	0.0773	0.9007	0.1125
CV	2.34 %	2.34 %	1.24 %	1.24 %

Tabla No. 35. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Contenido. Lote 2

LOTE 2	HPMC		QUITOSÁN	
	GluChx (µg/ml)	GluChx mg/ laminilla	GluChx (µg/ml)	GluChx mg/ laminilla
1	26.3825	3.2978	73.8524	9.2315
2	25.9608	3.2451	74.3343	9.2917
3	26.9548	3.3693	72.3463	9.0432
4	26.2921	3.2865	72.1656	9.0207
5	26.2620	3.2827	71.5933	8.9491
6	26.6536	3.3317	74.0933	9.2616
7	26.1716	3.2714	71.6234	8.9529
8	25.6897	3.2112	72.8283	9.1035
9	26.0210	3.2526	71.8042	8.9755
10	25.2078	3.1509	73.0090	9.1261
X̄	26.1596	3.2699	72.7650	9.0956
DESVEST	0.4875	0.0609	1.0331	0.1291
CV	1.86 %	1.86 %	1.41 %	1.41 %

Tabla No. 36. Resultados experimentales para la prueba de Uniformidad de Contenido. Lote 3

LOTE 3	HPMC		QUITOSAN	
	GluChx (µg/ml)	GluChx mg/laminilla	GluChx (µg/ml)	GluChx mg/laminilla
1	25.8704	3.2338	75.1475	9.3934
2	26.9246	3.3655	71.8644	8.9830
3	26.0512	3.2564	74.6957	9.3369
4	26.3222	3.2902	71.6234	8.9529
5	26.1114	3.2639	72.4367	9.0545
6	26.1415	3.2676	74.3343	9.2917
7	26.2620	3.2827	73.3704	9.1713
8	26.3524	3.2940	71.8644	8.9830
9	27.0451	3.3806	74.4548	9.3068
10	27.5572	3.4446	72.6475	9.0809
X	26.4638	3.3079	73.2439	9.1554
DESVEST	0.5343	0.0667	1.3267	0.1658
CV	2.01	2.01	1.81	1.81

La Chx suele presentarse en dos concentraciones, al 0.12 % y al 0.2 %, los especialistas recomiendan su uso en el tratamiento de padecimientos periodontales (caso de los enjuagues bucales) realizando un buche con 10 ml de producto a una concentración del 0.2 % y de 15 ml al 0.12 %, con esto la dosis total de Chx administrada en 10 ml al 0.2 % será de 20 mg y 15 ml al 0.12 % libera 18 mg; observándose que los resultados con ambas formulaciones son igual de efectivos (Morante, 2003).

La adición de GluChx dentro de la formulación con HPMC en un porcentaje de 1 % p/v, supuso una cantidad teórica de 0.8080 mg/cm² por lo que una laminilla cortada según las dimensiones descritas en la parte experimental, contendría una concentración teórica de alrededor de 32.32 µg/ml de Chx según la siguiente ecuación:

$$Chx \frac{\mu g}{ml_t} = \frac{5cm^2}{25ml} * \frac{2ml}{10ml} * \frac{0.8080mg}{cm^2} * \frac{1000\mu g}{1mg} = 32.32$$

Para el caso de la formulación con quitosán el porcentaje adicionado de GluChx fue de 3 % p/v; es decir, una cantidad teórica de 2.4242 mg/cm² que equivaldría a una concentración teórica de 96.96 µg/ml de GluChx.

$$Chx \frac{\mu g}{ml_t} = \frac{5cm^2}{25ml} * \frac{2ml}{10ml} * \frac{2.4242mg}{cm^2} * \frac{1000\mu g}{1mg} = 96.96$$

Tabla No. 37. Resumen Estadístico para Concentración GluChx (HPMC)

LOTE	RECUENTO	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN	MÍNIMO	MÁXIMO	RANGO
HPMC1	10	26.4217	0.6184	2.34 %	25.6596	27.8886	2.2289
HPMC2	10	26.1596	0.4875	1.86 %	25.2078	26.9548	1.7469
HPMC3	10	26.4639	0.5343	2.01 %	25.8705	27.5572	1.6867
Total	30	26.3484	0.5475	2.07 %	25.2078	27.8886	2.6807

Tabla No. 38. Resumen Estadístico para Concentración GluChx (Quitosán)

LOTE	RECUENTO	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN	MÍNIMO	MÁXIMO
QUITOSAN1	10	72.6114	0.9007	1.24 %	71.5633	74.3343
QUITOSAN2	10	72.7651	1.0331	1.41 %	71.5934	74.3343
QUITOSAN3	10	73.244	1.3267	1.81 %	71.6235	75.1476
Total	30	72.8735	1.0974	1.50 %	71.5633	75.1476

La cantidad de principio activo incorporado reportó una concentración global promedio de 26.3484 $\mu\text{g/ml}$ y una RSD de 2.07 % para las laminillas de HPMC (Tabla No. 37), para las laminillas de quitosán la RSD resultó de 1.50 % con una concentración de 72.8735 $\mu\text{g/ml}$ (Tabla 38); por lo que las laminillas de la formulación con HPMC mostraron un contenido de GluChx promedio entre los tres lotes de 81.5235 %, mientras que para la formulación con quitosán su contenido resultó de 75.1583 %. Aunque en ambos casos la determinación no se hizo según el método descrito en la FEUM; se puede apreciar que los valores de RSD se situaron por debajo del rango señalado por la farmacopea (≤ 6 %).

La variación encontrada seguramente obedece a los contratiempos presentes durante algunas partes del proceso al igual a lo mostrado en en pruebas anteriores, entre ellos la pérdida del principio activo al momento del mezclclo y vaciado; a pesar de ello, de acuerdo con el análisis de varianza, los resultados del contenido de GluChx en los diferentes lotes en su respectiva formulación, mantuvieron cierta uniformidad pese a los valores de RSD y su bajo contenido (tablas No 39 y 40).

La variación en el peso como en el espesor tiene por consecuencia un factor de incidencia sobre el contenido químico y es de notar que en ambas pruebas los coeficientes de variación resultaron relativamente altos. Sin olvidar el hecho de que si bien el método de moldeo con disolvente es, sin duda alguna el más usado para la elaboración de películas, la uniformidad de contenido es uno de los principales inconvenientes que presenta.

Tabla No. 39. Resumen ANOVA para Concentración GluChx por Lote (HPMC)

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.5433	2	0.2716	0.90	0.4185
Intra grupos	8.1512	27	0.3018		
Total (Corr.)	8.6945	29			

La Tabla No. 39 muestra el resumen del ANOVA para la formulación con HPMC. Puesto que el valor-*P* de la razón-*F* es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de la concentración de GluChx entre los diferentes lotes de HPMC, con un nivel del 5% de significancia (Gráfico 14).

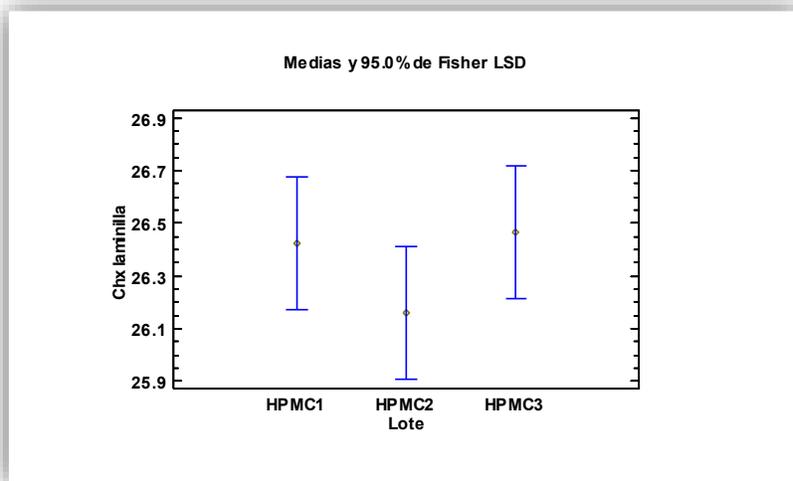


Gráfico 14. Gráfico de medias de Fisher para contenido de GluChx ($\mu\text{g/ml}$) en los distintos lotes de las laminillas de HPMC.

Tabla No. 40. Resumen ANOVA para GluChx por Lote (quitosán)

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2.1768	2	1.0884	0.90	0.4195
Intra grupos	32.7516	27	1.2130		
Total (Corr.)	34.9284	29			

Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de la concentración de GluChx entre los diferentes lotes de quitosán, con un nivel del 5% de significancia (Tabla No. 40, Gráfico 15).

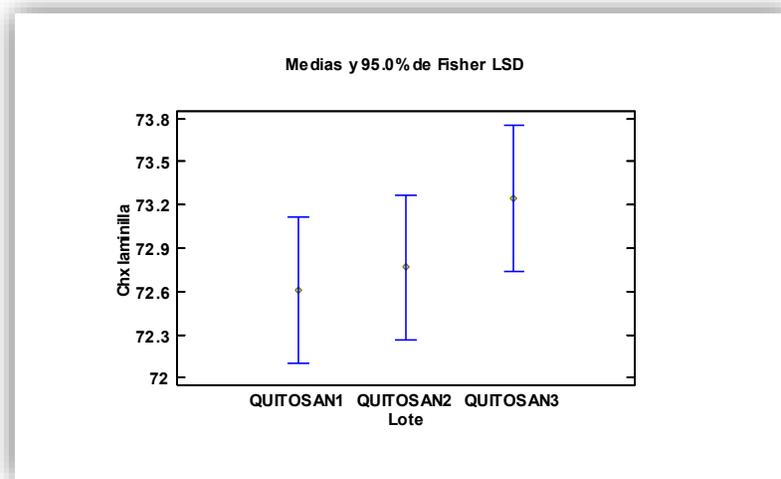


Gráfico 15. Gráfico de Medias de Fisher para contenido de GluChx ($\mu\text{g/ml}$) en los distintos lotes de las laminillas de Quitosán.

Es importante el señalar que según lo descrito por Jenkins y cols. (1994), la inhibición de la placa dental con el uso de Chx se puede presentar con una dosis de tan solo 1 - 2 mg dos veces al día. Incluso en algunos países se han comercializado spray's de Chx a 0.1 % y 0.2 % a los cuales se les realizaron varios estudios, destacando aquel cuya concentración era del 0.2 %, revelando que pequeñas cantidades de aproximadamente 1 - 2 mg aplicados sobre las superficies de los dientes es suficiente para producir la inhibición de la placa.

Estudios farmacocinéticos de Chx contenido en enjuagues bucales, indican que aproximadamente el 30% del principio activo, se retiene en la cavidad oral después del enjuague y la excreción se realiza fundamentalmente por las heces (90%); menos del 1% se excreta por la orina (Bascones y Morante, 2006). Por lo que de considerar presentaciones como los enjuagues bucales una cantidad importante del fármaco se pierde y entre 5 - 6 mg son aprovechados en el tratamiento.

La concentración tomada como referencia a utilizar en la dosificación y preparación de las laminillas se sugirió en base al planteamiento anterior; así como a una serie de dispositivos puestos en el mercado, como el llamado PerioChip® que según describen Briceño y Sánchez (2004), es una lámina que contiene 2.5 mg de GluChx incorporada en una matriz biodegradable.

Dicha matriz está constituida por una mezcla de gelatina hidrolizada, agua purificada y glicerina. Son dispositivos que sirven como medio de liberación lenta tanto para antibióticos como para antisépticos dentro de la bolsa periodontal (Carranza, 2014).

Además, algunos otros autores como es el caso de Solmaz y Korachi, (2012) evaluaron la capacidad de inhibición y propiedades bactericidas de la Chx en las principales especies bacterianas asociadas a la formación del biofilm dental. Sus resultados se exponen en la Tabla No. 41.

Tabla No. 41. Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) y concentraciones mínimas bactericidas (CMB) para gluconato de clorhexidina (GluChx).

MICROORGANISMO	CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
<i>S. mutans</i>	1.5	3.0
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	3.0	6.0
<i>F. nucleatum</i>	6.0	6.0
<i>P. gingivalis</i>	6.0	6.0
<i>Mezcla de bacterias</i>	6.0	6.0



Estos ejemplos contribuyeron al hecho por el cual la cantidad propuesta de GluChx buscaba una concentración efectiva y similar a otras formas farmacéuticas utilizadas y puestas ya en el mercado, de tal forma que las concentraciones sugeridas estaban en 4.0 mg GluChx/ laminilla en el caso de las películas de HPMC y de 12 mg GluChx/ laminilla para las películas de quitosán. Adicionalmente, según menciona Bhupinder y cols. (2011), la dosis de Chx presente en formas de dosificación como las laminillas orodispersables es de 12 mg.

Los resultados obtenidos parecen mostrar cierta similitud aunque algo bajos respecto a los reportados por otros autores como lo es el caso de Sakhare (2012); con un porcentaje de GluChx incorporado del 81.4 %. Juliano y cols. (2008), así como Jones y cols. (2013), con valores de 95.1 % y 91 - 105 % respectivamente.

Es apreciable que los resultados experimentales a pesar de su similitud y prácticamente nula diferencia entre lotes según su formulación, se sitúan por debajo de los ejemplos anteriores, incluso si se toma como referencia lo prescrito por la FEUM (2009), ambas formulaciones entrarían en un intervalo entorno al 75 a 125 % y podrían reportarse como aceptables; señalando además, que de considerar el rango del 85 % las laminillas de HPMC podrían aspirar a este intervalo situándose solo 3.5 % por debajo de lo señalado; sin embargo, con respecto a las referencias descritas, ambas formulaciones a pasar de las pérdidas mostradas, aún se encuentran dentro del parámetro de efectividad contra los microorganismos patógenos involucrados en los padecimientos periodontales.

Dentro de las principales desventajas del método de moldeo se han mencionado aquellas que guardan relación con ciertos pasos durante el proceso y a las características de los ingredientes en la formulación y su dependencia entre sí, haciendo que la uniformidad de contenido no sea la excepción.

Varios autores hacen hincapié en el cuidado que se debe tener sobre las características reológicas de la solución formadora de película, así como a la formación de burbujas previas al secado, ya que en ambos casos el peso y la variación del fármaco contenido en las películas presentara problemas, en el primero de los casos por la diferencia en el volumen contenido dentro de los moldes por la pérdida durante el vaciado y el segundo debido la ocupación de volumen adicional por el aire atrapado dentro de las burbujas al provocar el desplazamiento del gel y el fármaco sobre otros sectores de la laminilla, teniendo en consecuencia concentraciones altas en algunos sitios y bajas en otras (Morales y Mckomville, 2011).

En ambas formulaciones la incorporación del GluChx como su distribución no reporto mayores contratiempos, resultando uniformes; sin embargo, particularmente las laminillas de quitosán mostraron una cantidad incorporada del principio activo baja con respecto a lo esperado.

2.8 Tiempo de Desintegración

Una película que se disuelve fácilmente en la cavidad oral es generalmente denominada como una película orodispersable según la *European Medicines Agency* (EMA) o simplemente como una película soluble según la FDA. Por lo general, las películas orales de disolución rápida son muy delgadas, con un tamaño que bien puede ser comparable con el de un sello postal que se disuelve en el interior de la boca en un periodo de tiempo que no sobrepasa el minuto (Karki y cols., 2016).

Este fue el caso de las laminillas de HPMC las cuales presentaron un tiempo de desintegración ligeramente inferior a los 60 s. Para su determinación se utilizó un aparato desintegrador de tabletas tipo USP con ligeras modificaciones sobre la canastilla, con 900 ml de FSS a 37 ± 0.5 °C. Los resultados se muestran en la Tabla No. 42.

Tabla No. 42. Resultados experimentales para la prueba de Desintegración (HPMC)

Laminilla	LOTE 1 Tiempo (s)	LOTE 2 Tiempo (s)	LOTE 3 Tiempo (s)
1	48	49	48
2	49	48	49
3	48	48	48
4	48	47	51
5	51	49	49
6	48	48	48
X	48.6	48.1	48.8
DESVEST	1.2110	0.7527	1.1690
CV	2.49 %	1.56 %	2.39 %

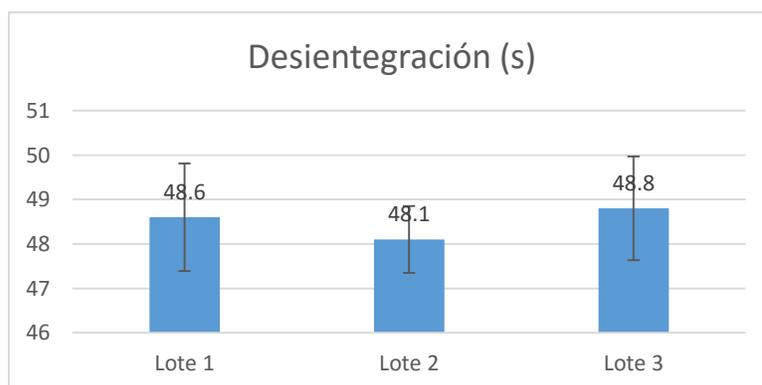


Gráfico 16. Tiempo de desintegración para los tres lotes de la formulación con HPMC.



Tabla No. 43. Medias por Mínimos Cuadrados para Desintegración con Intervalos de Confianza del 95.0%

NIVEL	CASOS	MEDIA	ERROR EST.	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
MEDIA GLOBAL	18	48.5556			
LOTE					
HPMC1	6	48.6667	0.4346	47.7403	49.5930
HPMC2	6	48.1667	0.4346	47.2403	49.0930
HPMC3	6	48.8333	0.4346	47.9070	49.7597

El tiempo requerido para la desintegración de las películas se situó por debajo de los 60 s con valores promedio de 48.66, 48.16 y 48.83 s respectivamente (Tabla No. 43); durante este tiempo, en su zona circundante comenzaban a hacerse visibles los signos de la desintegración, pero manteniendo la integridad hasta superado el minuto, momento en el cual ya era más que evidente la fractura o fracción de la laminilla en unidades más pequeñas.

Se enlistan algunos autores que reportan valores similares para este tipo de sistemas, tal es el caso de Buchi y cols. (2013), quienes señalan valores máximos de 1.66 s en laminillas elaboradas con HPMC cargadas con sulfato de salbutamol, implementando un método propuesto conocido como “método de goteo” y de 33.66 s con el “método de caja Petri”. Chaudary y cols. (2013), prepararon laminillas de HPMC y pulluano que contenían clorhidrato de ganisetrón encontrando tiempos de desintegración para todas las formulaciones menores a los 60 segundos. Mientras que Rajesh y cols. (2014), registraron valores de 57 segundos para lotes preparados con HPMC.

Para asegurarse si los resultados obtenidos gozaban de similitud entre los distintos lotes, se procedió a un análisis de varianza con los datos anteriores. Los resultados obtenidos aparecen descritos en la siguiente tabla.

Tabla No. 44. Análisis de Varianza para Desintegración - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
Lote	1.4444	2	0.7222	0.64	0.5425
RESIDUOS	17.0000	15	1.1333		
TOTAL (CORREGIDO)	18.4444	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Con base en los resultados de la Tabla No. 44 al obtener un valor-P mayor que 0.05 se comprueba que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los tiempos de desintegración y los tres lotes de la formulación de HPMC, con un nivel de 5 % de significancia. Con ello se asegura que todos los lotes reportan la uniformidad

en sus resultados y que gozan de repetibilidad. Dicha afirmación se ejemplifica en el gráfico de medias al apreciarse que los tres lotes comparten rangos (Gráfico 17).

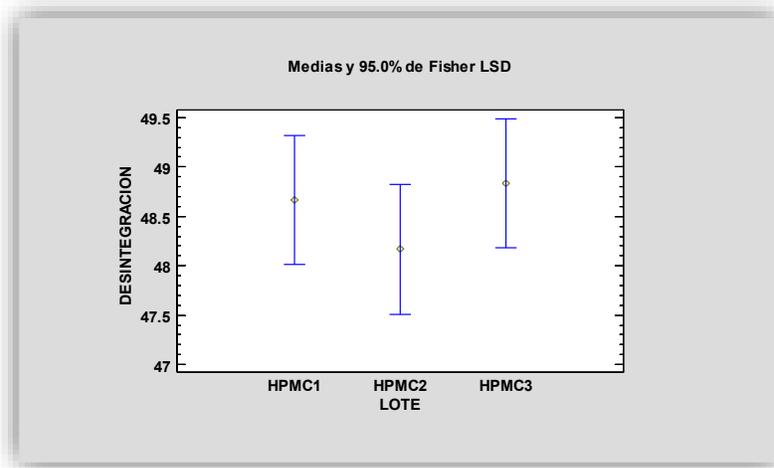


Gráfico 17. Gráfica de Medias de Fisher para HPMC (Desintegración).

Unas de las posibles razones para la pronta desintegración de las laminillas es la relacionada con la cantidad de HPMC incorporado. Un aumento en la concentración de este polímero hace que la matriz sea más hidrófila y por tanto sea capaz de adherirse mejor a la mucosa oral como de desintegrarse más rápidamente (Tedesco y cols., 2016).

Tedesco y cols. (2016), en una formulación compuesta por HPMC y concentraciones variables de gelatina (GEL), presenciaron valores cambiantes en los tiempos de desintegración conforme la cantidad de HPMC era modificada; a pesar de ello, ninguno sobrepaso los 60 s (34.43 ± 3.19 s, 21.64 ± 0.81 s, 19.86 ± 1.05 s). Por su parte Kundu y cols. (2008), obtuvieron un resultado distinto (03.67 ± 0.31 min) con una formulación de HPMC y PEG-400, en su proyecto titulado *Design, fabrication and characterization of silk fibroin-HPMC-PEG blended films as vehicle for transmucosal delivery*.

En cuanto a la solubilidad de las películas de quitosán, el peso molecular de este biopolímero afecta drásticamente esta propiedad fisicoquímica; cuanto menor es el peso molecular del quitosán mayor será su solubilidad. Por el contrario, si el peso molecular es mayor habría un aumento de las fuerzas intermoleculares entre los diferentes grupos funcionales en su estructura y las moléculas de agua a través de puentes de hidrogeno, sin modificar su estructura química (Xie y cols., 2007).



Del mismo modo, el comportamiento soluble del quitosán también depende del grado de desacetilación, la distribución de los grupos acetilo a lo largo de la cadena y la naturaleza del medio usado para la protonación en la etapa de disolución (Bof y cols., 2015).

La desacetilación completa de la quitina produce un material totalmente soluble en medio ácido conocido como quitano; sin embargo, cuando la desacetilación del material de partida es parcial o incompleta se crea una mezcla de cadenas que tienen distintas proporciones de unidades $\beta(1-4)$ - 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y $\beta(1-4)$ -2-amino-2-desoxi-D-glucosa, generando materiales con distintas propiedades (quitosán). La diferencia en las propiedades de estos materiales puede llegar a ser notable, como por ejemplo la distinta solubilidad en medio acuoso que pueden llegar a tener (Lárez, 2003).

Este polímero además de presentar grupos amino también posee grupos acetilamino (Hernández, 2004), que permanecieron después de las desacetilación de la quitina, los cuales le dan las cualidades hidrófobas; por lo que la captación de agua y el fenómeno de hinchamiento ocurren, no obstante la desintegración y solubilidad no son posibles.

La solubilidad de este biopolímero también se ve condicionada por el pH del medio a uno no mayor a 6.5 donde la especie ionizada del quitosán está presente y por consecuencia soluble; razón por la cual, al ser un valor superior el utilizado durante la prueba la desintegración es prácticamente nula, puesto que las pruebas consideran el pH del FSS como valor de referencia.

Blanquicet y cols. (2015), observaron que la concentración de quitosán fue factor en la variación de los niveles de solubilidad en diferentes preparaciones de películas con lactosuero. A medida que se incrementaba la concentración de quitosán la solubilidad de las películas disminuía notablemente. Incluso Aldana y cols. (s. f.), observaron que después de evaluar el hinchamiento de películas a distintos pH's con este polímero estas permanecían sin mostrar signos de desintegración o disolverse aun después de transcurridos 7 días.

En formulaciones de quitosán y almidón, García y cols. (2006), observaron que la presencia de glicerol favorecía a la solubilidad de las películas, según mencionan, al tratarse este último de un material higroscópico presenta una mayor afinidad por el agua debido a los tres grupos funcionales que posee la molécula (-OH), aumentando por consecuencia su solubilidad en comparación con aquellas mezclas que no lo tienen.

Esto haría suponer que la integridad de las películas de quitosán estuviera asociada a las interacciones intermoleculares por puentes de H entre los grupos amino (-NH₂) del quitosán e hidroxilo (-OH) del glicerol



mantiéndose intactos; y únicamente las interacciones entre la GluChx y el glicerol fueran las que se solubilizaran con el medio.

Experimentalmente se observó que aun cuando las películas de quitosán no manifestaban desintegración incluso después de 24 h, Estas además del aumento en sus dimensiones se tornaban frágiles y quebradizas, por lo que lo anterior cobra mayor sentido si se asume que la glicerina entre sus principales propósitos, es la de proveer de flexibilidad y resistencia a las laminillas; por tanto, de solubilizarse junto con el GluChx en el medio, haría viables dichas apreciaciones, manteniéndose integro únicamente el quitosán como una matriz porosa.

2.9 pH

La determinación del pH se realizó a diez muestras seleccionadas de forma aleatoria a cada uno de los lotes. Debido a que no existe un lineamiento oficial que muestre como llevar a cabo dicha determinación, se optó por hacer su medición colocando una de las laminillas en FSS y sometiéndola a agitación hasta total disolución, a dicha solución se le determino el valor de pH con un potenciómetro.

Esta variante de prueba se implementó únicamente a las películas elaboradas con HPMC, puesto que las características del polímero lo hacían posible; en el caso de las películas de quitosán debido a su nula solubilidad con el medio la técnica utilizada fue distinta, siguiendo una variante a lo implementado por Irfan y cols. (2015); con base en ello, el parámetro se determinó colocando sobre una caja Petri una de las películas y humedeciéndola con FSS para realizar la medición de los valores de pH al contacto, tocando la película en su superficie con un electrodo medidor de pH o tiras reactivas.

Los resultados experimentales se muestran en la Tabla No. 45 y el Gráfico 18.

Tabla No. 45. Resultados experimentales para la prueba de pH

	HPMC			Quitosán		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
1	7.33	7.33	7.34	7.00	7.00	7.00
2	7.3	7.3	7.33	7.00	7.00	7.00
3	7.33	7.33	7.36	7.00	7.00	7.00
4	7.34	7.32	7.33	7.00	7.00	7.00
5	7.36	7.33	7.35	7.00	7.00	7.00
6	7.33	7.34	7.33	7.00	7.00	7.00
\bar{X}	7.33	7.325	7.34	7.00	7.00	7.00
DESVEST	0.0194	0.0137	0.0126	0.00	0.00	0.00
CV	0.26 %	0.18 %	0.17 %	0.00	0.00	0.00

El pH se determinó con tiras reactivas*

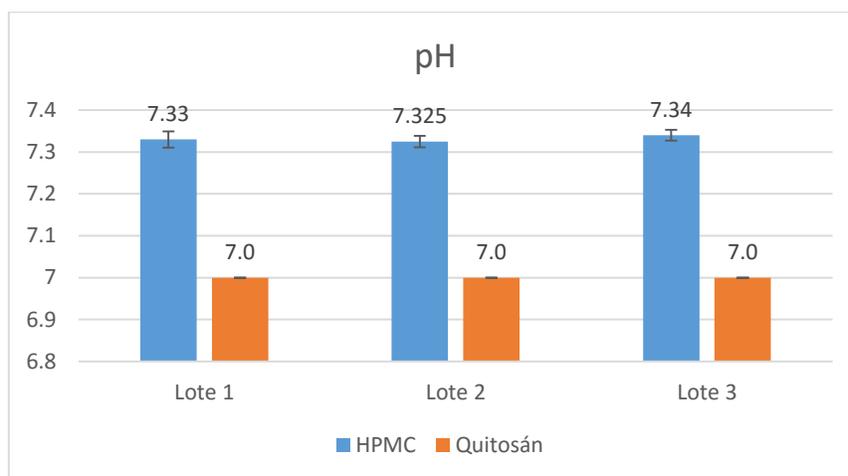


Gráfico 18. pH para cada uno de los lotes y su respectiva formulación.

Los valores reportados en la Tabla No. 45 muestran los resultados experimentales de la prueba de pH con un promedio de 7.33 ± 0.0194 en las laminillas de HPMC. Si se considera que la solución en la cual fue disuelta la laminilla poseía un valor inicial de pH 6.8; con la laminilla integrada y perfectamente solubilizada se presentó un ligero aumento en el pH del medio. Este incremento muy probablemente esté vinculado a la naturaleza propia de la molécula como lo menciona en su artículo Anroop y cols. (2013), quienes indican que la naturaleza química del fármaco y los excipientes influyen en el pH de las laminillas.

Por ejemplo, Yodkhum y Phaechamund (2010), asocia el incremento del pH más al principio activo que al resto de excipientes, mencionando particularmente que estos no intervendrían lo suficiente para que los valores fueran tan marcados y el pH registrado se limitara exclusivamente al actuar de la Chx; sin embargo, existen algunas excepciones y se ha reportado que un incremento en el contenido de la polivinilpirrolidona en laminillas disminuye proporcionalmente el pH (Anroop y cols., 2013).

Tedesco y cols. (2016), en películas orales compuestas de gelatina (GEL) y HPMC reportaron un pH superficial entre 6.21 y 6.73. Jaipal y cols. (2015), en una formulación con HPMC y manitol cargadas con clorhidrato de buspirona obtuvieron valores promedio de 6.59 ± 0.24 a 7.03 ± 0.11 en todas las formulaciones; Alanazi y cols. (2007), reportan valores de entre 5.6 y 6.4 para laminillas cargadas con ketorolaco; Rajesh y cols. (2014), prepararon laminillas con valsartán y encontraron que su valor de pH osciló entre 6.11 y 6.88; mientras que Perumal y cols. (2008), reportan valores de 6.7 a 6.8 para laminillas con clorhidrato de propanolol.



Finalmente Trastullo y cols. (2016), el pH de todos sus preparados se encontró cerca del pH neutro indicando su compatibilidad con el pH bucal y la mucosa oral. Hasta este punto la mayoría de los autores reportan valores muy próximos a los valores de pH de la boca, es decir valores cercanos a 7; neutros, donde los polímeros como el principio activo desempeñan su mejor papel.

Por otro lado en lo que respecta a la molécula activa de Chx; Yodkhum y Phaechemund, (2010) prepararon geles de almidón con GluChx para el tratamiento periodontal y encontraron un aumento en el valor de pH pasando de 4.63 a 5.99 para concentraciones de 0 % p/p y 10 % p/p el cual fue asociado directamente al carácter fuertemente básico de la molécula de Chx, debido a su naturaleza dicatiónica.

Además; de acuerdo a Rowe y cols. (2009), el pH de las soluciones de GluChx tiene un rango de pH de 5 a 7, por lo que de considerar que si la Chx es la encargada de establecer el pH, es lógico el pensar que los valores se deben situar en torno a este intervalo.

El pH y su determinación poseen gran importancia a razón de la preocupación que genera este tipo de sistemas sobre el sitio de aplicación. Películas con valores muy ácidos o muy alcalinos pueden provocar daños sobre la mucosa oral, además de incomodidad al paciente, por lo que lo ideal sería que el valor de este parámetro no sobrepase el intervalo de neutralidad de la saliva humana de 5.8 a 7.5 (Perumal y cols., 2008).

Este mismo valor cobra de nueva cuenta importancia en esta ocasión referente a la efectividad del principio activo incorporado. En función del pH la Chx ejerce su acción frente a diferentes grupos de bacterias; su pH óptimo se encuentra entre 5.5 y 7.0, por lo que con un valor de pH entre 5.0 y 8.0, la molécula es activa frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas.

El pH además facilita que la Chx desarrolle de forma más eficiente los mecanismos de ataque hacia las bacterias indeseables dentro de los tejidos gingivales. Al presentarse como una molécula dicatiónica a pH fisiológico la Chx bloquea los grupos ácidos libres de las glicoproteínas salivales (mucinas), impidiendo la formación de la placa bacteriana. Además de ello, las soluciones de Chx son estables en el intervalo de pH de 5,0-8,0. Por encima de un pH 8,0 la Chx tiende a precipitarse, y en condiciones más ácidas se produce un deterioro de la actividad debido a que es menos estable (Russell y Day (1993).

Considerando el lugar de aplicación, los resultados obtenidos y lo referido por algunos autores; el pH de las laminillas en ambas formulaciones se considera aceptable, debido a que los valores de este parámetro se

mantuvieron dentro del valor de la neutralidad deseada de forma compatible con el pH de la cavidad oral; favoreciendo así tanto la acción de la molécula de Chx como la comodidad y seguridad del paciente.

Sin embargo, lo apresurado de esta afirmación se debe principalmente a la incapacidad de realizar un análisis de varianza a los resultados debido a los distintos métodos utilizados, particularmente sobre la formulación que compete la adición de quitosán. Por lo que el análisis estadístico (varianza) de este parámetro se limitó únicamente a la formulación con HPMC. Los resultados obtenidos aparecen descritos en la siguiente tabla y gráfico 19.

Tabla No. 46. Análisis de Varianza para pH - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
Lote	6.77E-5	2	3.38E-4	1.4000	0.2772
RESIDUOS	3.63E-3	15	2.42E-4		
TOTAL (CORREGIDO)	4.31E-3	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

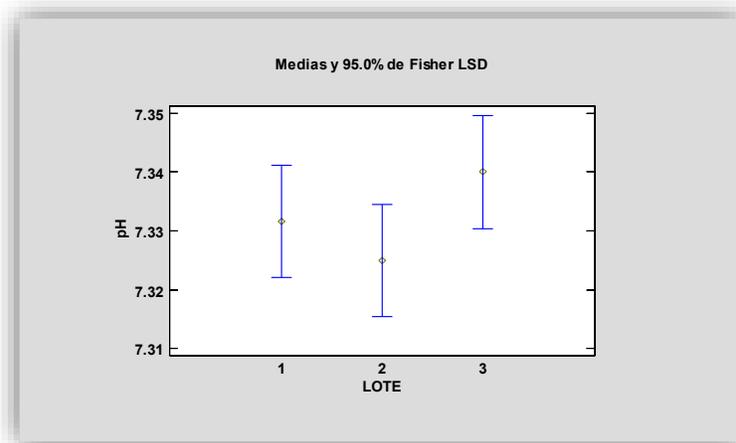


Gráfico 19. Gráfico de Medias de Fisher para pH en los lotes de HPMC.

La Tabla No. 46 como el Gráfico 19 muestran los resultados del análisis de varianza como su representación. En ambos casos no existe una diferencia significativa entre los tres lotes de la formulación de HPMC, con ello se garantiza además de la repetibilidad de la prueba, la homogeneidad de los resultados al reportar un valor-P mayor que 0.05 con un 95.0 % de nivel de confianza.

En el caso de la formulación con quitosán, la determinación del pH presento una dificultad debido a que el uso de un potenciómetro no lo hacía posible, puesto que para que dicho parámetro pudiera ser medido, el electrodo



debía estar sumergido totalmente en la solución que contenía la película, además de que esta última debía encontrarse disuelta en el medio.

Se implementó el uso de tiras reactivas para compensar las dificultades que presentaba el método; sin embargo, el pH superficial de las películas no ofrecen un valor relevante de comparación que permita hacer contraste con aquellas medidas con el potenciómetro, y la razón es que las tiras reactivas contemplan valores absolutos, por lo que los resultados se alejan de la exactitud deseada.

Aunque los métodos implementados fueron totalmente distintos, se puede trabajar bajo criterio y en función de lo planteado con anterioridad, y considerar como aceptable un rango de pH que sitúe a las laminillas en valores consistentes promedio cercanos a los valores normales encontrados dentro de la boca, así como los valores a los cuales el fármaco utilizado ejecute de forma eficiente su objetivo como molécula activa contra las bacterias indeseables.

Con todo ello, la lectura registrada en las películas de quitosán realmente no presentaron un cambio drástico con respecto a los valores reportados por las laminillas de HPMC, pues aun considerando valores absolutos, estos se mantuvieron dentro del parámetro de neutralidad requerido.

2.10 Perfiles de Liberación *in vitro* en Laminillas de Quitosán

La liberación de un fármaco a partir de una matriz gelificada es un fenómeno complejo que involucra una serie de pasos serializados que dan inicio con la penetración del medio, la relajación de las cadenas poliméricas, el hinchamiento, las interacciones entre fármaco y los excipientes y finalmente la disolución y difusión del fármaco a través de la matriz hidratada (Trastullo y cols., 2016).

La cinética de liberación de un fármaco contenido en un polímero matriz, depende en gran medida de las propiedades fisicoquímicas de los materiales, así como la morfología del sistema (Karki y cols., 2016).

Para la evaluación de este parámetro, se colocó una laminilla de quitosán con un valor de área de 1 cm² en el interior de un frasco con tapa de baquelita, con un volumen conocido de FSS a 37 ± 0.5 °C y sometido a agitación. De la muestra, fueron tomadas una serie de alícuotas a diferente tiempo las cuales fueron leídas espectrofotométricamente a 263 nm, los resultados obtenidos permitieron la construcción de un gráfico del % libertado de GluChx con respecto al tiempo.

La liberación *in vitro* del GluChx se realizó en condiciones de inmersión total como se muestra en la figura 24. La prueba se repitió en tres ocasiones, cada una de ellas perteneciente a un lote distinto bajo las mismas consideraciones.



Figura 24. Montaje de la prueba de Liberación en FSS.

Una primera parte del estudio sobre los resultados comprendió un análisis de varianza con el propósito de asegurar o descartar la uniformidad de los datos. Los resultados aparecen en la Tabla No. 47. Los datos completos de las liberaciones aparecen en el ANEXO B.

Tabla No. 47. Análisis de Varianza para % Liberado Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
LOTE	46.3981	2	23.199	0.0300	0.9690
RESIDUOS	44109.5	60	735.159		
TOTAL (CORREGIDO)	44155.9	62			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla anterior muestra que de acuerdo al valor-P (0.9690) ninguno de los lotes tiene un efecto estadísticamente significativo sobre % Liberado con un 95.0 % de nivel de confianza al resultar mayor a 0.05, lo que garantiza la uniformidad de los resultados en las tres liberaciones.

El gráfico 20 complementa lo descrito en el análisis de varianza al mostrar que las liberaciones asociadas a cada uno de los lotes evaluados comparten rangos y las medias entre ellos son similares haciendo que diferencia sea despreciable.

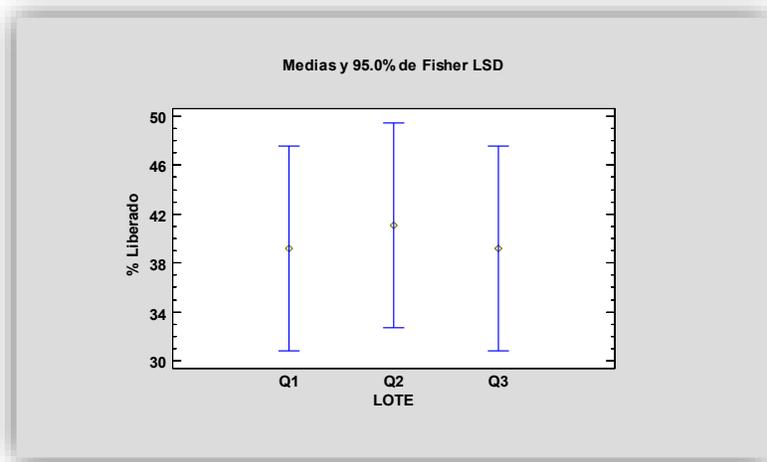


Gráfico 20. Gráfico de Medias de Fisher para las Liberaciones de los tres lotes.

La liberación del GluChx únicamente se realizó a las laminillas de quitosán, la decisión se tomó considerando que a diferencia de estas, las laminillas de HPMC se solubilizaban en el medio en un lapso no mayor a un minuto, por lo que de evaluar este parámetro por el método propuesto los resultados no tendrían un valor representativo.

En un proyecto previo, Almonaci (2016), evaluó la liberación de una solución de GluChx en FSS pH 6.8, encontrando que la cantidad máxima liberada del fármaco se presentaba a los 90 minutos. Adicionalmente observo que el 51.71 % del fármaco se liberaba al medio a los tres minutos de iniciada la prueba. Es importante el señalar que la medición de los perfiles de liberación los realizó utilizando el método de diálisis con membranas.

Por lo que respecta a la liberación del fármaco desde las películas de quitosán, se observó que la cantidad máxima liberada del principio activo se alcanzó cumplidos 480 min; es decir, que comparativamente con la liberación de la solución de GluChx, las laminillas lograron prolongar su salida al medio por 6.5 h más (Gráfico 21).

La cantidad liberada hasta ese punto en las tres liberaciones fue de 1.5853 mg de Chx en promedio, lo que supondría que la cantidad liberada por laminillas fue de 7.9266 mg de Chx, en ocho horas. También es apreciable que a diferencia de la liberación descrita por Almonaci, (2016) donde menciona que la Chx se liberó en aproximadamente 3 min en un total de 50 %, esta misma cantidad se alcanzó en las laminillas de quitosán en un intervalo de tiempo mayor, de 25-30 min.

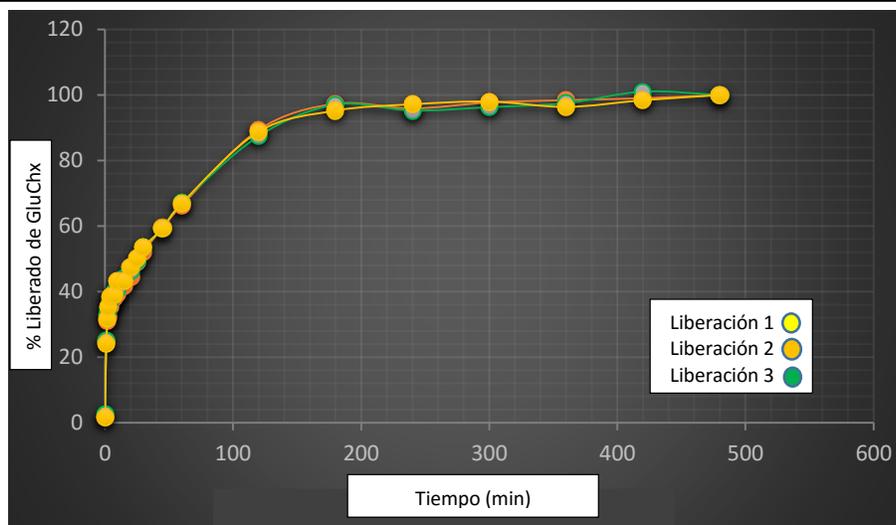


Gráfico 21. Perfiles de liberación del GluChx desde las laminillas de quitosán, % liberado vs tiempo (min).

El gráfico 21 muestra que el GluChx en las laminillas de quitosán presentaba una liberación rápida que comenzaba tan pronto y entraban en contacto con el medio durante los primeros minutos (no mayores a 30 min). Este fenómeno recibe el nombre de efecto “burst” donde básicamente se observa una liberación de característica bifásica; es decir, con una liberación inicial de principio activo rápida y de gran cantidad, seguida de una liberación mucho más lenta con tiempos de liberación más prolongados y cantidades menores y constantes.

Dicho fenómeno bien puede obedecer a situaciones presentes durante la prueba, como lo es la velocidad de agitación; debido a que es comprensible que al aumentar dicha variable se favorece el efecto gradiente entre la matriz polimérica que contiene al principio activo y el medio de disolución, facilitando la rápida salida del fármaco hacia el exterior (Fernández-Pan y cols., 2015).

Fernández-Pan y cols. (2015), lograron observar que la notable velocidad de liberación de carvacol contenido en películas a base de quitosán, se presentó desde el comienzo de las pruebas por encima de otras cinéticas reportadas en la literatura. Atribuido principalmente a dos razones; la acción del plastificante dentro de la formulación y la velocidad de agitación durante la prueba.

Los resultados experimentales obtenidos en la formulación de GluChx- quitosán sugieren que si bien el factor asociado a la velocidad de agitación podrían incidir sobre la liberación del fármaco, la presencia de glicerol también desempeña un rol dentro de la misma; esto último a razón de que el polímero utilizado como plastificante trabaja interrumpiendo la formación de fuerzas intermoleculares entre las cadenas de quitosán, promoviendo



que la matriz estructural se abra, facilitando la penetración del medio y la salida del fármaco hacia el exterior (Kurek y cols., 2012).

Otra de las posibilidades es aquella que involucra la distribución del fármaco sobre la laminilla, de tal modo que al ocupar la parte más externa, se promueve con mayor facilidad su contacto y solubilidad con el medio. De nueva cuenta el llamado efecto *burts* cobra relevancia en esta ocasión según la definición de Freire y cols., (2014), quienes mencionan que dicho suceso se presenta debido a la liberación de fármaco existente en la superficie del sistema matricial o a cambios en su estructura, permitiendo una liberación inmediata del fármaco.

Según lo descrito por Tang y cols. (2014), la cantidad liberada de ibuprofeno contenido en una matriz polimérica compuesta por quitosán resultó proporcional a su valor de capacidad de carga, en tales casos observaron que en aquellas muestras que presentaban una mayor cantidad de fármaco alcanzó una mayor cantidad liberada. La razón según describen es que el ibuprofeno contenido en la película se extendió tanto en la superficie como en el interior de la película.

En lo realizado experimentalmente, tan pronto las películas de quitosán fueron sumergidas en el medio de disolución, el fármaco comenzaba a liberarse de forma rápida; esto seguramente vinculado a la velocidad de agitación y a la cantidad de GluChx presente en su superficie, ocasionando la liberación del GluChx atrapado en el interior de la laminilla a tiempos mayores; Además, la rápida hidratación e hinchamiento de la película bien pudo causar un desenredo en las cadenas poliméricas, permitiendo una fácil difusión del fármaco de la matriz hacia el medio (Tang y cols., 2014).

Los mecanismos cinéticos más importantes que regulan la velocidad de liberación de un fármaco dentro de un sistema polimérico son la *difusión*, el *hinchamiento* y la *erosión* (Andretta, 2003). Con el propósito de definir el tipo de mecanismo de liberación al cual se ajusta el GluChx en las laminillas, se realizó una serie de tratamientos a los datos dentro de los cuales están; modelos cinéticos de orden 0 (M_t vs t), orden 1 ($\ln M_t$ vs t), ley de potencia de Korsmeyer-Peppas ($\ln M_t/M_a$ vs $\ln t$) ecuación de Higuchi (M_t/M_a vs \sqrt{t}), ecuación de Hixson-Crowell ($3\sqrt{M_a - M_t}$ vs t) y modelo de Weibull ($\ln(-\ln(1 - M_t/M_a))$ vs $\ln t$).

La cantidad máxima de fármaco liberado en el equilibrio (M_a) fue tomada como el 100 %, se calculó el porcentaje de GluChx liberada a cada tiempo y se procedió a la construcción de una serie de gráficos según el modelo en cuestión (ANEXO B). Se consideró además al coeficiente de determinación (r^2) como criterio comparativo. Los resultados aparecen en la siguiente tabla.

Tabla No. 48. Resultados de Liberación *in vitro* con ajustes en el tiempo en los dientes modelos cinéticos

PRUEBA	Orden 0		Intervalo tiempo (min)	Orden 1		Intervalo tiempo (min)	Korsmeyer-	Peppas	Intervalo tiempo (min)
	k0	r ²		k1	r ²		n	r ²	
1	0.0245	0.2742	0 - 480	0.0007	0.1506	0 - 480	0.3672	0.9940	15 - 120
2	0.0236	0.2743		0.0007	0.1585		0.3352	0.9890	
3	0.0211	0.2413		0.0007	0.1280		0.3399	0.9906	
PRUEBA	Higuchi		Intervalo tiempo (min)	Hixson-Crowell		Intervalo tiempo (min)	Weibull		Intervalo tiempo (min)
	K _H	r ²		k _{H-C}	r ²		b	r ²	
1	0.0655	0.9955	10 - 180	-0.1777	0.9985	10 - 180	0.6911	0.9389	10 - 180
2	0.0610	0.9962		-0.1705	0.9995		0.6517	0.9347	
3	0.0605	0.9870		-0.1552	0.9921		0.6108	0.9324	

Se decidió realizar un ajuste y contemplar la liberación del fármaco a ciertos intervalos de tiempo y de acuerdo a los criterios y limitaciones de los modelos seleccionados. La Tabla No. 48 muestra los valores resultantes observando que el mejor ajuste se obtuvo en los modelos de Higuchi, Korsmeyer-Peppas y Hixson-Crowell ($r^2 > 0.99$).

El modelo cinético de orden 0 se aplica a aquellas formas farmacéuticas que no se desintegran y liberan el fármaco lentamente como el caso de sistemas que contienen fármacos de baja solubilidad en agua, sistemas osmóticos, entre otros. Y son aquellos sistemas cuya velocidad de liberación es independiente de la concentración.

Por su parte, el modelo cinético de orden 1 explica la liberación de fármacos hidrofílicos incluidos en matrices porosas, en donde la liberación es dependiente de la concentración del fármaco en el sistema (Dash y cols., 2010). En este caso tanto el gráfico como el valor de r^2 promedio (orden cero, 0.2632 y orden uno 0.1457) demostraron que ninguno de los modelos explica el comportamiento del principio activo en la laminilla y no se ajusta, principalmente en función al valor resultante en su coeficiente de determinación en ambos casos ($r^2 < 0.95$) por lo que se descarta su uso.

Para el caso del modelo de Korsmeyer-Peppas, el valor del coeficiente de determinación promedio fue de 0.9912. Este modelo surge con el propósito de mejorar la explicación de los fenómenos de liberación que el modelo de Higuchi presenta debido a sus limitaciones. Korsmeyer y Peppas desarrollaron una expresión simple relacionando el valor exponencial del fármaco liberado con el tiempo y adicionando un valor “*n*” conocido como exponente de difusión, el cual es utilizado para caracterizar el mecanismo de liberación del fármaco. En resumen, se trata de un modelo cinético que describe el mecanismo de liberación en sistemas poliméricos en



relación a la geometría de la matriz y si el sistema es hinchable o no (Freire y cols., 2014). En este modelo la dependencia de la velocidad de liberación con el tiempo es igual a:

$$Mt / M_{\infty} = k . t^n$$

Donde k es una constante que incorpora características estructurales y geométricas del mecanismo y n, es el exponente de liberación, indicando de acuerdo al valor numérico que tome, cuál es el mecanismo de liberación que ocurre (Andretta, 2003).

Para valores de n entre 0.5 y 1.0 se observa una difusión anómala (no-fickiana) y el proceso está dominado por los procesos de difusión-relajación de las cadenas poliméricas. En el caso en que n = 1.0, el mecanismo de transporte es conocido con el nombre de tipo II y es particularmente interesante debido a que la migración del soluto se realiza a velocidades constantes y es puramente controlada por la relajación de las cadenas; finalmente si n = 0.5, el mecanismo principal de la liberación es la difusión. En la Tabla No.49 y 50 se muestran los posibles mecanismos que se pueden observar en la liberación controlada de un compuesto activo utilizando una matriz hidrófila como sistema regulador (Escobar y cols., 2002).

Tabla No. 49. Mecanismos de transporte desde Sistemas Matriciales de acuerdo al modelo Korsmeyer-Peppas.

Forma geométrica	Exponente de difusión		Mecanismo de liberación del fármaco
	Matriz hinchable	Matriz no hinchable	
Película	0.5	0.5	Difusión
	0.5<n<1.0	0.5<n<1.0	Transporte anómalo
	1.0	1.0	Transporte Caso II
	>1	>1	Súper transporte Caso II
Cilíndrica	0.45	0.5	Difusión
	0.45<n < 0.89	0.45<n<1.0	Transporte anómalo
	0.89	1.0	Transporte Caso II
	>0.89	>1	Súper transporte Caso II
Esférica	0.43	0.43	Difusión
	0.43<n<0.85	0.43<n<1.0	Transporte anómalo
	0.85	1.0	Transporte Caso I
	>1	>1	Súper transporte Caso II I

Tabla No. 50. Tipo de Liberación de acuerdo al mecanismo de transporte de según el modelo de Korsmeyer-Peppas.

Mecanismo de liberación del fármaco	Tipo de liberación
Difusión	Dependiente del tiempo $f(t^{1/2})$
Transporte anómalo	Dependiente del tiempo $f(t^n)$
Transporte Caso II	Independiente del tiempo
Súper transporte Caso II	Dependiente del tiempo $f(t^n)$



En el caso particular de este modelo y los resultados obtenidos apuntan a que el comportamiento de liberación es por difusión y dependiente del tiempo, esto último con base al valor del coeficiente de difusión obtenido el cual resulto de 0.3474 en promedio; sin embargo, este valor al situarse por debajo de 0.5 bien podría obedecer a una difusión anómala, esta última afirmación se da en el sentido de que el exponente no corresponde con 0.5, lo cual comúnmente sucede en algunas formas farmacéuticas tipo matriz en donde se involucra más de un mecanismo de transporte (erosión, hinchamiento, etc.) (Villalobos, 2005) y que bien podrían asociarse a la presencia de poros en la matriz, y la difusión simultánea del fármaco a través de la matriz y los poros llenos de medio de disolución (Viseras, 2008).

Esto quiere decir que si hay suficiente fármaco para mantener una concentración interna mayor que la del medio externo, la velocidad de difusión del fármaco a través de la película se mantiene constante y sale al medio con el trascurso del tiempo.

Para lo referente al modelo propuesto por Higuchi se obtuvo un valor de r^2 promedio de 0.9929. Higuchi fue el primero en postular un modelo matemático para describir la liberación de fármacos desde sistemas matriciales planos y heterogéneos controlados por difusión y cuya concentración de fármaco es menor que su solubilidad y donde la liberación ocurre a través de poros. El modelo está dado por la siguiente ecuación:

$$f_t = Q = \sqrt{\frac{D\delta}{\tau} (2C - \delta C_s) C_s t}$$

En donde D es el coeficiente de difusión del fármaco en el solvente, δ es la porosidad de la matriz, τ es la tortuosidad y Q , A , C_s y t son la fracción liberada, el área superficial de la matriz y la solubilidad del fármaco, respectivamente. Higuchi basó su modelo en la primera ley de Fick planteando un estado estacionario ($C \gg C_s$ y condiciones "sink"), por lo que el transporte del fármaco está regido por procesos de difusión (Viseras, 2008).

Este modelo según describe Talevi y cols., (2016) a pesar de las fuertes limitaciones que presenta asociadas a: 1) la concentración inicial del fármaco en el sistema es mucho mayor que la solubilidad en el mismo (condición de estado pseudo estacionario-condición sink); 2) el análisis matemático se basa en una difusión unidimensional; 3) el tamaño de partícula del fármaco suspendida en el sistema no es significativo frente al espesor del sistema; 4) es despreciable el hinchamiento y disolución del polímero; 5) la difusividad del fármaco es constante y 6) en todo el proceso de liberación se mantiene la condición sink; sigue siendo uno de los más utilizados debido a su simplicidad.



Se podría decir que este modelo se puede aplicar con mayor exactitud a aquellas matrices unidimensionales tales como películas de polímeros poco solubles que no sufran hinchamiento, y donde el principio activo es muy soluble (Andreetta, 2003).

El mecanismo propuesto sugiere que las moléculas disueltas en el sistema (laminillas), difunden hacia el sitio de absorción, que en este caso estaría representado por el medio de disolución en el exterior de la película. Al existir una cantidad en exceso de fármaco disuelto en el sistema, tiene lugar una disolución parcial de las partículas cercanas a la superficie, reponiendo el fármaco que difundió fuera del sistema. Eventualmente, las partículas cercanas a la superficie terminan de disolverse y solo entonces los niveles de fármaco disuelto en esta región del sistema de liberación caen por debajo de la solubilidad en el mismo. Al acabarse el fármaco en las inmediaciones de la superficie expuesta, las moléculas en regiones más alejadas de la superficie comienzan a difundir. En esta nueva zona del dispositivo la concentración de fármaco permanecerá constante mientras haya partículas del principio activo sólido en equilibrio con moléculas de fármaco disueltas, todo esto hasta que se acabe el fármaco en el dispositivo (Talevi y cols., 2016).

Por lo que respecta al modelo propuesto por Hixson y Crowell mostro un coeficiente de determinación promedio en las tres liberaciones de 0.9967, este resultado plantea una duda debido a que este modelo se ha empleado para el ajuste de datos de liberación, asumiendo que la forma geométrica inicial se mantiene constante y se produce una disminución de superficie asociada a la disolución de la forma farmacéutica. Es decir, que la liberación de un principio activo ocurre desde matrices que experimentan erosión (Viseras (2008; Andreetta, 2003).

Aun cuando no se observó el decremento del área en la laminilla a lo largo de la prueba debido a la alta hidrofobicidad del filmógeno. La posible razón para el registro de un valor de $r^2 = 0.9967$ en este modelo, implicaría según su definición, una disminución de la laminilla debido a la erosión relacionada a la solubilidad de algunos de los ingredientes presentes en su estructura como el caso del glicerol. Incluso aunque el quitosán es en teoría insoluble, también existe la posibilidad de que una pequeña parte se erosionara, pese a lo apreciado experimentalmente. Autores como Tang y cols. (2014), que utilizan este tipo de biopolímero en películas, se percataron de la erosión de una parte de estas alrededor de un 41.1 % después de permanecer inmersas dos horas en medio salival, por lo que esté bien podría ser el caso de lo ocurrido experimentalmente aunque en un porcentaje menor.



Finalmente con respecto al modelo propuesto por Weibull que permite el estudio estadístico de poblaciones diversas. Se observó con base al coeficiente de determinación promedio ($r^2 = 0.9353$); desde un punto de vista cualitativo podría considerarse razonable con respecto al valor de b (0.5957) que al resultar ($b < 1$) es característico de una curva con efecto “burst” inicial, correspondiente a la liberación del fármaco retenido en la superficie de la películas; es decir que los datos presentan dos tendencias asociadas a dicho efecto, ya que después de este evento la velocidad de liberación disminuyó.

Los resultados obtenidos por Trastullo y cols., (2016) para la liberación de ondasetrón (ODS) contenido en diferentes mezclas y proporciones de filmógenos como lo es el HPMC: CH (quitosán), HPMC: GEL y HPMC: HA en películas, fueron evaluadas en cuanto a liberación. Todas las formulaciones en sus respectivas combinaciones exhibieron una liberación prolongada del fármaco. Además las formulaciones de HPMC: CH 10:0 y HPMC: CH 5:5 la cantidad máxima liberada del principio activo se alcanzó en un tiempo aproximado de 45 minutos, mientras que HPMC: HA 5: 5 y HPMC: GEL 5: 5 mostraron la liberación máxima del principio activo después de 120 min.

Aun cuando las liberaciones a las laminillas de HPMC no se realizaron, existen algunas investigaciones que contribuyen con información adicional y que son una aportación importante al análisis de este proyecto. Tal es el caso de Juliano y cols., (2008) quienes reportaron para laminillas cargadas con acetato de Chx que el 80 % del fármaco se liberó en un periodo de tiempo no mayor a 30 minutos, mientras que el resto del fármaco se liberó en las siguientes 3 horas. Estos datos, permiten suponer que la prolongación del tiempo de liberación de la Chx tuvo por causa el HPMC.

Karki y cols., (2016 para la Chx incorporada en películas de alginato y la mezcla de alginato / quitosán mostraron que sólo entre el 30 y 35 % del fármaco fue liberado dentro de los mismos 30 min; comparativamente esto permite visualizar un comportamiento similar, ligeramente superior en la formulación propuesta, debido a que en los resultados experimentales se observó que durante los primeros 30 min el porcentaje liberado de Chx osciló alrededor del 40-50 %.

Şenel y cols., (2000) quienes evaluaron entre otras cosas la liberación de Chx en geles como películas de quitosán; entre sus resultados lograron observar que la liberación de Chx en películas libres de agentes reticulantes alcanzó una meseta a las 1.5 h; del mismo modo observaron que la cantidad de Chx liberada disminuyó con la reticulación de las películas. Un total de 37% de Chx se liberó de la película libre con un 0.1% Chx en 1 h, mientras que película reticulada, el 14% fue liberado a ese mismo tiempo. Cuando se incorporó



0,2% de Chx en películas, el porcentaje liberado de las películas libres y reticuladas fueron 35 y 20%, respectivamente.

Aun cuando la liberación del fármaco logro prolongarse hasta por 8 h, el agregar un revestimiento a la película bien podría plantear una solución para mejorar la liberación y canalización del fármaco sobre la superficie de contacto; y disminuir de la interacción de la laminilla con el medio, limitando la salida del principio activo únicamente en la zona bajo la cual se pretende el efecto; es decir, con el sustrato al cual se adhiere.

Silva y cols., (2016) al evaluar esta propuesta en la liberación de diferentes fármacos entre ellos la Chx, y el efecto que ejercería una barrera de revestimiento, entre sus observaciones se percataron que en fármacos como el diclofenaco, esta alternativa ofrecía considerables mejoras sobre el tiempo de liberación, mientras que en el caso de la Chx si bien la liberación no mejoro del todo, la cantidad liberada aumentó considerablemente.

Sabnis y cols. (1997), adicionalmente encontraron que en medios ácidos, la liberación de diclofenaco a partir de matrices compuestas de quitosán resultaba más lenta para aquellas en la que este polímero presentaba un alto grado de desacetilación, lo que significa que el número de grupos amino presentes en el esqueleto polimérico es un factor importante para controlar la liberación a través de la formación de una barrera de gel de quitosán y de interacciones iónicas entre grupos amino ionizados y la carga aniónica del diclofenaco, desafortunadamente al considerar la diferente carga de las moléculas, la liberación bien podría verse afectada de forma significativa cuando se habla de la Chx, pues a diferencia del diclofecaco esta es de carácter catiónico; sin embargo, cabe resaltar que ambas moléculas son hidrofílicas y muy solubles en agua (Silva y cols., 2016).

Incluso en lo elaborado por Tang y cols. (2014), encontraron un fenómeno interesante en el cual si bien la cantidad de fármaco liberado está relacionada con la cantidad presente, otro factor importante recae en la forma de los cristales del principio activo contenidos dentro de la matriz.

Se sabe que la cristalización en cuanto al comportamiento físico de un fármaco define algunas de sus propiedades físicas y químicas; el hábito y el tamaño de las partículas de fármaco, la estructura y cristalinidad podría afectar en gran medida el rendimiento del activo; Además, podrían tener un gran impacto en los perfiles de liberación de fármaco (Labhasetwar y cols., 1993); (Shekunov y York, 2000).

La liberación de fármaco guarda además una relación directa con la estructura del polímero; Por ejemplo, los polímeros amorfos lineales se disuelven mucho más rápido que los polímeros reticulados o parcialmente cristalinos. Esto cobra relevancia debido a que la liberación del fármaco muchas veces es marcadamente



Influenciada por la erosión de la película, además de que la tasa de degradación de la película también depende de los tipos de plastificante (Karki y cols., 2016).

Efecto del espesor de las películas también forma parte importante a la hora de la liberación, este efecto se estudió de forma particular por Expósito, (2010) en la liberación de hidrocloreto de ciprofloxacino en películas de quitosán con diferente espesor. En los ensayos de liberación observó cómo, las películas de menor espesor liberaron el fármaco de forma significativamente más rápida que las películas de mayor espesor. Las primeras liberaron después de 24 horas, un 50 % del total de fármaco cargado, mientras que las segundas liberaron un 25 % en 24 horas, según menciona debido a la mayor distancia que debe recorrer el fármaco para atravesar la matriz de quitosán y TPP.

Para este proyecto el parámetro de espesor cobra relevancia bajo el hecho de que las películas obtenidas por el método de moldeo entre las dificultadas observadas es precisamente aquella relacionada con la uniformidad de masa; pues bien, aun cuando las diferencias son mínimas deben ser consideradas para futuras referencias, en alusión a lo descrito anteriormente, pues se habla de liberar una cuarta parte del principio activo, lo que sin duda lo convierte en un dato de gran interés según los propósitos de una liberación prolongada.

Sumado a lo anterior, sabemos que muchos sistemas de liberación controlada están inicialmente secos y cuando se introducen en el cuerpo humano, absorben agua u otros fluidos del cuerpo hasta hincharse. El hinchamiento aumenta el volumen acuoso dentro del hidrogel así como su tamaño tridimensional permitiéndole al fármaco difundir a través de la red hinchando al medio externo como lo es el caso de las películas de quitosán (Escobar y cols., 2002).

En resumen, con el fin de determinar el mecanismo de difusión se realizó un tratamiento a los datos los cuales, se ajustaron a la ecuación de Korsmeyer-Peppas. Las películas presentaron un exponente difusional próximo a 0,5 en todos los casos. Para valores de $n = 0,5$ se observa una difusión Fickiana y para $n > 0,5$ se trata de una difusión anómala. A la vista de los resultados, en general la liberación de la GluChx en las películas siguió un proceso de difusión Fickiana dependiente del tiempo.

Siguiendo lo señalado anteriormente se analizaron varios modelos adicionales, observándose que la liberación del GluChx desde las laminillas de quitosán se ajustaron al modelo de Higuchi: que describe la liberación por un proceso de difusión basado en la ley de Fick. Como los coeficientes de determinación obtenidos para todas las películas resultaron en promedio $\geq 0,99$. Esto significaría que la liberación del principio activo desde la matriz siguió un mecanismo de difusión en gran medida debido a la alta solubilidad del GluChx; sin embargo, al obtener



un valor similar para el modelo de propuesto por Hixson y Crowell es difícil discernir cuál de los modelos en cuestión es el más adecuado por tratarse de modelos semiempíricos, por lo que la liberación podría involucrar varios procesos o la posibilidad de realizar pruebas adicionales para facilitar la selección del modelo más adecuado.



VIII. CONCLUSIONES

1. Se logró la preparación de laminillas cargadas con GluChx para dos formulaciones por el método de moldeo con disolvente con distinto filmógeno (HPMC y Quitosán), realizando pruebas comparativas entre ellas en diferentes parámetros como: apariencia, espesor, uniformidad de masa, uniformidad de contenido, pH y tiempo de desintegración.
2. Ambas formulaciones mostraron una buena apariencia. Los dos tipos de película mostraron uniformidad en todas las pruebas realizadas de manera independiente, pero totalmente distintas al compararlas entre ellas, con la única excepción del pH, parámetro en el que las dos formulaciones se situaron en torno a un valor de pH similar (6-7) por el actuar del GluChx.
3. Las laminillas de HPMC de forma general presentaron buenas cualidades en las pruebas realizadas, los resultados las sitúan en función de estas características como laminillas de tipo mucoadhesivas y orodispensables, presentando buenas propiedades mecánicas, destacando en su flexibilidad y alargamiento, pero baja resistencia a la fractura.
4. Las películas de quitosán mostraron buenas cualidades en cuanto a propiedades mecánicas, destacando principalmente en su resistencia, pero resultando inferiores en parámetros como elongación y plegado en comparación a las mostradas por las laminillas de la formulación con HPMC.
5. Se determinó mediante estudios de liberación *in vitro* la cantidad total liberada de GluChx desde una laminilla de quitosán, los resultados señalan que esta cantidad se presentó a las 8 horas y se mostrando un efecto "burts" al inicio de la liberación. Los datos de la liberación se ajustaron al modelo de Korsmeyer-Peppas con una n cercana a 0.5 lo cual indica una liberación difusiva del fármaco incluido en la película; ajustándose también al modelo de Hixson-Crowell.
6. Ambas formulaciones lograron la incorporación de GluChx en una concentración efectiva contra las principales bacterias presentes en la enfermedad periodontal, con un 81.5235 % en las laminillas de HPMC y de 75.1583 % para las películas de quitosán; además del hecho, de que al lograr una acción



localizada y prolongada por parte de las laminillas de quitosán, se puede aumentar el tiempo de permanecía, así como la cantidad del principio activo sobre la zona requerida (encía).

7. Se logró la cuantificación de gluconato de clorhexidina (GluChx) en FSS mediante una curva de calibración, demostrando con base en los resultados de su evaluación ser específico, lineal, preciso, exacto y repetible.

IX. REFERENCIAS

1. Akhtar, M.-J., et al. (2013). Fabrication and physicochemical characterization of HPMC films with commercial plant extract: Influence of light and film composition, *Food Hydrocolloids*, 31(2), 420-427.
2. Alanazi, F.K., Abdel, A.A., Mahorus, G.M. y Alsarra, I.A. (2007). Formulation and physicochemical characterization of buccoadhesive films containing ketorolac. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 17 (3); 183-192.
3. Aldana, A. A., Strumia, M. C., y Martinelli, M. (s. f.). Síntesis y Caracterización de películas de quitosano modificadas en una de las caras con dendrones. IMBIV-CONICET, Departamentoto. de Química Orgánica, FCQ, UNC.
4. Almonaci, A., (2016). *Elaboración y caracterización de laminillas orodispersables con nanopartículas poliméricas cargadas con gluconato de clorhexidina para el tratamiento de enfermedades periodontales*. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, México.
5. Andrade, J.P. (2010). Preformulation Study for the Development of a Polymer-Based Gel with Mucoadhesive Properties for its Use in Allelopathy Assays in Marine Invertebrates, *Acta Biológica Colombiana*, 15 (1), 87-104.
6. Andreetta, H.A., (2003). Fármacos de acción prolongada: Mecanismos de liberación. Uso de distintos modelos. *Latin American Journal of Pharmacy*, 22(4), 355-364.
7. Anroop, B., et al. (2013). *In vitro* techniques to evaluate buccal films, *Journal of Controlled Release*, 166(1), 10-21.
8. Ansel, H.C., Allen, L.V. y Popovich, N.G. (2006). Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, *American Journal of Pharmaceutical Education*. 15; 70(3): 71.
9. Aranzaz, I., Harris, R., Navarro-García, F., Heras, A., y Acosta, N. (2016). Chitosan based films as supports for dual antibacterial release. *Carbohydrate Polymers*, 146, 402-410.
10. Avachat, A.M., Gujar, K.N., y Wagh, K.V. (2013) Development and evaluation of tamarind seed xyloglucan-based mucoadhesive buccal films of rizatriptan benzoate, *Carbohydrate Polymers*, 91(2), 537- 542.
11. Bala, R., Pawar, P., Khanna, S. y Arora, S. (2015). Orally dissolving strips: A new approach to oral drug delivery system, *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 3 (2), 67-76.
12. Bascones, A. (2009). *Periodoncia Clínica e Implantología Oral*. Barcelona. Luxus.
13. Bascones, A. y Morante, S. (2006). Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 18 (1), 31-59.
14. Bascones, A., Mudarra, S., y Perea, E. (2002). Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 14 (3), 101-114.
15. Bascones, A., y Figuero, E. (2005). Las enfermedades periodontales como infecciones bacterianas. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 17 (3), 147-156.
16. Bassi, P., Kaur, G. (2015). Polymeric films as a promising carrier for bioadhesive drug delivery: Development, characterization and optimization. *Saudi Pharmaceutical Journal*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2015.06.003>
17. Bhupinder, B., Jangra, S., Kaur, M. y Singh, H. (2011). Orally Fast Dissolving Films: Innovations in Formulation and Technology. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 9 (2); 50-57.
18. Blanquicet, R., et al. (2015). Síntesis y propiedades de filmes basados en quitosano/lactosuero. *Polímeros*, 25(1), 58-69.
19. Bof, M. J., Bordagaray, V. C., Locaso, D. E., y García, M. A. (2015). Chitosan molecular weight effect on starch-composite film properties, *Food Hydrocolloids*, 51, 281-294.
20. Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M., y Chiralt, A. (2013). Propeties of wheat starch filmforming dispersions and films as affected by chitosan addition. *Journal Food Engineering*, 114 (3); 303-312.
21. Borges, A.F., Silva, C., Coelho, J., y Simões, S., (2015). Oral films: Current status and future perspectives I - Galenical development and quality attributes, *Journal of Controlled Release*, 206, 1-19.
22. Buchi, N., et al. (2013). Developmet and evaluation of mouth dissolving films of salbutamol sulfate, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(3); 53-60.
23. Castro, J.M. (2014). *Diseño de un sistema bioadhesivo de clorhexidina empleando pullulan como matriz para uso en mucosa oral*. Tesis de maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
24. Chaudary, H., Gauri, S., Tahnee, P y Kumar, V. (2013). Development and optimization of fast dissolving oro-dispersible films of granisetron HCl using Box-Behnken statistical design. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 51; 193-201.
25. Curtis, J., et al. (2012). Effect of Formulation Conditions on Hypromellose Performanse Properties in Films Used for Capsules and Tablet Coatings, *AAPS PharmSciTech*, 13(4); 1170-1178.
26. Dosal, M. A. y Villanueva, M., (2008). Introducción a la metrología química curvas de calibración en los métodos analíticos, *Antología de Química Analítica Experimental*, 18-26.
27. Di Pierro, P., et al. (2006). Chitosan-Whey Protein Edible Films Produced in the Absence or Presence of Transglutaminase: Analysis of Their Mechanical and Barrier Properties. *Biomacromolecules*, 7(3), 744-749.
28. Dick, M., et al. (2015). Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glicerol concentration on its physicochemical and mechanical properties, *Carbohydrate Polymers*, 130, 198-205.
29. Duffó, G.S. y Quezada, E. (2004). Development of an Artificial Saliva Solution for Studying the Corrosion Behavior of Dental Alloys. *Corrosion*, 60 (6); 594-602.
30. Dumitrescu, A.L. (2010). The use of chemical supragingival plaque control in periodontal therapy. En A.L. Dumitrescu (Ed.), *Antibiotics and Antiseptics in Periodontal Therapy*, Springer, 205-239.
31. Elgadir, M. A., et al. (2015). Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(4); 619- 629.
32. Escobar, J. L., García, D.M., Zaldivar, D., y Katime, I. (2002). Hidrogeles. Principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos, *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 3(3), 1-25.
33. Expósito, R., (2010). *Quitosano, un biopolímero con aplicaciones en sistemas de liberación controlada de fármacos*, Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, España.
34. Fernández-Pan, I., Maté, J. I., Gardrat, C., y Coma, V. (2015). Effect of chitosan molecular weight on the antimicrobial activity and release rate of carvacrol-enriched films, *Food Hydrocolloids*, 51, 60-68.
35. Fonseca, A.C., y Rueda, R.C. (2004). "Antimicrobianos de uso sistémico en la enfermedad periodontal" *ODOUS Científica*, 5(1), 56-61.
36. Freire, R.M., Longhinotti, E., Sousa, E.H.S. y Fehire, P.B.A. (2014). Inorganic Nanoparticles Materials for Controlled Drug Delivery Systems. En Tiwari, A. y Tiwari, A. (Eds.), *Bioengineered Nanomaterials* (327-349). Boca Raton: CRC Press.
37. García, M. A., Pinotti, A., y Zaritzky, N. E. (2006). Physicochemical, wáter vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. *Starch Stärke*, 58 (9), 453-463.
38. Hernández, I., (2004). La quitosana: un producto bioactivo de diversas aplicaciones. *Cultivos tropicales*, 25(3), 97-110.
39. Hernández, J.J. y Martínez, G. M. (2004). *Evaluación documental del gluconato de clorhexidina en colutorios: concentración, factores que la afectan y consecuencias*, Tesis inédita de doctorado. Recuperado el 14 de Agosto de 2015 de <http://ri.ues.edu.sv/8026/1/17100272.pdf>
40. Hughes, F. J., (2015). Chapter- 34 - Periodontum and Periodontal Disease. A. Vishwakarma, P. Sharpe, S. Songtao y M. Ramalingam. *Stem Cell Biology and Tissue Engineering in Dental Sciences*, 433-444.
41. Irfan, M., et al. (2015). Orally disintegratin films: A modern expansion in durg delivery system. *Saudi Pharmaceutical Journal*. Recuperado el 13 de septiembre de 2015 de <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2015.02.024>
42. Jaipal, A., et al. (2015). Effect of HPMC and mannitol on drug release and bioadhesion behavior of buccal discs of buspirone hydrochloride: *In-vitro* and *in-vivo* pharmacokinetic studies, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(3), 315-326.



43. Jenkins, S., Addy, M., y Newcombe, R., (1994), Dose response of chlorhexidine against plaque and comparison with triclosan, *Journal of Clinical Periodontology* 21(4), 250-255.
44. Jones, E., et al. (2013). Monolayered multipolymeric buccal films with drug and polymers of opposing solubilities for ARV therapy: Physico-mechanical evaluation and molecular mechanics modelling. *International Journal of Pharmaceutics*, 455(1-2); 197-212.
45. Juliano, C., et al. (2008). Preparation, *In Vitro* Characterization and Preliminary *In Vivo* Evaluation of Buccal Films Containing Chlorhexidine, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 9 (4), 1553-1558.
46. Kaur, A., y Kaur, G. (2012). Mucoadhesive buccal patches based on interpolymer complexes of chitosan-pectin for delivery of carvedilol, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 20(1), 21- 27.
47. Karki, S., et al. (2016). Thin films as an emerging platform for drug delivery, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(5), 559-574.
48. Kerch, G., Korkhov, V. (2011). Effect of estroge time and temperatura on structure, mechanical and barrier properties of chitosan-based films. *European Food Research and Technology*, 232 (1); 17-22.
49. Knorr, D. (1984). Use of chitinous polymers in food: A challenge for food research and development, *Food Technology*, 38(1), 85-89.
50. Kohlbecker, G. (1989). Toxic impurities in chlorhexidine digluconate. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift*, 44 (4), 273-276.
51. Kouchak, M., Handali, S., y Boroujeni, B. N. (2015). Evaluation of the Mechanical Properties and Drug Permeability of Chitosan/Eudragit RL Composite Film, *Osong Public Health and Research Perspectives*, 6(1), 14-19.
52. Kumar, A., Vimal, A., y Kumar, A. (2011). Why Chitosan? From properties to perspective of mucosal drug delivery Ashwini, *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 615-622.
53. Kumar, P., Sandeep, K. P., Alavi, S., y Truong, V. D. (2011). A Review of Experimental and Modeling Techniques to Determine Properties of Biopolymer-Based nanocomposites. *Journal of Food Science*. 76 (1); E2-E14.
54. Kundu, J., Patra, Ch., y Kundu, S. C. (2008). Design, fabrication and characterization of silk fibroin-HPMC-PEG blended films as vehicle for transmucosal delivery, *Materials Science and Engineering*, 28(8), 1376-1380.
55. Kurek, M., Descours, E., Galic, K., Voilley, A., y Debeaufort, F. (2012). How composition and process parameters affect volatile active compounds in biopolymer films. *Carbohydrate Polymers*, 88(1), 646 - 656.
56. Labhasetwar, V., Deshmukh, S., y Dorle, A., (1993). Studies on some crystalline forms of ibuprofen. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 19(6), 631-641.
57. Lárez, C., (2003). Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos, *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 4(2), 91-109.
58. Leceta, I., et al. (2015). Ageing of chitosan films: Effect of storage time on structure and optical, barrier and mechanical properties, *European Polymer Journal*, 66, 170-179.
59. Leceta, I., Guerrero, P., y de la Caba, K. (2013). Functional properties of chitosan based films. *Carbohydrate Polymers*, 93(1), 339-346.
60. Leszczyńska, A., Buczek, P., Buczek, W., y Pietruska, M. (2011). Periodontal pharmacotherapy – an updated review. *Advances in Medical Sciences*, 56(2), 123-131.
61. Lindhe, J., Karring, T., y Lang, N. (2009). *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica* (5ta ed.). Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
62. Liu, H., Adhikari, R., Guo, Q., y Adhikari, B. (2013). Preparation and characterization of glycerol plasticized (high-amylose) starch-chitosan films, *Journal of Food Engineering*, 116(2), 588-597.
63. Llabot, J. M., Palma, S. D., y Allemandi D. A. (2006). Tendencias tecnológicas en la administración de fármacos: sistemas bioadhesivos. *Nuestra Farmacia*, 47, 20-27.
64. Madrid, M (s.f.) tecnología de la adhesión. Departamento Técnico de Loctite, España.
65. Mahendra, A., Koul, M., Upadhyay, V., y Dwivedi, R., (2014). Comparative evaluation of antimicrobial substantivity of different concentrations of chlorhexidine as a root canal irrigant: An in vitro study, *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 4(3), 181-185.
66. Marcin, S. A. (2010). *Tratamiento periodontal no quirúrgico en pacientes con gingivitis y periodontitis moderada*. Tesis doctoral, Facultad de Odontología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
67. Martínez-Camacho, A. P., et al. (2010). Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 305-315.
68. Masquio, F., Correa, M., y Nunes, H., (2013). Development and validation of a microbiological assay for determination of chlorhexidine digluconate in aqueous solution, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49 (2), 351 - 352.
69. Meher, J.G. et al. (2013). Development and characterization of cellulose-polymethacrylate mucoadhesive film for buccal delivery of carvedilol, *Carbohydrate Polymers*, 96(1), 172- 180.
70. Morales, J.O., y McConville, J.T. (2011). Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 77(2), 187-199.
71. Morante, S., (2003). *Valoración cruzada y a doble ciego, mediante el modelo de gingivitis experimental, de la eficacia de tres colutorios de clorhexidina sin alcohol frente a la prevención de gingivitis y a la neoformación de placa supragingival*. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Odontología, Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial.
72. Nair, A. B., et al. (2013). In vitro techniques to evaluate buccal films, *Journal of Controlled Release*, 166(1), 10-21.
73. Newman, G., Takei, H., Klokkevold, P., y Carranza, A., *Carranza's clinical periodontology* (12 ed.). St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2012, 824.
74. Newman, G., Takei, H., Klokkevold, P., y Carranza, F. (2014). *Periodontología Clínica de Carranza* (11° ed.). New York: Amolca.
75. Onetto, D., Correa, V., Araya, O., Yévenes, I. y Neira, M., (2015). Efecto del ultrasonido endodóntico sobre clorhexidina al 2% en la formación de paracloroanilina. Estudio *in vitro*, *Revista Clínica de Periodoncia Implantología y Rehabilitación Oral*, 8(3):185-191.
76. Palacio, P. A., Herrera, L. M., y Duque, A., (2008). Sistemas de liberación controlada de antimicrobianos en periodoncia: Revisión de literatura. *Revista. CES Odontología.*, 21 (2), 69-77.
77. Palumbo, A. (2011). The Anatomy and Physiology of the Healthy Periodontium. *Their Aetiology, Prevention and Treatment* (InTech: Rijek), 1-22.
78. Panda, B.P., Dey, N.S. y Rao, M.E.B. (2012). Development of Innovative Orally Fast Disintegrating Film Dosage Forms: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, 5(2); 1666-1674.
79. Panomsuk, S.P., et al. (1996) A study of the hydrophilic cellulose matrix: effect of drugs on swelling properties. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 44(5), 1039-1042.
80. Perumal, V.A., Lutchman, D., Mackraj, I. y Govender, T. (2008). Formulation of monolayered films with drug and polymers of opposing solubilities, *International Journal of Pharmaceutics*, 358(1-2), 184-191.
81. Preis, M., Dorothee, G., Grytzan, D. y Breikreutz, J. (2014). Comparative study on novel test systems to determine disintegration time orodispersible films, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66(8), 1102-1111.
82. Rajesh, K., Prazanna, R. y Nagaraju, R. (2014). Design and Characterization of Fast Dissolving Films Valsartan, *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11 (12); 175-184.
83. Rodríguez, I.C., Cerezo, A., y Salem, I.I. (2000). Sistemas de liberación Bioadhesivos, *Ars Pharmaceutica*, 41 (1), 115 128.
84. Rodríguez, A. (2011). *Elaboración de biopelículas a base de quitosano y pululano adicionadas con extractos de cinco diferentes plantas y su evaluación en cultivos de microorganismos periodontopatógenos*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Subdirección de posgrado, México.
85. Rodríguez-Alonso, E., y Rodríguez-Monje, M.T. (2009). Tratamiento antibiótico de la infección odontogénica., *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 33(3), 67-79.
86. Rodríguez-Pedroso, A.T., et al. (2009). Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos fitopatógenos, *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 15(3), 307-317.
87. Rossi, S., et al. (2003). Buccal delivery of acyclovir form films based on chitosan and polyacrylic acid. *Pharmaceutical Development Technology*, 8 (2); 199-208.



88. Rowe, R. C., Sheskey, P. J., y Weller, P.J (Eds.). (2003). Handbook of 106. Pharmaceutical Excipients. (4th Ed.). Londres, American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press, 297- 300.
89. Rowe, R. C. (Ed.), Sheskey, P. J. (Ed.), Quinn, M.E. (Ed.). (2009). 107. Handbook of Pharmaceutical Excipients. (6th Ed.). Washington, D.C.: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
90. Ruppert M, Schlagenhauf U. (2005) La clorhexidina en Odontología. 108. Aspectos generales. *Quintessence Publicación internacional de odontología* 18(1): 12-23.
91. Russell AD, Day M.J. (1993). Antibacterial activity of clorhexidine. *Journal 109. of Hospital Infection*; 25(4), 229-238.
92. Roy, S.K. y Prabhakar, B. (2010). Bioadhesive Polymeric Platforms for Transmucosal Drug Delivery Systems – a Review, *Tropical Journal of 110. Pharmaceutical Research*, 9 (1), 91-104.
93. Sabnis, S., Rege, P., y Block, L.H. (1997). Use of chitosan in compressed tablets of diclofenac sodium: inhibition of drug release in an acidic environment, *Pharmaceutical Development and Technology*, 2(3), 243– 111. 255.
94. Sakhare, A. (2012). Effect of Glycerine as Plasticizer in Orodissolving Films of Losartan Potassium, *International Journal of Science and Research*, 3(8), 772-778.
95. Salamat-Miller, N., Chittchang, M., y Johnston, T.P. (2005). The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery, *Advanced Drug Delivery 112. Reviews*, 57(11), 1666– 1691.
96. Sánchez, R., et al. (2010) Uso de la HidroxiPropilMetilCelulosa (HPMC) en 113. liberación modificada de fármacos, *Revista Farmespaña Industrial*, 48-51.
97. Sánchez-González, L., Cháfer, M., Hernández, M., Chiralt, A., y González-Martínez, C. (2011). Antimicrobial activity of polysaccharide films 114. containing essential oils. *Food Control*, 22(8), 1302-1310.
98. Saringat, H.B., Alfadol, K.I. y Khan, G.M (2005). The influence of different plasticizers on some physical and mechanical properties of hydroxypropyl 115. methylcellulose free films, *Pakistan Journal Pharmaceutical Sciences.*, 18(3), 25–38.
99. Şenel, S., et al. (2000). Chitosan films and hydrogels of chlorhexidine 116. gluconate for oral mucosal delivery, *International Journal of Pharmaceutics* 193(2), 197–203.
100. Schwach-Abdellaouia, K., Vivien-Castioni, N., y Gurny, R. (2000). Local 117. delivery of antimicrobial agents for the treatment of periodontal diseases. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), 83-99.
101. Secretaría de Salud: Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (2009). Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (9ª ed). México: Secretaría de Salud: Comisión Permanente 118. de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
102. Shekunov, B.Y., y York, P., (2000). Crystallization processes in pharmaceutical technology and drug delivery design. *Journal of Crystal 119. Growth*, 211(1-4), 122–136.
103. Silva, B.M., et al. (2015). Mucoadhesive oral films: The potential for unmet needs, *International Journal of Pharmaceutics*, 494(1), 537–551.
104. Silva, D., et al. (2016). Chitosan/alginate based multilayers to control drug release from ophthalmic lens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 147, 81–89.
105. Solmaz, G. y Korachi, M. (2012). Inhibition and Disruption Properties of Chlorhexidine Gluconate on Single and Multispecies Oral Biofilms. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6 (1); 61-66.
- Southard, G.L., y Godowski, K.C. (1998). Subgingival controlled release of antimicrobial agents in the treatment of periodontal disease. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 9(4), 239–253.
- Souza, M., et al. (2012). Evaluation of Chlorhexidine Substantivity on Human Dentin: A Chemical Analysis, *Journal of Endodontics*, 38(9), 1249-1252.
- Sudhakar, Y., Kuotsu, K., y Bandyopadhyay, A.K. (2006). Buccal bioadhesive drug delivery — A promising option for orally less efficient drugs, *Journal of Controlled Release*, 114(1), 15–40.
- Dash, S., et al. (2010). Kinetic Modelling on Drug Release from Controlled Drug Delivery Systems, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 67 (3), 217-233.
- Suyatma, N. E., Tighzert, L., Copinet, A., y Coma, V. (2005). Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties on chitosan films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (10); 3950-3957.
- Tang, C., Guan, Y-X., Yao, S-J., y Zhu, Z.Q. (2014). Preparation of ibuprofen-loaded chitosan films for oral mucosal drug delivery using supercritical solution impregnation, *International Journal of Pharmaceutics*, 473(1-2), 434–441.
- Tedesco, M. P., Monaco-Lourenço, C. A. y Carvalho, R. A. (2016). Gelatin/hydroxypropyl methylcellulose matrices — Polymer interactions approach for oral disintegrating films, *Materials Science and Engineering: C*, 69, 668–674.
- The American Academy of Periodontology (2001). Glossary of periodontal terms. (4th ed) Chicago, EE. UU. American Academy of Periodontology; 2001.
- Trastullo, R., et al. (2016). Design and evaluation of buccal films as pediatric dosage form for transmucosal delivery of ondansetron, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 105, 115–121.
- Valenzuela, C. y Arias, J.L., (2012). Potenciales aplicaciones de películas de quitosano en alimentos de origen animal: una revisión, *Avances en Ciencias Veterinarias*, 27(1), 33-47.
- Vallejo, B.M., y Perrilla, J.E. (2008). Elementos conceptuales para estudiar el comportamiento bioadhesivo en polímeros, Artículo de revisión, *Revista Colombiana de Ciencias. Químico-Farmacéuticas.*, 37 (1), 33-61.
- Villalobos, R. (2005). *Estudio de la liberación de fármacos desde sistemas matriciales inertes por medio de métodos de Monte Carlo. Efecto de la proporción y de la distribución espacial de los componentes.* Tesis Doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, División de Ciencias Básicas e Ingeniería, México.
- Viseras, M. (2008). *Desarrollo galénico de preparados obtenidos por interacción del ácido 5-anino salicílico con Halloysita.* Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Facultad de farmacia, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, España.
- Wolf, H.F. y Hassell, T.M. (2006). *Color Atlas of Dental Hygiene: Periodontology.* Stuttgart: Thieme Verlag.
- Xie, Y., Liu, X., y Chen, Q. (2007). Synthesis and characterization of water-soluble chitosan derivate and its antibacterial activity. *Carbohydrate Polymers*, 69 (1), 142-147.
- Yodkhum, K. y Phaechamund, T. (2010). Modified Starch as Gel Base of Clorhexidine Gluconate for Periodontitis Treatment, *Journal of Metals, Materials and Minerals*, 20 (3); 151-157.

X. ANEXOS

ANEXO A. Sistema analítico para cuantificar GluChx y parámetros de validación.

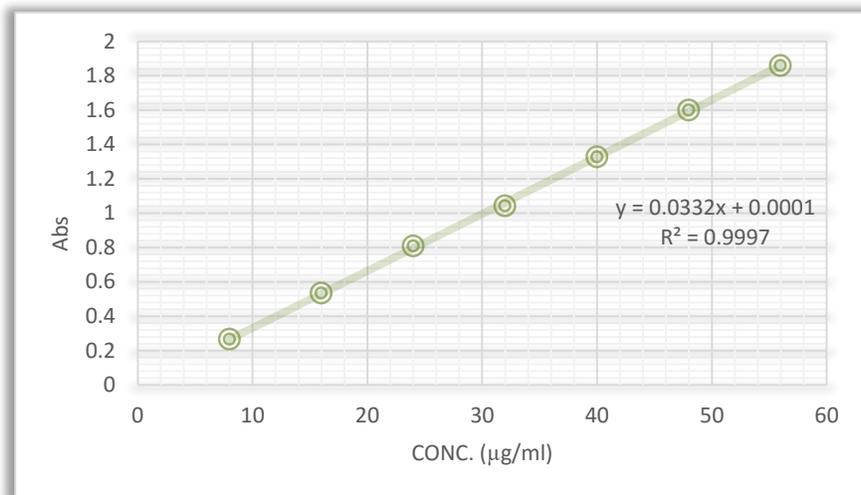


Gráfico 22. Curva de calibración de GluChx pH 6.8 (Abs vs Conc. µg/ml)

Tabla No. 51. Tratamiento estadístico para la evaluación de la curva.

Conc. µ/ml (x)	Abs (Y)	X ²	Y ²	XY
8	0.262	64	0.0686	2.0960
8	0.265	64	0.0702	2.1200
8	0.266	64	0.0707	2.1280
16	0.531	256	0.2819	8.4960
16	0.537	256	0.2883	8.5920
16	0.533	256	0.2840	8.5280
24	0.806	576	0.6496	19.3440
24	0.809	576	0.6544	19.4160
24	0.810	576	0.6561	19.4400
32	1.030	1024	1.0609	32.9600
32	1.041	1024	1.0836	33.3120
32	1.053	1024	1.1088	33.6960
40	1.320	1600	1.7424	52.8000
40	1.342	1600	1.8009	53.6800
40	1.321	1600	1.7450	52.8400
48	1.608	2304	2.5856	77.1840
48	1.598	2304	2.5536	76.7040
48	1.590	2304	2.5281	76.3200
56	1.848	3136	3.4151	103.4880
56	1.860	3136	3.4596	104.160
56	1.867	3136	3.4856	104.5520

$$\begin{aligned} \sum X &= 672 & \bar{X} &= 32 \\ \sum Y &= 22.297 & n &= 21 \\ \sum X^2 &= 26880 \\ \sum Y^2 &= 29.5938 \\ \sum XY &= 891.8560 \end{aligned}$$

Linealidad del sistema**Pendiente**

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b_1 = \frac{21 \times 891.856 - 672 \times 22.297}{21 \times 26880 - 672^2} = 0.0332$$

Ordenada al origen

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

$$b_0 = \frac{2.0297 - 0.0331 \times 672}{21} = 0.0001$$

Intervalo de confianza

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

$$S_{\frac{y}{x}} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n - 2}}$$

$$S_{\frac{y}{x}} = \sqrt{\frac{29.5938 - 0.0331 \times 891.856 - 0.00014 \times 22.297}{21 - 2}} = 0.01209$$

$$S_{b_1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{b_1} = 0.01209 \sqrt{\frac{1}{26880 - \frac{(672)^2}{21}}} = 0.000164$$

Coefficiente de determinación

$$r^2 = \frac{(n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y))^2}{(n(\sum x^2) - (\sum x)^2)(n(\sum y^2) - (\sum y)^2)}$$

$$r^2 = \frac{(21(831.856) - (672)(22.297))^2}{(21(26880) - (672)^2)(21(29.5938) - (22.297)^2)} = 0.9997$$



$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S b_1$$

$$t_{0.975, 19} = 2.093$$

$$IC(\beta_1) = 0.0331 \pm 2.093 \times 0.000164$$

$$IC(\beta_1) = 0.03352, 0.03283 \text{ El intervalo no incluye el cero}$$

Límite de detección Escriba aquí la ecuación.

$$S_{b0} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(\bar{x})^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$LD = \frac{3.3 \times S_{b0}}{b_1}$$

$$S_{b0} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{21} + \frac{(32)^2}{26880 - \frac{(672)^2}{21}}} = 0.0059$$

$$LD = \frac{3.3 \times 0.0059}{0.0331} = 0.5868 \text{ ppm}$$

Límite de cuantificación

$$LC = \frac{10 \times S_{b0}}{b_1}$$

$$LC = \frac{10 \times 0.0059}{0.0331} = 1.7784 \text{ ppm}$$

Tabla No. 52. Precisión del sistema

Sistema	Abs 263 nm (y)
1	1.016
2	1.031
3	1.007
4	1.017
5	1.023
6	1.017

Media aritmética

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

$$\bar{y} = \frac{6.111}{6} = 1.0185$$



Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

$$S = \sqrt{\frac{6(6.2244) - (6.1110)^2}{6(6-1)}} = 7.993 E - 3$$

Coeficiente de variación

$$CV = \frac{S}{y} * 100$$

$$CV = \frac{7.993 E - 3}{1.0185} * 100 = 0.78 \%$$

Tabla No. 53. Repetibilidad

PARÁMETRO	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
Coeficiente de determinación (r ²)	0.9997	0.9999	0.9998
CV _{y/x}	1.1619 %	0.8146 %	0.8916 %

Tabla No. 54. Exactitud

	CONCENTRACIÓN DÍA 1	RECOBRO (%)	CONCENTRACIÓN DÍA 2	RECOBRO (%)	CONCENTRACIÓN DÍA 3	RECOBRO (%)
1	7.8652	98.3150	7.8860	98.5750	7.9460	99.3250
1	8.0051	100.0638	7.9420	99.2750	7.9943	99.9288
1	7.8981	98.7262	7.7960	97.4500	8.1022	101.2775
2	31.1568	97.3650	31.0424	97.0075	31.2542	97.6694
2	30.9242	96.6381	30.6452	95.7663	31.6426	98.8831
2	30.8932	96.5413	31.8430	99.5094	30.7684	96.1513
3	56.0254	100.0454	55.8364	99.7079	55.6920	99.4500
3	55.6792	99.4271	55.6256	99.3314	55.5412	99.1807
3	55.9362	99.8861	56.0220	100.0393	55.4852	99.0807
X		98.5564		98.5180		98.9940
DESVEST		1.4258		1.4554		1.4272
CV		1.45 %		1.47 %		1.44 %

ANEXO B. Datos de la liberación *in vitro*

Tabla No. 55. Liberación *in vitro* para GluChx desde laminillas de quitosán, 1.

tiempo	Concentración	Ln C	t min	Ln t	Mt	Mt/Ma*100	Mt/Ma	Ln (Mt/Ma)	$[(Ma-Mt)*100]^{1/3}$	$Ln[-Ln(1-Mt/Ma)]$
min	µg/ml		t _{1/2}		µg		µg			
0	1.0813	0.0782	0.0000	#¡NUM!	27.0331	1.7080	0.0171	-4.0699	53.7829	-4.0613
1	15.5693	2.7453	1.0000	0.0000	392.4759	24.7970	0.2480	-1.3944	49.1907	-1.2553
2	17.7078	2.8740	1.4142	0.6931	492.6476	31.1259	0.3113	-1.1671	47.7701	-0.9865
3	16.3524	2.7944	1.7321	1.0986	511.8855	32.3414	0.3234	-1.1288	47.4875	-0.9398
4	16.2319	2.7870	2.0000	1.3863	557.9307	35.2506	0.3525	-1.0427	46.7968	-0.8332
5	15.5693	2.7453	2.2361	1.6094	590.0602	37.2806	0.3728	-0.9867	46.3026	-0.7625
7.5	14.1837	2.6521	2.7386	2.0149	602.1295	38.0431	0.3804	-0.9665	46.1142	-0.7366
10	13.2199	2.5817	3.1623	2.3026	620.5843	39.2091	0.3921	-0.9363	45.8231	-0.6977
15	13.2801	2.5863	3.8730	2.7081	661.7500	41.8100	0.4181	-0.8720	45.1600	-0.6135
20	13.4307	2.5975	4.4721	2.9957	705.3554	44.5650	0.4457	-0.8082	44.4358	-0.5277
25	14.5452	2.6773	5.0000	3.2189	773.5090	48.8710	0.4887	-0.7160	43.2541	-0.3993
30	14.8464	2.6978	5.4772	3.4012	824.6747	52.1037	0.5210	-0.6519	42.3226	-0.3063
45	17.7681	2.8774	6.7082	3.8067	942.2560	59.5326	0.5953	-0.5186	40.0104	-0.1002
60	19.9367	2.9926	7.7460	4.0943	1049.7771	66.3259	0.6633	-0.4106	37.6331	0.0847
120	32.1355	3.4700	10.9545	4.7875	1414.5572	89.3730	0.8937	-0.1124	25.6217	0.8073
180	33.3102	3.5059	13.4164	5.1930	1540.3313	97.3196	0.9732	-0.0272	16.1885	1.2863
240	28.4006	3.3464	15.4919	5.4806	1517.5211	95.8784	0.9588	-0.0421	18.6850	1.1597
300	26.1717	3.2647	17.3205	5.7038	1547.0000	97.7409	0.9774	-0.0229	15.2915	1.3324
360	23.4608	3.1553	18.9737	5.8861	1557.7440	98.4197	0.9842	-0.0159	13.5743	1.4225
420	21.0211	3.0455	20.4939	6.0403	1567.1325	99.0129	0.9901	-0.0099	11.6036	1.5300
480	19.1235	2.9509	21.9089	6.1738	1582.7560	100.0000	1.0000	0.0000	-0.0743	#¡NUM!

Tabla No. 56. Liberación *in vitro* para GluChx desde laminillas de quitosán, 2.

tiempo	Concentración	Ln C	t min	Ln t	Mt	Mt/Ma*100	Mt/Ma	Ln (Mt/Ma)	$[(Ma-Mt)*100]^{1/3}$	$Ln(-Ln(1-Mt/Ma))$
min	µg/ml		t _{1/2}		µg		µg			
0	1.6235	0.4846	0.0000	#¡NUM!	40.5873	2.4964	0.0250	-3.6903	54.1213	-3.6777
1	16.1416	2.7814	1.0000	0.0000	408.4096	25.1196	0.2512	-1.3815	49.5622	-1.2404
2	19.2139	2.9556	1.4142	0.6931	533.6416	32.8221	0.3282	-1.1141	47.8009	-0.9217
3	18.1898	2.9009	1.7321	1.0986	565.6807	34.7927	0.3479	-1.0558	47.3289	-0.8496
4	17.6175	2.8689	2.0000	1.3863	605.9428	37.2691	0.3727	-0.9870	46.7220	-0.7629
5	16.2319	2.7870	2.2361	1.6094	624.1566	38.3894	0.3839	-0.9574	46.4422	-0.7250
7.5	15.1777	2.7198	2.7386	2.0149	646.4970	39.7634	0.3976	-0.9222	46.0943	-0.6795
10	13.7319	2.6197	3.1623	2.3026	655.8855	40.3409	0.4034	-0.9078	45.9466	-0.6606
15	14.5151	2.6752	3.8730	2.7081	716.6596	44.0788	0.4408	-0.8192	44.9662	-0.5426
20	14.2440	2.6563	4.4721	2.9957	753.4277	46.3403	0.4634	-0.7692	44.3517	-0.4740
25	14.4247	2.6689	5.0000	3.2189	800.6777	49.2465	0.4925	-0.7083	43.5361	-0.3883
30	15.5392	2.7434	5.4772	3.4012	871.8133	53.6217	0.5362	-0.6232	42.2473	-0.2635
45	17.4066	2.8569	6.7082	3.8067	965.1175	59.3605	0.5936	-0.5215	40.4275	-0.1049
60	20.3283	3.0120	7.7460	4.0943	1090.3795	67.0649	0.6706	-0.3995	37.6919	0.1049
120	31.1416	3.4385	10.9545	4.7875	1421.6958	87.4428	0.8744	-0.1342	27.3312	0.7299
180	33.6416	3.5158	13.4164	5.1930	1577.6205	97.0331	0.9703	-0.0301	16.8965	1.2578
240	28.4307	3.3475	15.4919	5.4806	1548.2741	95.2281	0.9523	-0.0489	19.7966	1.1127
300	25.6898	3.2461	17.3205	5.7038	1565.0422	96.2594	0.9626	-0.0381	18.2532	1.1897
360	23.4006	3.1528	18.9737	5.8861	1584.8825	97.4797	0.9748	-0.0255	16.0021	1.3031
420	22.8886	3.1306	20.4939	6.0403	1642.2831	101.0102	1.0101	0.0101	-11.7987	#¡NUM!
480	19.4849	2.9696	21.9089	6.1738	1625.8584	100.0000	1.0000	0.0000	-0.0720	#¡NUM!

Tabla No. 57. Liberación *in vitro* para GluChx desde laminillas de quitosán, 3.

tiempo	Concentración	Log C	t min	Ln t	Mt	Mt/Ma*100	Mt/Ma	Ln (Mt/Ma)	$[(Ma-Mt)*100]^{1/3}$	$Ln[-Ln(1-Mt/Ma)]$
min	µg/ml		t1/2		µg		µg			
0	1.0813	0.0782	0.0000	#¡NUM!	27.0331	1.7444	0.0174	-4.0488	53.3994	-4.0400
1	14.7259	2.6896	1.0000	0.0000	371.3916	23.9652	0.2397	-1.4286	49.0254	-1.2947
2	17.6777	2.8723	1.4142	0.6931	489.3645	31.5777	0.3158	-1.1527	47.3314	-0.9690
3	17.8886	2.8842	1.7321	1.0986	547.6687	35.3400	0.3534	-1.0402	46.4475	-0.8301
4	17.5271	2.8637	2.0000	1.3863	592.2982	38.2198	0.3822	-0.9618	45.7474	-0.7307
5	15.6596	2.7511	2.2361	1.6094	598.1928	38.6002	0.3860	-0.9519	45.6534	-0.7179
7.5	14.0633	2.6436	2.7386	2.0149	605.2620	39.0564	0.3906	-0.9402	45.5400	-0.7028
10	15.0271	2.7099	3.1623	2.3026	671.5482	43.3337	0.4333	-0.8362	44.4487	-0.5657
15	13.2199	2.5817	3.8730	2.7081	671.4488	43.3273	0.4333	-0.8364	44.4504	-0.5659
20	14.1235	2.6478	4.4721	2.9957	733.6988	47.3441	0.4734	-0.7477	43.3743	-0.4441
25	14.1837	2.6521	5.0000	3.2189	777.5753	50.1754	0.5018	-0.6896	42.5826	-0.3615
30	14.5452	2.6773	5.4772	3.4012	829.1627	53.5042	0.5350	-0.6254	41.6123	-0.2668
45	16.4127	2.7981	6.7082	3.8067	919.4849	59.3326	0.5933	-0.5220	39.7954	-0.1056
60	19.1837	2.9541	7.7460	4.0943	1038.0000	66.9801	0.6698	-0.4008	37.1258	0.1026
120	30.4187	3.4151	10.9545	4.7875	1376.4247	88.8180	0.8882	-0.1186	25.8776	0.7843
180	30.7500	3.4259	13.4164	5.1930	1475.9639	95.2411	0.9524	-0.0488	19.4650	1.1135
240	28.2500	3.3411	15.4919	5.4806	1505.7139	97.1608	0.9716	-0.0288	16.3864	1.2702
300	25.3886	3.2343	17.3205	5.7038	1518.9277	98.0134	0.9801	-0.0201	14.5474	1.3658
360	21.3223	3.0598	18.9737	5.8861	1493.4368	96.3685	0.9637	-0.0370	17.7873	1.1986
420	20.0271	2.9971	20.4939	6.0403	1525.0241	98.4068	0.9841	-0.0161	13.5157	1.4206
480	18.6114	2.9238	21.9089	6.1738	1549.7139	100.0000	1.0000	0.0000	0.0771	2.8544

Gráficos de Liberación *in vitro* para GluChx desde laminillas de quitosán.

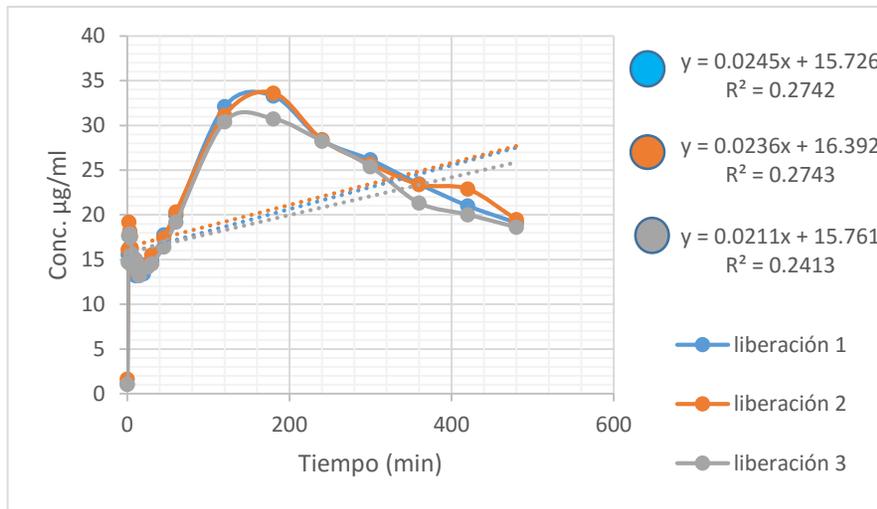


Gráfico 23. Modelo cinético de orden cero

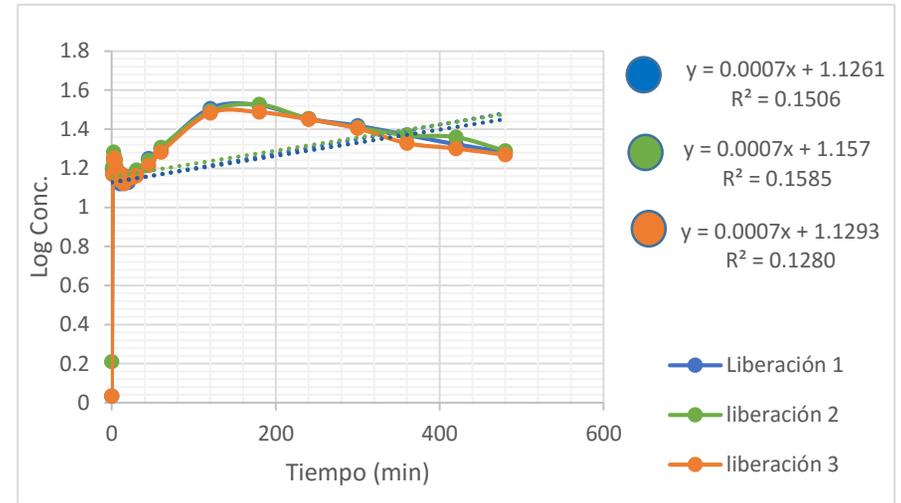


Gráfico 24. Modelo cinético de orden uno

Gráficos de Liberación *in vitro* para GluChx desde laminillas de quitosán.

Ajuste de liberación desde los 10 min hasta los 180 min y 15 min a 120 min para el modelo de Korsmeyer-Peppas

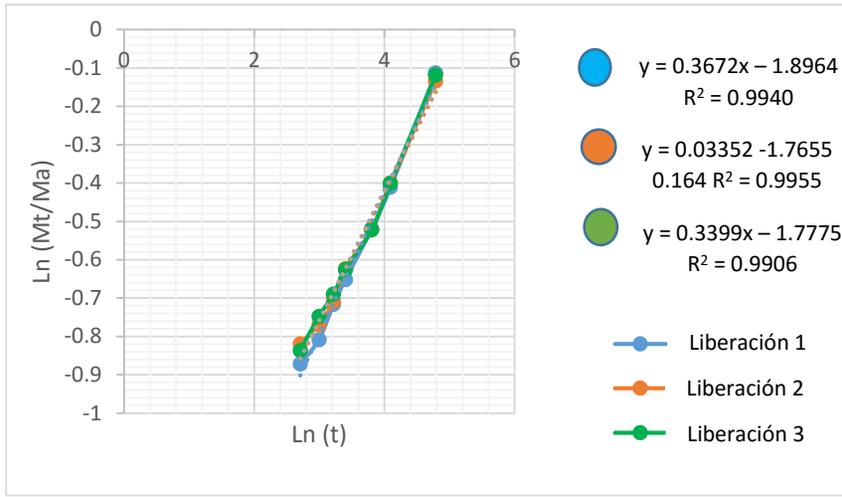


Gráfico 25. Modelo de Korsmeyer-Peppas

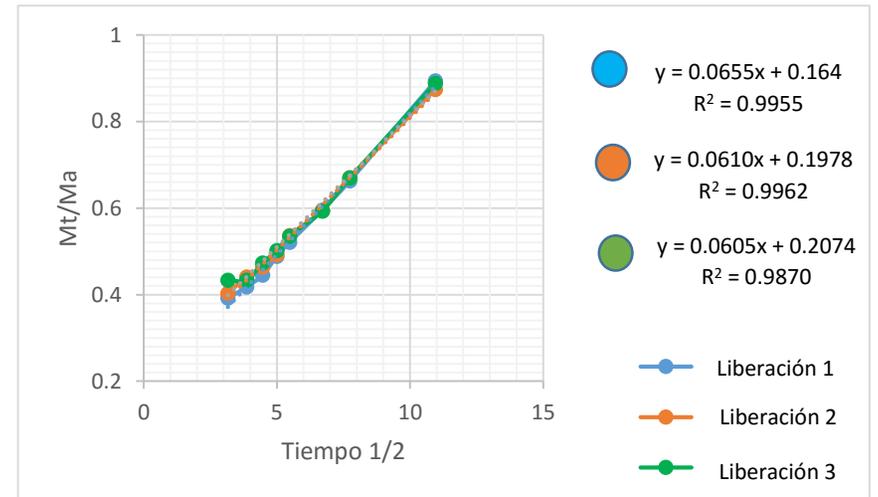


Gráfico 26. Modelo de Higuchi

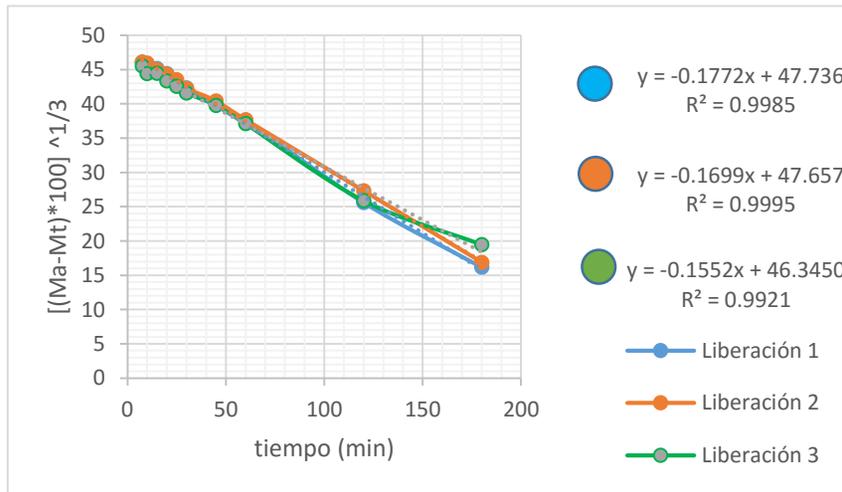


Gráfico 27. Modelo de Hixson-Crowell

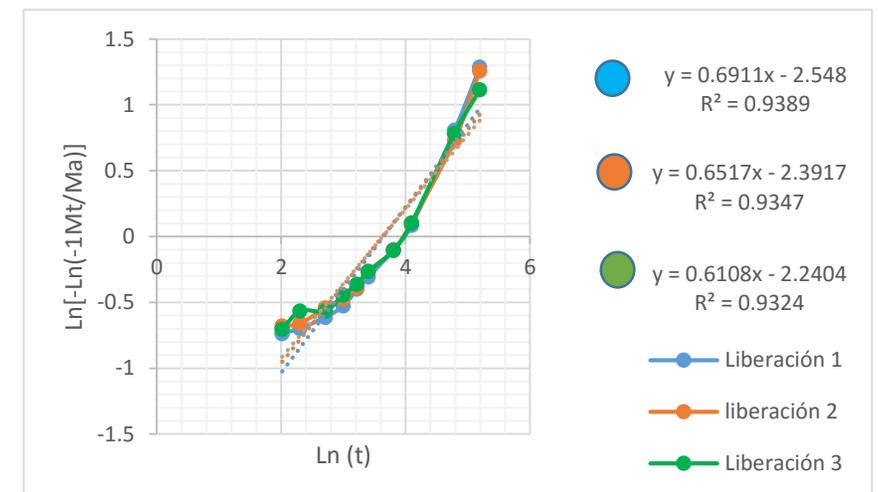


Gráfico 28. Modelo de Weibull