



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**PREPARACIÓN Y EVALUACIÓN DE HIDROGELES
pH-SENSIBLES PARA LA ADMINISTRACIÓN
VAGINAL DE METRONIDAZOL**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTAN
CORONA PARRA ANA PAOLA
MARTÍNEZ MONTOYA MARIANA**

**ASESORES
Dra. ELIZABETH PIÑÓN SEGUNDO
Dr. JOSÉ MANUEL CORNEJO**

Cuautitlán Izcalli, Estado de México 2014



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 CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe 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 a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Preparación y evaluación de hidrogeles pH-sensibles para la administración vaginal de Metronidazol

Que presenta la pasante: Ana Paola Corona Parra

Con número de cuenta: 405047187 para obtener el Título de: Química Farmacéutica Bióloga

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

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de abril de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	MFC. Beatriz de Jesús Maya Monroy	
VOCAL	Dra. Elizabeth Piñón Segundo	
SECRETARIO	M. en C. María Zaida Urbán Morlán	
1er. SUPLENTE	QFB. Adriana Gil García	
2do. SUPLENTE	QFB. Marcos Montalvo Santiago	

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



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 CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe 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 a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Preparación y evaluación de hidrogeles pH-sensibles para la administración vaginal de Metronidazol

Que presenta la pasante: Mariana Martínez Montoya

Con número de cuenta: 301023212 para obtener el Título de: Química Farmacéutica Bióloga

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

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de abril de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	MFC. Beatriz de Jesús Maya Monroy	
VOCAL	Dra. Elizabeth Piñón Segundo	
SECRETARIO	M. en C. María Zaida Urbán Morlán	
1er. SUPLENTE	QFB. Adriana Gil García	
2do. SUPLENTE	QFB. Marcos Montalvo Santiago	

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

Al lograr culminar mi carrera profesional y siendo para mí la mejor herencia, deseo expresar mi mayor gratitud:

A esta gran institución y a todos los profesores que con su dedicación y apoyo dentro y fuera de las aulas me proporcionaron la mejor formación académica y profesional que haya podido adquirir.

A mi asesora, la Doctora Elizabeth Piñón Segundo por brindarme la oportunidad de llevar a cabo este proyecto, por su confianza, apoyo y por todo el conocimiento adquirido. Muchas gracias.

Al gran amor de mi vida, mi madre Ma. Antonieta Montoya Nava, que es el ser más maravilloso de todo el universo. Gracias por el apoyo moral, tu cariño y comprensión que desde pequeña me has brindado, por guiar mi camino y estar junto a mí a cada paso. TE AMO.

A mi padre Juan Martínez Trujillo, porque desde siempre has sido para mí un gran hombre al que siempre he admirado. Gracias por guiar mi vida, esto ha hecho que en gran medida sea lo que soy. TE AMO papá.

A mis hermanos Jhoana y “Josh” por ser parte fundamental de esta historia, por toda su paciencia y ocurrencias, a mis sobrinos Alex y Vale por ser el complemento perfecto y brindarme tanta felicidad.

A mi familia:

Mi abuela por iniciar esta aventura que hoy me permite estar al lado de todos a quienes amo. Mis tías “Chiquita” y “China” que son el mejor ejemplo de lo que ser mujer significa. Gracias por sus consejos, cariño y apoyo. Orgullosa de ser Montoya.

Pepe, por todo tu apoyo y ser un gran ejemplo a seguir.

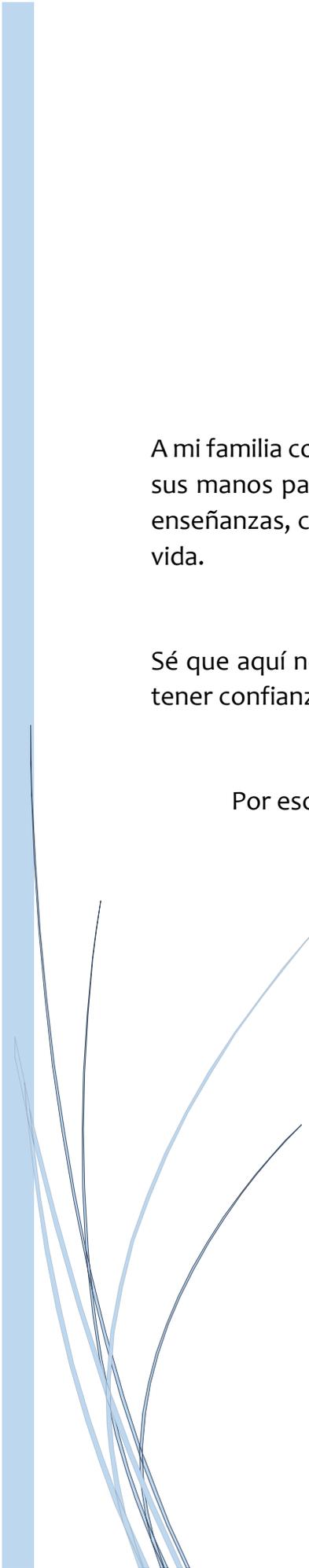
Mis primitos Dalia, “Damis”, Lore y “Chata” cada uno con una lección hermosa de la vida.

A quienes son mis amigos, “Willy”, Araujo, Neto, por cada vivencia que me ha permitido disfrutar la vida al máximo.

A ti mi AMOR, el mejor ser humano que tiene esta vida, por todo tu amor, ternura, comprensión y paciencia, por todos los cuidados y atenciones que me brindas a mí y a quienes me rodean, por todo tu apoyo y esfuerzo para alcanzar nuestras metas simplemente por llenar mi vida de alegría. TE AMO Álvaro.

Con amor, admiración y respeto para cada uno de ustedes.

Mariana Martínez Montoya



A mi familia con todo mi amor y cariño; que día a día hacen todo lo que está en sus manos para hacer de mí una mejor mujer; que a través de sus consejos, enseñanzas, comprensión y amor me han permitido llegar a este punto de mi vida.

Sé que aquí no termina el camino de mi vida; pero el tenerlos cerca me hace tener confianza y esperanza para seguir adelante.

Por eso para ustedes por siempre mi corazón y agradecimiento.

Gracias por estar a mi lado y ser parte de mi vida.

De su hija y hermana que los adora.

PAOLA



ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	2
1. HIDROGELES.....	4
1.1 Definición	4
1.2 Generalidades	4
1.2.1 Características.....	4
1.2.2 Propiedades	5
1.2.3 Clasificación de Hidrogeles	7
1.3 Síntesis de hidrogeles	7
1.3.1 Hidrogeles físicos.....	7
1.3.2 Hidrogeles químicos.....	7
1.3.3 Influencia del agente entrecruzante	8
1.4 Hidrogeles que responden a estímulos.....	9
1.4.1 Hidrogeles sensibles	10
1.4.2 Hidrogeles termosensibles	12
1.5 Aplicaciones farmacéuticas de los hidrogeles	13
1.5.1 Hidrogeles y la administración de fármacos.....	17
1.6 Liberación del fármaco a través del hidrogel	18
1.6.1 Mecanismos de liberación.....	18
2. MODELOS MATEMÁTICOS	19
2.1 Cinética de orden cero	20
2.2 Modelo de Higuchi.....	20
2.3 Modelo de Korsmeyer-Peppas	23
2.3.1 Korsmeyer	23
2.3.2 Peppas	24
2.4 Cinética de hinchamiento	24
3. MUCOADHESIÓN	26
3.1 Interacción mucoadhesivo-mucosa.....	26
3.2 Teorías de la mucoadhesión.....	28
4. VAGINA	30
4.1 Introducción	30
4.2 Anatomía y fisiología de la vagina en relación con la administración de fármacos.....	31
4.3 Microflora	33



4.4 pH vaginal	33
4.5 Cambios cíclicos	34
4.6 La vagina como sitio de aplicación para la administración de fármacos	34
4.7 Ventajas y desventajas de la administración vaginal	35
4.8 Absorción de fármacos dentro de la vagina	36
4.9 Polímeros mucoadhesivos	36
4.9.1 Definición de mucoadhesión con respecto a la vagina	36
4.9.2 Moco cervical.....	36
III. OBJETIVOS.....	38
IV. PARTE EXPERIMENTAL	39
1. MATERIAL.....	39
2. EQUIPO	39
3. REACTIVOS	39
4. PROCEDIMIENTOS	40
4.1 Síntesis de hidrogeles	40
4.2 Preparación de soluciones amortiguadoras.....	40
4.3 Cinética de hinchamiento.....	40
4.4 Espectros de absorción.....	41
4.5 Curvas de calibración.....	41
4.6 Técnica de hinchamiento – secado. Incorporación del principio activo.....	41
4.7 Cinética de liberación.....	41
4.8 Validación del método analítico para la cuantificación de metronidazol a través de hidrogeles pH sensibles.....	42
4.9 Bioadhesión.....	43
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
VI. CONCLUSIONES.....	60
VII. REFERENCIAS	61



TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICOS

Tabla 1 Estímulos, respuesta y mecanismos que influyen en el hinchamiento de un polímero.....	10
Tabla 2 Grupos sensibles a los cambios de pH.....	11
Tabla 3 Mecanismos de liberación para formas de liberación poliméricas	24
Tabla 4 Principios activos e indicaciones de preparados vaginales	35
Tabla 5 Preparación de las curvas de calibración a pH 4.5, 5.0 y 5.5 con stock de 30 ppm.....	41
Tabla 6 Cinética de hinchamiento para los discos de DMAEMA a diferentes pH's y concentración de entrecruzante	46
Tabla 7 Valores estadísticos obtenidos de las curvas de calibración a distintos pH's.....	50
Tabla 8 Cantidad máxima liberada de metronidazol	52
Tabla 9 Valores promedio para las constantes de Higuchi y Peppas	53
Tabla 10 Análisis de varianza para K_H	53
Tabla 11 Análisis de varianza para n	54
Tabla 12 Resultados de la validación del método analítico	55
Tabla 13 Resultados obtenidos en la prueba de bioadhesión	57
Tabla 14 Análisis de varianza para la prueba de bioadhesión.....	58
Figura 1 Sistemas tradicionales de liberación y sistemas de liberación controlada de fármacos	1
Figura 2 Representación esquemática del efecto del pH en un hidrogel	11
Figura 3 Representación esquemática del efecto de la temperatura en un hidrogel.....	12
Figura 4 Sitios de aplicación de hidrogeles	14
Figura 5 Hinchamiento del hidrogel y difusión del fármaco al medio externo.....	17
Figura 6 Perfil de liberación de un fármaco	21
Figura 7 Esquema de los pasos involucrados en la teoría de la interpenetración.....	30
Figura 8 Localización de la vagina	31
Figura 9 Capas histológicas presentes en la vagina.....	31
Figura 10 Maduración de las células presentes en el epitelio vaginal	32
Figura 11 Tensiómetro de DuNouy.....	43
Figura 12 Colocación del disco de hidrogel para la prueba de bioadhesión	43
Figura 13 Colocación del tejido vaginal para la prueba de bioadhesión.....	44
Figura 14 Bioadhesión hidrogel - tejido	44
Figura 15 Análisis de varianza para K_H	54
Figura 16 Análisis de varianza para n.....	54
Figura 17 Análisis de varianza para la prueba de bioadhesión.....	58
Gráfico 1 Cinética de hinchamiento del hidrogel con 0.5% de entrecruzante a diferentes pH's	47
Gráfico 2 Cinética de hinchamiento del hidrogel con 1.0% de entrecruzante a diferentes pH's	47
Gráfico 3 Grado de hinchamiento del hidrogel con 0.5% de entrecruzante a diferentes pH's.....	49
Gráfico 4 Grado de hinchamiento del hidrogel con 1.0% de entrecruzante a diferentes pH's	49
Gráfico 5 Curvas de calibración de metronidazol a pH 4.5, 5.0 y 5.5.....	50
Gráfico 6 Porcentaje liberado de metronidazol a pH 4.5, 5.0 y 5.5 con 0.5% de entrecruzante.....	51
Gráfico 7 Porcentaje liberado de metronidazol a pH 4.5, 5.0 y 5.5 con 1.0% de entrecruzante.....	52
Gráfico 8 Curva de calibración para la prueba de bioadhesión	56



ABREVIATURAS

DMAEMA	Dimetil amino etil metacrilato	n	Exponente de liberación
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social	δ	Espesor
NMBA	N,N-metilenbisacrilamida	M_t/M_∞	Liberación fraccional del fármaco
TCMS	Temperatura Crítica Menor de Solución	D	Coefficiente de difusión del fármaco
PNIAAm	N-isopropilacrilamida	C_0	Concentración inicial del fármaco
PAA	Poli ácido acrílico	C_t	Concentración del fármaco en la interfase polímero-agua
PAAm	Poliacrilamida ó poliacrilamida-co-butil metacrilato	W_c (%)	Porcentaje de hidratación
W_0	Cantidad inicial del fármaco en la forma farmacéutica	W_s	Peso de la película después del hinchamiento
W_t	Cantidad de fármaco en la forma farmacéutica en el momento t	W_D	Peso de la película seca
k_t	Constante de proporcionalidad	D_h	Grado de hinchamiento
f_t	Fración del fármaco disuelto en el tiempo t	W_t	Cantidad de agua absorbida por el gel en el tiempo t
Q_t	Cantidad de fármaco disuelto en el tiempo t	W_{max}	Cantidad de agua absorbida por el gel en el equilibrio
Q_0	Cantidad inicial de fármaco en el tiempo t	n	Exponente de difusión
K_0	Constante de liberación de orden cero	DVB	Divinilbenceno
h	Distancia de la concentración total del fármaco	AIBN	2,2-azoisobutironitrilo
C_s	Solubilidad del fármaco en la matriz	λ	Longitud de onda
dQ	Cantidad de fármaco	CV	Coefficiente de variación
dh	Frente de liberación	r^2	Coefficiente de correlación
k	Constante de integración	m	Pendiente
C	Concentración inicial del fármaco	b	Ordenada al origen
ϵ	Porosidad del sistema	$\ln M_t/M_\infty$	Logaritmo natural de la velocidad de liberación
τ	Tortuosidad del sistema	SD	Desviación estándar
D	Constante de difusión de las moléculas del fármaco en el líquido	%REC	Porcentaje de recobro
a	Constante que incorpora características estructurales y geométricas de la forma farmacéutica		



I. INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles son materiales denominados “inteligentes” debido a su capacidad de respuesta ante los estímulos del medio en el que se encuentren y de esta manera pueden liberar su carga en el sitio blanco en el tiempo y velocidad requerida; esto ha permitido realizar estudios cinéticos de la liberación de fármacos, ya que al inicio estos sistemas se encuentran secos y al momento de ser administrados absorben agua u otros fluidos corporales iniciándose el hinchamiento, permitiéndole al fármaco difundirse a través de la red polimérica hacia el exterior. Estos hidrogeles al no cambiar su estructura química más allá del hinchamiento que sufren, se degradan dentro del organismo mediante procesos biológicos naturales.

Este proyecto tuvo como finalidad la preparación y evaluación de hidrogeles pH-sensibles sintetizados a partir de dimetil amino etil metacrilato (DMAEMA) para la liberación controlada de metronidazol por vía vaginal; este fármaco es un compuesto 5-nitro-imidazol introducido en el año 1959 para el tratamiento de infecciones producidas por *Trichomonae* lo que lo ha convertido en el principal referente y comparador de cualquier fármaco con actividad frente a microorganismos anaerobios. La biodisponibilidad del metronidazol tras su administración vaginal es del 20% con una vida media de 6-12 h; se distribuye ampliamente por vía oral o intravenosa, el principal metabolito es el 2-hidroximetil metronidazol, el cual presenta actividad antibacteriana y antiprotozoaria. La eliminación se da principalmente por vía renal, excretándose del 60-80% en orina.

El sitio de aplicación del hidrogel y del principio activo utilizado se eligieron considerando que en la actualidad las infecciones vaginales son un tema de gran interés para el desarrollo de nuevas formulaciones farmacéuticas debido a su alta recurrencia en la vida de las mujeres, ya que 9 de cada 10 las padecen a lo largo de su vida; según datos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), entre las infecciones más comunes se encuentran: Vaginosis Bacteriana, Tricomoniasis, Infecciones por Hongos y Virus, Enfermedades de Transmisión Sexual como Gonorrea, VPH o Clamidia.



II. MARCO TEÓRICO

La liberación controlada de fármacos surgió durante la década de los ochenta como una alternativa a los sistemas de dosificación tradicionales. El objetivo principal de estos sistemas es proporcionar una respuesta óptima con el mínimo de reacciones adversas y un efecto terapéutico prolongado (Escobar *et al.*, 2002).

Después de la administración del medicamento, la concentración del fármaco se incrementa hasta obtener la concentración máxima para luego disminuir debido a la excreción y/o conversión metabólica. Si se requiere un efecto terapéutico prolongado será necesaria la administración de dosis altas sin que la concentración del fármaco rebase el nivel mínimo tóxico; de igual manera para conseguir dicho efecto será necesaria la administración periódica del fármaco, lo cual resulta ser poco práctico. Es debido a estas desventajas que los sistemas poliméricos de liberación controlada ofrecen una nueva alternativa a la administración de medicamentos para lograr así concentraciones de fármaco constantes (Figura 1).

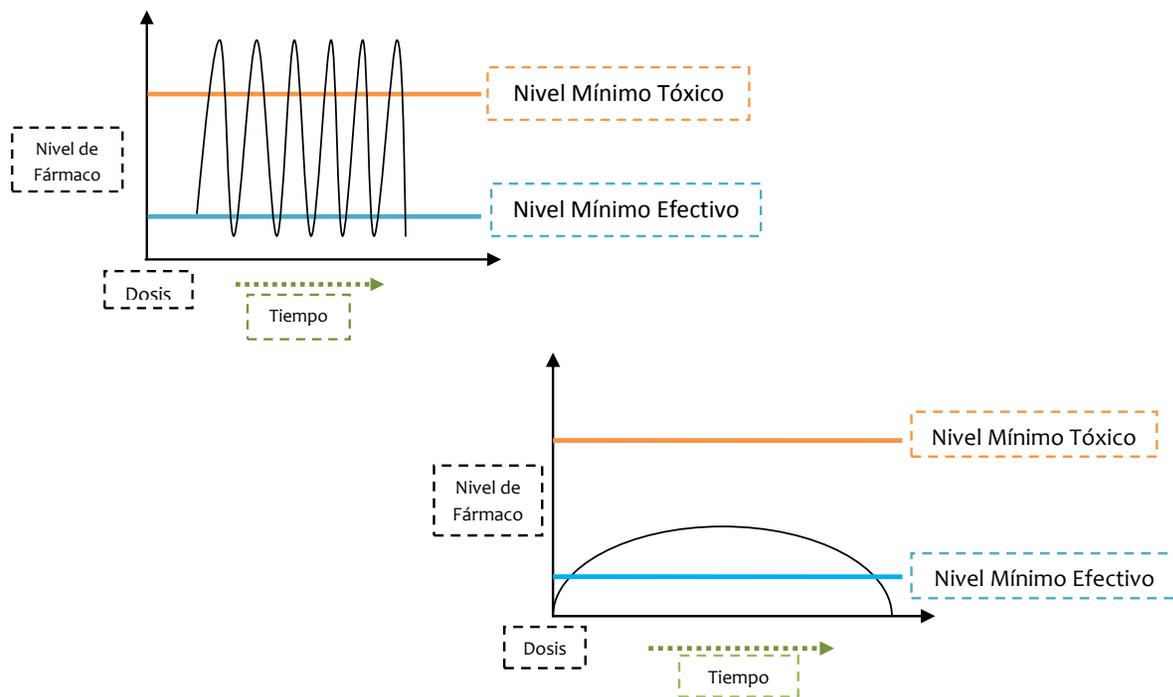


Figura 1.
Sistemas tradicionales de liberación (superior) y sistemas de liberación controlada de fármacos (inferior).



Generalmente para el tratamiento de una determinada enfermedad se lleva a cabo una dosificación generalizada sobre todo el organismo, siendo que en la mayoría de los casos la patología está localizada en un determinado órgano requiriéndose una acción local. Es de esta manera que la combinación polímero-fármaco hace posible un efecto localizado hacia el órgano o células enfermas. Esta especificidad se logra uniendo al conjugado soluble, receptores específicos como anticuerpos, hormonas o carbohidratos, que serán reconocidos por los receptores de la superficie de las células de la zona dañada.

Estos conjugados polímero-fármacos pueden diferenciarse en solubles e insolubles a partir de su solubilidad en los fluidos corporales (sangre, sistema linfático y tejido intersticial).

Los primeros polímeros en ser utilizados en los sistemas de liberación controlada fueron:

- Poliuretanos.
- Poli (metacrilato de metilo).
- Poli (etileno).
- Poli (vinil pirrolidona).

Los polímeros más empleados en la actualidad son:

- Poli (metacrilato de 2-hidroxietilo).
- Poli (N-vinil pirrolidona).
- Poli (vinil alcohol).
- Poli (ácido acrílico).
- Poli (acrilamida).
- Polietilenglicol.
- Ácido Poli (metacrílico)

Existen dos variantes de sistemas poliméricos con actividad farmacológica basados en la variabilidad de su estructura química:

- La primera se basa en la unión física de los compuestos farmacológicamente activos a matrices poliméricas de naturaleza hidrófila o hidrófoba, que pueden ser macromoléculas lineales, ramificadas o entrecruzadas. En este tipo de formulaciones, podemos considerar que el fármaco se encuentra embebido en la matriz que actúa como soporte y dosificación.
- La segunda consiste en la preparación y utilización de sistemas en los que el principio activo es la propia macromolécula, o está unido a ella químicamente. En este caso, es necesario que la unión covalente entre el fármaco y la matriz polimérica, sea fácilmente hidrolizable permitiendo la fácil ruptura del enlace covalente.



1. HIDROGELES

1.1 Definición

Un hidrogel es una red polimérica tridimensional compuesta de cadenas flexibles de homopolímeros o copolímeros que al encontrarse en un medio acuoso es capaz de retener cantidades considerables de agua, presentando por consiguiente un notable incremento de tamaño manteniendo su forma hasta alcanzar el equilibrio físico-químico (Arredondo & Londoño, 2009) (Peppas et al., 2000) (Deligkaris et al., 2010).

1.2 Generalidades

Debido a su naturaleza, los hidrogeles son de gran interés principalmente en el área médica donde pueden ser utilizados como sistemas de liberación controlada, o como dispositivos para diagnóstico, sustrato para el cultivo de células, membranas para hemodiálisis, músculos artificiales, válvulas para el corazón, desintoxicantes sanguíneos, lentes de contacto e implantes (Peppas et al., 2000) (Escobar et al., 2002).

1.2.1 Características

Actualmente el interés por los sistemas de liberación controlada de fármacos hace de los hidrogeles materiales apropiados para esta aplicación debido a que poseen propiedades bien definidas tales como:

- Insolubles

Debido a que las cadenas de polímero presentan entrecruzamientos químicos, o enlaces cruzados físicos (Peppas et al., 2000) lo cual hace posible la formación de una red polimérica tridimensional en su estructura (Zorraquín, 2004).

- Hidrófilos

Ya que presentan grupos funcionales solubles en agua como OH, COOH, CONH₂, SO₃H (Arredondo & Londoño, 2009) (Escobar et al., 2002).

- Absorción de agua e hinchamiento

La gran cantidad de agua que estos materiales son capaces de retener se encuentra establecida por la compatibilidad termodinámica del hidrogel con el agua (Peppas et al., 2000) ya que mientras la cantidad de agua en la matriz polimérica es de al menos el 20% al entrar en contacto con un medio acuoso, ésta puede aumentar hasta un 99% en peso (Deligkaris et al., 2010) dando paso de esta manera al hinchamiento el cual se debe a la presencia de fuerzas osmóticas dadas por la cantidad de agua que entra a la red y la oposición que ejercen las cadenas de polímero en contra de la expansión (Arredondo & Londoño, 2009). Este proceso además es



reversible y dependiente de las condiciones ambientales; dicha propiedad de absorción y desorción se emplea para controlar la liberación del fármaco por lo que los hidrogeles son considerados como sistemas de liberación controlada, siendo de suma importancia la caracterización de las propiedades de hinchamiento utilizando diferentes variables ambientales durante las etapas de preformulación (Vara, 2005).

- Consistencia

Está determinada por el monómero hidrófilo de partida y la baja densidad de entrecruzamiento del polímero, lo que le confiere una consistencia suave y elástica. Siendo estas características, así como su gran flexibilidad lo que le brinda a los hidrogeles tener una buena interacción y alta biocompatibilidad con los tejidos vivos, aparte de no presentar ningún riesgo de rechazo por el sistema inmune y ser degradado lentamente (Arredondo & Londoño, 2009) (Peppas et al., 2000) (Deligkaris et al., 2010).

Todas estas propiedades son dependientes de la composición del hidrogel, es decir, el tipo de polímeros, agentes entrecruzantes y demás excipientes empleados; así como de las características del medio como pH y temperatura que se utilizaron durante su síntesis lo que le dan al hidrogel el grado de hidrofilia y con ello su capacidad de hinchamiento (Luzardo et al., 2003)

1.2.2 Propiedades

Se ha observado que existe una relación directa entre las propiedades del hidrogel y su estructura, por lo que estas no pueden ser consideradas de manera aislada, debido a que el método de síntesis influye de manera significativa sobre ellas.

a) Contenido de agua en equilibrio:

Esta propiedad influye en la permeabilidad, la biocompatibilidad y en las propiedades mecánicas y de superficie. El contenido de agua se verá afectado por la naturaleza del monómero o monómeros hidrófilos que forman al hidrogel, así como por el tipo y densidad de entrecruzamiento y otros factores como la temperatura, la fuerza iónica y el pH del medio de hidratación.

b) Humectabilidad superficial y tensión superficial crítica:

La humectabilidad superficial puede ser obtenida mediante el cálculo de la tensión superficial crítica, que a su vez se determina midiendo el ángulo de contacto de un líquido con la superficie. La medida del ángulo de contacto de una serie de líquidos con diferente tensión superficial conduce a la determinación de la tensión superficial crítica.



c) Permeabilidad al oxígeno:

Esta propiedad permite observar la velocidad en que compuestos de bajo peso molecular son transportados a través del hidrogel con base en la cantidad de agua presente y a la permeabilidad al oxígeno. Cuando el hidrogel presenta contenidos de agua menores o iguales al 30% la permeabilidad al oxígeno dependerá de la estructura polimérica que condiciona la proporción de agua unida y de agua libre. Sin embargo, con contenidos de agua en equilibrio superiores, la permeabilidad al oxígeno está en proporción logarítmica al contenido de agua del hidrogel.

d) Permeselectividad

En presencia de fluidos acuosos o biológicos la tensión superficial de la membrana del hidrogel disminuye y el contenido de agua asociada permite controlar la permeabilidad; favoreciéndose el transporte de iones a través de la membrana dependiendo de su tamaño y del contenido de agua asociada el cual condiciona el tamaño del poro. De esta manera el contenido de agua dependerá de la estructura molecular, con lo que podrán diseñarse membranas con diferente tamaño de poro que permitan el paso selectivo de distintos iones.

e) Propiedades mecánicas

La resistencia mecánica puede definirse como la capacidad de un material para soportar la acción de una fuerza sin romperse y generalmente se caracteriza por el esfuerzo que induce dicha ruptura. La respuesta puede oscilar entre dos comportamientos extremos:

- Viscoso: Al aplicar fuerza a un cuerpo, éste se deformará; al dejar de aplicar dicha fuerza, la deformación prevalecerá, con lo que la energía aplicada se perderá en forma de calor.
- Elástico: En caso contrario al anterior; una vez que se deja de ejercer la fuerza, la deformación desaparece, recuperándose el trabajo correspondiente.

Se ha observado que los hidrogeles presentan una combinación de ambos comportamientos confiriéndoles de esta manera el término *viscoelásticos*.

f) Biocompatibilidad

La biocompatibilidad puede entenderse como la elevada tolerancia que han de mostrar los tejidos ante un agente extraño.

Los hidrogeles presentan una gran biocompatibilidad; lo que favorece su uso como biomateriales; esto debido a sus propiedades físicas como alto contenido de agua, consistencia



blanda y elástica y su baja tensión superficial, asemejándose a los tejidos vivos más que cualquier otro tipo de biomateriales sintéticos.

1.2.3 Clasificación de hidrogeles

Pueden clasificarse como:

- Neutros o iónicos, según la naturaleza de los grupos funcionales que posea.
- Redes afines o fantasma, dado sus características estructurales.
- Redes de homopolímeros o copolímeros, según el método de síntesis.
- Amorfos, semicristalinos, estructuras con puentes de hidrógeno, estructuras supramoleculares y agregados hidrocoloidales; en función de la estructura física de las redes (Peppas et al., 2000) (Deligkaris et al., 2010).

1.3 Síntesis de hidrogeles

Los hidrogeles pueden ser formados a través de polimerización y el entrecruzamiento físico o químico de los enlaces del homopolímero o copolímero empleados para formar la red tridimensional; por lo general un solo monómero no es capaz de proporcionar buenas propiedades mecánicas y una óptima retención de agua lo que hace necesario el proceso de copolimerización; las interacciones entre los enlaces pueden ser covalentes dando lugar a hidrogeles químicos, o no covalentes generando hidrogeles físicos.

1.3.1 Hidrogeles físicos

En este tipo de hidrogeles el entrecruzamiento de las cadenas se lleva a cabo mediante enlaces no covalentes; las zonas de cruce se forman mediante la interacción de las cadenas de polímero a una longitud determinada.

La formación de la red tridimensional tendrá lugar al entrar en contacto la parte hidrofóbica con la hidrofílica del polímero; o de igual forma a través de la atracción de cargas entre el polímero y otra molécula o entre dos polímeros con carga opuesta o mediante la formación de puentes de hidrógeno.

1.3.2 Hidrogeles químicos

Se forman mediante enlaces covalentes siendo estas interacciones mucho más fuertes que las no covalentes lo que proporciona a este tipo de hidrogel una mayor estabilidad mecánica con la desventaja de presentar efectos secundarios. La síntesis de estos puede llevarse a cabo mediante radicales libres, la reacción química entre grupos funcionales del polímero así como la utilización de enzimas (Deligkaris et al., 2010).

Los monómeros empleados con mayor frecuencia en la síntesis de hidrogeles se dividen según su estructura en: (Peppas et al., 2000).



- Monómeros con sustituyentes laterales no ionizables; como la N-vinil-2-pirrolidona, el metacrilato de 2-hidroxietilo, etc.
- Monómeros con grupos funcionales ionizables. Como por ejemplo los ácidos acrílicos, metacrílicos, 2-vinilpiridina, 4-vinilpiridina, ácido vinil-sulfónico, acrilamida, meta acrilamida. De estos monómeros se obtienen hidrogeles que generalmente absorben grandes cantidades de agua pero presentan pobres propiedades mecánicas por sí solos. Por esta razón, las estructuras mencionadas se utilizan para modificar otros monómeros menos hidrófilos.
- Monómeros zwitteriónicos. Presentan dos grupos cargados unidos a la cadena principal.

1.3.3 Influencia del agente entrecruzante

La relación de entrecruzamiento se define como la relación entre los moles de agente entrecruzante y las unidades repetidas de monómero, siendo este uno de los factores críticos en el hinchamiento de los hidrogeles. Mientras mayor sea la cantidad de agente entrecruzante añadido a la estructura del hidrogel, mayor será el entrecruzamiento, por lo que presentarán una estructura más compacta y su grado de hinchamiento será menor al de un hidrogel con un bajo entrecruzamiento (Zorraquín, 2004).

Los hidrogeles que poseen grupos hidrófilos en su estructura se hinchan en mayor proporción que aquellos que contienen grupos hidrófobos, los cuales se colapsan en presencia de agua, debido a la disminución de las interacciones con las moléculas de agua, dando como resultado hidrogeles mucho menos hinchados (Vara, 2005).

Las principales diferencias entre un polímero entrecruzado y uno no entrecruzado serán que en el entrecruzado, las cadenas se encuentran covalentemente unidas por lo que no podrán ser separadas por la entrada de líquido volviéndose insoluble y presentando un aspecto de sólido elástico; mientras que en los no entrecruzados, esta entrada de líquido podrá desenmarañar las cadenas, separándolas ya que las fuerzas que las mantienen unidas son de origen físico permitiendo su disolución, con lo que al aumentar la cantidad de líquido pasa de un aspecto sólido elástico al de líquido viscoso. (Zorraquín, 2004)(Vara, 2005).

El agente entrecruzante tiene la capacidad de estabilizar la red tridimensional del polímero mediante enlaces covalentes, cargas complejas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals o interacciones hidrófobas. Siendo el grado de entrecruzamiento de un hidrogel el que determina sus propiedades de hinchamiento y su aplicabilidad.



Un alto grado de entrecruzamiento provocará una disminución en la capacidad de hinchamiento del sistema, manteniendo su integridad física durante tiempos prolongados, mientras que un entrecruzamiento bajo provocará un hinchamiento acelerado seguido de una rápida disolución del polímero. Por tanto, una óptima cantidad de agente entrecruzante mantendrá el equilibrio entre hinchamiento y disolución del polímero (Zorraquín, 2004)

Existen varios métodos de preparar hidrogeles entrecruzados como:

- Entrecruzamiento por radiación

Este método utiliza la emisión de electrones, rayos gamma, rayos X o luz ultravioleta para excitar el polímero y producir la estructura entrecruzada (Vara, 2005).

- Reacción química

Se lleva a cabo mediante la reacción de copolimerización y el entrecruzamiento entre uno o más monómeros y un monómero multifuncional de masa molecular pequeña el cual se unirá a cadenas de gran peso molecular mediante sus grupos funcionales, al que se le denomina agente entrecruzante y deberá estar presente en mínimas cantidades (Vara, 2005).

Será de suma importancia la elección del agente entrecruzante debido a que de éste depende que las propiedades del hidrogel sean las óptimas. Estos agentes deberán presentar en su estructura diferentes grupos reactivos, utilizándose con mayor frecuencia compuestos tetrafuncionales y hexafuncionales. Un ejemplo de este tipo de monómeros es la N,N-metilenbisacrilamida (NMBA).

Para que se lleve a cabo la reacción de polimerización es necesaria la presencia de un agente desecante o iniciador, siendo los más utilizados los radicales libres, la temperatura, los iniciadores iónicos, la radiación gamma, entre otros (Vara, 2005).

1.4 Hidrogeles que responden a estímulos

Se denominan hidrogeles inteligentes a aquellos que responden a estímulos del medio, lo que hace posible la creación de nuevos sistemas que sean capaces de liberar el principio activo sólo cuando se encuentren en el ambiente biológico adecuado (Arredondo & Londoño, 2009) (Escobar et al., 2002).

Los hidrogeles ambientalmente sensibles serán capaces de responder a cambios drásticos en el comportamiento de hinchamiento, estructura de la red, permeabilidad o resistencia mecánica mediante cambios de pH, temperatura, composición del disolvente, campo eléctrico, luz, presión, o incluso de la fuerza iónica del medio en el que se encuentren (Peppas et al., 2000).



La mayoría de los estudios realizados acerca de la respuesta a estímulos se basan en los efectos de pH y temperatura ya que es bien sabido que ambas condiciones son variables inherentes a los sistemas fisiológicos (Arredondo & Londoño, 2009).

Tabla 1. Estímulos, respuesta y mecanismos que influyen en el hinchamiento de un polímero.

ESTÍMULO	RESPUESTA	MECANISMO
pH	Estimula o inhibe las reacciones o los procesos de reconocimiento	Cuando hay un cambio en el pH del medio ocurren variaciones en el hinchamiento por ionización del polímero y en la liberación del fármaco.
Temperatura	Separación de fases (precipitación)	Cuando hay cambios en la temperatura del medio, se producen cambios en la interacción polímero-polímero y polímero-solvente provocando variaciones en el hinchamiento y la liberación de los fármacos.
Agentes químicos o bioquímicos	Forma (hinchamiento o deshinchamiento)	Los compuestos electroceptores forman complejos de carga de transferencia que producen cambios en el hinchamiento.
Fuerza iónica	Forma (se vuelve hidrófobo)	Cuando hay cambios en la fuerza iónica se producen cambios en la concentración de iones dentro del gel, en el hinchamiento y la liberación.
Campo eléctrico y Radiación electromagnética	Permeabilidad (aumenta o disminuye) Óptica (se hace más transparente u opaco)	Cuando se aplica un campo magnético cambia la porosidad del gel, así como el hinchamiento y la liberación.

1.4.1 Hidrogeles sensibles

Cuando un hidrogel presenta grupos funcionales ionizables entonces es muy probable que sea sensible a cambios de pH del medio; mientras que, si no posee ningún grupo funcional ionizable el pH no tendrá ningún efecto sobre su hinchamiento (Escobar et al., 2002). La variación del pH del medio induce cambios en el grado de ionización de los electrolitos, y por tanto en el grado de hinchamiento del hidrogel.

Cuando se presentan cambios de pH en el medio se incrementa la repulsión electrostática entre las cadenas y cambios en la tensión superficial, por lo que la absorción del disolvente incrementa provocándose así la expansión del hidrogel y de esta manera la liberación del fármaco (Escobar et al., 2002) (Peppas et al., 2000).



Si el polímero en su estructura presenta grupos funcionales ionizables tales como el ácido carboxílico o sulfónico, al aumentar el pH del medio se incrementará el grado de ionización, por lo tanto, el número de cargas será mayor al igual que la repulsión electrostática entre las cadenas, provocándose de esta manera que el grado de hidrofilia e hinchamiento de la red aumenten.

De manera contraria, los hidrogeles catiónicos que presentan grupos funcionales como las aminas, es en medios con pH bajo cuando incrementan su grado de ionización, aumentando por tanto la repulsión electrostática entre las cadenas del polímero provocando que la cadena sea más hidrofílica aumentando el hinchamiento de la misma (Peppas et al., 2000) (Arredondo & Londoño, 2009).

Tabla 2. Grupos sensibles a los cambios de pH.

Aniónicos	-COO ⁻	-OPO ₃ ⁻	-OSO ₃ ⁻	-SO ₃ ⁻	-OCS ₂ ⁻	-OPO ₃ ²⁻	-PO ₃ ²⁻	-PO ₂ ²⁻	-SiO ₂ ²⁻
Catiónicos	-N ⁺	-NH ⁺	-NH ₂ ⁺	-NH ₃ ⁺	-NRNH ₂ ⁺	-NR ₂ H ⁺	-NR ₃ ⁺	-S ⁺	-P ⁺

La manera en que el pH afecta el comportamiento de los hidrogeles se muestra en la siguiente figura, en donde es posible observar que al variar el pH del medio, el hidrogel comienza a hincharse provocando que el tamaño del poro de la red polimérica aumente, facilitando el paso de las moléculas de fármaco hacia el exterior del hidrogel (Escobar et al., 2002).

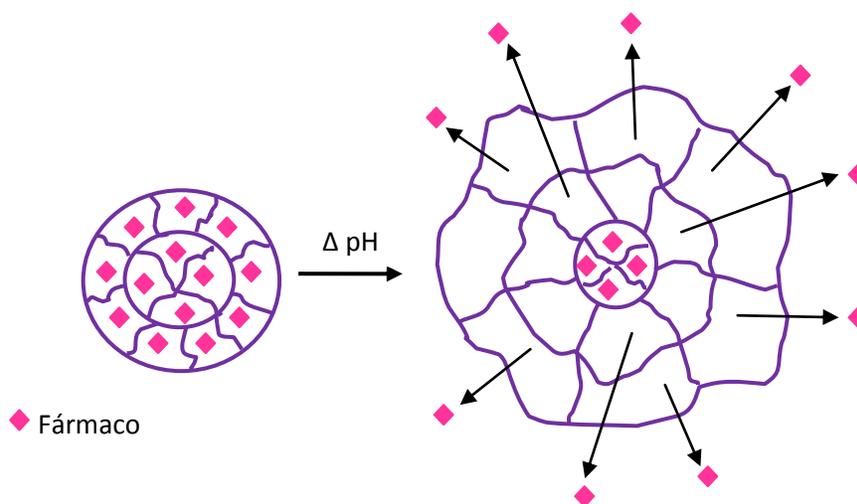


Figura. 2
 Representación esquemática del efecto del pH en un hidrogel.
 El fármaco será liberado con el hinchamiento del hidrogel



1.4.2 Hidrogeles termosensibles

Si en el medio se presentan cambios de temperatura, las interacciones entre polímero-polímero y polímero-solución aumentarán, ocasionando que el hinchamiento del hidrogel incremente, lo que se verá reflejado en la liberación del fármaco (Escobar et al., 2002).

Son este tipo de sistemas los que más se han estudiado debido a su gran utilidad en la liberación controlada de fármacos. Estudios realizados en la última década han demostrado que existen transiciones de fase en hidrogeles hidrófilos que dependen de la temperatura y que son dichas transiciones las que provocan que el hidrogel presente grandes variaciones de volumen, el cual es posible regular controlando las fuerzas hidrófobas e hidrófilas.

Este tipo de hidrogeles dependerán de la temperatura del paciente al que se le administran; ya que si la temperatura corporal rebasa un determinado valor, es decir un incremento en la temperatura, el fármaco será liberado del hidrogel para normalizar la temperatura del paciente. En el momento en que la temperatura se restablece, el hidrogel recuperará su volumen inicial dando lugar a una disminución significativa de la liberación del fármaco o incluso la inhibición por completo. Este tipo de comportamiento se muestra de forma esquemática en la siguiente figura, en donde es posible observar que al llegar a cierta temperatura el hidrogel se contrae.

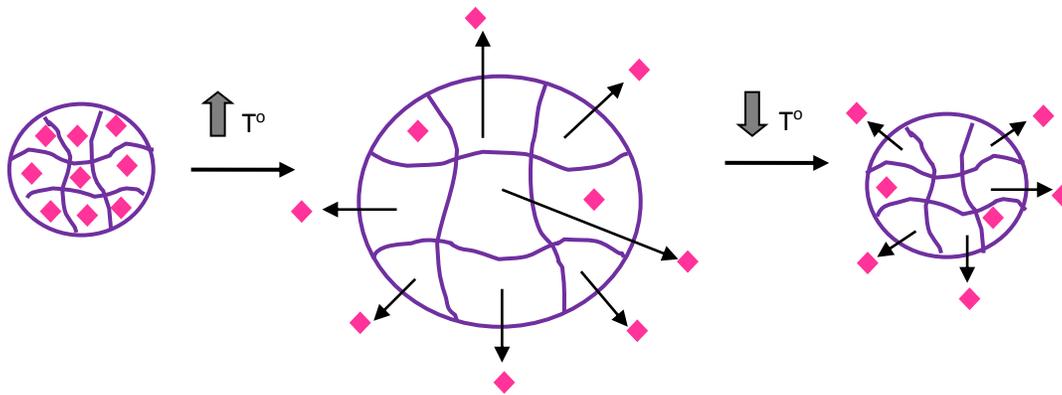


Figura 3.

Representación esquemática del efecto de la temperatura en un hidrogel.

◆ representa al fármaco atrapado en el hidrogel que comienza a ser liberado con el hinchamiento del gel.

Estos hidrogeles presentan el fenómeno de hinchamiento/deshinchamiento debido a la variación de temperatura en el medio de disolución; y como resultado de esto, algunos polímeros presentan separación de fases al elevarse la temperatura hasta un valor crítico llamado *Temperatura Crítica Menor de Solución* (TCMS). Este proceso está dado por la entropía



e involucra la pérdida de agua unida a los grupos hidrófobos a lo largo de la estructura del polímero al interactuar estos grupos unos con otros en la separación de fase.

Los hidrogeles que presentan TCMS son capaces de liberar al principio activo mediante diferentes vías, las cuales pueden clasificarse en: termosensibles positivos, termosensibles negativos y termosensibles reversibles.

a) Hidrogeles sensibles a temperaturas negativas

Este tipo de sistemas no presentan hinchamiento y por ende liberación del fármaco a temperaturas elevadas por encima de la TCMS, únicamente a temperaturas por debajo.

Debido a estas características, estos hidrogeles son utilizados para la liberación de proteínas o bien de liposomas ya que en ambos casos se puede ver afectada su estructura en presencia de altas temperaturas en el medio. Un ejemplo de este sistema son los copolímeros de N-isopropilacrilamida (PNIAAm) (Zorraquín, 2004).

a) Hidrogeles sensibles a temperaturas positivas

La liberación del fármaco en estos sistemas se presenta cuando el medio de disolución posee una temperatura por arriba de la TCMS debido al colapso que sufren las cadenas del polímero; estos sistemas tienen una temperatura crítica superior a la del medio de disolución por lo que presentan dependencia de la temperatura para desarrollar hinchamiento y como consecuencia la difusión fickiana se convierte en el mecanismo predominante de la liberación. Dentro de los más utilizados se encuentra a los geles de poli ácido acrílico (PAA) y poli(acrilamida (PAAm) o poli(acrilamida-co-butil metacrilato).

b) Hidrogeles termosensibles reversibles

En este tipo de hidrogeles el hinchamiento y por tanto la liberación del principio activo se presentan bajo condiciones normales de temperatura corporal; lo que hace que estos sistemas sean fáciles de administrar en cualquier cavidad del cuerpo que se desee. Es debido a dichas características que estos hidrogeles pueden ser combinados con polímeros que presentan alta dependencia del pH para diseñar novedosas formas de dosificación. Algunos ejemplos son los derivados de Pluronics, Tetronics, etc.

1.5 Aplicaciones farmacéuticas de los hidrogeles

A lo largo del tiempo se ha intentado implementar sistemas que permitan una eficiente administración de fármacos; por lo que los hidrogeles han sido de gran interés como dispositivos de liberación controlada del principio activo y se ha observado que es posible su utilización en diferentes vías de administración (Figura 4).

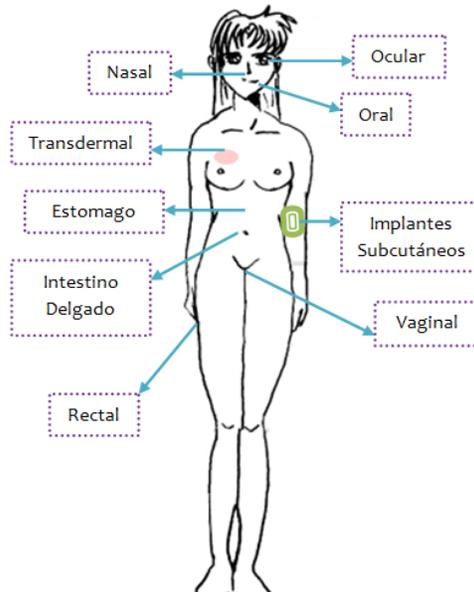


Figura 4.
Sitios de aplicación de hidrogeles.

a) Vía oral

La liberación de fármaco por vía oral ha sido el método más utilizado en las aplicaciones farmacéuticas de hidrogeles. En esta vía de administración, los hidrogeles son capaces de liberar el fármaco a dos sitios específicos: la boca y el tracto gastrointestinal, el cual se compone del estómago, intestino delgado y colon.

- Boca: la liberación del principio activo en esta zona tiene como objetivo el tratamiento de enfermedades locales tales como infecciones micóticas y virales, así como cáncer, y enfermedades periodontales entre otras, esto mediante el uso de hidrogeles bioadhesivos que pueden adherirse a la cavidad por un largo plazo aun contra el flujo abundante de saliva permitiéndose de esta manera la entrega del fármaco.

De manera similar existen ungüentos a base de hidrogeles que son utilizados en el tratamiento de determinadas enfermedades en la boca, confiriéndole a este tipo de ungüentos características más deseables tales como la inminente reducción en la liberación de fármacos en sangre, así como posibles efectos secundarios no deseados en comparación con la forma farmacéutica convencional.



- Tracto gastrointestinal: siendo éste la ruta más popular para la liberación de fármacos, dada la facilidad de administración y su gran superficie de absorción, se han desarrollado hidrogeles con propiedades de hinchamiento sensibles al pH para lograr con esto la liberación del principio activo.

b) Vía rectal

Esta vía ofrece grandes ventajas en la administración de medicamentos a pesar de las molestias que le provocan al paciente debido a la gran irrigación sanguínea que presenta el recto, lo que permite la absorción del principio activo directamente a la circulación sistémica, permitiendo que se evite el efecto del primer paso.

La forma farmacéutica más empleada para esta vía son los supositorios que a temperatura ambiente son sólidos y se ablandan a temperatura corporal; pero la gran desventaja que estos presentan es la difusión del fármaco de manera incontrolada provocándose que gran parte del principio activo no sea retenido en el recto y migre hacia el colon, lo que conlleva a la variación de la biodisponibilidad del medicamento. Es por este motivo que los hidrogeles pueden ofrecer una forma de solucionar dicha problemática; basados en estudios se ha observado que existen hidrogeles con propiedades de gelificación térmica lo que significa que son capaces de comportarse como geles a la temperatura corporal permitiendo la liberación controlada del fármaco en el sitio específico y ser líquidos a temperatura ambiente facilitando su administración.

c) Vía vaginal

La vagina ha sido utilizada como vía de administración, desde la antigua medicina hasta la medicina moderna. Aunque generalmente se utilizan fármacos de acción local; algunos pueden penetrar la mucosa vaginal y llegar a sangre en concentraciones suficientes para tener efectos sistémicos y a pesar de que existe un amplio conocimiento sobre la fisiología y fisiopatología vaginal, el conocimiento es muy limitado respecto al uso de medicamentos vaginales. Sin embargo, en los últimos años, el desarrollo de medicamentos para esta vía de administración ha aumentado (*Das Neves et al., 2010*); principalmente como preparaciones vaginales mucoadhesivas como nuevas formas que controlan la liberación de fármacos tanto para enfermedades tópicas como sistémicas (*Rodríguez et al., 2000*), de hecho los principales avances se han realizado en la prevención del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), otras infecciones de transmisión sexual, anticoncepción, como terapia de reemplazo hormonal en mujeres menopáusicas y en la inducción del parto (*Das Neves et al., 2010*).

En general, los sistemas vaginales presentan ventajas sobre otras vías de administración, en especial para aquellos fármacos que son sensibles al metabolismo intestinal o hepático, o que pueden causar efectos colaterales en el tracto gastrointestinal. No obstante, en comparación con vías de administración como son: bucal, nasal, rectal, la biodisponibilidad y la acción local



de los fármacos allí administrados no es muy alta, por lo que se han buscado formas bioadhesivas para conseguir un incremento en la efectividad de la forma de dosificación.

La ventaja principal radica en la posibilidad de mantener en la vagina el medicamento durante prolongados periodos de tiempo reduciendo la frecuencia de la administración y por ende el número de dosis (Rodríguez *et al.*, 2000).

d) Vía oftálmica

Esta vía ofrece diversas desventajas debido a las limitaciones fisiológicas que se presentan tales como el frecuente drenaje lagrimal y la baja permeabilidad de la córnea, lo que dificulta de manera significativa la administración de medicamentos, lo que ha motivado a diversos investigadores a desarrollar sistemas que proporcionen una residencia ocular prolongada y es debido a la propiedad de elasticidad de los hidrogeles que pueden ser utilizados como dispositivos oculares resistentes, ya que su administración se lleva a cabo en forma líquida y su retención a largo plazo será en forma de gel provocando una continua liberación del fármaco sin presentar molestias significativas al paciente.

e) Vía transdérmica

Esta vía es generalmente usada para el tratamiento de enfermedades de la piel o incluso para la desinfección de la misma; los beneficios de esta vía de administración incluyen que el fármaco no sufre el efecto del primer paso y puede ser liberado prolongadamente a un ritmo constante y de igual manera ser fácilmente interrumpida al retirar el dispositivo. La ventaja que aporta el uso de hidrogeles en estos dispositivos es que debido a su alto contenido de agua, proporcionan una mejor sensación para la piel en comparación con los ungüentos y parches tradicionales.

f) Vía subcutánea (Implantes)

El insertar materiales exógenos al organismo puede desencadenar respuestas corporales no deseadas como carcinogenicidad e inmunogenicidad; por lo que la biocompatibilidad es de vital importancia para los dispositivos implantables. Es debido a su alto contenido de agua, lo que hace que los hidrogeles sean considerados como materiales biocompatibles además que proporcionan algunas otras propiedades prometedoras como mínima irritación mecánica durante la implantación, debido a sus propiedades de suavidad y elasticidad; prevención de la adsorción de proteínas y adhesión celular derivados de la baja tensión interfacial entre el agua y el hidrogel; amplia aceptación de medicamentos de diferente tamaño molecular y; la posibilidad de manipular la liberación del principio activo (Peppas *et al.*, 2000).



1.5.1 Hidrogeles y la administración de fármacos

El tratamiento clínico de una enfermedad generalmente se lleva a cabo mediante la administración de medicamentos que se distribuyen de forma arbitraria por el organismo; y siendo que en la mayoría de los casos la afección se encuentra en un determinado sitio se ha tenido la necesidad de crear una forma de administración del fármaco más específica, de la cual se obtenga una respuesta óptima con la mínima presencia de efectos secundarios, que sean cómodos para el paciente, pero principalmente con eficacia prolongada para lograr niveles constantes de fármaco.

Siendo que el fármaco es el responsable de generar una respuesta fisiológica, es posible crear un sistema conjugado polímero-fármaco para conseguir un efecto dirigido hacia el órgano enfermo; lo cual es posible mediante la adición de sitios activos que serán reconocidos por los receptores de la superficie de las células de la zona dañada. Esta unión al polímero puede ser de manera permanente o bien temporalmente y ser removido mediante hidrólisis o procesos enzimáticos.

En cuanto a los materiales que pueden ser utilizados para obtener sistemas cargados con el fármaco, que sean capaces de responder a estímulos del medio en el que se encuentren y de esta manera liberar su carga en el sitio, en el tiempo y a la velocidad requerida, se ha encontrado que los hidrogeles poseen las características necesarias para ser usados en esta labor; y por consiguiente se han realizado diversas investigaciones que brindan una idea de cómo se lleva a cabo la liberación de medicamentos mediante pruebas cinéticas que miden el grado de hinchamiento del hidrogel al paso del tiempo y como consecuencia de esto la liberación del principio activo (Figura 5).

Los sistemas de liberación controlada se encuentran inicialmente secos y al ser administrados absorberán agua u otros fluidos del cuerpo hasta iniciar el hinchamiento lo que le permitirá al fármaco difundir a través de la red hacia el exterior.

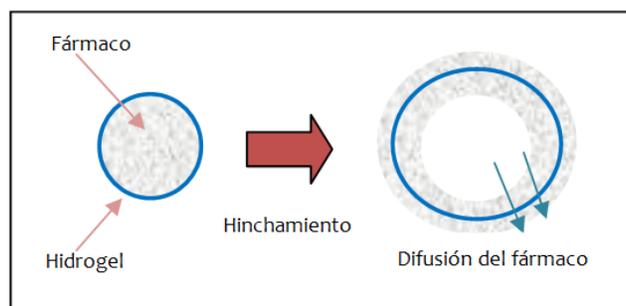


Figura 5.
Hinchamiento del hidrogel y difusión del fármaco al medio externo.



Estos hidrogeles son capaces de absorber gran cantidad de fluidos hasta llegar al estado de equilibrio, el cual comprende de un 60-90% de fluido y sólo del 10-30% del polímero.

Estos polímeros no cambian su estructura química más allá del hinchamiento que sufren, por lo que se degradan dentro del organismo mediante procesos biológicos naturales eliminando así la necesidad de quitar algún sistema utilizado para la liberación del fármaco (Escobar *et al.*, 2002).

1.6 Liberación del fármaco a través del hidrogel

1.6.1 Mecanismos de liberación

La cinética de liberación depende del gradiente de difusión del activo en la capa gelosa. Y el espesor de la capa gelosa está controlado por la contribución relativa de la penetración de solvente.

El mecanismo de liberación de un polímero hinchable se puede resumir en cuatro pasos.

Paso 1.

Formación de la capa gelosa; la liberación del activo es controlada por las características del agente hinchable y depende de la temperatura y de las interacciones termodinámicas del polímero y el solvente.

Los hidrogeles hidrofílicos tienen un comportamiento que se caracteriza por la formación de una capa de gel externa sobre la superficie del hidrogel. Durante la liberación del activo la capa gelosa es expuesta a continuos cambios estructurales y de espesor, siendo esta una barrera que controla la penetración del agua así como la difusión del activo. La capa gelosa progresivamente se hidrata y cuando tiene suficiente agua acumulada, las cadenas se desenredan y se disuelven.

Paso 2.

Velocidad de liberación del activo y penetración del agua; el grado de penetración de agua es limitada por la porosidad del hidrogel. Esta etapa ocupa del 60-70% del proceso, ya que el fluido se encuentra continuamente penetrando el sistema, al mismo tiempo que se está expandiendo. Durante esta fase la liberación es controlada por la difusión y no por la disolución del principio activo y penetración del agua.



Paso 3.

Hinchamiento del polímero; el hinchamiento es una parte integral del comportamiento físico de los hidrogeles. Una vez que el medio de disolución (agua, solución salina, fluidos biológicos) penetra al polímero, éste empieza a hincharse permaneciendo insoluble y sin perder la forma original. La conservación de su forma es el resultado de un balance entre las fuerzas intermoleculares y cohesivas (dentro de las cuales se incluye la absorción del disolvente).

Paso 4.

Disolución y difusión del activo; al alcanzar el proceso de hinchamiento, la difusión del principio activo no será únicamente a través de los poros que se encuentran llenos de agua sino a través de las cadenas de polímero, dependiendo esta última de su estructura física, densidad reticular así como las interacciones polímero-soluto. Generalmente la difusión de soluto desde este tipo de sistemas en equilibrio de hinchamiento es de tipo fickiano. Sin embargo en sistemas en los cuales no existe equilibrio, la difusión puede ser o no de tipo fickiano (Zorraquín, 2004).

2. MODELOS MATEMÁTICOS

Cuando se desarrolla una nueva forma farmacéutica sólida será necesario que la liberación del principio activo se lleve a cabo de manera apropiada para lo que se realizan estudios de disolución.

La disolución *in vitro* ha sido reconocida como un elemento importante en el desarrollo de fármacos. A partir de varias teorías y modelos cinéticos de disolución es posible describir a las formas de dosificación inmediata y de liberación modificada. Existen varios modelos para la representación de los perfiles de disolución del fármaco f_t en función del tiempo t , en relación con la cantidad de fármaco disuelto en el sistema de dosificación. La interpretación cuantitativa de los valores obtenidos en los estudios de disolución se ve facilitada mediante el uso de una ecuación genérica que traduce matemáticamente la curva de disolución en función de algunos parámetros relacionados con la forma farmacéutica. El tipo de fármaco, su forma polimórfica, cristalinidad, tamaño de partícula, solubilidad y cantidad en la forma farmacéutica pueden influir en la cinética de liberación. Un fármaco soluble en agua incorporado en la matriz se libera principalmente por difusión; mientras que un fármaco con baja solubilidad en agua, será la propia erosión de la matriz el principal mecanismo de liberación. Para comparar los perfiles de disolución pueden utilizarse los siguientes modelos (Costa & Sousa, 2001):



2.1 Cinética de orden cero

La disolución del fármaco a partir de formas farmacéuticas que no se disgregan y que liberan el fármaco lentamente puede ser representada por la siguiente ecuación:

$$W_0 - W_t = K_t$$

Donde W_0 es la cantidad inicial de fármaco en la forma farmacéutica, W_t es la cantidad de fármaco en la forma farmacéutica en el momento t y K_t es una constante de proporcionalidad. Al dividir la ecuación entre W_0 y simplificando se obtiene:

$$f_t = K_0 t$$

Donde $f_t = 1 - (W_t/W_0)$ y f_t representa la fracción del fármaco disuelta en el tiempo t , K_0 representa la velocidad de disolución constante o de orden cero. De esta manera, un gráfico de la fracción de fármaco disuelto en función del tiempo será lineal si se cumplen las condiciones establecidas.

Este modelo puede ser utilizado para describir la disolución de fármacos en formas farmacéuticas de liberación controlada, como el caso de algunos sistemas transdérmicos, así como sistemas matriciales con fármacos de baja solubilidad, formas recubiertas, sistemas osmóticos, etc. Estas formas farmacéuticas arrojan un perfil de disolución en relación de la cantidad de fármaco liberada por unidad de tiempo y es el método ideal de liberación de fármacos con el fin de lograr una acción farmacológica prolongada. La siguiente ecuación expresa de manera sencilla este modelo:

$$Q_t = Q_0 + K_0 t$$

Donde Q_t es la cantidad de fármaco disuelto en el tiempo t , Q_0 es la cantidad inicial del fármaco en la solución (la mayoría de veces $Q_0 = 0$) y K_0 es la constante de liberación de orden cero (Costa & Sousa, 2001).

2.2 Modelo de Higuchi

Higuchi ha desarrollado varios modelos teóricos para estudiar la liberación de fármacos solubles en agua y con baja solubilidad que se encuentran incorporados en matrices semi sólidas y sólidas. Las ecuaciones obtenidas se desarrollaron a partir del comportamiento de partículas de fármaco dispersas en una matriz en un medio de disolución. Para el estudio de



disolución de un sistema plano que posee una matriz homogénea, la relación obtenida fue la siguiente:

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

Esta relación fue propuesta por Higuchi para describir la disolución de fármacos en suspensión de las bases de pomada, pero también es válida para otros tipos de disolución de otras formas farmacéuticas. El perfil de concentración de estas formas de dosificación puede representarse de la siguiente forma:

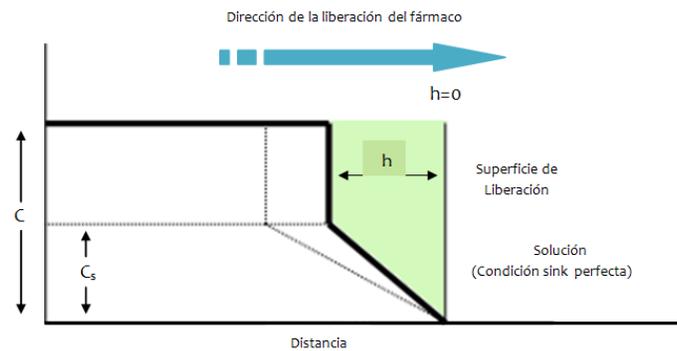


Figura 6.
 Perfil de liberación de un fármaco (Costa & Sousa, 2001).

La línea continua representa la variación de la concentración del fármaco en el sistema después de un tiempo t en la superficie de liberación de la matriz. Se espera que se muestre una marcada discontinuidad en la distancia h de la concentración total de fármaco, y la disolución del fármaco no podría ocurrir hasta que la concentración cae por debajo de la solubilidad del fármaco en la matriz (C_s). Para distancias superiores a h , el gradiente de concentración será constante, siempre y cuando $C \gg C_s$. La linealidad de la pendiente sobre la distancia sigue la primera ley de Fick. En un momento t la cantidad liberada del fármaco por el sistema corresponde a la zona sombreada en la fig.6. Por lo tanto, la cantidad de fármaco, dQ , está relacionada con el movimiento del frente de liberación, dh .

$$dQ = Cdh - \frac{1}{2}(C_s dh)$$

De acuerdo a la primera ley de Fick ($dQ/dt = DC_s/h$), se obtiene la siguiente ecuación:

$$\frac{(C dh - \frac{1}{2}(C_s dh))}{dt} = \frac{DC_s}{h} \quad \text{o} \quad \frac{h(C dh - \frac{1}{2}(C_s dh))}{DC_s} = dt$$



Al integrar esta ecuación,

$$t = \frac{h^2}{4DC_s}(2C - C_s) + k'$$

Donde k es una constante de integración y k'' será igual a cero si el tiempo se mide desde cero, entonces:

$$t = \frac{h^2}{4DC_s}(2C - C_s) \quad \text{o} \quad h = 2\sqrt{\frac{tDC_s}{2C - C_s}}$$

Si Q es la cantidad de fármaco liberado en el momento t , entonces:

$$Q = hC - \frac{1}{2}(hC_s) \quad \text{o} \quad Q = h(C - C_s)$$

Al reemplazar h en esta ecuación se obtiene la siguiente expresión:

$$Q = 2\sqrt{\frac{tDC_s}{2C - C_s}}(C - C_s)$$

Y finalmente

$$Q = 2\sqrt{tDC_s(2C - C_s)}$$

Esta relación es válida durante todo el tiempo, excepto cuando se llega al agotamiento total del fármaco en el sistema.

Para el estudio de disolución de un sistema donde la concentración del fármaco en la matriz es inferior a su solubilidad y la liberación se produce a través de los poros de la matriz, Higuchi desarrolló el siguiente modelo:

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

Donde, Q es la cantidad de fármaco liberado en el tiempo t por unidad de superficie, C la concentración inicial de fármaco, ε la porosidad del sistema, τ la tortuosidad del sistema, C_s es



la solubilidad del fármaco en la matriz- excipiente y D la constante de difusión de las moléculas del fármaco en el líquido (Costa & Sousa, 2001).

2.3 Modelo de Korsmeyer-Peppas

2.3.1 Korsmeyer

Desarrolló un modelo semi-empírico simple sobre la liberación del fármaco de forma exponencial con respecto al tiempo transcurrido (t):

$$f_t = at^n$$

Donde a es una constante que incorpora características estructurales y geométricas de la forma farmacéutica, n es el exponente de liberación, lo que indica el mecanismo de liberación del fármaco, y la función de t es M_t/M_∞ (liberación fraccional del fármaco).

La difusión del fármaco a partir de un sistema polimérico de liberación controlada con la forma de una hoja plana, de espesor δ puede ser representado por:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}$$

Donde D es el coeficiente de difusión del fármaco (independiente de la concentración). Si la liberación del fármaco se produce bajo condiciones sink, las condiciones iniciales y las condiciones límites pueden asumirse:

$$\begin{array}{lll} t = 0 & -d/2 < x < d/2 & c = c_0 \\ t > 0 & x = \pm d/2 & c = c_1 \end{array}$$

Donde c_0 es la concentración inicial del fármaco en el dispositivo y c_1 es la concentración del fármaco en la interface polímero-agua. La ecuación de la solución bajo estas condiciones fue propuesta inicialmente por Crank (1975).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 2 \left(\frac{D_t}{\delta^2} \right)^{1/2} \left[\pi - \frac{1}{2} + \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n \operatorname{erfc} \frac{n\delta}{2\sqrt{Dt}} \right]$$

Puede obtenerse una expresión lo suficientemente precisa para valores pequeños de t desapareciendo el segundo término de la ecuación anterior obteniéndose:



$$\frac{M_t}{M_\infty} = 2 \left(\frac{D_t}{\partial^2} \right)^{1/2} = at^{1/2}$$

Entonces, si la difusión es el mecanismo principal de liberación del fármaco, un gráfico que represente la cantidad de fármaco liberado, bajo las condiciones antes mencionadas, frente a la raíz cuadrada del tiempo deberá originar una línea recta. Bajo ciertas condiciones experimentales el mecanismo de liberación se desvía de la ecuación de Fick, debido a un comportamiento anómalo (no Fickiano). En estos casos puede ser utilizada una ecuación más general (Costa & Sousa, 2001):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = at^n$$

2.3.2 Peppas

Utilizó el valor de n para caracterizar los diferentes mecanismos de liberación, concluyendo que para valores de $n=0.5$ la difusión será de tipo Fickiana; si los valores de n son entre 0.5 y 1.0 el modelo seguirá un comportamiento no-Fickiano.

Este modelo se utiliza generalmente para analizar la liberación de formas farmacéuticas poliméricas, cuando el mecanismo de liberación no se conoce bien, o cuando más de un tipo de fenómenos de liberación podrían participar (Costa & Sousa, 2001).

Tabla 3. Mecanismos de liberación para formas de liberación poliméricas.

Exponente de Liberación (n)	Mecanismo de Transporte	Velocidad como Función del Tiempo
0.5	Difusión Fickiana	$t^{-0.5}$
$0.5 < n < 1.0$	Transporte Anómalo	t^{n-1}
1.0	Transporte Caso II	Liberación de Orden Cero
Mayor que 1.0	Transporte Caso II	t^{n-1}

2.4 Cinética de hinchamiento

La cinética de liberación del fármaco, incluida la velocidad de difusión, será dependiente de sus propiedades físicas, en específico de su peso molecular y de su solubilidad en agua y en el hidrogel, además del área superficial, la geometría y la densidad de la membrana de dicho polímero.

En el proceso de liberación del fármaco disuelto o encapsulado en un polímero hacia el medio externo, es de esperarse que éste deberá atravesar la barrera que supone la superficie del



hidrogel, por lo que, la estructura y forma de la superficie de éste son un factor importante en dicha liberación; factor que puede ser controlado desde la síntesis de la red polimérica lo que incluye el control del tamaño del poro, cuya formación dependerá tanto del peso molecular como de la concentración inicial de la solución del polímero.

La caracterización de hinchamiento del hidrogel puede llevarse a cabo mediante el uso de tres tipos de soluciones: ácida, básica, y neutra (pH de 7, agua destilada). Y a diferentes temperaturas, esto controlado en un baño de calefacción.

La metodología a llevar puede ser la siguiente:

Se toman muestras del hidrogel y se pesan, considerando este peso como el inicial o W_D . Cada muestra del hidrogel se inserta en un vial en el interior del baño de calefacción a cada temperatura, y se adiciona una cantidad conocida de solución (ácida, básica y neutra). Las muestras se pesarán cada 30 min durante la primera hora; después, cada hora durante las primeras 12 h, y posteriormente, cada 24 h hasta que la muestra deje de absorber.

La cantidad de agua retenida en el interior del hidrogel en el equilibrio puede expresarse matemáticamente de la siguiente forma:

$$W_c (\%) = \frac{W_s - W_D}{W_D} \times 100$$

Donde: W_c (%) es el porcentaje de hidratación, W_s es el peso de la película después del hinchamiento, y W_D es el peso de la película seca.

El grado de hinchamiento puede calcularse mediante la siguiente ecuación, donde D_h es el grado de hinchamiento:

$$D_h = \frac{\text{Peso Húmedo}}{\text{Peso Seco}}$$

Para determinar la naturaleza de la difusión del agua hacia el interior del gel, se utiliza la siguiente ecuación:

$$\ln(W_t/W_{max}) = \ln k + n \ln t$$

En esta ecuación, W_t y W_{max} representan las cantidades de agua absorbida por el gel en el tiempo t , y en el equilibrio, k es una constante característica del sistema, y n es el exponente de difusión que toma en cuenta el modo de transporte del agua.



Un valor de $n = 0,50$ indica un mecanismo de difusión de Fick, mientras que si llega a $0,50 < n < 1$, indica que la difusión es de un tipo no Fickiano o anómalo. En el caso especial en que $n = 1$, el mecanismo de transporte se conoce con el nombre de Tipo II y es particularmente interesante debido al hecho de que el la migración del soluto se produce a una velocidad constante y controlada exclusivamente por la relajación de las cadenas (Martínez et al., 2007) (Escobar et al., 2002) (Arredondo & Londoño, 2009).

3. MUCOADHESIÓN

La bioadhesión puede definirse como el estado en el que dos materiales, en el cual al menos uno es de naturaleza biológica, se mantienen unidos por largos períodos de tiempo por fuerzas interfaciales; cuando el medio adhesivo se compone de moco o es una membrana mucosa, el fenómeno se conoce como mucoadhesión.

Las membranas mucosas son superficies húmedas que sirven de revestimiento a las paredes de las cavidades del cuerpo, tales como los tractos gastrointestinal y respiratorio. Consisten en tejido conectivo por encima del cual se encuentra la capa epitelial, superficie que se humedece por la presencia de moco. El epitelio puede ser de una sola capa (por ejemplo, el estómago, intestino y bronquios) o de varias capas estratificadas (por ejemplo, el esófago, la vagina y la córnea). El moco está presente ya sea como una capa de gel adherente a la superficie de la mucosa, en forma soluble o en suspensión. Los componentes principales del moco son mucina, glicoproteínas, lípidos, sales minerales y agua, éste último representa más del 95% de su peso, por lo que es un sistema altamente hidratado. La mucina y las glicoproteínas son los componentes más importantes en la estructura de formación del moco, lo que le confiere características de cohesividad y adhesividad (D. Smart, 2005).

3.1 Interacción mucoadhesivo-mucosa

De manera general existen dos tipos de interacciones entre el sustrato biológico y los polímeros bioadhesivos:

a) Interacciones físicas o mecánicas

Este tipo de interacciones se producen con el contacto íntimo entre el polímero y la superficie irregular del mucus, originándose en la interfase una interpenetración del polímero en el mucus y viceversa, generando uniones semipermanentes no específicas, las cuales provocarán posteriormente una interacción química.

b) Interacciones de atracción

Generalmente en este tipo de interacciones se encuentran los enlaces químicos secundarios de menor energía siendo el resultado de fuerzas de atracción y repulsión. Para que pueda darse el fenómeno de mucoadhesión la fuerza de atracción debe ser mayor a las de repulsión.



Las interacciones de atracción son las fuerzas de Van der Waals, atracción electrostática, enlaces de hidrógeno e interacción hidrofoba; mientras que las interacciones de repulsión abarcan la repulsión electrostática y estérica (Rodríguez et al., 2000).

- Interacciones de atracción

- (1) Enlaces iónicos.

Donde dos iones con cargas opuestas se atraen entre sí a través de interacciones electrostáticas en un medio acuoso formando complejos insolubles (D. Smart, 2005); esta interacción entre las moléculas de mucina y los polianiones dependerá del pH del medio (Rodríguez et al., 2000).

- (2) Enlaces covalentes

Los electrones se comparten en pares, entre los átomos enlazados con el fin de llenar los orbitales de ambos, formando de igual manera enlaces fuertes.

- (3) Enlaces de hidrógeno (en este caso un átomo de hidrógeno)

Cuando covalentemente unidos a átomos electronegativos como el oxígeno, flúor o nitrógeno, lleva una ligera carga positiva y por lo tanto se sienten atraídos por otros átomos electronegativos (D. Smart, 2005). La formación de múltiples enlaces de hidrógeno entre dos macromoléculas hidrosolubles aumenta la fuerza de interacción intermolecular lo cual podría provocar la precipitación; siendo los grupos carboxilos de los polímeros en forma no ionizada los responsables de la formación de los enlaces de hidrógeno, por ello de acuerdo a su pka, el pH del medio determinará la posibilidad de que se dé este tipo de interacciones (Rodríguez et al., 2000).

El hidrógeno, por lo tanto se puede considerar como la residencia, y el enlace formado es generalmente más débil que los enlaces iónicos o covalentes.

- (4) Enlaces Van der Waals

Estas son algunas de las formas más débiles de interacción que surgen de las atracciones dipolo-dipolo inducido en las moléculas polares, y las fuerzas de dispersión de las sustancias no polares (D. Smart, 2005) y debido a que la energía de interacción es inversamente proporcional a la sexta potencia de la distancia entre las moléculas, la interacción disminuye rápidamente con la distancia (Rodríguez et al., 2000).

- (5) Enlaces hidrofóbicos

Estos enlaces son indirectos (tales grupos sólo parecen sentirse atraídos el uno al otro) se producen cuando los grupos no polares están presentes en una solución acuosa. Moléculas de agua junto a los grupos no polares forman estructuras hidrógeno enlazado, lo que reduce la entropía del sistema. Por lo tanto, un aumento en la tendencia de los grupos no polares de asociarse entre sí para minimizar este efecto.



- Interacciones repulsivas

- (1) Repulsión electrostática

Se dan cuando dos polielectrolitos de igual carga se repelen. Las moléculas de mucina se cargan negativamente en un pH de 7 debido a los grupos ácido del siálico y los sulfatos; a este valor de pH la mayoría de los polielectrolitos aniónicos como el ácido poliacrílico, se ionizan por que la interacción con la mucina a pH 7 es fuertemente repulsiva.

- (2) Repulsión estérica

Este tipo de repulsión se origina cuando existe una ausencia de interacciones de atracción fuertes; como las mencionadas anteriormente; por lo que las moléculas de polímero tienden a repelerse por interacciones estéricas (Rodríguez *et al.*, 2000).

3.2 Teorías de la mucoadhesión

Aunque varias teorías tratan de explicar mucoadhesión, ninguna de ellas se puede aplicar sola a todos los diferentes productos farmacéuticos, pero varias se pueden combinar para obtener una imagen del proceso de mucoadhesión.

- a) Teoría de transferencia electrónica

Sugiere que la adhesión se produce por la diferencia en la estructura electrónica de las superficies de contacto. Esta propuesta da lugar a la formación de una doble capa eléctrica en la interface, con la posterior adhesión, debido a las fuerzas de atracción.

- b) Teoría de la humectación

Se aplica sobre todo a los sistemas líquidos y considera la superficie y la energía interfacial. Trata de la capacidad de un líquido para difundir de forma espontánea en una superficie como un requisito previo para el desarrollo de la adhesión. La afinidad de un líquido a una superficie se puede encontrar utilizando técnicas como el ángulo de contacto, en general la regla es que cuanto menor sea el ángulo de contacto, mayor es la afinidad del líquido al sólido.

- c) Teoría de adsorción

Describe la unión de los adhesivos sobre la base de los puentes de hidrógeno y las fuerzas de Van der Waals. Se ha propuesto que estas fuerzas son las principales contribuyentes a la interacción adhesiva. Una subsección de esto, la teoría de la *absorción química*, supone que una interacción a través de la interfaz produce como resultado fuertes enlaces covalentes.

- d) Teoría de la adherencia mecánica

Supone un entrelazado de un adhesivo líquido sobre las irregularidades en una superficie áspera.

- e) Teoría de la fractura

Difiere un poco de las otras cinco que se relacionan con la fuerza de adherencia a las fuerzas necesarias para la separación de las dos superficies involucradas después de la adhesión. Esto



supone que el fracaso de la unión adhesiva se produce en la interface. Sin embargo, la fractura se produce normalmente en el componente más débil, que suele ser un fallo de cohesión dentro de una de las superficies adheridas.

f) Teoría de la difusión

Describe la interdifusión de las cadenas de polímero a través de una interfaz de adhesivo. Este proceso es impulsado por gradientes de concentración y se ve afectado por la longitud de la cadena molecular disponible y sus movilidades. La profundidad de la interpenetración depende del coeficiente de difusión y el tiempo de contacto. Suficiente profundidad de penetración crea una unión adhesiva semipermanente (D. Smart, 2005).

Esta última teoría es una de las más aceptadas. En general, se puede describir en dos etapas: la creación de contacto íntimo entre la forma de dosificación y la mucosa, y la interpenetración de los componentes de ambos sistemas, presentándose el siguiente mecanismo:

(1) Humectación e hinchamiento del polímero.

Ocurre cuando el polímero se extiende sobre la superficie del sustrato biológico o la mucosa membranal para desarrollar un contacto íntimo con el sustrato, esto ocurre fácilmente en la cavidad oral y la vagina. Los bioadhesivos son capaces de adherirse o vincularse con los tejidos biológicos con la ayuda de la tensión superficial y las fuerzas que existen en el sitio de adsorción o de contacto y el hinchamiento ocurre porque los componentes dentro de los polímeros tienen afinidad por el agua.

(2) Interpenetración entre las cadenas del polímero y la membrana de la mucosa.

La membrana de las mucosas está compuesta de un polímero de alto peso molecular conocido como glicoproteína; en este paso las cadenas del polímero sintético y las del polímero biológico se mezclan con la mucosa y se enredan para formar uniones semipermeables; las fuerzas de estos enlaces dependen del grado de penetración entre los dos polímeros.

Con el fin de formar enlaces fuertes un grupo de polímeros debe ser soluble en el otro y los dos polímeros deben ser de estructura química similar.

(3) Formación de vinculación química entre las cadenas enredadas.

Este paso implica la formación de enlaces químicos débiles entre las cadenas de polímero, estas uniones incluyen enlaces primarios como covalentes y enlaces más débiles como de Van der Waals y enlaces de hidrógeno.

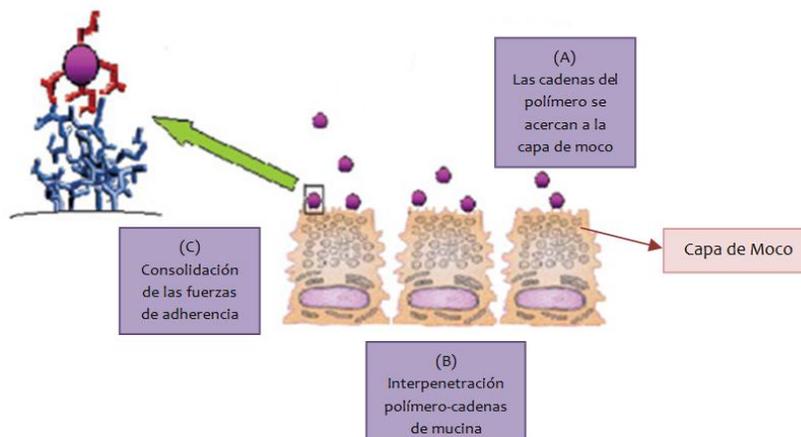


Figura 7.
Esquema de los pasos involucrados en la teoría de la interpenetración.

4. VAGINA

4.1 Introducción

Además de los fármacos locales eficaces aplicados en la vagina, ésta proporciona también un sitio prometedor para la administración de fármacos sistémicos, debido a su gran superficie y abundante suministro de sangre. Esta vía de administración ofrece ventajas en comparación con otras. Considerables progresos se han obtenido en la investigación de la anatomía, fisiología, microflora y las secreciones de la vagina. En contraste, el conocimiento científico de las posibilidades de la administración de fármacos a través de la vagina es muy limitado. Hasta la fecha, hay un número limitado de formulaciones de administración vaginal disponible; aunque varias aún están siendo investigadas. En la actualidad estos sistemas de administración vaginal tienen limitaciones tales como fugas, el desorden y el bajo tiempo de residencia, que contribuyen a complicaciones para la paciente.

Se están haciendo esfuerzos para desarrollar nuevos sistemas vaginales de administración de fármacos que puedan satisfacer los requisitos clínicos de las pacientes. Sin embargo, a pesar de todas las ventajas de una aplicación vaginal, los cambios de la membrana durante el ciclo menstrual y la menopausia deben ser tomados en cuenta. En las mujeres posmenopáusicas la reducción del espesor del epitelio puede cambiar la absorción de los medicamentos de manera significativa. Durante las últimas tres décadas, la atención se ha centrado en el desarrollo de sistemas nuevos y controlados que proporcionen un efecto terapéutico a largo plazo y una alta concentración del fármaco después de una dosis única.

Muchos de los sistemas de administración de fármacos se basan en los llamados polímeros mucoadhesivos; estos polímeros son capaces de hincharse rápidamente cuando se colocan en un medio acuoso y por lo tanto presentan una liberación controlada de los fármacos



incorporados (Genc et al., 2000). En consecuencia, la eficacia terapéutica de fármacos de acción local puede mejorar la disponibilidad en la membrana blanco. Hay que tener en cuenta que las formulaciones interactúan con el líquido vaginal lo que provocará cambios en la viscosidad; estas interacciones dependerán de las macromoléculas específicas que se utilizan como agentes espesantes en los geles o importantes auxiliares agentes en tabletas. Por lo tanto, estas macromoléculas, tales como poli (acrilatos), derivados de la celulosa, el quitosano y muchos otros, son excipientes muy importantes para formulaciones en el futuro.

4.2 Anatomía y fisiología de la vagina en relación con la administración de fármacos

La vagina es el órgano genital femenino cuyas funciones comprenden las relaciones sexuales, la concepción y la menstruación; es un órgano tubular fibromuscular (Das Neves & Bahia, 2006) con una longitud aproximada de entre 7 y 10 cm de largo (Cencia & Sassi, 2009) que se extiende desde el útero hasta el vestíbulo de los genitales externos como se muestra en la Figura 8, se encuentra entre el recto, la vejiga y la uretra (Valenta, 2005).



Figura 8.
Localización de la vagina.

La pared vaginal se compone por cuatro capas; epitelio escamoso estratificado, lámina propia, capa muscular, y adventicia; las cuales se ilustran en la siguiente figura.

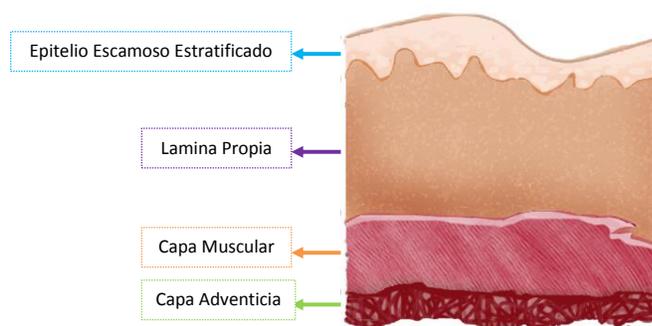


Figura 9.
Capas histológicas presentes en la vagina.



El epitelio escamoso estratificado normal está formado por varias capas de células epiteliales; las cuales pueden subdividirse de acuerdo a la etapa de maduración en diferentes tipos: células basal, parabasal, intermedias y superficiales (Cencia & Sassi, 2009). Durante la maduración, las células se mueven desde la capa basal a la capa superficial, haciéndose más planas, con núcleos menores y con mayor volumen (Valenta, 2005); este proceso se encuentra esquematizado en la figura 10.

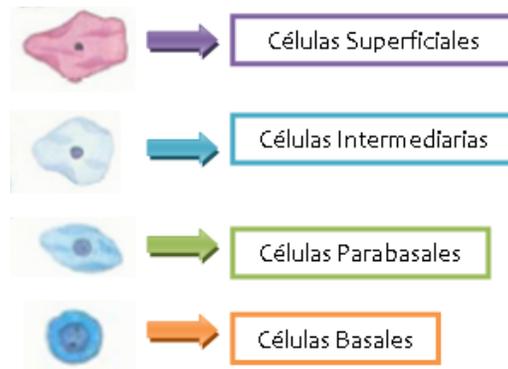


Figura 10.
Maduración de las células presentes en el epitelio vaginal.

El grosor del epitelio vaginal va de 200 – 300 μm (Das Neves & Bahia, 2006); siendo la edad el principal parámetro que determina el grosor, durante la menopausia el volumen del citoplasma disminuye y el epitelio se vuelve atrófico; mientras que durante la posmenopausia, la cual dura de 3 a 5 años después de la menopausia, existe una disminución en los niveles de estrógeno lo que contribuye al adelgazamiento del epitelio (Cencia & Sassi, 2009). A pesar de los cambios cíclicos del epitelio vaginal estos son menos evidentes que en el endometrio, aunque las diferencias presentes en la citología del epitelio vaginal se pueden utilizar para identificar las etapas del ciclo.

Aunque la vagina está considerada como un tejido mucoso; la vagina no tiene glándulas dentro de su estructura por lo que la secreción es una mezcla de fluidos provenientes de diversas fuentes fisiológicas (Valenta, 2005). Estas secreciones vaginales provienen principalmente de la glándula vestibular cervical, trasudado de plasma y fluidos del endometrio y oviducto. La cantidad, consistencia y características del fluido vaginal son difíciles de describir ya que los parámetros cambian con el ciclo menstrual y la edad reproductiva; el flujo vaginal incluye trasudados de las glándulas de Bartholin y de Skene, células epiteliales, orina residual y los líquidos de la parte superior del tracto reproductivo, tales como el moco cervical y los fluidos del endometrio y trompas de Falopio. El componente principal del moco cervical es el agua, pero también contiene glicoproteínas, proteínas plasmáticas, enzimas, aminoácidos, colesterol, iones inorgánicos y lípidos.

La presencia de fluidos biológicos puede alterar las características de la vagina; lo cual puede reducir la eficacia de un fármaco por el aumento de fugas y la disminución del tiempo de residencia en el tejido blanco. Los fluidos vaginales incluyendo el moco cervical tienen un gran



impacto en la entrega del fármaco de distintas maneras; siendo una de ellas la dilución del fármaco, disminuyendo así la concentración del mismo lo que llevará a una eficacia reducida. Además de que los componentes de los fluidos vaginales tienen la capacidad de interferir con la actividad farmacológica de los fármacos, ya sea por desestabilización o la unión no específica. Por último, la presencia del fluido vaginal afecta el tiempo de residencia del producto y la bioadhesión (Cencia & Sassi, 2009).

El principal suministro de sangre a la vagina se da a través de la arteria uterina. La vagina tiene características únicas en términos de microflora, pH y cambios cíclicos los cuales deben ser considerados durante el desarrollo y la evaluación de sistemas de administración vaginal (Valenta, 2005).

4.3 Microflora

Los microorganismos presentes en la vagina dependen principalmente de las condiciones fisiológicas de la vagina (Cencia & Sassi, 2009) y se encuentra influenciada por diversos factores tales como el contenido de glucógeno en las células epiteliales, glucosa, pH, niveles hormonales, trauma durante las relaciones sexuales entre otros.

La microflora vaginal está constituida tanto por microorganismos Gram positivos y Gram negativos, como por organismos aerobios y anaerobios; siendo estos últimos menos recurrentes, ya que el tejido normal y sano se encuentra oxigenado lo que evita la proliferación y sobrevivencia de microorganismos anaerobios, encontrándose generalmente en niveles muy bajos. De forma contraria ocurre cuando existe un problema de necrosis en el tejido, ya que existe una disminución del potencial de óxido/reducción aumentando la proliferación de bacterias anaerobias causando así una infección (Cencia & Sassi, 2009).

La flora vaginal consiste principalmente de lactobacilos que es el organismo más frecuente en el ambiente vaginal, junto con muchos otros microorganismos aerobios facultativos y anaerobios obligados (Valenta, 2005).

Los lactobacilos son clasificados como bacterias Gram positivas (Cencia & Sassi, 2009), juegan un papel importante para mantener el pH de la vagina; así como en el control de infecciones por patógenos comunes; esto es debido a que producen compuestos bactericidas como peróxido de hidrógeno y biosurfactantes (Das Neves et al., 2006). La presencia de esta bacteria generalmente forma una barrera para la liberación de fármacos tradicionales, aunque en el uso de microbicidas pueden ser utilizados como un vehículo para la entrega del fármaco (Cencia & Sassi, 2009).

4.4 pH vaginal

La microflora principalmente está formada por lactobacilos productores de ácido láctico encargados de acidificar las secreciones vaginales a un pH de 3.5-4.5 (Valenta, 2005). El pH de la vagina es mantenido por estas bacterias mediante la conversión del glucógeno proveniente de las células en ácido láctico; el glucógeno es metabolizado por las células epiteliales en glucosa para después ser convertida en ácido láctico por el metabolismo de los lactobacilos; este ácido



láctico es depositado en el epitelio vaginal y su permanencia dependerá de la cantidad de estrógenos presentes (Cencia & Sassi, 2009).

Los cambios de pH se dan de acuerdo a la edad, las etapas del ciclo menstrual, infecciones sexuales y la excitación. En la mayoría de las mujeres existe un gradiente de pH en la vagina según las secreciones menstruales, cervicales, uterinas y el semen, los cuales actúan como agentes alcalinizantes que aumentan el pH (Valenta, 2005), mientras que la disminución se presenta como protección ante patógenos extraños a la vagina (Cencia & Sassi, 2009).

Por lo tanto el pH vaginal tiene un papel de suma importancia en la cantidad de fármaco absorbida por lo que es importante tomarlo en cuenta en la formulación de sistemas de administración de fármacos (Valenta, 2005), ya que durante y después de la menopausia, la mujer presenta importantes cambios en la fisiología vaginal, siendo los más significativos una atrofia en el epitelio, aumento del pH (6.0-7.5) y una disminución en la cantidad de secreciones vaginales; estos cambios pueden influenciar significativamente en los sistemas de liberación controlada (Cencia & Sassi, 2009).

4.5 Cambios cíclicos

Los principales cambios cíclicos se presentan en los niveles hormonales, en especial en la cantidad de estrógeno; durante la menstruación se producen alteraciones en el espesor de la capa del epitelio, la anchura de los canales intercelulares, el pH y las secreciones. Las variaciones en la actividad enzimática de endopeptidasas y aminopeptidasas con actividad hormonal complican aún más el problema de lograr una administración del fármaco de manera consistente (Valenta, 2005).

4.6 La vagina como sitio de aplicación para la administración de fármacos

La posición anatómica, el suministro abundante de sangre y el tamaño de la superficie de la vagina la coloca como el lugar óptimo para la administración de fármacos sistémicos; la vascularización de la vagina permite el paso a la circulación sistémica de medicamentos sin atravesar previamente por el hígado (Santos & Guerrero, 1994). La vía vaginal ofrece una favorable alternativa a la vía parenteral para algunos medicamentos tales como la bromocriptina, propranolol, oxitocina, calcitonina (Valenta, 2005). El medicamento a administrar no debe alterar el pH fisiológico vaginal; por el contrario, deberá contribuir al restablecimiento del mismo.

Generalmente los medicamentos vaginales tienen una forma alargada para facilitar su administración y contienen dentro de su formulación lactosa que al metabolizarse en ácido láctico ayudará a mantener el pH; además de ser el único azúcar que no favorece la extensión de las micosis vaginales.

Entre los principales productos vaginales se encuentran los comprimidos vaginales que para facilitar su disgregación con una mínima cantidad de líquido suelen formularse con una base efervescente; mientras que los óvulos utilizan las mismas bases que los supositorios; los cuales se funden dentro de la vagina con la ayuda del fluido vaginal, liberando el principio activo, disuelto, emulsionado o suspendido en su interior (Santos & Guerrero, 1994).



Los principios activos más utilizados en los preparados comerciales de aplicación vaginal, se pueden observar en la Tabla 4 (Santos & Guerrero, 1994).

Tabla 4. Principios activos e indicaciones de preparados vaginales

GRUPO	PRINCIPIO ACTIVO	INDICACIONES
Antiinfecciosos	Antibióticos, antifúngicos, antisépticos, corticoides.	Infección vulvovaginal Vaginitis inespecífica Vaginitis infecciosa
Antisépticos	Povidona yodada Benzalconio Cl Dequalinio Cresol	Infección vulvovaginal Vulvovaginitis inespecífica
Prostaglandinas	Dinoprostona	Inductor del parto
Derivados hormonales	Promestien Progesterona	Vulvovaginitis atrófica Retraso en cicatrización cérvico- vaginal y vulvar Amenorrea, hemorragia uterina funcional
Surfactantes	Monoxinol Benzalconio Cl	Anticoncepción
Analgésicos-Antiinflamatorios	Tetridamina Bencidamina	Vaginitis inespecífica

En comparación con la cavidad oral, la vagina puede servir como una mejor ruta para la administración de anticonceptivos hormonales, debido a la ausencia de interacciones farmacológicas típicas en el tracto gastrointestinal. Sin embargo, a pesar de estas ventajas, la vagina no ha sido estudiada de manera suficiente para el suministro sistémico debido a su alta especificidad y las variaciones cíclicas que se presentan. Tradicionalmente la cavidad vaginal se ha utilizado para la administración de fármacos que actúan a nivel local como antibacterianos, antifúngicos, antiprotozoarios, antivirales, antiinflamatorios, y agentes espermicidas. En los últimos años los avances más importantes han sido reportados en el campo de los microbicidas o formulaciones que puedan prevenir las enfermedades de transmisión sexual (Valenta, 2005).

4.7 Ventajas y desventajas de la administración vaginal

A pesar de que la administración vaginal es exclusiva para uso femenino; existen una serie de ventajas para esta vía de administración, la principal, la eliminación del efecto del primer paso hepático (Valenta, 2005), en especial para aquellos fármacos que son sensibles al metabolismo intestinal o hepático, o bien que causan efectos colaterales en el tracto gastrointestinal (Rodríguez et al., 2000).

Mientras que las desventajas que presenta esta vía de administración son, que es específica de género, la influencia de la concentración de estrógenos en la permeabilidad de la membrana vaginal puede modificar la farmacocinética de los fármacos de acción sistémica, la cantidad de líquido vaginal, este volumen puede afectar en la absorción de los fármacos ya que un medicamento debe estar en solución antes de que pueda ser absorbido y la presencia de una



película de humedad será una ventaja, pero en contraste la presencia de un moco cervical más espeso, puede presentar también una barrera para la absorción del fármaco (Valenta, 2005).

Aunque la principal desventaja que presenta es que, no obstante como en otras mucosas o vías de administración como son bucal, nasal o rectal; la biodisponibilidad y la acción local de los fármacos allí administrados no es muy alta, por lo que se han buscado formas bioadhesivas para conseguir un incremento en la efectividad de la forma de dosificación (Rodríguez et al., 2000).

4.8 Absorción de fármacos dentro de la vagina

Por un lado los factores fisiológicos como los cambios cíclicos, el espesor, la porosidad y el volumen del epitelio, la viscosidad y el pH del líquido vaginal y las propiedades fisicoquímicas de los fármacos tales como el peso molecular, lipofilia y ionización afecta a la absorción a través del epitelio vaginal. Los fármacos son transportados a través de la membrana vaginal por vía transcelular, intracelular y el transporte mediado por receptores.

Una serie de modelos animales han sido empleados en el estudio de la absorción vaginal de los fármacos. Hasta ahora los estudios con ratones, ratas, conejos, monos, perros y ovejas se llevan a cabo, demostrando que la capacidad de permeabilidad de los diferentes epitelios vaginales puede variar (Valenta, 2005).

4.9 Polímeros mucoadhesivos

4.9.1 Definición de mucoadhesión con respecto a la vagina

El objetivo de la interacción de los mucoadhesivos es el moco. En los organismos como el humano, el moco es un producto muy viscoso que forma una capa protectora de recubrimiento sobre el revestimiento de los órganos huecos en contacto con medios externos. La mucosidad es una mezcla de grandes glucoproteínas como la mucina, además de contener agua, electrolitos, células epiteliales, enzimas, bacterias, productos bacterianos y otros materiales dependiendo de la fuente y ubicación de la mucosa (Valenta, 2005). Algunas secreciones de las vías localizadas más arriba de la vagina pueden llegar a la vagina a través de líquido uterino o líquido folicular en la ovulación. El flujo vaginal es una mezcla de varios componentes como moco cervical, células epiteliales, secreciones de las glándulas de Bartoli, leucocitos, fluidos del endometrio y de las trompas de Falopio.

4.9.2 Moco cervical

El *mucus* es una secreción viscosa, translúcida que forma una capa continua, delgada y adherente en la superficie de la mucosa epitelial; sus funciones principales son de lubricación y protección de las células epiteliales contra agresiones de tipo mecánico o químico y a la degradación bacteriana (Rodríguez et al., 2000).

El moco cervical contiene compuestos orgánicos e inorgánicos tales como sales, mucinas, proteínas, urea, ácidos grasos y ácidos como el láctico y acético (Valenta, 2005); destacando las



glicoproteínas de alto peso molecular capaces de formar geles viscoelásticos con un contenido acuoso de más del 95% (Rodríguez *et al.*, 2000).

Análisis realizados al moco cervical humano durante las diferentes etapas fisiológicas como son la fase folicular, la ovulación y la fase lútea del ciclo menstrual dieron como resultado que la propiedad de viscoelasticidad depende del donante y el contenido de mucina pero no de la fase del ciclo menstrual; esto sugiere que la función del moco (viscoelasticidad) se da por su composición de hidratos de carbono y / o la estructura de los mismos (Valenta, 2005).

A pesar de esto la composición exacta del moco y su espesor en la vagina dependen principalmente de la especie animal, así como del estado fisiopatológico de la persona, factores que se deben tener en cuenta en el diseño de formas bioadhesivas vaginales (Rodríguez *et al.*, 2000).



III. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Preparar hidrogeles de N,N-dimetil aminoetil metacrilato (DMAEMA) de administración vaginal para evaluar sistemas poliméricos pH-sensibles de liberación controlada a través de la cuantificación de metronidazol.

OBJETIVOS PARTICULARES

- A. Sintetizar hidrogeles pH-sensibles a partir del polímero DMAEMA utilizando DVB (divinilbenceno) como agente entrecruzante en concentraciones de 0.5 y 1.0 %.
- B. Evaluar la cinética de hinchamiento de los hidrogeles pH-sensibles mediante un análisis gravimétrico a temperatura constante y a tres valores de pH distintos (4.5, 5.0 y 5.5).
- C. Incorporar un principio activo (metronidazol) en los hidrogeles de DMAEMA mediante el método de hinchamiento-secado.
- D. Evaluar la liberación *in vitro* de metronidazol a diferentes valores de pH.
- E. Determinar el efecto del grado de entrecruzamiento y el pH sobre la velocidad de liberación del metronidazol incorporado en los hidrogeles.
- F. Determinar los parámetros analíticos de selectividad, linealidad, precisión y exactitud para el método de cuantificación del metronidazol.
- G. Determinar con pruebas *ex vivo* la bioadhesión de los hidrogeles cargados utilizando tejido vaginal de cerda.



IV. PARTE EXPERIMENTAL

1. MATERIAL

- a) Material de Vidrio
 - ↻ Matracas volumétricos
 - ↻ Vasos de precipitados
 - ↻ Pipetas volumétricas
 - ↻ Pipetas graduadas
 - ↻ Varilla de vidrio
 - ↻ Vidrio de reloj

2. EQUIPO

- a) Balanza analítica Velab VE-204
- b) pH-metro HANNA Instruments HI2211
- c) Baño de agua DUBNOFF 0226M1
- d) Cámara fotográfica
- e) Espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis
- f) Tensiómetro Cenco DuNouy

3. REACTIVOS

- a) Fosfato de potasio monobásico ACS FERMONT Monterrey N. L.
- b) Fosfato de potasio dibásico ACS FERMONT Monterrey N. L.
- c) Agua destilada
- d) Solución amortiguadora de referencia pH 4.01 (Solución de ftalato ácido de potasio para la estandarización de potenciómetro) HYCEL Reactivos Químicos México, D. F.
- e) Solución amortiguadora de referencia pH 7.00 (Solución de fosfato de sodio y potasio) HYCEL Reactivos Químicos México D. F.
- f) Hidróxido de sodio QP FERMONT Monterrey N. L.
- g) Ácido clorhídrico ACS FERMONT Monterrey N. L.
- h) Discos de hidrogel sintetizados a partir de DMAEMA con 0.5% de divinilbenceno
- i) Discos de hidrogel sintetizados a partir de DMAEMA con 1.0% de divinilbenceno
- j) Metronidazol



4. PROCEDIMIENTOS

4.1 Síntesis de hidrogeles

El DMAEMA y el DVB fueron purificados por destilación a presión reducida usando etanol como inhibidor de la polimerización. El iniciador térmico 2,2-azobisisobutironitrilo (AIBN) fue recristalizado a partir de metanol/agua. Se mezclan 10 g de DMAEMA y 0.05 g de AIBN con 0.05 g (0.5 %) ó 0.10 g (1.0%) de DVB y se desgasifican por vacío durante 5 min. La mezcla se coloca entre dos placas de vidrio previamente silinizadas, espaciadas con un cilindro de silicona. La reacción de polimerización se lleva a cabo en una estufa bajo atmosfera de argón a 60 °C por 24 h. Por último, las hojas de polímero se lavan y secan a temperatura ambiente y luego a vacío a 40 °C.

4.2 Preparación de soluciones amortiguadoras.

Para la preparación de las soluciones amortiguadoras utilizadas se siguió la metodología indicada en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Octava Edición.

☛ Solución amortiguadora de fosfatos pH 4.5

En un matraz volumétrico de 1000 mL, disolver 13.61 g de fosfato monobásico de potasio en 750 mL de agua. Si es necesario, ajustar el pH con solución de hidróxido de sodio 0.1 M, o con ácido clorhídrico 0.1 M. Llevar a volumen con agua.

☛ Solución amortiguadora de fosfatos pH 5.0

Pesar 2.72 g de fosfato monobásico de potasio, pasar a un matraz volumétrico de 2000 mL, conteniendo 1600 mL de agua, agitar mecánicamente hasta disolución, si es necesario ajustar el pH a 5.0 con solución de hidróxido de sodio 0.2 N, llevar al aforo con agua y mezclar.

☛ Solución amortiguadora de fosfatos pH 5.5

En un matraz volumétrico de 1000 mL, disolver 35.81 g de fosfato dibásico sodio y 13.61 g de fosfato monobásico de potasio en agua. Llevar a volumen con agua.

4.3 Cinética de Hinchamiento.

Para llevar a cabo el seguimiento del hinchamiento de los discos de hidrogel se tomó una muestra de 6 discos, de los cuales 3 correspondían al lote con 0.5% de entrecruzante y los 3 restantes al lote con 1% de entrecruzante. Se pesaron secos y posteriormente se colocaron en vasos de precipitados, los cuales contenían 20 mL de la solución amortiguadora correspondiente (pH 4.5, 5.0, 5.5) a una temperatura de 37 °C. Seguido de esto, los discos se pesaron a diferentes intervalos de tiempo (0, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 420, 1320, 1380, 1500, 1620 min). Por último se realizó el análisis correspondiente a los datos obtenidos.



4.4 Espectros de absorción.

Para obtener la longitud de onda óptima a la cual se realizaría el análisis del principio activo utilizado (metronidazol) se efectuaron los barridos correspondientes mediante la lectura espectrofotométrica de soluciones a concentraciones de 40 ppm para el pH de 4.5, de 44 ppm para el pH de 5.0 y de 46 ppm para el pH de 5.5. Se realizó el análisis correspondiente de los espectros de absorción obtenidos.

4.5 Curvas de calibración.

Inicialmente se realizaron los cálculos teóricos necesarios para cada una de las curvas de calibración a partir de los cuales se elaboraron los siguientes sistemas:

Tabla 5. Preparación de las curvas de calibración a pH 4.5, 5.0 y 5.5 con stock de 30 ppm

SISTEMA	STOCK (mL)	SOLUCIÓN AMORTIGUADORA (mL)	VOLUMEN TOTAL (mL)
1	1	9	10
2	2	8	10
3	3	7	10
4	4	6	10
5	5	5	10
6	6	4	10
7	7	3	10

Se tomó la lectura, de manera aleatoria, de la absorbancia de cada uno de los sistemas a una longitud de onda de 320 nm, realizando el análisis de los datos obtenidos junto con la validación de este método.

4.6 Técnica de hinchamiento – secado. Incorporación del principio activo.

Se preparó una solución de 100 mg de metronidazol en 30 mL de agua en la cual se colocaron los discos de hidrogel durante 48 h para lograr la incorporación del principio activo.

Posteriormente los discos previamente cargados se dejaron secar durante 48 h.

4.7 Cinética de liberación.

Se lavaron los discos previamente cargados con agua durante 30 s con agitación moderada.

Se evaluó por triplicado la cinética de liberación en soluciones amortiguadoras de fosfatos (pH's 4.5, 5.0 y 5.5) a 37 °C en baño de agua con agitación horizontal; tomado muestras de 3 mL a diferentes tiempos (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 105, 120, 150, 180, 210, 240, 300, 360 min), reponiendo el volumen con medio fresco. Por último se realizó el análisis correspondiente a los datos obtenidos.



4.8 Validación del método analítico para la cuantificación de metronidazol a través de hidrogeles pH sensibles.

Se llevó a cabo una validación parcial de acuerdo a la guía de la ICH, realizando los siguientes estudios:

↻ Selectividad

Se evaluó mediante los espectros de absorción de las soluciones amortiguadoras y principio activo (metronidazol) a diferentes pH's (4.5, 5.0 y 5.5) para verificar la ausencia de interferencias a la longitud de onda del estudio ($\lambda = 320 \text{ nm}$).

↻ Linealidad y Rango

Se preparó una curva de calibración por triplicado de metronidazol con siete diferentes concentraciones para cada pH de estudio.

Se realizó el análisis de regresión, así como el cálculo de la desviación estándar y coeficiente de variación para cada sistema.

El gráfico, tablas de resultados así como las tablas de ANOVA utilizadas en este estudio, pueden consultarse en el Anexo D.

↻ Precisión

Se evaluó la precisión al determinar el coeficiente de variación (CV) de 7 diferentes concentraciones, analizadas durante dos días para cada pH de estudio.

Las tablas de resultados obtenidos durante este estudio pueden consultarse en el Anexo D.

↻ Exactitud

Se evaluó mediante el recobro de tres diferentes concentraciones de metronidazol, las cuales se analizaron por triplicado, obteniéndose la concentración experimental a través de la interpolación en la curva de calibración y comparándola con la concentración teórica para determinar el % Recuperado.

Las tablas de resultados obtenidos durante este estudio pueden consultarse en el Anexo D.



4.9 Bioadhesión.

El método de DuNouy es uno de los más conocidos. Éste tensiómetro está diseñado para medir rápidamente la tensión superficial de los líquidos (Peña & Céspedes, 2007), sin embargo, para la prueba de bioadhesión se preparó la curva de calibración correspondiente (Anexo E) y el aparato fue adaptado para cumplir con las necesidades del estudio.

El equipo (Figura 11), posee un hilo de acero (A) conectado por su extremo a un punto fijo y por el otro a un disco provisto de una escala (B) en el que se puede leer el valor de la fuerza de torsión que se aplica para motivar el desplazamiento de un brazo articulado (C), conectado a una base de platino o de un metal noble (D), que se sitúa sobre el objeto de estudio colocado en la platina (E).

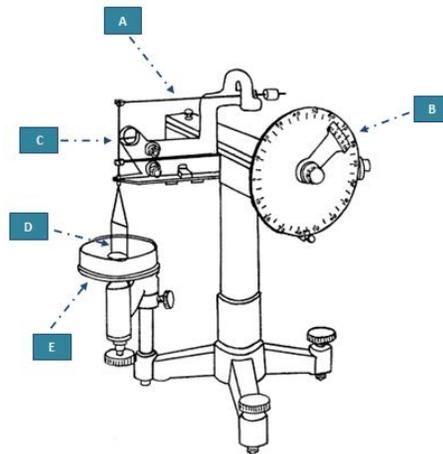


Figura 11.
Tensiómetro de DuNouy.

Un disco de hidrogel seco se colocó, con ayuda de cinta doble cara, sobre la base de metal como se observa en la siguiente figura.

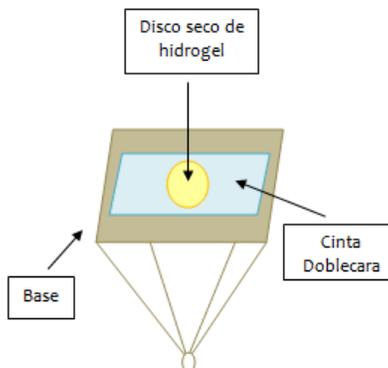


Figura 12.
Colocación del disco de hidrogel para la prueba de bioadhesión.



Sobre la platina del aparato de DuNouy se sujeta firmemente con pinzas un segmento de tejido vaginal de cerda previamente lavado y sobre este, una plantilla que permita una adecuada exposición del tejido (Figura 13).

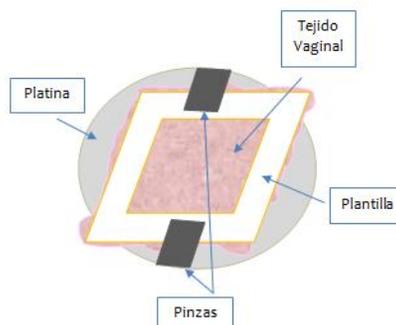


Figura 13.
Colocación del tejido vaginal para la prueba de bioadhesión.

Se humedeció el tejido vaginal expuesto con 50 μ l de solución amortiguadora pH 5.0 (los cálculos correspondientes al ajuste de isotonicidad pueden observarse en el Anexo E); se puso en contacto el hidrogel con el tejido húmedo y se colocó una pesa de 20 g sobre la base para asegurar la bioadhesión (Figura 14). Se tomaron las lecturas a los 30, 60 y 180 s, quitando la pesa y aplicando la fuerza de torsión en el equipo para obtener las mediciones correspondientes; cambiando el disco de hidrogel para cada tiempo.

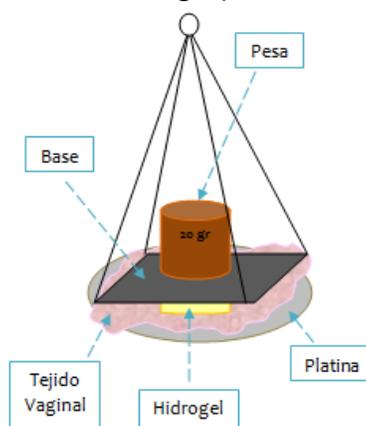


Figura 14.
Bioadhesión hidrogel - tejido.

El estudio se llevó a cabo por quintuplicado con las dos concentraciones de entrecruzante (0.5 y 1.0 %). Por último se realizó el análisis correspondiente a los datos obtenidos (Ver Anexo E).

Se llevaron a cabo diferentes pruebas, variando el material para mantener unido el hidrogel a la base, así como el peso, los tiempos de permanencia de la pesa y las cantidades y el pH de la solución amortiguadora hasta lograr obtener las condiciones óptimas para el estudio.



V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este proyecto estuvo enfocado en la preparación y evaluación de hidrogeles pH-sensibles de DMAEMA con 0.5 y 1.0% de DVB como agente entrecruzante para la liberación controlada de metronidazol (5-nitro-imidazol) por vía vaginal. Los hidrogeles fueron preparados en la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California.

1. CINÉTICA DE HINCHAMIENTO

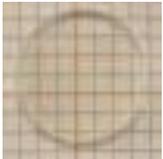
Los hidrogeles son sistemas que incrementan su volumen hasta alcanzar el equilibrio fisicoquímico en respuesta a diferentes tipos de estímulos como la luz, fuerza iónica, temperatura, pH, campo eléctrico o concentración de disolvente; por lo que el estudio se llevó a cabo con dos variables diferentes, el medio de disolución (solución amortiguadora pH 4.5, 5.0 y 5.5) y la concentración de agente entrecruzante (0.5 y 1.0 %).

La cinética de hinchamiento se evaluó gravimétricamente durante 27h; inicialmente se pesaron los discos de hidrogel secos; colocándolos posteriormente en el medio de hinchamiento a los distintos pH's a una temperatura de 37 °C y verificando el peso de cada disco a diferentes intervalos de tiempo (*Tabla A1, Anexo A*).

Durante el desarrollo experimental se observó la diferencia en el incremento del tamaño del hidrogel al estar seco y al finalizar el estudio, lo cual se ve reflejado en la Tabla 6; destacándose que en ambas concentraciones de entrecruzante y con la solución amortiguadora a pH 5.0, se obtuvo un hinchamiento más uniforme de la superficie del hidrogel; favoreciéndose la liberación del metronidazol dándose de una forma más equilibrada y sostenida.



Tabla 6. Cinética de hinchamiento para los discos de DMAEMA a diferentes pH's y concentración de entrecruzante

ENTRECRUZANTE	pH	0 HORAS	27 HORAS
0.5%	4.5		
	5.0		
	5.5		
1.0%	4.5		
	5.0		
	5.5		



En el Gráfico 1 se muestra el comportamiento de los discos de hidrogel constituidos con 0.5 % de entrecruzante; observándose que el hidrogel analizado a pH de 5.0 obtuvo el mayor incremento en el hinchamiento en el transcurso de las 27 h.

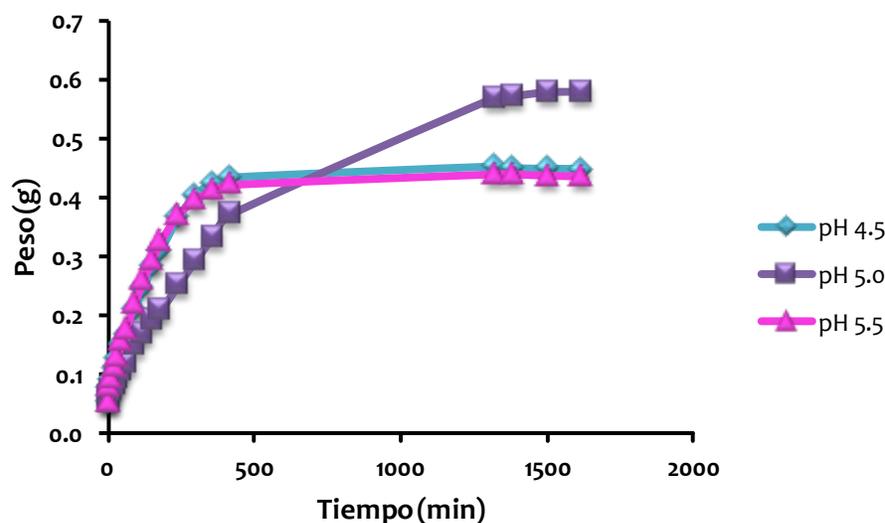


Gráfico 1.
Cinética de hinchamiento del hidrogel con 0.5 % de entrecruzante a diferentes pH's.

De igual manera, en los discos cuya concentración de entrecruzante fue de 1.0 %, (Gráfico 2) el pH 5.0 registra el disco con mayor hinchamiento después del tiempo de estudio.

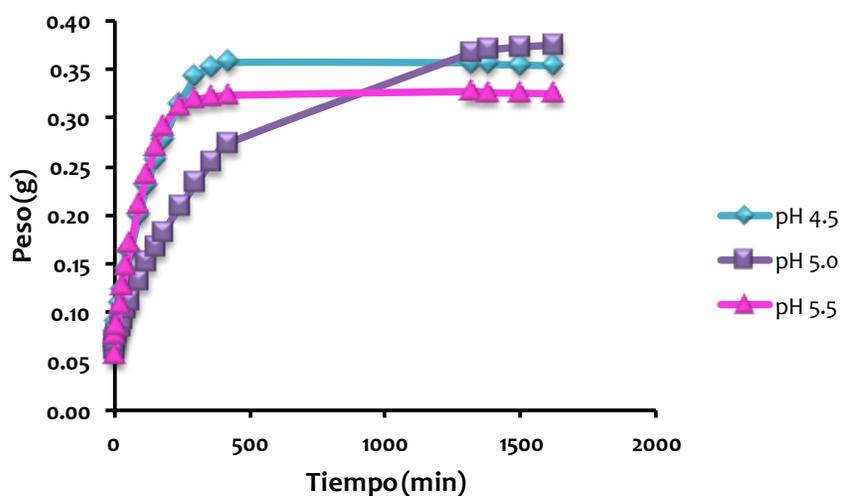


Gráfico 2.
Cinética de hinchamiento del hidrogel con 1% de entrecruzante a diferentes pH's.



2. GRADO DE HINCHAMIENTO

El hinchamiento del hidrogel se da por la acción de un líquido, para este caso en particular solución amortiguadora de fosfatos, permaneciendo insoluble sin perder su forma original. La conservación de su forma es el resultado del balance entre las fuerzas intermoleculares dispersivas y cohesivas (dentro de las cuales se incluye la absorción del disolvente). Si el hinchamiento se produce por acción del agua se obtienen los denominados hidrogeles. Estos poseen un carácter hidrófilo debido a la presencia en su estructura molecular de grupos afines al agua, la existencia de una red polimérica los hace insolubles en agua, y su suavidad y elasticidad se asocian con la hidrofiliidad de los monómeros y la densidad de entrecruzamiento.

El grado de hinchamiento se define como la cantidad de agua retenida en el interior del hidrogel en el equilibrio; por lo que, dando seguimiento al estudio de la cinética de hinchamiento se obtuvo el grado de hinchamiento para cada disco a los diferentes pH's de estudio utilizando la siguiente ecuación:

$$W_c = \frac{W_s - W_D}{W_D}$$

Donde:

W_c : Grado de hinchamiento

W_s : Peso de la película después del hinchamiento

W_D : Peso de la película seca

Al comparar el grado de hinchamiento de los hidrogeles *Gráfico 3 y 4* en cuanto a la concentración de agente entrecruzante, se puede observar un comportamiento similar, aunque los discos que poseen menor grado de entrecruzante presentan un mayor grado de hinchamiento; esto debido principalmente a que la concentración del agente entrecruzante con el que se sintetizan los hidrogeles es un factor importante al momento de hincharse, ya que al tener un grado menor de divinilbenceno, el agua puede penetrar mejor y más rápido las redes poliméricas, ya que presentan menor densidad de entrecruzamiento, por lo que pueden albergar mayor cantidad de agua que los hidrogeles de mayor concentración, con una alta densidad de entrecruzamiento, ya que existe menos volumen libre disponible para el hinchamiento de los discos de hidrogel.

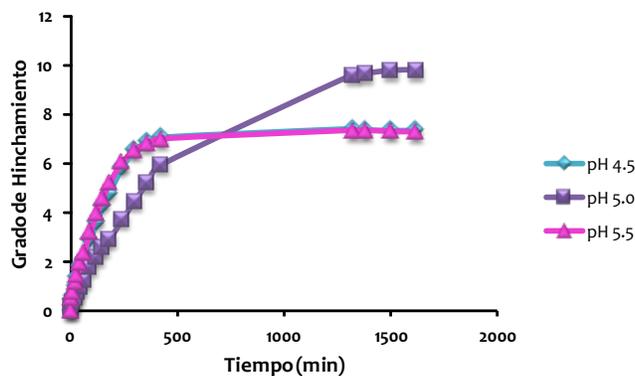


Gráfico 3.
Grado de hinchamiento del hidrogel con 0.5% de entrecruzante a diferentes pH's.

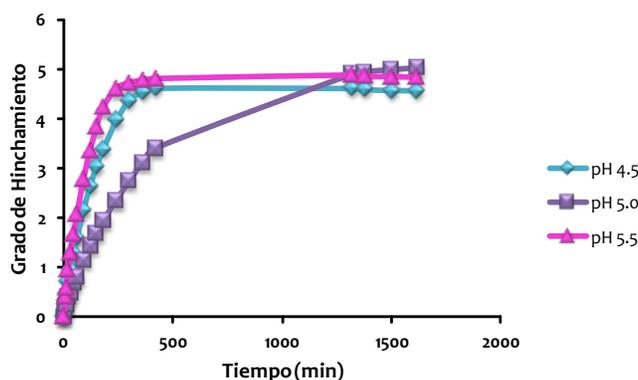


Gráfico 4.
Grado de hinchamiento del hidrogel con 1% de entrecruzante a diferentes pH's.

En cuanto a la comparación de los diferentes pH's analizados se aprecia que para ambas concentraciones de entrecruzante el pH 5.0 es en el que se presenta un mayor grado de hinchamiento.

El hinchamiento de los hidrogeles sintetizados a partir de DMAEMA se debe a la presencia en su estructura molecular de grupos afines al agua; en los geles que contienen fijas a la red grupos ionizables como las aminas, debido a la disminución del pH, se ionizan al igual que el número de cargas fijas a la red, lo cual se ve reflejado en el incremento de las repulsiones electrostáticas entre las cadenas provocando entonces el hinchamiento del hidrogel.

La importancia de determinar el grado de hinchamiento (W_c) se debe a que nos brinda una idea de la capacidad del hidrogel para absorber y retener en su interior ciertas cantidades de agua, ya que en la mayoría de los casos, para la liberación de fármacos mediante redes poliméricas el



disco se carga a partir de una solución saturada seguida de una desorción; pero si el hidrogel no es capaz de absorber la suficiente cantidad de líquido es posible que la cantidad de principio activo no sea la suficiente para alcanzar el nivel de fármaco deseado en el organismo y por tanto en el sitio de acción.

3. CURVAS DE CALIBRACIÓN DE METRONIDAZOL

Para iniciar el estudio de liberación del metronidazol a partir de los discos de hidrogel fue necesario realizar un barrido espectrofotométrico a los diferentes pH's de estudio, los cuales pueden revisarse en la *Tabla B1 del Anexo B*, para de esta manera obtener la longitud de onda óptima la cual es de 320 nm para el caso específico del principio activo de interés.

Para poder cuantificar el metronidazol liberado a partir de los hidrogeles, se obtuvieron las curvas de calibración para cada pH de estudio, las cuales se incluyen en el *Gráfico 5*, con sus respectivas ecuaciones lineales.

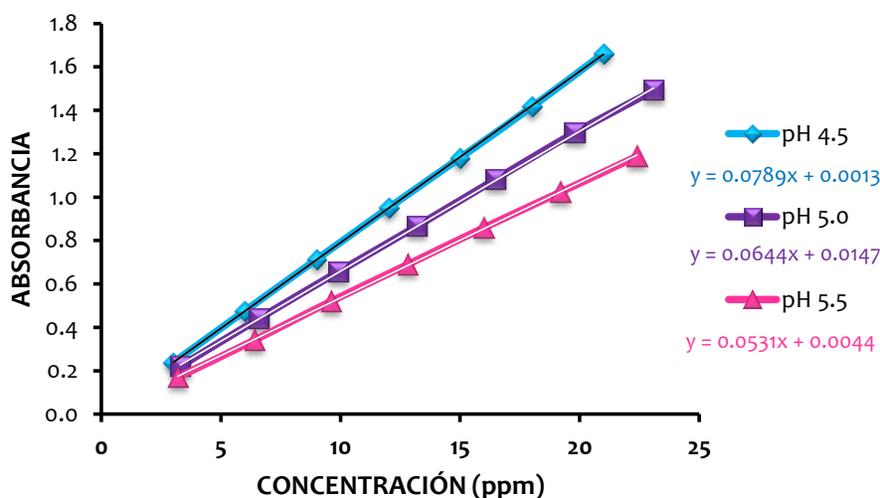


Gráfico 5.
 Curvas de calibración de metronidazol a pH 4.5, 5.0 y 5.5

Estas curvas de calibración se realizaron por sextuplicado para cada pH de trabajo obteniéndose los siguientes parámetros estadísticos:

Tabla 7. Valores estadísticos obtenidos de las curvas de calibración a distintos pH's

pH	r ²	m	b	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
4.5	0.9999	0.0789	0.0013	0.0107	1.2848
5.0	0.9997	0.0644	0.0147	0.0111	1.3903
5.5	0.9996	0.0531	0.0044	0.0091	1.6645



Al analizar los valores obtenidos observamos que las curvas de calibración cumplen con los parámetros establecidos para ser utilizadas de manera confiable durante la cinética de liberación para la cuantificación del principio activo.

3. CINÉTICA DE LIBERACIÓN DE METRONIDAZOL

El metronidazol es un medicamento que se viene utilizando desde hace casi medio siglo para tratar infecciones provocadas por algunos tipos de bacterias y protozoos anaerobios, lo que lo convierte en un caso de estudio de gran interés.

Para este proyecto se elaboraron los perfiles de liberación de metronidazol mostrados en los Gráficos 6 y 7 donde se muestran los promedios ($n=3$) y las barras de error correspondientes a una desviación estándar; mediante el uso de la ecuación de regresión lineal de las curvas de calibración se obtuvo el contenido de principio activo.

En el siguiente gráfico se muestra el porcentaje liberado de metronidazol a partir de los discos de hidrogel compuestos con 0.5 % de agente entrecruzante a los diferentes pH's de estudio, observándose un comportamiento muy similar en los tres casos, alcanzándose la máxima concentración del principio activo alrededor de las tres horas de la liberación.

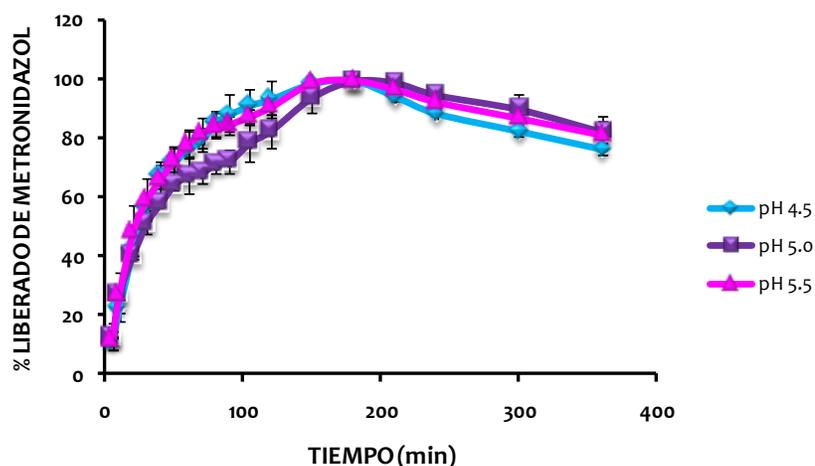


Gráfico 6.
Porcentaje liberado de metronidazol a pH 4.5, 5.0 y 5.5 con 0.5 % de entrecruzante



Sin embargo, el comportamiento mostrado en el *Gráfico 7* para los discos con 1.0 % de agente entrecruzante a pesar de ser similar al anterior, se observa que la máxima concentración de activo se alcanza en un lapso más prolongado de tiempo, esto debido a que el mayor grado de entrecruzamiento dificulta la entrada de líquido a la red polimérica retrasando de esta manera la difusión de metronidazol al medio.

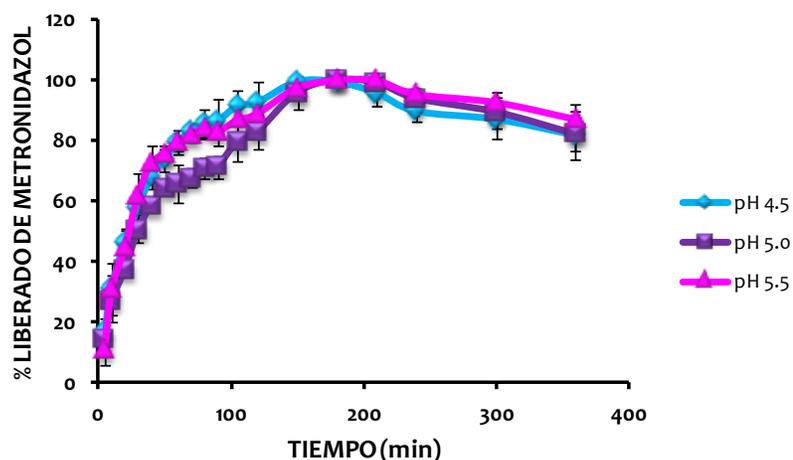


Gráfico 7.
 Porcentaje liberado de metronidazol a pH 4.5, 5.0 y 5.5 con 1.0 % de entrecruzante

En la *Tabla 8* se muestra la cantidad máxima liberada de metronidazol bajo las diferentes condiciones de estudio, observándose que a un pH de 5.5 se favorece la liberación del principio activo y que a pesar de que el agente entrecruzante es un factor importante en el tiempo de liberación, no es así para la cantidad de fármaco liberado ya que se observa una ligera diferencia del 1.62 % entre la cantidad liberada en el hidrogel constituido de un 0.5 % de entrecruzante y el que posee 1.0 %.

Tabla 8. Cantidad máxima liberada de metronidazol

pH	µg LIBERADOS DE METRONIDAZOL	
	Concentración de Entrecruzante	
	0.5%	1.0%
4.5	461.649	429.672
5.0	549.905	557.296
5.5	640.825	651.654



Los resultados obtenidos se analizaron con los modelos matemáticos de Peppas (Ecuación 1) y Higuchi (Ecuación 2).

$$\ln \frac{M_t}{M_\infty} = \ln k + n \ln t \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde $\ln \frac{M_t}{M_\infty}$ es el logaritmo natural de la velocidad de liberación; $\ln k$ es el logaritmo natural de la constante de Peppas y n es el exponente de la liberación. En esta ecuación $\frac{M_t}{M_\infty}$ es la cantidad de fármaco liberado al tiempo t ; k es la constante de Higuchi que indica la velocidad con la que se difunde el fármaco en el medio.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^{1/2} \quad \text{Ecuación 2}$$

Los valores obtenidos para las constantes n y K_H se encuentran reportados en la *Tabla 9*; y se demostró estadísticamente mediante un análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) el cual se muestra en las *Tablas 10 y 11*, que no existen diferencias significativas entre las constantes de Higuchi (K_H), por lo que puede afirmarse que la velocidad de liberación del metronidazol incorporado en los hidrogeles es independiente del porcentaje de entrecruzante ($P = 0.2881$) y del pH del medio ($P = 0.1771$) bajo las condiciones de estudio. En cuanto a las constantes de Peppas (n), tampoco se encontró efecto del grado de entrecruzamiento ($P = 0.2239$) ni del pH ($P = 0.4179$).

Tabla 9. Valores promedio para las constantes de Higuchi y Peppas

% de Entrecruzante	pH	HIGUCHI PEPPAS	
		K_H	n
0.5	4.5	0.1441	0.7161
	5.0	0.0944	0.5959
	5.5	0.1495	0.8482
1.0	4.5	0.1283	0.5420
	5.0	0.0981	0.5975
	5.5	0.1045	0.6516

Tabla 10. Análisis de varianza para K_H

ORIGEN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE CUADRADOS	F	P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: pH	0.00524586	2	0.00262293	1.96	0.1771
B: Entrecruzante	0.0016283	1	0.0016283	1.22	0.2881
RESIDUALES	0.0186988	14	0.00133563		
TOTAL (Corregido)	0.025573	17			



Medias e Intervalos Límite de la Desviación Estándar al 95%

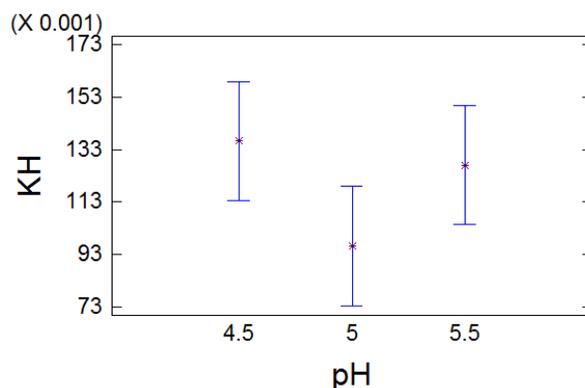


Figura 15. Análisis de varianza para K_H

Tabla 11. Análisis de varianza para n

ORIGEN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE CUADRADOS	F	P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: pH	0.0782064	2	0.0391032	0.93	0.4179
B: Entrecruzante	0.0681297	1	0.0681297	1.62	0.2239
RESIDUALES	0.589086	14	0.0420776		
TOTAL (Corregido)	0.735422	17			

Medias e Intervalos Límite de la Desviación Estándar al 95%

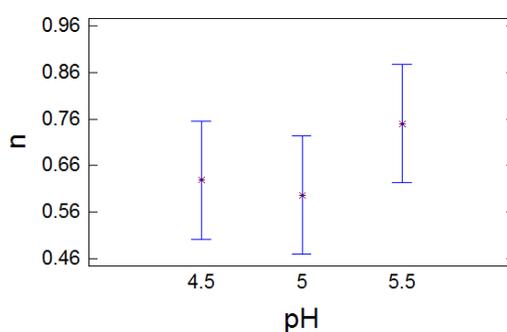


Figura 16. Análisis de varianza para n

Analizando los valores de n se determinó que el metronidazol se libera siguiendo un mecanismo de transporte no fickiano ($0.5 < n < 1.0$) lo cual nos indica que la liberación será dependiente tanto de la difusión del fármaco a través de un gradiente de concentración como del grado de relajación que sufran las cadenas poliméricas en el momento del hinchamiento.



4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Para sustentar los resultados obtenidos a lo largo de este proyecto, se realizó la validación del método analítico para la cuantificación de metronidazol a través de hidrogeles pH sensibles; la siguiente tabla muestra los parámetros establecidos por la ICH-Q2A y los valores obtenidos durante la validación del método. La metodología a seguir así como los resultados de cada prueba se pueden consultar de manera más detallada en el Anexo D.

Tabla 12. Resultados de la validación del método analítico

pH	LINEALIDAD ($r^2 \geq 0.98$, $CV \leq 5$, ANOVA)				PRESICIÓN ($CV \leq 5$)		EXACTITUD ($CV \leq 5$)			
	r^2	SD	CV	P	SD	CV	(ppm)	% REC	SD	CV
4.5	0.9997	0.0085	1.6376	0.000565284	0.7669	0.7635	7	98.838	1.175	1.188
							14	99.854	0.814	0.815
							21	99.383	1.109	1.116
5.0	0.9995	0.0072	1.0810	0.000585296	0.5575	0.5626	7	97.541	1.062	1.089
							14	98.558	0.523	0.531
							21	98.416	1.045	1.062
5.5	0.9999	0.0060	1.1411	0.000588777	0.6918	0.6922	7	97.419	1.011	1.038
							14	97.909	0.909	0.929
							21	98.073	0.719	0.733

El método fue lineal en un rango de 7 a 14 ppm ya que cumple con los parámetros establecidos, debido a que para los tres pH's de estudio, se obtuvieron valores de r^2 mayores a 0.98, y coeficientes de variación menores al 5 %, explicando así la variabilidad en la absorbancia; en cuanto al valor de P en la tabla de ANOVA al ser menor a 0.05 en los tres casos observamos que existe una relación estadísticamente significativa entre la absorbancia y la concentración con un nivel de confianza del 95 %.

Al obtener un coeficiente de variación menor al 5 % el método fue exacto; y al realizar el estudio en dos días distintos y con dos analistas diferentes, el método fue preciso al cumplir con el mismo criterio de aceptación.



5. BIOADHESIÓN

Como complemento al proyecto realizado se llevó a cabo la prueba de bioadhesión con la finalidad de evaluar la capacidad del hidrogel para permanecer en contacto con el tejido vaginal.

Es preciso referir que la bioadhesión es un fenómeno interfacial que ocurre entre un material polimérico y una superficie biológica. Las interacciones entre las fases son el resultado tanto de las propiedades del polímero como de la naturaleza del sustrato.

El término bioadhesión se ha utilizado para describir el fenómeno relacionado con la capacidad que tienen algunas macromoléculas de origen natural y de síntesis para adherirse a tejidos biológicos, y se fundamenta en los mecanismos conocidos de la adhesión convencional, con la particularidad que representan las propiedades y características de los tejidos naturales.

Para iniciar con el estudio de bioadhesión se construyó una curva de calibración por triplicado con ayuda de un marco de pesas desde 1 hasta 15 g; utilizando el tensiómetro de DuNouy modificado. Los resultados obtenidos se muestran en la *Tabla E1 del Anexo E* y el gráfico se observa a continuación con su respectiva ecuación lineal.

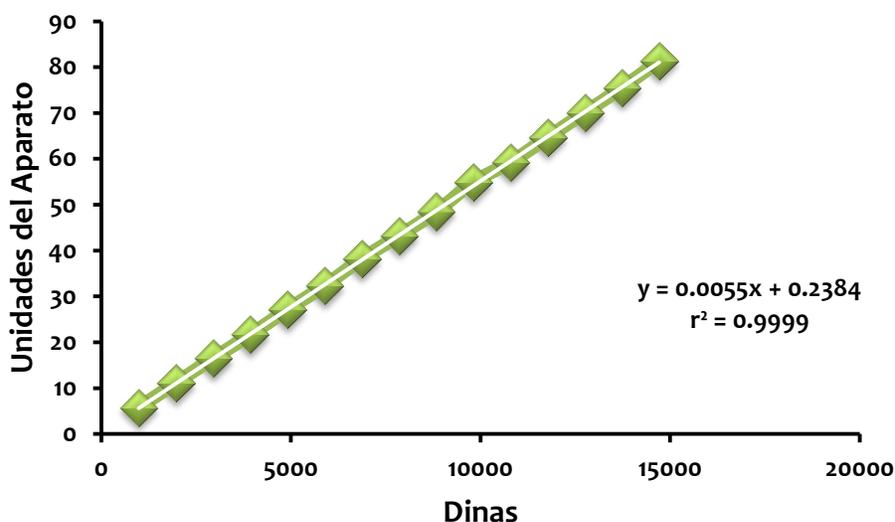


Gráfico 8.
Curva de calibración para la prueba de bioadhesión



La prueba de bioadhesión se llevó a cabo utilizando tejido vaginal de cerda humedecido previamente con solución amortiguadora pH 5.0 y un disco de hidrogel seco, los cuales fueron montados en el tensiómetro ejerciendo diferentes tiempos de contacto (30, 60 y 180 s) obteniendo así la fuerza necesaria para desprender el hidrogel del tejido; esto se realizó por quintuplicado para cada grado de entrecruzamiento.

La bioadhesión es el resultado de un gradiente de concentración entre las moléculas del sustrato biológico, como la mucina, y las cadenas flexibles del polímero hasta desarrollar el enredamiento físico entre los dos tipos de moléculas.

En la *Tabla 13*, se reporta el promedio de las pruebas realizadas para cada porcentaje de entrecruzante, observándose que el disco de hidrogel con 0.5% de entrecruzante fue el que necesitó una mayor fuerza para ser separado del tejido vaginal en los tres diferentes tiempos de contacto, comparado con el disco con 1 % de agente entrecruzante. Este comportamiento fue observado en 1993 por Smart y Mortazavi quienes en su trabajo sobre el papel del movimiento del agua y el mucus en la Mucoadhesión, explican que cuando se aumenta la densidad de entrecruzamiento, la difusión de agua entre la red del polímero se presenta a muy baja velocidad produciéndose un hinchamiento insuficiente disminuyendo la velocidad de interpenetración entre el polímero y la mucina provocando una menor adherencia, caso contrario cuando la densidad del entrecruzamiento disminuye se favorece la interacción polímero – mucina.

Tabla 13. Resultados obtenidos en la prueba de bioadhesión

% de ENTRECruzANTE	DINAS		
	30 s	60 s	180 s
0.5	5396.65	5458.47	5411.20
1.0	4240.29	5269.38	4854.84

Asimismo se realizó el análisis de varianza para los diferentes tiempos de contacto y grados de entrecruzante, cuyos resultados se encuentran en la *Tabla 14*; observándose que para ambos casos el valor de $P > 0.05$ por lo que puede decirse que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes tiempos de contacto y el porcentaje de entrecruzante.



Tabla 14. Análisis de varianza para la prueba de bioadhesión

ORIGEN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE CUADRADOS	F	P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Segundos	1.48763E6	2	743813.0	0.59	0.5593
B: Entrecruzante	2.76585E6	1	2.76585E6	2.21	0.1491
RESIDUALES	3.25397E7	26	1.25153E6		
TOTAL (Corregido)	3.67932E7	29			

Medias e Intervalos Límite de la Desviación Estándar al 95%

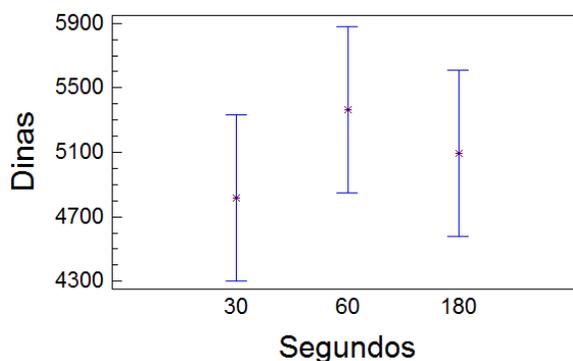


Figura 17.

Análisis de varianza para la prueba de bioadhesión

Smart (2005), en su estudio sobre los conceptos básicos y los mecanismos subyacentes de la mucoadhesión, encontraron que al aplicar una presión alta durante periodos suficientemente largos (mayores a 2min), se puede presentar mucoadhesión aunque no exista atracción entre el polímero y la mucina; junto a la presión se estudia el tiempo de contacto, que puede afectar de forma decisiva la funcionalidad del sistema, determinando la extensión de la hidratación y el hinchamiento de los polímeros y la interpenetración con la malla formada por las cadenas glicoprotéicas de la mucina; por tanto, la fuerza adhesiva aumenta a medida que el tiempo de contacto inicial aumenta.

A pesar de que el análisis estadístico no demuestra ninguna diferencia significativa entre los dos factores de experimentación, Vallejo y Perilla (2008) en su revisión sobre los elementos conceptuales para estudiar el comportamiento bioadhesivo en polímeros, mencionan que existen diferentes factores que determinan la bioadhesión entre el tejido y el polímero; algunos de estos son los asociados con el polímero como son su peso molecular, flexibilidad y la



concentración del polímero, así como la hidratación y el grado de hinchamiento, los cuales pueden ser estudiados y modificados con técnicas especiales para ello.

Por otra parte, existen factores indirectos que pueden afectar la unión bioadhesiva; existen algunas consideraciones desde la parte fisiológica que pueden interferir sobre la bioadhesión y se relacionan con la renovación natural de las moléculas de mucina que limitan el tiempo de residencia de los bioadhesivos sobre el sustrato, e independientemente de la intensidad de la fuerza adhesiva, son despegados de la superficie a causa del recambio. También es necesario considerar los factores asociados a estados patológicos, que pueden afectar las propiedades fisicoquímicas del *mucus*; de acuerdo con la vía de administración, se puede o no efectuar una presión inicial sobre la superficie de aplicación del mucoadhesivo, lo cual afecta la profundidad de la interpenetración.

Los sistemas bioadhesivos han sido empleados en el campo de la salud, especialmente para aplicaciones odontológicas, como también para uso oftálmico y quirúrgico y actualmente en el estudio sobre reemplazo de tejidos y la liberación controlada o localizada de fármacos sobre mucosas.

Las aplicaciones potenciales de este fenómeno exigen un estudio minucioso sobre los fundamentos que rigen el comportamiento de los materiales poliméricos que se utilizan para estos desarrollos cuando se encuentran en contacto con superficies de tipo biológico y cómo, a partir del entendimiento de estos principios, es posible desarrollar materiales con mejores propiedades de desempeño y proponer formulaciones optimizadas para utilizar como sistemas bioadhesivos.



VI. CONCLUSIONES

Se prepararon y evaluaron sistemas poliméricos pH-sensibles de liberación controlada para la administración vaginal de metronidazol, a partir de hidrogeles de DMAEMA, utilizando DVB como agente entrecruzante en concentraciones de 0.5 y 1.0 % y AIBN como iniciador.

Se evaluó la cinética de hinchamiento de los hidrogeles pH-sensibles mediante un análisis gravimétrico a temperatura constante (37 °C) y a tres valores distintos de pH, observándose que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el pH (4.5, 5.0 y 5.5) y la concentración de entrecruzante (0.5 y 1.0 %) empleados durante la experimentación.

Se incorporó el principio activo metronidazol en los hidrogeles de DMAEMA mediante el método de hinchamiento-secado y se evaluó la liberación *in vitro* a diferentes valores de pH, determinándose el efecto del grado de entrecruzamiento y el pH sobre la velocidad de liberación del metronidazol incorporado en los hidrogeles, obteniéndose un comportamiento anómalo y un efecto sostenido en la liberación del principio activo.

Se logró sustentar los resultados obtenidos durante los estudios de liberación del metronidazol incorporado en los hidrogeles a través de un método analítico lineal, preciso y exacto.

Se determinó *ex vivo* la bioadhesión de los hidrogeles cargados utilizando tejido vaginal de cerda observándose que el hidrogel con 0.5% de agente entrecruzante presenta mayor resistencia al desprendimiento comparado con el hidrogel con 1 % de agente entrecruzante.



VII. REFERENCIAS

- ♣ Arredondo, Alejandro; Londoño, Marta Elena. Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. *Revista Ingeniería Biomédica*. Vol.3 No. 5. 2009. 83-94.
- ♣ Cencia, Lisa; Sassi, Alexandra. Vaginal drug delivery systems for HIV prevention. *The AAPS Journal*. Vol. 11. No. 1. 2009. 78-87.
- ♣ Costa, Paulo; Sousa Lobo, José Manuel. Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 13. 2001. 123-133.
- ♣ Deligkaris, Kosmas; Shiferaw, Tadele; Olthuis, Wouter; Van den Berg, Albert. Hydrogel-based devices for biomedical applications. *Sensors and Actuators B: Chemical*. Vol. 147. No. 2. 2010. 765-774
- ♣ Escobar, J. L.; García D. M.; Zaldivar, D.; Katime, Issa. Hidrogeles. Principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos. *Revista Iberoamericana Polímeros*. Vol. 3. No. 3 2002. 25.
- ♣ Gene L., Oguzlar C., Guler E., Studies on vaginal bioadhesive tablet of acyclovir. *Pharmazie*. Vol. 55 No. 4. 2000.297-299.
- ♣ International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Validation of analytical procedures, ICH-Q2A, Geneva, 1995.
- ♣ das Neves, J., E. Pinto, B. Teixeira, G. Dias, P. Rocha, T. Cunha, B. Santos, H. Amaral, F. Bahia. Local treatment of vulvovaginal candidiosis: general and practical considerations. *Drugs*. Vol. 68. No. 13. 2008. 1787-1802.
- ♣ Das Neves, J., M. F. Bahia. Gels as vaginal drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*. Vol.318. No. 1-2. 2006. 1-14.
- ♣ Luzardo Álvarez, Asteria; Otero Espinar, Francisco J; Blanco Méndez, José. Elaboración de hidrogeles de ácido poliacrílico. Estudios preliminares de hinchamiento. *Tecnología Farmacéutica*. 2003. 103-105.
- ♣ Martínez Vázquez, N.; Antonio Cruz, R del C.; Álvarez Castillo, A.; Mendoza Martínez, A. M.; Morales Cepeda, A. B. Swelling kinetic of hydrogels from methyl cellulose and poly (acrylamide). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Vol. 6. No. 3. 2007. 337-345.
- ♣ Peña Santamaría, A. B.; Céspedes Galeano, J. M.; Físicoquímica. Manual de Laboratorio; Sello editorial Universidad de Medellín. 2007. 73 - 74
- ♣ Peppas N. A.; Bures, P.; Leobandung, W.; Ichikawa, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. Vol. 50 No. 1. 2000. 27-46.



- ♣ Rodríguez I. C., Cerezo A., Salem I. I. Sistemas de Liberación Bioadhesivos. *Ars Pharmaceutica*. Vol. 1. 2000. 115-128.
- ♣ Samart J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Vol. 57 No. 11. 2005. 1556-1568.
- ♣ Santos R. B., Guerrero A. MD. *Administración de Medicamentos. Teoría y Práctica*. Ediciones Días de Santos S. A. Madrid España, 1994. 123-130.
- ♣ Suvakanta, Dash; Padala Narosimha, Murthy; Lilakanta, Nath; Prasanta, Chowdhury. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*. Vol. 67. No. 3. 2010. 217-233
- ♣ Valenta, Claudia. The use of mucoadhesive polymers in vaginal delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Vol. 57. No. 11. 2005. 1692-1712.
- ♣ Vallejo Díaz, M. Bibiana; Perilla, Jairo E. Elementos conceptuales para estudiar el comportamiento bioadhesivo en polímeros. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*. Vol. 37. No. 1. 2008. 33-55.
- ♣ Zorraquín, Brisa Nadyr. Estudio de polímeros pH sensibles para el desarrollo de sistemas de liberación controlada de activos en cantidades específicas. Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. 2004. México.



ANEXOS



ÍNDICE

ANEXO A. <i>CINÉTICA Y GRADO DE HINCHAMIENTO</i>	I
ANEXO B. <i>BARRIDOS Y CURVAS DE CALIBRACIÓN</i>	XVI
ANEXO C. <i>CINÉTICA DE LIBERACIÓN</i>	XXI
ANEXO D. <i>VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO</i>	XLVII
ANEXO E. <i>BIOADHESIÓN</i>	LXII



ANEXO A

CINÉTICA Y GRADO DE HINCHAMIENTO



Tabla A1 Resultados obtenidos durante la cinética de hinchamiento

Tiempo (min)	0.5% de Entrecruzante			1% de Entrecruzante		
	Peso (g)			Peso (g)		
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5
0	0.0536	0.0537	0.0528	0.0635	0.0623	0.0558
5	0.0763	0.0631	0.0787	0.0820	0.0705	0.0783
10	0.0878	0.0707	0.0918	0.0914	0.0767	0.0874
20	0.1082	0.0818	0.1136	0.1091	0.0858	0.1085
30	0.1252	0.0916	0.1276	0.1233	0.0927	0.1274
45	0.1494	0.1058	0.1543	0.1439	0.1041	0.1482
60	0.1667	0.1205	0.1753	0.1640	0.1109	0.1701
90	0.2084	0.1481	0.2200	0.1995	0.1332	0.2104
120	0.2459	0.1698	0.2590	0.2307	0.1511	0.2419
150	0.2812	0.1916	0.2934	0.2558	0.1675	0.2693
180	0.3104	0.2081	0.3258	0.2778	0.1832	0.2909
240	0.3658	0.2518	0.3706	0.3146	0.2084	0.3123
300	0.4040	0.2935	0.3963	0.3415	0.2330	0.3188
360	0.4239	0.3335	0.4125	0.3516	0.2556	0.3218
420	0.4329	0.3712	0.4213	0.3569	0.2744	0.3235
1320	0.4515	0.5681	0.4394	0.3566	0.3675	0.3274
1380	0.4488	0.5711	0.4396	0.3550	0.3705	0.3260
1500	0.4478	0.5780	0.4370	0.3542	0.3734	0.3255
1620	0.4475	0.5792	0.4360	0.3535	0.3755	0.3250



Tabla A2 Resultados obtenidos en el cálculo del grado de hinchamiento

Tiempo (min)	0.5% de Entrecruzante			1% de Entrecruzante		
	Grado de Hinchamiento			Grado de Hinchamiento		
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5
0	0	0	0	0	0	0
5	0.4235	0.1750	0.4905	0.2913	0.1316	0.4032
10	0.6381	0.3166	0.7386	0.4394	0.2311	0.5663
20	1.0187	0.5233	1.1515	0.7181	0.3772	0.9444
30	1.3358	0.7058	1.4167	0.9417	0.4880	1.2832
45	1.7873	0.9702	1.9223	1.2661	0.6709	1.6559
60	2.1101	1.2439	2.3201	1.5827	0.7801	2.0484
90	2.8881	1.7579	3.1667	2.1417	1.1380	2.7706
120	3.5877	2.1620	3.9053	2.6331	1.4254	3.3351
150	4.2463	2.5680	4.5568	3.0283	1.6886	3.8262
180	4.7910	2.8752	5.1705	3.3748	1.9406	4.2133
240	5.8246	3.6890	6.0189	3.9543	2.3451	4.5968
300	6.5373	4.4655	6.5057	4.3780	2.7400	4.7133
360	6.9086	5.1204	6.8125	4.5370	3.1027	4.7670
420	7.0765	5.9125	6.9792	4.6205	3.4045	4.7975
1320	7.4235	9.5791	7.3220	4.6157	4.8989	4.8674
1380	7.3731	9.6350	7.3258	4.5906	4.9470	4.8423
1500	7.3545	9.7635	7.2765	4.5780	4.9936	4.8333
1620	7.3489	9.7858	7.2576	4.5669	5.0273	4.8244

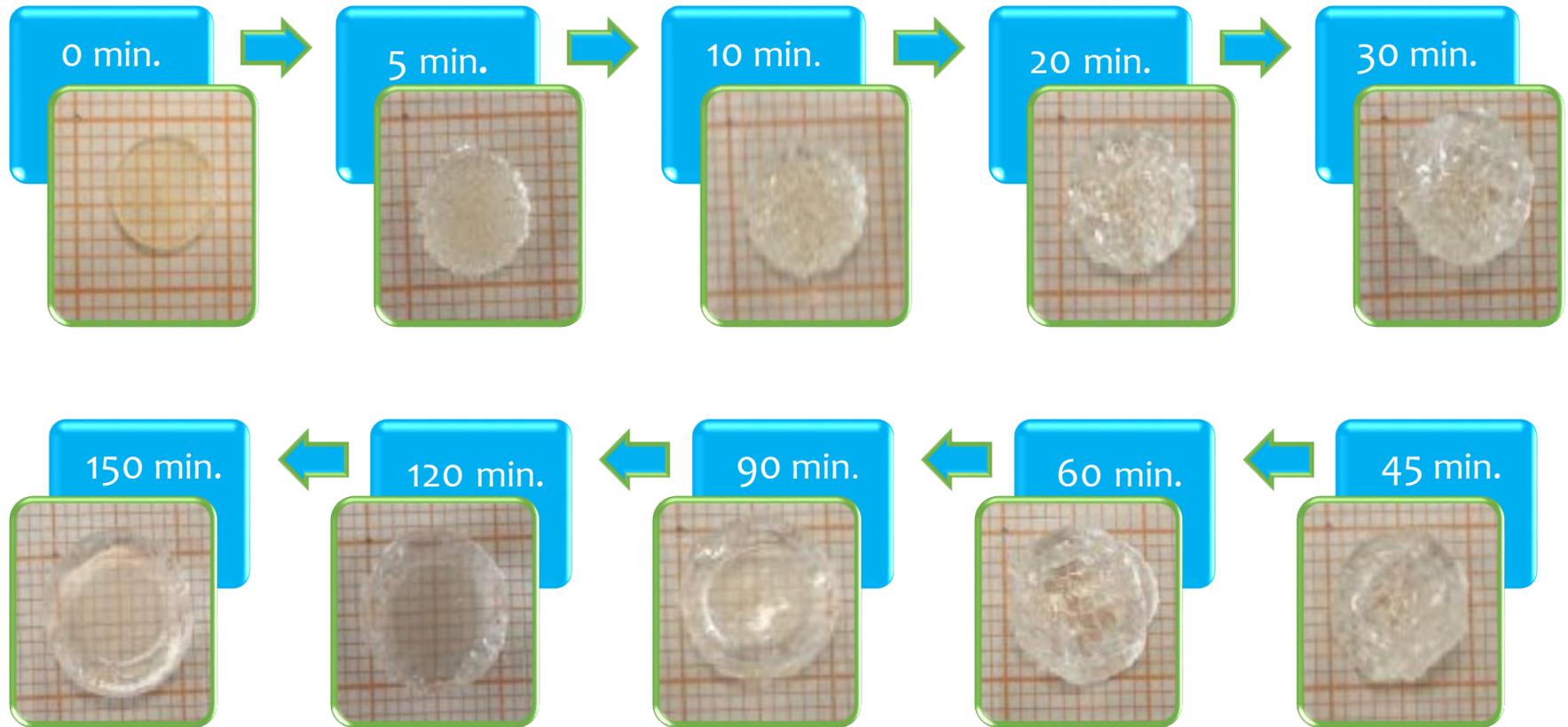


Figura A1
Cinética de Hinchamiento a pH 4.5 con 0.5% de entrecruzante

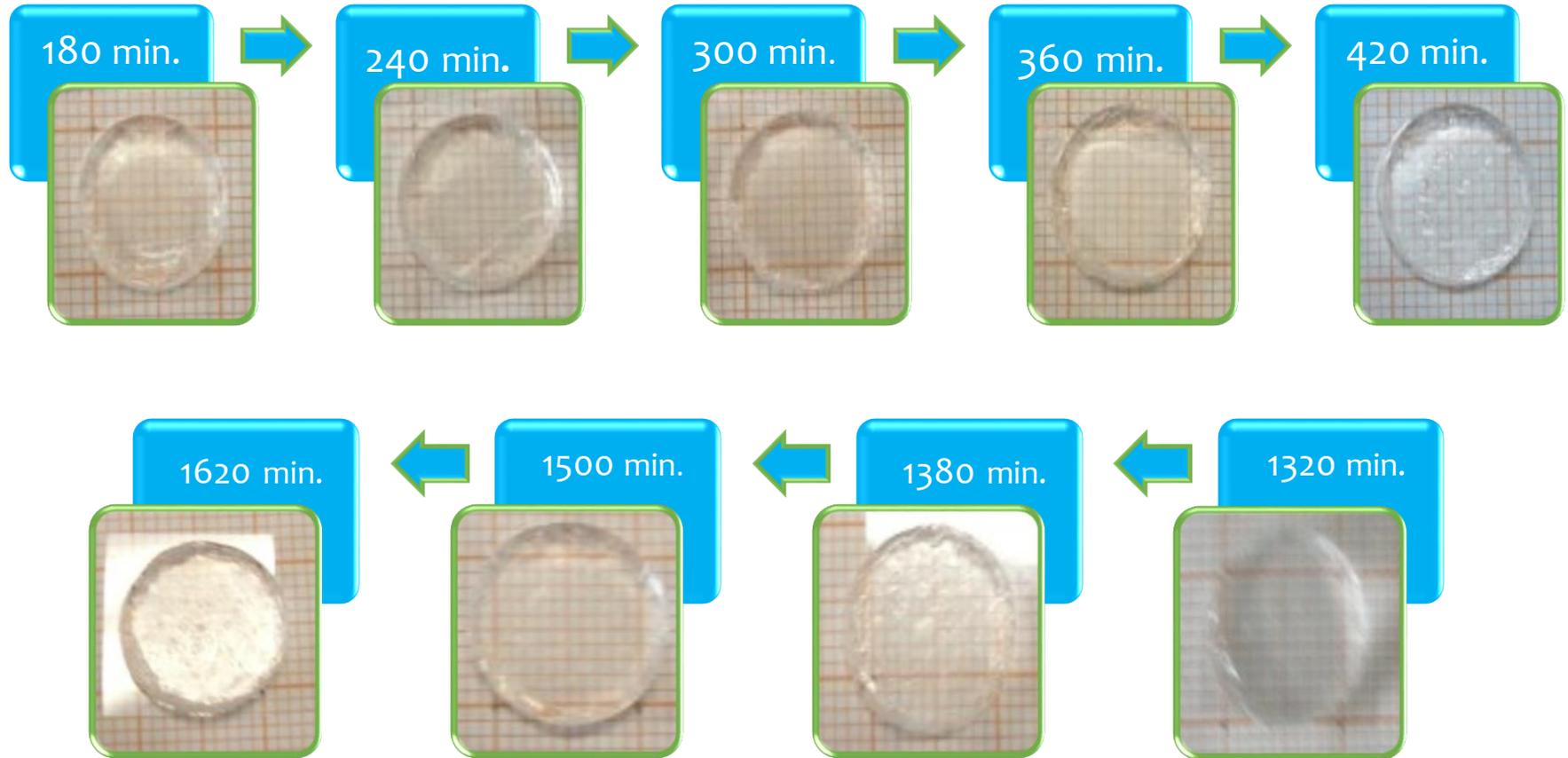


Figura A2
Cinética de Hinchamiento a pH 4.5 con 0.5% de entrecruzante

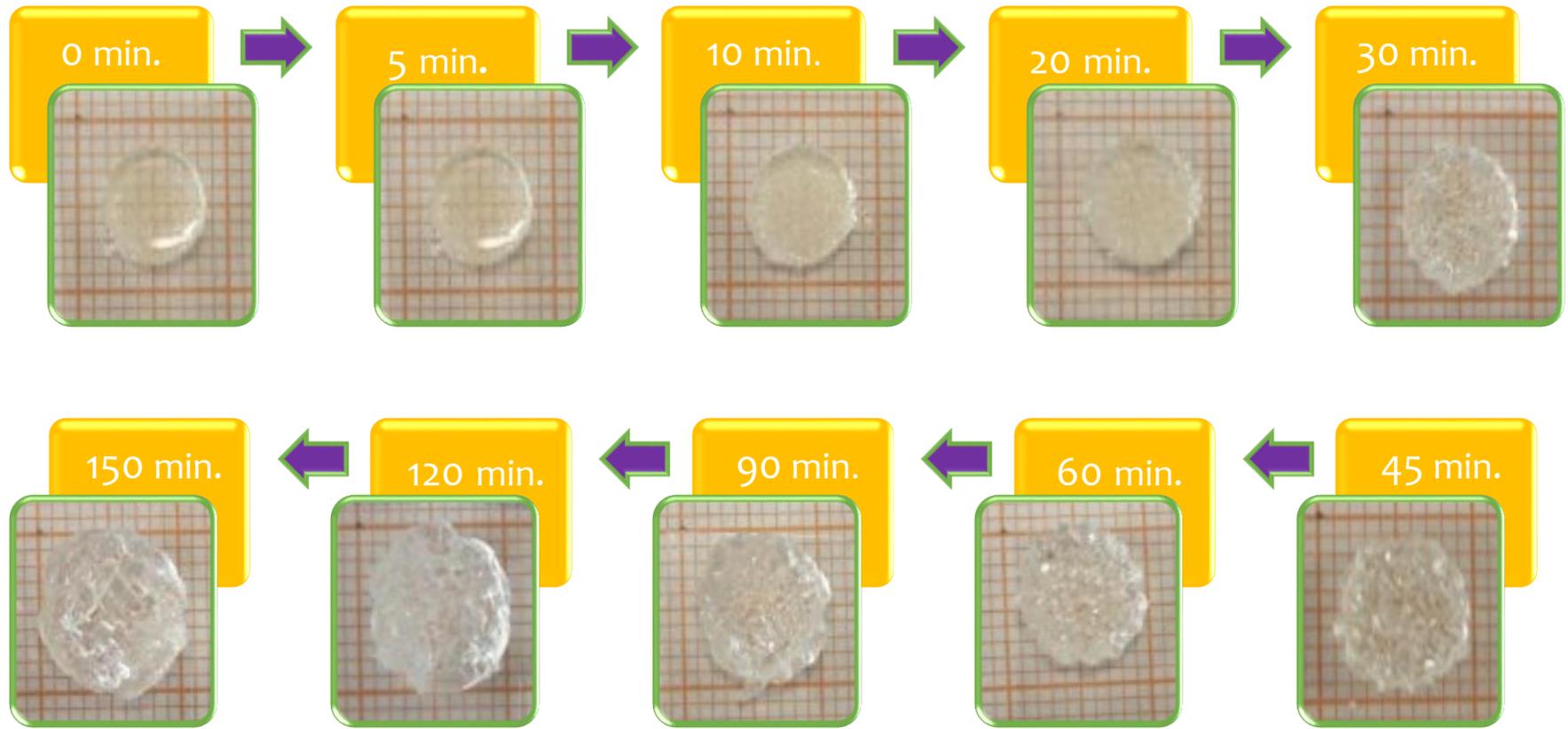


Figura A3
Cinética de Hinchamiento a pH 5.0 con 0.5% de entrecruzante

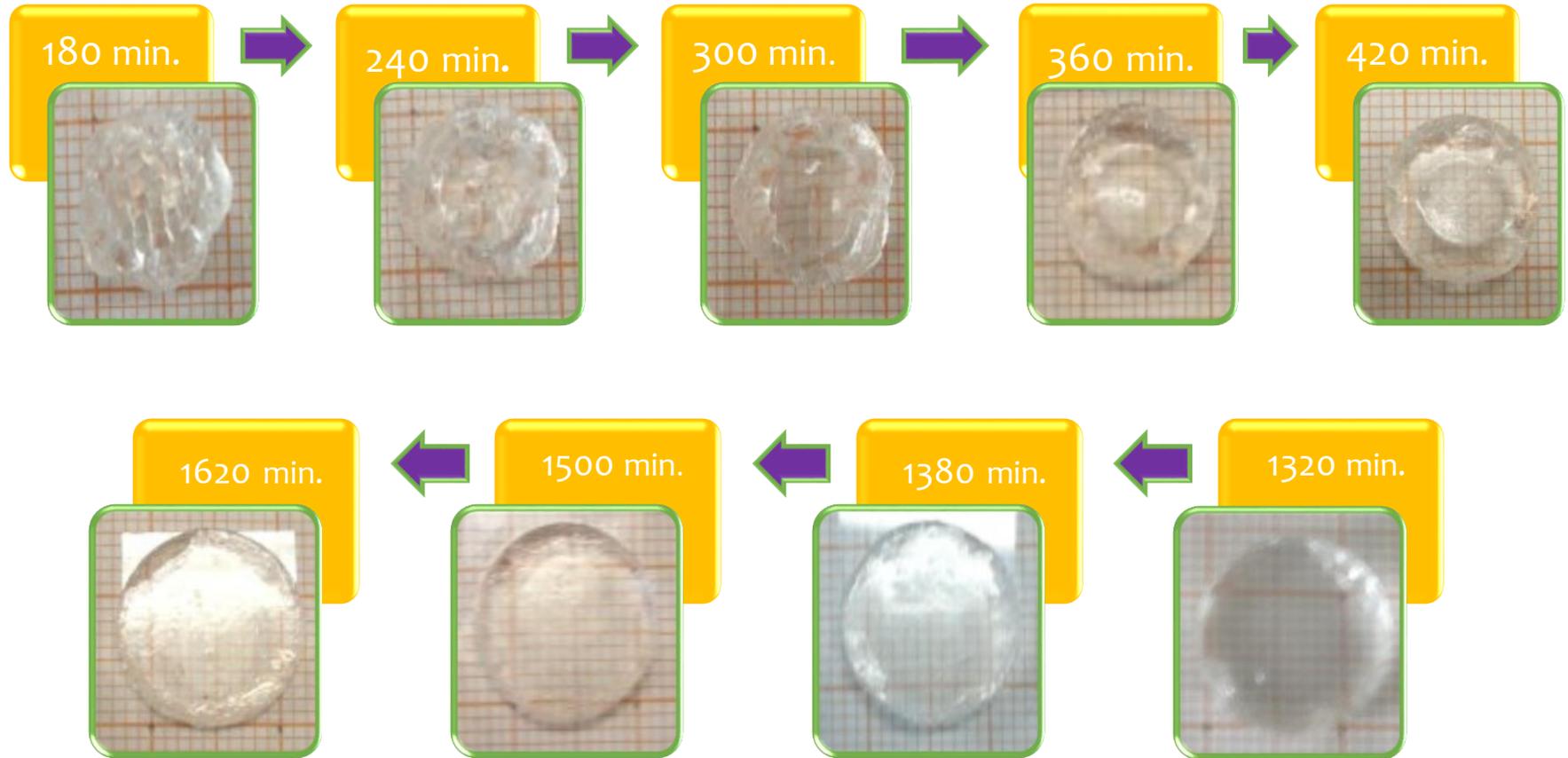


Figura A4
Cinética de Hinchamiento a pH 5.0 con 0.5% de entrecruzante

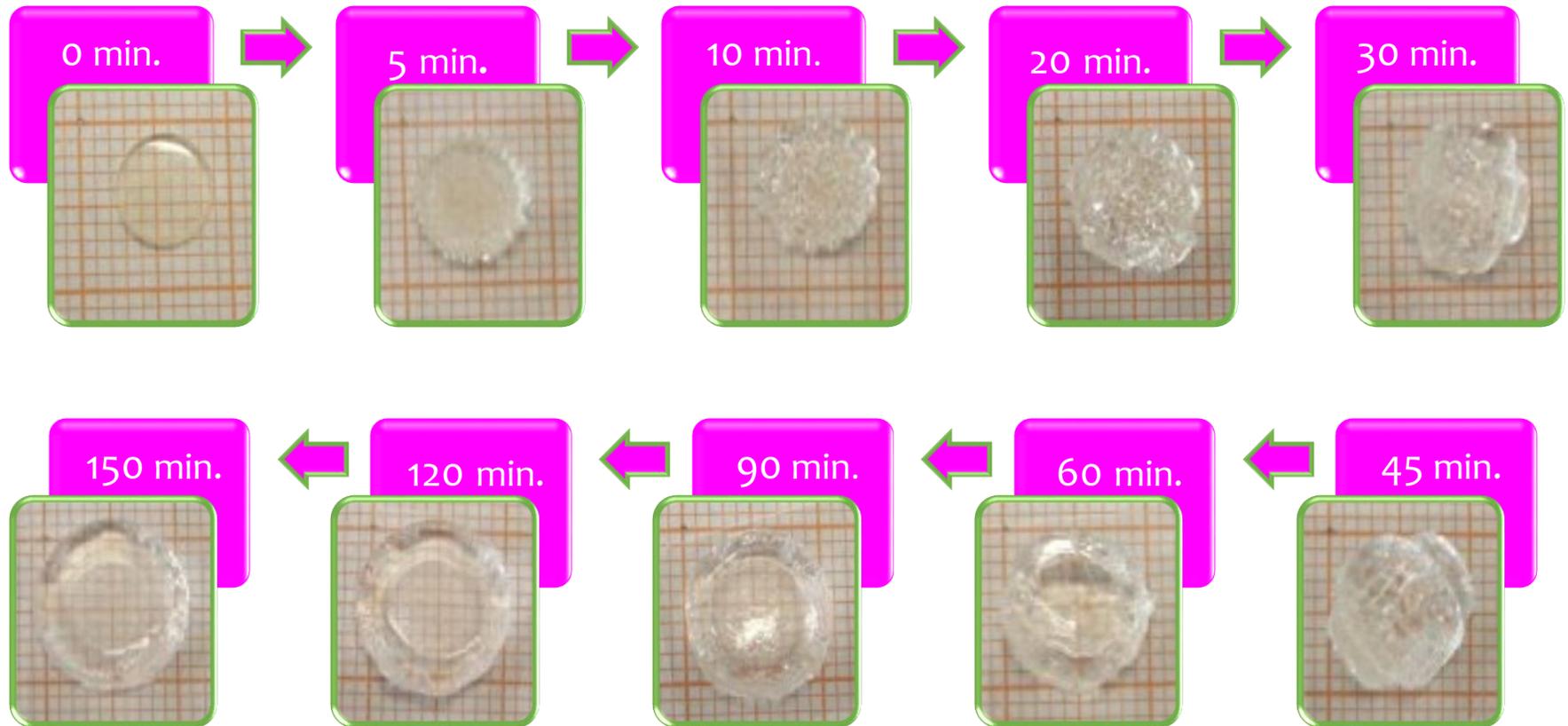


Figura A5
Cinética de Hinchamiento a pH 5.5 con 0.5% de entrecruzante

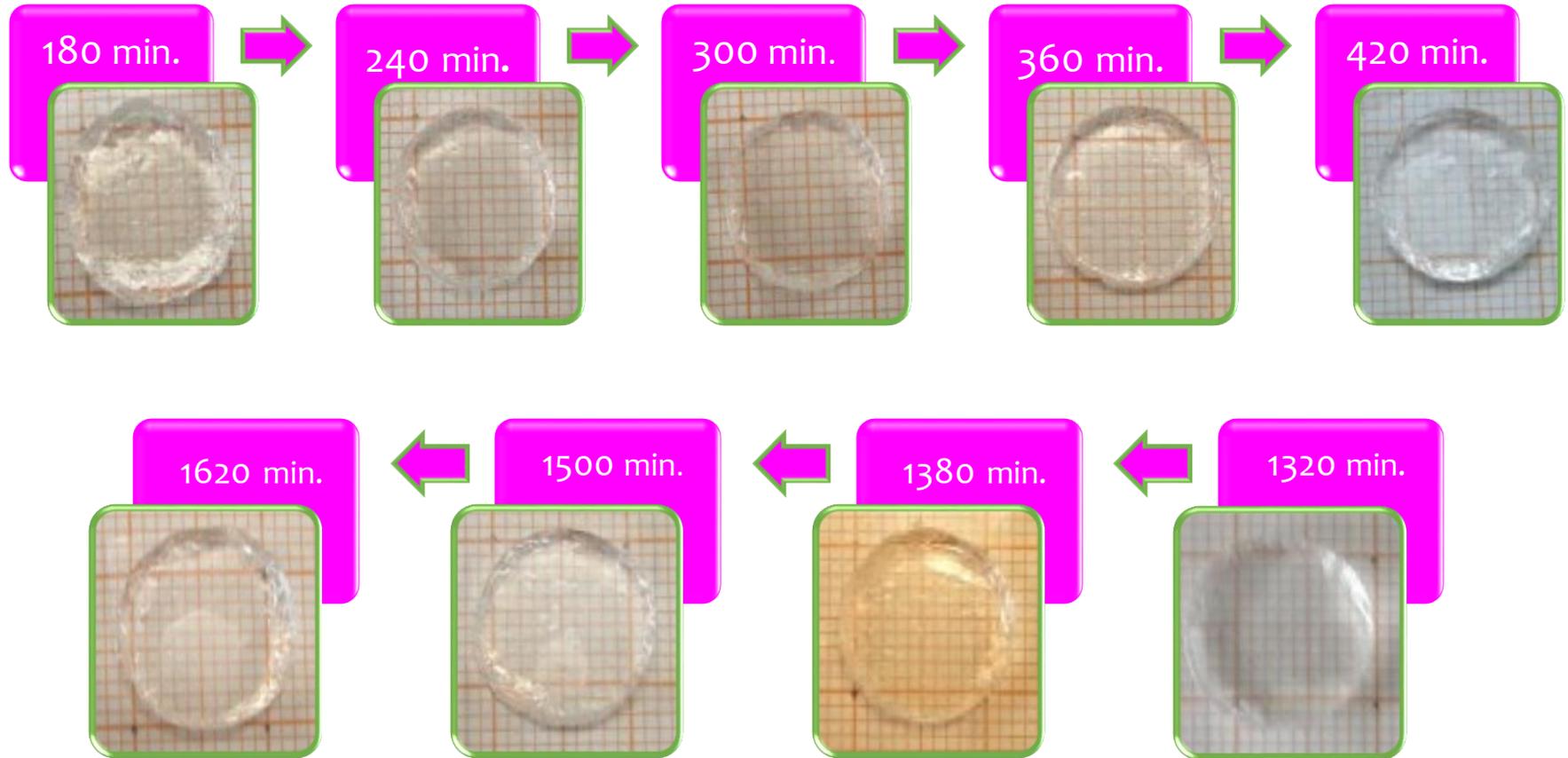


Figura A6
Cinética de Hinchamiento a pH 5.5 con 0.5% de entrecruzante

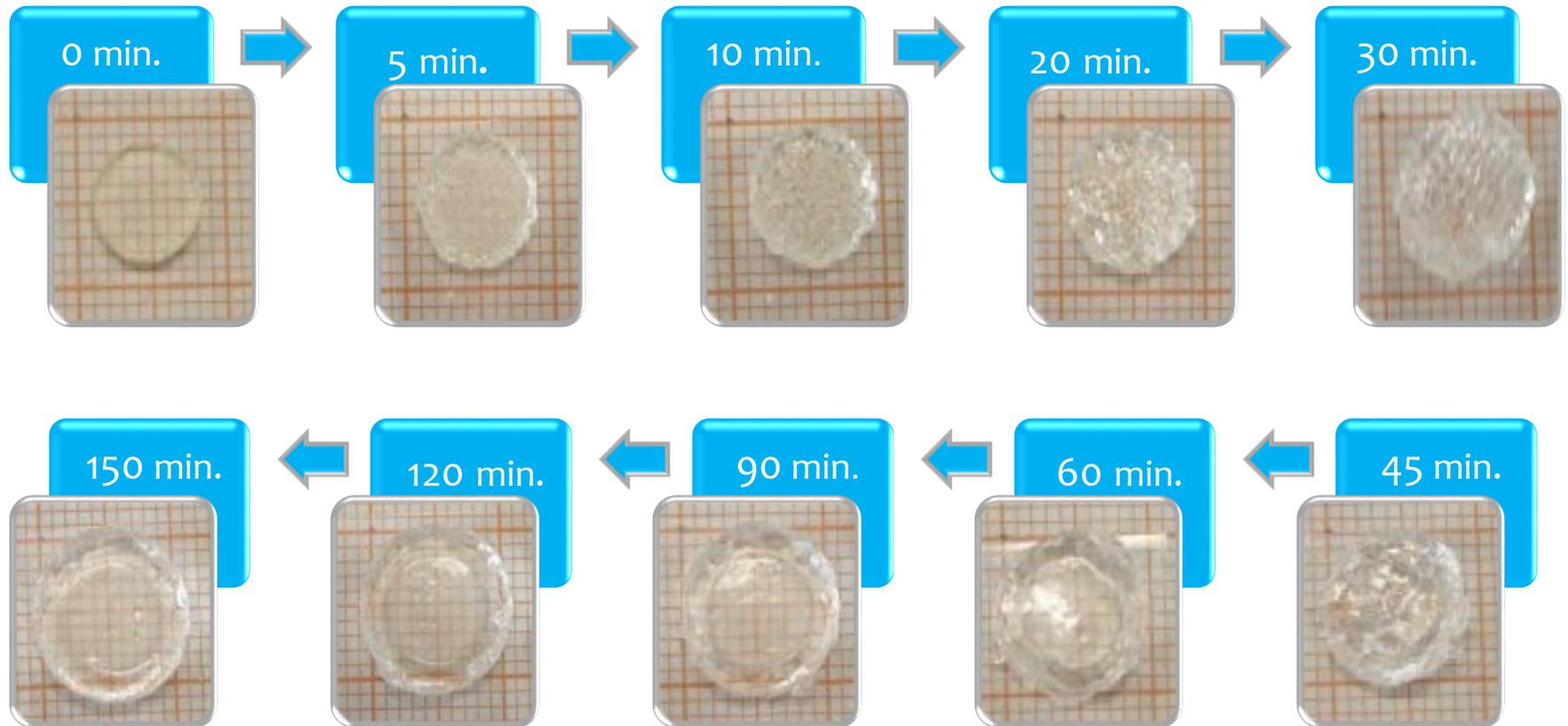


Figura A7
Cinética de Hinchamiento a pH 4.5 con 1.0% de entrecruzante

X

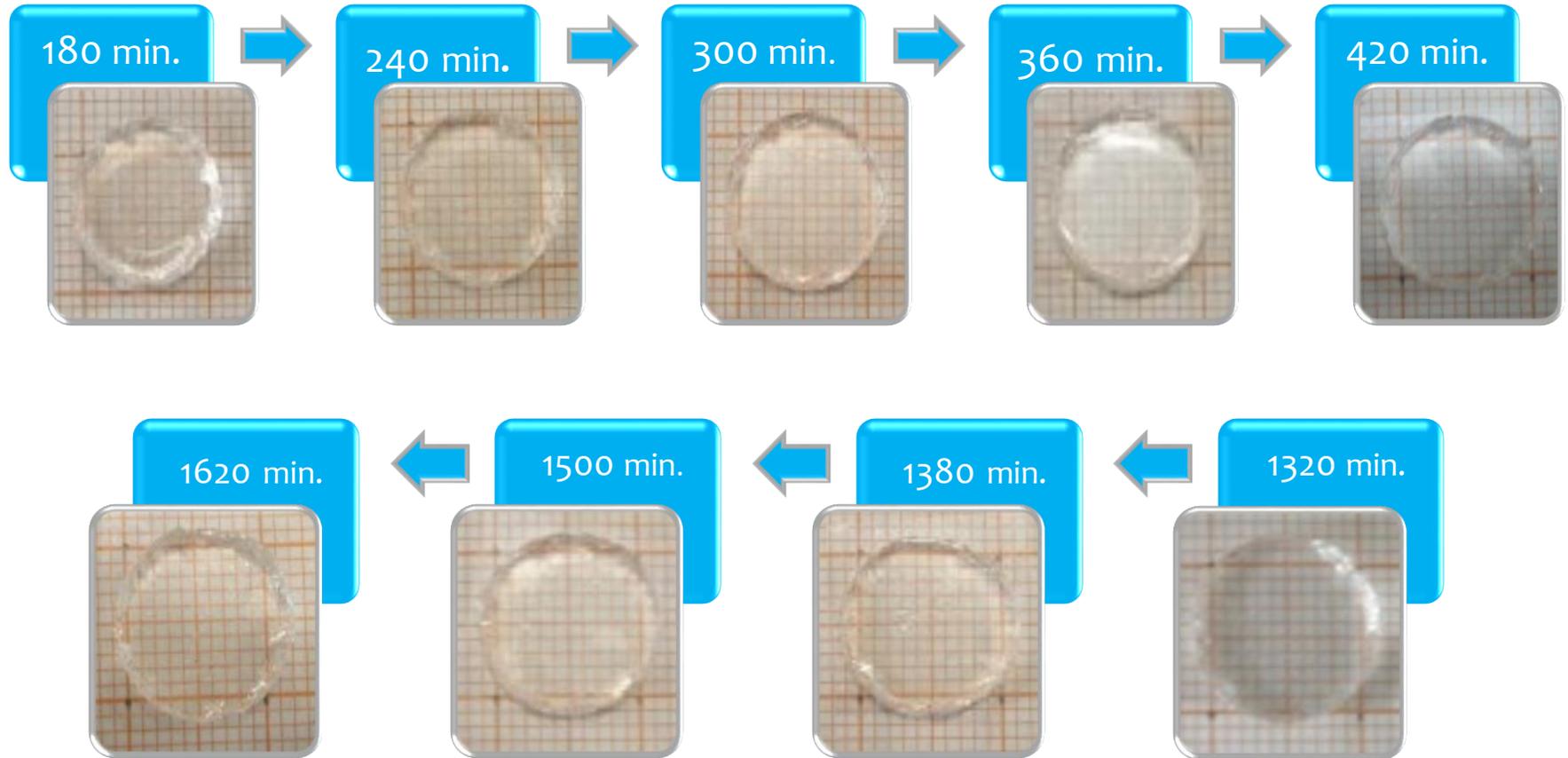


Figura A8
Cinética de Hinchamiento a pH 4.5 con 0.5% de entrecruzante

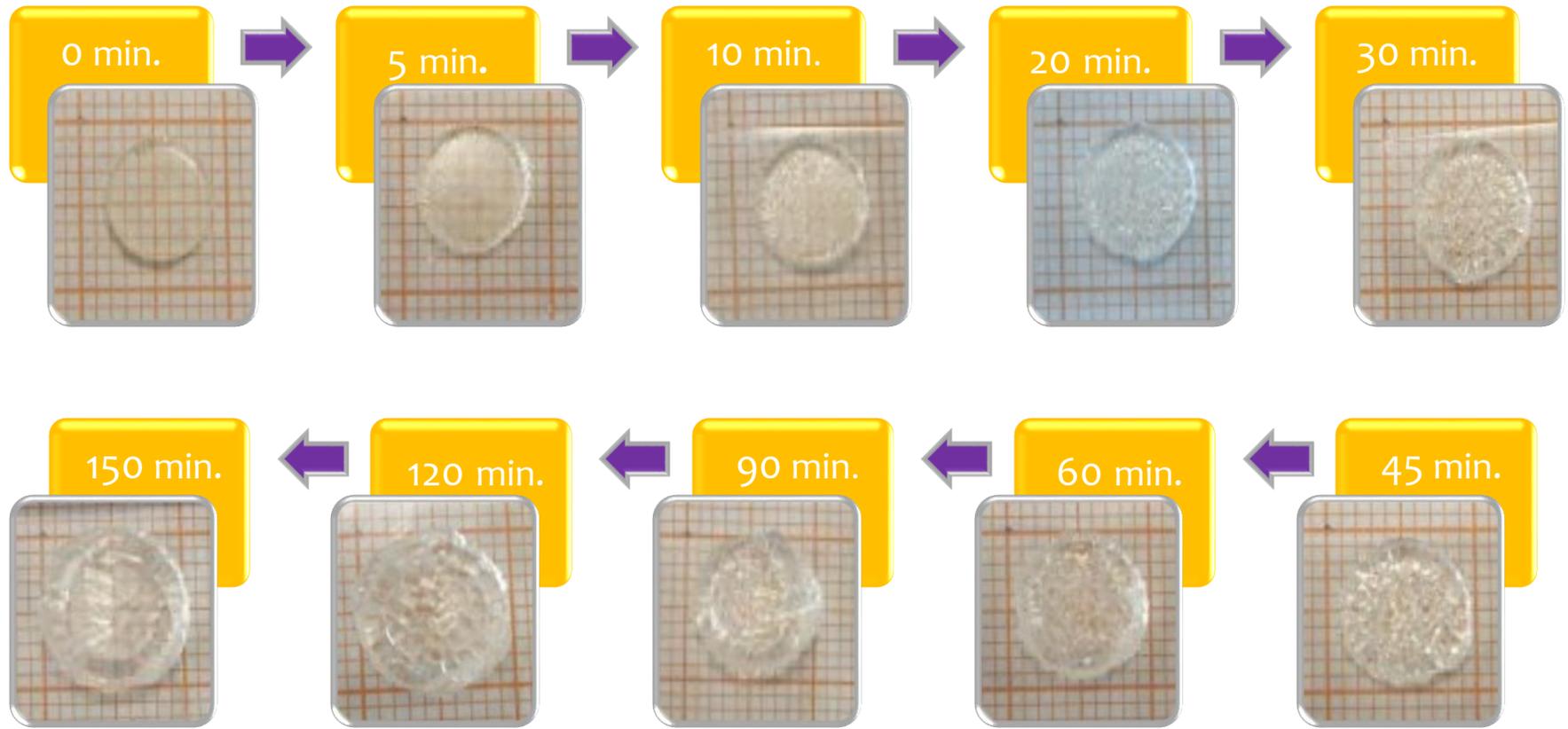


Figura A9
Cinética de Hinchamiento a pH 5.0 con 0.5% de entrecruzante

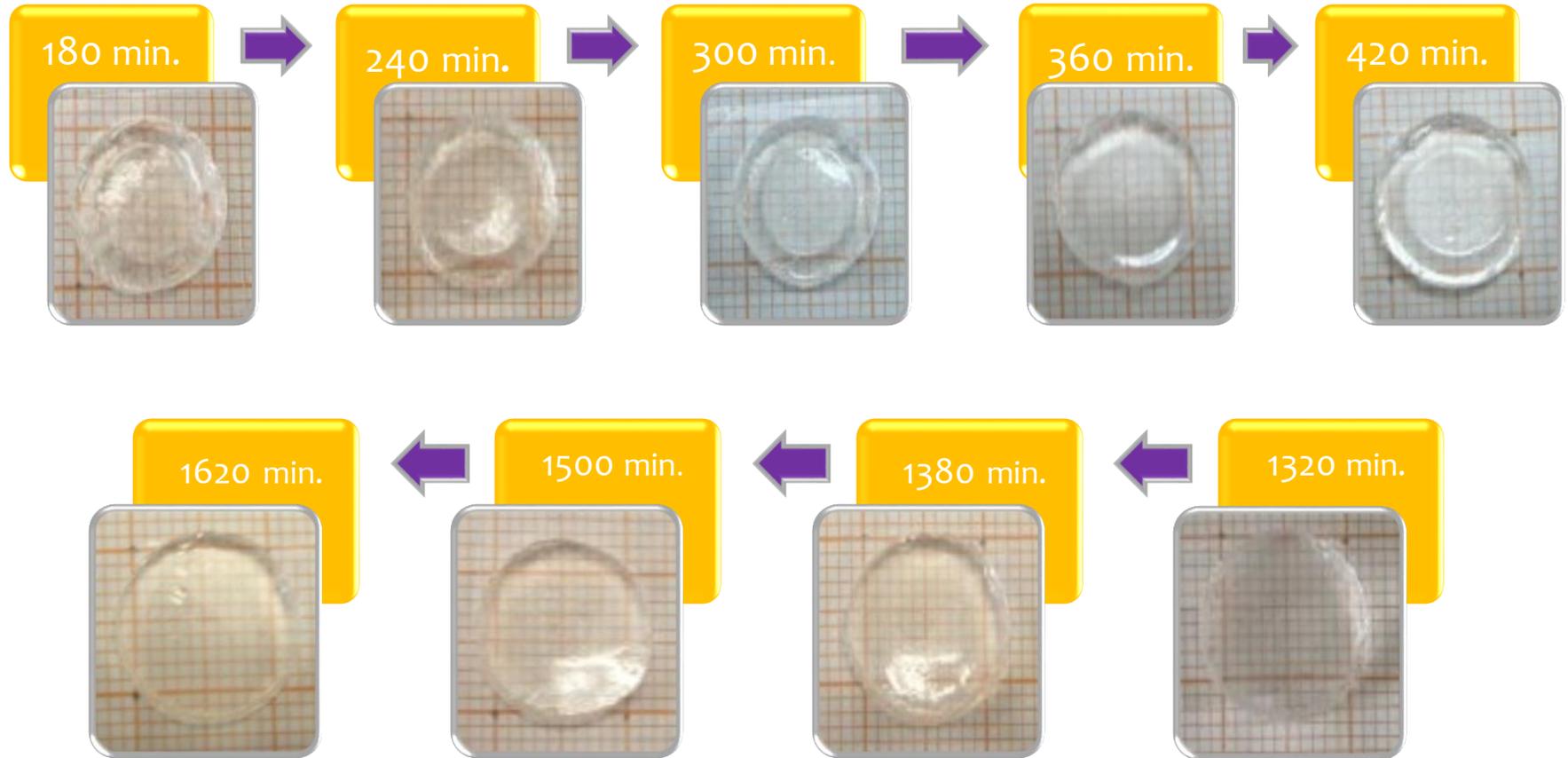


Figura A10
Cinética de Hinchamiento a pH 5.0 con 0.5% de entrecruzante

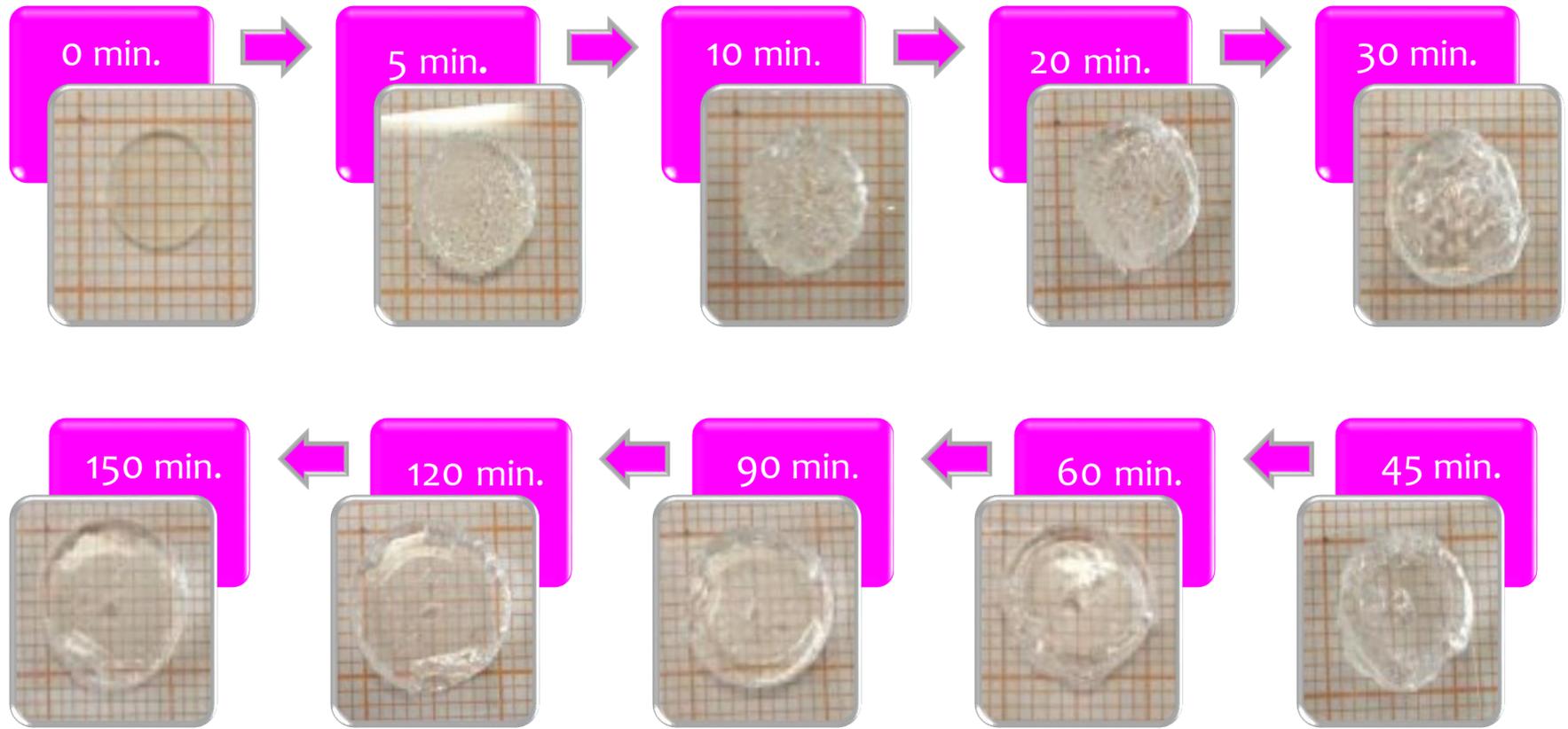


Figura A11
Cinética de Hinchamiento a pH 5.5 con 0.5% de entrecruzante

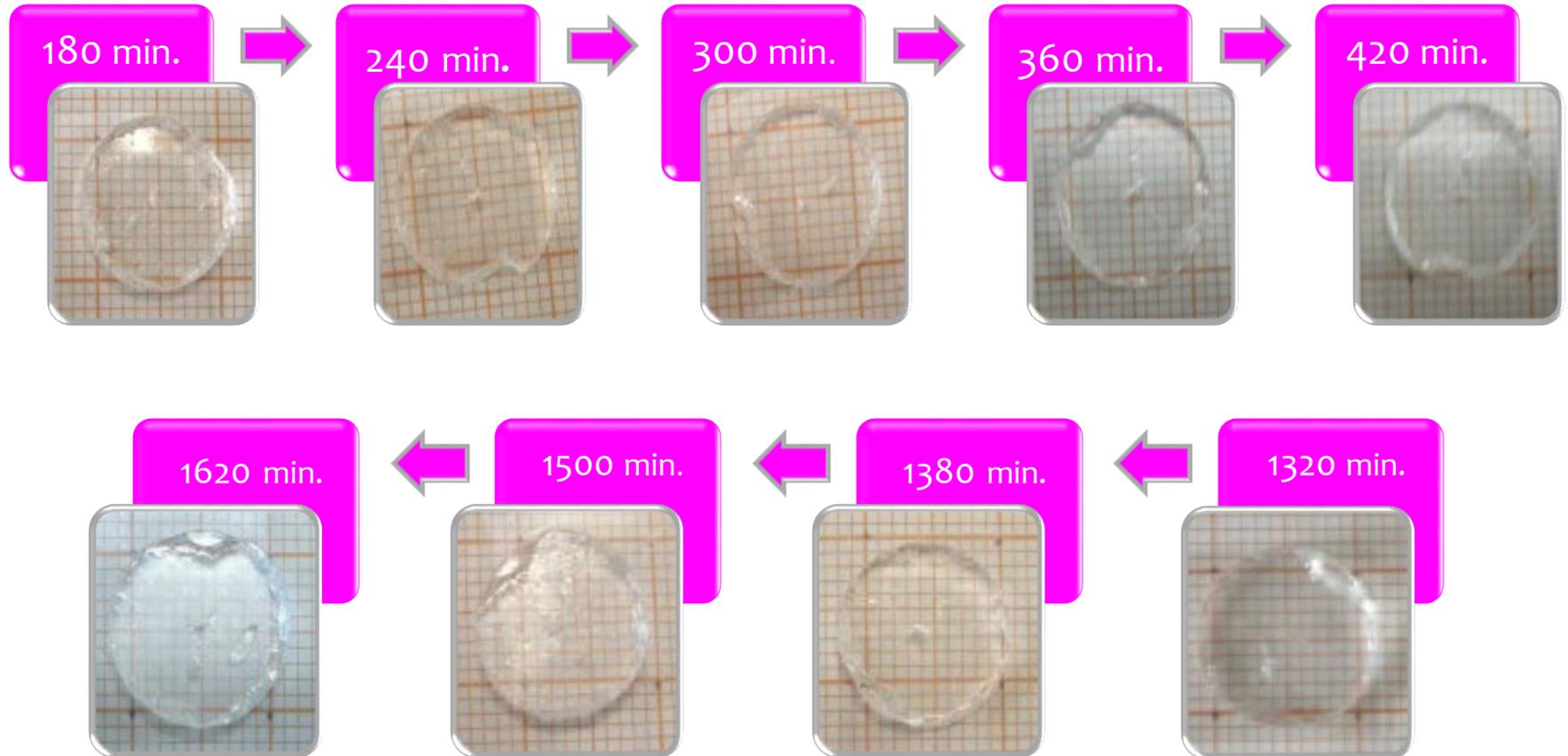


Figura A12
Cinética de Hinchamiento a pH 5.5 con 0.5% de entrecruzante



ANEXO B

BARRIDOS

Y

CURVAS DE CALIBRACIÓN



Tabla B1. Barridos de metronidazol a diferentes pH's

pH	Longitud de Onda	Absorbancia	Grafico
4.5	320	1.678	
5.0	320	1.706	
5.5	320	1.645	



Tabla B2. Resultados obtenidos para la curva de calibración de metronidazol a pH 4.5

SISTEMA	CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA			PROMEDIO DE LA ABSORBANCIA	SD	CV
		A	B	C			
1	3.00	0.230	0.240	0.241	0.23700	0.00608	2.56657
2	6.00	0.469	0.480	0.478	0.47567	0.00586	1.23184
3	9.00	0.705	0.713	0.721	0.71300	0.00800	1.12202
4	12.00	0.939	0.951	0.959	0.94967	0.01007	1.06000
5	15.00	1.177	1.182	1.185	1.18133	0.00404	0.34211
6	18.00	1.394	1.428	1.426	1.41600	0.01908	1.34737
7	21.00	1.641	1.685	1.662	1.66267	0.02201	1.32363



Tabla B3. Resultados obtenidos para la curva de calibración de metronidazol a pH 5.0

SISTEMA	CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA			PROMEDIO DE LA ABSORBANCIA	SD	CV
		A	B	C			
1	3.3	0.219	0.225	0.218	0.22067	0.00379	1.71568
2	6.6	0.433	0.448	0.442	0.44100	0.00755	1.71198
3	9.9	0.660	0.659	0.648	0.65567	0.00666	1.01551
4	13.2	0.865	0.881	0.854	0.86667	0.01358	1.56657
5	16.5	1.097	1.096	1.057	1.08333	0.02281	2.10561
6	19.8	1.300	1.301	1.291	1.29733	0.00551	0.42453
7	23.1	1.511	1.476	1.488	1.49167	0.01779	1.19234



Tabla B4. Resultados obtenidos para la curva de calibración de metronidazol a pH 5.5

SISTEMA	CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA			PROMEDIO DE LA ABSORBANCIA	SD	CV
		A	B	C			
1	3.2	0.175	0.174	0.160	0.16967	0.00839	4.94293
2	6.4	0.336	0.344	0.343	0.34100	0.00436	1.27827
3	9.6	0.524	0.521	0.514	0.51967	0.00513	0.98748
4	12.8	0.691	0.684	0.692	0.68900	0.00436	0.63264
5	16.0	0.852	0.864	0.862	0.85933	0.00643	0.74815
6	19.2	1.015	1.029	1.025	1.02300	0.00721	0.70490
7	22.4	1.200	1.156	1.208	1.18800	0.02800	2.35690



ANEXO C

CINÉTICA DE LIBERACIÓN



Tabla C1. Primer cinética de liberación de metronidazol a pH 4.5 con 0.5% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.114	1.428	42.852	42.852	8.995	2.236	0.090	1.609	-2.408
10	0.211	2.658	79.734	84.019	17.637	3.162	0.176	2.303	-1.735
20	0.491	6.207	186.198	194.171	40.760	4.472	0.408	2.996	-0.897
30	0.645	8.158	244.753	263.373	55.287	5.477	0.553	3.401	-0.593
40	0.784	9.920	297.605	322.080	67.610	6.325	0.676	3.689	-0.391
50	0.815	10.313	309.392	339.152	71.194	7.071	0.712	3.912	-0.340
60	0.804	10.174	305.209	336.148	70.564	7.746	0.706	4.094	-0.349
70	0.881	11.150	334.487	365.008	76.622	8.367	0.766	4.248	-0.266
80	0.984	12.455	373.650	407.099	85.457	8.944	0.855	4.382	-0.157
90	0.993	12.569	377.072	414.437	86.998	9.487	0.870	4.500	-0.139
105	1.004	12.708	381.255	418.962	87.948	10.247	0.879	4.654	-0.128
120	1.046	13.241	397.224	435.350	91.388	10.954	0.914	4.787	-0.090
150	1.133	14.343	430.304	470.027	98.667	12.247	0.987	5.011	-0.013
180	1.141	14.445	433.346	476.376	100.000	13.416	1.000	5.193	0.000
210	1.071	13.558	406.730	450.065	94.477	14.491	0.945	5.347	-0.057
240	0.996	12.607	378.213	418.886	87.932	15.492	0.879	5.481	-0.129
300	0.913	11.555	346.654	384.475	80.708	17.321	0.807	5.704	-0.214
360	0.843	10.668	320.038	354.703	74.459	18.974	0.745	5.886	0.295



Tabla C2. Primer cinética de liberación de metronidazol a pH 4.5 con 1.0% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.248	3.127	93.802	93.802	21.679	2.236	0.217	1.609	-1.529
10	0.384	4.850	145.513	154.894	35.798	3.162	0.358	2.303	-1.027
20	0.516	6.523	195.703	210.255	48.593	4.472	0.486	2.996	-0.722
30	0.580	7.335	220.038	239.608	55.377	5.477	0.554	3.401	-0.591
40	0.679	8.589	257.681	279.684	64.639	6.325	0.647	3.689	-0.436
50	0.746	9.439	283.156	308.924	71.396	7.071	0.714	3.912	-0.337
60	0.795	10.060	301.787	330.103	76.291	7.746	0.763	4.094	-0.271
70	0.823	10.414	312.433	342.612	79.182	8.367	0.792	4.248	-0.233
80	0.829	10.490	314.715	345.958	79.956	8.944	0.800	4.382	-0.224
90	0.843	10.668	320.038	351.510	81.239	9.487	0.812	4.500	-0.208
105	0.919	11.631	348.935	380.939	88.040	10.247	0.880	4.654	-0.127
120	0.899	11.378	341.331	376.224	86.950	10.954	0.870	4.787	-0.140
150	1.025	12.975	389.240	423.373	97.847	12.247	0.978	5.011	-0.022
180	1.034	13.089	392.662	431.586	99.745	13.416	0.997	5.193	-0.003
210	1.036	13.114	393.422	432.688	100.000	14.491	1.000	5.347	0.000
240	0.958	12.125	363.764	403.106	93.163	15.492	0.932	5.481	-0.071
300	0.977	12.366	370.989	407.365	94.147	17.321	0.941	5.704	-0.060
360	0.934	11.821	354.639	391.738	90.536	18.974	0.905	5.886	-0.099



Tabla C3. Segunda cinética de liberación de metronidazol a pH 4.5 con 0.5% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.166	2.087	62.624	62.624	14.968	2.236	0.150	1.609	-1.899
10	0.288	3.634	109.011	115.274	27.552	3.162	0.276	2.303	-1.289
20	0.422	5.332	159.962	170.863	40.838	4.472	0.408	2.996	-0.896
30	0.589	7.449	223.460	239.456	57.233	5.477	0.572	3.401	-0.558
40	0.733	9.274	278.213	300.559	71.837	6.325	0.718	3.689	-0.331
50	0.783	9.907	297.224	325.046	77.689	7.071	0.777	3.912	-0.252
60	0.842	10.655	319.658	349.380	83.506	7.746	0.835	4.094	-0.180
70	0.845	10.693	320.798	352.764	84.314	8.367	0.843	4.248	-0.171
80	0.897	11.352	340.570	372.650	89.067	8.944	0.891	4.382	-0.116
90	0.956	12.100	363.004	397.061	94.902	9.487	0.949	4.500	-0.052
105	0.978	12.379	371.369	407.669	97.437	10.247	0.974	4.654	-0.026
120	1.004	12.708	381.255	418.392	100.000	10.954	1.000	4.787	0.000
150	0.996	12.607	378.213	416.338	99.509	12.247	0.995	5.011	-0.005
180	0.978	12.379	371.369	409.190	97.801	13.416	0.978	5.193	-0.022
210	0.922	11.669	650.076	387.213	92.548	14.491	0.925	5.347	-0.077
240	0.870	11.010	330.304	365.312	87.313	15.492	0.873	5.481	-0.136
300	0.814	10.300	309.011	342.042	81.752	17.321	0.818	5.704	-0.201
360	0.750	9.489	284.677	315.578	75.426	18.974	0.754	5.886	-0.282



Tabla C4. Segunda cinética de liberación de metronidazol a pH 4.5 con 1.0% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.188	2.366	70.989	70.989	16.998	2.236	0.170	1.609	-1.772
10	0.246	3.101	93.042	100.141	23.978	3.162	0.240	2.303	-1.428
20	0.412	5.205	156.160	165.464	39.620	4.472	0.396	2.996	-0.926
30	0.562	7.106	213.194	228.810	54.788	5.477	0.548	3.401	-0.602
40	0.735	9.299	278.973	300.293	71.904	6.325	0.719	3.689	-0.330
50	0.727	9.198	275.932	303.829	72.751	7.071	0.728	3.912	-0.318
60	0.777	9.831	294.943	322.536	77.230	7.746	0.772	4.094	-0.258
70	0.806	10.199	305.970	335.464	80.325	8.367	0.803	4.248	-0.219
80	0.860	10.883	326.502	357.099	85.506	8.944	0.855	4.382	-0.157
90	0.853	10.795	323.840	356.490	85.360	9.487	0.854	4.500	-0.158
105	0.905	11.454	343.612	375.996	90.031	10.247	0.900	4.654	-0.105
120	0.918	11.619	348.555	382.916	91.688	10.954	0.917	4.787	-0.087
150	1.008	12.759	382.776	417.631	100.000	12.247	1.000	5.011	0.000
180	0.985	12.468	374.030	412.308	98.725	13.416	0.987	5.193	-0.013
210	0.953	12.062	361.863	399.266	95.603	14.491	0.956	5.347	-0.045
240	0.902	11.416	342.471	378.658	90.668	15.492	0.907	5.481	-0.098
300	0.854	10.807	324.221	358.468	85.834	17.321	0.858	5.704	-0.153
360	0.748	9.464	283.916	316.338	75.746	18.974	0.758	5.886	-0.278



Tabla C5. Tercer cinética de liberación de metronidazol a pH 4.5 con 0.5% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.125	1.568	47.034	47.034	9.595	2.236	0.096	1.609	-2.344
10	0.284	3.583	107.490	112.194	22.888	3.162	0.229	2.303	-1.475
20	0.551	6.967	209.011	219.760	44.833	4.472	0.448	2.996	-0.802
30	0.690	8.729	261.863	282.764	57.686	5.477	0.577	3.401	-0.550
40	0.742	9.388	281.635	307.821	62.798	6.325	0.628	3.689	-0.465
50	0.794	10.047	301.407	329.570	67.235	7.071	0.672	3.912	-0.397
60	0.872	11.035	331.065	361.205	73.688	7.746	0.737	4.094	-0.305
70	0.912	11.542	346.274	379.380	77.396	8.367	0.774	4.248	-0.256
80	0.950	12.024	360.722	395.350	80.654	8.944	0.807	4.382	-0.215
90	0.958	12.125	363.764	399.837	81.570	9.487	0.816	4.500	-0.204
105	1.034	13.089	392.662	429.038	87.527	10.247	0.875	4.654	-0.133
120	1.029	13.025	390.760	460.027	87.729	10.954	0.877	4.787	-0.131
150	1.146	14.508	435.247	474.323	96.765	12.247	0.968	5.011	-0.033
180	1.176	14.888	446.654	490.179	100.000	13.416	1.000	5.193	0.000
210	1.105	13.898	419.658	464.323	94.725	14.491	0.947	5.347	-0.054
240	1.042	13.190	395.703	437.669	89.288	15.492	0.893	5.481	-0.113
300	0.981	12.417	372.510	412.080	84.067	17.321	0.841	5.704	-0.174
360	0.914	11.568	347.034	384.285	78.397	18.974	0.784	5.886	-0.243



Tabla C6. Tercer cinética de liberación de metronidazol a pH 4.5 con 1.0% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.144	1.809	54.259	54.259	12.368	2.236	0.124	1.609	-2.090
10	0.321	4.052	121.559	126.985	28.946	3.162	0.289	2.303	-1.240
20	0.530	6.701	201.027	213.183	48.595	4.472	0.486	2.996	-0.722
30	0.637	8.057	241.711	261.814	59.680	5.477	0.597	3.401	-0.516
40	0.707	8.944	268.327	292.498	66.674	6.325	0.667	3.689	-0.405
50	0.754	9.540	286.198	313.030	71.355	7.071	0.714	3.912	-0.338
60	0.825	10.440	313.194	341.814	77.916	7.746	0.779	4.094	-0.250
70	0.888	11.238	337.148	368.468	83.992	8.367	0.840	4.248	-0.174
80	0.920	11.644	349.316	383.030	87.311	8.944	0.873	4.382	-0.136
90	0.855	10.820	324.601	359.532	81.955	9.487	0.820	4.500	-0.199
105	0.928	11.745	352.357	384.817	87.719	10.247	0.877	4.654	-0.131
120	0.942	11.923	357.681	392.916	89.565	10.954	0.896	4.787	-0.110
150	1.061	13.431	402.928	438.696	100.000	12.247	1.000	5.011	0.000
180	1.044	13.215	396.464	436.757	99.558	13.416	0.996	5.193	-0.004
210	0.979	12.392	371.749	411.395	93.777	14.491	0.938	5.347	-0.064
240	0.914	11.568	347.034	384.209	87.580	15.492	0.876	5.481	-0.133
300	0.882	11.162	334.867	369.570	84.243	17.321	0.842	5.704	-0.171
360	0.818	10.351	310.532	344.019	78.419	18.974	0.784	5.886	-0.243

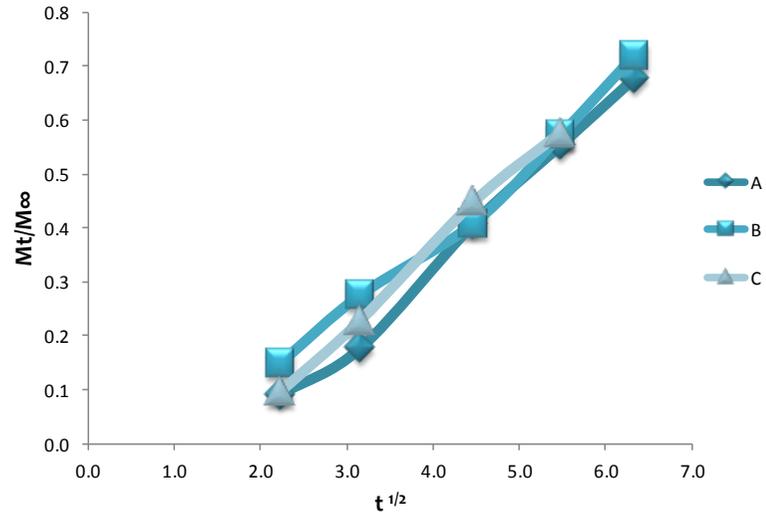


Gráfico C1. Modelo de Higuchi a pH 4.5 con 0.5% de entrecruzante

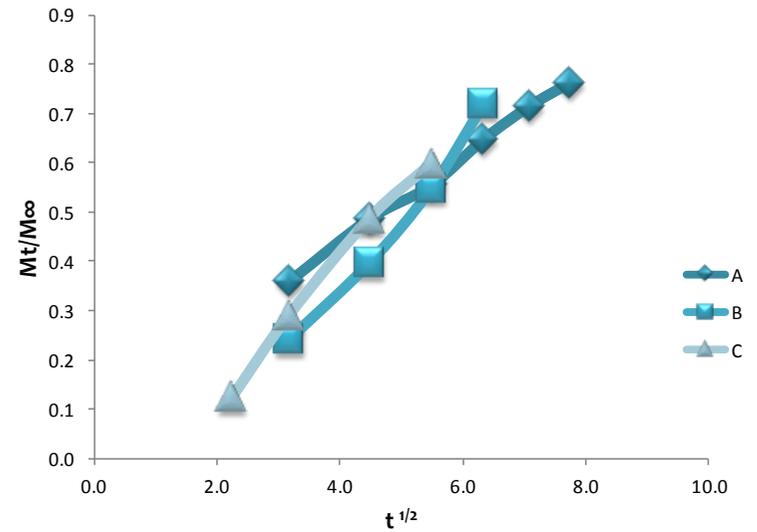


Gráfico C2. Modelo de Higuchi a pH 4.5 con 1.0% de entrecruzante

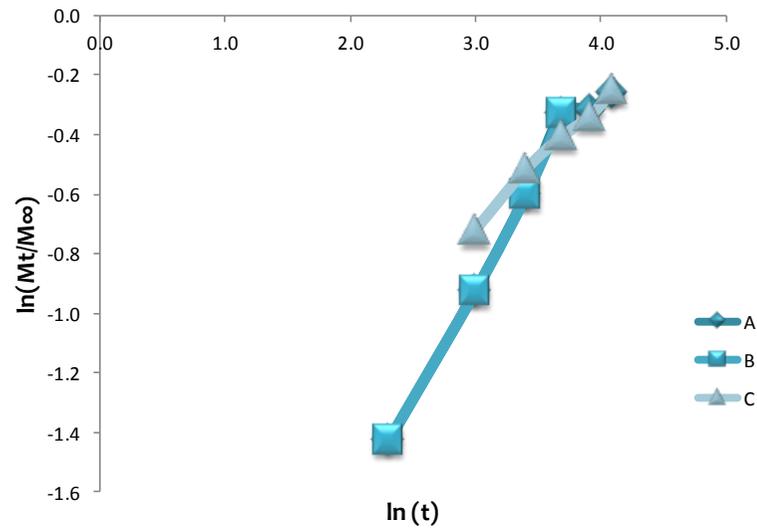


Gráfico C4. Modelo de Peppas a pH 4.5 con 1.0% de entrecruzante

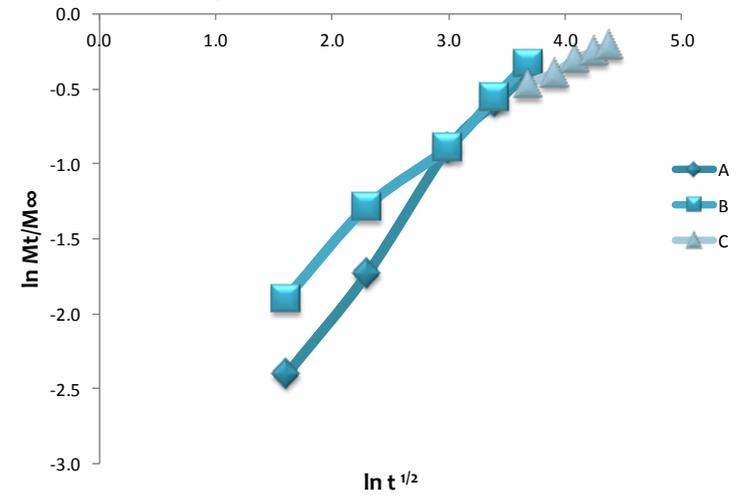


Gráfico C3. Modelo de Peppas a pH 4.5 con 0.5% de entrecruzante



Tabla C7. Primer cinética de liberación de metronidazol a pH 5.0 con 0.5% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.163	2.303	69.084	69.084	13.337	2.236	0.133	1.609	-2.015
10	0.380	5.672	170.171	177.079	34.187	3.162	0.342	2.303	-1.073
20	0.439	6.589	197.655	214.672	41.444	4.472	0.414	2.996	-0.881
30	0.585	8.856	265.668	285.433	55.105	5.477	0.551	3.401	-0.596
40	0.614	9.306	279.177	305.744	59.026	6.325	0.590	3.689	-0.527
50	0.653	9.911	297.345	325.262	62.794	7.071	0.628	3.912	-0.465
60	0.768	11.697	350.916	380.651	73.488	7.746	0.735	4.094	-0.308
70	0.729	11.092	332.748	367.840	71.014	8.367	0.710	4.248	-0.342
80	0.757	11.526	345.792	379.067	73.182	8.944	0.732	4.382	-0.312
90	0.779	11.868	356.040	390.620	75.412	9.487	0.754	4.500	-0.228
105	0.879	13.421	402.624	438.228	84.603	10.247	0.846	4.654	-0.167
120	0.901	13.762	412.873	453.135	87.481	10.954	0.875	4.787	-0.134
150	1.021	15.626	768.773	510.061	98.471	12.247	0.985	5.011	-0.015
180	1.026	15.703	471.102	517.980	100.000	13.416	1.000	5.193	0.000
210	1.003	15.346	460.388	507.498	97.976	14.491	0.980	5.347	-0.020
240	0.926	14.151	424.519	470.557	90.845	15.492	0.908	5.481	-0.096
300	0.868	13.250	397.500	439.952	84.936	17.321	0.849	5.704	-0.163
360	0.781	11.899	356.972	396.722	76.590	18.974	0.766	5.886	-0.267



Tabla C8. Primer cinética de liberación de metronidazol a pH 5.0 con 1.0% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.204	2.939	88.183	88.183	15.741	2.236	0.157	1.609	-1.849
10	0.291	4.290	128.711	137.530	24.549	3.162	0.245	2.303	-1.405
20	0.442	6.635	199.053	211.924	37.828	4.472	0.378	2.996	-0.972
30	0.584	8.840	265.202	285.107	50.891	5.477	0.509	3.401	-0.675
40	0.662	10.051	301.537	328.057	58.557	6.325	0.586	3.689	-0.535
50	0.752	11.449	343.463	373.616	66.690	7.071	0.667	3.912	-0.405
60	0.756	11.511	345.326	379.672	67.771	7.746	0.678	4.094	-0.389
70	0.775	11.806	354.177	388.710	69.384	8.367	0.694	4.248	-0.366
80	0.808	12.318	369.550	404.967	72.286	8.944	0.723	4.382	-0.325
90	0.809	12.334	370.016	406.970	72.643	9.487	0.726	4.500	-0.320
105	0.907	13.856	415.668	452.669	80.800	10.247	0.808	4.654	-0.213
120	0.909	13.887	416.599	458.166	81.782	10.954	0.818	4.787	-0.201
150	1.096	16.790	503.711	545.371	97.347	12.247	0.973	5.011	-0.027
180	1.098	16.821	504.643	555.014	99.069	13.416	0.991	5.193	-0.009
210	1.109	16.992	509.767	560.231	100.000	14.491	1.000	5.347	0.000
240	1.059	16.216	486.475	537.452	95.934	15.492	0.959	5.481	-0.042
300	1.011	15.470	464.115	512.762	91.527	17.321	0.915	5.704	-0.089
360	0.934	14.275	428.245	474.657	84.725	18.974	0.847	5.886	-0.166



Tabla C9. Segunda cinética de liberación de metronidazol a pH 5.0 con 0.5% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.197	2.831	84.922	84.922	15.461	2.236	0.155	1.609	-1.867
10	0.286	4.213	126.382	134.874	24.555	3.162	0.246	2.303	-1.404
20	0.443	6.651	199.519	212.157	38.624	4.472	0.386	2.996	-0.951
30	0.531	8.017	240.512	260.464	47.419	5.477	0.474	3.401	-0.746
40	0.630	9.554	286.630	310.682	56.561	6.325	0.566	3.689	-0.570
50	0.694	10.548	316.444	345.107	62.829	7.071	0.628	3.912	-0.464
60	0.717	10.905	327.158	358.803	65.322	7.746	0.653	4.094	-0.426
70	0.746	11.356	340.668	373.384	67.976	8.367	0.680	4.248	-0.386
80	0.793	12.085	362.562	396.629	72.208	8.944	0.722	4.382	-0.326
90	0.788	12.008	360.233	396.489	72.183	9.487	0.722	4.500	-0.326
105	0.856	13.064	391.910	427.933	77.907	10.247	0.779	4.654	-0.250
120	0.907	13.856	415.668	454.859	82.809	10.954	0.828	4.787	-0.189
150	1.043	15.967	479.022	520.589	94.776	12.247	0.948	5.011	-0.054
180	1.091	16.713	501.382	549.284	100.000	13.416	1.000	5.193	0.000
210	1.059	16.216	486.475	536.613	97.693	14.491	0.977	5.347	-0.023
240	1.021	15.626	468.773	517.421	94.199	15.492	0.942	5.481	-0.060
300	0.956	14.616	438.494	485.371	88.364	17.321	0.884	5.704	-0.124
360	0.876	13.374	401.227	445.076	81.028	18.974	0.810	5.886	-0.210



Tabla C10. Segunda cinética de liberación de metronidazol a pH 5.0 con 1.0% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.149	2.085	62.562	62.562	10.942	2.236	0.109	1.609	-2.213
10	0.332	4.927	147.811	154.067	26.945	3.162	0.269	2.303	-1.311
20	0.433	6.495	194.860	209.641	36.664	4.472	0.367	2.996	-1.003
30	0.567	8.576	257.283	276.769	48.404	5.477	0.484	3.401	-0.726
40	0.626	9.492	284.767	310.495	54.303	6.325	0.543	3.689	-0.611
50	0.65	9.865	295.947	324.424	56.739	7.071	0.567	3.912	-0.567
60	0.71	10.797	323.898	353.492	61.823	7.746	0.618	4.094	-0.481
70	0.731	11.123	333.680	366.070	64.022	8.367	0.640	4.248	-0.446
80	0.766	11.666	349.984	383.352	67.045	8.944	0.670	4.382	-0.400
90	0.765	11.651	349.519	384.517	67.249	9.487	0.672	4.500	-0.397
105	0.909	13.887	416.599	451.551	78.972	10.247	0.790	4.654	-0.236
120	0.950	14.523	435.699	477.359	83.486	10.954	0.835	4.787	-0.180
150	1.086	16.635	499.053	542.623	94.900	12.247	0.949	5.011	-0.052
180	1.135	17.396	521.879	571.784	100.000	13.416	1.000	5.193	0.000
210	1.116	17.101	513.028	565.216	98.851	14.491	0.989	5.347	-0.012
240	1.04	15.921	477.624	528.927	92.505	15.492	0.925	5.481	-0.078
300	0.982	15.020	450.606	498.368	87.160	17.321	0.872	5.704	-0.137
360	0.876	13.374	401.227	446.287	78.052	18.974	0.781	5.886	-0.248



Tabla C11. Tercer cinética de liberación de metronidazol a pH 5.0 con 0.5% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.102	1.356	4.668	40.668	6.982	2.236	0.070	1.609	-2.550
10	0.270	3.964	118.929	122.995	21.117	3.162	0.211	2.303	-1.519
20	0.477	7.179	251.357	227.250	39.016	4.472	0.390	2.996	-0.926
30	0.592	8.964	268.929	290.464	49.869	5.477	0.499	3.401	-0.686
40	0.664	10.082	302.469	329.362	56.547	6.325	0.570	3.689	-0.563
50	0.772	11.759	352.780	383.026	65.761	7.071	0.661	3.912	-0.414
60	0.710	10.797	323.898	359.175	61.666	7.746	0.620	4.094	-0.477
70	0.750	11.418	342.531	374.921	64.369	8.367	0.647	4.248	-0.435
80	0.781	11.899	356.972	391.225	67.169	8.944	0.675	4.382	-0.393
90	0.785	11.961	358.835	394.533	67.737	9.487	0.681	4.500	-0.385
105	0.839	12.800	383.991	419.874	72.087	10.247	0.724	4.654	-0.323
120	0.885	13.514	405.419	443.818	76.198	10.954	0.764	4.787	-0.269
150	1.024	15.672	470.171	510.713	87.683	12.247	0.878	5.011	-0.130
180	1.135	17.396	521.879	568.896	97.673	13.416	0.977	5.193	-0.023
210	1.153	17.675	530.264	582.452	100.000	14.491	1.000	5.347	0.000
240	1.126	17.256	517.686	570.713	97.985	15.492	0.980	5.481	-0.020
300	1.092	16.728	501.848	553.616	95.049	17.321	0.951	5.704	-0.050
360	1.003	15.346	460.388	510.573	87.659	18.974	0.878	5.886	-0.130



Tabla C12. Tercer cinética de liberación de metronidazol a pH 5.0 con 1.0% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.169	2.396	71.879	71.879	13.314	2.236	0.133	1.609	-2.016
10	0.296	4.368	131.040	138.228	25.604	3.162	0.256	2.303	-1.362
20	0.394	5.890	176.693	189.797	35.156	4.472	0.352	2.996	-1.045
30	0.553	8.359	250.761	268.430	49.721	5.477	0.497	3.401	-0.699
40	0.665	10.098	302.935	328.011	60.757	6.325	0.608	3.689	-0.498
50	0.717	10.905	327.158	357.452	66.210	7.071	0.662	3.912	-0.412
60	0.710	10.797	323.898	356.613	66.055	7.746	0.661	4.094	-0.415
70	0.734	11.169	335.078	367.467	68.065	8.367	0.681	4.248	-0.385
80	0.777	11.837	355.109	388.616	71.983	8.944	0.720	4.382	-0.329
90	0.781	11.899	356.972	392.483	72.699	9.487	0.727	4.500	-0.319
105	0.839	12.800	383.991	419.688	77.738	10.247	0.777	4.654	-0.252
120	0.881	13.452	403.556	441.955	81.863	10.954	0.819	4.787	-0.200
150	1.021	15.626	468.773	509.129	94.305	12.247	0.943	5.011	-0.059
180	1.073	16.433	492.997	539.874	100.000	13.416	1.000	5.193	0.000
210	1.041	15.936	478.090	527.390	97.688	14.491	0.977	5.347	-0.023
240	0.980	14.989	449.674	497.483	92.148	15.492	0.921	5.481	-0.082
300	0.943	14.415	432.438	477.405	88.429	17.321	0.884	5.704	-0.123
360	0.876	13.374	401.227	444.470	82.329	18.974	0.823	5.886	-0.194

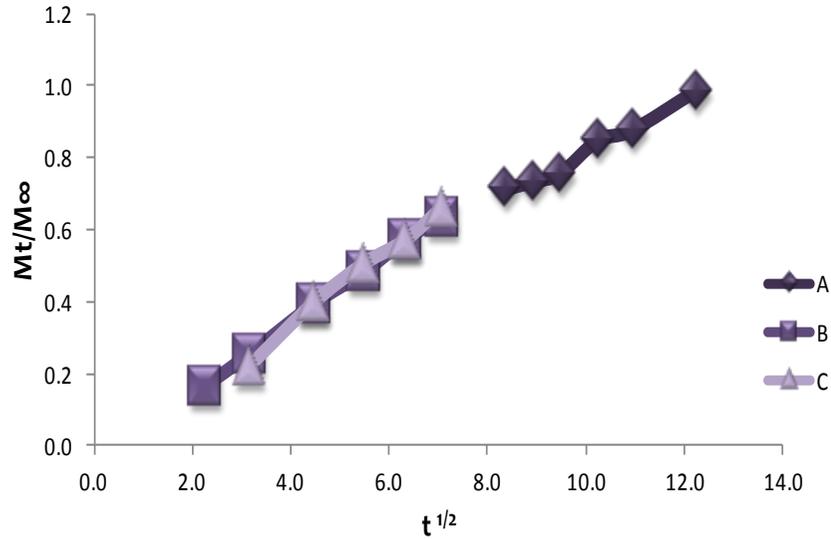


Gráfico C5. Modelo de Higuchi a pH 5.0 con 0.5% de entrecruzante

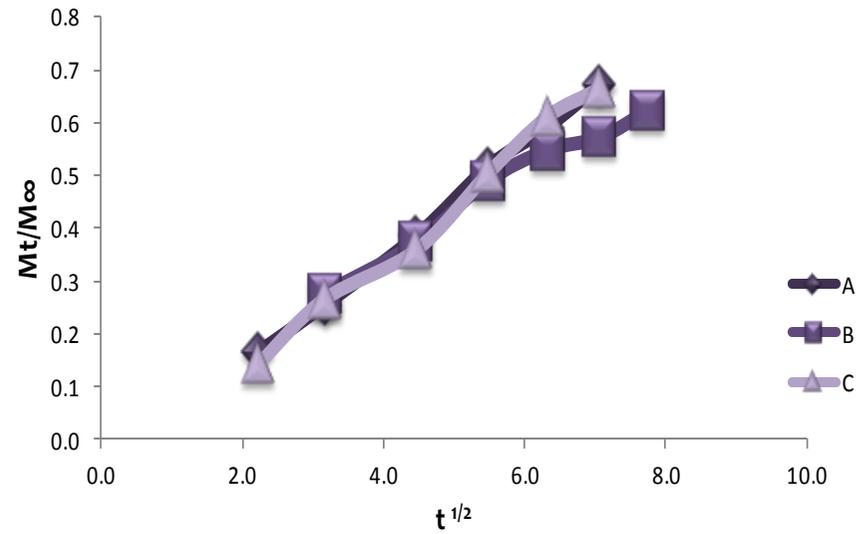


Gráfico C6. Modelo de Higuchi a pH 5.0 con 1.0% de entrecruzante

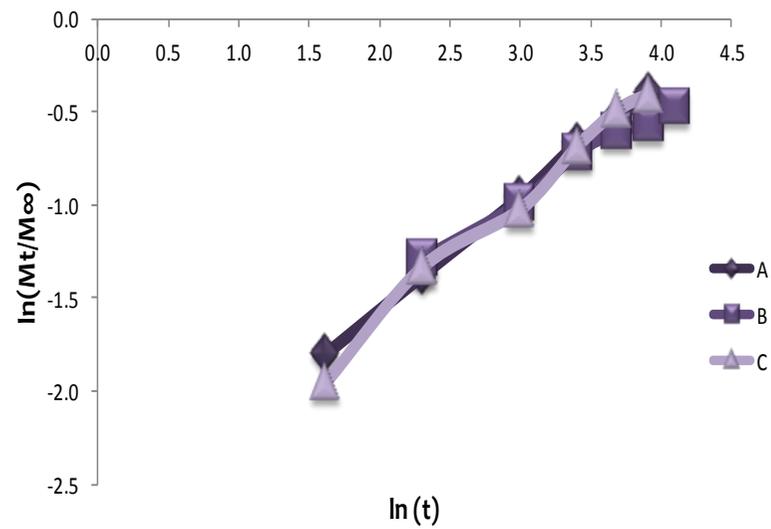


Gráfico C8. Modelo de Peppas a pH 5.0 con 1.0% de entrecruzante

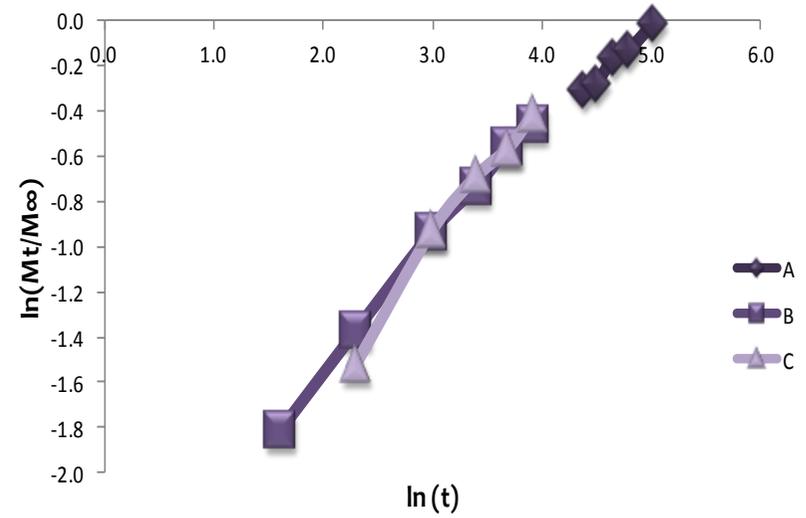


Gráfico C7. Modelo de Peppas a pH 5.0 con 0.5% de entrecruzante



Tabla C13. Primer cinética de liberación de metronidazol a pH 5.5 con 0.5% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.150	2.742	82.260	82.260	12.383	2.236	0.124	1.609	-2.089
10	0.314	5.831	174.915	183.141	27.570	3.162	0.276	2.303	-1.289
20	0.472	8.806	264.181	281.672	42.403	4.472	0.424	2.996	-0.858
30	0.584	10.915	327.458	353.876	53.273	5.477	0.533	3.401	-0.630
40	0.662	12.384	371.525	404.271	60.859	6.325	0.609	3.689	-0.497
50	0.745	13.947	418.418	455.571	68.582	7.071	0.686	3.912	-0.377
60	0.804	15.058	451.751	493.593	74.306	7.746	0.743	4.094	-0.297
70	0.815	15.266	457.966	503.141	75.743	8.367	0.757	4.248	-0.278
80	0.863	16.169	485.085	530.881	79.919	8.944	0.799	4.382	-0.224
90	0.883	16.546	496.384	544.893	82.029	9.487	0.820	4.500	-0.198
105	0.927	17.375	521.243	570.881	85.941	10.247	0.859	4.654	-0.152
120	1.000	18.750	562.486	614.610	92.524	10.954	0.925	4.787	-0.078
150	1.056	19.804	594.124	650.373	97.908	12.247	0.979	5.011	-0.021
180	1.075	20.162	604.859	664.271	100.000	13.416	1.000	5.193	0.000
210	1.030	19.315	579.435	639.921	96.334	14.491	0.963	5.347	-0.037
240	0.968	18.147	544.407	602.350	90.678	15.492	0.907	5.481	-0.098
300	0.900	16.866	505.989	560.429	84.368	17.321	0.844	5.704	-0.170
360	0.853	15.981	479.435	530.034	79.792	18.974	0.798	5.886	-0.226



Tabla C14. Primer cinética de liberación de metronidazol a pH 5.5 con 1.0% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.109	1.970	59.096	59.096	9.049	2.236	0.090	1.609	-2.403
10	0.282	5.228	156.836	162.746	24.920	3.162	0.249	2.303	-1.390
20	0.414	7.714	231.412	247.096	37.835	4.472	0.378	2.996	-0.972
30	0.593	11.085	332.542	355.684	54.462	5.477	0.545	3.401	-0.608
40	0.738	13.815	414.463	447.718	68.554	6.325	0.686	3.689	-0.378
50	0.784	14.682	440.452	481.898	73.788	7.071	0.738	3.912	-0.304
60	0.820	15.360	460.791	504.836	77.300	7.746	0.773	4.094	-0.257
70	0.858	16.075	482.260	528.339	80.899	8.367	0.809	4.248	-0.212
80	0.914	17.130	513.898	562.124	86.072	8.944	0.861	4.382	-0.150
90	0.849	15.906	477.175	528.565	80.934	9.487	0.809	4.500	-0.212
105	0.872	16.339	490.169	537.887	82.361	10.247	0.824	4.654	-0.194
120	0.936	17.544	526.328	575.345	88.096	10.954	0.881	4.787	-0.127
150	1.060	19.879	596.384	649.017	99.377	12.247	0.994	5.011	-0.006
180	1.048	19.653	589.605	649.243	99.412	13.416	0.994	5.193	-0.006
210	1.056	19.804	594.124	653.085	100.000	14.491	1.000	5.347	0.000
240	0.997	18.693	560.791	620.203	94.965	15.492	0.950	5.481	-0.052
300	0.995	18.655	559.661	615.740	94.282	17.321	0.943	5.704	-0.059
360	0.952	17.846	535.367	591.333	90.545	18.974	0.905	5.886	-0.099



Tabla C15. Segunda cinética de liberación de metronidazol a pH 5.5 con 0.5% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.135	2.460	73.785	73.785	12.274	2.236	0.123	1.609	-2.098
10	0.309	5.736	172.090	179.469	29.854	3.162	0.298	2.303	-1.209
20	0.598	11.179	335.367	352.576	58.649	4.472	0.586	2.996	-0.534
30	0.661	12.365	370.960	404.497	67.286	5.477	0.673	3.401	-0.396
40	0.680	12.723	381.695	418.791	69.663	6.325	0.697	3.689	-0.362
50	0.749	14.023	420.678	458.847	76.327	7.071	0.763	3.912	-0.270
60	0.806	15.096	452.881	494.949	82.332	7.746	0.823	4.094	-0.194
70	0.835	15.642	469.266	514.554	85.593	8.367	0.856	4.248	-0.156
80	0.863	16.169	485.085	532.011	88.497	8.944	0.885	4.382	-0.122
90	0.847	15.868	476.045	524.554	87.256	9.487	0.873	4.500	-0.136
105	0.880	16.490	494.689	542.294	90.207	10.247	0.902	4.654	-0.103
120	0.889	16.659	499.774	549.243	91.363	10.954	0.914	4.787	-0.090
150	0.980	18.373	551.186	601.164	100.000	12.247	1.000	5.011	0.000
180	0.952	17.846	535.367	590.486	98.224	13.416	0.982	5.193	-0.018
210	0.920	17.243	517.288	570.825	94.953	14.491	0.950	5.347	-0.052
240	0.877	16.433	492.994	544.723	90.611	15.492	0.906	5.481	-0.099
300	0.811	15.190	455.706	505.006	84.005	17.321	0.840	5.704	-0.174
360	0.742	13.891	416.723	462.294	76.900	18.974	0.769	5.886	-0.263



Tabla C16. Segunda cinética de liberación de metronidazol a pH 5.5 con 1.0% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.195	3.589	107.684	107.684	16.831	2.236	0.168	1.609	-1.782
10	0.285	5.284	158.531	169.299	26.461	3.162	0.265	2.303	-1.329
20	0.487	9.089	272.655	288.508	45.093	4.472	0.451	2.996	-0.796
30	0.650	12.158	364.746	392.011	61.270	5.477	0.613	3.401	-0.490
40	0.719	13.458	403.729	440.203	68.802	6.325	0.688	3.689	-0.374
50	0.775	14.512	435.367	475.740	74.357	7.071	0.744	3.912	-0.296
60	0.813	15.228	456.836	500.373	78.207	7.746	0.782	4.094	-0.246
70	0.829	15.529	465.876	511.559	79.955	8.367	0.800	4.248	-0.224
80	0.837	15.680	470.395	516.983	80.803	8.944	0.808	4.382	-0.213
90	0.858	16.075	482.260	529.299	82.728	9.487	0.827	4.500	-0.190
105	0.911	17.073	512.203	560.429	87.593	10.247	0.876	4.654	-0.132
120	0.890	16.678	500.339	551.559	86.207	10.954	0.862	4.787	-0.148
150	0.983	18.429	552.881	602.915	94.234	12.247	0.942	5.011	-0.059
180	1.039	19.484	584.520	639.808	100.000	13.416	1.000	5.193	0.000
210	1.030	19.315	579.435	637.887	99.700	14.491	0.997	5.347	-0.003
240	0.999	18.731	561.921	619.864	96.883	15.492	0.969	5.481	-0.032
300	0.978	18.335	550.056	606.249	94.755	17.321	0.948	5.704	-0.054
360	0.913	17.111	513.333	568.339	88.830	18.974	0.888	5.886	-0.118



Tabla C17. Tercer cinética de liberación de metronidazol a pH 5.5 con 0.5% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.151	2.761	82.825	82.825	12.606	2.236	0.126	1.609	-2.071
10	0.284	5.266	157.966	166.249	25.303	3.162	0.253	2.303	-1.374
20	0.497	9.277	278.305	294.102	44.762	4.472	0.448	2.996	-0.804
30	0.623	11.650	349.492	377.322	57.428	5.477	0.574	3.401	-0.555
40	0.730	13.665	409.944	444.893	67.712	6.325	0.677	3.689	-0.390
50	0.784	14.682	440.452	481.446	73.275	7.071	0.733	3.912	-0.311
60	0.824	15.435	463.051	507.096	77.179	7.746	0.772	4.094	-0.259
70	0.890	16.678	500.339	546.644	83.198	8.367	0.832	4.248	-0.184
80	0.889	16.659	499.774	549.808	83.680	8.944	0.837	4.382	-0.178
90	0.899	16.847	505.424	555.401	84.531	9.487	0.845	4.500	-0.168
105	0.913	17.111	513.333	563.876	85.821	10.247	0.858	4.654	-0.153
120	0.932	17.469	524.068	575.401	87.575	10.954	0.876	4.787	-0.133
150	1.048	19.653	589.605	642.011	97.713	12.247	0.977	5.011	-0.023
180	1.063	19.936	598.079	657.040	100.000	13.416	1.000	5.193	0.000
210	1.036	19.427	582.825	642.633	97.807	14.491	0.978	5.347	-0.022
240	1.007	18.881	566.441	624.723	95.082	15.492	0.951	5.481	-0.050
300	0.967	18.128	543.842	600.486	91.393	17.321	0.914	5.704	-0.090
360	0.910	17.055	511.638	566.023	86.147	18.974	0.861	5.886	-0.149



Tabla C18. Tercer cinética de liberación de metronidazol a pH 5.5 con 1.0% de entrecruzante

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD (μg)	CANTIDAD CORREGIDA	% LIBERADO	HIGUCHI		PEPPAS	
						$t^{1/2}$	M_t/M_∞	$\ln(t)$	$\ln(M_t/M_\infty)$
5	0.084	1.499	44.972	44.972	6.793	2.236	0.068	1.609	-2.689
10	0.470	8.768	263.051	267.548	40.411	3.162	0.404	2.303	-0.906
20	0.543	10.143	304.294	330.599	49.934	4.472	0.499	2.996	-0.694
30	0.76	14.230	426.893	457.322	69.075	5.477	0.691	3.401	-0.370
40	0.856	16.038	481.130	523.819	79.119	6.325	0.791	3.689	-0.234
50	0.836	15.661	469.831	517.944	78.231	7.071	0.782	3.912	-0.246
60	0.882	16.527	495.819	542.802	81.986	7.746	0.820	4.094	-0.199
70	0.897	16.810	504.294	553.876	83.658	8.367	0.837	4.248	-0.178
80	0.909	17.036	511.073	561.503	84.810	8.944	0.848	4.382	-0.165
90	0.905	16.960	508.814	559.921	84.572	9.487	0.846	4.500	-0.168
105	0.969	18.166	544.972	595.853	89.999	10.247	0.900	4.654	-0.105
120	0.983	18.429	552.881	607.379	91.740	10.954	0.917	4.787	-0.086
150	1.057	19.823	594.689	649.977	98.174	12.247	0.982	5.011	-0.018
180	1.071	20.087	602.599	662.068	100.000	13.416	1.000	5.193	0.000
210	1.065	19.974	599.209	659.469	99.607	14.491	0.996	5.347	-0.004
240	0.997	18.693	560.791	620.712	93.754	15.492	0.938	5.481	-0.065
300	0.942	17.657	529.718	585.797	88.480	17.321	0.885	5.704	-0.122
360	0.866	16.226	486.780	539.751	81.525	18.974	0.815	5.886	-0.204

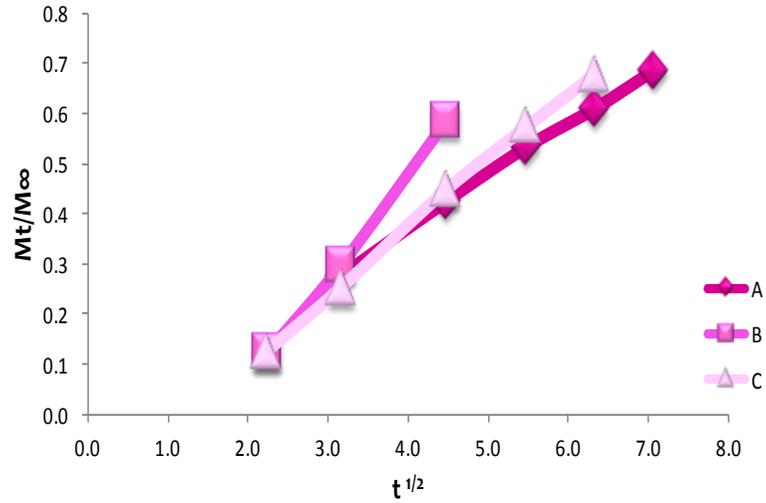


Gráfico C9. Modelo de Higuchi a pH 5.5 con 0.5% de entrecruzante

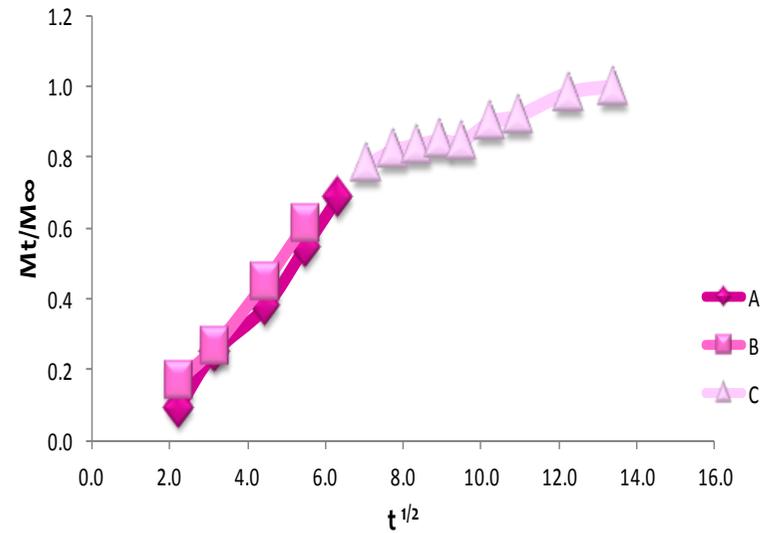


Gráfico C10. Modelo de Higuchi a pH 5.5 con 1.0% de entrecruzante

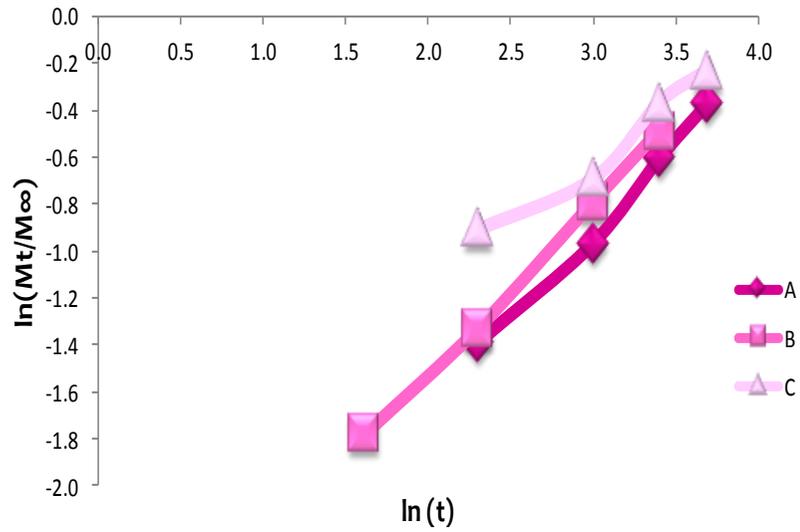


Gráfico C12. Modelo de Peppas a pH 5.5 con 1.0% de entrecruzante

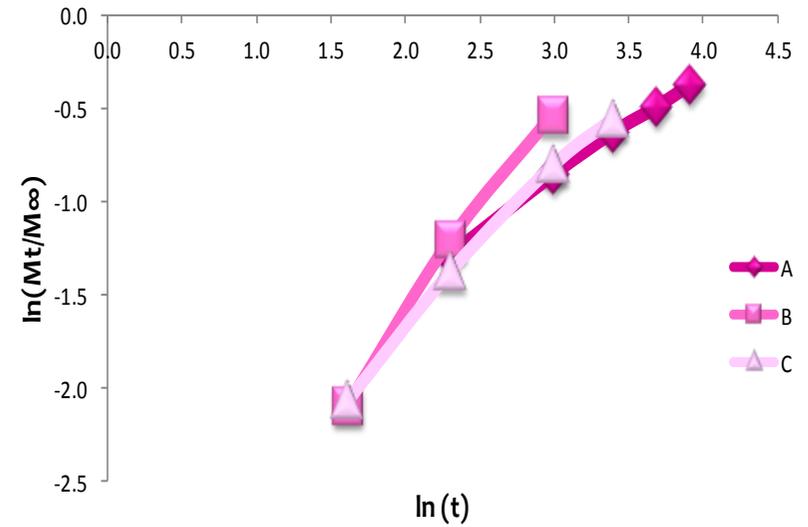


Gráfico C11. Modelo de Peppas a pH 5.5 con 0.5% de entrecruzante



Tabla C19. Resumen de los valores de K_H y n para la liberación de metronidazol

% de Entrecruzante	pH	HIGUCHI			PEPPAS		
		K_H	r^2	Tiempo (min)	n	r^2	Tiempo (min)
0.5	4.5	0.1481	0.9943	5 - 40	1.0415	0.9955	5 - 30
		0.1332	0.9928	5 - 50	0.7340	0.9948	5 - 40
		0.1510	0.9976	5 - 30	0.3729	0.9922	40 - 80
	5.0	0.0732	0.9803	70 - 150	0.4825	0.9829	80 - 150
		0.0987	0.9991	5 - 50	0.6108	0.9975	5 - 50
		0.1113	0.9920	10 - 50	0.6945	0.9834	10 - 50
	5.5	0.1043	0.9983	10 - 50	0.5650	0.9971	10 - 50
		0.2082	0.9984	5 - 20	1.1283	0.9938	2 - 20
		0.1360	0.9985	5 - 40	0.8512	0.9923	5 - 30
		0.0888	0.9971	10 - 60	0.4231	0.9973	10 - 60
1.0	4.5	0.1497	0.9859	10 - 40	0.7842	0.9970	10 - 40
		0.1463	0.9915	5 - 30	0.4187	0.9925	20 - 60
		0.1067	0.9983	5 - 50	0.6325	0.9989	5 - 50
	5.0	0.0771	0.9800	10 - 60	0.4734	0.9863	10 - 60
		0.1106	0.9917	5 - 50	0.6866	0.9881	5 - 50
		0.1407	0.9917	5 - 40	0.7326	0.9910	10 - 40
	5.5	0.1380	0.9935	5 - 30	0.7249	0.9985	5 - 30
		0.0349	0.9757	50 - 180	0.4973	0.9583	10 - 40



ANEXO D

VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO



CUANTIFICACIÓN DE METRONIDAZOL A TRAVÉS DE HIDROGELES PH SENSIBLES

- SELECTIVIDAD

Se evaluó mediante los espectros de absorción de las soluciones amortiguadoras y principio activo (metronidazol) a diferentes pH's (4.5, 5.0, 5.5) para verificar la ausencia de interferencias a la longitud de onda del estudio.

- LINEALIDAD Y RANGO

Se preparó una curva de calibración de metronidazol con siete diferentes concentraciones para cada pH de estudio.

Se realizó el análisis de regresión, así como el cálculo de la desviación estándar y coeficiente de variación para cada sistema.

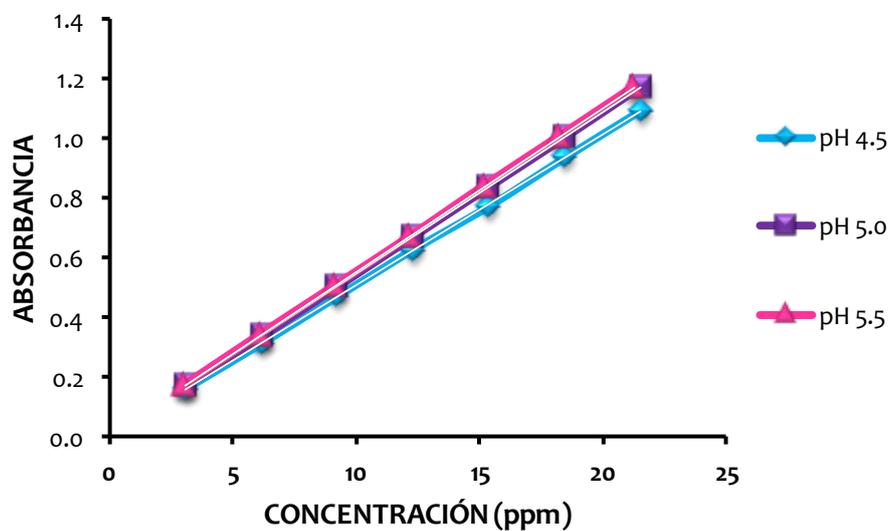


Figura D1. Curvas de calibración de metronidazol a diferentes pH's



Tabla D1. Resultados obtenidos para la curva de calibración de metronidazol a pH 4.5

SISTEMA	CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA						PROMEDIO DE LA ABSORBANCIA	SD	CV
		A	B	C	D	E	F			
1	3.08	0.155	0.159	0.160	0.160	0.157	0.160	0.1585	0.0021	1.3083
2	6.16	0.293	0.318	0.314	0.312	0.313	0.313	0.3105	0.0088	2.8425
3	9.24	0.437	0.476	0.474	0.476	0.469	0.482	0.4690	0.0162	3.4592
4	12.32	0.622	0.625	0.631	0.627	0.631	0.622	0.6263	0.0041	0.6518
5	15.40	0.781	0.782	0.778	0.754	0.787	0.752	0.7723	0.0153	1.9767
6	18.48	0.936	0.940	0.932	0.938	0.932	0.937	0.9358	0.0033	0.3474
7	21.56	1.089	1.109	1.094	1.101	1.085	1.085	1.0938	0.0096	0.8777
									0.0085	1.6376

Tabla D2. ANOVA para la curva de calibración de metronidazol a pH 4.5

Origen de las Variaciones	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE LOS CUADRADOS	F	PROBABILIDAD	VALOR CRÍTICO PARA F
Entre grupos	478.8069495	1	478.8069495	21.57612645	0.000565284	4.747225336
Dentro de los grupos	266.2981887	12	22.19151573			
Total	745.1051382	13				



Tabla D3. Resultados obtenidos para la curva de calibración de metronidazol a pH 5.0

SISTEMA	CONCENTRACION (ppm)	ABSORBANCIA						PROMEDIO DE LA ABSORBANCIA	SD	CV
		A	B	C	D	E	F			
1	3.08	0.166	0.17	0.173	0.172	0.173	0.17	0.1707	0.0027	1.5576
2	6.16	0.327	0.338	0.338	0.34	0.342	0.342	0.3378	0.0056	1.6578
3	9.24	0.501	0.505	0.506	0.506	0.508	0.505	0.5052	0.0023	0.4586
4	12.32	0.673	0.67	0.669	0.679	0.666	0.679	0.6727	0.0054	0.8015
5	15.40	0.839	0.839	0.84	0.843	0.839	0.837	0.8395	0.0020	0.2352
6	18.48	0.996	1.009	1.003	1.005	1.009	1.01	1.0053	0.0053	0.5288
7	21.56	1.172	1.176	1.127	1.178	1.186	1.211	1.1750	0.0273	2.3276
									0.0072	1.0810

Tabla D4. ANOVA para la curva de calibración de metronidazol a pH 5.0

Origen de las Variaciones	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE LOS CUADRADOS	F	PROBABILIDAD	VALOR CRÍTICO PARA F
Entre grupos	474.840427	1	474.840427	21.38903083	0.000585296	4.747225336
Dentro de los grupos	266.402212	12	22.20018433			
Total	741.242639	13				



Tabla D5. Resultados obtenidos para la curva de calibración de metronidazol a pH 5.5

SISTEMA	CONCENTRACION (ppm)	ABSORBANCIA						PROMEDIO DE LA ABSORBANCIA	SD	CV
		A	B	C	D	E	F			
1	3.04	0.166	0.179	0.172	0.177	0.171	0.166	0.1718	0.0054	3.1537
2	6.08	0.341	0.344	0.339	0.340	0.339	0.335	0.3397	0.0029	0.8667
3	9.12	0.500	0.502	0.504	0.504	0.508	0.505	0.5038	0.0027	0.5387
4	12.16	0.666	0.665	0.662	0.663	0.677	0.678	0.6685	0.0071	1.0651
5	15.2	0.840	0.831	0.847	0.842	0.841	0.840	0.8402	0.0052	0.6181
6	18.24	0.987	1.007	1.013	1.006	1.012	1.010	1.0058	0.0096	0.9565
7	21.28	1.154	1.176	1.176	1.178	1.178	1.173	1.1725	0.0092	0.7886
									0.0060	1.1411

Tabla D6. ANOVA para la curva de calibración de metronidazol a pH 5.5

Origen de las Variaciones	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE LOS CUADRADOS	F	PROBABILIDAD	VALOR CRÍTICO PARA F
Entre grupos	461.9286509	1	461.9286509	21.35724704	0.000588777	4.747225336
Dentro de los grupos	259.543929	12	21.62866075			
Total	721.4725799	13				



- PRECISIÓN

Se evaluó la precisión al determinar el CV de 7 diferentes concentraciones, analizadas durante dos días para cada pH de estudio.

Tabla D7. Precisión del método a pH 4.5 día 1

DÍA 1					
ANALISTA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD ADICIONADA (µg)	ABSORBANCIA	CANTIDAD RECUPERADA (µg)	% DE RECOBRO
A	3.08	7700	0.159	7811.2648	101.4450
	6.16		0.318	7833.4980	101.7337
	9.24		0.476	7824.4088	101.6157
	12.32		0.631	7782.8557	101.0760
	15.4		0.782	7718.3794	100.2387
	18.48		0.936	7700.1604	100.0021
	21.56		1.109	7821.0837	101.5725
B	3.04	7600	0.157	7712.4506	100.1617
	6.08		0.313	7709.9802	100.1296
	9.12		0.474	7791.4708	101.1879
	12.16		0.625	7708.7451	100.1136
	15.20		0.781	7708.4980	100.1104
	18.24		0.932	7667.2221	99.5743
	21.28		1.101	7764.6189	100.8392



Tabla D8. Precisión del método a pH 4.5 día 2

DÍA 2					
ANALISTA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD ADICIONADA (µg)	ABSORBANCIA	CANTIDAD RECUPERADA (µg)	% DE RECOBRO
A	3.04	7600	0.155	7613.6364	98.8784
	6.08		0.312	7685.2767	99.8088
	9.12		0.469	7709.1259	100.1185
	12.16		0.622	7671.6897	99.6323
	15.20		0.778	7678.8538	99.7254
	18.24		0.932	7667.2221	99.5743
	21.28		1.089	7679.9216	99.7392
B	3.12	7800	0.159	7811.2648	101.4450
	6.24		0.314	7734.6838	100.4504
	9.36		0.476	7824.4088	101.6157
	12.48		0.627	7733.4486	100.4344
	15.60		0.787	7767.7866	100.8803
	18.72		0.938	7716.6296	100.2160
	21.84		1.094	7715.2121	100.1976

PROMEDIO	SD	CV
100.4470	0.7669	0.7635



Tabla Dg. Precisión del método a pH 5.0 día 1

DÍA 1					
ANALISTA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD ADICIONADA (µg)	ABSORBANCIA	CANTIDAD RECUPERADA (µg)	% DE RECOBRO
A	3.12	7800	0.172	7762.4309	99.5183
	6.24		0.342	7794.6593	99.9315
	9.36		0.508	7743.9838	99.2818
	12.48		0.670	7672.6519	98.3673
	15.60		0.843	7731.1234	99.1170
	18.72		1.009	7716.4522	98.9289
	21.84		1.176	7712.3824	98.8767
B	3.12	7800	0.173	7808.4715	100.1086
	6.24		0.340	7748.6188	99.3413
	9.36		0.506	7713.2902	98.8883
	12.48		0.673	7707.1823	98.8100
	15.60		0.840	7703.4991	98.7628
	18.72		1.010	7724.1256	99.0273
	21.84		1.178	7725.5367	99.0453



Tabla D10. Precisión del método a pH 5.0 día 2

DÍA 2					
ANALISTA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD ADICIONADA (µg)	ABSORBANCIA	CANTIDAD RECUPERADA (µg)	% DE RECOBRO
A	3.04	7600	0.170	7670.3499	98.3378
	6.08		0.340	7748.6188	99.3413
	9.12		0.505	7697.9434	98.6916
	12.16		0.679	7776.2431	99.6954
	15.20		0.837	7675.8748	98.4087
	18.24		1.003	7670.4113	98.3386
	21.28		1.172	7686.0737	98.5394
B	3.08	7700	0.173	7808.4715	100.1086
	6.16		0.342	7794.6593	99.9315
	9.24		0.506	7713.2902	98.8883
	12.32		0.679	7776.2431	99.6954
	15.40		0.839	7694.2910	98.6448
	18.48		1.005	7685.7582	98.5354
	21.56		1.186	7778.1540	99.7199

PROMEDIO	SD	CV
99.1029	0.5575	0.5626

LV



Tabla D11. Precisión del método a pH 5.5 día 1

DÍA 1					
ANALISTA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD ADICIONADA (µg)	ABSORBANCIA	CANTIDAD RECUPERADA (µg)	% DE RECOBRO
A	3.04	7600	0.171	7581.9672	99.7627
	6.08		0.339	7616.1202	100.2121
	9.12		0.502	7551.5788	99.3629
	12.16		0.663	7496.5847	98.6393
	15.20		0.840	7609.2896	100.1222
	18.24		1.006	7601.0019	100.0132
	21.28		1.173	7601.4224	100.0187
B	3.12	7800	0.172	7627.5046	100.3619
	6.24		0.341	7661.6576	100.8113
	9.36		0.504	7581.9369	99.7623
	12.48		0.666	7530.7377	99.0887
	15.60		0.842	7627.5046	100.3619
	18.72		1.007	7608.5915	100.1130
	21.84		1.176	7620.9383	100.2755



Tabla D12. Precisión del método a pH 5.5 día 2

DÍA 2					
ANALISTA	CONCENTRACIÓN (ppm)	CANTIDAD ADICIONADA (µg)	ABSORBANCIA	CANTIDAD RECUPERADA (µg)	% DE RECOBRO
A	3.08	7700	0.172	7627.5046	100.3619
	6.16		0.339	7616.1202	100.2121
	9.24		0.508	7642.6531	100.5612
	12.32		0.677	7655.9654	100.7364
	15.40		0.847	7673.0419	100.9611
	18.48		1.010	7631.3604	100.4126
	21.56		1.178	7633.9488	100.4467
B	3.00	7500	0.170	7536.4299	99.1636
	6.00		0.335	7525.0455	99.0138
	9.00		0.505	7597.1159	99.9621
	12.00		0.665	7519.3534	98.9389
	15.00		0.840	7609.2896	100.1222
	18.00		0.987	7456.7992	98.1158
	21.00		1.176	7620.9383	100.2755

PROMEDIO	SD	CV
99.9353	0.6918	0.6922



- EXACTITUD

Se evaluó mediante el recobro de tres diferentes concentraciones de metronidazol, las cuales se analizaron por triplicado, obteniéndose la concentración experimental a través de la interpolación en la curva de calibración y comparándola con la concentración teórica para determinar el %recuperado.

Tabla D13. Datos obtenidos en el estudio de exactitud para el cálculo del %recuperado de metronidazol a pH 4.5

CONCENTRACIÓN TEÓRICA (ppm)	PESO (µg)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL (ppm)	CANTIDAD RECUPERADA (µg)	% RECUPERADO	MEDIA	SD	CV
7.0	7000	0.345	6.8004	6800.395	97.149	98.838	1.175	1.188
7.0	7000	0.350	6.8992	6899.209	98.560			
7.0	7000	0.357	7.0375	7037.549	99.120			
7.1	7100	0.353	6.9585	6958.498	98.007			
7.1	7100	0.360	7.0968	7096.838	99.955			
7.1	7100	0.361	7.1166	7116.601	100.234			
14.1	14100	0.717	14.1522	14152.174	100.370	99.854	0.814	0.815
14.1	14100	0.703	13.8755	13875.494	98.408			
14.1	14100	0.718	14.1719	14171.937	100.510			
14.1	14100	0.713	14.0731	14073.123	99.809			
14.1	14100	0.711	14.0336	14033.597	99.529			
14.2	14200	0.723	14.2708	14270.751	100.498			
21.2	21200	1.072	21.1680	21167.984	99.849	99.383	1.109	1.116
21.1	21100	1.042	20.5751	20575.099	97.512			
21.2	21200	1.058	20.8913	20891.304	98.544			
21.2	21200	1.076	21.2470	21247.036	100.222			
21.2	21200	1.073	21.1877	21187.747	99.942			
21.1	21100	1.071	21.1482	21148.221	100.229			



Tabla D14. Datos obtenidos en el estudio de exactitud para el cálculo del %recuperado de metronidazol a pH 5.0

CONCENTRACIÓN TEÓRICA (ppm)	PESO (µg)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL (ppm)	CANTIDAD RECUPERADA (µg)	% RECUPERADO	MEDIA	SD	CV
7.1	7100	0.380	6.9355	6935.543	97.684	97.541	1.062	1.089
7.0	7000	0.378	6.8987	6898.711	98.553			
7.1	7100	0.376	6.8619	6861.878	96.646			
7.1	7100	0.382	6.9724	6972.376	98.202			
7.1	7100	0.373	6.8066	6806.630	95.868			
7.0	7000	0.377	6.8803	6880.295	98.290			
14.1	14100	0.754	13.8232	13823.204	98.037	98.558	0.523	0.531
14.1	14100	0.756	13.8600	13860.037	98.298			
14.1	14100	0.764	14.0074	14007.366	99.343			
14.2	14200	0.763	13.9890	13988.950	98.514			
14.2	14200	0.767	14.0626	14062.615	99.033			
14.2	14200	0.760	13.9337	13933.702	98.125			
21.0	21000	1.116	20.4899	20489.871	97.571	98.416	1.045	1.062
21.1	21100	1.142	20.9687	20968.692	99.378			
21.1	21100	1.137	20.8766	20876.611	98.941			
21.1	21100	1.115	20.4715	20471.455	97.021			
21.1	21100	1.126	20.6740	20674.033	97.981			
21.2	21200	1.150	21.1160	21116.022	99.604			



Tabla D15. Datos obtenidos en el estudio de exactitud para el cálculo del %recuperado de metronidazol a pH 5.5

CONCENTRACIÓN TEÓRICA (ppm)	PESO (µg)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL (ppm)	CANTIDAD RECUPERADA (µg)	% RECUPERADO	MEDIA	SD	CV
7.0	7000	0.378	6.8033	6803.279	97.190	97.419	1.011	1.038
7.1	7100	0.384	6.9126	6912.568	97.360			
7.0	7000	0.383	6.8944	6894.353	98.491			
7.0	7000	0.382	6.8761	6876.138	98.231			
7.0	7000	0.372	6.6940	6693.989	95.628			
7.1	7100	0.385	6.9308	6930.783	97.617			
14.1	14100	0.771	13.9617	13961.749	99.019	97.907	0.909	0.929
14.1	14100	0.759	13.7432	13743.169	97.469			
14.0	14000	0.748	13.5428	13542.805	96.734			
14.1	14100	0.765	13.8525	13852.459	98.244			
14.1	14100	0.769	13.9253	13925.319	98.761			
14.1	14100	0.757	13.7067	13706.740	97.211			
21.2	21200	1.140	20.6831	20683.060	97.562	98.073	0.719	0.733
21.2	21200	1.162	21.0838	21083.789	99.452			
21.1	21100	1.135	20.5920	20591.985	97.592			
21.2	21200	1.148	20.8288	20828.780	98.249			
21.1	21100	1.137	20.6284	20628.415	97.765			
21.2	21200	1.143	20.7377	20737.705	97.819			



Tabla D16. Resultados de la validación del método analítico

pH	LINEALIDAD ($r^2 \geq 0.98$, $CV \leq 5$, ANOVA)				PRESICIÓN ($CV \leq 5$)		EXACTITUD ($CV \leq 5$)			
	r^2	SD	CV	P	SD	CV	(ppm)	% REC	SD	CV
4.5	0.9997	0.0085	1.6376	0.000565284	0.7669	0.7635	7	98.838	1.175	1.188
							14	99.854	0.814	0.815
							21	99.383	1.109	1.116
5.0	0.9995	0.0072	1.0810	0.000585296	0.5575	0.5626	7	97.541	1.062	1.089
							14	98.558	0.523	0.531
							21	98.416	1.045	1.062
5.5	0.9999	0.0060	1.1411	0.000588777	0.6918	0.6922	7	97.419	1.011	1.038
							14	97.909	0.909	0.929
							21	98.073	0.719	0.733



ANEXO E

BIOADHESIÓN



Cálculos para el ajuste de isotonicidad en la prueba de bioadhesión

- pH 4.5

$$13.6230 \text{ g} \text{ ----- } 1000 \text{ ml}$$

$$1.3623 \text{ g} \text{ ----- } 100 \text{ ml}$$

$$(1.3623 \text{ g})(0.44) = 0.599412 \text{ g}$$

$$0.90 - 0.599412 \text{ g} = 0.300588 \text{ g de NaCl}$$

- pH 5.0

$$2.7218 \text{ g} \text{ ----- } 1000 \text{ ml}$$

$$0.27218 \text{ g} \text{ ----- } 100 \text{ ml}$$

$$(0.27218)(0.44) = 0.1197592 \text{ g}$$

$$0.90 - 0.1197592 \text{ g} = 0.780241 \text{ g de NaCl}$$

- pH 5.5

Fosfato monobásico de sodio

$$13.6143 \text{ g} \text{ ----- } 1000 \text{ ml}$$

$$1.36143 \text{ g} \text{ ----- } 100 \text{ ml}$$

$$(1.36143)(0.44) = 0.599030 \text{ g}$$

Fosfato dibásico de sodio

$$35.8156 \text{ g} \text{ ----- } 1000 \text{ ml}$$

$$3.58156 \text{ g} \text{ ----- } 100 \text{ ml}$$

$$(3.5815)(0.42) = 1.5042 \text{ g}$$



Tabla E1. Curva de calibración para la prueba de bioadhesión

Peso (g)	DINAS	UNIDADES DEL APARATO			
		A	B	C	PROMEDIO
1.0006	981.5886	5.7	5.7	5.8	5.7333
2.0008	1962.7848	11.1	11.1	11.1	11.1000
3.0010	2943.9810	16.4	16.5	16.5	16.4667
4.0011	3925.0791	21.6	21.7	21.6	21.6333
5.0011	4906.0791	27.1	27.1	27.1	27.1000
6.0018	5887.7658	32.3	32.4	32.3	32.3333
7.0013	6868.2753	38.2	38.2	38.1	38.1667
8.0017	7849.6677	43.3	43.2	43.2	43.2333
9.0013	8830.2753	48.4	48.5	48.5	48.4667
10.0002	9810.1962	54.8	54.9	54.9	54.8667
11.0008	10791.7848	59.3	59.2	59.3	59.2667
12.0002	11772.1962	64.6	64.7	64.7	64.6667
13.0006	12753.5886	70.2	70.1	70.1	70.1333
14.0004	13734.3924	75.5	75.5	75.5	75.5000
15.0006	14715.5886	81.4	81.4	81.3	81.3667

Tabla E2. Resultados obtenidos en la prueba de bioadhesión

ENTRECruzANTE	UNIDADES DEL APARATO			DINAS		
	30 s	60s	180 s	30 s	60s	180 s
0.5 %	33.8	41.9	32.8	6102.109	7574.836	5920.291
	28.8	24.3	29.4	5193.018	4374.836	5302.109
	25.4	35.1	29.6	4574.836	6338.473	5338.473
	19.7	19.6	31.8	3538.473	3520.291	5738.473
	41.9	30.4	26.4	7574.836	5483.927	4756.655
1.0 %	20.5	32.7	29.9	3683.927	5902.109	5393.018
	27.5	22.4	22.7	4956.655	4029.382	4083.927
	20.1	39.2	31.9	3611.200	7083.927	5756.655
	29.6	24.9	23.1	5338.473	4483.927	4156.655
	20.1	26.9	27.1	3611.200	4847.564	4883.927